

INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

ENGENHARIA AGRONÔMICA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO:

Embrapa Soja- Fitopatologia

FERNANDA KOSSAR DA SILVA

IVAIPORÃ

2023

FERNANDA KOSSAR DA SILVA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO:

Embrapa Soja- Fitopatologia

Relatório de Estágio Curricular
Supervisionado apresentado ao
Curso Superior de Engenharia
Agrônômica do Instituto Federal do
Paraná, campus Ivaiporã, como
requisito para conclusão do curso.

Orientador(a) do estágio: Lais
Martinkoski

Supervisor(a) do estágio: Rafael
Moreira Soares

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – (a): Sintomas de cancro da haste nas hastes de soja; (b): sintomas de folhas carijó;	9
Figura 2 – (a): Repicagem de Cancro da Haste; (b): Repicagem de cancro da haste em palito; (c): Placa de Petri após 7 dias de repicagem de cancro da haste;	10
Figura 3 - Plantas de soja inoculadas com o palito contaminado com cancro da haste;	10
Figura 4 - Planilha de avaliação a resistência ao cancro da haste em alguns genótipos de soja;	11
Figura 5 – (a): Folhas de soja infectado com mancha olho-de-rã; (b): Face inferior da folha de soja contaminada com mancha olho-de-rã;	11
Figura 6 - Raças de Cercospora sojina: (a) CMES 531; (b) CMES 533;(c) CMES 534;(d) CMES 535;(e) CMES 538;(f) CMES 539;	12
Figura 7 – (a):Raças de Cercospora sojina repicadas: CMES 531e CMES 335; (b): Raças de Cercospora sojina repicadas: CMES 533 e CMES 534	12
Figura 8 - Podridão radicular de fitóftora.	13
Figura 9 – (a): Repicagem de podridão radicular de fitoftora; (b): Repicagem de podridão radicular de fitóftora em palito; (c): Placa de Petri 7 dias após a repicagem de podridão radicular de fitóftora em palito;	14
Figura 10 – (a): Plantas de soja inoculadas com o palito contaminado com a Podridão radicular de fitoftora; (b): Inoculação de podridão radicular de fitoftora direto na areia;	15
Figura 11 – (a): Plantas de soja resistente à podridão radicular de fitóftora; (b): Plantas de soja suscetível à podridão radicular de fitoftora;	15
Figura 12 – (a): Face superior da folha infectada com Pústula Bacteriana; (b): Face inferior da folha infectada com Pústula Bacteriana;	16
Figura 13 - Xanthomonas axonopodis pv. Glycines;	16
Figura 14 – (a): Aspersão de Pústula bacteriana; (b): Plantas de soja empacotadas após a inoculação de pústula bacteriana; (c): Método do pincel para inoculação de Pústula bacteriana; (d): Folha de soja após a inoculação por pincel de pústula bacteriana;	17
Figura 15 - Sintomas das reações dos genótipos de soja após a inoculação de Pústula bacteriana;	18

Sumário

1. INTRODUÇÃO	5
2. DESENVOLVIMENTO	7
2.1 Atividades planejadas	7
2.2 Cancro da haste.....	9
2.2.1 Atividades realizadas relativas ao cancro da haste.....	9
2.3 Mancha olho-de-rã.....	11
2.3.1 Atividades realizadas relativas à mancha olho-de-rã	12
2.4 Podridão radicular de fitóftora	13
2.4.1 Atividades realizadas relativas à podridão radicular de fitóftora	14
2.5 Pústula bacteriana	15
2.5.1 Atividades realizadas relativas à pústula bacteriana	16
3 CONCLUSÃO	19
4 REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

O estágio curricular supervisionado foi conduzido na Embrapa Soja, situada no distrito de Warta, na cidade de Londrina, estado do Paraná realizado entre os meses de agosto e outubro com carga horária de 480 horas. A instituição foi estabelecida em 1975 e somente em 1989 adquiriu suas próprias instalações, incluindo uma fazenda experimental com uma área de 350 hectares destinada a pesquisas em várias áreas, com o objetivo de desenvolver tecnologias para aprimorar a produção de soja no Brasil. Por esse motivo se tornou uma instituição de renome internacional na pesquisa voltada para a cultura da soja em regiões tropicais.

Todos os produtos, tecnologias e serviços disponibilizados pela Embrapa Soja para produtores, assistência técnica, agroindústrias, empresas do setor produtivo e até mesmo para os consumidores em geral são frutos do trabalho de uma equipe de especialistas altamente qualificados, que estão totalmente comprometidos com a excelência e a segurança. As Equipes Técnicas são compostas por profissionais especializados em diversas áreas, incluindo biometria, bioinformática, socioeconomia, ecofisiologia, entomologia, fertilidade e microbiologia do solo, fitopatologia, genética e melhoramento, manejo do solo e da cultura, controle de plantas daninhas e tecnologia de sementes e grãos.

A área escolhida para a realização do estágio foi a de Fitopatologia, na qual possui uma equipe que conduz pesquisas sobre enfermidades ocasionadas por fungos, vírus, bactérias e nematoides em culturas como soja, girassol e trigo. Suas áreas de estudo envolvem investigação relacionada ao diagnóstico, à causa das doenças, à disseminação delas e à aplicação de métodos de controle, incluindo abordagem química, culturais e o uso de resistência genética. A equipe é fortemente engajada no suporte a um programa de melhoramento genético de soja, com o objetivo de desenvolver variedades de plantas resistentes às principais doenças que afetam a agricultura Brasileira.

O líder da pesquisa na área de fitopatologia é o pesquisador Maurício Conrado Meyer, vice-líder Rafael Moreira Soares, seguido pelas pesquisadoras Cláudia Vieira Godoy, Claudine Dinali Santos Seixas e Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite, que contam com auxílio de técnicos, analistas, laboratorista e auxiliares nos quais realizam as atividades de pesquisas em 7 laboratórios diferentes e, contam com 7 casas de vegetação para o desenvolvimento da pesquisa.

O presente estágio foi orientado pelo pesquisador Rafael Moreira Soares, graduado em Agronomia no ano de 1994 pela Universidade de Passo Fundo, mestre e doutor em proteção de plantas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. O Dr. Rafael trabalhou durante dois anos (2002-2004) na Fundação de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul antes de ser pesquisador na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, na qual realiza

pesquisas para o manejo de doenças da cultura da soja com foco no desenvolvimento de cultivares resistentes às doenças e pulverização para o controle químicos de doenças.

A equipe que auxilia o pesquisador Rafael é composta por duas pessoas, o Robson que atua como técnico e um auxiliar, chamado Luís Antônio, onde juntos atuam diretamente na realização de testes e avaliações, realizados em laboratório ou casa de vegetação.

O estágio teve com o objetivo de avaliar a reação de diferentes genótipos de soja a várias doenças, sendo elas o cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), a mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), a podridão radicular de Fitóftora (*Phytophthora sojae*), o crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi pv. glycinea*) e a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis pv. glycines*).

A soja (*Glycine max*) é uma das principais culturas agrícolas de todo o mundo, que desenvolve um papel fundamental na produção de alimentos e ração animal. No entanto, várias doenças foliares e radiculares representam uma ameaça significativa à produtividade da soja, justificando os estudos nessa área.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Atividades planejadas

Durante o estágio, foram realizadas diversas atividades conforme delineadas no plano de estágio, atividades estas que envolveram a repicagem de fungos/patógenos com a finalidade de inoculação, plantio e cultivo de diferentes genótipos de soja em casa de vegetação. Posteriormente, realizou-se a inoculação dos patógenos nas plantas de soja e a subsequente avaliação da resistência a diversas doenças, tais como o cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), a mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), a podridão radicular de Fitóftora (*Phytophthora sojae*), e a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*).

Além disso, foram conduzidas atividades fora do previamente estipuladas originalmente, incluindo experimentos com outras doenças, tais como mancha-bacteriana-marrom (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*), podridão vermelha da raiz (*Fusarium* spp.), podridão de carvão da raiz (*Macrophomina phaseolina*), antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e podridão seca (*Phomopsis sojae*).

Entre as atividades desenvolvidas a inoculação e a avaliação da resistência dos genótipos de soja foram as principais, contando com as particularidades de cada doença.

A soja, cientificamente conhecida como *Glycine max* (L.) Merrill, é uma planta de ciclo anual que varia de 90 a 140 dias, cultivada no Brasil para a produção de grãos. É uma planta herbácea pertencente à classe *Rosidaeae*, à ordem *Fabales*, à família *Fabaceae*, à subfamília *Papilionoideae*, à tribo *Phaseoleae*, ao gênero *Glycine* L. e à espécie *max*. As variedades comerciais mais destacadas apresentam um caule ligeiramente áspero, com poucos ramos, e uma raiz com um eixo principal e várias ramificações (NEPOMUCENO *et al.*, 2021).

Segundo o IBGE, em 2021, o valor total da produção das principais culturas agrícolas do país alcançou um marco histórico de R\$ 743,3 bilhões, registrando um impressionante aumento de 58,6% em comparação com o ano anterior. A cultura da soja liderou o ranking de valor de produção com R\$ 341,7 bilhões, seguida de milho com R\$ 116,4 bilhões, cana-de-açúcar R\$ 75,3 bilhões, café R\$ 34,9 bilhões e algodão R\$ 26,5 bilhões, todas as culturas tiveram um aumento significativo em seu valor gerado. No que diz respeito à quantidade produzida, no entanto, apenas a soja apresentou crescimento, atingindo um novo recorde.

O Paraná é o terceiro maior produtor de soja, e viu sua produção reduzir em 8,0%. O Rio Grande do Sul se destacou na produção de soja no ano de 2021, alcançando uma taxa de crescimento de 80,6% em comparação com 2020, resultando em um incremento de 9,1 milhões de toneladas. O Mato Grosso, que é o maior produtor de soja do país, registrou um aumento mais modesto cerca de 0,8%, atingindo um total de 35,3 milhões de toneladas (IBGE, 2021). Em termos de valor de produção, o município de Sorriso (MT) liderou a lista,

gerando uma receita total de R\$ 5,0 bilhões em produção de soja, seguido por São Desidério (BA), com R\$ 4,2 bilhões e Rio Verde (GO), com R\$ 3,7 bilhões (IBGE, 2021).

Segundo Seixas et al. (2020), diversos fatores impedem que a soja alcance seu potencial máximo de produção, sendo as doenças um deles, pois podem prejudicar a cultura desde o momento da germinação até a fase de enchimento dos grãos ou sementes. Essas doenças podem ser provocadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. A importância econômica de cada doença pode variar de ano para ano e de uma região para outra, dependendo das condições climáticas específicas de cada safra. As perdas anuais de produção causadas por doenças costumam ser estimadas em torno de 15% a 20%, embora algumas delas tenham o potencial de causar perdas de até 100%.

Para minimizar essas perdas, é crucial que o planejamento da safra leve em consideração fatores como as doenças mais comuns na região, o período em que tendem a ocorrer, as previsões climáticas e a infraestrutura disponível na propriedade (SEIXAS et al., 2020).

Para reduzir custos e minimizar impactos ambientais a escolha de variedades resistentes, o uso parcimonioso de fungicidas, a prevenção da introdução de doenças com sementes certificadas e tratadas, o manejo adequado do solo, a aplicação precisa de fungicidas, o uso equilibrado de fertilizantes e a rotação de culturas são práticas essenciais para controlar doenças nas plantações (SEIXAS et al., 2020).

Entre as principais doenças da cultura da soja estão a antracnose (*Colletotrichum truncarum*; *C. sojae*; *C. plurivorum*), cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*; *D. caulivora*), doenças de final de ciclo (*Cercospora kikuchii* e *Septoria glycines*), ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), mancha-alvo e podridão radicular de *Corynespora* (*Corynespora cassicola*), mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), mela (*Rhizoctonia solani* AG1), míldio (*Peronospora manshurica*), mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), oídio (*Erysiphe diffusa*), podridão de carvão da raiz (*Macrophomina phaseolina*), podridão parda da haste (*Cadophora gregata*), podridão radicular de fitóftora (*Phytophthora sojae*), podridão vermelha da raiz (*Fusarium brasiliense*; *F. crassistipitatum*; *F. tucumaniae*), tombamento e morte em reboleira (*Rhizoctonia solani* AG4), tombamento e murcha de *Sclerotium* (*Sclerotium rolfsii*), crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*), pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*), mancha-bacteriana marrom (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*), mosaico comum da soja (*Soybean mosaic virus*- SMV), necrose da haste da soja (*Cowpea mild mottle virus*- CPMMV), nematoide de cisto (*Heterodera glycines*), nematoide de galhas (*Meloidogyne* spp.), nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*), nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), nematoide da haste verde da soja (*Aphelenchoides besseyi*) (SEIXAS et al., 2020).

O presente estágio teve como objetivo avaliar a reação de diferentes genótipos de soja a várias doenças, sendo elas o cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*), a mancha olho-de-rã

(*Cercospora sojina*), a podridão radicular de Fitóftora (*Phytophthora sojae*), o crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*) e a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*).

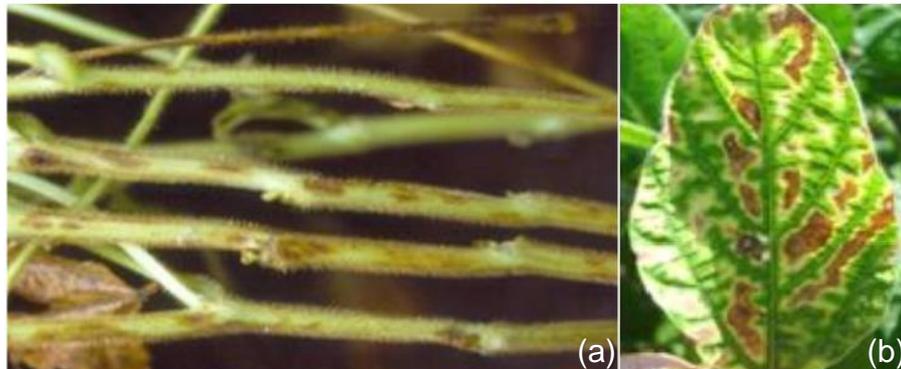
2.2 Cancro da haste

Pertence ao reino Fungi, filo Ascomycota e família *Diaporthaceae* os fungos *Diaporthe aspalathi* e *D. caulivora*, ambas as espécies causam sintomas visíveis após 15-20 dias de infecção nas hastes e nas folhas, na qual inicia por pequenos pontos negros que evoluem para lesão com a cor castanho-avermelhadas a negras, de formato alongado e elípticas que adquirem a coloração castanha-clara com bordas castanhas-avermelhadas.

As lesões são profundas atingindo até a medula, deixando-a necrosada com a cor variando de castanho-avermelhada com a planta ainda verde a castanho-claro a arroxeadas em hastes já secas como apresenta a figura 1 (a). As folhas apresentam cor amarelada e com necrose entre as nervuras, chamadas de folhas carijó ilustrada na figura 1 (b).

Períodos de alta umidade favorecem a produção de estruturas reprodutivas do fungo, beneficiando a dispersão dos esporos e a infecção. A forma mais econômica e eficaz de controle desta doença é o uso de cultivares resistentes.

Figura 1 – (a): Sintomas de cancro da haste nas hastes de soja; (b): sintomas de folhas carijó;



Fonte: Embrapa soja, 2021.

2.2.1 Atividades realizadas relativas ao cancro da haste

O processo de inoculação de cancro da haste é realizado primeiramente através repicagem do fungo já isolado, na qual é mantido em câmara incubadora (BOD) em temperatura de 26°C.

A repicagem consiste em inserir o fungo de forma cuidadosa para evitar contaminação em um meio de cultura, pois é um passo crítico para garantir a pureza da cultura, este processo está relacionado com a assepsia e boas práticas de laboratório aprendidas em aulas de microbiologia. O meio de cultura mais utilizado para essa doença é o BDA

(batata/dextrose/ágar), pois esse meio de cultura é formulado para fornecer os nutrientes necessários para o crescimento do fungo.

Logo após o repique as placas devem ser identificadas e levadas para BOD por alguns dias até que o fungo se desenvolva por completo, bem como a figura 2 (a). Uma vez que o fungo tenha atingido seu desenvolvimento adequado na placa, é novamente repicado como a figura 2 (b) demonstra.

Figura 2 – (a): Repicagem de Cancro da Haste; (b): Repicagem de cancro da haste em palito; (c): Placa de Petri após 7 dias de repicagem de cancro da haste;



Fonte: Fernanda Kossar da Silva, 2023.

O fungo *Diaporthe aspalathi* é inoculado na planta de soja por meio do método do palito-de-dente, no qual o fungo é cultivado em placas contendo meio de cultura BDA, como citado acima. Posteriormente, o fungo é transferido para placas que contêm palitos de madeira, com a finalidade de contaminar esses palitos tal como apresenta a figura 2 (c). Em seguida, esses palitos contaminados com micélio são inseridos em 15 plantas de soja, quando estiverem na fase vegetativa V1, caracterizada pelo 1º folíolo desenvolvido, resultando na infecção das plantas bem como ilustra a figura 3.

Figura 3 - Plantas de soja inoculadas com o palito contaminado com cancro da haste;



Fonte: Fernanda Kossar da Silva, 2023.

A avaliação dos genótipos de soja referentes à resistência ao cancro da haste é realizada através da contagem de plantas totais no vaso (PT), plantas mortas (PM), plantas infestadas (PI) e plantas saudáveis (PS), obtendo a percentagem de plantas mortas (%PM). Após a coleta

de dados de todos vasos e repetições, os valores são adicionados em planilhas, no qual descreve se o genótipo é resistente quando apresenta %PM entre 0 a 25%, moderadamente resistente com %PM entre 26 a 50% ou suscetível com %PM acima de 50% à doença avaliada como ilustrado na figura 4.

Figura 4 - Planilha de avaliação a resistência ao cancro da haste em alguns genótipos de soja;

PT	PM	PI	Sadias	% PM	Reação
10	0	0	10	0	R
10	1	0	9	10	R
10	0	0	10	0	R
10	1	1	8	15	R
10	0	0	10	0	R
10	1	3	6	25	R
10	8	2	0	90	S
10	0	0	10	0	R
10	3	5	2	55	S
10	1	8	1	50	MR
7	0	0	7	0	R
10	5	3	2	65	S
10	7	1	2	75	S
10	0	0	10	0	R

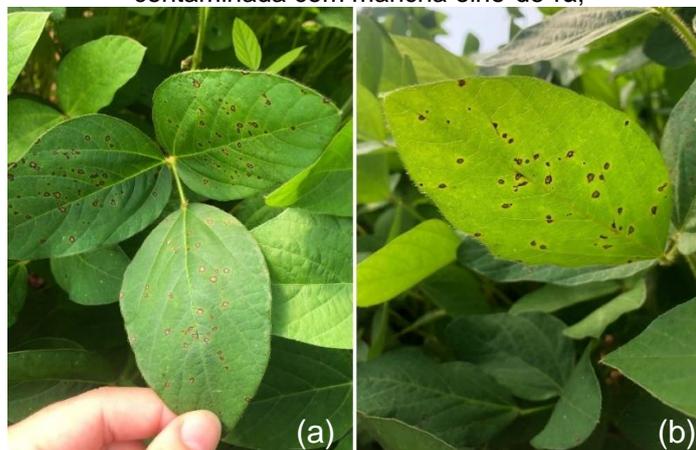
Fonte: Fernanda Kossar da Silva, 2023.

2.3 Mancha olho-de-rã

A mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*) que pertencente à Classe Deuteromicetos, Ordem Moniliales, Família Dematiacea, pode ocorrer em qualquer estágio da planta, é mais comum a partir do florescimento. Essa doença pode atingir flores, hastes, vagens e até as sementes da planta, com sintomas que iniciam com pequenos pontos de encharcamento que evoluem para manchas com centros castanho-claro do lado superior da folha e cinza no inferior tal como mostra a figura 5 (a) e (b).

O fungo pode ser disseminado por sementes infectadas e pelo vento, podendo sobreviver em restos culturais. As condições favoráveis ao desenvolvimento dessa doença são temperaturas e umidade altas.

Figura 5 – (a): Folhas de soja infectado com mancha olho-de-rã; (b): Face inferior da folha de soja contaminada com mancha olho-de-rã;

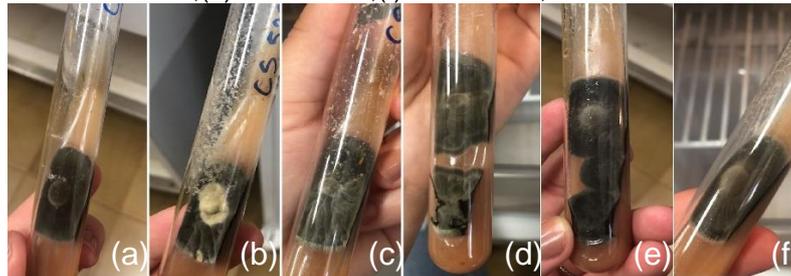


Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

2.3.1 Atividades realizadas relativas à mancha olho-de-rã

O processo de inoculação da mancha olho de rã também é realizado através de repicagem dos fungos já isolados e mantidos em tubos. Essa doença possui 7 raças dentro da coleção de microrganismos da Embrapa Soja, divididos em dois grupos, pouco severos e muito severos. Os menos severos são: CMES 531,533,534 e 535 e os mais severos são: CMES 537,538 e 539 bem como apresenta a figura 6.

Figura 6 - Raças de *Cercospora sojina*: (a) CMES 531; (b) CMES 533;(c) CMES 534;(d) CMES 535;(e) CMES 538;(f) CMES 539;

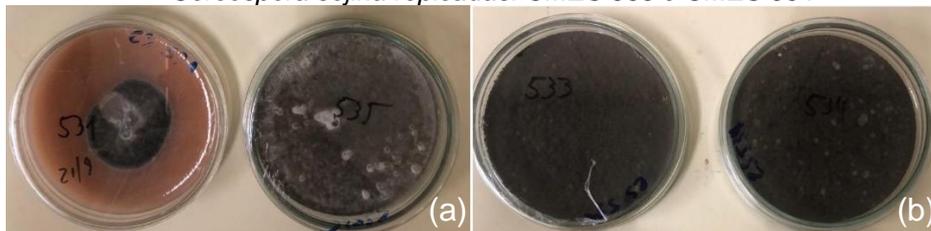


Fonte: Fernanda Kossar 2023.

O repique desses fungos consiste em renová-los primeiramente, coletando o fungo dos tubos e inserir em outro tubo de forma cuidadosa para evitar contaminação em um meio de cultura V8 modificado, no qual é mais nutritivo para o fungo.

Logo após o repique os tubos devem ser identificados e levados para BOD por alguns dias até que o fungo se desenvolva por completo. Uma vez que o fungo tenha atingido seu desenvolvimento adequado no tubo ele possa ser repicado na placa para que a inoculação seja feita, como ilustrado na figura 7.

Figura 7 – (a):Raças de *Cercospora sojina* repicadas: CMES 531e CMES 335; (b): Raças de *Cercospora sojina* repicadas: CMES 533 e CMES 534



Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

A inoculação de *Cercospora sojina* para ambos grupos de severidade é realizada por aspersão, onde as placas repicadas com os patógenos são levadas ao liquidificador e trituradas, juntamente com água destilada, até que misturem bem e obtenha um líquido que seja fácil de aspergir sobre os genótipos. As plantas devem ser inoculadas quando estiverem nos estádios V4-V5, onde apresentam de três a quatro trifólios bem desenvolvidos.

A avaliação dos genótipos de soja referentes à resistência à mancha olho-de-rã é feita após 21 dias de inoculação, onde cada planta passa por uma inspeção considerando o folíolo

mais infectado e avaliando o tipo de lesão (TL), com tamanho que varia de 1 mm a 5 mm, dando-se notas de 0 a 5; e nível de infecção (NI), que considera a porcentagem de área foliar infectada (% a.f.i.), dando-se notas como segue: NI 0 = 0% - ausência de sintoma; NI 1 = traços a 10% a.f.i.; NI 2 = 11% a 25% a.f.i.; NI 3 = 26% a 50% a.f.i.; NI 4 = 51% a 75% a.f.i.; e NI 5 = >75% a.f.i. A reação final de cada cultivar a ser descrita será baseada na predominância dos tipos de lesões (TL) e do nível de infecção (NI), sendo: R = resistente ou imune (NI = 0; TL = 0); MR = moderadamente resistente (NI = 1 a 2; TL = 1 a 3); S = suscetível (NI = 3 a 5; TL > 3) (SOARES, 2016).

2.4 Podridão radicular de fitóftora

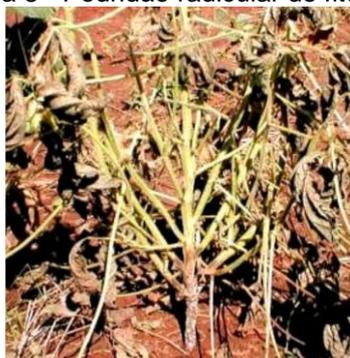
A Podridão radicular de fitóftora (*Phytophthora sojae*) pertence ao filo Oomycota, à classe Peronosporomycetidae, à ordem Pythiales e à família Pythiaceae, teve registros de ocorrência no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás, Bahia e Tocantins. A *P. sojae* não é um fungo e sim um oomiceto, também chamado de falso fungo.

Os sintomas aparecem da pré-emergência até o florescimento da planta, sendo que plantas jovens são mais suscetíveis. Plântulas infectadas germinam lentamente e normalmente morrem.

As plantas adultas morrem lentamente, apresentam folhas amareladas e tecidos secos entre as nervuras, seguindo de murcha completa e seca dos tecidos assim como mostra a figura 8. A temperatura favorável à ocorrência da doença é igual ou superior a 25°C e água livre no solo. A presença de chuva no início do ciclo favorece o apodrecimento de sementes e o tombamento de plântulas e a chuva no final do ciclo favorecem a ocorrência de escurecimento externo na haste e morte em plantas adultas;

Os principais métodos de controle à *Phytophthora* são: resistência genética combinada com controle químico com fungicidas com metalaxil realizados via semente, melhoria nas condições físicas do solo (drenagem e descompactação) e rotação de culturas.

Figura 8 - Podridão radicular de fitóftora.

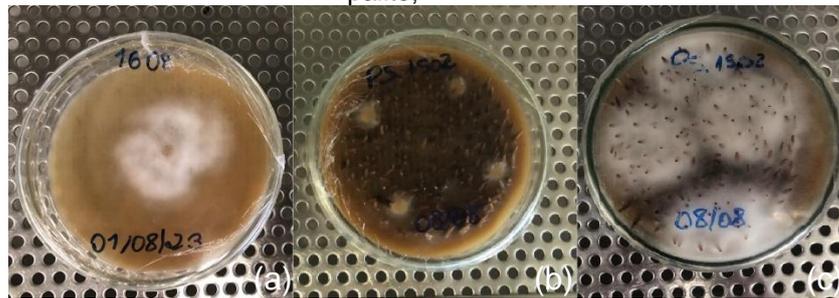


Fonte: Embrapa Soja, 2008.

2.4.1 Atividades realizadas relativas à podridão radicular de fitóftora

A inoculação de podridão radicular de fitóftora consiste no mesmo processo de inoculação que o cancro da haste, onde o fungo é isolado e repicado de forma asséptica bem como a figura 9 (a) mostra, e após alguns dias de desenvolvimento é repicado novamente na placa com palitos de madeira para a futura inoculação, assim como apresenta a figura 9 (b).

Figura 9 – (a): Repicagem de podridão radicular de fitóftora; (b): Repicagem de podridão radicular de fitóftora em palito; (c): Placa de Petri 7 dias após a repicagem de podridão radicular de fitóftora em palito;



Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

O oomiceto *Phytophthora sojae* é inoculado na planta de soja por meio de duas abordagens distintas. A primeira delas envolve o método do palito, no qual o fungo é cultivado em placas contendo meio de cultura V8-modificado. Posteriormente, o fungo é transferido para placas que contêm palitos de dente, com a finalidade de contaminar esses palitos como ilustra a figura 9 (c). Em seguida, esses palitos contaminados são inseridos em 10 plantas de soja, quando estiverem na fase vegetativa V1, caracterizada pelo 1º folíolo desenvolvido, resultando na futura infecção das plantas como a figura 10 (a) ilustra.

Por outro lado, a abordagem do método para avaliar a resistência parcial é empregado pela inoculação no solo. Nesse método, a placa contendo o meio de cultura e o patógeno isolado ou repicado é introduzida diretamente no solo antes da semeadura da soja, assim como a figura 10 (b) mostra. Isso visa contaminar e infectar as raízes das plantas por meio do contato direto com o patógeno presente no meio de cultura. É importante ressaltar que ambas as abordagens desempenham papéis fundamentais no estudo e na compreensão da interação entre o *Phytophthora sojae* e a soja.

Figura 10 – (a): Plantas de soja inoculadas com o palito contaminado com a Podridão radicular de fitoftora; (b): Inoculação de podridão radicular de fitoftora direto na areia;



Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

A avaliação dos genótipos de soja referentes a resistência desta doença é realizada através da contagem de plantas totais no vaso (PT), plantas mortas (PM), plantas infestadas (PI) e plantas saudáveis (PS), obtendo a porcentagem de plantas mortas (%PM). Após a coleta de dados de todos os vasos e repetições, os valores são colocados em tabela, na qual descreve se a linhagem é resistente tal como a figura 11 (a) demonstra, moderadamente resistente ou suscetível à doença avaliada como apresenta na figura 11 (b).

Figura 11 – (a): Plantas de soja resistente à podridão radicular de fitoftora; (b): Plantas de soja suscetível à podridão radicular de fitoftora;



Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

2.5 Pústula bacteriana

A Pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*), pertence à Classe Gammaproteobacteria, Ordem Xanthomonadales e Família Xanthomonadaceae, é uma doença típica de folhas, mas também infecta hastes, pecíolos e vagens.

Seus sintomas são manchas arredondadas, nunca angulares e de coloração parda como mostra a figura 13 (a). Na face inferior da folha, no meio da lesão há presença de pequenas elevações de cor esbranquiçada como representado na figura 13 (b). O patógeno é

transmitido por sementes contaminadas e restos culturais, o único método de controle é o uso de cultivares resistentes. Condições como umidade elevada e temperatura alta (acima de 28°C), favorecem o desenvolvimento da bactéria.

Figura 12 – (a): Face superior da folha infectada com Pústula Bacteriana; (b): Face inferior da folha infectada com Pústula Bacteriana;



Fonte: Luís Antônio Cajolla, 2023.

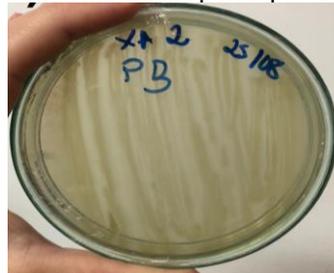
2.5.1 Atividades realizadas relativas à pústula bacteriana

O processo de inoculação da pústula bacteriana é realizado através do cultivo da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*., na qual é realizada exclusivamente pela analista Gisele, responsável pela repicagem de bactérias e testes de controle biológico, no qual envolve o uso de microrganismos benéficos para controlar patógenos que causam doenças em plantas.

Após 48 ou 72 horas do preparo da placa, ela já se encontra em seu auto desenvolvimento e pronta para ser inoculada como apresenta a figura 14.

O preparo das placas para uso na inoculação consiste em utilizar 25 ml de água destilada para cada placa de bactéria. A água deve ser adicionada sobre a placa e então com um pincel realizar a raspagem sutil sobre a bactéria no meio de cultura de forma que se misture na água.

Figura 13 - *Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines*;



Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

A inoculação de pústula bacteriana deve ser feita na planta no estágio V2 ou V3 na qual já apresenta à primeira ou segunda folha trifoliolada completamente desenvolvida, podendo ser realizada de duas formas, por aspersão ou por raspagem com o pincel.

A aspersão consiste em borrifar a mistura de água de bactéria sobre as plantas de soja, de forma que a maioria das folhas possam ser contaminadas bem como demonstra a figura 15 (a). Após a aspersão, as plantas são empacotadas para criar um ambiente mais propício para o desenvolvimento da bactéria, e após 24 horas, os pacotes são retirados tal como a figura 15 (b) demonstra.

Já a inoculação por raspagem com o pincel, consiste em umedecer o pincel na mistura e pincelar na parte inferior das folhas de soja, para que ocorra uma pequena lesão e a bactéria possa entrar com mais facilidade na planta, como ilustrado na figura 15 (c) e (d).

Figura 14 – (a): Aspersão de Pústula bacteriana; (b): Plantas de soja empacotadas após a inoculação de pústula bacteriana; (c): Método do pincel para inoculação de Pústula bacteriana; (d): Folha de soja após a inoculação por pincel de pústula bacteriana;

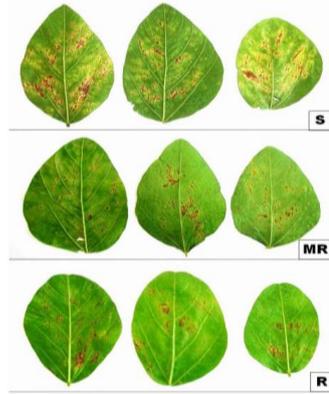


Fonte: Fernanda Kossar, 2023.

A avaliação dos genótipos de soja referentes à resistência desta doença é feita 10 dias após a inoculação através da observação do desenvolvimento dos sintomas no tecido foliar da planta. São observados o escurecimento do tecido, e amarelecimento das bordas, a partir do ferimento feito pelo pincel e do aparecimento de pústulas.

O genótipo de soja é considerado resistente quando não apresenta sintomas em suas folhas, moderadamente resistente quando apresenta escurecimento/encharcamento das lesões, com leve borda amarela ou suscetível quando apresenta encharcamento e crescimento das lesões, com borda amarela bem como mostra a figura a seguir.

Figura 15 - Sintomas das reações dos genótipos de soja após a inoculação de Pústula bacteriana;



Fonte: Rafael Moreira Soares, 2016.

3 CONCLUSÃO

Realizando o estágio na área de Fitopatologia, proporcionou a realização de avaliações de resistência de plantas de soja a diversas doenças. Durante este período, foi observado e analisado a interação entre os patógenos e as plantas, visando identificar genótipos de soja com resistência às doenças avaliadas.

Nas atividades de campo, foi realizado a inoculação dos patógenos nas plantas de soja, seguindo procedimentos padronizados. Posteriormente, acompanhado o desenvolvimento das doenças, registrando os sintomas e avaliando a severidade e progressão das infecções.

Através das avaliações, foi possível identificar genótipos de soja com diferentes níveis de resistência às doenças estudadas, como o cancro da haste, à mancha olho-de-rã, a podridão radicular de fitóftora e a pústula bacteriana. Essas observações permitiram compreender a importância da resistência genética como estratégia de controle de doenças em plantas cultivadas.

Além de proporcionar a aprendizagem de como utilizar técnicas e ferramentas de análise e interpretação de dados, permitindo realizar uma avaliação precisa e comparativa da resistência dos genótipos de soja. Contribuindo para a obtenção de conhecimento sobre a resposta das plantas aos patógenos e a identificação de potenciais variedades resistentes a serem incorporadas em programas de melhoramento genético.

Por meio da execução destas atividades, foi possível adquirir uma compreensão prática dos conceitos previamente estudados de forma teórica no âmbito do componente curricular de fitopatologia. Isso envolveu a identificação dos estágios fenológicos em que as doenças se desenvolvem, o reconhecimento das condições climáticas mais propícias para o desenvolvimento de cada fungo, bem como a observação dos sintomas e danos causados às plantas.

Outros componentes curriculares estudados como plantas de lavoura I auxiliado como base para realização de atividades práticas, pois atrás do conhecimento adquirido foi possível identificar o estágio da planta onde cada doença deveria ser inoculada, a morfologia da planta de soja e as principais doenças prejudiciais à cultura, já o componente de microbiologia auxiliou para a parte prática de laboratório, na repicagem dos fungos de forma segura e asséptica para que não houvesse a contaminação de cada fungo isolado para testes.

Em conclusão, a experiência no estágio proporcionou não apenas a aplicação prática dos conhecimentos teóricos, mas também uma compreensão mais profunda da interação planta-patógeno e da importância da resistência genética no controle de doenças em cultivos de soja. Este aprendizado prático contribuiu significativamente para o desenvolvimento de habilidades e conhecimentos relevantes para a área de Fitopatologia.

4 REFERÊNCIAS

AGENCIA IBGE – PAM. **Valor de produção bate recorde, mas safra 2021 não supera ano anterior**. IBGE, 2022. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/34943-valor-de-producao-bate-recorde-mas-safra-2021-nao-supera-ano-anterior>. Acesso: 02 out. 2023.

HENNING, Ademir Assis; ALMEIDA, Álvaro Manuel Rodrigues; GODOY, Cláudia Vieira; SEIXAS, Claudine Dinali Santos; YORINORI, José Tadashi; COSTAMILAN, Leila Maria; FERREIRA, Léo Pires; MEYER, Maurício Conrado; SOARES, Rafael Moreira; DIAS, Waldir Pereira. **Documentos 256**: manual de identificação de doenças de soja. 5. ed. Londrina, Pr: Embrapa Soja, 2014. 78 p. Edição eletrônica: Marisa Yuri Horikawa. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105942/1/Doc256-OL.pdf>. Acesso em: 25 out. 2023.

NEPOMUCENO, A. L; FARIAS, J. R. B; NEUMAIER, N. **Características da soja**. Embrapa Soja, Londrina, dez. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/pre-producao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-o-ambiente/caracteristicas-da-soja>. Acesso: 02 out. 2023.

SEIXAS, C. D. S; NEUMAIER, N.; JUNIOR, A. A. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. **Tecnologias de produção de soja**. 1 ed. Londrina: Embrapa Soja, 2020.

SOARES, R. M; ARIAS, C. A. A; Documentos 376: Seleção de linhagens de soja da Embrapa para resistência a doenças: histórico de 2008 a 2014. Londrina, 2016, 42 p.