

Cercospora sojina Hara: INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA EM SOJA (*Glycine max* (L.) Merr.)

Cercospora sojina Hara: Inoculation and evaluation of resistance in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)*

Peri Veiga** Hiroshi Kimati***

RESUMO

Três variedades de soja (Bragg, Davis e Halle 7), foram inoculadas, separadamente, com dois isolados de *C. sojina* nas concentrações de 10.000, 20.000 e 40.000 esporos por ml. Três métodos de avaliação dos sintomas foram usados (número de lesões, tamanho das lesões e superfície foliar afetada), chegando-se às seguintes conclusões:

1. Por qualquer método de avaliação usado, o isolado, a variedade e a concentração de esporos são importantes.

2. A avaliação pelo número de lesões pode dar resultados diferentes daqueles baseados no tamanho da lesão, pelo que se propõe um índice baseado em área foliar atacada.

3. Qualquer que seja o método de avaliação, a variedade Davis foi considerada a mais resistente sob as condições do experimento.

SUMMARY

Three varieties of soybean (Bragg, Davis and Halle 7), were inoculated with each of the two *C. sojina* isolates at concentrations of 10.000, 20.000 and 40.000 conidia per ml. Three methods of evaluation of symptom development were used (number of lesions, size of lesions and amount of symptom of each leaf affected). From the results the following conclusions are drawn:

1. Whatever method of evaluation was used - the isolate, the variety and the conidial concentration are important;

2. The evaluation based on number of lesions can give results different than those based on size of lesions. Because of this an index is suggested (used in this research) based on the area of leaf affected.

3. Whatever the method of evaluation, the variety Davis is considered the most resistant under the conditions of the experiments.

INTRODUÇÃO

A *Cercospora sojina* Hara, constatada no Brasil, pela primeira

* Parte do trabalho apresentado para obtenção do título de Mestre, na ESALQ, Piracicaba, SP.

** Prof. Assistente do Deptº de Fitotecnia, CCR - UFSP.

*** Prof. Assistente do Deptº de Fitopatologia da ESALQ.

no Paraná (YORINORI (9)) e mais tarde no Rio Grande do Sul (REIS e KIMATI (5)), tem merecido a atenção dos pesquisadores nos últimos anos.

Nos Estados Unidos a doença provocada por esse fungo (Olho de rã) atingiu níveis epifitóticos no sudoeste de Indiana, em 1947-1949, a sua incidência, a partir de 1949, foi grandemente reduzida pelo uso de variedades resistentes (ATHOW et alii (2)).

Esses mesmos autores observaram que em 1959, vários campos das variedades Clark e Wabash, até então resistentes, foram fortemente afetadas por *C. sojina*. Testes comparativos de inoculação entre no vos isolados e os obtidos em 1947-1949, mostraram especificidade va rietal, caracterizando assim, as raças 1 e 2.

ROSS (6), considerando plantas resistentes (sem lesões, com pon tuações e com lesões pequenas), intermediárias (com lesões mê dias) e susceptíveis (com lesões grandes), tendo por testemunha as raças 1 e 2 de ATHOW et alii (2), comparou 5 isolados de *C. sojina* da Caroli na do Norte pelas reações de 33 variedades de soja, chegando a con clusão de que existem mais duas raças além das duas já anteriormente descritas. As reações varietais às raças 1 e 2, encontradas nes se trabalho, não concordam com aquelas encontradas por ATHOW et alii (2) e as discrepâncias foram atribuídas a leves diferen ças no material de hospedeiro, variação nas condições de inoculação e infecção, erros na avaliação ou mudanças na virulência do patógeno.

Os trabalhos sobre variabilidade em *C. sojina*, encontrados na li teratura disponível, só se limitam aos dois acima citados. Analizan do-os nota-se que há falta de padronização na metodologia de inocu lação e no critério de avaliação, nenhum dá evidências de ter traba lhado com quantidades controladas de inóculo. ATHOW et alii (2), não descrevem o critério de avaliação mas, a ju rgar por trabalho an terior (ATHOW e PROBST (1)), a diferença entre variedades susceptí veis e menos susceptíveis estava no número de lesões por planta, mais do que em tamanho de lesões ou abundância de esporulação. ROSS (6), por outro lado, baseia-se num critério que, apesar de quanta tivo, é algo subjetivo.

O presente trabalho tem por objetivo estudar métodos de inocula ção e avaliação de resistência, que são fundamentos para a obtenção de variedades resistentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nos laboratório e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" - USP - Piracicaba, no período compreendido entre julho e setembro de 1973.

O ensaio foi delineado em experimento inteiramente casualizado e com cinco repetições. Foi conduzido na casa de vegetação, em vasos de cerâmica com 15,0 cm de diâmetro na boca x 9,5 cm na base x 14,0 cm de altura, em cada um dos quais foram semeadas cinco sementes de soja, de modo que cada vaso constituísse uma repetição.

Foram usados dois isolados de *C. soja*: 1. Obtido da variedade Bragg, pelo Engenheiro Agrônomo J.T.Yorinori, no Paraná; 2. Obtido da variedade Halle 7, pelo Engenheiro Agrônomo E.M.Reis, no Rio Grande do Sul.

Os isolados foram mantidos por repicagens sucessivas em BDA, inclinado em tubos de ensaio, de onde foram retirados para a obtenção do inóculo.

O inóculo foi produzido em Erlenmeyers de 250 ml. contendo 25 ml. de meio de cultura V-8A, sob regime de 9 horas de luz x 15 horas de escuro, conforme o proposto por VEIGA e KIMATI (8).

Os esporos foram colhidos acrescentando-se 10 ml. de uma solução de Tween 80 a 0,1% em água destilada, em cada Erlenmeyer e agitando-se vigorosamente durante 30 segundos, de modo a desalojar os esporos sem o despreendimento de fragmentos de micélio.

A contagem dos esporos foi feita com o auxílio de um hemocítmetro e, por diluições sucessivas, foram obtidas suspensões com as seguintes concentrações de esporos: 40.000 esp./ml, 20.000 esp./ml e 10.000 esp./ml.

As variedades de soja usadas foram as seguintes: Bragg, Davis e Halle 7, todas provenientes da Cooperativa Triticola de Passo Fundo, RS.

As inoculações foram feitas pulverizando-se 15 ml. de cada suspensão de esporos nas plantas de cada tratamento, logo após o desenvolvimento da primeira folha trifoliolada, usando-se um pulverizador de Vilbiss.

Durante a inoculação as plantas foram colocadas, na casa de vegetação em compartimentos de plástico para cada tratamento, onde permaneceram, em câmara úmida, durante 48 horas, logo após foram transferidas para as banquetas, onde permaneceram até a avaliação, sob uma temperatura variável de 16° a 28° C.

As testemunhas foram pulverizadas com a mesma solução de Tween 80, usada no preparo da suspensão de esporos.

A avaliação do ensaio foi feita 14 dias após a inoculação, obtendo-se o número médio de lesões por folha e o diâmetro médio das lesões.

O número médio de lesões por folha foi obtido contando-se o número total de lesões em cada vaso e dividindo-o pelo número de folhas atacadas, no vaso.

O diâmetro médio das lesões foi dado em centímetros, fazendo-se

a média dos maiores diâmetros de 10 lesões por vaso, medidos com régua milimetrada.

Com o produto do número médio de lesões por folha, pelo diâmetro médio das lesões elevado ao quadrado, foi obtido um índice de doença (ID) que se aproxima da superfície atacada da folha, em cm^2 .

RESULTADOS

Avaliação pelo número de lesões por folha - Os resultados da avaliação pelo número de lesões por folha são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Reações de três variedades de soja a dois isolados de *Cercospora sojina*, avaliadas pelo número de lesões.

Isolados *	Concentrações de esporos **	Número de lesões por folha nas variedades ***		
		Bragg	Davis	Halle 7
1	A	81,35	8,00	61,07
	B	67,50	7,06	33,46
	C	32,55	3,10	27,19
2	A	39,71	9,93	37,39
	B	9,64	7,94	13,38
	C	7,40	2,65	9,50

* 1= isolado do Paraná

2= isolado do Rio Grande do Sul

** A= 40.000 esporos/ml

B= 20.000 esporos/ml

C= 10.000 esporos/ml

*** Média de cinco repetições

Os resultados deste ensaio mostram que, para os dois isolados, o número de lesões por folha diminui em todas as variedades a medida que decresceram as concentrações de esporos. No entanto, considerando-se as três variedades e todas as concentrações de esporos, verifica-se que o isolado 1 produziu maior número de lesões do que

o isolado 2.

As variedades Bragg e Halle 7 foram mais suscetíveis ao isolado 1 do que ao isolado 2, enquanto a variedade Davis não mostrou diferença entre ambos.

Quanto às concentrações de esporos dos dois isolados, a variedade de Davis somente mostrou diferença entre as concentrações extremas, porém as demais variedades mostraram diferenças entre todas as concentrações.

Na média das três variedades os dois isolados mostraram diferença entre todas concentrações de esporos.

No tratamento testemunha não foram observadas lesões.

Avaliação pelo diâmetro médio das lesões - Os resultados da avaliação pelo diâmetro médio das lesões são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2, Reações de três variedades de soja a dois isolados de *Cercospora sojina*, avaliadas pelo diâmetro médio das lesões.

Isolados *	Concentrações de esporos **	Diâmetro médio das lesões nas variedades (cm) ***		
		Bragg	Davis	Halle 7
1	A	0,37	0,10	0,61
	B	0,35	0,11	0,46
	C	0,38	0,11	0,45
2	A	0,43	0,21	0,63
	B	0,38	0,22	0,65
	C	0,35	0,21	0,53

* 1= Isolado do Paraná

2= Isolado do Rio Grande do Sul

** A= 40.000 esporos/ml

B= 20.000 esporos/ml

C= 10.000 esporos/ml

*** Média de cinco repetições

Os resultados deste ensaio evidenciam que, independentemente de variedades e isolados, o diâmetro das lesões foram influenciados, ao nível de 1% de probabilidades, apenas pelas concentrações extre

mas de esporos, mas ao nível de 5% de probabilidade, todas as concentrações influíram no diâmetro das lesões.

De modo geral, o isolado 2 produziu lesões maiores do que o isolado 1, em todas as variedades e concentrações de esporos. Para esta observação a ordem de resistência das variedades foi: Davis, Bragg e Halle 7, em relação a todas as concentrações e isolados. No entanto, as variedades Davis e Halle 7 foram mais suscetíveis ao isolado 2 do que ao isolado 1, porém a variedade Bragg somente o foi ao nível de 5% de probabilidade.

Avaliação pelo índice de doença - Os resultados da avaliação pelo índice de doença são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Reações de três variedades de soja a dois isolados de *Cercospora sojina*, avaliadas pelo índice de doença.

Isolados *	Concentrações de esporos **	Índice de doença nas variedades ***		
		Bragg	Davis	Halle 7
1	A	11,13	0,07	23,50
	B	8,38	0,06	7,32
	C	4,62	0,03	5,70
2	A	7,16	0,42	14,45
	B	1,27	0,33	5,59
	C	0,84	0,11	2,66

* 1= Isolado do Paraná

2= Isolado do Rio Grande do Sul

** A= 40.000 esporos/ml

B= 20.000 esporos/ml

C= 10.000 esporos/ml

*** Obtido pela multiplicação do número médio de lesões por folha pelo diâmetro médio das lesões elevado ao quadrado. $I = \bar{N} \times \bar{D}^2$

Estes resultados evidenciam que houve uma relação entre concentrações de esporos e o índice de doença, ao nível de 5% de probabilidade.

O isolado 1 produziu maiores índices de doença que o isolado 2, considerando-se todas as variedades e concentrações de esporos.

Para todas as variedades e isolados, no entanto, esta relação nas concentrações mais baixas, não pode ser observada ao nível de 1% de probabilidade.

Independentemente de isolados e concentrações de esporos, a ordem de resistência das variedades foi: Davis, Bragg e Halle 7. No entanto, a variedade Davis foi mais resistente ao isolado 1 do que ao 2, o inverso ocorrendo com as demais.

Nos dois isolados, o índice de doença foi menos influenciado pela concentração de esporos na variedade Davis do que nas variedades Bragg e Halle 7.

DISCUSSÃO

A relação existente entre a quantidade de esporos inoculados e a expressão da doença nas folhas de soja, observada nos resultados da Tabela 1, demonstra a necessidade do uso de quantidades controladas de inóculo quando se deseja avaliar a resistência varietal ou a variabilidade do patógeno.

Resultados semelhantes foram obtidos para *Septoria lycopersici* Speg. que, quando inoculada em tomateiro, guardou uma relação entre número de esporos inoculados e lesões produzidas (KUROZAWA (4)).

O aumento do número de lesões por folha foi proporcional ao aumento do número de esporos inoculados não podendo ser observada, categoricamente, a ação sinérgica dos esporos no número de pontos de infecção, referida por VAN DER PLANK (7) em *Puccinia graminis tritici* Eriks e Henn. Este fato pode ser explicado se considerarmos que o número de esporos inoculados, neste trabalho, não tenha sido suficientemente alto para tal evidência.

A variedade Halle 7 foi a que mostrou maiores evidências da influência do número de esporos inoculados no diâmetro das lesões. Considerando-se que esta variedade foi a que apresentou lesões maiores, esta relação pode ser explicada pela coalescência das lesões que nela foi em maior número do que nas demais.

A necessidade de padronização dos métodos de avaliação quando se estuda resistência varietal e também a variabilidade do patógeno, foi comprovada pelos resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2, onde as variedades e os isolados apresentaram comportamentos diferentes na avaliação pelo número de lesões e pelo diâmetro das lesões.

O comportamento diferente das variedades e isolados nestes dois métodos de avaliação pode justificar as discordâncias encontradas na reação das variedades estudadas por ATHOW et alii (2) e as estudadas por ROSS (6), observadas por esse último quando comparou as raças 1 e 2 de *C. sojae*, desde que seja levado em conta que o pri

meiro usou na avaliação o número de lesões nas folhas e o segundo, tamanho de lesões.

Estas discordâncias dos métodos de avaliação podem sugerir que o número de lesões e o tamanho das lesões sejam governados por genes diferentes, levando-se em consideração que reação semelhante foi descrita em milho por HOOKER (3), onde a resistência poligênica afetava o número de lesões causadas por *Helminthosporium turcicum* Pass. e o tamanho das lesões era controlado por um único gene dominante (IT).

O comportamento diferente dos dois isolados, tanto na capacidade de esporulação (VEIGA e KIMATI (8)) como na patogenicidade, demonstram a possível existência de raças em nossas condições, exigindo, deste modo, que pesquisas sejam feitas objetivando sua determinação.

Os resultados do Índice de doenças demonstram que este tipo de avaliação pode ser usado tanto para avaliação da resistência varietal como para determinação da variabilidade do patógeno, tendo como vantagens a padronização do método de avaliação e a capacidade de incluir os dois possíveis tipos de resistência das variedades de soja à *C. sojina*. Para que seu uso seja difundido é necessário que sejam estipulados padrões de resistência e susceptibilidade baseados nos seus valores e com relação a superfície foliar da soja.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, pode-se tirar as seguintes conclusões:

1. Por qualquer método de avaliação, os fatores: isolado, variedade e concentração de esporos são importantes.
2. O método de avaliação baseado em número de lesões pode levar a resultados diferentes daqueles baseados em tamanho, pelo que se propõe um índice baseado em área foliar atacada.
3. Independentemente do método de avaliação empregado, a variedade Davis foi a mais resistente.

LITERATURA CITADA

1. ATHOW, K.L. e PROBST, A.H. - The inheritance of resistance to frog-eye leaf spot of soybeans. *Phytopathology*, 42: 660-662, 1952.
2. ATHOW, K.L., PROBST, A.H., KURTZMAN, C.P. e LAVIOLETTE, F.A. - A newly identified physiological race of *Cercospora sojina* on soybean. *Phytopathology* 52:712-714, 1962.
3. HOOKER, A.L. - A new type of resistance in corn to *Helminthosporium turcicum* Pass. *Plant Disease Reporter*, 45:

780-781, 1961.

4. KUROZAWA, C. - Variabilidade de *Septoria Lycopersici* Speg., agente causal da mancha foliar do tomateiro. Tese de Doutorado em Agronomia, apresentada a Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972, 60 p..
5. REIS, E.M. e KIMATI, H. - Nota sobre a ocorrência de *Cercospora soja* Hara, causando mancha foliar "olho de rã" em soja, no Rio Grande do Sul. *O Solo*, ano LXV (2): 34, 1973.
6. ROSS, J.P. - Additional races of *Cercospora soja* on soy beans in North Carolina. *Phytopathology* 58:708-709, 1968.
7. VAN DER PLANK, J.E. - Epidemiology of fungicidal action. In: TORGESON, D.C. - Ed. *Fungicides, and Advanced treatise*. New York, Academic Press. Vol 1, pp 63-92, 1967.
8. VEIGA, P. e KIMATI, H. - Influência de meios de Cultura e regimes luminosos na esporulação de *Cercospora soja* Hara, *Rev. Centro de Ciências Rurais*, 4(2): 159-164, 1974.