



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

KAMILLA DO CARMO SILVESTRE

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO PARA SELEÇÃO DE  
GENÓTIPOS DE SOJA RESISTENTES A MANCHA-ALVO  
E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Corynespora  
cassicola***

---

Londrina  
2023

KAMILLA DO CARMO SILVESTRE

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO PARA SELEÇÃO DE  
GENÓTIPOS DE SOJA RESISTENTES A MANCHA-ALVO  
E AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Corynespora  
cassiicola***

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Agronomia da  
Universidade Estadual de Londrina, como  
requisito para a obtenção do título de  
Mestre

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Isabel  
Balbi-Peña

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Neucimara Rodrigues  
Ribeiro

Londrina  
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

do Carmo do Silvestre, Kamilla .

Métodos de inoculação para seleção de genótipos de soja resistentes a mancha-alvo e agressividade de isolados de *Corynespora cassiicola* / Kamilla do Carmo do Silvestre. - Londrina, 2023.  
66 f.

Orientador: Maria Isabel Balbi-Peña.

Coorientador: Neucimara Rodrigues Ribeiro.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.  
Inclui bibliografia.

1. Glycine max - Tese. 2. Inoculação artificial - Tese. 3. Resistência genética - Tese. 4. Screening - Tese. I. Balbi-Peña, Maria Isabel. II. Rodrigues Ribeiro, Neucimara . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

KAMILLA DO CARMO SILVESTRE

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO PARA SELEÇÃO DE  
GENÓTIPOS DE SOJA RESISTENTES A MANCHA-ALVO E  
AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Corynespora*  
*cassiicola***

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Agronomia da  
Universidade Estadual de Londrina,  
como requisito para a obtenção do  
título de Mestre

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Isabel Balbi-  
Peña  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Dr<sup>a</sup>. Claudine Dinali Santos Seixas  
Embrapa Soja

Londrina, 27 de fevereiro de 2023.

## AGRADECIMENTOS

A Deus sobre todas as coisas, por ter me conduzido até aqui e permitir conquistar coisas inimagináveis.

À minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Maria Isabel, os meus mais sinceros agradecimentos por todo apoio e por me direcionar com excelência ao caminho da pesquisa.

À minha coorientadora Dr.<sup>a</sup> Neucimara por todo conhecimento compartilhado e por estar ao meu lado durante toda trajetória me instruindo e aconselhando.

Aos meus pais Ana e Cicero, por toda educação e apoio que me fortaleceram durante toda minha caminhada. As minhas irmãs Júlia (*in memoriam*) e Gabriella, ficam o meu carinho e agradecimento por me ensinarem a ser uma pessoa melhor.

Aos familiares, colegas e ao meu noivo Renan, por estarem sempre ao meu lado me incentivando e ajudando nos momentos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Londrina (UEL) e o Departamento de Fitopatologia pela oportunidade de realizar o Mestrado e a todos os professores que contribuíram para minha formação.

À empresa GDM Genética do Brasil, por ceder os insumos e estrutura para condução dos experimentos e pelos ricos ensinamentos. E aos colegas da empresa que de forma única e especial fizeram parte desta trajetória.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos que de alguma forma contribuíram para conclusão deste trabalho, os meus mais singelos agradecimentos!

Silvestre, Kamilla do Carmo. Métodos de inoculação para seleção de genótipos de soja resistentes a mancha-alvo e agressividade de isolados de *Corynespora cassiicola*. 2023. 66 p. Dissertação (mestrado em agronomia) –Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

## RESUMO

O fungo *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo, encontra-se distribuído em todas as regiões brasileiras produtoras de soja, acarretando impacto negativo na produção, principalmente na região do cerrado. O uso de cultivares resistentes configura-se como uma estratégia viável e de menor impacto ambiental para o controle da doença. A avaliação precoce da doença beneficia programas de melhoramento genético, por permitir avançar mais rapidamente etapas de seleção dos genótipos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi: a) desenvolver uma escala para avaliação da mancha-alvo em cotilédone de soja; b) avaliar métodos de inoculação de *C. cassiicola* em ambiente controlado que se correlacionem com dados de severidade da mancha-alvo em condições de campo e; c) avaliar a agressividade de seis isolados de *C. cassiicola* de diferentes regiões produtoras de soja do Brasil. Para elaboração e validação de uma escala diagramática, para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja, foram obtidos 40 cotilédones com diferentes níveis de severidade e fotografados com câmera digital. A partir das imagens foi determinada a porcentagem real de severidade com o software Assess<sup>®</sup>. Foram estabelecidos os limites mínimo e máximo de severidade da escala e os valores intermediários foram determinados com base na lei do estímulo visual de Weber-Fechner. A escala proposta está constituída por cinco níveis de severidade, sendo eles: 0,3%; 2,9%; 20,8%; 70,0% e 95,4%. Para a validação da escala, as imagens foram analisadas duas vezes (sem e com a escala) por oito avaliadores sem experiência na quantificação de doenças. As estimativas de severidade com o uso da escala diagramática proposta determinaram um aumento significativo do coeficiente de determinação e uma menor variância dos erros absolutos, proporcionando maiores precisão e acurácia das avaliações. Para seleção do método de inoculação foram testados o método tradicional por aspersão e o método de sementes infectadas em 35 cultivares de soja em casa de vegetação. A campo os experimentos com as mesmas cultivares usadas em ambiente controlado foram instalados em Lucas do Rio Verde-MT e Campo Novo do Parecis-MT, locais com alta pressão de inóculo de mancha-alvo. Ambos os métodos de inoculação foram capazes de distinguir a reação dos genótipos em casa-de-vegetação. Entretanto, os resultados da inoculação por sementes infectadas apresentaram maior repetibilidade. O ensaio de Lucas do Rio Verde foi mais informativo do que o ensaio de Campo Novo do Parecis, pois a severidade da doença foi mais alta, apresentando uma correlação mais significativa com os dados de severidade obtidos com inoculação artificial de *C. cassiicola* em casa-de-vegetação. Houve interação na relação isolado x cultivar, indicando que a agressividade de isolados de *C. cassiicola* varia em diferentes cultivares de soja.

**Palavras-chave:** *Glycine max*. Inoculação artificial. Resistência genética. Screening.

Silvestre, Kamilla do Carmo. Inoculation methods for selection of soybean genotypes resistant to target spot and aggressiveness of *Corynespora cassiicola* isolates. 2023. 66 p. Dissertação (mestrado em agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

## ABSTRACT

The fungus *Corynespora cassiicola*, causal agent of the target spot, is distributed in all Brazilian soybean producing regions, causing a negative impact on production, especially in the cerrado region. The use of resistant cultivars is a viable strategy with less environmental impact for disease control. The early evaluation of the disease benefits genetic improvement programs, as it allows faster progress of genotype selection stages. Therefore, the objective of this study was: a) to develop a scale for the evaluation of the target spot in soybean cotyledon; b) evaluate methods of inoculation of *C. cassiicola* in a controlled environment that correlate with data on the severity of the target spot under field conditions and; c) to evaluate the aggressiveness of six *C. cassiicola* isolates from different soybean producing regions of Brazil. For the elaboration and validation of a diagrammatic scale, for the evaluation of target spot in soybean cotyledons, 40 cotyledons with different levels of severity were obtained and photographed with a digital camera. From the images was determined the actual percentage of severity with the Assess software<sup>®</sup>. The minimum and maximum limits of severity of the scale were established and the intermediate values were determined based on Weber-Fechner's law of visual stimulus. The proposed scale is composed of five levels of severity, namely: 0.3%; 2,9%; 20,8%; 70.0% and 95.4%. For the validation of the scale, the images were analyzed twice (without and with the scale) by eight evaluators with no experience in the quantification of diseases. The severity estimates with the use of the proposed diagrammatic scale determined a significant increase in the coefficient of determination and a lower variance of absolute errors, providing greater precision and accuracy of the evaluations. To select the inoculation method, the traditional sprinkler method and the infected seed method were tested in 35 soybean cultivars in a greenhouse. In the field, the experiments with the same cultivars used in a controlled environment were installed in Lucas do Rio Verde-MT and Campo Novo do Parecis-MT sites with high target spot inoculum pressure. Both inoculation methods were able to distinguish the reaction of genotypes in greenhouse. However, the results of inoculation by infected seeds showed greater repeatability. Lucas do Rio Verde's essay was more informative than Campo Novo by Parecis, because the severity of the disease was higher, presenting a more significant correlation with the severity data obtained with artificial inoculation of *C. cassiicola* in a greenhouse. There was interaction isolate x cultivar, indicating that the aggressiveness of *C. cassiicola* isolates varies in different soybean cultivars.

**Key words:** Artificial inoculation methods. Genetic resistance. Screening.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
2.1 SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.) Merr.].....	10
2.2 MANCHA-ALVO DA SOJA .....	11
2.2.1 Importância da Doença.....	11
2.2.2 <i>Corynespora cassicola</i> .....	13
2.2.3 Sintomas.....	14
2.2.4 Epidemiologia e Desenvolvimento da Doença.....	14
2.3 AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>Corynespora cassicola</i> .....	16
2.4 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO.....	17
2.5 RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE SOJA .....	18
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>20</b>
<b>3 ARTIGO A - ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DE MANCHA-ALVO EM COTILÉDONES DE SOJA .....</b>	<b>26</b>
3.1 RESUMO.....	26
3.2 ABSTRACT .....	26
3.3 INTRODUÇÃO.....	27
3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
3.6 CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS .....	33
<b>4 ARTIGO B - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO EM CASA-DE VEGETAÇÃO PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA RESISTENTES A MANCHA-ALVO E CORRELAÇÃO COM DADOS DE CAMPO.....</b>	<b>35</b>
4.1 RESUMO.....	35
4.2 ABSTRACT .....	35
4.3 INTRODUÇÃO.....	36
4.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	38
4.4.1 Experimentos em Casa-de-vegetação.....	38
4.4.2 Experimentos em Campo .....	40
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
4.5.1 Experimentos em Casa-de-vegetação.....	40
4.5.2 Experimentos em Campo .....	43

4.5.3 Correlação entre dados de severidade de mancha-alvo em ambiente controlado e severidade em condições de ocorrência natural a campo....	49
4.6 CONCLUSÕES .....	51
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>
<b>5 ARTIGO C – AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>Corynespora cassicola</i> EM CULTIVARES DE SOJA .....</b>	<b>55</b>
5.1 RESUMO .....	55
5.2 ABSTRACT .....	55
5.3 INTRODUÇÃO.....	56
5.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	57
5.4.1 Origem e manutenção do inóculo .....	57
5.4.2 Material vegetal e condução do experimento .....	58
5.4.3 Inoculação .....	58
5.4.4 Avaliação da severidade da mancha-alvo .....	59
5.4.5 Delineamento experimental e análise de dados .....	59
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	59
5.6 CONCLUSÕES.....	61
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>
<b>6. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A soja configura-se como uma cultura de extrema importância no cenário econômico do Brasil. A expansão e o aumento de produção da cultura estão vinculados a diversos fatores, dentre eles, os avanços na tecnologia de produção. A soja está sujeita a diversos problemas fitossanitários que interferem na quantidade e na qualidade do grão produzido, com destaque para as doenças que podem provocar perdas significativas.

O fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei é o agente causal da mancha-alvo da soja e encontra-se disseminado em todas as regiões produtoras do País. O sintoma mais característico da doença é observado nas folhas e consiste em lesões necróticas de coloração marrom-escuro, circulares que apresentam um centro escuro contornado por anéis concêntricos, o que remete a um alvo. As lesões necróticas causadas pelo fungo ocasionalmente coalescem podendo provocar a desfolha prematura, em condições ambientais favoráveis como temperaturas elevadas e altos índices pluviométricos. Além das folhas, os sintomas podem surgir em vagens, caules, sementes e nas raízes.

A incidência da doença aumentou consideravelmente nas principais cultivares presentes no mercado brasileiro, como consequência do uso de cultivares suscetíveis e menor sensibilidade do fungo aos produtos químicos frequentemente aplicados na cultura. Outro fator que colabora com a alta incidência da doença relaciona-se à variabilidade de isolados do fungo.

Estudos revelam a existência de variabilidade entre isolados de *C. cassiicola*, sugerindo sua especificidade ao hospedeiro, mas também sua aptidão em causar doença em outros hospedeiros causando infecções significativas.

Para o controle da mancha-alvo recomenda-se o uso de cultivares resistentes, o tratamento de sementes, a rotação de culturas com gramíneas e o uso de fungicidas. O controle químico tem sido uma estratégia fundamental para minimizar os danos provocados pela doença. Contudo, já tem sido relatada no Brasil a resistência a fungicidas de isolados de *C. cassiicola* de soja.

O controle genético pelo uso de cultivares resistentes é considerado fundamental dentro do manejo integrado, o mesmo deve ser empregado como um método de longo prazo. Em programas de melhoramento, o sucesso no

desenvolvimento de cultivares resistentes a patógenos, comumente necessita de técnicas que envolvem a reprodução dos sintomas para seleção dos genótipos resistentes. Um dos maiores desafios desses programas, é otimizar o processo de seleção aumentando a eficiência e a uniformização dos resultados.

Considerando a crescente importância da doença no cenário nacional, associada à necessidade de seleção de cultivares de soja resistentes à mancha-alvo, este trabalho objetivou: i) elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja (Artigo A) ii) testar métodos de inoculação de *C. cassiicola* para selecionar precocemente genótipos resistentes à mancha-alvo e correlacionar com a severidade da mancha-alvo em campo com ocorrência natural da doença (Artigo B), e iii) verificar a agressividade de seis isolados de *C. cassiicola* de diferentes regiões produtoras de soja do Brasil em quatro cultivares de soja (Artigo C).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 SOJA [*Glycine max* (L.) MERR.]

O continente asiático é referido como o centro primário de origem da soja, mais especificamente o nordeste da China. A Manchúria é considerada seu centro secundário, ou ainda chamado de centro de diversidade genética. Antigamente, a soja era uma planta de hábito rasteiro. Existem indícios de que seu processo evolutivo se desencadeou por meio de plantas provenientes de cruzamentos naturais entre duas espécies selvagens. A seleção e a domesticação ocorreram por volta do século 11 a.C. na China, surgindo plantas eretas e permitindo a expansão de seu cultivo (GAZZONI; DALL'AGNOL, 2018; HYMOWITZ, 1970).

No Brasil, a produção comercial da cultura teve início na década de 1960, porém, a ampliação da cadeia produtiva da soja transcorreu na década seguinte. Essa expansão ocorreu principalmente como consequência da alta do preço no mercado mundial durante esse período, assim como pelo fato de o país escoar sua produção na época que garante as melhores cotações, o que é uma vantagem em relação a outros países produtores (MONTROYA et al., 2019).

A expansão da produção de soja no Brasil sempre esteve relacionada à evolução científica e tecnológica do setor agrícola. Essa cadeia produtiva tem sido fundamental para o crescimento do mercado internacional do País (TOLOI et al., 2021). Além disso, esse crescimento causa impacto negativo na economia de países produtores e gera receita e renda às famílias do ambiente rural. Em contrapartida, pode afetar a qualidade do ecossistema, exigindo um maior planejamento dessa expansão (PIRAS; WESZ; GHINOI, 2021).

O processo de expansão da cultura se faz necessário para atender toda a cadeia produtiva, visto que o complexo produtivo da soja não se limita apenas à produção dos grãos, mas também envolve o processamento e a obtenção de derivados como óleo bruto e farelo de soja, os quais são utilizados como insumos na produção de ração animal, óleo comestível e combustível (LEMOS et al., 2017).

Diversos fatores externos afetam esses processos, sendo as

condições ambientais favoráveis para o cultivo da soja imprescindíveis para atingir uma boa produção. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2021), a safra brasileira 2020/2021, apesar de enfrentar problemas climáticos, totalizou mais de 135 milhões de toneladas, o que representou um acréscimo de 8,5% comparado à safra anterior. O relatório de julho de 2022 revelou uma redução na produção da safra de 2021/2022, alcançando aproximadamente 124 milhões de toneladas, como consequência da deficiência hídrica em algumas regiões produtoras (CONAB, 2022).

Além das condições climáticas, outros fatores podem reduzir significativamente o rendimento das lavouras de soja, a qualidade dos grãos e provocar o aumento dos custos de produção. Dentre esses fatores, se encontram as doenças ocasionadas por fungos fitopatogênicos, os quais são favorecidos por condições ambientais favoráveis, como temperatura e umidade (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2019). Estudos apontam para estimativas de perdas globais de rendimento ocasionadas por patógenos na cultura da soja, os prejuízos variam entre 17% e 23% e refletem a insuficiência de manejo sanitário adequado (SAVARY et al., 2019).

Doenças causadas por bactérias, fungos, vírus e nematoides podem causar diferentes níveis de dano na soja. Dentre os patógenos fúngicos mais importantes estão aqueles que causam doenças como a antracnose, o cancro-da-haste, a mancha-alvo, a mancha olho-de-rã, o mofo-branco, o oídio, a podridão-radicular-de-Phytophthora, a ferrugem-asiática e as podridões de vagens (MATSUO; FERREIRA; SEDIYAMA, 2017).

## 2.2 MANCHA-ALVO DA SOJA

### 2.2.1 Importância da Doença

A mancha-alvo é uma doença com ampla distribuição geográfica, presente em praticamente todas as regiões produtoras de soja do Brasil. A doença pode provocar reduções da produtividade de até 17,3% (GODOY et al., 2020). Em cultivares suscetíveis a redução da produtividade pode chegar a até 35%

(GODOY et al., 2016).

Além da cultura da soja, o patógeno é capaz de infectar um grande número de hospedeiros (TERAMOTO et al., 2017). De acordo com dados do MycoBank (2022), entre os mais de 400 hospedeiros do fungo, no Brasil causa danos econômicos em culturas como algodão (*Gossypium hirsutum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), pepino (*Cucumis sativus*), mamão (*Carica papaya*), seringueira (*Hevea brasiliensis*) e o cacau (*Theobroma cacao*).

Para Molina et al. (2018a), os principais fatores associados à crescente preocupação com a mancha-alvo em áreas de cultivo, referem-se à semeadura de cultivares suscetíveis e à redução da sensibilidade de isolados de *C. cassiicola* a fungicidas com modo de ação sítio-específicos. Esses fatores favoreceram o aumento da incidência da doença no Brasil e nos países vizinhos. A Argentina registrou a mancha-alvo como sendo a doença predominante na soja durante a safra 2014/2015.

Na região sudeste dos Estados Unidos, o patógeno também causa danos significativos em culturas como algodão, tomate e soja. Um aumento na incidência da doença tem sido observado nesse país, visto que historicamente a mancha-alvo não era considerada um problema grave (SUMABAT; KEMERAIT; BREWER, 2018).

Além do ambiente, a ausência de rotação de culturas permite que patógenos fúngicos, como *C. cassiicola* aumentem sua incidência. Atualmente, a doença vem sendo relatada na literatura como um ressurgimento, por ser referida no passado como uma doença de pouca importância e que tem se tornado um grande problema, causando perdas significativas principalmente em condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno (MOLINA et al., 2022).

O uso de fungicidas tem se destacado como um método de controle importante para a doença, entretanto a eficiência de fungicidas diminui a cada safra (RONDON; LAWRENCE, 2019). De acordo com dados do Fungicide Resistance Action Committee (2019), há relatos de isolados de *C. cassiicola* de soja resistente a fungicidas. Mello et al. (2021) relatam resistência múltipla do patógeno aos fungicidas Inibidores de Quinona Oxidase (QoI) e Metil Benzimidazol Carbamato (MBC).

### 2.2.2 *Corynespora cassiicola*

De acordo com dados da plataforma do MycoBank (2022), a espécie *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, foi descrita pela primeira vez no ano de 1950, no Mycological Papers. Atualmente está classificada no reino Fungi, pertencente ao filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, ordem Pleosporales, família Corynesporascaceae.

O fungo forma conidióforos septados, o número de septos varia de 1 a 20, com as dimensões entre 4 µm e 11 µm de largura e 44 µm a 350 µm de comprimento. O conidióforo pode estar disposto de forma isolada, ou ainda em grupos. Os conídios são caracterizados por possuírem coloração amarronzada, contando com 3 a 5 septos podendo encontrar-se de forma isolada ou agrupados em cadeia (GODOY et al., 2016).

A morfologia dos conídios varia entre isolados do fungo, apresentam tamanho, forma, pseudoseptos e contorno dos conídios diversos. Toulet et al., 2022 caracterizaram morfologicamente 24 isolados e observaram predominantemente a presença de conídios retos, de forma cilíndrica, com tamanho variando entre 6 µm e 120 µm de comprimento e de 2,4 µm a 12 µm de largura.

O micélio septado apresenta ramificações, é delgado e sua coloração varia de sub-hialino a marrom-claro, com hifas geralmente submersas no substrato. O conidióforo apresenta-se com ausência de ramificações, com forma que varia de ereta a levemente curvada. O conídio presente em sua extremidade pode assumir forma cilíndrica a obclavada e, assim como o conidióforo, pode ser reto a parcialmente curvado (KURRE; DEWANGAN; JAIN, 2017). Outra característica morfológica que distingue a espécie das demais é a existência de um hilo central na base dos conídios, sendo ele, espesso e escuro (RONDON; LAWRENCE, 2021).

As colônias formadas pelo fungo em meio de cultivo contendo suco V8 apresentam micélio de cor cinza a oliváceo na parte superior da placa (PUIA et al., 2021). Além disso, o patógeno sobrevive em restos culturais ou no solo, em condições desfavoráveis ou na ausência do hospedeiro, na forma de estruturas denominadas clamidósporos (RONDON; LAWRENCE, 2021).

Isolados de *C. cassiicola* produziram mais conídios e apresentaram maior crescimento, em placas com meio de cultura ágar V8 em condições de

fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 de escuro, quando confrontados com meios de cultura a base de BDA e fotoperíodos contínuos (PATEL et al., 2022).

### 2.2.3 Sintomas

O fungo *C. cassiicola* é o agente causal de manchas foliares em culturas de interesse econômico, como abóbora, pepino, seringueira, mamão, tomate e soja. Embora seu sintoma típico seja a mancha foliar, o patógeno é capaz de causar danos em outros órgãos da planta, tais como raízes, caules, flores e frutos (ORTEGA-ACOSTA et al., 2019).

Em plantas de soja, os sintomas iniciais nas folhas são pontuações de coloração parda com halo amarelo que progridem formando manchas castanhas circulares que apresentam em seu centro uma pontuação e anéis concêntricos de cor escura. Genótipos mais sensíveis à doença podem exibir acentuada desfolha, assim como sintomas em hastes e vagens (SOUZA; VIDAL, 2018).

Os sintomas foliares iniciam-se do terço inferior a médio da parte aérea da planta, sendo lesões que podem atingir até 2 cm de diâmetro (GODOY et al., 2016). O surgimento das lesões ocorre em todas as fases de desenvolvimento da planta, sendo que em cultivares suscetíveis os sintomas apresentam-se de forma mais severa, nos quais até 50% de desfolha associada à doença já foi relatada (MOLINA et al., 2018b).

Além dos sintomas acima descritos, as nervuras das folhas, os caules e os pecíolos apresentam lesões de cor castanho-escuro que podem assumir diversos tamanhos e formatos. Comumente as vagens exibem lesões circulares, deprimidas, escuras com extremidades de coloração marrom. Nas raízes de soja, o patógeno pode induzir o surgimento de lesões marrom-avermelhadas evoluindo para marrom-violeta após a esporulação do fungo (RONDON; LAWRENCE, 2021).

### 2.2.4 Epidemiologia e Desenvolvimento da Doença

*Corynespora cassiicola* é um fungo necrotrófico, que mata a célula do hospedeiro para sua nutrição e é capaz de sobreviver em restos culturais e

sementes infectadas. A produção de clamidósporos permite sua sobrevivência em solos em condições desfavoráveis ao desenvolvimento do patógeno. A sobrevivência em remanescentes do hospedeiro constitui-se como fonte de inóculo primário. A mancha-alvo é considerada uma doença policíclica, completando várias gerações em um único ciclo da cultura (RONDON; LAWRENCE, 2021).

Da mesma forma que a maioria dos patógenos que causam doenças foliares na cultura da soja, *C. cassicola* sobrevive na entressafra em restos de soja, ervas daninhas e sementes infectadas, que podem servir como fonte de inóculo primário para a estação de crescimento subsequente. (MOLINA et al., 2022).

A semente, além de contribuir na dispersão do patógeno também se constitui como um importante reservatório fúngico. Ciampi-Guillardi et al. (2020) analisaram 81 amostras de soja de diferentes regiões brasileiras e detectaram a presença de propágulos do fungo incidindo em 17,3%. O mesmo estudo revelou que, considerando as regiões produtoras, as amostras do estado de Mato Grosso apresentaram a maior incidência de *C. cassicola* na semente (41,7%).

Em condições de campo, geralmente as lesões têm início em folhas do terço inferior e médio da planta, região onde existe um microclima propício para o desenvolvimento dessas lesões, a partir de onde se espalham rapidamente para o dossel superior (PATEL et al., 2022).

Celoto et al. (2016) relatam que a faixa de temperatura para o crescimento micelial variou de 8,6 °C a 35 °C, com temperatura ótima de 30 °C. A temperatura ótima para a germinação dos esporos está em torno de 29 °C. Os autores também constataram que a presença de luz contínua favoreceu a esporulação do patógeno. Além disso, outro fator que contribui para o desenvolvimento de lesões é o molhamento foliar, facilitando a infecção. Outros autores relatam que a germinação dos esporos do fungo ocorre de 7 °C a 39 °C com temperatura ótima de 23 °C (MELO; REIS, 2010).

Apesar de não ser comum a observação de sintomas em raízes e caule, a infecção do patógeno nessas regiões da planta é favorecida por temperaturas do solo que variam entre 15 °C e 18 °C que permitem o maior desenvolvimento da doença. Em áreas onde o plantio direto é praticado, também ocorre com maior frequência a podridão radicular causada pelo fungo (MOLINA et al., 2022).

### 2.3 AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Corynespora cassiicola*

No estudo da variabilidade de isolados fúngicos é importante distinguir os termos patogenicidade, virulência e agressividade. De acordo com Pataky e Carson (2010), patogenicidade está relacionada à capacidade do fungo de causar doença, virulência à habilidade do patógeno para causar uma reação compatível (suscetível) em uma cultivar hospedeira com resistência genética e agressividade à quantidade de doença causada por um isolado do patógeno.

De acordo com a revisão de Pariaud et al. (2009) intitulada “Agressividade e seu papel na adaptação de fitopatógenos”, virulência está relacionada com a presença ou ausência de genes de resistência e agressividade refere-se à variação quantitativa de patogenicidade em hospedeiros suscetíveis.

Características de agentes causadores de doenças, como a virulência, a agressividade ou ainda a predileção a hospedeiros são variáveis em função dos inúmeros efetores de patógenos, como a toxina cassicolina no caso de *C. cassiicola* (RESHMA et al., 2022).

Teramoto et al. (2013) observaram variação na reação de doze cultivares de soja inoculadas com seis diferentes isolados de *C. cassiicola*, sugerindo uma possível especificidade da resistência perante a variabilidade do ~~patógeno~~ patógeno. Existem trabalhos que correlacionam a variabilidade de *C. cassiicola* com diversos fatores, como a relação entre a origem do hospedeiro e a virulência do patógeno (SILVA et al., 2003), a especialização frente ao hospedeiro com a variabilidade filogenética (DIXON et al., 2009), a análise morfológica com a molecular de isolados (QI et al., 2011), patogenicidade com a variabilidade genética do isolado (SHIMOMOTO et al., 2010) e a expressão de diferentes genes codificadores de cassicolina (*Cas*) (PATEL et al, 2022).

Em virtude da variabilidade entre isolados do fungo em soja, o manejo da doença pode ser afetado, principalmente por prejudicar a eficiência de fungicidas e o emprego de cultivares resistentes. Portratar-se de um fungo de reprodução assexuada, não ocorrem recombinações regulares, portanto, a variação genética resulta de múltiplas mutações espontâneas. A extensão da área produtiva de soja no Brasil, assim como o domínio de cultivares suscetíveis à mancha-alvo no mercado e o uso intensivo de fungicidas, possivelmente levou ao aparecimento de

populações do patógeno resistentes aos princípios ativos utilizados para o controle da mancha-alvo (SOARES; ARIAS, 2020).

A partir de estudos com diferentes isolados de *C. cassiicola* obtidos de mamão, pepino e tomate, verificou-se que o patógeno pode apresentar graus distintos de virulência em um mesmo hospedeiro, levando a considerar a existência de raças fisiológicas. De acordo com Agrios (2005), raças fisiológicas de um patógeno podem não distinguir morfológicamente, mas diferem quanto a patogenicidade no hospedeiro. A observação de ampla variabilidade nas características morfológicas de conídios e conidióforos ressaltam a plasticidade desses caracteres nos isolados (BENTES et al., 2018).

Em estudo sobre gama de hospedeiros, patogenicidade e virulência de *C. cassiicola*, Sumabat, Kemerait e Brewer (2018) identificaram que os isolados provenientes da soja foram os mais agressivos quando inoculados na própria cultura frente à inoculação com isolados das culturas do algodão e do tomate. Porém, os isolados provenientes de soja mostraram-se equivalentes quanto à agressividade em algodão e tomate. Ainda, foi possível observar que os isolados de soja apresentaram maior relação com isolados de algodão, do que com isolados de tomate.

Mello et al. (2021), identificaram mutação no gene *cytb* e variação heteroplasmática em 57 isolados do fungo, como consequência dessa variação, o patógeno adquire vantagem competitiva e maior adaptabilidade mesmo em condições de pressão de seleção devido a aplicação frequente de fungicidas químicos pertencentes ao grupo das estrobilurinas.

## 2.4 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

O processo de inoculação pode ser definido como aquele onde o inóculo, obtido a partir de estruturas de um patógeno, é depositado sobre o hospedeiro. Esse processo pode ocorrer de duas formas, natural ou artificialmente, sendo a inoculação artificial mais ágil em questão de resultados, porém, não representa uma situação natural de campo (CRUCIOL; COSTA, 2018).

A inoculação artificial permite reproduzir os sintomas de uma doença em uma planta sadia, o que possibilita comprovar o agente causal da doença, analisar o ciclo de vida do microrganismo e ainda permite determinar a resistência de uma

planta frente ao patógeno (CAROLLO; SANTOS FILHO, 2016).

De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária (2007), o protocolo para avaliar a reação de cultivares de soja à mancha-alvo é o mesmo que se aplica à mancha olho-de-rã (causada por *Cercospora sojina*). O método de inoculação é baseado na pulverização de uma suspensão de conídios na concentração de 1,0 a  $1,5 \times 10^4$  conídios/mL em plantas de soja em estágio vegetativo V4 a V5.

Outro método de inoculação de patógenos é por meio de sementes e baseiam-se na imersão da mesma em suspensão de esporos ou no contato das sementes com a colônia do fungo. Essas técnicas permitem que as estruturas do patógeno fiquem aderidas ao tegumento da semente, mas, a infecção pode não estar assegurada. Outra desvantagem associada a esses métodos está relacionada ao tempo de exposição das sementes ao fungo, devendo ser muito curto, pois o processo de germinação da semente pode ser desencadeado (SOUSA et al., 2008). A germinação da semente pode ser inibida com o cultivo do fungo em meio osmoticamente modificado por certo período de tempo. Variando o período de contato com a colônia fúngica, podem ser alcançados diversos níveis de inóculo em sementes (SOUSA et al., 2008).

Para verificar se o método de inoculação é eficiente é necessário avaliar a doença. Diante das diversas formas de quantificar doenças, a avaliação da severidade (porcentagem de área foliar infectada) dos sintomas constitui o método mais empregado. No entanto, a avaliação de severidade baseada na apreciação visual dos sintomas, pode ser uma medida subjetiva. Com a finalidade de reduzir esse problema e aumentar a precisão da quantificação da doença, o uso de escalas diagramáticas é sugerido (ROBAINA et al., 2020; DEL PONTE et al., 2017).

## 2.5 RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE SOJA

O controle de doenças por meio da resistência genética é considerado um dos pilares do manejo integrado e deve ser sempre considerada em programas de melhoramento. O controle genético de doenças, pode ser considerado o mais economicamente viável para o produtor e o mais condizente com os padrões estabelecidos de conservação ambiental (GOTARDO; PIETROSKI; RIBEIRO, 2021).

No passado, os primeiros relatos de mancha-alvo da soja indicavam que a maioria das cultivares comerciais apresentavam certa resistência à doença (YORINORI, 1992). Entretanto, na atualidade a resistência do hospedeiro frente a *C. cassiicola* é reduzida, desse modo faz-se o uso do controle químico, na maioria das vezes para controlar a mancha-alvo em genótipos mais suscetíveis com o objetivo de manter o rendimento da cultura (RONDON; LAWRENCE, 2021).

Os programas de melhoramento da soja, comumente não selecionam genótipos resistentes à mancha-alvo, as cultivares menos suscetíveis presentes no mercado apresentam essa característica ao acaso. Isso está relacionado à ausência de conhecimentos sobre fontes e herança da resistência da cultura à *C. cassiicola* (SOARES e ARIAS, 2020).

Teramoto et al. (2013), em estudo de seleção de cultivares resistentes à mancha-alvo, avaliaram a reação de doze cultivares de soja a *C. cassiicola*. Os resultados revelaram que houve variação na reação das cultivares em relação aos diferentes isolados, levando a hipótese da existência de raças fisiológicas do fungo. Não observaram resistência à doença nas cultivares, porém alguns genótipos apresentaram menores severidades, levando a acreditar que são as mais indicadas em regiões de cultivo mais favoráveis à doença.

A introgressão de genes de resistência em cultivares de soja, embora seja um método tradicional, demanda muito tempo para ser desenvolvido, com isso, o surgimento da tecnologia de marcadores moleculares proporcionou uma seleção mais eficiente, precisa e de baixo custo (SONG et al., 2020; LIN et al., 2022).

Os autores Patel et al. (2022) correlacionam a ausência de genótipos resistentes com a variabilidade na população do agente causal e com a variedade de genes *Cas*, codificadores de cassiicolina e reforçam a necessidade de identificação de um germoplasma que contemple resistência a isolados de *C. cassiicola* filogeneticamente distintos. Entretanto, até o momento, não existem estudos sobre a localização da região genômica que atribui resistência à mancha-alvo na cultura da soja.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, George N. **Plant pathology**. Elsevier, 2005.

ALMEIDA JÚNIOR, J.; MATOS, F.; SMILJANIC, K.; MIRANDA, B.; FERREIRA, M. Desempenho do programa fúngico da Syngenta para o controle de doenças na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, [S.L.], v. 16, n. 29, p. 1-13, 30 jun. 2019. Centro Científico Conhecer. [http://dx.doi.org/10.18677/encibio\\_2019a111](http://dx.doi.org/10.18677/encibio_2019a111).

BENTES, J. L. S.; SOUSA, F. M. G.; LOPES, M. T. G.; VALENTE, M. S. F.; ALMEIDA, F. V.; DEMOSTHENES, L.C. R. Genetic variability of *Corynespora cassiicola* isolates from Amazonas, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 1-5, 14 nov. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000992017>.

CAROLLO, E. M.; SANTOS FILHO, H. P. **Manual Básico de Técnicas Fitopatológicas**: laboratório de Fitopatologia. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Brasília: Embrapa, 2016. 109 p.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; CELOTO, F. J.; SANTOS, J. A. dos; PEREIRA, W. V. Efeitos da temperatura e regime de luz sobre *Corynespora cassiicola* e da temperatura e período de molhamento foliar no desenvolvimento da mancha-alvo em acerola. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S.L.], v. 82, n. 1, p. 1-7, 12 jan. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001222013>.

CIAMPI-GUILLARDI, M.; RAMIRO, J.; MORAES, M. H. D. de; BARBIERI, M. C. G.; MASSOLA, N. S. Multiplex qPCR Assay for Direct Detection and Quantification of *Colletotrichum truncatum*, *Corynespora cassiicola*, and *Sclerotinia sclerotiorum* in Soybean Seeds. **Plant Disease**, [S.L.], v. 104, n. 11, p. 3002-3009, nov. 2020. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-02-20-0231-re>.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 8, oitavo levantamento, maio. 2021.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 10 décimo levantamento, julho 2022.

CRUCIOL, G. C. D.; COSTA, M. L. N. Influência de metodologias de inoculação de *Macrophomina phaseolina* no desempenho de cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 32-37, mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2185>.

DEL PONTE, E. M.; PETHYBRIDGE, S. J.; BOCK, C. H.; MICHEREFF, S. J.; MACHADO, F. J.; SPOLTI, P. Standard Area Diagrams for Aiding Severity Estimation: scientometrics, pathosystems, and methodological trends in the last 25 years. **Phytopathology**, [S.L.], v. 107, n. 10, p. 1161-1174, out. 2017. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-02-17-0069-fi>.

DIXON, L. J.; SCHLUB, R. L.; PERNEZNY, K.; DATNOFF, L. E. Host Specialization and Phylogenetic Diversity of *Corynespora cassiicola*. **Phytopathology**®, [S.L.], v. 99, n. 9, p. 1015-1027, set. 2009. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-99-9-1015>.

FRAC. **Pathogen risk list**. Brussels: Fungicide Resistance Action Committee, 2019. 7 p. Disponível em: [https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf?sfvrsn=caf3489a\\_2](https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf?sfvrsn=caf3489a_2). Acesso em: 03 set. 2022.

GADAGA, S. J. C. **Interação de *Colletotrichum lindemuthianum* com o feijoeiro e a detecção do patógeno em sementes por PCR**. 2017. 72 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

GAZZONI, D. L.; DALL'AGNOL, A. **A saga da soja: de 1050 a.c. a 2050 d.c.** Brasília:Embrapa, 2018. 199 p. ISBN 978-85-7035-807-3.

GODOY, C. V. *et al.* Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Vol. 2. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. Cap. 67. p.657-675.

GOTARDO, P. E.; PIETROSKI, M.; RIBEIRO, L. F. C. AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À DOENÇAS EM CULTIVARES DE SOJA NORTE DO MATO GROSSO. **Connection Line - Revista Eletrônica do Univag**, [S.L.], n. 25, p. 7-24, 16 jun. 2021. UNIVAG Centro Universitário. <http://dx.doi.org/10.18312/connectionline.v0i25.1581>.

GOULART, A. C. P.; UTIAMADA, C. M. *Corynespora cassiicola* in soybean seeds: incidence and transmission. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 36, n. 1, p. 259-265, dez. 2020. <http://dx.doi.org/BJ-v36n0a2020-45550>.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. O. N.; DIAS, A. R.; PIMENTA, C. B.; SICHOCKI, D.; MOREIRA, E. N.; KONAGESKI, F. T.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; ARRUDA, J. H.; BELUFI, L. M. R.; LIMA, L. A. S.; SILVA, L. H. C. P.; GOUSSAIN JÚNIOR, M. M.; DIAS, M. D.; MÜLLER, M. A.; MARTINS, M. C.; KONAGESKI, T. F.; CARLIN, V. J. **Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na cultura da soja, na safra 2019/2020: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 8 p. ISSN 2176-2864.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Embrapa Soja, Londrina, p. 1-70, jun. 2014. ISSN 2176-2937.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 408-421, out. 1970. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02860745>.

KURRE, A. K.; DEWANGAN, M.; JAIN, A. Study on Disease Symptoms and Character of Pathogen *Corynespora cassiicola* (berk. and curt.) wei. Caused by Target Leaf Spot of Soybean. **Trends In Biosciences**, India, v. 10, n. 45, p. 9302-

9304, dez. 2017. ISSN 0974-8431, 9302-9304.

LE MOS, M. L. F.; GUIMARÃES, D. D.; MAIA, G. B. S.; AMARAL, G. F. **Adding value in the soybean complex**. BNDES Setorial, [s. l], v. 46, n. 1, p. 167-217, set. 2017.

LIN, F.; CHHAPEKAR, S. S.; VIEIRA, C. C.; SILVA, M. P. da; ROJAS, A.; LEE, D.; LIU, N.; PARDO, E. M.; LEE, YC; DONG, Z. Breeding for disease resistance in soybean: a global perspective. **Theoretical and Applied Genetics**, [S.L.], 5 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-022-04101-3>.

MATSUO, E.; FERREIRA, P. A.; SEDIYAMA, T. Resistance to Diseases. Soybean Breeding, [S.L.], p. 329-350, 2017. **Springer International Publishing**. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-57433-2\\_17](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-57433-2_17).

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. Instruções, de 4 de julho de 2007. SECRETARIA DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E COOPERATIVISMO. **Instruções Para Execução dos Ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade de Cultivares de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**: protocolos para avaliação de reação às doenças.

MASSOLA, N.S. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia** - Princípios e Conceitos. Vol. 1. Ouro Fino: Editora Agronômica Ceres. 2018. p. 107-141.

MELLO, F. E. de; LOPES-CAITAR, V. S.; XAVIER-VALENCIO, S. A.; SILVA, H. P.; FRANZENBURG, S.; MEHL, A.; VERREET, J.; BALBI-PEÑA, M. I.; MARCELINO-GUIMARAES, F. C.; GODOY, C. V. Resistance of *Corynespora cassiicola* from soybean to QoI and MBC fungicides in Brazil. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 71, n. 2, p. 373-385, 5 out. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.13474>.

MELO, M. M.; REIS, E. M. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* em soja, limiares térmicos e temperatura ótima para a germinação de conídios em meio de cultura. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 254-256, set. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-54052010000300014>.

MOLINA, J. P. E.; PAUL, P. A.; AMORIM, L.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F.V.; BORGES, E. P.; CAMPOS, H. D.; VENANCIO, W. S.; MEYER, M. C.; MARTINS, M. C. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 107-115, 26 out. 2018 a. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12944>.

MOLINA, J. P. E.; PAUL, P. A.; AMORIM, L.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F. V.; BORGES, E. P.; CAMPOS, H. D.; NUNES JUNIOR, J.; MEYER, M. C.; MARTINS, M. C. Meta-analysis of fungicide efficacy on soybean target spot and cost-benefit assessment. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 94-106, 31 ago. 2018 b. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12925>.

MOLINA, J. P. E.; NAVARRO, B. L.; ALLEN, T. W.; GODOY, C. V. Soybean target

spot caused by *Corynespora cassiicola*: a resurgent disease in the americas. **Tropical Plant Pathology**, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 315-331, 1 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-022-00495-z>.

MONTOYA, M. A.; BERTUSSI, L. A. S.; LOPES, R. L.; FINAMORE, E. B. Uma nota sobre consumo energético, emissões, renda e emprego na cadeia da soja no Brasil. **Revista Brasileira de Economia**, [S.L.], v. 73, n. 3, set. 2019. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0034-7140.20190016>.

MYCOBANK. **MycoBank Database**: fungal databases, nomenclature & species banks. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. 2022. Disponível em: <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/53589>. Acesso em: 05 ago. 2022.

MCKINNEY, H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.3, p.195-217, jan., 1923.

ORTEGA-ACOSTA, S. Á.; OCHOA-MARTÍNEZ, D. L.; HERNÁNDEZ-MORALES, J.; PALEMÓN-ALBERTO, F. Morphological and genetic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates obtained from roselle and associated weeds. **Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-17, 10 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1909-2>.

PARIAUD, B.; RAVIGNÉ, V.; HALKETT, F.; GOYEAU, H.; CARLIER, J.; LANNOU, C. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 409-424, jun. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02039.x>.

PATAKY, J. K.; CARSON, M. L. Resistência da planta hospedeira. In: TRIGIANO, R.N.; WINDHAM, M.T.; WINDHAM, A.S. **Fitopatologia**: conceitos e exercícios de laboratório. Artmed. Porto Alegre, 2010.

PATEL, S.J.; BOWEN, K.L.; PATEL, J.D.; KOEBERNICK, J.C. Evaluating target spot (*Corynespora cassiicola*) resistance in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) in a controlled environment. **Crop Protection**, [S.L.], v. 159, p. 106018, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106018>.

PIRAS, S.; WESZ, V. J.; GHINOI, S. Soy Expansion, Environment, and Human Development: an analysis across Brazilian municipalities. **Sustainability**, [S.L.], v. 13, n. 13, p. 1-20, 29 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/su13137246>.

PUIA, Jacqueline Dalbelo; HOSHINO, Adriano Thibes; KLEIN, Estela Mariani; ALMEIDA, Emily Danila de; VIGO, Sandra Cristina; CANTERI, Marcelo Giovanetti. Morphological Characterization of *Corynespora cassiicola* Isolates in Culture Media. **Journal Of Agricultural Science**, [S.L.], v. 13, n. 11, p. 74, 15 out. 2021. Canadian Center of Science and Education. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v13n11p74>.

QI, Y.; ZHANG, X.; PU, J.; LIU, X.; LU, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, H.; LV, Y.; XIE, Y. Morphological and molecular analysis of genetic variability within isolates of *Corynespora cassiicola* from different hosts. **European Journal of Plant Pathology**,

[S.L.], v. 130, n. 1, p. 83-95, 14 jan.2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-010-9734-6>.

RESHMA, T. R.; VINEETH, V. K.; BABU, Shilpa; PHILIP, Shaji. An exhaustive genome analysis of a virulent Indian isolate of *Corynespora cassiicola*, causal agent of *Corynespora* leaf fall (CLF) disease in *Hevea brasiliensis*. **Journal of Plant Pathology**, [S.L.], v. 104, n. 4, p. 1417-1429, 25 ago. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-022-01189-w>.

ROBAINA, R. R.; LONGHI, T. V.; ZEFFA, D. M.; GONÇALVES, L. S. A.; LEITE, R. P. Development of a protocol and a diagrammatic scale for quantification of bacterial leaf streak disease on young plants of maize. **Plant Disease**, [S.L.], v. 104, n. 11, p. 2921-2927, nov. 2020. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-01-20-0041-re>.

ROSDON, M. N.; LAWRENCE, K. S. *Corynespora cassiicola* Isolates from soybean in Alabama detected with G143A mutation in the cytochrome b gene. **Plant Health Progress**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 247-249, 1 jan. 2019. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/php-07-19-0046-br>.

ROSDON, M. N.; LAWRENCE, K. The fungal pathogen *Corynespora cassiicola*: a review and insights for target spot management on cotton and soya bean. **Journal of Phytopathology**, [S.L.], v. 169, n. 6, p. 329-338, 15 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jph.12992>.

SAVARY, S.; WILLOCQUET, L.; PETHYBRIDGE, S. J.; ESKER, P.; MCROBERTS, N.; NELSON, A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature Ecology & Evolution**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 430-439, 4 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>.

SILVA, W. P.K.; KARUNANAYAKE, E. H.; WIJESUNDERA, R. L.C.; PRIYANKA, U. M.Ss. Genetic variation in *Corynespora cassiicola*: a possible relationship between host origin and virulence. **Mycological Research**, [S.L.], v. 107, n. 5, p. 567-571, maio 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1017/s0953756203007755>.

SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; OLIVEIRA, M. C. N. de. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-alvo da soja. **Tropical Plant Pathology**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 333-338, out. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1982-56762009000500007>.

SOARES, R. M.; ARIAS, C. A. A. Inheritance of soybean resistance to *Corynespora cassiicola*. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 85-91, jun. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/232903>.

SONG, Q.; YAN, L.; QUIGLEY, C.; FICKUS, E.; WEI, H.; CHEN, L.; DONG, F.; ARAYA, S.; LIU, J.; HYTEN, D. Soybean BARCSoySNP6K: an assay for soybean genetics and breeding research. **The Plant Journal**, [S.L.], v. 104, n. 3, p. 800-811, 23 set. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.14960>.

SOUSA, M. V.; MACHADO, J. C.; PFENNING, L. H.; KAWASAKI, V. H.; ARAÚJO, D. V.; SILVA, A. A.; MARTINI NETO, A. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 41-48, fev. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1982-56762008000100007>.

SOUSA, M. V. de; SIQUEIRA, C. S.; MACHADO, J. C. Conventional PCR for detection of *Corynespora cassiicola* in soybean seeds. **Journal of Seed Science**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 85-91, 7 jun. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n2152049>.

SOUZA, M. B.; VIDAL, R. L. Fungicidas protetores e sistêmicos no controle de *Corynespora cassiicola* em soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 3, p. 65-69, jul./set. 2018. ISSN 2358-6303.

SUMABAT, L. G.; KEMERAIT, R. C.; BREWER, M. T. Phylogenetic Diversity and Host Specialization of *Corynespora cassiicola* Responsible for Emerging Target Spot Disease of Cotton and Other Crops in the Southeastern United States. **Phytopathology**, [S.L.], v. 108, n. 7, p. 892-901, jul. 2018. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-12-17-0407-r>.

SHIMOMOTO, Y.; SATO, T.; HOJO, H.; MORITA, Y.; TAKEUCHI, S.; MIZUMOTO, H.; KIBA, A.; HIKICHI, Y. Pathogenic and genetic variation among isolates of *Corynespora cassiicola* in Japan. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 60, n. 2, p. 253-260, 26 out. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02374.x>.

TERAMOTO, A.; MEYER, M. C.; SUASSUNA, N. D.; CUNHA, M. G. da. In vitro sensitivity of *Corynespora cassiicola* isolated from soybean to fungicides and field chemical control of target spot. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 281-289, dez. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2195>.

TERAMOTO, A.; MACHADO, T. A.; SANTOS, L. M. dos; VOLF, M. R.; MEYER, M. C.; CUNHA, M. G. da. Reação de cultivares de soja à *Corynespora cassiicola*. **Tropical Plant Pathology**, Brasil, v. 38, n. 1, p. 68-71, fev. 2013.

TOLOI, M. N. V.; BONILLA, S. H.; TOLOI, R. C.; SILVA, H. R. O.; NÄÄS, I. de A. Development indicators and soybean production in Brazil. **Agriculture**, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 1164, 18 nov. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture11111164>.

TOULET, M. L.; NEIRA, D. A.; ESCOBAR, M.; PARDO, E. M.; ARIAS, M. E.; PLOPER, L. D.; WELIN, B.; CASTAGNARO, A. P.; CHALFOUN, N. R. Morphological and pathogenic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates reveals specific genotypic interactions in soybean. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 71, n. 4, p. 843-859, 3 fev. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.13528>.

YORINORI, J. T. Management of Foliar Fungal Diseases in Soybean in Brazil. **Pest Management in Soybean**, [S.L.], p. 185-195, 1992. Springer Netherlands. [http://dx.doi.org/10.1007/978-94-011-2870-4\\_18](http://dx.doi.org/10.1007/978-94-011-2870-4_18).

### 3 ARTIGO A - ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DE MANCHA-ALVO EM COTILÉDONES DE SOJA

#### 3.1 RESUMO

O fungo *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo, encontra-se distribuído em todas as regiões brasileiras produtoras de soja, acarretando impacto negativo na produção principalmente na região do cerrado. A avaliação precoce da doença beneficia programas de melhoramento genético, por avançar mais rapidamente etapas de *screening* dos genótipos. O objetivo deste trabalho foi elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja. Cotilédones de soja com diferentes níveis de severidade de mancha-alvo foram coletados e fotografados com câmera digital. As imagens foram processadas para determinar a porcentagem real de severidade com o auxílio do software Assess<sup>®</sup>. Foram estabelecidos os limites mínimos e máximos de severidade da escala e os valores intermediários foram determinados com base na lei do estímulo visual de Weber-Fechner. A escala proposta está constituída por cinco níveis de severidade, sendo eles: 0,3%; 2,9%; 20,8%; 70,0% e 95,4%. Para a validação da escala as imagens foram analisadas duas vezes (sem e com a escala) por oito avaliadores sem experiência na quantificação de doenças. A acurácia das estimativas dos avaliadores foi determinada pela aplicação do teste t ( $P \leq 0,05$ ) aos coeficientes da regressão linear e a precisão das estimativas foi avaliada pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e pela variância dos erros absolutos. As estimativas com o uso da escala diagramática proposta determinaram um aumento significativo do coeficiente de determinação e uma menor variância dos erros absolutos, proporcionando maiores precisão e acurácia das avaliações. A escala proposta pode ser adotada para a avaliação da severidade da mancha-alvo em cotilédones de soja.

**Palavras-chave:** Avaliação de severidade, *Corynespora cassiicola*, *Glycine max*.

#### 3.2 ABSTRACT

The fungus *Corynespora cassiicola*, causal agent of the target spot, is distributed in all Brazilian soybean producing regions, causing a negative impact on production, especially in the cerrado region. Early evaluation of the disease benefits breeding programs, as it advances the screening stages of genotypes more quickly. The objective of this work was to elaborate and validate a diagrammatic scale for assessing the severity of target spot in soybean cotyledons. Soybean cotyledons with different levels of target spot severity were collected and photographed with digital camera. The images were processed to determine the actual percentage of severity with the aid of the Assess<sup>®</sup> software. The minimum and maximum limits of severity of the scale were established and the intermediate values were determined based on the Weber-Fechner visual stimulus law. The scale presented five severity levels, being: 0.3%; 2.9%; 20.8%; 70.0% and 95.4%. For the validation of the diagrammatic scale the images were analyzed twice (without and with the scale) by eight evaluators with no experience in the quantification of diseases. The accuracy of the evaluators estimates

was determined by applying the t test ( $P \leq 0.05$ ) to the linear regression coefficients and the precision of the estimates was evaluated by the coefficient of determination ( $R^2$ ) and by the variance of the absolute errors. The estimates using the proposed diagrammatic scale determined a significant increase in the coefficient of determination and a lower variance of absolute errors, providing greater precision and accuracy of the evaluations. The proposed scale can be adopted to assess the severity of the target spot in soybean cotyledons.

**Keywords:** *Corynespora cassiicola*, *Glycine max*, Severity assessment.

### 3.3 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas compreendem um dos principais fatores bióticos que tem efeito prejudicial para a cultura da soja em todo o mundo, reduzindo significativamente a produção (TOULET et al., 2022). *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei é o agente causal da mancha-alvo da soja e um patógeno polífago, já relatado em mais de 400 espécies de plantas hospedeiras em diferentes países (FARR; ROSSMAN, 2022).

Em plantas de soja, os sintomas iniciais nas folhas são pontuações de coloração parda com halo amarelo que progridem formando manchas castanhas circulares que apresentam em seu centro uma pontuação e anéis concêntricos de cor escura. Genótipos mais sensíveis à doença podem exibir acentuada desfolha, assim como sintomas em hastes e vagens (SOUZA; VIDAL, 2018; SACON et al., 2021). Embora seu sintoma típico seja a mancha foliar, o patógeno é capaz de causar danos em outros órgãos da planta, tais como raízes, caules, flores e frutos (ORTEGA-ACOSTA et al., 2019). Estimativas apontam para perdas substanciais de rendimento da cultura da soja causadas pela mancha-alvo. No Brasil as perdas de produtividade podem variar entre uma faixa de 8% a 40,5% (MOLINA et al., 2018).

Os sintomas de plantas inoculadas em condição de ambiente controlado podem ser um ponto de infecção envolto por um halo clorótico, apenas uma lesão necrótica ou ainda um ponto de infecção de cor marrom-avermelhado com manchas limitadas no tecido foliar (MOLINA et al., 2022).

A presença de sintomas e sinais do patógeno pode ser verificada em cotilédones de soja (PUIA et al., 2022). Sementes infectadas por *C. cassiicola* exibem sintomas em cotilédones que se assemelham aos observados nos folíolos de soja, marcados pela presença de lesões com anéis concêntricos de coloração marrom-

avermelhada circundada por um halo verde amarelado (GOULART; UTIAMADA, 2020).

A quantificação de doenças expressa pela incidência ou severidade é fundamental para entender o progresso e o desenvolvimento da doença. Para minimizar os erros durante uma avaliação, o método quantitativo adotado deve contar com resultados precisos e acurados (AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2018).

A inoculação de plantas de soja em casa-de-vegetação permite uma seleção confiável ainda nas primeiras gerações do programa de melhoramento genético (WEBSTER et al., 2021). Entretanto, ao adotar um protocolo de *screening* em ambiente controlado, é necessário que os resultados se correlacionem com os obtido em campos naturalmente infestados (ISHIKAWA et al., 2019).

A avaliação precoce da doença, em estádios iniciais da cultura, favorece programas de melhoramento genético por reduzir significativamente as etapas de *screening* dos genótipos. No entanto, até o momento, não foram encontradas escalas diagramáticas elaboradas para avaliação de doenças em cotilédones de soja. No Brasil, para a avaliação de mancha-alvo, adota-se a escala diagramática de Soares, Godoy e Oliveira (2009), proposta para avaliação da severidade de sintomas de mancha-alvo em folíolos de soja.

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

A etapa inicial da elaboração da escala constituiu na coleta de 100 cotilédones de soja com diferentes níveis de severidade da doença. Para isso foram realizados ensaios em casa-de-vegetação, com diversas cultivares de soja a fim de obter níveis variáveis de sintomas. A inoculação do patógeno foi realizada pelo método de sementes infectadas desenvolvida por Tanaka, Menten e Machado (1996), a fim de obter sintomas de mancha-alvo nos cotilédones.

Após a coleta, os cotilédones foram fotografados com câmera digital e as imagens foram processadas no software Assess<sup>®</sup> para quantificação da severidade real da doença. A partir da quantificação da porcentagem do tecido cotiledonar lesionado, foi estabelecido os valores máximo e mínimo de severidade para compor a escala. Os níveis intermediários de severidade foram calculados

seguindo incremento logarítmico e com base na Lei de Weber-Fechner de estímulo visual.

Uma vez definidas as percentagens de severidade de cotilédones lesionados, foi realizada a validação da escala. Oito avaliadores considerados inexperientes na avaliação de doenças em plantas estimaram visualmente a severidade da mancha-alvo por meio de uma apresentação em slides com 40 imagens de cotilédones apresentando diferentes graus de severidade. A validação foi realizada em duas etapas, inicialmente os avaliadores estimaram a severidade sem escala e posteriormente com o auxílio da escala.

A acurácia e a precisão das estimativas visuais dos avaliadores com e sem a escala foram determinadas pelo método de regressão linear, considerando a inclinação da reta igual a 1. O modelo matemático que expressa a regressão segue o modelo abaixo:

$$Y_i = a + bx + \varepsilon_i$$

Em que  $Y_i$  expressa a severidade determinada pelos avaliadores,  $a$  é o intercepto ou coeficiente linear,  $b$  é o coeficiente angular ou a inclinação da reta de regressão,  $x$  é a variável independente ou a severidade real da mancha-alvo e  $\varepsilon_i$  representa os erros com distribuição normal ( $N \approx 0, \sigma^2$ ).

A acurácia das estimativas dos avaliadores foi verificada por meio do teste t ( $P \leq 0,05$ ) aos coeficientes de regressão linear e a precisão das estimativas por coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e pela variância dos erros absolutos. Os erros absolutos foram calculados subtraindo a severidade real da estimada (NUTTER; SCHULTZ, 1995). Os resultados foram submetidos à análise estatística com o pacote ExpDes no software R (versão 4.2.1).

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala diagramática elaborada neste trabalho, com cinco níveis de severidade, tem como limite inferior 0,3% e como limite superior 95,4% de área cotiledonar lesionada, conforme consta na Figura 1.

Os valores estimados e o teste t para o parâmetro intercepto ( $a$ ) sem a escala diagramática foram altamente significativos para a maioria dos avaliadores. Apenas os avaliadores 4 e 8 apresentaram diferença a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Entretanto, as análises dos coeficientes lineares indicam que todos os avaliadores foram significativamente diferentes de zero. O resultado expressa pouca acurácia na avaliação da doença sem o auxílio da escala, com coeficiente de determinação variando entre 0,24 e 0,86, com média de 0,62 para as retas de regressão (Tabela 1).

**Figura 3.1** Escala diagramática para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja.



**Fonte:** A autora (2023).

Quando a severidade da mancha-alvo em cotilédones foi estimada com o auxílio da escala diagramática, todos os avaliadores melhoraram sua precisão, com coeficientes de determinação variando entre 0,70 e 0,97, com média de 0,86 para as retas de regressão entre a severidade real e a estimada (Tabela 3.1).

A precisão é definida como a quantificação da doença que se aproxima do valor real de severidade, ao avaliar a severidade de uma amostra a estimativa do avaliador é a resposta, que vem de um estímulo (NUTTER; SCHULTZ, 1995). A redução significativa do parâmetro intercepto ( $a$ ), incitada pelo uso da escala diagramática aponta para uma diminuição de superestimativas de severidade por avaliadores sem experiência na quantificação de doenças (JULIATTI et al., 2013).

Tabela 3.1 Valores estimados e teste t para os parâmetros intercepto ou coeficiente linear ( $a$ ), coeficiente angular ( $b$ ), valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para o modelo de regressão linear comparando a severidade real da mancha-alvo em cotilédones com a estimada, com o uso ou não da escala diagramática.

Avaliador	Sem escala					Com escala				
	Estimativa		Valores do teste t para o parâmetro		Coef. de Determ.	Estimativa		Valores do teste t para o parâmetro		Coef. de determ.
	$a$	$b$	$a$	$b$	$R^2$	$a$	$b$	$a$	$b$	$R^2$
1	17,94**	0,85***	3,12	7,94	0,61	0,17 <sup>ns</sup>	1,01***	0,11	34,04	0,97
2	19,83***	0,88***	4,03	9,60	0,70	3,88 <sup>ns</sup>	0,99***	1,20	16,51	0,87
3	33,53***	0,52***	5,43	4,58	0,34	11,61*	0,81***	2,56	9,59	0,70
4	7,66*	0,88***	2,29	14,12	0,84	1,78 <sup>ns</sup>	0,99***	0,83	24,82	0,94
5	9,08**	0,95***	2,75	15,48	0,86	4,96 <sup>ns</sup>	0,94***	1,58	16,10	0,87
6	37,95***	0,16 <sup>ns</sup>	5,35	1,91	0,24	4,62 <sup>ns</sup>	0,82***	1,15	10,95	0,75
7	30,40***	0,68***	7,42	8,99	0,67	7,26*	0,88***	2,55	16,70	0,88
8	11,72*	0,84***	2,33	8,98	0,67	2,44 <sup>ns</sup>	0,94***	0,90	18,69	0,90
<b>Médias</b>	<b>21,01</b>	<b>0,72</b>			<b>0,62</b>	<b>4,59</b>	<b>0,92</b>			<b>0,86</b>

\*\*\* Valores do teste t significativo ao nível de 0,1% de probabilidade ( $p \leq 0.001$ ); \*\* valores do teste t significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p \leq 0.01$ ); \* valores do teste t significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0.05$ ); ns não significativo. Os valores críticos para o teste t ao nível de 1% e 5% com 38 graus de liberdade são os que seguem:  $t_{(0.01; 38 \text{ gl})} = 2.712$  e  $t_{(0.05; 38 \text{ gl})} = 2.024$ .

Analisando os dados de erros absolutos, a diferença entre a severidade real e a estimada, observamos a propensão dos avaliadores em superestimar a severidade, sobretudo sem o auxílio da escala diagramática. No entanto, com o uso da escala nota-se uma tendência a equilibrar as estimativas sub e superestimadas. O avaliador 4, por exemplo, sem o uso da escala superestimou em 30 (75%) e subestimou em 9 estimativas (22,5%). Com o uso da escala, o mesmo avaliador superestimou 19 (47,5%) e subestimou em 16 estimativas (40%), mostrando redução no intervalo de variação (Tabela 3.2).

A superestimação da severidade da doença pelos avaliadores sem o uso da escala diagramática também foi observada por Soares et al. (2009), na elaboração da escala diagramática de mancha-alvo em folhas de soja.

O uso da escala diagramática resultou em uma diminuição da variância dos erros. O avaliador um, sem o uso da escala diagramática apresentou alta estimativa de variância dos erros ( $\sigma^2_{\text{ERROS}}$ : 502,01), essa estimativa foi reduzida em mais de treze vezes com o uso da escala ( $\sigma^2_{\text{ERROS}}$ : 38,50) (Tabela 3.2). Soares et al., (2009), verificaram a mesma tendência na redução da variância de erros em escala para avaliação foliar da doença. Na validação da escala diagramática para avaliação de pústula bacteriana em soja, Acco et al. (2020) também observaram a redução da variância dos erros.

Tabela 3.2 Intervalo de variação dos erros ( $[ ]_{\text{Erros}}$ ), estimativas de parâmetros obtidas por meio dos resíduos de regressão linear ( $\sigma^2_{\text{Erros}}$ ,  $\sigma_{\text{Erros}}$ ,  $X_{\text{Erros}}$ ), número de avaliações superestimadas e subestimadas, sem e com auxílio da escala diagramática para avaliar severidade da mancha-alvo em cotilédones de soja.

Avaliador	$[ ]_{\text{Erros}}$	Erros			Super	Sub	
		$\sigma^2_{\text{Erros}}$	$\sigma_{\text{Erros}}$	$X_{\text{Erros}}$	Estimados	Estimados	
1	Sem escala	-68,35 ; 71,81	502,01	22,41	4,80 e-15	30	10
	Com escala	-15,66 ; 13,84	38,50	6,20	1,61 e-15	17	19
2	Sem escala	-63,06 ; 68,68	368,12	19,19	-1,42 e-15	35	4
	Com escala	-63,04 ; 15,18	159,15	12,62	8,08 e-15	26	9
3	Sem escala	-58,76 ; 49,95	578,52	24,05	-2,91 e-14	33	6
	Com escala	-58,18 ; 52,02	312,22	17,67	-1,77 e-14	23	13
4	Sem escala	-58,04 ; 17,48	170,62	13,06	-1,41 e-14	30	9
	Com escala	-25,49 ; 13,64	69,77	8,35	-2,18 e-14	19	16
5	Sem escala	-62,24 ; 17,73	166,05	12,89	-1,04 e-14	36	3
	Com escala	-61,07 ; 12,69	149,94	12,24	2,00 e-15	24	11
6	Sem escala	-47,93 ; 421,29	763,81	27,64	2,75 e-14	24	16
	Com escala	-61,62 ; 32,90	247,84	15,74	6,41 e-15	17	18
7	Sem escala	-44,82 ; 65,50	254,99	15,97	-1,51 e-14	37	3
	Com escala	-41,13 ; 22,98	123,45	11,11	-1,17 e-14	20	15
8	Sem escala	-61,22 ; 23,28	383,34	19,58	7,46 e-15	31	9
	Com escala	-46,55 ; 20,30	111,30	10,55	-3,28 e-15	18	20

### 3.6 CONCLUSÕES

A escala diagramática proposta resultou em melhores acurácia e precisão das estimativas da mancha-alvo em cotilédones de soja pelos avaliadores, constituindo-se numa ferramenta útil na avaliação precoce da doença.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A. **Manual de fitopatologia**. 5.ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. cap. 39, p. 499-518
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases, US National Fungus Collections, ARS, USDA**. Recuperado em 10 de agosto de 2022, de <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>
- GOULART, A. C. P.; UTIAMADA, C. M. *Corynespora cassiicola* in soybean seeds: incidence and transmission. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 36, n. 1, p. 259-265, dez. 2020. <http://dx.doi.org/BJ-v36n0a2020-45550>.
- ISHIKAWA, M. S.; RIBEIRO, N. R.; ALMEIDA, A. A. de; BALBI-PEÑA, M. I. Identification of soybean genotypes resistant to charcoal rot by seed inoculation with *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Agricultural Science**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 213, 31 maio 2019. Canadian Center of Science and Education. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v11n7p213>.
- JULIATTI, F. C.; CRATO, F. F. do; JULIATTI, F. C.; COUTO, K. R.; JULIATTI, B. C. M. Diagramatic scale to evaluation of white mold on soybean. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 676-680, abr. 2013.
- MOLINA, J. P. E.; PAUL, P. A.; AMORIM, L.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F. V.; BORGES, E. P.; CAMPOS, H. D.; VENANCIO, W. S.; MEYER, M. C.; MARTINS, M. C. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 107-115, 26 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12944>.
- MOLINA, J. P. E.; NAVARRO, B. L.; ALLEN, T. W.; GODOY, C. V. Soybean target spot caused by *Corynespora cassiicola*: a resurgent disease in the americas. **Tropical Plant Pathology**, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 315-331, 1 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-022-00495-z>.
- NUTTER, F. W.; SCHULTZ, P. M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 174-184, jun. 1995. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/07060669509500709>.
- ORTEGA-ACOSTA, S. Á.; OCHOA-MARTÍNEZ, D. L.; HERNÁNDEZ-MORALES, J.; PALEMÓN-ALBERTO, F. Morphological and genetic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates obtained from roselle and associated weeds. **Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-17, 10 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1909-2>.

PUIA, J. D.; MOREIRA, A.M. S.; HOSHINO, A.T.; ANDROCIOLI, H. G.; KLEIN, E. M.; BRIOZO, M. E. O.; VIGO, S. C.; CANTERI, M. G. Characterization and incidence of target spot lesions in unifoliolate leaves, petioles, and stems of soybean cultivars. **Journal of Agricultural Science**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 79, 15 mar. 2022. Canadian Center of Science and Education. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v14n4p79>.

SACON, D.; BOTTAN, A. J.; ZANELLA, L. C.; NETTO, A.; BORGES, L. L.. Yield and economic losses caused by *Corynespora cassiicola* on soybean under chemical control. **Communications in Plant Sciences**, [S.L.], v. 11, n. 2021, p. 39-45, 2021. Communications in Plant Sciences. <http://dx.doi.org/10.26814/cps2021005>.

SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; OLIVEIRA, M. C. N. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 333-338, 2009.

SOUZA, M. B.; VIDAL, R. L. Fungicidas protetores e sistêmicos no controle de *Corynespora cassiicola* em soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 3, p. 65-69, jul./set. 2018. ISSN 2358-6303.

TANAKA, M. A. de S.; MENTEN, J. O. M.; MACHADO, J. da C. Growth habit of *Colletotrichum gossypii* and *C. gossypii* var. *cephalosporioides* on cotton seeds. **Bragantia**, v. 55, p. 95-104, 1996.

TOULET, M. L.; NEIRA, D. A.; ESCOBAR, M.; PARDO, E. M.; ARIAS, M. E.; PLOPER, L. D.; WELIN, B.; CASTAGNARO, A. P.; CHALFOUN, N. R. Morphological and pathogenic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates reveals specific genotypic interactions in soybean. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 71, n. 4, p. 843-859, 3 fev. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.13528>.

WEBSTER, R. W.; ROTH, M. G.; REED, H.; MUELLER, B.; GROVES, C. L.; MCCAGHEY, M.; CHILVERS, M. I.; MUELLER, D. S.; KABBAGE, M.; SMITH, D. L. Identification of soybean (*Glycine max*) check lines for evaluating genetic resistance to Sclerotinia stem rot. **Plant Disease**, [S.L.], v. 105, n. 8, p. 2189-2195, 1 ago. 2021. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-10-20-2193-re>.

## 4 ARTIGO B - METODOLOGIAS DE INOCULAÇÃO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA RESISTENTES A MANCHA-ALVO E CORRELAÇÃO COM DADOS DE CAMPO.

### 4.1 RESUMO

A resistência genética se configura como uma importante estratégia de manejo de doenças, além de ser um método eficiente e de menor impacto ambiental. A mancha-alvo (causada por *Corynespora cassiicola*) está entre as principais doenças da cultura da soja. A doença causa principalmente manchas foliares. Em condições de alta severidade da doença, pode provocar desfolha precoce e, conseqüentemente, perdas de rendimento. Um desafio para programas de melhoramento genético é selecionar genótipos precocemente e ainda garantir a repetibilidade dos resultados a campo. O objetivo foi avaliar métodos de inoculação de *C. cassiicola* para selecionar genótipos de soja resistentes à mancha-alvo em casa-de-vegetação e correlacionar com dados de severidade da doença em condições de ocorrência natural no campo. Para isso, foram testados em ambiente controlado os métodos de inoculação por aspersão e de sementes infectadas. Em campo, experimentos foram instalados em dois locais no estado de Mato Grosso, Lucas do Rio Verde e Campo Novo do Parecis. Foi avaliada a resposta de 26 linhagens pré-comerciais e nove cultivares disponíveis comercialmente frente à inoculação do patógeno e correlacionado com os dados de severidade de campo naturalmente infectado. Considerando os resultados de casa-de-vegetação é possível verificar que ambos os métodos de inoculação foram capazes de distinguir a reação dos genótipos. Entretanto, os resultados da inoculação por sementes infectadas sugerem maior grau de repetibilidade para seleção. O ensaio de Lucas do Rio Verde foi mais informativo do que o ensaio de Campo Novo do Parecis, pois a severidade da doença foi mais alta, apresentando uma maior correlação com os dados de severidade obtidos em casa-de-vegetação com inoculação artificial de *C. cassiicola*.

**Palavras-chave:** Inoculação artificial, Inoculação por aspersão, Resistência genética, Screening.

### 4.2 ABSTRACT

Genetic resistance is an important disease management strategy, besides being an efficient method with less environmental impact. Target spot (caused by *Corynespora cassiicola*) is among the main diseases of soybean cultivation. The disease mainly causes symptoms of leaf spots. Under conditions of high severity of the disease, it can cause early defoliation and, consequently, loss of income. A challenge for breeding programs is to select genotypes early and also ensure the repeatability of results in the field. The objective of this objective was to evaluate inoculation methodologies of *C.*

*cassicola* to select soybean genotypes resistant to target spot in greenhouse and correlate with disease severity data in conditions of natural occurrence in the field. To this do so, were tested in a controlled environment the methods of inoculation by spraying and by infected seeds. The response of 26 pre-commercial cultivars and nine commercially available cultivars against the inoculation of the pathogen was evaluated and correlated with naturally infected field severity data. Considering the results of greenhouse is it possible to verify that both inoculation methods were able to distinguish the reaction of the genotypes. However, the results of inoculation by infected seeds suggest a higher degree of repeatability for selection. Lucas do Rio Verde's trial was more informative than the Campo Novo do Parecis trial, because the severity of the disease was higher, with a higher correlation with the severity data obtained in greenhouse with artificial inoculation of *C. cassicola*.

**Keywords:** Artificial inoculation, Genetic resistance, Screening, Spray inoculation.

#### 4.3 INTRODUÇÃO

A mancha-alvo causada pelo fungo *Corynespora cassicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, é uma das principais doenças da cultura da soja e está presente em praticamente todas as regiões produtoras de soja do Brasil e do mundo. A severidade da doença varia de acordo com a região e o ano de cultivo, sendo dependente de condições climáticas e da variabilidade genética do patógeno e dos genótipos de soja (LIN et al., 2022). Em cultivares suscetíveis a redução da produtividade pode chegar a até 40,5% (MOLINA et al., 2018)

O processo de seleção e o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes à aos patógenos existentes são desafiadores e o uso de ferramentas como técnicas moleculares tem se mostrado eficiente (TRIPATHI et al., 2022). Com o aumento da incidência da mancha-alvo no Brasil, a doença tem adquirido maior importância. Diferentes níveis de suscetibilidade têm sido observados entre as cultivares em cultivos comerciais, no entanto, a genética da resistência da soja à *C. cassicola* tem sido pouco explorada. Em estudo sobre a reação da soja à *C. cassicola*, Soares e Arias (2020) verificaram que a herança da resistência é do tipo quantitativa, com predominância de efeito genético aditivo e baixa herdabilidade.

Dentro de um programa de melhoramento para seleção de materiais resistentes é imprescindível adotar métodos que expressem com veracidade os resultados de resposta de genótipos às doenças. Experimentos de campo, muitas vezes, não atendem esse pressuposto visto que se sujeitam a ação de fatores

externos ao patossistema que podem variar de acordo com o local de cultivo. Para reduzir essa variação, experimentos são conduzidos em ambiente controlado com a padronização do método de inoculação (ISHIKAWA et al., 2019).

Em estudo de resistência genética de soja a mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, Webster et al. (2021) propõem o uso de um painel de genótipos “checks” para avaliar com precisão a resistência ao mofo-branco em germoplasma de soja e auxiliar no melhoramento e no desenvolvimento comercial da soja. A seleção de genótipos em casa-de-vegetação por meio da inoculação de um isolado de *S. sclerotiorum* agressivo em “checks” de soja aumenta a precisão da avaliação da resistência do germoplasma e ainda permite determinar a reação à doença para as próximas gerações do melhoramento genético. A maioria das cultivares mostraram resistência ao mofo-branco no campo semelhante à exibida na casa-de-vegetação, indicando que o uso do painel de cultivares “checks” em condições controladas, reflete com precisão os níveis de resistência fisiológica das cultivares de soja.

O protocolo para avaliação da mancha-alvo presente nas instruções para ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de soja, determinadas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (2007), estabelece a inoculação do patógeno por aspersão da suspensão de esporos na concentração de 1,0 a  $1,5 \times 10^4$  conídios/mL em plantas nos estádios V4-V5. A avaliação da doença, por esse protocolo, é realizada 21-25 dias após a inoculação. A desvantagem desse método consiste no tempo entre a instalação do experimento e a avaliação.

A inoculação de patógenos em sementes, por meio do contato direto da semente com a colônia fúngica, promove a incidência de sintomas na plântula permitindo verificar a patogenicidade e estudar a resistência do hospedeiro (ARAÚJO et al., 2006; TANAKA, MENTEN e MACHADO, 1996). Gadaga, Siqueira e Machado (2018) afirmam que para sementes infectadas a avaliação de doenças pode ser baseada em sintomas manifestados em cotilédones.

A seleção precoce de genótipos resistentes à mancha-alvo permite acelerar as etapas de programas de melhoramento da soja em ambiente controlado. No entanto, é necessário que ocorra uma correlação com resultados de campo.

Diante disso, este trabalho buscou: a) avaliar métodos de inoculação de *C. cassiicola* para selecionar genótipos de soja resistentes à mancha-alvo em casa

-de-vegetação e b) correlacionar com dados de severidade da doença em condições de ocorrência natural no campo.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

##### 4.4.1 Experimentos em Casa-de-vegetação

###### 4.4.1.1 Obtenção e manutenção do isolado e material vegetal

O inóculo do fungo foi proveniente do isolado N° 403 de *C. cassicola* obtido a partir da coleção de fitopatógenos da empresa GDM Genética do Brasil. Quanto à origem, o fungo foi isolado de folhas de soja sintomáticas coletadas no município de Lucas do Rio Verde, MT, em 2020. O isolado é armazenado pelo método de Castellani.

O isolado foi repicado em placas contendo meio de cultura V8 (120 mL suco de tomate, 2,8 g de carbonato de cálcio e 12 g de ágar para 1000 mL de água destilada) e incubado a 28 °C e fotoperíodo de 12/12 h por 20 dias.

Foram avaliados 35 genótipos de soja, dentre eles 26 linhagens e nove cultivares comerciais (M 7739 IPRO, DM 75I74 IPRO, Brasmax Ciclone IPRO, Brasmax Olimpo IPRO e Brasmax Bônus IPRO, Brasmax Extra IPRO, Brasmax Auge, Brasmax Voraz IPRO e NEO 750 IPRO).

###### 4.4.1.2 Metodologias de inoculação

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e casa-de-vegetação na estação experimental da empresa GDM Genética do Brasil, em Cambé, Paraná. Foram testados dois métodos de inoculação: o método tradicional de aspersão de suspensão de conídios nas folhas e o método de sementes infectadas.

O método de aspersão nas folhas seguiu o protocolo do Ministério da Agricultura e Pecuária (2007) com pequenas modificações. Dez sementes tratadas com o fungicida químico Standak® Top foram semeadas em vaso de 1000 mL contendo solo autoclavado. Sete dias após a semeadura foi realizado o desbaste deixando uma população final de cinco plantas por vaso. A inoculação foi realizada quando as plantas atingiram o estágio vegetativo V4, caracterizado pela terceira folha

trifoliolada completamente desenvolvida. O inóculo foi uma suspensão de conídios do isolado N° 403 na concentração de  $1,0 \times 10^4$  conídios/mL. Após a inoculação, a temperatura da casa-de-vegetação foi ajustada para permanecer entre 28 °C e 30 °C.

O método de sementes infectadas seguiu o descrito por Tanaka, Menten e Machado (1996) com modificações. As sementes passaram por um processo prévio de assepsia, com álcool a 70% durante 30 segundos, hipoclorito a 0,5% por 60 segundos e enxague em água destilada. Posteriormente, as sementes foram colocadas em papel filtro estéril para secagem. O isolado N° 403 foi repicado em meio V8 e após o crescimento do fungo atingir as bordas da placa as sementes foram colocadas sobre as colônias em camada única e mantidas por um período de 48 horas a 28 °C e fotoperíodo de 12/12h. A semeadura foi realizada em vasos plásticos com capacidade de 250 mL e o substrato composto por areia autoclavada (121 °C por duas horas). Os vasos foram mantidos em temperatura entre 28 °C e 30 °C e após 24 horas da semeadura a nebulização automática foi ajustada para UR superior a 80%.

Foram realizados dois experimentos para cada um dos métodos. Em todos os experimentos a unidade experimental foi composta por um vaso com cinco plantas de soja. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições.

#### 4.4.1.3 Avaliações

As avaliações foram realizadas de acordo com o método de inoculação. Para o método de aspersão a avaliação ocorreu quinze dias após a inoculação, pela estimativa da porcentagem de área foliar lesionada (severidade) obtida da média das cinco plantas em cada vaso. A severidade da doença foi quantificada com base na escala diagramática elaborada e validada por Soares, Godoy e Oliveira (2009). Para o método de inoculação em sementes a avaliação foi realizada de forma visual, pela observação dos sintomas da doença doze dias após a semeadura nos cotilédones das plantas de soja utilizando a escala diagramática de severidade proposta no artigo A.

Os dados foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal Wallis para delineamento inteiramente casualizado no software RStudio com o pacote Agricolae (versão 4.2.1).

#### 4.4.2 Experimentos em Campo

Os experimentos de campo foram instalados em dois locais com histórico de alta incidência de mancha-alvo: Lucas do Rio Verde e Campo Novo do Parecis, ambos no estado de Mato Grosso durante a safra de 2021/2022.

Em Lucas do Rio Verde, a semeadura ocorreu no dia 14 de novembro e em Campo Novo do Parecis ocorreu em 03 de dezembro. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições. Cada parcela constituiu em quatro linhas de soja com espaçamento de 0,45 cm e 10 m de comprimento.

A ocorrência da mancha-alvo foi natural, sem a inoculação artificial do patógeno. A severidade da doença foi estimada em três avaliações, pela observação dos sintomas nas duas linhas centrais da parcela, atribuindo-se uma nota de severidade com base na escala diagramática para avaliação de mancha-alvo na soja proposta por Soares, Godoy e Oliveira (2009).

A partir das avaliações de severidade, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença normalizada (AACPDN), segundo a fórmula:  $AACPDN = \{[(y_1 + y_2)/2] * (t_2 - t_1)\} / t_t$ , onde  $y_1$  e  $y_2$  são as duas avaliações realizadas no intervalo de tempo  $t_1$  e  $t_2$  entre duas avaliações consecutivas e  $t_t$  tempo total.

Foram verificadas a homogeneidade e a normalidade dos resíduos, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Não atendendo os pressupostos, os dados foram analisados por meio da análise não-paramétrica de Friedman para delineamento de blocos casualizados no software RStudio com o pacote Agricolae (versão 4.2.1).

### 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.5.1 Experimentos em Casa-de-vegetação

Os dados obtidos da severidade dos experimentos com a inoculação pelo método da aspersão da suspensão de esporos e sementes infectadas, não atenderam os pressupostos de normalidade e homogeneidade dos resíduos. Testes não-paramétricos são usados com frequência em análises de doenças, pois admitem que as observações são independentes, sendo que o teste de Kruskal-Wallis mostra-se equivalente à análise de variância de duas vias (MUTAPI; RODDAM, 2002).

Na Tabela 4.1 apresentam-se os dados de severidade (% de área foliar afetada) de mancha-alvo dos genótipos de soja inoculados por aspersão e por infecção na semente (dois experimentos de cada método).

**Tabela 4.1** Severidade da mancha-alvo (% de área foliar afetada) em genótipos de soja em dois experimentos inoculados com os métodos de aspersão e sementes infectadas em condições de ambiente controlado.

Genótipos	Método de inoculação			
	Aspersão		Semente	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
Linhagem 12	52,00 <sup>1</sup> a*	51,33 <sup>1</sup> abc	95,40 <sup>2</sup> a	78,47 <sup>2</sup> abc
Linhagem 24	52,00 a	52,00 a	36,93 abcd	47,63 abcd
Linhagem 25	52,00 a	51,33 abc	53,47 abcd	53,47 abcd
Linhagem 26	52,00 a	52,00 a	53,47 abcd	36,93 abcd
BMX Olimpo	52,00 a	32,50 bcdef	31,10 abcd	30,97 bcd
BMX Auge	52,00 a	48,67 ab	55,23 abcd	53,47 abcd
DM75174IPRO	52,00 a	42,00 abcd	95,40 a	78,47 abc
NEO750IPRO	48,67 ab	42,00 abcd	86,93 ab	78,47 abc
Linhagem 1	45,33 abc	42,00 abcd	86,93 ab	95,40 a
BMX Voraz	45,33 abc	45,33 abc	70,00 abcd	53,47 abcd
Linhagem 2	42,00 bc	42,00 abcd	86,93 ab	70,00 abcd
Linhagem 18	42,00 bc	45,33 abc	36,93 abcd	70,00 abcd
BMX Ciclone	42,00 bc	36,50 bcde	70,00 abcd	53,47 abcd
BMX Bônus	42,00 bc	31,00 cdefg	86,93 ab	70,00 abcd
BMX Extra	42,00 bc	42,00 abcd	53,47 abcd	61,93 abcd
Linhagem 23	36,50 cd	11,17 fgghi	61,93 abcd	86,93 ab
Linhagem 17	31,00 cde	25,50 defgh	14,57 bcd	36,93 abcd
Linhagem 8	21,50 de	42,00 abcd	86,93 ab	78,47 abc
Linhagem 19	21,50 de	11,67 fgghi	70,00 abcd	78,47 abc
Linhagem 11	17,50 def	42,00 abcd	70,00 abcd	86,93 ab
Linhagem 3	13,50 efg	21,50 defghi	78,47 abc	70,00 abcd
Linhagem 5	13,50 efg	45,33 abc	78,47 abc	70,00 abcd
Linhagem 6	13,50 efg	11,17 fgghi	70,00 abcd	78,47 abc
Linhagem 16	13,50 efg	45,33 abc	8,73 cd	7,00 cd
Linhagem 15	8,83 fgh	42,00 abcd	31,10 abcd	31,10 abcd
Linhagem 9	6,50 ghi	42,00 abcd	78,47 abc	53,47 abcd
Linhagem 10	6,50 ghi	42,00 abcd	53,47 abcd	70,00 abcd
Linhagem 14	6,50 ghi	8,83 ghi	36,93 abcd	36,93 abcd
Linhagem 20	6,50 ghi	8,83 ghi	36,93 abcd	53,47 abcd
Linhagem 4	5,33 hi	17,50 efghi	36,93 abcd	36,93 abcd
Linhagem 13	5,33 hi	6,50 hi	20,40 bcd	53,47 abcd
Linhagem 22	5,33 hi	6,50 hi	8,73 cd	8,73 cd
Linhagem 7	3,00 i	8,33 ghi	36,93 abcd	53,47 abcd
Linhagem 21	3,00 i	17,50 efghi	2,03 d	2,90 cd
M7739	2,33 i	3,00 i	1,17 d	1,17 d

<sup>1</sup>Severidade avaliada aos 15 dias após a inoculação de acordo com a escala proposta por Soares, Godoy e Oliveira (2009).

<sup>2</sup>Severidade avaliada aos 12 dias após a semeadura de acordo com a escala diagramática para avaliação de mancha-alvo em cotilédones de soja.

\*Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pela análise de Friedman ( $p < 0,05$ ).

No método de aspersão, a maior média de severidade dos tratamentos foi de 52% de área foliar lesionada (nível máximo da escala utilizada) nos

dois experimentos. Nota-se que existe variação entre os rankings das cultivares entre o primeiro e o segundo experimento, o que sugere baixa repetibilidade dos resultados. As linhagens 13, 22, 7 e a cultivar comercial M7739 apresentaram a menor severidade em ambos os experimentos.

Moore et al. (2021) verificaram baixa repetibilidade de severidade da mancha-alvo em genótipos de algodoeiro, em ensaios conduzidos em ambiente controlado e inoculados com suspensão de conídios pelo método de aspersão.

Avaliações de experimentos em casa-de-vegetação, além de demandar mais tempo, podem apresentar pouca eficiência e baixa reprodutibilidade, entretanto são mais seguras do ponto de vista de determinação da reação de genótipos a doenças (KANDEL et al., 2018).

Os dados de severidade dos genótipos inoculados na semente apresentaram respostas similares às obtidas com o método de aspersão. A maior média de severidade observada nos cotilédones em ambos os ensaios foi de 95,4% (maior nível da escala) e a menor média observada foi de 1,17% (Tabela 4.1). Comparado com o método de aspersão, verifica-se menos variação do ranking das cultivares mais suscetíveis entre o primeiro e o segundo experimento, o que sugere maior repetibilidade dos resultados. A cultivar M7739 e as linhagens 16, 21 e 22 mostraram maior resistência à doença, com menor severidade em ambos os experimentos.

A semelhança observada entre a severidade da mancha-alvo em folhas em condições de campo e a severidade observada em cotilédones em casa-de-vegetação é importante ser ressaltada pois a resistência de um genótipo em estágio cotiledonar pode ser diferente de uma planta em estágio mais avançado (MOORE et al., 2021; ELLIS et al., 2014).

Segundo a análise de correlação de Spearman (Tabela 4.2) verifica-se um coeficiente de correlação altamente significativo de 0,71 (aspersão) e 0,82 (semente) entre os experimentos inoculados com o mesmo método (experimentos 1 e 2).

**Tabela 4.2** Coeficiente de correlação ( $r_s$ ) e p-valor de correlações de Spearman entre os dados de severidade dos dois experimentos do método de inoculação por aspersão (Aspersão 1 e 2) e os dados de severidade dos dois experimentos do método de sementes infectadas (Sementes 1 e 2) em ambiente de cultivo controlado.

	Correlação de Spearman			
	$r_s$ (p-valor)			
	Aspersão 1	Aspersão 2	Semente 1	Semente 2
Aspersão 1	-	0,71 (0,000)	0,90 (0,003)	0,34 (0,047)
Aspersão 2	0,71 (0,000)	-	0,36 (0,035)	0,16 (0,354)
Semente 1	0,90 (0,003)	0,36 (0,035)	-	0,82 (0,000)
Semente 2	0,34 (0,047)	0,16 (0,354)	0,82 (0,000)	-

O coeficiente de correlação de Spearman entre os dados de severidade média dos dois experimentos do método de inoculação por aspersão e os dados de severidade média dos dois experimentos do método de sementes infectadas, é positivo e significativo, mas de valor considerado médio-baixo 0.41 ( $p < 0,013$ ).

#### 4.5.2 Experimentos em Campo

Os resultados obtidos em campo foram comparados considerando dois parâmetros importantes da ocorrência de doenças, a severidade final e a área abaixo da curva de progresso da doença (Tabelas 4.3 e 4.4).

Em função da época de semeadura dos ensaios de campo, houve menor severidade da doença, comparada a outros ensaios semeados mais cedo nas mesmas regiões. O experimento de Campo Novo do Parecis, semeado 19 dias após o do Lucas do Rio Verde, apresentou menor severidade da mancha-alvo, com máximo de 20% de área foliar afetada. Os fatores ambientais não favoreceram o desenvolvimento do patógeno e conseqüentemente o atraso na semeadura se configurou como um escape à doença.

**Tabela 4.3** Severidade final (% de área foliar afetada) da mancha-alvo em diferentes genótipos de soja em campos naturalmente infectados nos municípios de Lucas do Rio Verde e Campo Novo do Parecis (MT) na safra de 2021/2022.

Genótipos	Severidade final (% A.F.) <sup>1</sup>	
	Lucas do Rio Verde	Campo Novo do Parecis
BMX Auge	52,00 <sup>+</sup> a	19,33 a
NEO 750IPRO	52,00 a	15,00 c
Linhagem 18	52,00 a	15,00 c
Linhagem 7	52,00 a	15,33 c
BMX Extra	50,00 b	18,33 a
Linhagem 1	47,33 bc	20,00 a
BMX Bônus	46,67 bc	17,67 b
Linhagem 6	42,00 cd	16,33 c
Linhagem 5	40,00 de	18,67 a
DM 75I74	35,00 e	13,67 d
Linhagem 8	35,00 e	15,67 c
BMX Voraz	28,33 f	14,33 d
Linhagem 19	25,33 f	17,00 b
BMX Olimpo	25,00 fg	15,67 c
Linhagem 17	25,00 fg	13,67 d
Linhagem 15	25,00 fg	17,00 b
Linhagem 24	25,00 fg	16,33 c
Linhagem 3	25,00 fg	13,00 d
Linhagem 26	24,00 hi	15,00 c
Linhagem 25	23,33 gh	17,33 b
Linhagem 4	21,67 hi	15,00 c
BMX Ciclone	20,00 i	13,67 d
Linhagem 10	20,00 i	19,33 a
Linhagem 16	18,00 j	15,67 c
Linhagem 11	18,00 j	17,67 b
Linhagem 20	17,00 jk	15,67 c
Linhagem 21	16,00 jkl	15,67 c
Linhagem 22	14,67 kl	13,67 d
Linhagem 2	14,00 lm	14,33 d
Linhagem 12	12,00 m	15,67 c
Linhagem 14	12,00 m	16,33 c
Linhagem 23	12,00 m	17,33 b
Linhagem 9	12,00 m	15,67 c
Linhagem 13	10,00 n	15,67 c
M 7739	10,00 n	13,00 d

<sup>1</sup>Severidade avaliada com auxílio da escala diagramática proposta por Soares, Godoy e Oliveira (2009).

\*Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pela análise de Friedman (p<0,05).

**Tabela 4.4** Área abaixo da curva de progresso da doença normalizada (AACPDN) da severidade da mancha-alvo em linhagens e cultivares comerciais de soja em Lucas do Rio Verde e Campo Novo do Parecis, em Mato Grosso, na safra de 2021/2022.

Genótipos	AACPDN	
	Lucas do Rio Verde	Campo Novo do Parecis
BMX Auge	49,86* a	5,86 fghij
Linhagem 18	48,90 ab	4,92 klmn
Linhagem 7	47,71 ab	5,59 jkl
NEO 750	47,24 ab	4,49 lmn
BMX Extra	47,00 ab	6,67 defgh
Linhagem 6	37,68 abc	6,29 efghi
Linhagem 1	36,83 abc	11,43 a
BMX Bônus	31,77 bcd	6,14 ghij
Linhagem 8	28,25* cde	6,31 efghij
DM 75I74	27,61 cdef	3,83 n
Linhagem 5	27,14 efgh	8,85 ab
BMX Voraz	26,51 defg	4,50 mn
Linhagem 3	25,32 efgh	3,96 n
Linhagem 15	25,32 efgh	7,26 abcd
BMX Olimpo	25,32 efgh	7,00 abcde
Linhagem 17	24,68 fghi	4,96 klmn
Linhagem 26	24,32 ghijk	6,30 defgh
Linhagem 24	24,04 ghij	6,44 defgh
Linhagem 25	21,83 ghij	6,47 efghij
Linhagem 19	20,90 hijk	6,29 efghij
Linhagem 4	19,95 jkl	4,07 bcdef
BMX Ciclone	19,64 ijkl	4,07 mn
Linhagem 10	19,36 jkl	8,73 abc
Linhagem 16	19,29 kl	5,62 ijkl
Linhagem 11	18,86 kl	8,36 abc
Linhagem 2	17,86 lm	5,76 hijk
Linhagem 20	17,86 lm	4,91 klmn
Linhagem 21	16,32 lm	5,11 klm
Linhagem 22	15,85 lm	4,23 mn
Linhagem 12	12,00 mn	4,77 lmn
Linhagem 14	12,00 mn	6,23 efghij
Linhagem 23	12,00 mn	6,64 cdefg
M 7739	11,29 n	4,72 lmn
Linhagem 9	11,14 n	6,67 bcdefg
Linhagem 13	10,00 n	5,05 klm

\*Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pela análise de Friedman ( $p < 0,05$ ).

O desenvolvimento de uma doença é dependente de diversos fatores ambientais, dentre eles destacam-se a temperatura, a umidade e a luminosidade (LIU; HE, 2019). Ensaio desenvolvidos em condições de campo estão sujeitos a muitas variáveis comparados a ensaios de casa-de-vegetação. As condições ambientais

ocasionalmente não favorecem o desenvolvimento de doenças e prejudicam a avaliação da resistência de genótipos a campo (WEBSTER et al., 2021).

Devido à baixa severidade de mancha-alvo observada em Campo Novo do Parecis, o experimento de Lucas do Rio Verde foi mais informativo. De acordo com Ellis et al. (2014), os locais de campo devem ser selecionados para otimizarem as infecções naturais ou epidemias induzidas para que ocorra uma seleção efetiva de resistência de genótipos.

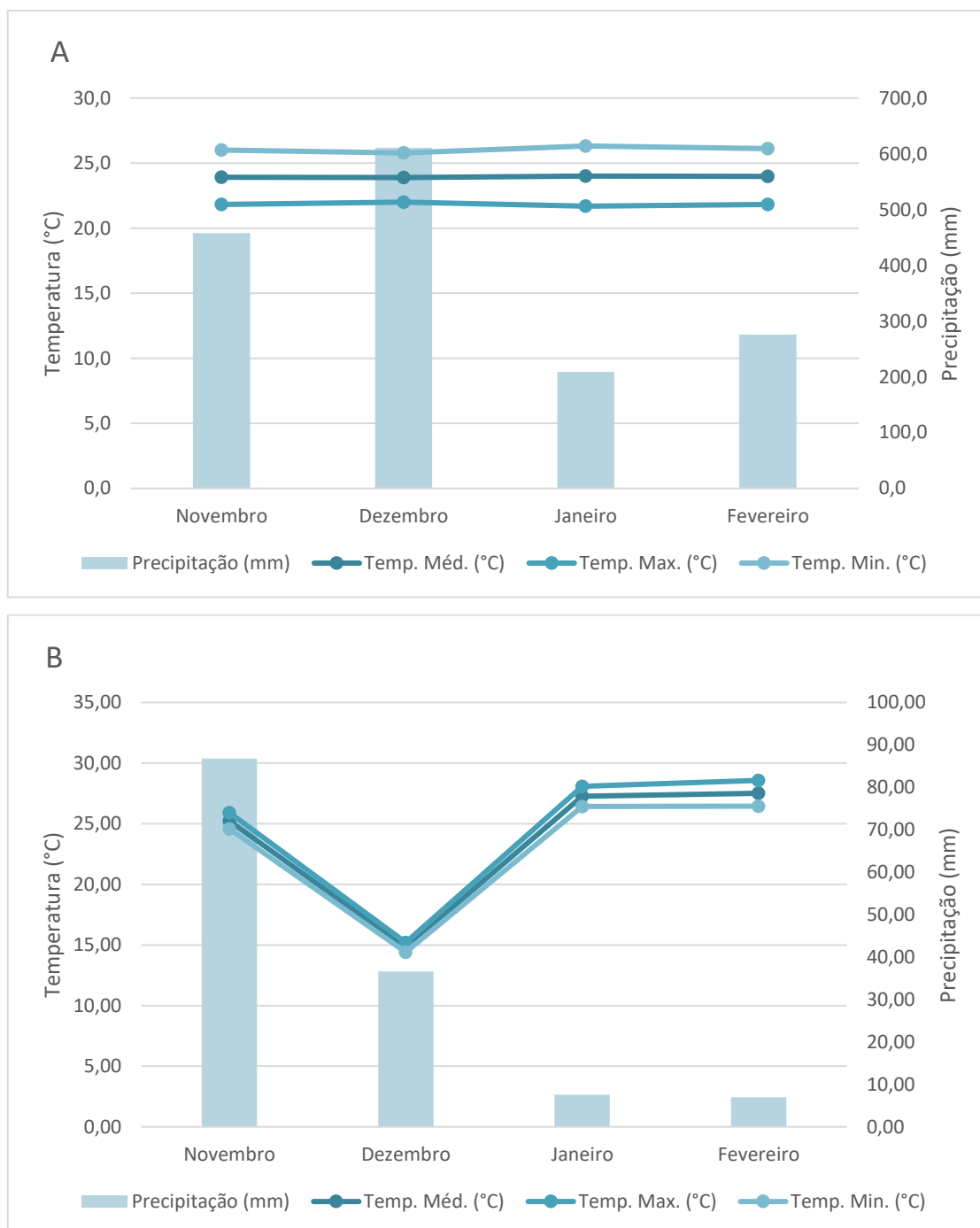
Os dados meteorológicos da safra de 2021/2022, revelam que os dois locais diferiram em temperatura e principalmente na precipitação. De acordo com dados não publicados da Fundação Rio Verde (comunicação pessoal), o volume de precipitação em Lucas do Rio Verde durante o mês de dezembro foi superior a 600 mm, com concentração de chuvas no início do estágio reprodutivo da soja (Figura 4.1). A umidade relativa do ar, esteve em média acima de 80% durante todo o ciclo da cultura no município.

Em Campo Novo do Parecis a semeadura foi realizada em 3 de dezembro e observa-se que os meses subsequentes registraram volume de precipitação abaixo de 20 mm. Em Lucas do Rio Verde, além de apresentar maior volume de precipitação ao longo do ciclo da cultura, a temperatura também foi mais próxima da ideal para o desenvolvimento do patógeno (Figura 4.1). Provavelmente, essas condições meteorológicas registradas na lavoura de Campo Novo do Parecis, não favoreceram o desenvolvimento de epidemias de mancha-alvo na soja.

Os prejuízos causados pela mancha-alvo, são influenciados por condições ambientais favoráveis à doença até mesmo em áreas com a aplicação de fungicidas, sendo que a umidade elevada é fundamental tanto para o desenvolvimento das plantas quanto para as doenças (MOLINA et al., 2018).

Durante a safra de 2013/2014 a condição ambiental nos dois locais no estado de Mato Grosso, não favoreceu a ocorrência de epidemias de mancha-alvo na soja. Outro fator de impacto sobre a pressão de inóculo de *Corynespora cassiicola* refere-se à intensificação do uso de fungicidas em áreas de produção de soja, a qual visa o controle principalmente da ferrugem-asiática (TERAMOTO et al., 2017).

**Figura 4.1** Dados meteorológicos dos municípios de Lucas do Rio Verde (A) e Campo Novo do Parecis (B), Mato Grosso, durante a condução dos experimentos na safra 2021/2022.



**Fonte:** Dados do município de Lucas do Rio Verde, obtidos da Fundação Rio Verde (não publicados). Dados do município de Campo Novo do Parecis, obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet).

No experimento de Lucas do Rio Verde, com base nos dados de severidade final e AACPDN, os genótipos mais suscetíveis foram as cultivares comerciais BMX Auge e Neo 750IPRO e as linhagens 7 e 18. Comportaram-se como mais resistentes nesse local, os genótipos M7739 e as linhagens 9 e 13 (Tabelas 4.3 e 4.4).

A reação da cultivar M7739 à doença é caracterizada como moderadamente resistente pelos detentores da marca. Em todos os experimentos apresentou a menor severidade tanto em ambiente controlado quanto a campo. Já a cultivar BMX Auge mostrou suscetibilidade à mancha-alvo em todos os experimentos, confirmando resultados observados em ensaios prévios sobre sua reação frente à doença. Com isso, pode-se inferir que, mesmo em condições de baixa pressão da doença, os padrões utilizados nesse estudo reproduziram o comportamento previamente determinado.

Programas de melhoramento genético buscam, entre outras características, desenvolver genótipos de alta performance produtiva e estabilidade nas diferentes regiões de cultivo. Os dados de produtividade dos experimentos podem ser observados na tabela 4.5. A linhagem 13 tem destaque em ambos os locais, com a maior produção que correlaciona com menor severidade da doença. As cultivares BMX Auge e BMX Extra e as linhagens 7 e 1 apresentaram baixa produtividade e elevada severidade de mancha-alvo.

A linhagem 8, atingiu uma produtividade relativamente alta nos dois locais, 2650 Kg.ha<sup>-1</sup> em Lucas do Rio Verde e 1616 Kg.ha<sup>-1</sup> em Campo Novo do Parecis, mesmo apresentando reação de suscetibilidade frente a doença. Em Lucas do Rio Verde, observamos que a cultivar BMX Bônus apresentou grande sensibilidade ao patógeno (46,67% de área foliar afetada), entretanto a severidade da doença não afetou sua produção neste local.

De acordo com a tabela de produtividade dos genótipos, verificamos que o experimento de Campo Novo do Parecis, apresentou menor produção comparado ao campo de Lucas de Rio Verde. Este fato pode ser explicado por diversos fatores, como a data mais tardia de semeadura do experimento e a escassez de precipitações neste local durante o ciclo de cultura. A severidade de doenças, a produtividade e a qualidade de sementes mudam de acordo com a região e ano de cultivo, e dependem de fatores como clima, tratamentos culturais, manejo de doenças e da variabilidade genética dos patógenos e genótipos de soja (LIN et al., 2022).

**Tabela 4.5** Produtividade de linhagens e cultivares comerciais de soja em Lucas do Rio Verde e Campo Novo do Parecis, em Mato Grosso, na safra de 2021/2022.

Lucas do Rio Verde		Campo Novo do Parecis	
Genótipo	Produtividade <sup>1</sup>	Genótipo	Produtividade <sup>1</sup>
Linhagem 13	2842*a	Linhagem 13	2834 a
Linhagem 26	2763 a	Linhagem 4	2808 a
Linhagem 22	2715 a	Linhagem 3	1770 b
Linhagem 25	2657 a	Linhagem 8	1734 b
Linhagem 8	2650 a	Linhagem 9	1616 b
BMX Bônus	2623 a	Linhagem 16	1520 b
M7739IPRO	2582 a	Linhagem 5	1446 b
BMX Ciclone	2457 b	Linhagem 14	1390 c
BMX Olimpo	2430 b	Linhagem 10	1370 c
Linhagem 3	2370 b	Linhagem 26	1290 c
Linhagem 20	2278 b	Linhagem 15	1268 c
BMX Voraz	2242 b	Linhagem 17	1266 c
Linhagem 16	2220 b	BMX Ciclone	1260 c
Linhagem 10	2193 b	Linhagem 7	1248 c
Linhagem 19	2137 c	Linhagem 24	1220 c
Linhagem 14	2095 c	BMX Olimpo	1200 c
Linhagem 21	2095 c	Linhagem 2	1162 c
75I74RSF IPRO	2077 c	Linhagem 19	1142 c
Linhagem 23	2057 c	Linhagem 6	1128 c
Linhagem 17	2045 c	Linhagem 12	1074 c
Linhagem 15	2017 c	Linhagem 11	1044 d
Linhagem 4	1965 c	Linhagem 23	1026 d
Linhagem 5	1938 c	75I74RSF IPRO	1022 d
NEO750 IPRO	1872 c	Linhagem 20	1012 d
Linhagem 12	1837 c	Linhagem 22	990 d
Linhagem 11	1812 c	Linhagem 18	928 d
Linhagem 24	1772 c	BMX Bônus	870 d
Linhagem 6	1695 d	Linhagem 21	802 d
Linhagem 18	1657 d	Linhagem 25	800 d
Linhagem 9	1647 d	BMX Auge	628 e
Linhagem 2	1603 d	M7739IPRO	610 e
BMX Auge	1522 d	Linhagem 1	554 e
BMX Extra	1490 d	BMX Voraz	544 e
Linhagem 7	1478 d	NEO750 IPRO	524 e
Linhagem 1	988 e	BMX Extra	468 e

<sup>1</sup> Produtividade expressa em Kg ha<sup>-1</sup> e representativa de área colhida de 5 m x 0,9 m.

\*Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

#### 4.5.3 Correlação entre dados de severidade de mancha-alvo em ambiente controlado e severidade em condições de ocorrência natural a campo

As correlações de Spearman entre os dados de severidade em experimentos inoculados artificialmente por aspersão e semente em casa-de-vegetação e campo de Lucas do Rio Verde revelam que houve uma correlação significativa. Para Campo Novo do Parecis somente um experimento teve correlação significativa (Tabela 4.6).

Ishikawa et al. (2018) verificaram correlação positiva ( $r_s = 0,80$ ) entre método de inoculação de *Macrophomina phaseolina* em casa-de-vegetação com resultados de avaliação a campo, indicando que a reação de cultivares de soja em campo pode ser estudada em casa-de-vegetação.

**Tabela 4.6** Valores de coeficiente de correlação ( $r_s$ ) e p-valor de Spearman entre dados de métodos de inoculação por aspersão e sementes infectadas em casa-de-vegetação e dados obtidos em condições naturais de infecção em Lucas do Rio Verde-MT e Campo Novo do Parecis-MT na safra de 2021/2022.

Método de inoculação	Experimento	Lucas do Rio Verde	Campo Novo do Parecis
		$r_s$ (p-valor)	$r_s$ (p-valor)
Aspersão	1	0,40 (0,017)	0,12 (0,479)
	2	0,31 (0,066)	0,24 (0,159)
Sementes infectadas	1	0,31 (0,068)	0,15 (0,389)
	2	0,33 (0,050)	0,33 (0,049)
Aspersão	1 e 2	0,41 (0,016)	0,14 (0,422)
Sementes infectadas	1 e 2	0,32 (0,065)	0,24 (0,161)

Ishikawa (2018), estudou respostas de cultivares de soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em campo e casa-de-vegetação. Os métodos de inoculação testados em casa-de-vegetação apresentaram correlação de Spearman significativas e positivas, que variaram de  $r_s = 0,45$  a  $0,62$ .

Moellers et al. (2017) relataram coeficientes de correlação entre experimentos em casa-de-vegetação e campo variando de  $0,12$  a  $0,17$  em avaliações de mofo-branco da soja. Os autores afirmam que, embora informativos, os ensaios em casa-de-vegetação podem não correlacionar com os resultados de campo.

Experimentos de campo, mesmo aqueles inoculados artificialmente, não asseguram a homogeneidade da pressão de inóculo, em função das condições ambientais incertas e da sobreposição de infecção natural do patógeno que pode ser variável entre os genótipos. Em função disso, estudos em ambiente controlado são

mais precisos para avaliar a resistência fisiológica real dos materiais (KANDEL et al., 2018).

Valores moderados de correlação encontrados entre resultados de condições controladas e de campo reforçam a evidência de trabalhos prévios em outros patossistemas. Isso sugere que avaliações em casa de vegetação e laboratório devam ser exaustivamente testados para que possam ser considerados confiáveis para as corretas identificação e caracterização da resistência no campo (Ishikawa et al., 2018).

#### 4.6 CONCLUSÕES

Os métodos de inoculação testados em casa-de-vegetação foram capazes de diferenciar a reação dos genótipos frente a mancha-alvo da soja. O método de inoculação por sementes infectadas apresentou maior reprodutibilidade e confiança, além de ser um método de seleção precoce da doença, permitindo que o programa de melhoramento avance mais rapidamente. Os dados do ensaio de Lucas do Rio Verde apresentaram maior correlação com os dados de casa-de-vegetação. A severidade de mancha-alvo de Campo Novo do Parecis foi muito baixa e não apresentou correlação significativa com os dados de casa-de-vegetação. Experimentos instalados em campo são dependentes de fatores ambientais e de pressão de inóculo para o progresso da doença, portanto, mais estudos são necessários para estudar a correlação entre a severidade em casa-de-vegetação e severidade em campos naturalmente infestados.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, D. V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; ZAMBENEDETTI, E. B.; CELANO, F. A. O.; CARVALHO, E. M.; CAMARGOS, V. N. Influência da temperatura e do tempo de inoculação das sementes de algodão na transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 35-40, fev. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-41582006000100006>.
- ELLIS, J. G.; LAGUDAH, E. S.; SPIELMEYER, W.; DODDS, P. N. The past, present and future of breeding rust resistant wheat. **Frontiers in Plant Science**, [S.L.], v. 5, p. 1-1, 24 nov. 2014. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2014.00641>.
- GADAGA, S. J. C.; SIQUEIRA, C. da S.; MACHADO, J. da C. Molecular detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in bean seed samples. **Journal of Seed Science**, v. 40, p. 370-377, 2018.
- ISHIKAWA, M. S.; RIBEIRO, N. R.; ALMEIDA, A. A. de; BALBI-PEÑA, M. I.. Identification of soybean genotypes resistant to charcoal rot by seed inoculation with *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Agricultural Science**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 213, 31 maio 2019. Canadian Center of Science and Education. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v11n7p213>.
- ISHIKAWA, M. S. **Metodologias em casa de vegetação para seleção de genótipos de soja resistentes ao mofo-branco**. 2018. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018. Cap. 1.
- LIN, F.; CHHAPEKAR, S. S.; VIEIRA, C. C.; SILVA, M. P. da; ROJAS, A.; LEE, D.; LIU, N.; PARDO, E. M.; LEE, Y.; DONG, Z. Breeding for disease resistance in soybean: a global perspective. **Theoretical and Applied Genetics**, [S.L.], p. 1-100, 5 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.di.org/10.1007/s00122-022-04101-3>.
- LIU, Y.; HE, F. Incorporating the disease triangle framework for testing the effect of soil-borne pathogens on tree species diversity. **Functional Ecology**, [S.L.], v. 33, n. 7, p. 1211-1222, 16 maio 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13345>.
- KANDEL, R.; CHEN, C. Y.; GRAU, C. R.; DORRANCE, A. E.; LIU, J. Q.; WANG, Y.; WANG, D.. Soybean resistance to White mold: evaluation of soybean germplasm under different conditions and validation of qtl. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 9, p. 1-12, 20 abr. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.00505>.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. Instruções, de 4 de julho de 2007. SECRETARIA DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E COOPERATIVISMO. **Instruções Para Execução dos Ensaios de**

**Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade de Cultivares de Soja (*Glycine max* (L.) Merrill): protocolos para avaliação de reação às doenças.**

MOELLERS, T. C.; SINGH, A.; ZHANG, J.; BRUNGARDT, J.; KABBAGE, M.; MUELLER, D. S.; GRAU, C. R.; RANJAN, A.; SMITH, D. L.; CHOWDA-REDDY, R. V. Main and epistatic loci studies in soybean for *Sclerotinia sclerotiorum* resistance reveal multiple modes of resistance in multi-environments. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-13, 15 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-03695-9>.

MOLINA, J. P. E.; PAUL, P. A.; AMORIM, L.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F. V.; BORGES, E. P.; CAMPOS, H. D.; VENANCIO, W. S.; MEYER, M. C.; MARTINS, M. C. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 107-115, 26 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12944>.

MOORE, C.; SHARMA, N.; BOWEN, K. L.; KOEBERNICK, J. Developing a greenhouse protocol for evaluating resistance to *Corynespora cassiicola* in cotton (*Gossypium hirsutum*). **Plant Disease**, [S.L.], v. 105, n. 9, p. 2351-2355, 1 set. 2021. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-08-20-1675-re>.

MUTAPI, F.; RODDAM, A. P values for pathogens: statistical inference from infectious-disease data. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 219-230, abr. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00240-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00240-2).

SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; OLIVEIRA, M. C. N. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 333-338, 2009.

SOARES, R. M.; ARIAS, C. A. A. Inheritance of soybean resistance to *Corynespora cassiicola*. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 85-91, jun. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/232903>.

TANAKA, M. A. de S.; MENTEN, J. O. M.; MACHADO, J. da C. Growth habit of *Colletotrichum gossypii* and *C. gossypii* var. *cephalosporioides* on cotton seeds. **Bragantia**, v. 55, p. 95-104, 1996.

TERAMOTO, A.; MEYER, M. C.; SUASSUNA, N. D.; CUNHA, M. G. da. In vitro sensitivity of *Corynespora cassiicola* isolated from soybean to fungicides and field chemical control of target spot. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 281-289, dez. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2195>.

TRIPATHI, N.; TRIPATHI, M. K.; TIWARI, S.; PAYASI, D. K. Molecular breeding to overcome biotic stresses in soybean: update. **Plants**, [S.L.], v. 11, n. 15, p. 1967, 28 jul. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/plants11151967>.

WEBSTER, R. W.; ROTH, M. G.; REED, H.; MUELLER, B.; GROVES, C. L.; MCCAGHEY, M.; CHILVERS, M. I.; MUELLER, D. S.; KABBAGE, M.; SMITH, D. L. Identification of soybean (*Glycine max*) check lines for evaluating genetic resistance to Sclerotinia stem rot. **Plant Disease**, [S.L.], v. 105, n. 8, p. 2189-2195, 1 ago. 2021. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-10-20-2193-re>.

## 5 ARTIGO C – AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Corynespora cassiicola* EM CULTIVARES DE SOJA

### 5.1 RESUMO

*Corynespora cassiicola* é o agente causal da mancha-alvo em diversas culturas de interesse econômico. Na soja, causa a doença conhecida como mancha-alvo, presente em todas as regiões brasileiras produtoras de soja, acarretando impacto negativo na produção principalmente na região do cerrado. Neste estudo foi avaliada a agressividade de seis isolados de *C. cassiicola* de soja procedentes de diferentes estados brasileiros e inoculados em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência à mancha-alvo. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, com delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial com seis repetições. As plantas foram inoculadas pelo método de aspersão de suspensão de conídios aos 21 dias após a semeadura. Após 20 dias de inoculadas, as plantas foram avaliadas quanto a severidade das lesões foliares. Foi verificada interação significativa isolado x cultivar. A cultivar Monsoy 7739 apresentou menor severidade da doença e diferiu estatisticamente das demais cultivares. Quando a cultivar BMX Bônus foi desafiada com os seis isolados de *C. cassiicola* mostrou-se suscetível a doença e não apresentou diferença estatística das cultivares BMX Garra e BS 2606. Não foi detectada associação de agressividade com a origem geográfica dos isolados.

Palavras-chave: *Glycine max*, Mancha-alvo, Patogenicidade.

### 5.2 ABSTRACT

*Corynespora cassiicola* is the causal agent of target spot in several cultures of economic interest. In soybean, it causes the target spot disease present in all Brazilian soybean producing regions, causing a negative impact on production, especially in the cerrado region. In this study, the aggressiveness of six isolates *C. cassiicola* soybean from different Brazilian states and inoculated in four soybean cultivars with different levels of resistance to target spot. The experiment was conducted in a greenhouse, with an experimental design completely randomized in a factorial scheme with six replications. The plants were inoculated by the conidia suspension spere method at 21 days after sowing. After 20 days of inoculated, the plants were evaluated for the severity of leaf lesions. Foi verificada interação significativa isolado x cultivar. The cultivar Monsoy 7739 presented lower severity of the disease and differed statistically from the other cultivars. When the cultivar BMX Bônus was challenged with the six isolates of *C. cassiicola* was susceptible to the disease and showed no statistical difference between the cultivars BMX Garra and BS 2606. No association of aggressiveness was related to the geographical origin of the isolates.

Keywords: Aggressiveness, *Glycine max*, Target spot.

### 5.3 INTRODUÇÃO

As pragas e os fitopatógenos são os principais fatores bióticos que causam a redução da produtividade da soja, podendo a mancha-alvo ser responsável por perdas consideráveis no rendimento da cultura. Os sintomas mais comuns associados à doença são manchas foliares com formato circular, que remetem a um alvo, devido ao ponto de infecção do patógeno no centro da lesão. Esses sintomas são observados mais frequentemente no terço inferior do dossel da planta (MOLINA et al., 2022).

O agente etiológico da mancha-alvo da soja, é o fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei e foi relatado pela primeira vez no Brasil em 1976. É favorecido por condições de alta umidade relativa e sobrevive principalmente em restos culturais e sementes infectadas, sendo responsável por causar perdas de rendimento de até 40,5% (GODOY et al., 2016; MOLINA et al., 2018). Molina et al. (2018) estimaram os danos causados por *C. cassiicola* em soja e observaram redução significativa da produtividade conforme aumenta a severidade da doença, verificando uma perda potencial de 24% de produtividade quando a severidade da doença atinge 50% de área foliar lesionada.

A mancha-alvo da soja é considerada uma doença ressurgente nas Américas, como consequência do aumento de sua importância nos últimos anos (MOLINA et al., 2022). A estratégia de manejo de doenças emergentes e o desenvolvimento de genótipos resistentes deve levar em consideração a biologia dos patógenos e a diversidade dentro e entre as populações dos mesmos (SUMABAT; KEMERAIT; BREWER, 2018).

Existe uma variação cultural e morfológica entre isolados de *C. cassiicola*, remetendo a uma possível ocorrência de raças fisiológicas que explicariam a diversidade do fungo (AGUIAR et al., 2022). Estudos sobre isolados de *C. cassiicola* de diferentes hospedeiros revelam que há influência geográfica na agressividade do patógeno, além da possível existência de raças fisiológicas, há uma interação não específica entre isolados e diferentes hospedeiros (FERREIRA; BENTES, 2017).

Em programas de melhoramento, experimentos de campo e de casa-de-vegetação são implementados para seleção de genótipos resistentes. Para testes em ambiente controlado é importante verificar possível variação na agressividade de

isolados (KULL et. al, 2003). A agressividade de patógenos caracteriza-se pela capacidade quantitativa de patogenicidade e não se refere à presença de genes de resistência. Pode ser estimada pelo componente severidade, ou seja, a porcentagem do hospedeiro afetada pela doença. A eficiência de infecção, o período infeccioso e de latência, a produção de esporos e o tamanho da lesão são componentes que caracterizam a agressividade (PARIAUD et al., 2009).

Em estudo com cinquenta e três isolados de *C. cassiicola* amostrados de diferentes hospedeiros, Sumabat, Kemerait e Brewer (2018) concluíram que, na maioria das vezes, o patógeno foi mais agressivo quando inoculado em seu hospedeiro de origem. A produção da toxina cassiicolina pode indicar a agressividade de *C. cassiicola* (RESHMA et al., 2022).

Neste estudo, os objetivos foram: (i) comparar a agressividade de seis isolados de *C. cassiicola* provenientes de diferentes regiões produtoras de soja do Brasil inoculados em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência à mancha-alvo e (ii) verificar se existe interação entre cultivar e isolado.

## 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.4.1 Origem e manutenção do inóculo

Para este estudo foram utilizados seis isolados do fungo, coletados em diferentes regiões produtoras de soja do Brasil (Tabela 5.1).

Para obtenção dos isolados foi realizado um isolamento indireto a partir de fragmentos de folhas com sintomas típicos da doença em meio de cultura a base de suco de tomate (120 mL suco de tomate; 2,8 mL de  $\text{CaCO}_3$ ; 12g de ágar e 480 mL de água destilada). Os isolados foram mantidos pelo método de Castellani a 5 °C e fotoperíodo de 12/12 horas, na coleção de fitopatógenos da empresa GDM Genética do Brasil.

**Tabela 5.1** Identificação e origem dos isolados de *Corynespora cassiicola*, coletados em seis regiões produtoras de soja do Brasil no ano 2021.

Identificação	Origem (município – estado)
417	Assis–SP
413	Sapezal–MT
430	Montividiu–GO
423	Sidrolândia–MS
418	Ibiporã–PR
422	Porto Nacional–TO

#### 5.4.2 Material vegetal e condução do experimento

O experimento foi conduzido em laboratório e casa-de-vegetação da empresa GDM Genética do Brasil, localizada em Cambé, Paraná.

Os genótipos de soja foram selecionados com base em sua reação à doença: M 7739 IPRO (moderadamente resistente), BMX Bônus IPRO (moderadamente suscetível), BMX Garra IPRO (suscetível) e BS 2606 IPRO (suscetível). A semeadura foi realizada em vasos plásticos de 1 L de capacidade preenchidos com solo autoclavado. Os vasos foram dispostos separadamente em casa-de-vegetação para não ocorrer contaminação entre isolados. Após a semeadura, a temperatura da casa-de-vegetação foi ajustada para  $30\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  até o momento da inoculação.

#### 5.4.3 Inoculação

A inoculação foi realizada em plantas de 21 dias de idade, no estágio V4 de desenvolvimento. O método de inoculação foi a aspersão da suspensão de conídios, método estabelecido em publicação das instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de soja, para determinar a reação de cultivares à mancha-alvo em ensaios de casa-de-vegetação (MAPA, 2007).

Os isolados foram reativados em meio de cultura (120 mL suco de tomate; 2,8 mL de  $\text{CaCO}_3$ ; 12 g de ágar e 480 mL de água destilada). Após sete dias foram repicados em placas de Petri com meio de cultura a base de suco de tomate e mantidos em temperatura de 28 °C e fotoperíodo de 12/12 horas. Após 21 dias de crescimento em meio de cultura, foi preparada uma suspensão ajustada para a concentração de  $1,0 \times 10^6$  conídios/mL com auxílio de câmara de Neubauer.

As folhas das plantas foram pulverizadas com a suspensão até o ponto de escorrimento. Após a inoculação a temperatura da casa-de-vegetação foi ajustada para  $28 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$  e umidade acima de 80%. As plantas foram acondicionadas em câmara úmida e acompanhadas de molhamento foliar por aspersão a cada 2 horas durante o dia até a avaliação.

#### 5.4.4 Avaliação da severidade da mancha-alvo

A avaliação foi realizada aos 20 dias após a inoculação. A severidade da mancha-alvo nas folhas foi determinada com base na escala diagramática para mancha-alvo da soja proposta por Soares, Godoy e Oliveira (2009).

#### 5.4.5 Delineamento experimental e análise de dados

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $6 \times 4$  (6 isolados  $\times$  4 cultivares) com seis repetições.

Os dados de severidade foram verificados quanto a homogeneidade da variância e a normalidade dos resíduos e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o pacote AgroR do software RStudio.

### 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram transformados por  $\log(y)$  e submetidos ao teste de Shapiro-Wilk de normalidade de erros e ao teste de Bartlett de homeogenidade das variâncias. Os erros foram considerados normais ( $p$ -valor= 0,80) e as variâncias foram consideradas homogêneas ( $p$ -valor= 0,40).

Os resultados de severidade de mancha-alvo em quatro cultivares de soja, são apresentados na Tabela 5.2. Houve interação significativa cultivar x isolado. A cultivar Monsoy 7739 se manteve moderadamente resistente, a cultivar BMX Bônus anteriormente classificada como moderadamente suscetível não diferiu das cultivares suscetíveis, BMX Garra e BS 2606.

Esses resultados indicam que possivelmente a distribuição geográfica dos isolados é indiferente ao genótipo, entretanto para confirmar esse efeito, mais estudos com esse foco devem ser realizados. Isolados patogênicos de diversas regiões geográficas comumente compartilham haplótipos idênticos apontando para um possível grau de especialização do hospedeiro (DIXON et al, 2009). Os autores relataram que isolados de *C. cassiicola* amostrados de tomate em diferentes países compartilhavam dos mesmos haplótipos em todos os quatro loci.

**Tabela 5.2.** Severidade (%) de mancha-alvo em cultivares de soja inoculadas com seis isolados de *Corynespora cassiicola* em casa-de-vegetação.

Cultivar	Isolado					
	413	417	418	422	423	430
BMX Bônus	50,70 <sup>1</sup> aAB <sup>2</sup>	47,50 aAB	34,30 aB	48,80 aAB	30,20 aB	68,50 aA
BMX Garra	58,70 aA	31,50 aA	39,20 aA	36,70 aA	49,80 aA	35,50 aA
BS 2606	52,00 aA	35,80 aA	40,70 aA	68,70 aA	33,00 aA	43,30 aA
Monsoy 7739	2,70 bBC	1,80 bC	2,70 bBC	4,30 bABC	7,00 bA	4,70 bAB
CV= 15,3%						

<sup>1</sup>Médias originais, para análise as médias foram transformadas por log(y).

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Rondon e Lawrence (2021) relatam a escassez de pesquisas que relacionam os fatores de variabilidade genética, a origem geográfica e a origem do hospedeiro com os aspectos morfológicos e as interações com os hospedeiros de *C. cassiicola* e o impacto disso na resposta dos germoplasmas.

Considerando o fator isolado dentro da cultivar, só foi possível observar diferença nas cultivares BMX Bônus e Monsoy 7739. Na cultivar BMX Bônus, o isolado 430 de origem de Montividio apresentou a maior média de severidade da doença e não diferiu dos isolados 413, 417 e 422, de origem de Sapezal, Assis e Porto

Nacional, respectivamente. Os isolados 418 e 423, de Ibiporã e Sidrolândia, respectivamente, apresentaram as menores médias de severidade e foram considerados semelhantes estatisticamente, diferindo apenas do isolado de Montividiu (430).

Na cultivar Monsoy 7739, o isolado 423 de Sidrolândia apresentou a maior severidade e se mostrou diferente dos isolados 413, 418 e 417, de Sapezal, Ibiporã e Assis, respectivamente. As cultivares BS 2606 e BMX Garra não apresentaram diferença de severidade quando inoculadas com os diferentes isolados.

O sucesso do screening para reação a doenças depende da eficiência em distinguir a suscetibilidade de genótipos hospedeiros a doenças de acordo com o seu desempenho no campo, sendo que a variação na agressividade do isolado pode influenciar esse processo (KULL et al., 2003). Os autores verificaram que a reação de suscetibilidade ou resistência parcial de cultivares de soja frente a inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* foi influenciada pelo isolado.

Neste estudo, todos os isolados foram capazes de reproduzir sintomas nas plantas e todos indicaram a cultivar Monsoy 7739 como a menos suscetível. Fischer et al. (2022), testaram cinquenta isolados de *C. cassicola* na cultura do pepino e seus resultados apontaram para uma severidade variável em relação ao isolado, onde todos causaram sintomas de mancha-alvo.

A cultivar Monsoy 7739 confirmou sua reação à doença, sendo moderadamente resistente a todos os isolados testados, embora, com diferença significativa de severidade entre eles (1,80% a 7% de severidade).

A resistência genética é fundamental para o manejo de doenças. No caso da mancha-alvo, a resistência de cultivares de soja é herdada de forma quantitativa e a limitação quanto a herdabilidade aponta para uma influência do ambiente no fenótipo (SOARES; ARIAS, 2020; MOLINA et al., 2022).

## 5.6 CONCLUSÕES

Foi verificada interação significativa isolado x cultivar. Os isolados de *Corynespora cassicola* testados nesse estudo variam em agressividade nas cultivares Monsoy 7739 e BMX Bônus. Não foi verificada relação entre a origem e a

agressividade dos isolados. Os resultados desse estudo contribuem para o entendimento da agressividade de *C. cassicola* na cultura da soja, entretanto, estudos futuros devem ser realizados para o entendimento mais profundo da interação entre isolado e hospedeiro.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. M.; VALLAD, G. E.; TIMILSINA, S.; VELOSO, J. S.; FONSECA, M. E. N.; BOITEUX, L. S.; REIS, A. Phylogenetic network analysis of South and North American *Corynespora cassiicola* isolates from tomato, cucumber, and novel hosts, **European Journal of Plant Pathology**, v. 163, n. 3, p. 657-671, 7 abr. 2022, Springer Science and Business Media LLC, <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-022-02505-x>.
- DIXON, L. J.; SCHLUB, R. L.; PERNEZNY, K.; DATNOFF, L. E. et al. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. **Phytopathology**, v. 99, n. 9, p. 1015-1027, 2009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-9-1015>.
- FERREIRA, A. F. T. A. F.; BENTES, J. L. da S. Pathogenicity of *Corynespora cassiicola* on different hosts in Amazonas State, Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 1, p. 63-65, mar, 2017, FapUNIFESP (SciELO), <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2220>.
- FISCHER, I. H.; SILVA, L. M. da; MORALES, J. V. P.; PARISI, M. C. M.; AMORIM, L.. Survey of cucumber target spot, in vitro sporulation and aggressiveness of *Corynespora cassiicola*. **Comunicata Scientiae**, v. 13, p. 1-9, 16 ago. 2022. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/cs.v13.3881>.
- GODOY, C. V. et al. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 5. Ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. 2016, p. 1-810.
- KULL, L. S.; VUONG, T. D.; POWERS, K. S.; ESKRIDGE, K. M.; STEADMAN, J. R.; HARTMAN, G. L. Evaluation of resistance screening methods for Sclerotinia stem rot of soybean and dry bean. **Plant Disease**, v. 87, n. 12, p. 1471-1476, dez. 2003. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2003.87.12.1471>.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Instruções Para Execução dos Ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade de Cultivares de Soja (*Glycine Max (L.) Merrill*): protocolos para avaliação de reação às doenças**.
- MOLINA, J. P. E.; NAVARRO, B. L.; ALLEN, T. W.; GODOY, C. V. Soybean target spot caused by *Corynespora cassiicola*: a resurgent disease in the americas, **Tropical Plant Pathology**, v. 47, n. 3, p. 315-331, 1 mar, 2022, Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-022-00495-z>.
- MOLINA, J. P. Edwards; PAUL, P. A.; AMORIM, L.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F. V.; BORGES, E. P.; CAMPOS, H. D.; VENANCIO, W. S.; MEYER, M. C.; MARTINS, M. C. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. **Plant Pathology**, v. 68, n. 1, p. 107-115, 26 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ppa.12944>.

- QI, Y.; XIE, Y.; ZHANG, X.; PU, J.; ZHANG, H.; HUANG, S.; ZHANG, H.. Molecular and Pathogenic Variation Identified Among Isolates of *Corynespora cassiicola*. **Molecular Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 145-151, 8 out. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12033-008-9109-9>.
- PARIAUD, B.; RAVIGNÉ, V.; HALKETT, F.; GOYEAU, H.; CARLIER, J.; LANNOU, C.. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens, **Plant Pathology**, v. 58, n. 3, p. 409-424, jun, 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02039.x>.
- RESHMA, T. R.; VINEETH, V. K.; BABU, S.; PHILIP, S.. An exhaustive genome analysis of a virulent Indian isolate of *Corynespora cassiicola*, causal agent of *Corynespora* leaf fall (CLF) disease in *Hevea brasiliensis*. **Journal Of Plant Pathology**, v. 104, n. 4, p. 1417-1429, 25 ago, 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-022-01189-w>.
- RONDON, M. N.; LAWRENCE, K. The fungal pathogen *Corynespora cassiicola*: a review and insights for target spot management on cotton and soya bean. **Journal Of Phytopathology**, [S.L.], v. 169, n. 6, p. 329-338, 15 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jph.12992>.
- SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; OLIVEIRA, M. C. N. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 333-338, 2009.
- SOARES, R. M.; ARIAS, Carlos Alberto Arrabal. Inheritance of soybean resistance to *Corynespora cassiicola*. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 2, p. 85-91, jun. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/232903>.
- SUMABAT, L. G.; KEMERAIT, R. C.; BREWER, M. T., Phylogenetic diversity and host specialization of *Corynespora cassiicola* responsible for emerging target spot disease of cotton and other crops in the southeastern United States. **Phytopathology**. v. 108, n. 7, p. 892-901. jul, 2018, Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-12-17-0407-r>.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos resultados deste estudo, pode-se concluir que, a escala diagramática proposta além de promover melhores acurácia e precisão das estimativas de severidade de mancha-alvo em cotilédones de soja, é também uma ferramenta de auxílio para avaliações precoces da doença.

Os métodos de inoculação por sementes infectadas e aspersão em casa-de-vegetação foram capazes de diferenciar a reação dos genótipos frente à mancha-alvo da soja. O método de sementes infectadas apresentou maior reprodutibilidade, além de permitir uma seleção precoce da doença.

Concluimos também que existe interação isolado x cultivar, verificando que os isolados de *Corynespora cassiicola* variam em agressividade nas cultivares de soja testadas.