

**VIABILIDADE DO CULTIVO DA FOLHA DESTACADA PARA DETERMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE SOJA AO CANCRO DA HASTE**

**Ivana Marino Bárbaro**

Eng. Agr., Dr., PqC do Polo Regional Alta Mogiana/APTA  
[imarino@apta.sp.gov.br](mailto:imarino@apta.sp.gov.br)

**Laerte Souza Bárbaro Júnior**

Doutorando, Departamento Produção Vegetal – FCAV/UNESP, Jaboticabal  
[barbaro2303@hotmail.com](mailto:barbaro2303@hotmail.com)

**Marcelo Ticelli**

Eng. Agr., Ms., PqC do Polo Regional Alta Mogiana/APTA  
[mticelli@apta.sp.gov.br](mailto:mticelli@apta.sp.gov.br)

**Fernando Bergantini Miguel**

Adm., Ms., PqC do Polo Regional Alta Mogiana/APTA  
[fbmiguel@apta.sp.gov.br](mailto:fbmiguel@apta.sp.gov.br)

**José Antonio Alberto da Silva**

Eng. Agr., Dr., PqC do Polo Regional Alta Mogiana/APTA  
[jaas@apta.sp.gov.br](mailto:jaas@apta.sp.gov.br)

Dentre as principais doenças da soja, está o cancro da haste causado por *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*. Devido à existência de um dinâmico programa de melhoramento genético e de testes de linhagens, a dispersão da doença encontra-se sob controle, através da utilização de cultivares resistentes. Contudo, testes de avaliação da reação da referida doença são rotineiramente realizados pelos programas de melhoramento, visto que, para liberação de uma nova cultivar, deve-se obrigatoriamente constar na descrição do VCU (Valor de Cultivo e Uso), a resistência a essa doença (Yorinori, 2000).

Por outro lado, a utilização da técnica de cultivo de folhas destacadas em estudos com agentes de doenças em plantas é descrita em trabalhos realizados há mais de meio século. Este método apresenta a possibilidade de infectar folhas destacadas e manter estas folhas e parasitas inoculados sobre as mesmas, em condições vigorosas por um determinado período de tempo (Clinton & McCormick 1924).

Diante da importância da cultura e da doença, objetivou-se estudar a viabilidade da técnica alternativa de cultivo da folha destacada em caracterizar reações de resistência e suscetibilidade em cultivares à *D. phaseolorum* var. *meridionalis*, agente causal do cancro da haste da soja para posterior utilização em programas de melhoramento visando a obtenção de cultivares comerciais de soja resistentes.

Neste ensaio, testou-se 6 linhagens avançadas de soja, pertencentes ao programa de melhoramento da FCAV/UNESP e disponibilizados a APTA- Alta Mogiana. Tais linhagens são resultantes de cruzamentos biparentais realizados entre cultivares resistentes e suscetíveis ao patógeno. A reação de resistência dessas linhagens na geração F<sub>2</sub> foi avaliada através do método do palito de dente em casa de vegetação, sendo que somente as sementes F<sub>3</sub> colhidas das plantas F<sub>2</sub> resistentes foram semeadas no campo. Como testemunhas, utilizou-se as cultivares MG/BR 46 (Conquista) classificada como resistente ao cancro da haste, e FT-Cristalina como altamente suscetível à doença (Embrapa, 2005).

Desta forma, as linhagens e cultivares foram semeadas em vasos e cultivadas em casa de vegetação. Parte das plântulas foram utilizadas para cultivo da folha destacada. As folhas em V<sub>1</sub> foram destacadas da planta cortando-se o pecíolo imerso em água destilada. Em seguida, o pecíolo foi envolvido em algodão embebido com água destilada. Folhas assim preparadas foram colocadas em placas de Petri, contendo uma camada de algodão recoberta com papel de filtro umedecido com água destilada e incubadas a 28°C e fotoperíodo de 12 horas em câmara de germinação (BOD) até o enraizamento. As extremidades dos palitos foram lavadas em água destilada, e autoclavadas, e após, dispostas em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (batata+dextrose+agar), simultaneamente à repicagem do fungo, para que o micélio se desenvolvesse, envolvendo os palitos. Após 15 dias, procedeu-se a inoculação introduzindo-se um palito colonizado pelo patógeno no pecíolo da folha enraizada (Franco et al., 2001, Franco et al., 2009). As placas foram posteriormente incubadas em câmara tipo BOD a 28°C e fotoperíodo de 12 horas (Figura 1).



**Figura 1.** Folha destacada da cultivar de soja FT- Cristalina inoculada com *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis* através do método do palito-de-dente

O delineamento experimental para o ensaio das folhas destacadas foi o inteiramente casualizado com dez tratamentos (6 linhagens e FT-Cristalina e MG BR 46 (Conquista) inoculadas com o isolado CH-8 de *D. phaseolorum* var. *meridionalis* e testemunhas das duas cultivares inoculadas sem o isolado de *D. phaseolorum* var. *meridionalis*), com 10 repetições. Cada parcela foi constituída por uma placa de Petri contendo duas folhas primárias destacadas de soja.

Realizou-se seis avaliações semanalmente através da escala de notas variando de 0 a 5, em que 0 = sem sintomas; 1 = traços a 10 % de área foliar infectada (AFI); 2 = 11 a 25 % de AFI; 3 = 26 a 50 % de AFI; 4 = 51 a 75 % de AFI e 5 = 76 a 100 % de AFI (Yorinori, 1997).

A outra parte das plântulas foi utilizada para avaliação da reação de plântulas em casa de vegetação. A inoculação em  $V_1$  foi feita introduzindo-se o palito colonizado no hipocótilo, a 1,5 cm abaixo do nó cotiledonar. Ressalta-se que as plântulas, após inoculação foram mantidas por nebulização por 72 horas e após mediante regas diárias.

A avaliação dos sintomas foi efetuada semanalmente, 15 dias após a inoculação, totalizando 6 semanas, através de escala de notas de 0 a 5, que se baseia no nível de infecção (NI), onde 0 = planta sem sintomas; 1 = traços a 10% da planta infectada (PI); 2 = 11 a 25% da PI; 3 = 26 a 50% da PI; 4 = 51 a 75% da PI e; 5 = 76 a 100% da PI. Também realizou-se na sexta avaliação, a contagem de plântulas sadias - PS, plântulas infectadas - PI (plântula

com necrose, acompanhada de clorose, murcha ou necrose de uma ou mais folhas e com leve redução do desenvolvimento da parte aérea) e plântulas mortas - PM. O critério de separação das reações das cultivares foi baseada na porcentagem de plântulas mortas (% PM). Sendo que o cálculo da % PM utiliza a seguinte fórmula:  $\% PM = (PM+PI/2).100/TP$ , onde PM = número de plântulas mortas; PI = número de plântulas infectadas; TP = total de plântulas inoculadas. A reação das cultivares foi discriminada de acordo com o seguinte critério: R = resistente: 0 a 25 % PM; MR= moderadamente resistente: 26 a 50 % PM; MS = moderadamente suscetível: 51 a 75 % PM; S = suscetível: 76 a 90 % PM e AS= altamente suscetível: acima de 90 % PM (Figura 2) (Yorinori, 1996).



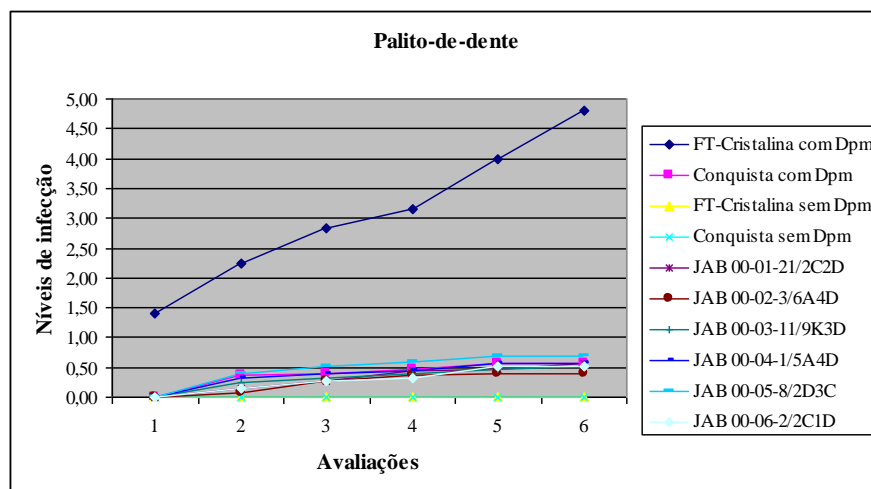
**Figura 2.** Sintomas observados na cultivar FT-Cristalina inoculada com *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis* pelo método do palito de dente, e testemunha em condição de casa de vegetação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 5 repetições para as linhagens e cultivares inoculadas com o patógeno e cinco repetições para as testemunhas, sendo cada parcela constituída por um vaso com 5 plântulas.

Em relação à técnica da folha destacada, constatou-se que as linhagens não apresentaram diferenças significativas no nível de infecção a *D. phaseolorum* var. *meridionalis* desde 14 até 49 dias após a inoculação, sendo portanto, resistentes ao fungo. Resultados semelhantes foram notados nas testemunhas: Conquista inoculada ou não com o patógeno e FT-Cristalina não inoculada com o patógeno, o que confirma a resistência da cultivar

Conquista e que, as cultivares sem serem inoculadas com *D. phaseolorum* var. *meridionalis* não apresentaram sintomas ocasionados pela contaminação com outros patógenos. Por outro lado, elevados níveis de infecção obtidos nas folhas destacadas da cultivar FT-Cristalina inoculada com o fungo, denota alta suscetibilidade da mesma, além de, uma boa precisão experimental.

Na Figura 3 estão apresentados os resultados das avaliações do nível de infecção em casa de vegetação.



**Figura 3.** Níveis de infecção obtidos em seis avaliações de linhagens de soja cultivadas, em condições de casa de vegetação, inoculadas com *D. phaseolorum* var. *meridionalis* (*Dpm*) pelo método do palito-de-dente colonizado.

Nota-se que na 1ª avaliação, exceto para a FT-Cristalina inoculada com o patógeno, não foram observados sintomas da doença. As linhagens comportaram-se como resistentes ao patógeno, uma vez que, mostraram baixos níveis de infecção até a sexta avaliação realizada. Já, a cultivar FT-Cristalina inoculada com *Dpm*, foi classificada como altamente suscetível ao patógeno, sendo que, na última avaliação foi atribuída a nota média de 4,80.

A análise da correlação das notas atribuídas para o nível de infecção em folha destacada e planta intacta cultivada em casa de vegetação na sexta avaliação revelou a existência de correlação positiva e significativa ( $r = 0,988^{**}$ ), comprovando a importância da técnica da folha destacada em estudos envolvendo fungos fitopatogênicos.

## Referências

Clinton GP and McCormick FA (1924) Rust infection of leaves in Petri dishes. **Connecticut Agricultural Experiment Station 260**:475 - 501.

Embrapa (2005) **Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil- 2005**. Editora Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: Fundação Meridional, Londrina, 239p.

Franco HBJ, Nepomuceno M, , Trabuço MAPC, Centurion CFL and Di Mauro AO (2001) Reação de genótipos de soja ao cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum f.sp. meridionalis*). **Fitopatologia Brasileira 26**: 395-395.

Franco HBJ, Centurion MAPC and Barbosa JC (2009) Estudo de métodos de inoculação para a avaliação de cultivares de soja a *Fusarium tucumaniae*. **Summa Phytopathologica, 35**:32-38.

Yorinori JT (1996) **Cancro da haste da Soja: epidemiologia e controle**. Editora EMBRAPA/CNPSo, Londrina, 75p. (Circular Técnica, 14).

Yorinori JT (1997) **Oídio da Soja**. Editora EMBRAPA-SOJA, Londrina, 13p.

Yorinori (2000) JT Riscos de surgimento de novas doenças na cultura da soja. In: **Congresso de tecnologia e competitividade da soja no mercado global**. Cuiabá, p. 165-169.