DIFERENTES PARÂMETROS PATOMÉTRICOS PARA AVALIAÇÃO DA FERRUGEM ASIÁTICA EM LINHAGENS TRANSGÊNICAS DE SOJA.

DIFFERENT PATOMETRIC PARAMETERS TO EVALUATE SOYBEAN RUST IN TRANSGENIC BREEDING LINES OF SOYBEAN

SUSSEL, A.A.B.¹; SILVA NETO, S.P.¹; MOREIRA, C.T.¹; ALVES, R.S.¹; ALMEIDA, N.J.¹

¹Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Resumo

A ferrugem asiática está disseminada em todas regiões produtoras de soja do Brasil. Os sintomas iniciais da doença são pequenas pústulas foliares, de cor castanha a marromescura, podem ser classificadas como do tipo castanho clara com muitos soros urediniais e abundante esporulação (TAN) ou castanho avermelhada com poucos soros urediniais e com pouca ou nenhuma esporulação (RB). Observou-se diferença estatística entre as médias de severidade e de desfolha causadas pela ferrugem asiática, nos diferentes tratamentos com fungicidas nos três estratos avaliados. Tratamentos com apenas uma pulverização não apresentaram diferenças significativas em relação aos tratamentos com três pulverizações. Houve diferenca estatística entre as médias de número de esporos contados em hemocitômetro, assim como as médias de notas de coloração de ustulas e de esporulação nas pústulas. Nestas três avaliações os resultados dos tratamentos que receberam uma pulverização diferiram estatisticamente dos que receberam três pulverizações. Ao correlacionar cor de pústula e esporulação visual com os demais parâmetros analisados, observou-se correlações significativas com os parâmetros de desfolha, contudo o parâmetro número de esporos contados em hemocitômetro não se correlacionou com nenhum outro parâmetro e o parâmetro severidade apresentou correlação negativa Apesar da severidade apresentar correlação negativa com a maioria dos demais parâmetros, esta apresenta correlação positiva com a avaliação de desfolha. A avaliação de desfolha também se apresentou correlações significativas porém negativas com a cor das pústulas com a esporulação visual das mesmas.

Introdução

A ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) está disseminada em todas regiões produtoras de soja do Brasil. A doença é favorecida por temperaturas na faixa de 18 a 26 °C, chuvas bem distribuídas e longos períodos de molhamento, condições facilmente observadas durante o verão na região Centro-Oeste. A expansão do cultivo da soja para áreas irrigadas no Cerrado para produção de grãos e de sementes com semeadura ao final do período da janela de plantio favorece a ocorrência de epidemias de ferrugem asiática devido à alta quantidade de inoculo presente no ar produzido pelas áreas onde o cultivo teve inicio antecipado.

Os sintomas da ferrugem asiática podem surgir em qualquer momento do ciclo fenológico da cultura, porém tem surgido de forma mais frequente em plantas próximas ou em plena floração. Os sintomas são observados inicialmente nas folhas baixeiras, com lesões de cor amarela que se transformam em manchas de forma poligonal ou arredondada de coloração bronzeada a marrom. Posteriormente os sintomas são observados nos outros estratos da planta. A diagnose é confirmada com a constatação de pústulas na face inferior das folhas. Na face inferior da folha, pode-se observar um ou mais soros urediniais que se rompem liberando os urediniósporos (Sinclair et al., 1999). As lesões formadas nas folhas podem ser classificadas como do tipo castanho clara com muitos soros urediniais e abundante esporulação (TAN) ou castanho avermelhada com poucos soros urediniais e com pouca ou nenhuma esporulação (RB – Reddish Brown) (Bonde et al., 2006). Lesões do tipo RB são típicas de materiais com genes dominantes de resistência ou de efeito principal a essa doença. Este tipo de lesão pode ser descrito como uma reação de hipersensibilidade. Esta resistência tem como característica a redução da taxa de epidemia através da diminuição do número e tamanho das lesões, diminuição da produção de urediniósporos e do aumento do período latente de infecção. Isso

faz com que a população do patógeno seja reduzida, diminuindo a quantidade de inóculo e, consequentemente, a doença. Contudo, foi verificado, em nível mundial, que a resistência qualitativa não foi duradoura, devido à grande variabilidade do patógeno, necessitando-se assim do manejo integrado com a utilização de fungicidas.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a reação de 60 linhagens de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato à ferrugem asiática, submetida ou não à aplicação de fungicida sistêmico triazol + estrobilurina por meio de escala de severidade, escala de desfolha, avaliação visual da dor das lesões, avaliação visual da esporulação das lesões e contagem em hemocitômetro do número de esporos produzidos.

Material e Métodos

Foram realizadas avaliações de severidade e desfolha de ferrugem asiática da soja, em 60 linhagens RR pertencentes ao programa de melhoramento da Embrapa Cerrados, com três condições de manejo da doença, sendo, sem aplicação de fungicida, com apenas uma aplicação de fungicida e com três aplicações de fungicida. Foi utilizado o fungicida sistêmico triazol em mistura comercial com estrobilurina, cujas pulverizações ocorreram em estádio R1 no tratamento com apenas uma pulverização, e mais duas aplicações em intervalos de 14 dias no tratamento com três pulverizações.

As avaliações de severidade foram realizadas com auxílio de escala diagramática publicada por Azevedo et al (2007), nos três estratos das plantas quando as mesmas encontravam-se em estádio R4. As avaliações de desfolha foram realizadas juntamente com as avaliações de severidade utilizando-se escala publicada por Hirano et al (2010).

Além da avaliação da severidade e desfolha das plantas, foram coletadas amostras de folhas para análise de cor de pústula, análise visual da esporulação da pústula e contagem de conídios de amostras de pústulas de ferrugem asiática em soja. De cada estrato foram coletadas três folhas nas quais foram avaliadas as cores das pústulas em microscópio estereoscópio seguindo escala publicada por Kato & Yorinori (2008) citado por Yamanaka et al (2010). Além das cores das pústulas foram avaliadas visualmente a esporulação das pústulas, em microscópio estereoscópio, segundo escala publicada por Yamanaka et al (2010). Posteriormente às análises visuais, foram coletados 12 amostras de discos de 0,8 cm de diâmetro dos trifólios das áreas onde se concentravam as pústulas. Estes discos foram lavados com 10 mL de água destilada adicionada de 2% de detergente Tween para remoção dos esporos. A suspensão de esporos foi quantificada em hemocitômetro e os dados analisados. Foram realizadas análises de variância com os resultados de cada procedimento em software estatístico SISVAR e posteriormente foi realizada analise de correlação de Pearson em software estatístico SAS, objetivando-se verificar correlações entre as variáveis analisadas.

Resultados e Discussão

Observou-se diferença estatística entre as médias de severidade e de desfolha causadas pela ferrugem asiática, nos diferentes tratamentos com fungicidas nos três estratos avaliados nas linhagens de soja RR (Tabelas 1). Apesar dos tratamentos não pulverizados apresentares maiores severidades em relação aos tratamentos pulverizados, tratamentos com apenas uma pulverização não apresentaram diferenças significativas em relação aos tratamentos com três pulverizações. O mesmo foi observado para avaliação da desfolha das plantas.

Tabela 1. Médias de desfolha e de severidade da ferrugem asiática em linhagens RR de soja nos três estratos da planta em três condições de manejo.

Tratamento -	Severidade			Desfolha
	Terço superior	Terço inferior	Terço médio	Desiona
3 pulverizações	0,59 a	2,83 a	1,52 a	19,92 a

1 pulverização	0,58 a	2,91 a	1,56 a	19,06 a
0 pulverização	1,56 b	3,80 b	2,64 b	35,70 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Da mesma forma, observou-se diferença estatística entre as médias de número de esporos de *Phakopsora pachyrhizi* contados em hemocitômetro, nos diferentes tratamentos com fungicidas (Tabela 2). A esporulação do fungo foi reduzida com a aplicação do fungicida, como esperado devido ação do manejo químico. A aplicação de fungicida reduziu significativamente a produção de conídios no tratamento com três pulverizações em relação aos tratamentos com uma pulverização ou sem pulverizações.

Tabela 2. Médias do número de esporos de *Phakopsora pachyrhizi* contados em hemocitômetro nos diferentes tratamentos com fungicidas.

Tratamento	Número de esporos
3 pulverizações	35803,32 a
1 pulverização	41470,69 b
0 pulverização	46973,87 c

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Como alternativa se seleção de materiais resistentes, Yamanaka et al (2010) propuseram correlacionar os parâmetros de cor de pústula e de esporulação observada visualmente na pústula com outros parâmetros de seleção. Assim sendo, ao analisar os dados os de cor de pústula e de esporulação visual de pústula, observou-se diferenças significativas entre os tratamentos fungicidas (Tabelas 3 e 4) as linhagens de soja RR testadas (dados não publicados), e ao correlacionar cor de pústula e esporulação visual com os demais parâmetros analisados, observou-se correlações significativas com os parâmetros de desfolha, contudo o parâmetro número de esporos contados em hemocitômetro não se correlacionou com nenhum outro parâmetro e o parâmetro severidade apresentou correlação negativa(Tabela 5).

Tabela 3. Nota média da cor das pústulas segundo escada de Kato e Yorinori (2008) nos diferentes tratamentos com fungicidas.

Tratamento	Cor da pústula
1 pulverização	3,43 a
3 pulverizações	3,96 b
0 pulverização	5,43 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Tabela 4. Médias das notas de avaliação visual de esporulação de *Phakopsora pachyrhizi* nos diferentes tratamentos fungicidas observados em microscópio óptico, segundo Yamanaka et al (2010).

Tratamento	Nota visual de esporulação
3 pulverizações	1,36 a
1 pulverização	1,67 b
0 pulverização	2,54 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott. Apesar da severidade apresentar correlação negativa com a maioria dos demais parâmetros, esta apresenta correlação positiva com a avaliação de desfolha. A avaliação de desfolha também se apresentou correlações significativas porém negativas com a cor das pústulas com a esporulação visual das mesmas. Yamanaka et al (2010) observam que lesões mais escuras estão relacionadas a genes de resistência, além de apresentarem número menor de esporos na avaliação visual. Este fato foi confirmado nas diferentes linhagens avaliadas que quando apresentavam lesões escuras, também apresentavam redução da esporulação observada sobre as pústulas.

Tabela 5. Correlações entre os parâmetros número de esporos de *Phakopsora pachyrhizi*, cor de pústula, esporulação avaliada visualmente, severidade e desfolha.

	Esporulação	Cor da pústula	Esporos pústulas	Severidade	Desfolha
Esporulação		0,038	0,038	-0,023	-0,011
Cor da pústula	0,038		0,858 **	-0,423 **	-0,383 **
Esporos pústulas	0,038	0,858 **		-0,358 **	-0,304 **
Severidade	-0,023	-0,423 **	-0,358 **		0,593 **
Desfolha	-0,011	-0,383 **	-0,304 **	0,593 **	

Percentuais de correlação seguidos por ** apresentam significância (P<0,001) pelo teste t

Conclusões

A avaliação visual da cor e esporulação das pústulas são ferramentas que podem auxiliar na análise da resistência de plantas à ferrugem asiática da soja.

Análise de severidade e de desfolha complementam-se na avaliação da ferrugem asiática no campo.

Referências

AZEVEDO, L.A.S.; JULIATTI, F.C.; BARRETO, M. Resistência de genótipos de soja à Phakopsora pachyrhizi. Summa phytopathol. [online]. 2007, vol.33, n.3 [cited 2012-04-07], pp. 252-257 . Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052007000300007&lng=en&nrm=iso.

Bonde, M. R.; Nester, S. E.; Autin, C. N.; Stone, C. L.; Frederick, R. D. Hartman, G. L.; Miles, M. R. Evaluation of virulence of Phakopsora pachyrhizi and P. meibomiae isolates. Plant Disease, St. Paul, v.90, n.6, p.708-716, 2006

HIRANO, M.; HIKISHIMA, M.; SILVA, A.J.; XAVIER, S.A.; CANTERI, M.G.. Validação de escala diagramática para estimativa de desfolha provocada pela ferrugemasiática em soja. Summa phytopathol. [online]. 2010, vol.36, n.3 [cited 2012-04-07], pp. 248-250 . Available from: ">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052010000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-5405201000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-5405201000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-5405201000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-5405201000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100030001000300012&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_artte

Sinclair, J.B.; Hartman, G. L. Soybean diseases. In: Hartman, G.L.; Sinclair, J.B.; Rupe, J.C. (Ed.). Compendium of soybean diseases. 4ed. St. Paul. American Phytopathological Society, 1999. p.3-4.

YAMANAKA, N.; YAMAOKA, Y.; KATO, M. LEMOS, N.G.; PASSIANOTTO, A.L.L.; SANTOS, J.V.M.; BENITEZ, E.R.; ABDELNOOR, R.V.; SOARES, R.M.; SUENAGA, K. Development of classification criteria for resistance to soybean rust and differences in virulence among Japanese and Brazilian rust populations. *Trop. plant pathol.* [online]. 2010, vol.35, n.3 [cited 2012-04-07], pp. 153-162. Available from: ">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762010000300003&lng=en&nrm=iso>">http://www.sciel