

Notas Científicas

Métodos de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* para triagem de cultivares de soja resistentes ao mofo-branco

Riccely Ávila Garcia⁽¹⁾, Maurício Conrado Meyer⁽²⁾, Kássia Aparecida Garcia Barbosa Ávila⁽¹⁾ e Marcos Gomes da Cunha⁽³⁾

⁽¹⁾Fundação de Ensino Superior de Goiatuba, Rodovia GO-320, Km 01, s/nº, Jardim Santa Paula, CEP 75600-000 Goiatuba, GO, Brasil. E-mail: riccelyavila@yahoo.com.br, kassiabarbosa@yahoo.com.br ⁽²⁾Embrapa Soja, Núcleo Regional de Soja, Rodovia GO-462, Km 12, Zona Rural, CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil. E-mail: mauricio.meyer@embrapa.br ⁽³⁾Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia, Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0, CEP 74690-000 Goiânia, GO, Brasil. E-mail: mgcagro@gmail.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência e a praticidade de métodos de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*, para uso na seleção de cultivares de soja resistentes ao mofo-branco. Avaliaram-se quatro métodos de inoculação, em plantas no estágio fenológico V3/V4. Aos três e sete dias após a inoculação, mediu-se o comprimento da lesão na haste das plantas. As cultivares de soja BRS 8460RR, BRSGO Ipameri e P98Y11 apresentaram as menores lesões. O método de inoculação por meio de ponteira no pecíolo é o mais eficiente e mais prático para avaliar a resistência ao mofo-branco em soja.

Termos para indexação: *Glycine max*, *Sclerotinia sclerotiorum*, resistência.

Inoculation methods of *Sclerotinia sclerotiorum* for screening of soybean cultivars resistant to white mold

Abstract – The objective of this work was to evaluate the efficacy and usefulness of methods of *Sclerotinia sclerotiorum* inoculation for screening soybean cultivars resistant to white mold. Four inoculation methods were evaluated in plants at the V3/V4 phenological stages. Stem lesion length was measured three and seven days after inoculation. The soybean cultivars BRS 8460RR, BRSGO Ipameri, and P98Y11 had the smallest stem lesions. The inoculation method with pipette tip on the petiole is the most effective and practical to evaluate soybean resistance to white mold.

Index terms: *Glycine max*, *Sclerotinia sclerotiorum*, resistance.

O mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, ocorria esporadicamente em lavouras de soja no Brasil, antes de 2004, e não culminava em perdas significativas de produção. Entretanto, desde a safra 2003/2004, a doença vem aumentando em muitas regiões do Centro-Sul do país (Silva et al., 2009). Estima-se que cerca de 6,8 milhões de hectares da área de cultivo de soja na safra 2013/2014 estavam infestados pelo patógeno (Meyer et al., 2014).

No momento, não há cultivares de soja resistentes ao mofo-branco. Embora diferenças de suscetibilidade entre as cultivares (Chen & Wang, 2005; Juliatti et al., 2013, 2014) e alguns métodos de inoculação de *S. sclerotiorum* para avaliar a resistência já tenham sido descritos (Chen & Wang, 2005; Garcia & Juliatti, 2012), muitos não apresentam praticidade e resultados consistentes. Além disso, apesar de a variabilidade

genética de cultivares de soja, quanto à reação a *S. sclerotiorum*, ter sido relatada na literatura, pouco se sabe sobre o comportamento das cultivares brasileiras. Para conhecer a reação das cultivares ao patógeno, é necessário o estabelecimento de metodologia adequada para a avaliação de genótipos de soja quanto à resistência a *S. sclerotiorum*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência e praticidade de métodos de inoculação de *S. sclerotiorum*, para caracterizar a resistência de cultivares de soja para uso em seleção.

Os experimentos foram conduzidos na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, em casa de vegetação climatizada. Utilizaram-se as cultivares M7908RR e BRSGO 7760 RR, por apresentarem maior e menor incidência da doença em campo, respectivamente. As cultivares foram plantadas em

vasos de 5 L, com Latossolo Vermelho, proveniente de áreas cultivadas com soja sem relato de mofo-branco. O experimento de métodos de inoculação foi realizado nos meses de outubro e novembro de 2011.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4x2 (métodos x cultivares), com três repetições de três plantas, o que totalizou nove plantas por tratamento. O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado foi o SSSM03, proveniente de São Miguel do Passa Quatro, GO, obtido de uma coleção de isolados de diferentes regiões produtoras de soja da região Centro-Oeste do Brasil. A escolha deste isolado se deu em razão da agressividade: comprimento de lesões em haste de soja 10 vezes maiores do que as causadas por isolados menos agressivos. Antes das inoculações, o isolado SSSM03 foi cultivado em meio de cultura BDA por três dias, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em fotoperíodo de 12 horas, de onde se obtiveram os discos de BDA com micélio.

Os métodos de inoculação consistiram de: disco de BDA com micélio fixado ao folíolo apical do 3º trifólio; disco de BDA com micélio fixado à axila do 3º trifólio; ponteira de plástico de 1.000 μL , preenchida com discos de BDA com micélio fixados ao pecíolo do 3º trifólio (Hoffman et al., 2002); e ponteira de plástico de 1.000 μL , preenchida com discos de BDA com micélio fixados ao ápice da planta, pelo método “cut stem” (Kull et al., 2003).

Para fixar os discos de BDA, de 6 mm de diâmetro, ao folíolo e à axila do terceiro trifólio, utilizou-se fita adesiva, e os discos foram depositados de forma que o micélio ficasse em contato com a planta. Nos métodos com uso de ponteiras, o meio de cultura foi invertido, de modo que a parte de cima do meio, com o micélio aparente, ficasse voltada para baixo. O meio de cultura foi perfurado com a própria ponteira utilizada para inoculação, que foi totalmente preenchida com os discos; desta forma, o micélio ficou em contato direto com a planta no local da inoculação. Para as inoculações no ápice, o ponteiro foi cortado acima do terceiro trifólio e, para inoculações no pecíolo, o pecíolo do terceiro trifólio foi cortado, tendo-se deixado aproximadamente 3 cm de pecíolo para inserção da ponteira.

O método da ponteira no pecíolo foi o que apresentou maior eficiência e praticidade, por isso foi escolhido para avaliação da resistência. O isolado utilizado foi o SSSM12, cultivado em BDA por 3 dias, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em fotoperíodo de 12 horas. Na avaliação da resistência da soja a *S. sclerotiorum*, 40 cultivares comerciais foram

avaliadas de dezembro de 2011 a fevereiro de 2012. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 40 tratamentos e três repetições de cinco plantas cada, o que totalizou 15 plantas por tratamento.

Em ambos os experimentos, as plantas foram infectadas no estágio fenológico V3/V4 – com a 2ª e 3ª folhas trifolioladas completamente desenvolvidas – e mantidas em casa de vegetação por sete dias, a 22°C , em umidade relativa de 90%. As avaliações foram realizadas aos três e sete dias após as inoculações, tendo-se medido o comprimento das lesões na haste com auxílio de régua. Calculou-se a média do comprimento das lesões das cinco plantas, para cada repetição, e os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variância, com uso do aplicativo computacional Statistical Analysis System (SAS Institute, Cary, NC, EUA).

Atendidas as pressuposições estatísticas, realizou-se análise de variância com o teste F, a 5% de probabilidade. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2008). Aos sete dias após a inoculação, as cultivares foram classificadas, com base no comprimento médio de lesão na haste, em: resistentes, 0 a 3 cm; moderadamente resistentes, 3 a 5 cm; suscetíveis, 5 a 7 cm; e altamente suscetíveis, lesões maiores que 7 cm.

Não houve diferença entre as cultivares de soja, quanto aos métodos de inoculação de *S. sclerotiorum*. Somente o método de disco de BDA no folíolo foi diferente dos demais métodos, tendo sido o menos eficiente (Tabela 1). Não houve desenvolvimento de lesão na

Tabela 1. Severidade (comprimento de lesão) de mofo-branco em haste de soja, no 3º e no 7º dia após inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum*, por meio de vários métodos, nas cultivares M-SOY 7908 RR e BRSGO 7760 RR⁽¹⁾.

Método	3º dia		Média	7º dia		Média
	M7908 RR	BRSGO 7760 RR		M7908 RR	BRSGO 7760 RR	
Disco no folíolo	0,00	0,00	0,00b	0,00	0,00	0,00b
Disco na axila	1,87	2,40	2,14a	5,60	5,21	5,36a
Ponteira no ápice	2,54	2,57	2,56a	6,95	5,97	5,40a
Ponteira no pecíolo	2,82	2,59	2,70a	5,56	5,17	6,46a
Média	1,81A	1,89A	-	4,52A	4,09A	-
CV (%)	12,23			8,78		

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Análise conjunta da média dos dois experimentos.

haste, por meio de inoculação com disco de BDA no folíolos, porque estes e os pecíolos foram rapidamente colonizados pelo fungo, e os folíolos se desprenderam dos pecíolos. Isto reduziu a presença do inóculo na planta e impediu que a doença progredisse até a haste. O método de inoculação por disco de BDA no folíolo e na axila do terceiro trifólio apresentou o inconveniente da falta de aderência da fita adesiva, em razão da alta umidade no tecido vegetal, o que favoreceu o escape à doença, além de ter sido mais trabalhoso. O escape ocorre quando o hospedeiro suscetível consegue se manter sadio em virtude da separação, no espaço ou no tempo, de seus tecidos suscetíveis aos propágulos infectivos do patógeno (Gasparotto et al., 2010). Garcia & Juliatti (2012) também salientaram as desvantagens deste método. O método da ponteira no ápice foi bastante drástico, tendo necrosado o ponteiro e matado a gema apical, o que provocou a emissão de brotações laterais, diferentemente dos resultados encontrados por Kull et al. (2003). O método da ponteira no pecíolo apresentou eficiência, praticidade, reprodutibilidade e rapidez de execução, além de permitir o contato do micélio do fungo com as axilas das plantas, o que é fundamental para o início da infecção.

Três das cultivares avaliadas mostraram-se resistentes – BRS 8460RR, BRSGO Ipameri e P98Y11 –, dezessete foram moderadamente resistentes, quatorze suscetíveis e seis muito suscetíveis (Tabela 2). As avaliações, aos sete dias após a inoculação, resultaram em maior severidade. Com estes resultados, mostra-se a existência de variabilidade genética da soja em relação ao mofo-branco e a existência de resistência parcial à doença.

As cultivares MG/BR 46 (Conquista) e Emgopa 316 comportaram-se como moderadamente resistentes, o que corrobora os resultados encontrados por Juliatti et al. (2013, 2014) e contradiz os obtidos por Garcia & Juliatti (2012), que verificaram que 'MG/BR 46' ('Conquista') comportou-se como resistente em inoculação em folha destacada. Hoffman et al. (2002) também constataram fontes de resistência entre 6.520 genótipos de soja e identificaram algumas PIs (Plant Introduction – cultivares de soja codificadas pelo Office of Foreign Seed and Plant Introduction, dos EUA) com elevada resistência. A diferença de reação a *S. sclerotiorum* entre as cultivares de soja é um indicativo de que mecanismos de resistência genética atuam para minimizar o efeito

da doença e são passíveis de utilização no manejo do mofo-branco em soja.

Tabela 2. Severidade (comprimento de lesão) de mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, em cultivares de soja, no 3º e no 7º dia após a inoculação⁽¹⁾.

Cultivar	Hábito de crescimento	Comprimento de lesões (cm)		CC ⁽²⁾
		3º dia	7º dia	
BRS 8460RR	Determinado	0,68aB	2,17aA	R
BRSGO Ipameri	Determinado	1,18aB	2,83aA	R
P98Y11	Determinado	1,98bB	3,00aA	R
BRS 8560 RR	Determinado	1,92bB	3,67bA	MR
MG/BR 46 (Conquista)	Determinado	1,83bB	3,67bA	MR
Emgopa 316	Indeterminado	2,28bB	3,83bA	MR
BRSGO Jataí	Determinado	1,97bB	3,83bA	MR
BRSMG 810C	Determinado	2,17bB	3,83bA	MR
BRS Baliza RR	Determinado	1,93bB	3,83bA	MR
Emgopa 315RR	Determinado	1,82bB	4,00bA	MR
BRS 8160RR	Determinado	1,55bB	4,17bA	MR
BRSGO Chapadões	Determinado	2,50cB	4,33bA	MR
Emgopa 316RR	Indeterminado	2,48cB	4,33bA	MR
BRSGO 8360	Indeterminado	2,85cB	4,50bA	MR
Emgopa 313RR	Determinado	2,13bB	4,50bA	MR
BRS Silvânia RR	Determinado	1,60bB	4,83bA	MR
BRS Valiosa RR	Determinado	1,90bB	4,83bA	MR
M7211RR	Indeterminado	2,57cB	4,87bA	MR
P98R31	Determinado	2,98cB	5,00bA	MR
BRSMG 780 RR	Determinado	2,27bB	5,00bA	MR
BRSMG 771F	Determinado	1,60bB	5,17cA	S
M-Soy 8866	Determinado	3,30cB	5,33cA	S
NA 7337RR	Determinado	2,18bB	5,33cA	S
NA 5909 RG	Indeterminado	3,30cB	5,50cA	S
BRSMG 740SRR	Indeterminado	2,88cB	5,50cA	S
BRSMG 760SRR	Indeterminado	3,27cB	5,50cA	S
ANTA RR	Semi-indeterminado	3,50dB	5,50cA	S
BRSMG 752S	Indeterminado	2,55cB	5,67cA	S
BMX Potência RR	Indeterminado	3,23cB	6,00cA	S
M-SOY 6101	Indeterminado	2,83cB	6,17cA	S
BRS 7860RR	Determinado	3,32cB	6,17cA	S
BRSGO 7561RR	Determinado	2,75cB	6,33cA	S
BRSGO Luziânia	Determinado	2,60cB	6,67dA	S
BRSGO Caiapônia	Indeterminado	3,70dB	7,00dA	S
BRSGO 7560	Determinado	3,13cB	7,33dA	AS
BRS Favorita RR	Determinado	4,08dB	7,50dA	AS
BRSMG 791PRR	Determinado	3,54dB	7,67dA	AS
BRSGO 7960	Determinado	3,93dB	7,83dA	AS
BRSGO 7760RR	Indeterminado	4,78dB	8,00dA	AS
M7908RR	Determinado	4,68dB	8,67dA	AS
CV (%)		16,84		

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade; as médias estão apresentadas em escala original, porém com testes estatísticos resultantes da transformação de potência Box & Cox (1964). ⁽²⁾CC, classificação das cultivares: R, resistente; MR, moderadamente resistente; S, suscetível; e AS, altamente suscetível. Análise conjunta da média dos dois experimentos.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa; e à Universidade Federal de Goiás (UFG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento da pesquisa.

Referências

- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v.26, p.211-246, 1964.
- CHEN, Y.; WANG, D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.89, p.1268-1272, 2005. DOI: 10.1094/PD-89-1268.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.
- GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C. Avaliação da resistência da soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, v.37, p.196-203, 2012. DOI: 10.1590/S1982-56762012000300006.
- GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; HANADA, R.E.; ARAÚJO, J.C.A. de; ANGELO, P.C. da S. **Glossário de fitopatologia**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 431p.
- HOFFMAN, D.D.; DIERS, B.W.; HARTMAN, G.L.; NICKELL, C.D.; NELSON, R.L.; PEDERSEN, W.L.; COBER, E.R.; GRAEF, G.L.; STEADMAN, J.R.; GRAU, C.R.; NELSON, B.D.; DEL RIO, L.E.; HELMS, T.; ANDERSON, T.; POYSA, V.; RAJCAN, I.; STIENSTRA, W.C. Selected soybean plant introductions with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.86, p.971-980, 2002. DOI: 10.1094/PDIS.2002.86.9.971.
- JULIATTI, F.C.; CAIRES, A.M.; JULIATTI, B.C.M.; BORIN, M.R.; SOUZA FILHO, D.J. de. Reação de genótipos de soja transgênicos e convencionais à podridão-branca da haste. **Bioscience Journal**, v.29, p.921-931, 2013.
- JULIATTI, F.C.; SAGATA, E.; JACCOUD FILHO, D. de S.; JULIATTI, B.C.M. Métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v.30, p.958-968, 2014.
- 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, p.1471-1476, 2003. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.12.1471.
- MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M. (Ed.). **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo-branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100p. (Embrapa Soja. Documentos, 345).
- SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, H.D.; SILVA, J.R.C. Manejo do mofo-branco da soja. In: MANEJO fitossanitário de cultivos agroenergéticos. Lavras: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2009. p.205-214.

Recebido em 23 de fevereiro de 2015 e aprovado em 8 de junho de 2015