

880

HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA A

*Diaporthe phaseolorum f. sp. meridionalis.*

AMAURI SIVIERO  
Engenheiro Agrônomo

Orientador : Prof. Dr. José Otávio M. Menten

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia.

TS007/1992  
SIV

57/1996

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
setembro - 1992



HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA A

*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

AMAUÍ SILVEIRO  
Divisão de Bibliotecas e Documentação - P&D/USP

Amauí Silveiro

Trabalho de conclusão de curso em Biblioteconomia - USP - 1992

Aprovada em : 04.09.1992

Amauí Silveiro - (orientador)

Comissão julgadora :

Prof. Dr. José Otávio M. Menten

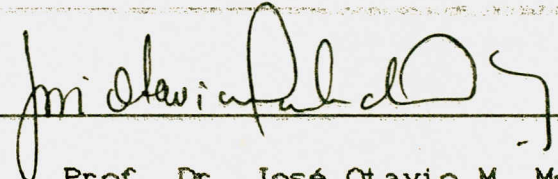
ESALQ/USP

Prof. Dr. Eric Balmer

ESALQ/USP

Prof. Dr. Natal Antonio Vello

ESALQ/USP

  
Prof. Dr. José Otávio M. Menten

- Orientador -



*Aos meus pais  
Augusto e Lourdes*

DEDICO



"Quanta virulência pode a natureza colocar nos fitopatógenos e quanta resistência pode o homem colocar nas plantas cultivadas? Esta é uma das mais importantes questões para a agricultura presente e futura."

Stakman e Harrar (1957)





## AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz",  
pela oportunidade oferecida para realização deste curso.

Ao Prof. Dr. José Otavio Menten, pela chance de  
tê-lo como orientador, um incentivador que aposta no futuro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Natal Antonio Vello, pelas sugestões e  
incentivo.

Ao Dr. José Tadashi Yorinori, pela cessão do isolado  
do patógeno.

Aos anjos da guarda Paulo Albuquerque, Júlio Bueno e  
Rosa Maria pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.

Aos colegas, professores e funcionários do  
Departamento de Fitopatologia, pelo agradável convívio.

Ao povo brasileiro, cujo suor deu-me a chance de  
produzir este trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a  
realização deste trabalho.

## INDICE

	página
LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURA .....	ix
RESUMO .....	x
SUMMARY .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	18
3.1. Cultivares e cruzamentos .....	18
3.2. Obtenção e manutenção do isolado .....	19
3.3. Preparo das plantas para inoculação .....	19
3.4. Preparo do inóculo .....	20
3.5. Inoculação e instalação dos experimentos .....	21
3.6. Critérios de avaliação .....	22
3.6.1. Incidência .....	22
3.6.2 Severidade .....	23
3.7. Análises estatísticas e genéticas .....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1. Avaliação da resistência da soja a <i>Diaporthe</i> <i>phaseolorum</i> f.sp. <i>meridionalis</i> .....	28
4.1.1. Avaliação segundo a incidência da doença .....	28
4.1.2. Avaliação segundo a severidade da doença .....	30

4.2.	Correlação entre incidência e severidade .....	33
4.3.	Herança da resistência da soja a <i>Diaporthe</i> <i>phaseolorum</i> f. sp. <i>meridionalis</i> .....	35
4.4.	Herdabilidade .....	38
5.	CONCLUSÕES .....	39
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Descrição de alguns caracteres botânicos e agronômicos dos cultivares de soja utilizados como parentais e a reação de resistência a <i>Diaporthe phaseolorum</i> f. sp. <i>meridionalis</i> . Piracicaba-SP, 1992.	18
Tabela 2. Proporções fenotípicas (resistentes : suscetíveis) esperadas em quatro parentais e seis cruzamentos dialélicos entre eles (cada cruzamento é constituído por um "bulk" na geração F7) à reação a D.p.m., para 1 a 4 genes, considerando-se genes de dominância completa, ausência de epistasia e parentais contendo os mesmos genes de resistência ...	25
Tabela 3. Esquema de análise de variância da incidência de D.p.m. dos genótipos estudados com o desmembramento entre parentais, cruzamentos e parentais vs. cruzamentos e as esperanças matemáticas dos quadrados médios. ....	26
Tabela 4. Incidência do cancro da haste em genótipos de soja (parentais e cruzamentos), sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP, 1992. ....	28
Tabela 5. Análise de variância da incidência do cancro da haste em genótipos de soja (médias transformadas em $\sqrt{x+1}$ ), com o desmembramento dos genótipos. Piracicaba-SP 1992. ....	30
Tabela 6. Médias da severidade de <i>Diaporthe phaseolorum</i> f.sp. <i>meridionalis</i> , em genótipos de soja (parentais e cruzamentos), sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP, 1992. ....	31
Tabela 7. Análise de variância da severidade do cancro da haste em genótipos de soja com o desmembramento dos genótipos. Piracicaba-SP, 1992. ....	33
Tabela 8. Reação de genótipos de soja (parentais e cruzamentos contrastantes) a D.p.m. (incidência) e os valores de $X^2$ para o caráter governado por 1, 2 e 3 genes. Piracicaba-SP, 1992. ....	36

LISTA DE FIGURA

Página

Figura 1. Correlação entre os valores de incidência e severidade do câncer da haste da soja, em genótipos de soja (parentais e cruzamentos), sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP, 1992. .... 34



HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA A *Diaporthe*  
*phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

Autor : Amauri Siviero

Orientador: Prof. Dr. José Otávio M. Menten

RESUMO

O cancro da haste da soja, causado por *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones (D.p.m.), constitui um sério problema à soja no Brasil desde o seu aparecimento em 1989. A obtenção de cultivares de soja resistentes ao patógeno exige informações sobre a herança da resistência.

O presente trabalho foi realizado em condições de casa de vegetação e teve como objetivo detectar a herança da resistência da soja a D.p.m.. Todas as avaliações foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, em Piracicaba-SP, no período de agosto/91 à dezembro/91.

Os cultivares usados como parentais resistentes ao patógeno foram IAC-Foscarin-31 e Primavera; os suscetíveis foram Paraná e Forrest; estes e os cruzamentos dialélicos entre os parentais, sem os recíprocos, foram avaliados para reação de resistência ao cancro da haste da soja.

Plantas no estágio V1 foram inoculadas artificialmente através do método do palito de dente colonizado com micélio do patógeno. A avaliação da quantidade de doença através da incidência e severidade se deu entre 15 e 20 dias após a inoculação.

Nos cruzamentos entre parentais contrastantes para reação de resistência ao patógeno (resistente x suscetível) foram observadas proporções fenotípicas de três plantas resistentes para uma planta suscetível. Os resultados indicaram que a herança da resistência da soja a D.p.m. é controlada por dois genes dominantes. Os cultivares IAC-Foscarin-31 e Primavera possuem os dois genes reação de resistência ao patógeno denominados  $Rdm1Rdm1$  e  $Rdm2Rdm2$  e os cultivares Paraná e Forrest são homocigotos recessivos para ambos os genes.



## INHERITANCE OF RESISTANCE IN SOYBEAN TO

*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*

Author : Amauri Siviero

Adviser : Prof. Dr. José Otavio M. Menten

### SUMMARY

Soybean stem canker, caused by *Diaporthe phaseolorum*

f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones (D.p.m.), is becoming a serious disease of soybean crops in Brazil since it was first reported in 1989. Basic information about disease resistance inheritance are needed to obtain pathogen resistant cultivars.

Two resistant parents (IAC-Foscarin-31 and Primavera), two susceptible parents (Paraná and Forrest), and six diallel crosses in the F7 generation, were tested to the disease reaction.

This work was carried out under greenhouse conditions in order to identify soybean resistance inheritance to D.p.m.. The toothpick method was used to inoculate seedlings at V1 stage. Fifteen to 20 days after inoculation, the disease was evaluated by incidence and severity.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das mais importantes na economia brasileira, tendo apresentado na safra de 1987/88 uma área estimada superior a 10 milhões de hectares. Grande parte do óleo extraído dos grãos é consumido internamente, sendo exportados o farelo e parte dos grãos. A exportação de derivados de soja da safra 1987/88 representou um ingresso de divisas da ordem de 3,5 bilhões de dólares ao país (EMBRAPA,1988).

A expansão da área cultivada no Brasil trouxe junto o crescente problema de doenças, em número e severidade. Existem aproximadamente 35 doenças de importância econômica que afetam a cultura. O cancro da haste da soja, causado por *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones [anamorfo *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones] é uma das potencialmente mais importantes na atualidade.

Este patógeno foi encontrado no Brasil na safra 1989/90, no Estado do Paraná, provocando graves prejuízos em lavouras atacadas, demonstrando boa adaptação às condições brasileiras; atualmente encontra-se em todas as áreas produtoras de soja do país, podendo-se constituir, em certos casos, num fator limitante à sua produção. O agente causal do cancro da haste da soja provoca cancos nas hastes e em ramos laterais, matando as plantas prematuramente, proporcionando redução de produtividade de até 100% em cultivares mais suscetíveis.

Admitindo-se que a utilização de cultivares resistentes é o método mais racional e económico de controlar esta doença, e considerando a escassez de estudos envolvendo a genética da resistência da soja ao cancro da haste, procurou-se, no presente trabalho: (a) avaliar a eficiência do método de inoculação através do palito em casa de vegetação na discriminação de genótipos, para a resistência a D.p.m.; (b) comparar os critérios de incidência e severidade para quantificação da doença; (c) detectar a herança da resistência da soja a D.p.m.. Trata-se de um estudo inédito para o caso do cancro da haste da soja que ocorre no Brasil e de imprescindível importância como suporte a programas de melhoramento em soja visando a resistência à doença.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

As mais importantes doenças da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] causadas por espécies de fungos do complexo *Diaporthe/Phomopsis* são: a queima da haste e da vagem, a podridão de sementes e o cancro da haste da soja (PLOPER, 1989).

A queima da haste e da vagem é causada pelo fungo *Diaporthe phaseolorum* (Cke.) Ell. var. *sojae* (Lehman) Wehm. [fase anamórfica *Phomopsis sojae* Lehman]. Esta doença ocorre em todas as regiões produtoras de soja do mundo, sendo tipicamente de final de ciclo e aumenta em severidade quando ocorrem chuvas no momento da colheita da soja (SINCLAIR, 1989).

A podridão de sementes é causada por diversas espécies do género *Phomopsis*. Existe muita confusão na detecção e classificação destas espécies; recentemente, estudos micológicos envolvendo a caracterização deste género resultaram na designação de *Phomopsis phaseoli* e *Phomopsis longicolla* como duas entidades fúngicas distintas associadas à podridão de sementes de soja. As formas anamórficas dos fungos causadores da queima da haste e da vagem e do cancro da haste da soja também causam podridão em sementes de soja (HOBBS & PHILLIPS, 1985; MORGAN-JONES, 1989; PLOPER, 1989). A



podridão de sementes causada por *Phomopsis* spp. é uma doença típica de final de ciclo; é mais severa quando ocorrem chuvas na colheita e está distribuída por todas partes do mundo onde se cultiva soja (SINCLAIR, 1989).

A terceira doença do complexo *Diaporthe/Phomopsis* é o cancro da haste da soja. ATHOW & CALDWELL (1954) apresentaram a posição taxonômica inicial do patógeno, baseados em revisão realizada por Wehmeyer em 1933 e nos trabalhos de WELCH & GILMAN (1948). O agente causal do cancro da haste da soja foi designado como *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell.) Sacc. var. *bataatatis* (Harter & Field) Wehmeyer, como sendo patogênico à soja e à batata doce.

WELCH & GILMAN (1948), analisando linhagens de *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* em soja, demonstraram que as linhagens provenientes de peritécios do tipo cespitoso eram homotáticas, enquanto que as originadas de peritécios individuais eram heterotáticas e os sintomas provocados pelas linhagens, quando inoculadas em soja, eram distintos. Assim, os autores reconheceram duas formas distintas e propuseram os seguintes trinômios: *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* para a forma heterotática e *Diaporthe phaseolorum* var. *bataatatis* para a forma homotática, agentes do cancro da haste da soja e da batata doce, respectivamente.

ATHOW & CALDWELL (1954) fizeram um estudo comparativo entre linhagens de *Diaporthe phaseolorum* var. *bataatatis* da batata doce com as da soja e demonstraram diferenças consistentes quanto a morfologia, características culturais e patogenicidade entre os isolados. Assim, os autores estabeleceram o trinômio *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwell (1954) para os isolados da soja e *Diaporthe phaseolorum* var. *bataatatis* para os da batata,



elevando o agente causal cancro da haste da soja a nível de variedade separada da batata. Até então, o cancro da haste da soja era considerado como um sintoma de queima da haste e da vagem.

A separação das variedades *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* e var. *sojae* foi considerada inválida, pois mutantes da var. *caulivora*, produzidos em laboratório, reproduziram os mesmos sintomas da var. *sojae* (THREINEN et alii, 1959). WHITEHEAD (1966), descrevendo o agente causal do cancro da haste do cornichão [*Lotus corniculatus* (L.)] e o cancro da haste da soja, concorda com a proposta de THREINEN et alii (1959).

O cancro da haste da soja, induzido por *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, foi um sério problema no norte dos Estados Unidos no início dos anos 50; nos últimos anos prejudicou sensivelmente a produção de soja do sul daquele país (PLOPER, 1989). O avanço drástico da doença para novas regiões dos Estados Unidos e, mais recentemente, para outras partes do mundo, suscitou novos trabalhos envolvendo a taxonomia dos fungos associados ao complexo *Diaporthe/Phomopsis* que ocorrem na soja.

MORGAN-JONES (1989) propôs mudanças significativas na classificação dos patógenos da soja associados ao complexo *Diaporthe/Phomopsis*. Após avaliação da grande variabilidade na morfologia, fisiologia e nas relações patógeno-hospedeiro, o autor considerou insatisfatória a classificação das entidades fúngicas ao nível de variedade. Assim, as formas originalmente denominadas var. *caulivora* e *sojae* passam ao nível forma especial *caulivora* e *sojae*. O mesmo autor reconheceu, dentro de *Diaporthe phaseolorum*, três entidades fúngicas distintas patogênicas à soja: f. sp. *sojae*, como patógeno causador da queima da haste e da vagem;

f. sp. *caulivora*, como patógeno causador do cancro da haste da soja no norte dos EUA; e f. sp. *meridionalis*, como patógeno causador do cancro da haste da soja no sul dos EUA.

Anteriormente à esta nova proposta, a maioria dos autores referiam-se ao cancro da haste da soja do sul dos EUA como "southern stem canker" e ao cancro da haste da soja do norte dos EUA como "northern stem canker", ambos provocados por *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* (HOBBS & PHILLIPS, 1985; KEELING, 1988).

Diversos estudos têm revelado diferenças relevantes entre o patógeno causador do cancro da haste da soja do sul e do norte dos EUA (KULIK, 1984; BACKMAN et alii, 1985b; HOBBS & PHILLIPS, 1985; KEELING, 1988a; PLOPER, 1989). KEELING (1988a) demonstrou que a distribuição regional de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *caulivora* é explicada por diferenças marcantes na patogenicidade e temperatura de crescimento "in vitro" dos isolados. Estudos comparando a influência da temperatura no crescimento da colônia e na patogenicidade de isolados das duas regiões (norte e sul dos EUA), revelaram que o crescimento "in vitro" dos isolados do norte foi inibido à 30°C, enquanto que os do sul mantiveram a mesma taxa de crescimento; os isolados do norte mostraram-se apatogênicos à soja à temperatura de 30°C, enquanto os do sul mantiveram a patogenicidade.

McGEE & BIDDLE (1987), estudando as características micológicas dos isolados do cancro da haste da soja do sul e do norte dos EUA, observaram que os isolados do norte apresentaram micélio branco, clamidosporos com estromas circulares (1 a 2 mm de diâmetro) distribuídos ao acaso na colônia e nunca fundidos, enquanto que os isolados do sul apresentaram micélio branco, clamidosporos castanhos que inferem cor castanha à colônia, estromas regulares (2 a 10 mm de diâmetro) e ocasionalmente fundidos.



Os peritécios do cancro da haste da soja do norte dos EUA são pretos, globosos e têm agrupamento cespitoso em número de 2 a 12 por grupo; os peritécios dos isolados do cancro da haste da soja do sul são pretos e globosos e encontram-se arrançados individualmente (SINCLAIR, 1989). Os isolados do fungo, encontrados no norte dos EUA, apresentaram peritécios com bico curto, menor diâmetro e ausência da fase *Phomopsis*, enquanto que os isolados do sul apresentaram peritécios alongados e retos e os picnídios da fase *Phomopsis* com conídios do tipo alfa (KULIK, 1984).

HOBBS & PHILLIPS (1985), observando sintomas de cancro da haste da soja no campo, encontraram lesões maiores associadas ao cancro da haste da soja do sul e menores aos isolados do norte; observaram também diferenças nas características culturais e na taxa de crescimento "in vitro" entre os isolados, além de perfeita correlação deste parâmetro com o tamanho das lesões.

A transmissão, via semente, do fungo causador do cancro da haste da soja do norte dos EUA ocorre com maior frequência do que o do sul. No norte, frequentemente, são observados níveis de 30 a 60% do fungo nas sementes, enquanto que no sul não ultrapassa 5% (KMETZ et alii, 1978). Segundo MCGEE & BIDDLE (1987) e MORGAN-JONES (1989), a patogenicidade dos isolados causadores de cancro da haste da soja encontrados no sul dos EUA é maior se comparada com os isolados do norte.

Todas as diferenças descritas entre os isolados do sul e do norte do cancro da haste da soja serviram de subsídios à MORGAN-JONES (1989) para propor a separação dos isolados ao nível taxonômico de forma especial, visto que se tratam de entidades fúngicas distintas.

O cancro da haste da soja foi relatado como sendo uma séria doença da soja na década de 50 na região norte dos EUA e em Ontário, Canadá. A doença foi diminuindo de importância a medida que os cultivares suscetíveis foram substituídos por cultivares resistentes (BACKMAN et alii, 1985b). As primeiras observações do cancro da haste da soja na região sul dos EUA foram feitas em 1973, no Estado de Mississippi, e em apenas 10 anos atingiu toda a região sudoeste americana produtora de soja. A doença foi também relatada, causando sérios prejuízos à soja, na Iugoslávia (SINCLAIR, 1989; BACKMAN et alii, 1985b).

As perdas ocasionadas com o cancro da haste da soja na região sul dos EUA, em 1983, foram estimadas em 37 milhões de dólares; variedades suscetíveis ao patógeno foram praticamente destruídas pela doença, atingindo produções de até 100 kg/ha de grãos. A severidade da doença obrigou os produtores de soja a substituir rapidamente os cultivares e forçou a adoção de novas práticas agronômicas (BACKMAN et alii, 1985a; BACKMAN et alii, 1985b).

No Brasil, o cancro da haste da soja foi constatado, pela primeira vez, no município de Ponta Grossa-PR, em fevereiro de 1989 e foi encontrado na safra 1989/90 em todas as áreas produtoras de soja do país. O fungo causador do cancro da haste da soja no Brasil é o mesmo que causa cancro da haste da soja no sul dos EUA, atualmente identificado como *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones [forma anamórfica: *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones]. O patógeno apresentou boa adaptação às condições brasileiras, demonstrando ser agressivo em temperatura elevada (YORINORI, 1990).



Na safra 1989/90 milhares de hectares de soja foram afetados pelo cancro da haste da soja no Brasil, provocando reduções de rendimento entre 50 a 80% em cultivares suscetíveis e em locais onde as condições climáticas favoreceram a doença. A entrada deste patógeno no país constitui uma séria ameaça à sojicultura nacional (YORINORI, 1990).

O cancro da haste da soja, que ocorre no Brasil, é causado por um fungo com duas fases de distintas: (a) fase teliomórfica, denominada *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*, que ocorre no final do ciclo da cultura, caracterizada pela produção de ascosporos em peritécios; (b) fase anamórfica, denominada *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis*, caracterizada pela produção de conídios em picnídios.

Os sintomas da doença no campo se caracterizam pelo aparecimento de estrias ou pontuações negras à castanho claras, que surgem entre 15 a 20 dias após a infecção; a partir daí progridem para manchas elípticas ou alongadas com centro negro à castanho e margens claras, podendo atingir alguns centímetros de comprimento. O aspecto da mancha, nesta fase, é típico de um cancro, que dá o nome à doença. Isto pode ser visto entre 50 a 80 dias após a infecção. Os sintomas da doença ocorrem, frequentemente, nos entre-nós, nós, ramos, pecíolos e na medula das plantas. O ataque do patógeno pode provocar a morte parcial ou total das plantas afetadas. O escurecimento da medula e o aparecimento de plantas com folhas do tipo "carijó" (áreas verdes entremeadas com áreas amareladas) são sintomas que podem auxiliar no diagnóstico da doença (YORINORI, 1990).

O desenvolvimento da doença no campo depende de diversos fatores como: (a) potencial de inóculo, (b) estágio da cultura, (c) suscetibilidade do cultivar e (d) condições climáticas favoráveis para a doença. Um dos aspectos mais importantes na epidemiologia do cancro da haste da soja é o longo período de infecção, onde o patógeno está associado à planta e não se observam sintomas da doença (RUPE,1989).

SMITH & BACKMAN (1989), estudando a epidemiologia do cancro da haste da soja, demonstraram que o estágio V6 é o mais propício para se avaliar a doença no campo e que a maior intensidade de doença foi alcançada quando as plantas foram inoculadas no estágio V3, entre 21 e 24 dias após a semeadura. As infecções que ocorreram logo após a emergência das plântulas resultaram em maior intensidade de doença, enquanto que aquelas que ocorreram nos estádios vegetativos finais não reproduziram sintomas da doença.

O ambiente exerce grande influência no desenvolvimento do cancro da haste da soja no campo e na reação de resistência dos cultivares (BACKMAN et alii,1985b). No entanto, RUPE (1989) afirmou que a forma com que os elementos climáticos atuam sobre a doença precisa ser melhor elucidada. DAMICONE et alii (1987) conduziram diversos estudos visando detectar a influência da umidade relativa do ar na incidência e severidade do cancro da haste da soja e observaram que a maior quantidade de doença foi obtida quando as plantas inoculadas permaneceram entre 48 e 96 horas em alta umidade relativa contínua e depois com ciclos alternados contínuo/descontínuo de umidade relativa dentro da casa de vegetação.

O fungo causador do cancro da haste da soja sobrevive de um ano para outro em restos de cultura infectada e em sementes armazenadas; pode ser disseminado a longas distâncias por sementes, veículos e máquinas e a



curtas distâncias pelo vento e água (BACKMAN et alii, 1985b; ROTHROCK et alii, 1988; YORINORI, 1990).

Outros fatores afetam a quantidade de doença no campo. SMITH et alii (1986) observaram que a severidade do cancro da haste da soja foi aumentada em plantas que sofreram estresse hídrico ou ataque por insetos e nematóides. RHOTON (1989) observou maior intensidade de cancro da haste da soja em plantas cultivadas em solos deficientes em potássio.

A avaliação da resistência da soja ao agente do cancro da haste em um grande número de materiais, dentro de um programa de melhoramento, exige a adoção de métodos de inoculação artificial e avaliação rápidos e eficientes (ALLEN, 1989). Um método de inoculação artificial ideal deve ser confiável, seguro e demonstrar boa correlação com as infecções naturais da doença que ocorrem no campo.

A principal desvantagem de se avaliar a resistência de genótipos a nível de campo é que a doença pode não ocorrer num determinado ano por falta de condições climáticas favoráveis. Uma alternativa seria a inoculação do patógeno no campo; no entanto, esta via é, muitas vezes, pouco prática e trabalhosa.

Os métodos de inoculação de plantas adultas de soja com suspensão de esporos ou injeção de micélio na haste da planta são técnicas promissoras para avaliação da reação de resistência cancro da haste. No entanto, o método da inserção nas plantas do palito de dente com micélio tem sido bastante difundido ultimamente (KEELING, 1982; ALLEN, 1989).

O método de inoculação com o uso palito foi usado no sistema soja versus cancro da haste, pela primeira vez, por CRALL (1952). A eficiência do método foi comprovada

posteriormente por diversos autores (FROSHEISER,1957; KEELING,1982; WENDEL & ALLEN,1986; WEAVER et alii,1988; YORINORI,1990). KEELING (1982) relatou que a utilização do método do palito de dente colonizado com micélio do patógeno reduziu o tempo de avaliação da reação de resistência dos genótipos ao cancro da haste da soja e economizou trabalho e espaço no campo.

Em fitopatologia, a adoção de técnicas de inoculação artificial, em condições controladas, é limitada pelo fato de que, nem sempre, as respostas obtidas correlacionam-se com as reações em condições naturais de infecção. No caso específico da inoculação do agente causal do cancro da haste da soja com o uso do palito colonizado pelo patógeno, não existe este problema. KEELING (1982), WEAVER et alii (1988) e YORINORI (1990) demonstraram haver boa correlação entre os resultados obtidos no campo e em casa de vegetação, de plantas inoculadas artificialmente com o patógeno e plantas infectadas naturalmente.

O controle do cancro da haste da soja pode ser feito através de diversos métodos: cultural, químico, biológico e genético. No entanto, o uso de cultivares resistentes ao patógeno é citado como sendo o mais eficiente no combate à doença, além de ser racional e econômico ao agricultor. O cancro da haste da soja, na região norte dos EUA, foi praticamente eliminado pela simples substituição dos cultivares suscetíveis por resistentes (WEAVER et alii,1984; BACKMAN et alii, 1985a; ALLEN,1989).

Uma ampla variedade de respostas de resistência de genótipos de soja ao agente causal do cancro da haste tem sido observada (SHOKES et alii, 1984; BERGGREN et alii, 1985; HARVILLE et alii, 1986; PHILLIPS & RAYMER, 1987; YORINORI,1990).



WEAVER et alii (1988) avaliaram 41 cultivares de soja da região sul dos EUA, dos grupos de maturação V ao VIII, para reação ao cancro da haste. Os cultivares foram avaliados por dois anos no campo e encontraram-se níveis desde alta suscetibilidade até alta resistência. PHILLIPS & RAYMER (1987) testaram 532 linhagens de soja para reação ao cancro da haste da soja que ocorre no sul dos EUA e observaram que 33% eram resistentes ao patógeno, 20% suscetíveis e 47% das linhagens apresentaram reações intermediárias de resistência. HARVILLE et alii (1986), trabalhando na mesma linha com 32 cultivares de soja dos grupos de maturação V ao VIII, detectaram reações distintas para resistência ao cancro da haste da soja em todos os grupos de maturação estudados.

No Brasil, os principais cultivares de soja foram testados, no campo e em casa de vegetação, para reação a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*. Dos 137 cultivares testados, 33 foram resistentes ao patógeno, 36 moderadamente resistentes, 17 moderadamente suscetíveis, 39 suscetíveis e 11 altamente suscetíveis. A quantidade de doença foi medida através do índice de infecção (IF), que é uma associação entre a incidência e a severidade da doença (YORINORI, 1990).

A suscetibilidade da soja ao cancro da haste é diretamente proporcional à taxa de crescimento do patógeno sobre a planta (DUNLAEVY, 1956). LALITHA et alii (1989) relataram que existe correlação positiva entre a quantidade de toxinas produzidas pelo patógeno e a extensão da lesão na planta. Por outro lado, PLOETZ & SHOKES (1987) afirmaram que a resistência em soja ao cancro da haste é expressada após a infecção do patógeno na planta e que os mecanismos de resistência da planta à doença ocorrem após o hospedeiro ser infectado. Cultivares de soja resistentes à doença também





WEAVER et alii (1988) avaliaram 41 cultivares de soja da região sul dos EUA, dos grupos de maturação V ao VIII, para reação ao cancro da haste. Os cultivares foram avaliados por dois anos no campo e encontraram-se níveis desde alta suscetibilidade até alta resistência. PHILLIPS & RAYMER (1987) testaram 532 linhagens de soja para reação ao cancro da haste da soja que ocorre no sul dos EUA e observaram que 33% eram resistentes ao patógeno, 20% suscetíveis e 47% das linhagens apresentaram reações intermediárias de resistência. HARVILLE et alii (1986), trabalhando na mesma linha com 32 cultivares de soja dos grupos de maturação V ao VIII, detectaram reações distintas para resistência ao cancro da haste da soja em todos os grupos de maturação estudados.

No Brasil, os principais cultivares de soja foram testados, no campo e em casa de vegetação, para reação a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*. Dos 137 cultivares testados, 33 foram resistentes ao patógeno, 36 moderadamente resistentes, 17 moderadamente suscetíveis, 39 suscetíveis e 11 altamente suscetíveis. A quantidade de doença foi medida através do índice de infecção (IF), que é uma associação entre a incidência e a severidade da doença (CYORINORI, 1990).

A suscetibilidade da soja ao cancro da haste é diretamente proporcional à taxa de crescimento do patógeno sobre a planta (DUNLAEVY, 1956). LALITHA et alii (1989) relataram que existe correlação positiva entre a quantidade de toxinas produzidas pelo patógeno e a extensão da lesão na planta. Por outro lado, PLOETZ & SHOKES (1987) afirmaram que a resistência em soja ao cancro da haste é expressada após a coinfecção do patógeno na planta e que os mecanismos de resistência da planta à doença ocorrem após o hospedeiro ser infectado. Cultivares de soja resistentes à doença também

são infectados pelo fungo; no entanto, os sintomas não progridem, devido à mecanismos de resistência bioquímicos presentes nas plantas (PLOETZ et alii, 1986; LALITHA et alii, 1989). O uso da toxina do fungo, como método de detecção da reação de resistência das plantas ao cancro da haste, não parece ser promissor. LALITHA et alii (1989) observaram que plantas suscetíveis ao cancro da haste, quando inoculadas somente com a toxina do patógeno, não reproduziram sintomas da doença.

Vários autores alertaram para a grande variabilidade existente entre diferentes isolados do fungo causador do cancro da haste da soja. KEELING (1985a), trabalhando com 29 isolados do fungo somente da região sul dos EUA, caracterizou dez patótipos distintos usando seis genótipos diferentes (Kingwa, Tracy-M, Arksoy, Centennial, S-100, e J77-339). HIGLEY & TACHIBANA (1987), trabalhando com isolados do fungo coletados no sul e norte dos EUA, observaram que seis cultivares foram resistentes aos isolados do sul e suscetíveis aos isolados do norte; outros três cultivares foram suscetíveis a todos os isolados. Os autores denominaram de raça 1 os isolados do norte e raça 2 os isolados do sul. A especialização fisiológica (raça) dentro de *Diaporthe phaseolorum* foi pouco estudada e não é aceita por muitos autores, dada a grande variabilidade do patógeno e a diversidade de respostas de resistência/suscetibilidade dos cultivares à doença (KEELING, 1985b).

MORGAN-JONES (1989) afirmou que alta variabilidade apresentada por isolados do fungo causador do cancro da haste da soja, além de outros fatores, pode estar ligada à agentes citoplasmáticos, possivelmente relacionados com o RNA (fita dupla) do fungo. Fatores como diferenças nas taxas de crescimento "in vitro" e patogenicidade podem ser explicados por esta teoria.



A alta variabilidade do patógeno tem sérias implicações na epidemiologia da doença e pode definir a durabilidade de um cultivar no campo. ALLEN (1989) afirmou que, no sistema *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* e a soja, o tempo de vida útil dos cultivares pode ser curto devido ao aparecimento de novas "raças" do patógeno no campo, resultado da pressão de seleção exercida sobre o fungo, quando se introduz um cultivar resistente. PLOETZ et alii (1986) não concordam com ALLEN (1989), pois, ressaltam que cultivares resistentes são igualmente infectados pelo patógeno, mas não apresentam sintomas da doença. Assim, o plantio de cultivares resistentes ao patógeno não deve selecionar novos patótipos.

O fato do cancro da haste da soja ter se tornado uma séria ameaça à cultura da soja em diversos países, fez crescer o número de trabalhos envolvendo a identificação de cultivares resistentes ao patógeno. O conhecimento da base genética e a herança dos fatores genéticos envolvidos na relação planta-patógeno é de vital importância ao fitomelhorista na obtenção de cultivares resistentes à uma determinada doença (PEREIRA et alii, 1985).

A base genética relacionada à resistência da soja ao agente causal do cancro da haste foi descrita, pela primeira vez, por KILEN & HARTWIG (1985). O cultivar Tracy-M (resistente) e a linhagem J77-339 (suscetível) foram usadas como parentais e a herança foi quantificada nas progênes F2 e F3 dos cruzamentos; foi observada segregação fenotípica de 15 plantas resistentes : uma planta suscetível em F2 e sete resistentes : oito segregantes : uma suscetível nas progênes F3. Os resultados indicaram que a resistência da soja ao cancro da haste, é governada por dois genes dominantes encontrados no cultivar Tracy-M.

Mais tarde, KILEN & HARTWIG (1987), trabalhando com o mesmo material genético, confirmaram a existência de dois genes dominantes no cultivar Tracy-M controlando a resistência da soja ao cancro da haste e os denominaram de Rdc1 e Rdc2 (resistência à *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* 1 e 2).

WENDEL & ALLEN (1986) confirmaram os trabalhos de KILEN & HARTWIG (1985). Avaliando todos os possíveis cruzamentos entre os parentais Tracy-M, Bay, Bragg e J77-339 para reação de resistência ao agente causal do cancro da haste da soja chegaram às seguintes conclusões: (a) o cultivar Tracy-M possui dois genes dominantes de resistência ao cancro da haste da soja (Dpc1Dpc1 e Dpc2Dpc2); (b) o cultivar Bay apresenta um gene dominante de resistência completa denominado Dpc1 (*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* 1); (c) o cultivar Bragg apresenta um gene de resistência, porém, de dominância parcial ao patógeno, denominado Dpc2 e (d) a linhagem J77-339 é homocigota recessiva para os dois genes de resistência ao patógeno.

O fato de poucos fatores genéticos estarem envolvidos na resistência da soja ao cancro da haste assegura alta herdabilidade do caráter dos parentais aos descendentes. WEAVER et alii (1988) detectaram herdabilidades entre 92 e 96% em linhagens de soja em testes de campo para reação ao cancro da haste, na região sul dos EUA.

Outros sistemas genéticos podem estar envolvidos na resistência da soja ao cancro da haste, além deste conhecido na cultivar Tracy-M. WEAVER et alii (1988) afirmaram que o cultivar Centennial têm apresentado uma certa tolerância à doença no campo e alertou que este mecanismo pode ser



explorado nos programas de melhoramento. BACKMAN et alii (1985b) recomendam o emprego do cultivar Centennial em projetos de melhoramento, pelo fato deste apresentar resistência a todo o complexo de nematóides que ataca a cultura da soja.

O melhoramento visando a incorporação de genes de resistência ao cancro da haste da soja, em cultivares suscetíveis ao patógeno, pode ser feito em curto espaço de tempo com a utilização de pequenas populações de plantas, pois, a resistência é controlada por um pequeno número de genes (ALLEN, 1989). Os cultivares americanos CNS, Tracy-M e Centennial são referências importantes para os programas de melhoramento em soja visando a incorporação de fatores de resistência (KEELING, 1985b). Programas de melhoramento em soja visando resistência ao cancro da haste podem ser conduzidos através dos métodos do "pedigree", "pedigree" modificado e retrocruzamento, sendo este último a via mais rápida para se obter cultivares resistentes (BACKMAN et alii, 1985a; ALLEN, 1989).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP, durante o ano de 1991.

#### 3.1. Cultivares e cruzamentos

Foram utilizados como parentais os cultivares de soja IAC-Foscarin-31, Primavera, Paraná e Forrest pertencentes à Coleção de Germoplasma do Setor de Genética Aplicada às Espécies Autógamas do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" da Universidade de São Paulo. A descrição de alguns caracteres botânicos e agronômicos, bem como a reação de resistência a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* (D.p.m.) de cada cultivar de soja encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição de alguns caracteres botânicos e agronômicos dos cultivares de soja utilizados como parentais e a reação a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*. Piracicaba-SP, 1992.

CULTIVAR	REGISTRO N.º ESALQ	CICLO <sup>1</sup> (DIAS)	CÔR DA FLÔR	CÔR DA PUBESC.	CÔR DO HILO	REAÇÃO A D. p. m. <sup>2</sup>
IAC-FOSCARIN	102	134	BRANCA	CINZA	CREME	RESISTENTE
PRIMAVERA	290	120	ROXA	CINZA	PRÊTO	RESISTENTE
PARANÁ	106	130	BRANCA	CINZA	CREME	SUSCETÍVEL
FORREST	54	122	BRANCA	MARRON	PRÊTO	SUSCETÍVEL

<sup>1</sup> NÚMERO DE DIAS PARA A M A T U R I D A D E; <sup>2</sup> C O N F O R M E Y O R I N O R I (1990).

Juntamente com os parentais foram testados, para a reação de resistência a D.p.m., os seguintes cruzamentos dialélicos sem recíprocos: IAC-Foscarin-31 X Paraná (USP 90.001), Primavera X Paraná (USP 90.002), Paraná X Forrest (90.003), IAC-Foscarin-31 X Primavera (USP 90.004), IAC-Foscarin-31 X Forrest (USP 90.005) e Forrest X Primavera (USP 90.006). Os seis cruzamentos dialélicos, cada um deles constituído por um "bulk" na geração F7, não sofreram seleção artificial para nenhum carácter, sendo cultivados de F2 a F6 na ausência do patógeno.

As sementes dos cultivares e dos cruzamentos foram cedidas pelo Setor de Genética Aplicada às Espécies Autógamas da ESALQ/USP, por intermédio do professor Dr. Natal A. Vello do Departamento de Genética da ESALQ.

### 3.2. Obtenção e manutenção do isolado

O isolado de D.p.m. utilizado foi proveniente de plantas de soja do cultivar Davis, fornecido pelo pesquisador Dr. José Tadashi Yorinori do Centro Nacional de Pesquisa de Soja da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, situado em Londrina-PR. O isolado, segundo o pesquisador, foi o que apresentou maior patogenicidade à soja dentre os diversos isolados testados.

O isolado foi mantido através de transferências sucessivas em meio de cultura composto de batata-dextrose-agar (BDA) de onde foi retirado para execução dos trabalhos.

### 3.3. Preparo das plantas para inoculação

As plantas de soja a serem inoculadas foram cultivadas em vasos de alumínio com capacidade de 2,0 litros. O substrato para o desenvolvimento das plantas foi



uma mistura homogeneizada de solo argiloso peneirado, esterco de curral curtido e peneirado e areia grossa na proporção de 3 : 1,5 : 1, respectivamente. Após a mistura o substrato foi esterilizado em autoclave a 120°C por duas horas e utilizado após 15 dias. Os vasos com as plantas foram mantidos em casa de vegetação recebendo irrigação diária.

Em cada vaso foram distribuídas aproximadamente 12 sementes de soja e, antes do momento da inoculação, foi feito um desbaste deixando-se 5 plantas por vaso, submetidas posteriormente à inoculação.

#### 3.4. Preparo do inóculo

O inóculo utilizado neste trabalho foi produzido em palitos de dente colonizados com micélio do fungo, segundo técnica descrita por KEELING (1982), modificada por YORINORI (1991). Os palitos de dente comuns foram cortados com tesoura apropriada à um quarto do tamanho normal e afinados, visando diminuir o dano mecânico às plantas no momento da inoculação. Em seguida os palitos foram fervidos em água destilada por 30 minutos, com três trocas sucessivas de água visando a eliminação de possíveis agentes tóxicos às plantas ou algum inibidor fúngico. Antes de serem colocados em contato com o micélio do fungo, os palitos foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.

O micélio do fungo foi repicado da cultura matriz em tubo para placa de Petri contendo BDA; após 4 dias de incubação a 24 - 26°C no escuro, foram transferidos 5 a 6

discos de micélio medindo 5 mm de diâmetro para outra placa de Petri com BDA. Os palitos a serem colonizados pelo fungo foram colocados nesta mesma placa na posição vertical com a ponta afinada externa ao meio de cultura em número de 50 a 60 por placa. Após 4 dias de incubação sob as mesmas condições anteriores os palitos estavam prontos para o uso.

### 3.5. Inoculação e instalação dos experimentos

A técnica de inoculação usada foi uma adaptação do método do palito de dente colonizado com micélio do fungo, descrito por KEELING (1982). As plantas foram inoculadas no estágio V1 (COSTA & MARCHEZAN, 1989), cerca de 10 dias após a sementeira, através da inserção direta do palito com micélio do patógeno à 1 cm abaixo do cotilédone da planta. As inoculações foram realizadas sempre ao final da tarde.

As plantas, após a inoculação, foram mantidas em câmaras com umidade relativa próxima à 100%. Cada câmara constituiu-se de uma armação medindo 40 x 55 x 45 cm, revestida com filme plástico transparente, com capacidade de comportar 6 vasos. A umidade relativa na câmara foi regulada através de irrigação contínua dos vasos e colocação de serragem de madeira no seu interior que também sofria irrigação. As plantas foram mantidas na câmara úmida por 72 horas quando, então, foram colocadas em bancadas na casa de vegetação até a data da avaliação; repetiu-se este procedimento para as quatro inoculações que ocorreram à cada sete dias.



Os experimentos em casa de vegetação foram realizados entre agosto e novembro de 1991. A temperatura no interior da casa de vegetação no período oscilou entre mínima de 15°C e máxima de 38°C, em curtos períodos de tempo. A temperatura elevou-se sensivelmente no período que coincidiu com as duas últimas repetições (inoculação à avaliação); neste período registraram-se em média 244 horas com temperaturas acima de 24°C, enquanto que nos períodos das duas primeiras repetições foram registradas, em média, 145 horas de temperatura acima de 24°C. A umidade relativa do ar dentro da casa de vegetação variou entre 35 e 90%.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com 10 tratamentos (4 parentais e 6 cruzamentos) e quatro repetições. Em cada tratamento (genótipo) foram inoculadas 100 plantas, divididas em 4 repetições de 25 plantas. Em cada repetição foram inoculadas, no total, 250 plantas, respeitando-se o intervalo de sete dias entre uma repetição e a seguinte.

A primeira inoculação foi realizada em 27 de setembro de 1991; a segunda em 04 de outubro; a terceira em 11 de outubro e a última inoculação em 18 de outubro. A semeadura foi realizada 10 dias antes da data de cada inoculação. O preparo do inóculo foi iniciado 8 dias antes da data de cada inoculação, fazendo-se coincidir o desenvolvimento da planta com a disponibilidade de inóculo.

### 3.6. Critérios de avaliação

#### 3.6.1. Incidência

A incidência da doença foi medida através da contagem do número de plantas mortas ou murchas e posterior transformação em porcentagem. A avaliação da incidência foi realizada aos 17 dias após a inoculação nas três primeiras repetições e aos 15 dias na última repetição.

### 3.6.2. Severidade

A avaliação da severidade do cancro da haste da soja foi feita seguindo uma escala de notas proposta por WEAVER et alii (1988), composta de notas que variam de 1 a 5, descritas a seguir: 1 = ausência de sintomas; 2 = manchas em torno do ferimento; 3 = lesão < 5 mm de extensão; 4 = lesão entre 5 e 20 mm de extensão ou plantas murchas e 5 = lesão > 20 mm de extensão ou plantas mortas.

A avaliação da severidade do cancro da haste nas plantas inoculadas foi feita através de abertura das hastes das plantas na altura do ponto de inserção dos palitos; mediu-se a extensão da lesão interna (escurecimento) causado pela ação do patógeno na medula da planta e, em seguida, foi atribuída nota segundo a escala anteriormente descrita.

A avaliação da severidade da doença foi realizada decorridos 20 dias da inoculação nas duas primeiras repetições; aos 17 dias na terceira e aos 15 dias na quarta repetição. As duas últimas avaliações foram realizadas simultaneamente com a avaliação da incidência da doença.

### 3.7. Análises estatísticas e genéticas

As análises estatísticas foram realizadas segundo o delineamento experimental de blocos ao acaso, com dados de incidência e de severidade coletados nos experimentos.

Os valores de incidência (porcentagem de plantas mortas/murchas) foram transformados segundo a fórmula  $\sqrt{x+1}$  onde x representa a porcentagem de plantas mortas/murchas, para serem submetidos à análise de variância.



Os valores de severidade da doença foram obtidos através das notas individuais de cada planta segundo a escala de notas de WEAVER et alii (1988). Em cada repetição (25 plantas), foi determinado o número de plantas com cada uma das 5 notas (1 a 5). A severidade foi a média ponderada calculada através da multiplicação do número de plantas com cada nota pela respectiva nota, dividido por 25 (total de plantas inoculadas). A severidade do cancro da haste exibida em cada tratamento (genótipo) foi a média aritmética dos valores das quatro repetições. Os dados de incidência e severidade foram submetidos às análises de variância com a finalidade de se verificar diferenças entre a resistência a D.p.m. dos genótipos estudados. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5 e 1% (GOMES, 1990). Mediu-se também a correlação entre incidência e severidade, calculando-se o coeficiente de correlação ( $r$ ) e a equação da curva de regressão linear que melhor se ajustou aos dados da interrelação.

O teste do qui-quadrado ( $X^2$ ) foi aplicado com a finalidade de avaliar a segregação dos cruzamentos dialélicos para a reação de resistência a D.p.m. (incidência) e, conseqüentemente, estimar o número de genes envolvidos na resistência da soja ao cancro da haste (STEEL & TORRIE, 1980).

As proporções fenotípicas (plantas resistentes : plantas suscetíveis) esperadas dos genótipos estudados quanto a resistência a D.p.m. encontram-se na Tabela 2, sendo cada cruzamento constituído por um "bulk" na geração F7, consideraram-se 1 a 4 genes de dominância completa, com ausência de epistasia, envolvidos na herança da resistência ao cancro da haste.





Tabela 2. Proporções fenotípicas (resistentes : suscetíveis) esperadas em quatro parentais e seis cruzamentos dialélicos entre eles (cada cruzamento é constituído por um "bulk" na geração F7) à reação a D.p.m., para 1 a 4 genes, considerando-se genes de dominância completa e ausência de epistasia e parentais contendo os mesmos genes de resistência.

GENÓTIPO	1 GENE	2 GENES	3 GENES	4 GENES
IAC-FOSCARIN-91 (R)	1:0*	1:0	1:0	1:0
PRIMAVERA (R)	1:0	1:0	1:0	1:0
FORREST (S)	0:1	0:1	0:1	0:1
PARANÁ (S)	0:1	0:1	0:1	0:1
IAC X PRI (R X R)	1:0	1:0	1:0	1:0
IAC X FOR (R X S)	1:1	3:1	7:1	15:1
IAC X PAR (R X S)	1:1	3:1	7:1	15:1
PRI X FOR (R X S)	1:1	3:1	7:1	15:1
PRI X PAR (R X S)	1:1	3:1	7:1	15:1
FOR X PAR (S X S)	0:1	0:1	0:1	0:1

\* PLANTAS RESISTENTES : PLANTAS SUSCETÍVEIS.

Foram realizadas análises de variância dos dados de incidência e severidade com o desmembramento dos genótipos avaliados em parentais, cruzamentos e parentais vs. cruzamentos; desta forma, obtiveram-se os elementos sobre a avaliação do comportamento dos parentais e cruzamentos no tocante à reação de resistência a D.p.m. e para a estimativa da herdabilidade.

O coeficiente de herdabilidade, no sentido amplo, calculado com base nas médias de incidência da doença dos genótipos testados, foi obtido através dos componentes de variância descritos no esquema mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Esquema de análise de variância da incidência de D.p.m. dos genótipos estudados com o desmembramento entre parentais, cruzamentos e parentais vs. cruzamentos e as esperanças matemáticas dos quadrados médios.

F. V.	G. L.	Q. M.	E(Q. M.)
GENÓTIPOS	(G-1)	Q <sub>6</sub>	
PARENTAIS	(P-1)	Q <sub>5</sub>	
CRUZAMENTOS	(C-1)	Q <sub>4</sub>	$\sigma^2 + B\sigma_G^2$
PAR. vs. CRUZ.	1	Q <sub>3</sub>	
BLOCOS	(B-1)	Q <sub>2</sub>	
RESÍDUO	(B-1)(G-1)	Q <sub>1</sub>	$\sigma^2$
TOTAL	(BG-1)		

O coeficiente de herdabilidade ( $h^2$ ) foi calculado dividindo-se a variância genotípica ( $\sigma_G^2$ ) pela variância fenotípica ( $\sigma_F^2$ ), conforme FALCONER (1981); as variâncias foram estimadas através dos elementos descritos na Tabela 3 e obtidas da seguinte forma:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2}$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \frac{Q_4 - Q_1}{B};$$

$$\hat{\sigma}_F^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \frac{\sigma^2}{B} = \frac{Q_4}{B}$$

onde:  $h^2$  = herdabilidade no sentido amplo, com base nas médias dos cruzamentos em B blocos (repetições);  $\sigma_G^2$  = variância genotípica;  $\sigma_F^2$  = variância fenotípica;  $\sigma^2$  = variância experimental (residual).

A variância genotípica foi considerada ser de natureza aleatória, devido envolver as médias de todos os cruzamentos dialélicos. Desta forma, a estimativa obtida para a herdabilidade representa uma herdabilidade média da população formada pelos seis cruzamentos.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Avaliação da resistência da soja a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*

##### 4.1.1 Avaliação segundo a incidência da doença

Na Tabela 4 são apresentados os dados originais da incidência do cancro da haste da soja dos parentais e progênies dos cruzamentos testados para reação de resistência a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

Tabela 4. Incidência do cancro da haste da soja em genótipos de soja (parentais e cruzamentos) testados sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP, 1992.

GENÓTIPOS	REAÇÃO AO PATÓGENO	INCIDÊNCIA <sup>2</sup>				MÉDIA <sup>3</sup>	
		I	II	III	IV		
IAC-FOSCARIN-31	(R) <sup>1</sup>	00	12	00	08	05	d
PRIMAVERA	(R)	08	12	00	04	06	d
PARANÁ	(S)	92	80	56	44	68	a
FORREST	(S)	100	100	88	80	92	a
IAC x PAR	(R x S)	40	24	12	12	22	b
PRI x PAR	(R x S)	40	36	28	16	30	b c
PAR x FOR	(S x S)	84	88	72	56	76	a
IAC x PRI	(R x R)	24	12	00	00	09	d
IAC x FOR	(R x S)	40	16	16	20	23	b c
PRI x FOR	(R x S)	24	24	20	12	20	c d

<sup>1</sup> R = Resistente; S = Suscetível. Conforme YORINORI, (1990).

<sup>2</sup> % de plantas mortas/murchas.

<sup>3</sup> Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (CV = 12,74%).

Os resultados apresentados na Tabela 4 confirmaram a reação de resistência a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* dos cultivares IAC-Foscarin-31 e Primavera, utilizados como parentais resistentes, bem como a reação de suscetibilidade dos cultivares Paraná e Forrest, usados como parentais suscetíveis ao patógeno, conforme relatado por YORINORI (1990).

O critério de avaliação da doença segundo a incidência, com o uso do palito de dente colonizado com o patógeno, conseguiu discriminar a reação de resistência ao cancro da haste da soja do cruzamento IAC - Foscarin-31 (IAC) x Primavera(PRI) [R x R]; a reação de suscetibilidade no cruzamento Paraná (PAR) x Forrest (FOR) [S x S] e reações intermediárias de resistência nos cruzamentos IAC x PAR (RxS); PRI x PAR (RxS); IAC x FOR (RxS) e PRI x FOR (RxS).

A incidência do cancro da haste da soja nos materiais testados foi menor nas duas últimas repetições do experimento; este fato pode ser explicado, provavelmente, por um aumento considerável da temperatura na casa de vegetação neste período, que pode ter interferido no crescimento mais rápido das plantas e na redução do desenvolvimento do patógeno.

A avaliação da quantidade de doença segundo o critério da incidência do cancro da haste em soja se mostrou eficiente, simples e objetiva para detectar a resistência dos genótipos testados.

A redução do número de dias para avaliação da incidência da doença de 17 para 15 dias após a inoculação, não interferiu na resposta de reação de resistência dos genótipos testados. O encurtamento do tempo para avaliação da resistência de genótipos é desejável, principalmente em programas de melhoramento onde um grande número de linhagens precisam serem testadas rapidamente. O tempo para avaliação da reação de resistência foi consideravelmente reduzido em



comparação àqueles utilizados por KEELING (1982) e KILEN & HARTWIG (1987), de 30 e 40 dias, respectivamente.

A Tabela 5 mostra o quadro de análise de variância com o desmembramento dos genótipos em parentais, cruzamentos e parentais vs. cruzamentos, das médias transformadas da incidência do cancro da haste.

Tabela 5. Análise de variância da incidência do cancro da haste em genótipos de soja (média transformada em  $\sqrt{x+1}$ ) com desmembramento dos genótipos. Piracicaba-SP, 1992.

FONTE DE VARIAÇÃO	G. L.	S. Q.	Q. M.
GENÓTIPO	09	56,508	6,278 **
PARENTAIS	09	38,528	12,842 **
CRUZAMENTOS	05	17,286	3,457 **
PAR. vs. CRUZ.	01	0,693	5,299 **
BLOCOS	03	4,654	
RESÍDUO	27	3,573	0,132

\*\* Significância dos QM pelo teste F a 1% de probabilidade.

A análise da variância da incidência da doença com desmembramento dos genótipos mostrou que entre os cruzamentos testados houve diferenças de respostas para a criação de resistência a D.p.m., com base no comportamento médio dos parentais, e que existem cruzamentos com maior probabilidade de gerar descendentes com bom nível de resistência ao patógeno.

#### 4.1.2 Avaliação segundo a severidade da doença

Na Tabela 6 são apresentados os valores da severidade do cancro da haste dos genótipos testados (parentais e cruzamentos).



Tabela 6. Médias ponderadas da severidade de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em genótipos de soja, testados sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP, 1992.

GENÓTIPO	REPETIÇÃO				MÉDIA	
	I	II	III	V		
IAC-FOSCARIN-31 (R)	1,79	2,28	1,62	1,76	1,85 <sup>1</sup>	c
PRIMAVERA (R)	1,66	1,66	1,55	1,52	1,59	c
PARANÁ (S)	4,31	4,31	4,14	4,00	4,19	a
FORREST (S)	4,31	4,31	4,28	4,17	4,27	a
IAC x PAR (R x S)	3,14	2,55	2,07	2,62	2,59	b
PRI x PAR (R x S)	3,17	2,97	2,62	2,99	2,92	b
PAR x FOR (S x S)	4,31	4,31	4,21	4,09	4,22	a
IAC x PRI (R x R)	2,24	2,07	1,69	1,69	1,92	c
IAC x FOR (R x S)	2,76	2,72	2,48	2,52	2,62	b
PRI x FOR (R x S)	2,97	2,52	2,34	2,55	2,59	b

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 6, foi possível separar os genótipos em 3 classes distintas para reação de resistência a D.p.m.. Os genótipos IAC-Foscarin-31, Primavera e o cruzamento IAC-Foscarin-31 x Primavera foram resistentes ao patógeno; os genótipos Paraná, Forrest e o cruzamento Paraná x Forrest foram suscetíveis ao patógeno e os cruzamentos IAC x PAR, PRI x PAR, IAC x FOR e PRI x FOR apresentaram reação intermediária de resistência ao patógeno.

De maneira análoga à incidência, observou-se também uma redução na severidade do cancro da haste nas duas últimas repetições do experimento, provavelmente devido ao aumento da temperatura na casa de vegetação no período.

A avaliação da intensidade de doença segundo o critério da severidade, seguindo a escala de notas sugerida

por WEAVER et alii (1988), mostrou-se eficiente na discriminação dos genótipos de soja testados; no entanto, este método exige maior tempo do avaliador para abertura das plantas e medição da lesão interna do cancro. Outro fator que deve ser considerado no emprego deste método refere-se ao fato de que nem sempre o tamanho da lesão interna da medula provocada pela ação do patógeno corresponde ao desenvolvimento do fungo, que pode ser mais restrito. KEELING (1988b) sugere que a necrose está relacionada com a produção de uma fitotoxina na interação planta-patógeno e que a extensão da necrose no interior da haste (medula) pode não representar o crescimento real do fungo na planta.

O espaço de tempo entre a inoculação e a avaliação da severidade das plantas inoculadas foi de 20 dias nas duas primeiras avaliações e de 17 e 15 dias nas duas últimas avaliações. A mudança no período não influenciou na resposta de reação de resistência a D.p.m.. Assim, decorridos 15 dias das inoculações, foi possível avaliar-se os genótipos para reação ao cancro da haste da soja. Este dado é relevante pois, diminui o tempo de avaliação de genótipos, que é um fator desejável em programas de melhoramento. Outros autores, trabalhando em casa de vegetação, citaram a necessidade de 30 a 40 dias para se avaliar a resistência de genótipos ao cancro da haste (KEELING, 1982; WEAVER et alii, 1988).

A Tabela 7 mostra o quadro de análise de variância da severidade do cancro da haste apresentadas pelos genótipos de soja testados e o desmembramento dos genótipos em parentais, cruzamentos e parentais vs. cruzamentos.



Tabela 7. Análise de variância da severidade do cancro da haste em genótipos de soja com o desmembramento dos genótipos. Piracicaba-SP, 1992.

FONTE DE VARIAÇÃO	G.L.	S. Q.	Q. M.
GENÓTIPO	09	37,090	4,211 **
PARENTAIS	09	25,217	8,405 **
CRUZAMENTOS	05	11,611	2,322 **
PARENT. vs. CRUZ.	01	0,262	0,262 **
BLOCOS	09		
RESÍDUO	27	0,779	0,028

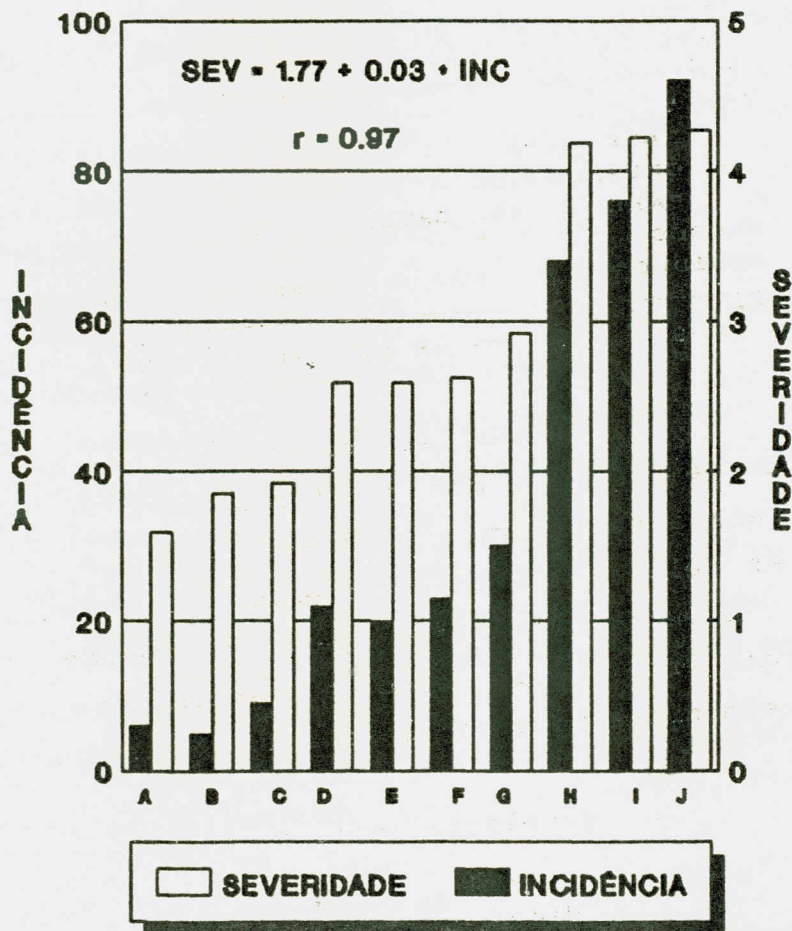
\*\* Significância dos QM pelo teste F a 1% de probabilidade.

A análise da variância da severidade com o desmembramento dos genótipos mostrou que houve diferenças para a reação de resistência a D.p.m. entre os cruzamentos em relação ao comportamento dos parentais, e que existem cruzamentos melhores para a reação de resistência ao patógeno. Neste caso a escolha de um cruzamento pelo melhorista pode ser orientada de maneira mais racional.

#### 4.2. Correlação entre incidência e severidade

Os dados originais de incidência do cancro da haste dos genótipos testados foram correlacionados com os dados de severidade. A correlação entre os dois critérios de avaliação da quantidade de doença foi feita mediante regressão linear simples. A Figura 1 mostra, graficamente, os valores correlacionados, a equação da severidade em função da incidência e o valor do coeficiente de correlação (r).





A = Primavera      D = IAC x PAR      G = PRI x PAR  
 B = IAC-Foscarin-31      E = PRI x FOR      H = Paraná      J = Forrest  
 C = IAC x PRI      F = IAC x FOR      I = PAR x FOR

Figura 1. Correlação entre os dados de incidência e severidade do cancro da haste, em genótipos de soja, testados sob condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Piracicaba-SP,

Houve boa correlação entre os dados de incidência e severidade da doença ( $r = 0.97$ ). As variáveis são interdependentes, ou seja, à medida que ocorre um aumento na incidência da doença observa-se também um aumento na severidade. Uma vez que os dados de incidência e severidade da doença apresentaram alto nível de correlação, a opção pelo critério da incidência é mais lógico, pois, é seguro, direto, mais rápido e tão eficiente quanto o critério da severidade.

O método de inoculação usando o palito de dente colonizado com micélio do patógeno foi eficiente na discriminação dos materiais com relação à reação a D.p.m. tanto para incidência como para severidade. Tal fato é importante, considerando-se a boa correlação entre o método do palito e a resposta dos cultivares ao nível de campo, como relataram WEAVER et alii (1988).

#### 4.3. Herança de resistência da soja a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*

A herança da resistência da soja a D.p.m. foi detectada através dos dados de incidência do cancro da haste nos cruzamentos contrastantes quanto à reação ao patógeno. A Tabela 8 mostra a reação de resistência : suscetibilidade dos parentais e cruzamentos contrastantes de soja a D.p.m. e os valores de  $X^2$  dos cruzamentos para 1, 2 e 3 genes de resistência.

Tabela 8. Reação a D.p.m. de genótipos de soja (parentais e cruzamentos contrastantes) [incidência] e os valores de  $X^2$  para a característica governada por 1, 2 e 3 genes. Piracicaba-SP, 1992.

GENÓTIPO	REAÇÃO A DOENÇA		VALOR DE $(X^2)$ <sup>1</sup>		
	RESIST.	SUSCET.	1 GENE	2 GENES	3 GENES
IAC-FOSCARIN 31	95	05	-	-	-
PRIMAVERA	94	06	-	-	-
PARANÁ	32	68	-	-	-
FORREST	08	92	-	-	-
IAC x PAR	78	22	31,36**	0,48 n. s.	8,25**
PRI x PAR	70	30	16,00**	1,33 n. s.	28,00**
IAC x FOR	77	23	29,16**	0,21 n. s.	10,08**
PRI x FOR	80	20	36,00**	1,33 n. s.	5,14*

<sup>1</sup> Níveis de significância do teste  $X^2$  para 1 a 5% de probabilidade, conforme STEEL & TORRIE (1980).

<sup>2</sup> R = % de indivíduos resistentes, S = % de indivíduos suscetíveis (plantas mortas/murchas).

Os cruzamentos entre parentais contrastantes para resistência a D.p.m. (IAC-Foscarin-31 x Paraná, Primavera x Paraná, IAC-Foscarin-31 x Forrest e Primavera x Forrest) apresentaram proporções fenotípicas de três plantas resistentes para uma planta suscetível ao patógeno.

Os dados da Tabela 8 mostram que os valores de  $X^2$  foram não significativos para 2 genes e significativos para 1 e 3 genes. Conforme demonstrado na Tabela 2, foi confirmada a segregação de três plantas resistentes para uma planta suscetível em F7 nos cruzamentos contrastantes a D.p.m., o que significa a ação de dois genes dominantes de resistência ao cancro da haste localizados nos cultivares IAC-Foscarin-31 e Primavera. Tal constatação foi possível na análise da geração F7 dos seis cruzamentos dialélicos, devido o material pertencer a um "bulk" e que nunca sofreu



seleção artificial para qualquer caráter. Resultados semelhantes foram obtidos por KILEN et alii (1985), WENDEL & ALLEN (1986) e KILEN & HARTWIG (1987), que detectaram a presença de dois genes controlando a resistência ao patógeno no cultivar Tracy-M. KILEN et alii (1985) demonstraram ainda que apenas um gene de resistência na planta é capaz de conferir a resistência ao patógeno.

Sugere-se que os dois genes dominantes de resistência a D.p.m., presentes nos cultivares IAC-Foscarin-31 e Primavera, sejam denominados Rdm1Rdm1 e Rdm2Rdm2 (resistência a D.p.m. 1 e 2); e os Paraná e Forrest sejam homozigotos recessivos para os dois genes.

O fato de resistência a D.p.m. em soja ser de natureza qualitativa (dois genes) facilita ao fitomelhorista a obtenção de cultivares resistentes ao patógeno. A transferência dos genes de resistência a D.p.m. para cultivares suscetíveis pode-se dar em curto tempo, utilizando-se o método do retrocruzamento (ALLEN, 1989; BACKMAN et alii, 1985a).

Considerando que : (a) o germoplasma brasileiro de soja tem na sua constituição genética considerável influência do cultivar norte americano CNS (VELLO, 1985); (b) os cultivares norte americanos Tracy-M, Bay e Bragg possuem genes de resistência ao cancro da haste da soja e têm em comum o ancestral CNS (WENDEL & ALLEN, 1986); (c) os cultivares plantados no Brasil e na região sul dos EUA pertencem a grupos de maturação semelhantes (SEDIYAMA et alii, 1989). Há evidências de que: (a) os genes de resistência da soja que conferem resistência a D.p.m. no sul dos EUA são os mesmos que ocorrem nos cultivares resistentes no Brasil; (b) o patógeno que afeta a soja no sul dos EUA é o mesmo que ocorre no Brasil.

#### 4.4. Herdabilidade.

A herdabilidade média da população formada pelos seis cruzamentos dialélicos foi estimada a partir dos dados apresentados na Tabela 5. O valor obtido foi de 0.96. O alto valor do coeficiente de herdabilidade é justificado por se tratar de um caráter genético controlado por poucos genes, neste caso dois. Dados similares foram obtidos por WEAVER et alii (1988).

## 5. CONCLUSÕES.

Do presente trabalho podem ser tiradas as seguintes conclusões:

Os cultivares IAC-Foscarin-31 e Primavera são resistentes a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* e podem ser utilizados como fontes de resistência ao patógeno em programas de melhoramento, enquanto, os cultivares Paraná e Forrest são suscetíveis a D.p.m..

Os critérios utilizados na quantificação da intensidade do cancro da haste da soja, incidência e severidade, possuem alta correlação.

A avaliação da resistência em soja ao agente do cancro da haste, segundo o critério da incidência, foi mais rápida, prática e objetiva.

O método de inoculação usando o palito colonizado com o patógeno foi eficiente e seguro na discriminação da resistência dos genótipos de soja a *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*.

A resistência dos cultivares IAC-Foscarin - 31 e Primavera a D.p.m é controlada por dois genes dominantes e os cultivares Paraná e Forrest são homozigotos recessivos para os dois genes.

A resistência da soja a D.p.m. é altamente herdável.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, F. L. Breeding for resistance to stem canker. In: WORLD SOYABEAN RESEARCH CONFERENCE, 4., Buenos Aires, 1989. Proceedings, Buenos Aires Asociacion Argentina de la Soya, 1989. v. 3, p. 1155-60.
- ATHOW, K. L. & CALDWELL, R. M. A comparative study of Diaporthe stem canker and pod and stem blight of soybeans. *Phytopatology*, St. Paul, 44: 319-25, 1954.
- BACKMAN, P. A.; WEAVER, D. B.; MORGAN-JONES, G. Etiology, epidemiology and control of stem canker. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 3., Iowa, 1984. Proceedings. Boulder, Westview Press, 1985a. p. 589-97.
- BACKMAN, P. A.; WEAVER, D. B.; MORGAN-JONES, G. Soybean stem canker: an emerging disease problem. *Plant Disease*, St. Paul, 69: 641-7, 1985b.
- BERGGREN, G. T.; SNOW, J. P.; HARVILLE, B. G.; WHITAN, H. K. Soybean cultivar reactions to stem canker in Louisiana a two years summary. *Phytopatology*, St. Paul, 75: 498, 1985.

CRALL, J. M. A toothpick tip method of inoculation. In: ANNUAL MEETING OF THE APS, 43, Cincinnati, 1951. Abstracts. *Phytopatology*, St. Paul, 42: 5, Jan./Dez. 1952.

COSTA, J. A. & MARCHESAN, E. Características dos estádios de desenvolvimento da soja. Campinas, Fund. Cargill, 1982. 30p.

DAMICONE, J. P.; BERGGREN, G. T.; SNOW, J. T. Effect of moisture of soybean stem canker development. *Phytopatology*, St. Paul, 77: 1568-72, 1987.

DUNLEAVY, J. M. A method for determining stem canker resistance in soybean. *Proceedings Iowa Academic Science*, 63: 274-9, 1956. In: SINCLAIR, J. B.; DHINGRA, O. D. An annotated bibliography of soybean diseases 1882-1974. Urbana, University of Illinois, 1975. p. 57.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de soja 1987/1988. Londrina, 1988. 405 p.

FALCONER, D. S.; Introduction to quantitative genetics. 2. ed. New York, Longman, 1980. 279 p.

FROSHEISER, F. I.; Studies of the etiology and epidemiology of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, the cause of stem canker of soybeans. *Phytopatology*, St. Paul, 47: 87-94, 1957.

GOMES, F. P. Curso de estatística experimental. 13. ed., Piracicaba, 1990. 467.

HARVILLE, B. G.; BERGGREN, G. T.; SNOW, J. P.; WHITAM, H. K.  
Yield reductions caused by stem canker in soybean  
(*Glycine max.*). Crop Science, Madison 26: 614-6, 1986.

HIGLEY, P. M. & TACHIBANA, H. Physiologic specialization of  
*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in soybean. Plant  
Disease, St. Paul, 71: 815-7, 1987.

HOBBS, T. W. & PHILLIPS, D. V. Identification of *Diaporthe*  
and *Phomopsis* isolates from soybean. Phytopathology, St.  
Paul, 75: 500, 1985.

KEELING, B. L. A seedling test for resistance to soybean  
stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* f. sp.  
*caulivora*. Phytopathology, St. Paul, 77: 807-9, 1982.

KEELING, B. L. Observations on pathotypes of *Diaporthe*  
*phaseolorum* var. *caulivora*. Phytopathology, St. Paul, 75:  
501, 1985a.

KEELING, B. L. Soybean cultivar reactions to soybean stem  
canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* and  
pathogenic variation among isolates. Plant Disease, St.  
Paul, 69: 132-3, 1985b.

KEELING, B. L. Influence of temperature on growth and  
pathogenicity of geographic isolates of *Diaporthe*  
*phaseolorum* var. *caulivora*. Plant Disease, St. Paul, 72:  
220-2, 1988a.

KEELING, B. L. Measurement of soybean resistance to stem  
canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*.  
Plant Disease, St. Paul, 73: 217-20, 1988b.





KILEN, T. C.; HARTWIG, E. E. Identification of single genes controlling resistance to stem canker in soybean. *Crop Science*, Madison, 27: 863-4, 1987.

KILEN, T. C.; KEELING, B. L.; HARTWIG, E. E. Inheritance of reaction to stem canker in soybean. *Crop Science*, Madison, 25: 50-1, 1985.

KMETZ, K. T.; SCHMITTHENNER, A. F.; ELLETT, C. W. Soybean seed decay: prevalence of infection and symptom expression caused by *Phomopsis* sp., *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. *Phytopatology*, St. Paul, 68: 836-40, 1978.

KULIK, M. M. A variant of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* with "atypical" ascospores. In: CONFERENCE ON DIAPORTHE/PHOMOPSIS DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN, Fort Walton Beach, 1964. Abstracts. Beltsville, USDA/Plant Genetics and Germoplasm Institute, 1984 p.2.

LALITHA, B.; SNOW, J. P.; BERGGREN, G. T.; Phytotoxin production by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, the causal organism of stem canker of soybean. *Phytopatology*, St. Paul, 79: 499-504, 1989.

McGEE, D. C. & BIDDLE, A. Seedborne *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in Iowa and its relationship to soybean stem canker in the southern USA. *Plant Disease*, St. Paul, 71: 620-2, 1987.

MORGAN-JONES, G. The *Diaporthe/Phomopsis* complex: taxonomic considerations. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 4. , Buenos Aires, 1989. Proceedings. Buenos Aires. Association Argentina de la Soya, 1989. v.4, p. 1694-706.

- SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M. G.; SEDIYAMA, C. S.; GOMES, J. L.  
L. Cultura da soja; I parte. Viçosa, Imprensa  
Universitária - UFV, 1989 96p.
- SHOKES, F. M.; KUCHAREK, T. A.; SPRENKEL, R. K. Soybean  
stem canker in Florida. *Phytopatology*, St. Paul, 74: 853,  
1984.
- SINCLAIR, J. B. Compendium of soybean diseases. 3. ed. St.  
Paul, APS, 1989. 155p.
- SMITH, E. F.; BACKMAN, P. A.; CRAWFORD, M. A. Epidemiology of  
*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* and stem canker  
development in southern soybeans. *Phytopatology*, St.  
Paul, 76: 1094, 1986.
- STEEL, R. G. D. & TORRIE, J. H. Principles and procedures of  
statistics; a biometrical approach 2. ed. New York,  
McGraw-Hill, 1980. 633p.
- THREIENEM, J. T.; KOMMEDAHL, T.; KLUG, R. J. Hybridization  
between radiation induced mutants of two varieties of  
*Diaporthe phaseolorum*. *Phytopatology*, St. Paul, 49:  
797-801, 1959.
- VELLO, N. A. Efeitos da introdução de germoplasma exótico  
sobre a produtividade e relações com a base das  
cultivares de soja *Glycine max* (L.) Merrill Piracicaba,  
1985 91p. [Livre-docência - Escola Superior de  
Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP]



WEAVER, D. B.; COSPER, B. H.; BACKMAN, P. A.; CRAWFORD, M.

A. Cultivar resistance to field infestations of soybean stem canker. *Plant Disease*, St. Paul, 68: 877-9, 1984.

WEAVER, D. B.; SEDHOM, S. A.; SMITH, E. P.; BACKMAN, P. A.

Field and greenhouse evaluations of stem canker resistance in soybean. *Crop Science*, Madison, 28: 626-30, 1988.

WELCH, A. W. & GILMAN, J. C. Hetero e homothalic types of

*Diaporthe* on soybeans. *Phytopatology*, St. Paul, 38: 628-37, 1948.

WENDEL, B. A. & ALLEN, F. L. Genetic control of stem

canker resistance in soybeans. In: ANNUAL MEETINGS, 78, New Orleans. *Agronomy Abstracts* : 87, Nov./Dez, 1986.

WHITEHEAD, M. D. Stem canker and blight of birdsfoot trefoil

and soybeans incited by *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*. *Phytopatology*, St. Paul, 56: 396-400, 1966.

YORINORI, J. T. Cancro da haste da soja. Londrina,

EMBRAPA/CNPSo, 1990. 7p. (EMBRAPA/CNPSo. Comunicado Técnico, 44).

YORINORI, J. T. Metodologia de produção de inóculo de

*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Rio de Janeiro,

1991. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 16: (2), 1991.