



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DE MANCHA ALVO DA  
SOJA NO CERRADO BRASILEIRO**

**ÉRICA DE CASTRO COSTA**

**BRASÍLIA – DF**

**2020**

**ÉRICA DE CASTRO COSTA**

**EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DE MANCHA ALVO DA SOJA NO CERRADO  
BRASILEIRO**

Dissertação apresentada à  
Universidade de Brasília como  
requisito parcial para a obtenção  
do título de Mestre em  
Fitopatologia pelo Programa de  
Pós Graduação em Fitopatologia

**Orientador**

Prof. Adalberto Corrêa Café Filho, Ph.D.

**BRASÍLIA  
DISTRITO FEDERAL - BRASIL  
2020**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Costa, Érica de Castro.

Epidemiologia comparativa de mancha alvo da soja no cerrado brasileiro. / Érica de Castro  
Costa.

Brasília, 2020.

68 p.

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de  
Brasília, Brasília.

1. Soja – Mancha alvo, *Corynespora cassiicola*, epidemiologia, fitopatologia.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Epidemiologia comparativa de mancha alvo da soja no cerrado brasileiro.

*“Levar ciência para as pessoas leva as pessoas à  
ciência” (Stephen Hawking).*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Albino e Maria Inês, por toda a educação e luta diária que me fortaleceram e foram alicerces para chegar aonde estou. Aos meus irmãos Héverton e Érike por todo apoio dado às minhas decisões, especialmente na escolha em realizar um mestrado. Ao meu companheiro Pedro por estar sempre ao meu lado, me ajudando nos momentos mais difíceis e compartilhando todas as vitórias.

Agradeço o grupo de epidemiologia formado pelo Dr. Justino Dias Neto e Lincoln Vicente, companheiros e amigos fiéis, e ao professor Dr. Adalberto Café Filho pela orientação, ensinamentos e apoio durante minha caminhada pelo PPG-Fitopatologia. E aos estagiários que passaram por aqui, Laíde, Rebecca e Filipe. Sem vocês a execução deste trabalho não seria possível!

Aos colegas do PPG-Fitopatologia Deziany Ferreira, Amanda Araújo, Jennifer Decloquement, Vitória Monteiro e Caio Souza, aos alunos do laboratório de micologia e ao Prof. Dr. Danilo Pinho, que de forma única e especial fizeram parte de toda essa trajetória.

À Universidade de Brasília (UnB) e o Departamento de Fitopatologia pela oportunidade de realizar o Mestrado em Fitopatologia e a todos os professores do PPG-Fitopatologia pelos ricos ensinamentos.

À Embrapa Soja por ter cedido parte dos isolados fúngicos utilizados nesse trabalho, bem como o Dr. Alderi Araújo da Embrapa Algodão e Aline Suelen por coletar e me enviar amostras de plantas algodão com mancha alvo. Às empresas BASF e CORTEVA e à Catharine Abreu por disponibilizarem as sementes de soja fundamentais para esse estudo.

Ao Instituto Phytus, em nome do Dr. Nédio Tormen, e à Fazenda Savana por cederem os auxílios necessários para a execução dos experimentos.

Agradeço ao Dr. Pierce Paul e pela paciência, auxílio e conselhos feitos com excelência sobre o trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado e à UnB pela concessão de auxílios financeiros fundamentais à condução dos experimentos.

Obrigada a todos!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do professor Adalberto Corrêa Café Filho, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DE MANCHA ALVO DA SOJA NO CERRADO  
BRASILEIRO**

**ÉRICA DE CASTRO COSTA**

DISSERTAÇÃO APROVADA em 20/11/2020 por:

Prof. Dr. Pierce A. Paul  
Examinador Externo

Dr. Nédio Tormen  
Examinador Externo

Prof. Dr. Adalberto C. Café Filho  
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL  
BRASIL  
2020

## SUMARIO

LISTA DE TABELAS .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
RESUMO GERAL .....	iv
GENERAL ABSTRACT .....	v
INTRODUÇÃO .....	6
1. REVISÃO DE LITERATURA .....	10
1.1. A cultura da soja .....	10
1.2. Etiologia de mancha alvo .....	12
1.3. Mancha alvo da soja .....	15
1.4. Efeito dos fatores ambientais na epidemiologia da mancha alvo .....	18
1.5. Quantificação de perdas de produção .....	19
1.6. Controle de mancha alvo .....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
2.1. Obtenção de isolados de <i>Corynespora cassiicola</i> .....	22
2.2. Purificação, multiplicação, conservação e identificação dos isolados .....	23
2.3. Produção de esporos para estudos de inoculação artificial .....	25
2.4. Determinação do período de latência e severidade da mancha alvo em cvs. de soja com diferentes padrões de resposta relatada à doença em condições controladas .....	26
2.5. Epidemiologia comparada de mancha alvo em cultivares de soja em duas regiões produtoras .....	28
2.6. Patogenicidade cruzada de isolados de soja e algodão .....	30
2.7. Estimativa de perdas de produtividade associadas à mancha alvo .....	31
2.8. Análises estatísticas .....	32
3. RESULTADOS .....	32
3.1. Identificação dos isolados .....	32
3.2. Determinação do período de latência e severidade da mancha alvo em cvs. de soja com diferentes padrões de resposta relatada à doença em condições controladas .....	33
3.3. Epidemiologia comparada em cultivares de soja em duas regiões produtoras .....	38
3.4. Efeito da mancha alvo na produtividade de cultivares de soja .....	48
3.5. Estudos de patogenicidade cruzada .....	53
4. DISCUSSÃO .....	54
5. CONCLUSÕES .....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
ANEXOS .....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Isolados de <i>Corynespora cassiicola</i> oriundos de plantas de soja e algodão, de diversas safras e regiões do Brasil .....	23
Tabela 2. Primers iniciadores utilizados para a identificação dos isolados de <i>Corynespora cassiicola</i> oriundos de soja e algodão .....	25
Tabela 3. Relação das cultivares de soja, com respectivas respostas relatadas à mancha alvo e características agronômicas .....	27
Tabela 4. Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de primavera/verão, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05) .....	37
Tabela 5. Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de outono/inverno, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05) .....	38
Tabela 6. Valores de probabilidade (níveis de significância) da análise do modelo linear misto dos efeitos do tratamento de fungicidas e variedade de incidência e severidade de mancha alvo da soja aos 59, 74 e 86 dias após a emergência e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) .....	42
Tabela 7. Mínimos quadrados transformados por arcoseno e teste T entre as médias estimadas de incidência para as cultivares em Planaltina, DF, aos 59, 74 e 86 DAE .....	46
Tabela 8. Mínimos quadrados transformados por arcoseno e teste T entre as médias estimadas de severidade e Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para as cultivares em Planaltina, DF, aos 59, 74 e 86 DAE .....	46
Tabela 9. Mínimos quadrados transformados por arcoseno e teste T entre as médias estimadas de incidência e severidade para as cultivares em Luís Eduardo Magalhães, BA, aos 86 DAE .....	48
Tabela 10. Valores de probabilidade (níveis de significância) da análise do modelo linear misto dos efeitos do tratamento com fungicida e da variedade de peso total úmido (PTU) e seco (PT) dos grãos e peso úmido (PMSU) e seco de mil sementes (PMS) .....	51

### ANEXO

Tabela 1. Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de primavera/verão, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05) .....	66
Tabela 2. Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de outono/inverno, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05) .....	67
Tabela 3. Estatística descritiva dos ensaios de primavera/verão e outono/inverno dada por Kruskal-Wallis .....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Corynespora cassiicola</i> A. Conidióforos no centro da lesão, B. Conídio no ápice do conidióforo, C. Conidióforos, D. Conídio, E. Conídio emitindo tudo germinativo .....	33
Figura 2. Períodos de latência em dias após a inoculação (DAI) de <i>Corynespora cassiicola</i> , causador da mancha alvo, inoculado em dez cultivares de soja em dois ensaios distintos, primavera/verão e outono/inverno .....	35
Figura 3. Curvas de progresso da doença em casa de vegetação, dada pela severidade média (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja, em dias após a inoculação (DAI) nos ensaios de A. primavera/verão e B. outono/inverno .....	36
Figura 4. Temperaturas máximas, médias e mínimas (°C) medidas com termohigrômetro e precipitação total (mm) fornecida pelo Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet) durante os ensaios em A. Planaltina, DF e B. Luís Eduardo Magalhães, BA .....	39
Figura 5. Umidade relativa do ar máxima, média e mínima (%) medidas com termohigrômetro durante os ensaios em A. Planaltina, DF e B. Luís Eduardo Magalhães, BA .....	40
Figura 6. Box plot da incidência (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja em duas regiões do cerrado brasileiro, sob dois tratamentos com aplicação de fungicida e sem aplicação de fungicida. A. Planaltina, DF, B. Luís Eduardo Magalhães, BA.....	44
Figura 7. Box plot da severidade (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja em duas regiões do cerrado brasileiro, sob dois tratamentos com aplicação de fungicida e sem aplicação de fungicida. A. Planaltina, DF, B. Luís Eduardo Magalhães, BA .....	45
Figura 8. Mínimos quadrados transformados pela raiz quadrada do arsênio, de incidência e severidade de mancha alvo em dez cultivares de soja, nos experimentos de Planaltina, DF e Luís Eduardo Magalhães, BA .....	47
Figura 9. Produtividade média total estimada em kg/ha das dez cultivares de soja submetidas aos tratamentos com aplicação de fungicida (CF) e sem aplicação de fungicida (SF) realizados em A. Planaltina, DF. B. Luís Eduardo Magalhães, BA .....	50
Figura 10. Mínimos quadrados transformados pela raiz quadrada do arsênio, do peso de mil sementes seco (PMSB) e peso total seco (PTB) em dez cultivares de soja, nos experimentos de Planaltina, DF e Luís Eduardo Magalhães, BA .....	52
Figura 11. Relação entre severidade de mancha alvo aos 86 DAE e produtividade nas cultivares de soja, com ciclos médio e tardio, submetidas ao tratamento com e sem aplicação de fungicidas, no ensaio em Planaltina, DF .....	53
Figura 12. Eficiência de inóculo dada pela proporção de lesões no aparecimento de sintomas e a concentração de inóculo de isolados de <i>Corynespora cassiicola</i> oriundos de plantas de soja e algodão, inoculados artificialmente nas duas culturas .....	54

## ANEXO

Figura 1. Esquematização dos ensaios de campo contendo os tratamentos (cultivares) e subparcelas com e sem fungicidas, distribuídos em três blocos casualizados .....	66
---	----

## RESUMO GERAL

COSTA, Érica de Castro. **Epidemiologia comparativa de mancha alvo da soja no cerrado brasileiro**. 2020. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília.

O Brasil é o maior produtor mundial de soja (*Glycine max*) (safra 2019/2020), com áreas cultivadas que vão desde a região Norte até a fronteira Sul do país, sendo a maior região produtora o Cerrado, a Savana Neotropical Sul-americana. Os fatores limitantes na produção dessa cultura incluem fatores abióticos e bióticos. Nas últimas safras, a mancha alvo da soja, causada por *Corynespora cassiicola*, considerada por muitos anos uma doença secundária, vem apresentando-se com maior importância na região do Cerrado, principalmente no Centro-Oeste do Brasil. No entanto, ainda poucos estudos comparativos foram concluídos neste patossistema. Portanto, os objetivos deste estudo foram: I) comparar o desenvolvimento da mancha alvo da soja em duas regiões do Cerrado, no Distrito Federal e Bahia, relacionando os parâmetros macro e microclimáticos de cada região à doença; II) examinar os padrões de resposta das cultivares de soja à mancha alvo em ambas as regiões e determinar o período de latência da doença em condições controladas; III) relacionar a severidade da doença às perdas de produtividade; IV) verificar a reação cruzada de isolados de *C. cassiicola* de soja e algodão em cada espécie hospedeira. Dez cvs. comerciais de soja foram testadas em Planaltina, DF e Luís Eduardo Magalhães, BA durante a safra de 2019/2020. As mesmas cvs. foram testadas em casas de vegetação com inoculação artificial de isolados de *C. cassiicola* em dois ensaios, de primavera/verão e outono/inverno. A precipitação total registrada durante os experimentos de campo foi superior no DF (818,7 mm) do que na BA (460 mm), enquanto as temperaturas foram c. 5 °C mais frescas, com menos dias de temperaturas extremas. Foi registrada maior amplitude de variação da UR do ar durante o dia na BA. No DF foram encontradas maiores intensidades da doença, atingindo 48% de incidência e 19% de severidade ao final do plantio. Os tratamentos com aplicação de fungicidas apresentaram menores intensidades da doença apenas no DF. Os experimentos de campo permitiram a separação das cultivares em quatro grupos, de acordo com os padrões de suscetibilidade à mancha alvo: altamente suscetível, suscetível, moderadamente resistente e resistente. A cv. CD 2827 foi considerada como a mais suscetível à doença, enquanto as cvs. C 2811, C 2830 e C 2834 foram as mais resistentes. Em casa de vegetação houve maior intensidade da doença no ensaio de primavera/verão com severidade média de 17%, enquanto em outono/inverno nenhuma cv. atingiu 5%. A duração dos períodos de latência das cvs. foi geralmente correlacionada com as respectivas reações de resistência. As diferenças das variáveis ambientais entre os ensaios explicaram a redução expressiva da doença na BA e no período de outono/inverno. Foi encontrada relação negativa entre a severidade da doença e a produtividade. Nos estudos de inoculação cruzada, isolados de soja e algodão foram capazes de infectar ambos os hospedeiros, mas diferenças na agressividade foram detectadas.

**Palavras-chave:** *Corynespora cassiicola*, *Glycine max*, Progresso da doença, Perda de produtividade, Período de latência, Fatores ambientais.

---

Orientador – Prof. Adalberto Corrêa Café Filho – Universidade de Brasília.

## GENERAL ABSTRACT

COSTA, Érica de Castro. **Comparative epidemiology of soybean target spot in the Neotropical Savanna**. 2020. 64p. Dissertation (Master of Science in Plant Pathology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil

Brazil is the world's largest soybean (*Glycine max*) producer, with cultivated areas ranging from the Country's Northern region to its Southern border. The largest producing area is located in the Cerrado, the South American Neotropical Savanna. Yield limiting factors of this crop include abiotic components and biotic factors. In the past several growing seasons soybean target spot, caused by *Corynespora cassiicola*, formerly considered a secondary disease for many years, has increased in importance in the Cerrado region of the Brazilian Midwest. However, few epidemiological studies have been completed on this pathosystem. Therefore, the objectives of this study were: I) to compare the development of soybean target spot in the Cerrado regions of the Federal District (DF) and the state of Bahia (BA), relating the macro and microclimate parameters in each region with the disease; II) to examine the response patterns of soybean cultivars to target spot in both regions, and determine their respective disease latent periods under controlled conditions; III) to relate the severity of the disease to losses in productivity; IV) to verify the cross-reaction of soybean and cotton *C. cassiicola* isolates to each host species. Ten commercial soybean cultivars were tested in Planaltina, DF and Luís Eduardo Magalhães, BA, Brazil, during the 2019/2020 harvest season. The same cvs. were also tested in greenhouses with artificial inoculation with *C. cassiicola* in two trials, spring/summer and autumn/winter. The total precipitation recorded during the field experiments was much higher in DF (818.7 mm) than in BA (460 mm), while the temperature was about 5 °C cooler with less extremely hot days. The daytime range in relative humidity was larger in BA than in DF. Greater intensity of the disease was observed in the DF crop, reaching 48% disease incidence and 19% disease severity at season's end. Treatments with fungicide applications reduced disease intensities only in the DF trial. The field experiments allowed the separation of the cultivars into four groups, according to the patterns of susceptibility to target spot: highly susceptible, susceptible, moderately resistant, and resistant. The cv. CD2827 was considered the most susceptible to the disease, while cvs. C2811, C2830, and C2834 were the most resistant. In the greenhouse there was a higher intensity of the disease in the spring/summer trial with an average severity of 17%, while in autumn/winter no cv. reached 5%. Duration of the cultivars' latent periods were generally correlated with the resistance response. The environmental differences recorded during the trials are the probable causes for the expressive lower disease levels recorded in the field in BA and in the greenhouse in the autumn/winter trial. A negative relationship was found between severity and yield. In the cross-inoculation studies isolates of soybean and cotton were able to infect both hosts, but differences in aggressiveness were detected.

**Keywords:** *Corynespora cassiicola*, *Glycine max*, Disease progress, Yield loss, Latent period, Environment factors.

---

Advisor – Prof. Adalberto Corrêa Café Filho – Universidade de Brasília.

## INTRODUÇÃO GERAL

A soja originou-se na região leste da Ásia, chegando às Américas por volta do século XVII (Hymowitz, 1970). As primeiras cultivares introduzidas no Brasil eram oriundas dos Estados Unidos, mas, por suas características agronômicas, não foram adaptáveis em todas as regiões do Brasil. Foi no Rio Grande do Sul que a cultura se estabeleceu primeiramente, pelas condições climáticas favoráveis, sendo utilizada em pesquisas e amplamente cultivada como planta hortícola em 1960 em todas as regiões do estado. A partir de então, com a forte pesquisa em melhoramento genético da espécie e de fertilidade do solo, o aquecimento do mercado internacional na década de 1970, seguido do mercado nacional, o desenvolvimento tecnológico dos maquinários agrícolas, a criação de indústrias para processamento de soja no País, a ampliação da fronteira agrícola, os progressos na compreensão das características edáficas do solo brasileiro, além do desenvolvimento de técnicas de produção aliadas a pesquisa dos fatores que contribuem para o aumento de produtividade da cultura, permitiram que a soja seja considerada atualmente, uma das mais importantes culturas agrícolas do Brasil (Bezerra *et al.*, 2015).

A soja (*Glycine max* L. Merr) é uma leguminosa herbácea anual pertencente à família Fabaceae, com ciclo de vida variável de 70 a 200 dias, sendo a maioria dos cultivares adaptadas para o Brasil com ciclo de 90 a 150 dias (Matsuo *et al.*, 2015). No ano de 2020 o Brasil passa a ocupar o marco de maior produtor mundial de soja com 120,9 milhões de toneladas de grãos, e a região Centro-Oeste a maior produtora nacional com 5,89 milhões de toneladas (CONAB, 2020). A cultura ocupa ampla área do território nacional, desde a região Norte até a fronteira sul do país e estendendo-se por várias províncias argentinas (Dias *et al.*, 2019).

O progressivo aumento de produtividade nacional está relacionado com a redução dos fatores limitantes. Entre estes estão os fatores bióticos e abióticos. Ambos os fatores podem influenciar direta ou indiretamente na produção da cultura, portanto, devem ser levados em consideração quando se planeja a escolha dos cultivares a serem plantadas em cada região de cultivo. Dentre os fatores abióticos destacam-se os climáticos, como precipitação, temperatura e umidade, os fatores edáficos, como morfologia, estrutura e fertilidade do solo, além dos fatores ambientais, como a altitude e latitude (Oerke, 2006). Os principais fatores bióticos são representados por organismos vivos capazes de promover estresse e afetar a produtividade. Entre eles estão os patógenos de plantas, que podem, dependendo da intensidade das doenças por eles causadas, representar perdas significativas à soja. Estima-se que 15 a 20% das perdas ocorridas na cultura sejam devido ao ataque de fitopatógenos (Godoy *et al.*, 2016). No Brasil foram relatadas 46 doenças em soja, causadas por fungos (33), nematoides (6), vírus (4) e bactérias (3) (Godoy *et al.*, 2016).

Algumas doenças são tratadas com maior importância por se manifestarem em praticamente todo o ciclo e regiões de cultivo e por possuírem um potencial epidêmico e de perdas de produção, como a ferrugem asiática da soja, causada por *Phakopsora pachyrizii*. Estas são constantemente alvo de pesquisas em programas de melhoramento genético e de medidas de controle químico direcionado. Além da ferrugem asiática, as doenças fúngicas mais comuns em soja são o oídio (*Microsphaera diffusa*), mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), mancha-púrpura (*Cercospora kikuchii*), mancha parda (*Septoria glycines*), podridão radicular de *Phytophthora* (*P. sojae*), mancha alvo (*Corynespora cassicola*), antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e podridão de carvão (*Macrophomina phaseolina*) (Matsuo *et al.*, 2015b).

Almeida *et al.* (1976) fizeram o primeiro relato de mancha alvo da soja no Brasil, nos estados do Paraná e de São Paulo. Alguns anos mais tarde, a doença pôde ser encontrada em

toda região produtora de soja no País. Por muito tempo foi considerada como doença secundária por aparecer apenas ao final do ciclo da cultura, em folhas baixas, sem redução significativa à produtividade (Yorinori *et al.*, 1993). Entretanto, a contínua expansão da área cultivada, o melhoramento genético por vezes negligenciando determinadas doenças, o uso contínuo das mesmas moléculas fungicidas e a prática do plantio direto, influenciaram no aumento de diversas doenças (EMBRAPA, 2014). Nas últimas décadas, a mancha alvo tem aumentado de importância, especialmente na região Centro-Oeste do Brasil (Delgado *et al.*, 2008; Dias & Martins, 2006). Trabalhos recentes estimaram uma redução de até 42% de produtividade pela infecção da mancha alvo em cultivares suscetíveis (Edwards Molina *et al.*, 2019a).

A mancha alvo é causada por *Corynespora cassiicola* (Wei, 1950), um fungo necrotrófico, cosmopolita e polífago, capaz de infectar mais de 408 hospedeiros. Além do Brasil, está presente nos principais países produtores, como Estados Unidos, Argentina e China (Sumabat *et al.*, 2018b). Apenas a fase assexual é conhecida, com a produção de conidióforos melanizados, lisos e septados, que variam de 400 a 500  $\mu\text{m}$  de comprimento por 10 a 20  $\mu\text{m}$  de largura, com 4 a 20 septos transversais (Ellis, 1957). Após a penetração do tecido do hospedeiro, o fungo libera a toxina “*cassiocolin*” que mata as células do hospedeiro adjacentes ao local de infecção. Os sintomas se iniciam em pequenas pontuações amareladas, tornando-se lesões maiores de coloração castanha formando anéis concêntricos, com centro necrótico, circundado por um halo amarelo, semelhante a um alvo, podendo atingir até 2 cm de diâmetro (Godoy *et al.*, 2016). A infecção e desenvolvimento da doença são favorecidos quando a temperatura fica entre 20 a 30 °C e umidade relativa do ar acima de 80% (Agrios, 2005).

Por ser um fungo necrotrófico e parasita não-obrigatório, o patógeno pode sobreviver em restos culturais, em sementes, em outras plantas hospedeiras de forma saprofítica (Godoy

*et al.*, 2016), ou em plantas alternativas não hospedeiras de forma epifítica (Onesirosan *et al.*, 1974).

Sabe-se que as doenças foliares são influenciadas diretamente pelas condições climáticas como o molhamento foliar, a umidade relativa do ar e temperatura, além da genética do hospedeiro e agressividade do patógeno (Bedendo *et al.*, 2018). Por isso a intensidade da mancha alvo varia a depender da safra, região do cultivo, época do ano e susceptibilidade dos cultivares plantadas. As estratégias de manejo recomendadas para controle de mancha alvo da soja compreendem o uso de fungicidas, a rotação de culturas, o plantio de sementes saudáveis, a eliminação de restos culturais e o uso de cultivares resistentes (Godoy *et al.*, 2018). O método de controle mais comumente utilizado é o uso de fungicidas oficialmente indicadas para o controle de mancha alvo. Atualmente 64 fungicidas comerciais são registrados para este fim no Brasil (Agrofit, 2020).

Para se conhecer o efeito de uma doença sobre uma população de plantas hospedeiras, é necessário conhecer elementos da sua epidemiologia, incluindo a origem do inóculo inicial, que pode ser de outras culturas. Por exemplo, *C. cassiicola* também afeta os cultivos de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), mas o papel dos cultivos de algodão e soja em sucessão na epidemiologia da doença em soja não é conhecido. Além disso, o conhecimento do processo monocíclico de uma doença, juntamente com os fatores que podem influenciar a duração do processo, permitem que os padrões epidemiológicos da doença sejam conhecidos, e seus efeitos determinados (Bergamin Filho *et al.*, 2018).

Desta forma, e tendo em consideração a carência de informações disponíveis na literatura sobre a doença no país, objetivou-se estudar a epidemiologia de mancha alvo da soja em duas regiões do Cerrado brasileiro, no Distrito Federal e estado da Bahia, onde ocorrem condições favoráveis ao desenvolvimento de mancha alvo da soja. Entre os objetivos

específicos estão: comparar a incidência, severidade e dinâmica de evolução da mancha alvo no Distrito Federal e Bahia, relacionando os parâmetros climáticos de cada região com o desenvolvimento da doença; comparar padrões de resposta dos cultivares de soja à mancha alvo nas duas regiões com características ambientais distintas; relacionar a severidade da doença às perdas de produtividade; verificar a reação cruzada de cultivares de soja e algodão à isolados provenientes de cada espécie hospedeira.

## **1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1. A Cultura da soja**

A soja (*Glycine max*) é considerada uma das mais antigas culturas agrícolas, tendo como centro de origem a região nordeste da China, onde os relatos de cultivo mais remotos conhecidos ficam entre os anos de 2.883 e 2.838 a.C. (Hymowitz, 1970). A partir de ancestrais rasteiros, a espécie evoluiu do cruzamento natural de espécies selvagens, que foram então domesticadas, e que, na época contemporânea, foram inicialmente melhoradas por cientistas chineses (Freire & Verneti, 1997). Ao final do século XV, a soja se tornou conhecida na Inglaterra, França e Alemanha, mas, somente no século XX seu potencial de cultivo foi descoberto no ocidente, especialmente nas Américas. Considera-se que a cultura foi introduzida nos Estados Unidos da América no início do século XVIII (Piper & Morse, 1923).

A introdução da cultura no Brasil se deu no ano 1882, no estado da Bahia. Em 1908 estas cultivares foram levadas para São Paulo. Porém, foi no estado do Rio Grande do Sul que inicialmente foram encontradas condições favoráveis ao desenvolvimento das cultivares disponíveis na época. Nessa região, as primeiras pesquisas em soja foram realizadas nas décadas de 1960-70 e com o sucesso dos programas de melhoramento, o cultivo de soja se

expandiu para as regiões Centro-Oeste e Norte do país (Bonetti, 1981). As primeiras lavouras comerciais no sul do país surgiram em 1960 em sistema de rotação de culturas, principalmente com trigo, cevada e aveia, atendendo também a uma maior demanda mundial de produção de óleo e proteína, expandindo a cultura como potencial alimento energético e proteico (Mundstock & Thomas, 2005).

A região do Cerrado brasileiro se tornou a maior produtora nacional, propiciando que o Brasil se tornasse um dos maiores produtores mundiais do grão, em constante disputa com os Estados Unidos da América. Na safra de 2019/20 a área plantada foi de 36.944,9 mil hectares, um aumento de 3% em relação à safra anterior, atingindo uma produção de 120,9 milhões de toneladas de grãos de soja, crescimento de 5,1% em relação à safra 2018/2019, projetando o Brasil como o maior produtor mundial no ano de 2020 (CONAB, 2020). Outros importantes produtores são os EUA, Argentina e China, com previsão de safra de 96,7, 50,0 e 18,1 milhões de toneladas em 2020, respectivamente (USDA, 2020).

A soja é uma planta herbácea, pertencente à família Fabaceae, gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* (L) Merril. É uma cultura anual, possui ciclo de vida variável de 70 a 200 dias, dependendo da cultivar, e fenologia compreendida em dois estádios: vegetativo e reprodutivo. Possui hábito de crescimento ereto a prostrado do tipo determinado, indeterminado ou semideterminado. A pubescência das hastes e vagens pode ter coloração cinza ou marrom e a flor pode ser branca ou roxa (Matsuo *et al.*, 2015a). As cultivares são classificadas de acordo com seu ciclo de vida em superprecoce, precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio, o que pode variar de acordo com a latitude da região onde foi plantada, em razão do fotoperíodo (EMBRAPA, 2014).

Os grãos de soja possuem cerca de 40% de proteína e 20% de óleo, características que fazem da cultura uma das mais importantes matérias-primas da alimentação humana, de rações animais, produção de biodiesel, cosméticos, entre outros. Noventa por cento do óleo

vegetal produzido no Brasil é de soja, seguido do algodão com 4,5% (Bezerra *et al.*, 2015). Segundo a ABIOVE (Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais), a produção de óleo de soja no Brasil alcançou 8,79 mil toneladas e 5,9 milhões de m<sup>3</sup> de biodiesel no ano de 2019.

A produtividade de soja depende de vários fatores, como a época de plantio, espaçamento, fotoperíodo e disponibilidade de nutrientes, entre outros. Entretanto, dentre os mais importantes determinantes da produtividade está a incidência de doenças (Mundstock & Thomas, 2005). Estima-se que 15 a 20% das perdas ocorridas na cultura sejam devidas ao ataque de fitopatógenos (Godoy *et al.*, 2016), havendo doenças que podem ocasionar perdas de até 100% em lavouras isoladas. Dentre aproximadamente 40 doenças causadas por agentes fitopatogênicos distintos já identificados em soja no Brasil, a mancha alvo pode causar perdas de até 42% (Edwards Molina *et al.*, 2019a). A importância econômica de cada doença varia a cada safra, de acordo com as condições climáticas sofridas e a região de cultivo (Godoy *et al.* 2016).

Segundo Matsuo *et al.* (2015b) as doenças mais comuns causadas por fungos que ocorrem na cultura da soja são a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), oídio (*Microspheera difusa*), mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), mancha-púrpura (*Cercospora kikuchii*), mancha parda (*Septoria glycines*), podridão radicular de *Phytophthora* (*P. sojae*), mancha alvo (*Corynespora cassicola*), antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e podridão de carvão (*Macrophomina phaseolina*).

## **1.2. Etiologia de mancha alvo**

A mancha alvo da soja é causada por um fungo pertencente ao filo Ascomycota classe dos Dothideomycetes, ordem Pleosporales e família Corynesporascaceae, gênero *Corynespora*. Foi descrito primeiramente como *Helminthosporium cassicola* por Berk &

M.A. Curtis (1868), e reclassificado para *Corynespora cassiicola* por C.T. Wei (1950). É a única espécie do gênero *Corynespora* patogênica à cultura da soja. A fase sexual de *C. cassiicola* é desconhecida, encontrando-se apenas a formação de conídios.

É considerada uma espécie cosmopolita, facilmente encontrada nos trópicos e subtropicais em todo o mundo, e polífaga, capaz de infectar mais de 408 hospedeiros (Farr & Rosmann, 2020), dentre eles algumas espécies vegetais de importância econômica como o algodão (*Gossypium hirsutum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), pepino (*Cucumis sativus*) e soja (*Glycine max*) (Sumabat *et al.*, 2018). Além do Brasil, *C. cassiicola* já foi encontrado em soja na Argentina (Ploper & Ramallo, 1988), Bolívia (Sautua *et al.*, 2020), Brunei (Peregrine & Ahmad, 1982), Camboja (Litzenberger *et al.*, 1962), Canadá (Ginns, 1986; Richardson, 1990), China (Richardson, 1990; Wei, 1950; Gao *et al.*, 2018), Coreia (Cho & Shin, 2004), Estados Unidos (Sherwin, 1952; Kilpatrick & Johnson, 1953; Boosalis & Hamilton, 1957; Parris, 1959; Alfieri Jr. *et al.*, 1984; Hansen *et al.*, 1994; Raffel *et al.*, 1999; Sumabat *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2018), Fiji (Firman, 1972; Dingley *et al.*, 1981), Guam (Dixon *et al.*, 2009; Sumabat *et al.*, 2018), Índia (Sarbhoy *et al.*, 1971; Pande & Rao, 1998), Japão (Gao *et al.*, 2018), Nicarágua (Delgado, 2011) e Venezuela (Urriaga, 2004).

O fungo apresenta diversidade morfológica, a variar dependendo do substrato onde foi coletado. Os esporos assexuais (conídios) retirados de tecido vegetal são referências morfológicas. Os conidióforos são melanizados, lisos e septados. A conidiogênese é blástica anelídica, e os conídios são formados isoladamente ou conectados em série. Possuem pigmentação, variando de sub-hialinos a preto-esverdeado, com dimensões que entre 400 a 500 µm de comprimento por 10 a 20 µm de largura, e de 4 a 20 septos transversais. O hilo é mais espesso e mais escuro que o restante do conídio (Ellis, 1957). A forma do conídio pode ser obclavada, cilíndrica ou oval podendo ser curvo ou retilíneo (Qi *et al.*, 2011). Oliveira *et*

al. (2012) encontraram formação de clamidósporos “*in vitro*” em *C. cassiicola* isolado de pepino, *Lantana camara*, acerola (*Malpighia glabra*) e *Vernonia cinerea*.

*C. cassiicola* tem crescimento rápido em diversos meios de cultura, sendo mais comumente utilizados os meios BDA (batata-dextrose-ágar), Czapek e V8. Melo & Reis (2010) estudaram a influência de diferentes substratos e regimes de luz, e a sobreposição de papel filtro como fator de estresse, para a esporulação de *C. cassiicola*, concluindo que, a maior esporulação ocorreu em substrato Czapek, com fotoperíodo de 12 h e submetidos ao estresse, porém sem diferença significativa do substrato BDA, nas mesmas condições. Esses fatores foram confirmados por Mello *et al.* (2018) sendo o estresse mecânico e o fotoperíodo fatores que alteraram significativamente a esporulação, atendendo padrões específicos de cada isolado. Entretanto, foi ressaltado que o maior crescimento micelial não necessariamente condiz com uma maior produção de esporos. A temperatura ótima para o crescimento micelial e esporulação foi determinada como de  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , com fotoperíodo de 12 h. Segundo Teramoto *et al.* (2013), 85% de conídios apresentam germinação quando há período de molhamento contínuo de 5 a 20 horas. As temperaturas mínimas e máximas para o crescimento micelial *in vitro* são de  $5\text{-}7\text{ °C}$  e  $34\text{-}39\text{ °C}$ , respectivamente (Sinclair, 1982).

As colônias do fungo são de coloração variável. De acordo com Mesquini (2012) diferentes isolados de soja cultivados em meio BDA por 8 dias, apresentaram diferenças morfológicas, como taxa de crescimento micelial e coloração de colônia. Ellis & Holliday (1971) relataram colônias inicialmente brancas em meio de cultura, progredindo para um cinza escuro e tornando-se mais tarde um emaranhado preto oliváceo. Sousa & Bentes (2014) observaram grande variabilidade na coloração das colônias entre isolados do mesmo hospedeiro, entre isolados de hospedeiros diferentes e entre diferentes meios de cultura.

Apesar da grande quantidade de hospedeiros, não são relatados táxons subespecíficos dentro da espécie *C. cassiicola*. Estudos sobre linhagens filogenéticas são realizados para

relacionar a especificidade e patogenicidade dos isolados do patógeno entre os hospedeiros. Furukawa *et al.* (2008) relataram limitações entre a patogenicidade de um isolado e a origem dos isolados, pois isolados de um mesmo hospedeiro podem apresentar perfis de patogenicidade distintos.

Dixon *et al.* (2009) analisaram 143 isolados de *C. cassiicola*, obtidos de 68 espécies hospedeiras de diferentes regiões do mundo, baseando em quatro *loci* (GAA4, CAA5, rDNA ITS e ACT1), evidenciando alta diversidade genética, separando os isolados em seis linhagens filogenéticas clonais baseadas em patogenicidade, hospedeiro e distribuição geográfica. O estudo identificou que os isolados de um mesmo hospedeiro, coletados em regiões geográficas distintas, compartilharam haplótipos idênticos, demonstrando certo grau de especificidade ao hospedeiro. Em outro estudo mais recente, Sumabat *et al.* (2018) agruparam os isolados de algodão dos Estados Unidos e isolados de soja e algodão do Brasil em um mesmo clado da linhagem filogenética PL1, os quais se diferenciaram dos isolados de tomate, pimenta, e jasmim (*Mandevilla*) pertencente à linhagem PL4, e de outros hospedeiros que compuseram as demais linhagens. Os testes de patogenicidade demonstraram que os isolados tendem a ser mais agressivos quando inoculados em seus hospedeiros de origem, entretanto, os isolados de soja foram igualmente agressivos em soja, tomate e algodão. Galbieri *et al.* (2014) realizaram a patogenicidade cruzada de três isolados *C. cassiicola* oriundos de algodão e dois isolados oriundos de soja em seis cultivares distintas de cada cultura, e, analisando os padrões de banda por ERIC/REP-PCR, conseguiram demonstrar que apesar de ambos os isolados serem patogênicos às duas culturas, pode existir uma diferença genotípica entre eles, porém mínima. Tal resultado indica que a mesma cepa de *C. cassiicola* presente no Brasil, pode infectar as duas espécies de plantas hospedeiras.

### **1.3. Mancha alvo da soja**

O primeiro relato de mancha alvo da soja no Brasil foi descrito por Almeida *et al.* (1976) nos estados do Paraná e de São Paulo. Posteriormente, a doença avançou para os estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, conforme Yorinori (1989). Alguns anos mais tarde a doença já havia sido encontrada em todas as regiões produtoras de soja no país. Por muitos anos, a mancha alvo foi considerada como doença secundária para a soja, por ser observada no fim do ciclo da cultura, atacando folhas baixas, em baixa incidência e severidade, sem ocasionar perdas significativas à produtividade (Yorinori *et al.* 1993).

O melhoramento genético de cultivares buscando aumento da produtividade e resistência a outras doenças (negligenciando doenças ditas secundárias) contribuiu para a seleção e plantio de cultivares suscetíveis à mancha alvo durante as consecutivas safras. O aumento da severidade observada ao longo dos anos também pode ter sido favorecido pelo uso repetitivo das mesmas moléculas de fungicidas (Godoy *et al.*, 2017). A ascensão do plantio direto, onde os restos de culturas ficam sobre o solo por safras consecutivas, disponibilizou aos fungos necrotróficos substrato constante, consequentemente proporcionando que estes sobrevivessem em períodos desfavoráveis, resultando no gradual aumento do inóculo inicial em campo (Baird *et al.*, 1997). Finalmente, o aumento da área cultivada com outras culturas suscetíveis, como o algodão, favorecendo o aumento do inóculo, também é uma condição a ser considerada. Estes fatores contribuíram para um aumento da mancha alvo nas últimas safras nas principais regiões produtoras de soja do país, desde as regiões frias do Sul até as chapadas do Cerrado (EMBRAPA, 2014) onde as perdas podem atingir de 8 a 40,5% da produção em cultivares suscetíveis (Koenning *et al.*, 2006). Edwards Molina *et al.* (2019a) apontam a mancha alvo da soja como doença de importância intermediária pelo coeficiente de dano geral de  $0,48 \%^{-1}$ , que pode ser comparado ao coeficiente de dano da ferrugem asiática da soja de  $0,6$  a  $0,73 \%^{-1}$  (Dalla Lana *et al.*, 2015).

Segundo (Godoy *et al.*, 2016) o inóculo inicial em campo pode ocorrer pela sobrevivência saprofítica em restos culturais (Kingsland 1986), por hospedeiros alternativos, pelo uso de sementes contaminadas e pela disseminação aérea. Onesirosan *et al.* (1974) encontraram isolados do fungo causador de mancha alvo em plantas não hospedeiras sem sintomas, ou seja, incapazes de causar doença, descrevendo a capacidade epifítica de sobrevivência deste patógeno.

No momento de infecção, o esporo emite o tubo germinativo que permite a penetração nas células do hospedeiro. Este processo é diretamente influenciado pelas condições climáticas, onde o molhamento foliar contínuo de 48 h e temperatura entre 18 e 32 °C induz ao aumento de severidade da doença, conforme mostrado por Mesquini (2012). O tempo entre a infecção e o aparecimento de sintomas, chamado de período de latência, é de aproximadamente 5 a 7 dias, em 20 a 30 °C e umidade superior a 80%, condições favoráveis para o desenvolvimento de doenças fúngicas descrito por Agrios (2005), propiciando também o aparecimento de sintomas nas folhas.

Como patógeno necrotrófico, o fungo libera a toxina “*cassiicolin*” durante o processo de colonização dos tecidos do hospedeiro (Déon *et al.*, 2012), matando as células adjacentes às de infecção e posteriormente, alimentando-se dos nutrientes retirados das células mortas. Os sintomas são mais comumente encontrados nas folhas baixas podendo ocorrer em outras partes da planta, como caules, ramos, flores e vagens, independente do estágio fenológico da cultura. Em cultivares suscetíveis e com alta pressão de inóculo, o patógeno pode atacar também os terços médio e superior da planta. Os sintomas iniciais são caracterizados por pequenas pontuações amareladas, tornando-se lesões maiores de coloração castanha formando anéis concêntricos, com centro necrótico, circundado por um halo amarelo, semelhante a um alvo, podendo atingir até 2 cm de diâmetro. Suas características podem variar de acordo com a cultivar e com o padrão de suscetibilidade.

Conforme a doença se desenvolve em um tecido da espécie hospedeira, ocorrem repetidos ciclos de infecção em um processo policíclico (ou de doenças de “juros compostos” *sensu* VanderPlank, 1963), através da repetida produção e liberação dos esporos, produzidos em maior quantidade na parte abaxial das folhas. A dispersão dos esporos é passiva, facilitada pela ação do vento e gotas de chuva (Godoy *et al.*, 2016).

A redução na produtividade em soja causada pela mancha alvo pode atingir até 42% (Edwards Molina *et al.*, 2019a). Nos EUA, Hartwig (1959) relatou perdas de 18 a 32% na produção. As estimativas mais recentes no estado americano da Florida projetaram perdas de 20 a 40% (Koenning *et al.*, 2006).

#### **1.4. Efeito dos fatores ambientais na epidemiologia da mancha alvo**

Para que se ocorra uma doença, é necessária que haja a interação de um patógeno virulento com um hospedeiro suscetível submetido às condições ambientais e climáticas favoráveis. Esses fatores compõem o triângulo da doença: o patógeno, o hospedeiro e o ambiente, distribuídos cada um em uma face (Agrios 2005). Bedendo *et al.* (2018) explicam que destes fatores, o ambiente é considerado o mais importante no decorrer do ciclo da cultura, por apresentar alterações frequentes. Desta forma o ambiente é normalmente, o regulador das epidemias, mesmo se o patógeno virulento e o hospedeiro suscetível estiverem presentes. Alguns fatores ambientais variáveis que podem relacionar-se com o desenvolvimento da doença incluem a temperatura, a umidade, a luz, o vento, o pH do solo, a nutrição da planta, entre outros.

Sabe-se que as doenças foliares causadas por fungos são altamente influenciadas pelos fatores ambientais e climáticos, pois a maioria dos patógenos necessita de água livre na superfície foliar para a germinação e penetração no hospedeiro (Zadoks & Schein, 1979). Os parâmetros monocíclicos, que são determinados no período compreendido no lapso temporal

de um único ciclo de infecção, como o período de incubação, período latente e período infeccioso, são fortemente influenciados pela temperatura e umidade relativa do ar (Bergamin Filho *et al.*, 2018). Mesquini (2012) relaciona o aumento de sintomas de mancha alvo em soja proporcionalmente ao aumento do período de molhamento foliar, atingindo nível máximo de severidade em 48 h e ausência de sintomas quando não há molhamento foliar. Mendonça *et al.* (2012) relatam o aumento de severidade da doença em tomate e pepino nas temperaturas de 20 a 32 °C, umidade superior a 80% e período de molhamento foliar entre 16 a 44 h.

Os componentes monocíclicos, como a temperatura de desenvolvimento e o molhamento foliar que favorecem a infecção e desenvolvimento de mancha alvo da soja, foram avaliados por Mesquini (2012), onde a temperatura ideal encontrada para o desenvolvimento da doença foi de 18 a 32 °C, sendo que este parâmetro influenciou diretamente a severidade da doença. Porém, neste estudo, as condições climáticas não foram favoráveis ao aparecimento da doença, dificultando seu desenvolvimento.

### **1.5. Quantificação de perdas de produção**

Um importante aspecto do estudo de um patossistema é a análise dos possíveis danos que uma doença pode ocasionar a um determinado hospedeiro. A severidade de uma doença, ou seja, a porcentagem do tecido do hospedeiro danificado é proporcionalmente relacionada ao rendimento final de uma cultura. Todavia, essa relação de severidade da doença e produtividade pode não ser direta e facilmente demonstrável, devido a outros fatores que também afetam a produção, como os edafoclimáticos, nutricionais, entre outros. Bergamin Filho *et al.* (2018) relatam que para as culturas que possuem hábito de crescimento indeterminado, como algumas cultivares de soja, a relação entre severidade e produtividade é prejudicada, pois o número de folhas não é fixo, sendo a produtividade altamente dependente da área fotossintetizante. Para a quantificação da severidade da mancha alvo da soja, Soares *et*

*al.* (2009) desenvolveram uma escala diagramática composta de sete níveis que variam 1, 2, 5, 9, 19, 33 e 52%. Esta escala será utilizada para quantificação de doença neste trabalho.

## **1.6. Controle da mancha alvo**

As doenças foliares são especialmente favorecidas pelas condições climáticas, principalmente o período de molhamento foliar, umidade do ar e temperatura, fatores que também podem dificultar seu controle. Para a mancha alvo, dentre as formas mais indicadas de controle estão a aplicação de fungicidas e o plantio de cultivares resistentes. Entretanto, foi com o surgimento da ferrugem asiática da soja em 2001, que o programa de controle químico para a cultura da soja foi estabelecido, compreendendo primeiramente os fungicidas dos grupos dos triazóis, estrobilurinas e clorotalonitrilas (Rupe & Sconyers, 2008). Atualmente, os fungicidas aplicados na cultura da soja pertencem aos grupos metil benzimidazol carbamato - MBC (carbendazim), inibidores da desmetilação - DMI (protioconazol, epoxiconazol e tebuconazol); inibidores de quinona externa - QoI (trifloxistrobina, piraclostrobina, azoxistrobina), inibidores da succinato desidrogenase - SDHI (fluxapiróxade e bixafen), ditiocarbamato (mancozebe), inorgânico (oxicloreto de cobre) e cloronitrila (clorotalonil) (Godoy *et al.*, 2018). A rotina de aplicações fungicidas contra a ferrugem tem um grande efeito no controle da mancha alvo. Por outro lado, o uso contínuo das mesmas moléculas de fungicida pode induzir uma redução de sensibilidade do patógeno, e conseqüentemente, ao estabelecimento endêmico da doença em uma região (Xavier *et al.* 2013). Até o momento, não se conhece nenhum amplo estudo da reação dos isolados de *C. cassicola* de soja nacionais aos princípios ativos fungicidas mais empregados na cultura.

Godoy *et al.* (2017) em estudos recorrentes a cada safra no Brasil, apresentaram uma maior eficiência de fungicidas com misturas duplas e triplas dos grupos de moléculas unissítio, quando comparada à eficiência do uso de fungicida multissítio isoladamente. A

produtividade também pôde ser relacionada com a eficiência de controle dos fungicidas, apresentando um incremento de 16% sobre o tratamento controle sem a utilização de controle químico. Em um estudo mais recente, Edwards Molina *et al.* (2019b) encontraram baixa eficácia dos fungicidas carbendazim e alta eficácia dos fungicidas contendo fluxapiraxade (SDHI) e piraclostrobina (QoI). Atualmente no Brasil, são registrados 64 fungicidas comerciais para o controle de mancha alvo para a cultura da soja, sendo destes 27 combinações de moléculas dos grupos triazol (DMI – inibidores da demetilação), estrobilurina (QoI), ditiocarbamato, benzimidazol, carboxamida (SDHI), anilida e oxicloreto de cobre (Agrofit, 2020). Também são recomendadas estratégias complementares e integradas de manejo de mancha alvo, como a rotação ou sucessão de culturas não hospedeiras, a eliminação de restos culturais principalmente de plantas daninhas hospedeiras, como a trapoeraba (*Commelina benghalensis*) (Dixon *et al.*, 2009) e o tratamento de sementes.

Quando se trata da utilização do controle genético de doenças de plantas, o tipo de resistência genética divide-se, *grosso modo*, em resistência raça específica (vertical, *sensu* VanderPlank, 1963), geralmente de grande efeito, e resistência não-raça específica (horizontal, *sensu* VanderPlank, 1963), geralmente incompleta ou parcial (Camargo, 2018). Entretanto, visto que ainda não foram descritas raças de *C. cassiicola* em soja, apenas diferentes graus de resistência são exibidos pelas cultivares de soja, ou seja, cultivares mais suscetíveis apresentam níveis mais severos da doença que as resistentes, para qualquer isolado do patógeno. De modo geral, estas cultivares mais suscetíveis tendem a apresentar redução de produtividade em função da maior severidade de ataque de *C. cassiicola*.

O melhoramento genético de soja no Brasil durante os últimos anos buscou resistência a patógenos considerados de importância primária, como cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum*), podridão de fitóftora (*Phytophthora sojae*), nematoides do cisto (*Heterodera glycines*) e das galhas (*Meloidogyne* spp.). Segundo Silva *et al.* (2008) ao negligenciar as

doenças ditas secundárias, esta estratégia de melhoramento pode ter impactado no aumento de cultivares suscetíveis à mancha alvo. Teramoto *et al.* (2013) avaliaram a reação de 12 cultivares de soja inoculadas com seis isolados de *C. cassiicola* oriundos de regiões distintas, em casa de vegetação e campo, demonstrando variação da severidade da doença em função do isolado, cultivar e condição de cultivo. Esse estudo demonstra que o grau de resistência pode ser variável tanto pela especificidade de cada cultivar, quanto pela variabilidade genética do patógeno, ou do ambiente.

Outro aspecto ainda não totalmente esclarecido na epidemiologia da doença no país relaciona-se com a origem da fonte de inóculo e o papel da rotação e sucessão de culturas suscetíveis. Finalmente, apesar de não terem sido encontrados sintomas de mancha alvo em monocotiledôneas, existe uma hipótese sobre a sobrevivência do agente causal de forma saprofítica nos restos de culturas das espécies vegetais utilizadas como cobertura no plantio direto (Smith, 2008).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção de isolados de *Corynespora cassiicola***

Dez isolados de *C. cassiicola* oriundos de soja, provenientes de diferentes safras dos estados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Paraná, Pará, Roraima, Tocantins e Maranhão, foram cedidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA SOJA. Informação detalhada sobre os isolados estudados é apresentada na Tabela 1.

Adicionalmente, foram coletados neste trabalho isolados de algodão para estudo comparativo. Folhas de algodão contendo sintomas de mancha alvo foram coletadas durante a safra de 2018/2019 nas cidades de Campo Verde, Campo Novo do Parecis, Chapadão do Sul, Primavera do Leste, Sapezal e Sorriso no estado do Mato Grosso e em Planaltina, Distrito

Federal (Tabela 1). As folhas foram primeiramente armazenadas em forma de exsicatas e examinadas no Laboratório de Micologia da Universidade de Brasília/DF, com auxílio de lupa estéreo microscópica. A partir da observação de lesões características de mancha alvo, conidióforos de *C. cassicola*, foram coletados através do isolamento direto do patógeno, e colocados em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar), armazenados em seguida em câmara incubadora tipo BOD por sete dias a 25 °C ±1 °C, e fotoperíodo de 12 h.

**Tabela 1.** Isolados de *Corynespora cassicola* oriundos de plantas de soja e algodão, de diversas safras e regiões do Brasil.

<b>Código do isolado</b>	<b>Local de Coleta</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Hospedeiro</b>
<b>CMES 1983</b>	Macaraju, MS	30/01/2018	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 2010</b>	Diamantino, MT	06/02/2018	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 2056</b>	Montividiu, GO	23/01/2018	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 1527</b>	Toledo, PR	01/02/2015	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 2235</b>	Ibiporã, PR	25/01/2019	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 1315</b>	Paragominas, PA	22/03/2012	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 1428</b>	Bonfim, RR	27/08/2013	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 1551</b>	Porto Nacional, TO	14/03/2014	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>CMES 1308</b>	São Raimundo das Mangabeiras, MA	18/02/2013	Soja ( <i>Glycine max</i> )
<b>UnB 2132</b>	Sorriso/MT	27/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2147</b>	Campo Novo do Parecis/MT	23/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2155</b>	Primavera do Leste/MT	21/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2133</b>	Sorriso/MT	27/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2137</b>	Campo Verde/MT	20/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2135</b>	Sapezal/MT	24/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2098</b>	Planaltina/DF	18/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2099</b>	Chapadão do Sul/MT	15/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2131</b>	Primavera do Leste/MT	21/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)
<b>UnB 2139</b>	Campo Verde/MT	20/05/2019	Algodão ( <i>Gossypium</i> sp.)

## 2.2. Purificação, multiplicação, conservação e identificação dos isolados

Os isolados de *C. cassicola* oriundos de soja e algodão foram purificados utilizando a técnica de “*hyphal tip*” onde as partes mais distais do micélio em relação ao centro da placa são retiradas e depositadas em novas placas com meio de cultura BDA, cultivadas por 7 dias. Para manutenção e conservação dos isolados até que se iniciasse o processo de produção de esporos, foram utilizadas três metodologias de armazenamento: (i) Cinco discos de micélio repicados da extremidade de cada placa foram adicionados em tubos de 2 mL contendo água esterilizada, conhecido como método de Castellani; (ii) outros cinco discos foram adicionados em tubos de 2 mL contendo água esterilizada e glicerol a 10%; (iii) e um outro disco foi adicionado em um tubo de 5 mL contendo meio MEA (malte-dextrose-ágar), onde após 7 dias foram adicionados óleo mineral Nujol até que o micélio fosse coberto (Gonçalves *et al.*, 2016). Os tubos foram então armazenados na Coleção de Culturas Micológicas da UnB, Brasília, DF, mantidas à 18 °C ±1°C.

Para o processo de identificação, foi retirado um disco de micélio de cada placa contendo o isolado fúngico e repicado para uma placa de Petri com meio BDA sobreposto com celofane esterilizado, e incubado nas mesmas condições por sete dias. O micélio produzido foi coletado com o auxílio de palitos de madeira esterilizados, e armazenado em microtubos de 1,5 mL contendo 30 µL de tampão Tris-EDTA. A extração de DNA foi realizada com o auxílio do kit de purificação Wizard Genomic DNA Purification (Promega Inc.) (Pinho *et al.*, 2012).

A verificação de identidade de cada isolado foi efetuada pela análise da reação de PCR utilizando primers iniciadores das regiões CAA5, GA4 e β-tubulina (Tabela 2) (Dixon *et al.* 2009).

**Tabela 2.** Primers iniciadores utilizados para a identificação dos isolados de *Corynespora cassicola* oriundos de soja e algodão.

Região gênica	Iniciador	Sequência 5'-3'	Sentido	Referência	Temperatura de anelamento	Tamanho do fragmento
<b>β-tubulina</b>	T1	AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT	Senso	O'Donnell & Cigelnik, (1997)	53 °C	1300 pb
	T22	TCT GGA TGT TGT TGG GAA TCC	Anti-senso	O'Donnell & Cigelnik, (1997)		
<b>GA4</b>	GA4-F	CCT GCT CCG ACT TTG TTG AG	Senso	Dixon <i>et. al</i> , (2009)	58 °C	~300pb
	GA4-R	GTC TGG GAG CAG CAA AGA CT	Anti-senso	Dixon <i>et. al</i> , (2009)		
<b>CAA5</b>	CAA5-F	GTC CAC AAG TGG AAC CTC GT	Senso	Dixon <i>et. al</i> , (2009)	58 °C	~300pb
	CAA5-R	CCT CGT CTG CCA GTT CTT CT	Anti-senso	Dixon <i>et. al</i> , (2009)		

Para cada reação de PCR foram utilizados os seguintes reagentes: 6,25 µL de MyTaq, 0,3 µL de cada primer, 1 µL de DNA genômico (25 ng/µL) e 4,25 µL de água milli-q. O programa utilizado para os primers foi de desnaturação inicial a 95°C por 1,5 minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 20 segundos, anelamento a 56 °C por 45 segundos, extensão a 72°C por 45 segundos, e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Em seguida, foi realizada a eletroforese em gel de agarose 2% para confirmar a pureza e tamanho dos fragmentos amplificados.

Os amplicons foram encaminhados para o sequenciamento na MacroGen Inc., Coreia do Sul (<http://www.macrogen.com>). Posteriormente, as sequências foram analisadas e corrigidas com o auxílio do programa MEGA7 e realizada a identificação através do “*Nucleotide BLAST*” (<https://blast.ncbi.nlm.nih.DFv/Blast.cgi>).

### 2.3. Produção de esporos para estudos de inoculação artificial

Os procedimentos para obtenção de esporos foram iniciados após a confirmação da identidade da espécie pela análise molecular dos isolados. Os isolados de soja e algodão foram reativados realizando a coleta de um disco de micélio armazenados em Castellani,

glicerol 10% e MEA, e transferidos para uma placa contendo meio BDA, incubados em BOD por sete dias com temperatura ajustada em 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. Repicou-se um disco de micélio para uma placa de Petri com meio BDA diluído com ágar, na proporção de 1:4. Após o período de incubação de sete dias, as colônias foram submetidas a estresse mecânico com o emprego de palitos de madeira esterilizados, que foram utilizados para raspagens de todo o micélio fúngico. Em seguida os isolados foram novamente incubados em BOD nas mesmas condições descritas acima e após três dias de incubação, o micélio foi lavado com 10 mL de água destilada e quantificado no microscópio óptico com o emprego de câmara de Neubauer, a fim de calibrar a suspensão de esporos para a concentração de  $5 \times 10^4$  esporos/mL, a qual foi utilizada nos procedimentos de inoculação “*in vitro*”.

#### **2.4. Determinação do período de latência e severidade da mancha alvo em cvs. de soja com diferentes padrões de resposta relatada à doença em condições controladas**

O desenvolvimento da doença foi acompanhado em dez cultivares de soja inoculados em ambiente controlado, selecionados seguindo relatos de padrões diversos de suscetibilidade ao patógeno (suscetível, moderada e resistente) e grupo de maturação, segundo a Tabela 3. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília (UnB), localizada a 15°44'13"S e 47°52'56"W a 1.010 metros de altitude em dois períodos: novembro de 2019 a março de 2020 (primavera-verão) e maio a julho de 2020 (outono-inverno).

As sementes foram tratadas com a mistura de fungicidas e inseticidas (Imidacloprido+Tiodicarbe; Carbendazim+Thiram; Fipronil), de acordo com as doses recomendadas pelos fabricantes. Antes da semeadura, foi adicionada uma dose de inoculante comercial à base de bactérias do gênero *Rhizobium* em cada cultivar, em seguida foram semeadas em sacos plásticos de 5 L contendo substrato vegetal e areia (4:1).

A cultivar CD 2827 IPRO, relatada como suscetível por produtores e extensionistas de soja foi utilizada como testemunha não inoculada. Aos 20 dias após o plantio (DAP) foi realizado desbaste em todos os tratamentos, deixando três plantas por vaso, compondo a unidade experimental. As plantas foram inoculadas utilizando um “pool” com dez isolados previamente identificados de *C. cassiicola* oriundos de soja (Tabela 1) aos 43 dias após a semeadura (DAP), cultivadas em condições semi-controladas (casa de vegetação sem cobertura) via aspersão da suspensão de esporos, na concentração de  $5 \times 10^4$  conídios/mL. As inoculações foram sempre efetuadas ao final da tarde, e as plantas inoculadas foram subsequentemente transportadas e mantidas em câmara úmida por 24 horas. Ao final deste período foram transportadas novamente à casa de vegetação sem cobertura. Os experimentos seguiram o delineamento experimental de blocos ao acaso com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por um vaso com 3 plantas.

**Tabela 3.** Relação das cultivares de soja, com respectivas respostas relatadas à mancha alvo e características agronômicas.

<b>Cultivar</b>	<b>Padrão de resposta à mancha alvo</b>	<b>Grupo de maturação</b>	<b>Tipo de Crescimento</b>
Testemunha não inoculada <sup>a</sup>	Suscetível	8.2	Determinado
C 2830 IPRO	Moderado	8.3	Determinado
CD 2827 IPRO	Suscetível	8.2	Determinado
TEC 7548 IPRO	Moderado	7.5	Indeterminado
CD 2737 RR	Suscetível	7.3	Indeterminado
C 2834 IPRO	Moderado	8.2	Determinado
C 2811 IPRO	Moderado	8.1	Determinado
M 7739 IPRO	Moderado	7.7	Semi-determinado
TEC 7022 IPRO	Resistente	7.0	Indeterminado
BONUS 8579 RSF IPRO	Resistente	7.9	Indeterminado
C 2818 IPRO	Suscetível	7.9	Indeterminado

<sup>a</sup> Foi utilizada a cultivar CD 2827, dada como suscetível à mancha alvo como testemunha não inoculada com *Corynespora cassiicola*.

Os parâmetros avaliados foram (Bergamin Filho *et al.*, 2018): (i) período de latência do primeiro ciclo doença, ou seja, do período de inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas; e a (ii) severidade da doença medida de acordo com a escala diagramática de Soares (2009). Para seguir a metodologia imposta pela escala diagramática, a nota de severidade foi dada ao folíolo que apresentava a maior quantidade de doença em cada repetição.

A avaliação de período de latência foi realizada apenas uma vez em cada experimento, enquanto as avaliações de severidade foram realizadas semanalmente, desde o aparecimento dos primeiros sintomas por um período de um mês.

## **2.5. Epidemiologia comparada de mancha alvo em cultivares de soja em duas regiões produtoras**

Dois ensaios de campo foram conduzidos em duas regiões com características edáficas e climáticas distintas, a fim de comparar o desenvolvimento de mancha alvo em duas regiões produtoras no Cerrado. O primeiro ensaio foi instalado nos campos experimentais do Instituto Phytus localizado a 15°40'06"S e 47°20'15"W a 887 m de altitude, município de Planaltina, estado do Distrito Federal; e o segundo na Fazenda Savana, localizada a 11°39'20"S e 45°35'09"W a 777 m de altitude, no município de Luís Eduardo Magalhães, estado da Bahia. Os locais foram escolhidos baseando-se na diferenciação de clima existente entre as duas regiões, principalmente a precipitação, umidade do ar e temperatura média.

O plantio em Planaltina/DF foi realizado em 16 de dezembro de 2019, e o de Luís Eduardo Magalhães/BA em 13 de janeiro de 2020. As datas de plantio foram escolhidas de acordo com o regime de chuvas prevalente na safra de 2019/2020. A população média de plantas seguiu a indicação dos portfólios das companhias proprietárias das cultivares.

O delineamento experimental utilizado, em ambos os experimentos, foi o de parcela subdividida, onde as 10 cultivares (Tabela 3) compuseram o fator A (parcela principal), e a

aplicação de fungicida o fator B1 e a não-aplicação de fungicida o fator B2 (subparcelas). O experimento foi em blocos ao acaso, com três repetições e 20 tratamentos combinados. Cada parcela foi composta de 5 linhas de 12 m de comprimento e espaçamento de 0,5 m entre linhas, totalizando uma área de 900 m<sup>2</sup> por experimento (Figura 1, Anexo). Os tratamentos foram subdivididos, onde nos primeiros 6 metros de cada linha (subparcela B1) foram aplicadas mistura de fungicidas Trifloxistrobina + Protioconazol + Bixafem (Fox XPRO®) e Mancozeb (Unizeb DFId®) aos 45 DAE (dias após a emergência), seguida de uma aplicação após 10 dias de Epoxiconazol + Fluxapirroxade + Piraclostrobina (Ativum®) e Clorotalonil (Previnil®), outra aplicação após 10 dias de Trifloxistrobina + Protioconazol + Bixafem (Fox XPRO®) e Mancozeb (Unizeb DFId®), e após 10 dias outra de Picoxistrobina + Tebuconazol + Mancozebe (Cronnos®). Na subparcela B2, foram realizadas quatro aplicações do fungicida Azoxistrobina + Benzovindiflupir (Elatus®), nas mesmas datas das aplicações da subparcela B1, para a prevenção do aparecimento de ferrugem asiática da soja, visto que o a molécula Azoxistrobina apresenta baixa eficiência no controle de mancha alvo (Edwards Molina *et al.*, 2019b).

Os tratamentos (cultivares) foram: CD 2827 IPRO (Brevant Sementes–Corteva®); M7739 (Monsoy–Monsanto®); BMX BÔNUS IPRO (BRASMAX Genética®); TEC 7548 IPRO (BASF®) A; TEC 7022 IPRO (BASF®); CD 2737 RR (Brevant Sementes-Corteva®); C2811 IPRO (Cordius-Corteva®); C2818 IPRO (Cordius-Corteva®); C2834 IPRO (Cordius-Corteva®); C2830 IPRO (Cordius-Corteva®), nas combinações sem fungicida (A) ou com fungicida (B).

As avaliações foram realizadas nas três linhas centrais com 5 m de comprimento, descartando-se uma linha lateral de cada extremidade e 0,50 m de comprimento de cada lado de bordadura em cada subparcela, totalizando uma área útil de 450 m<sup>2</sup> por experimento.

As avaliações de severidade e incidência de mancha alvo foram realizadas semanalmente após o surgimento dos primeiros sintomas nos dois locais de plantio. Para avaliação, seis plantas de cada subparcela foram marcadas com fita colorida e avaliadas no terço médio e inferior. Esta metodologia proporcionou a localização das plantas e que as mesmas folhas fossem avaliadas em todo o período do ensaio. A incidência foi quantificada através do número de folhas doentes dividido pelo número de folhas totais, multiplicados por cem, indicando a porcentagem de folhas doentes em cada planta marcada. Os dados de severidade foram coletados no folíolo que apresentava sintomas mais severos de acordo com a escala diagramática proposta por Soares *et al.* (2009). As avaliações iniciaram a partir do aparecimento dos primeiros sintomas e posteriormente espaçadas a cada 15 dias.

Dados climáticos de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar foram coletados durante todo o período de realização dos experimentos. Os dados de temperatura, umidade do ar e ponto de orvalho no dossel das plantas foram coletados utilizando registros de estações meteorológicas e termo higrômetro modelo HOBO® MX 2301A. Os dados de precipitação foram coletados da estação meteorológica localizada no Instituto Phytus para o experimento de Planaltina, DF, e adquiridos no Banco de Dados Meteorológicos do INMET (<https://bdmep.inmet.DFv.br/>) para o experimento de Luís Eduardo Magalhães, Bahia.

Após a colheita, foi quantificada a produtividade total e o peso de mil sementes (PMS) de cada subparcela, em ambos os experimentos.

## **2.6. Patogenicidade cruzada de isolados de soja e algodão**

Os isolados de *C. cassicola* oriundos de soja cedidos pela Embrapa e os isolados de algodão coletados de diferentes localidades brasileiras (Tabela 1) foram testados em cultivares de soja e algodão para verificar a respectiva patogenicidade (capacidade de causarem doença) e agressividade (quantidade de doença) em cada uma das espécies vegetais.

Os testes de patogenicidade cruzada foram conduzidos em casa de vegetação na Estação Biológica da UnB, Brasília/DF, durante os meses de junho a agosto/2020 (outono/inverno). A cultivar CD 2737 IPRO foi utilizada como padrão suscetível para mancha alvo da soja, e a cultivar FM 975 WS de algodão foi utilizada como suscetível a mancha alvo do algodão.

A semeadura se deu em sacos plásticos de 5 L contendo substrato vegetal e areia (4:1). O experimento contou com seis tratamentos e cinco repetições, com delineamento inteiramente casualizado, sendo estes: CD 2737 IPRO inoculada com isolado de *C. cassicola* oriunda de soja, CD 2737 IPRO inoculada com isolado de *C. cassicola* oriunda de algodão, FM 975 WS inoculada com isolado de *C. cassicola* oriunda de soja, FM 975 WS inoculada com isolado de *C. cassicola* oriunda de algodão, compreendendo os tratamentos inoculados, e tendo como testemunhas plantas não inoculadas de CD 2737 IPRO e FM 975 WS.

Ao atingir V4, as plantas de soja e algodão foram desbastadas deixando três plantas por vaso, que consistiram em uma unidade experimental. A inoculação foi realizada no mesmo dia, utilizando um “pool” com dez isolados de *C. cassicola* oriundos de soja (Tabela 1), e outro com dez isolados oriundos de algodão (Tabela 2), respeitando-se a concentração de  $5 \times 10^4$  conídios/mL, mantidas em uma estufa úmida por 7 dias. Posteriormente, as plantas foram realocadas para um ambiente protegido, com o auxílio de umidificadores de ar para a suplementação de umidade. Os sintomas foram observados diariamente nos dias subsequentes à retirada da estufa úmida. Foram avaliados: (i) eficiência de infecção; (ii) severidade; e (iii) período de latência, utilizando a mesma metodologia empregada no experimento de determinação de parâmetros epidemiológicos de mancha alvo em soja.

## **2.7. Estimativa de perdas de produtividade associadas à mancha alvo**

Para estimar as perdas de produção associadas à mancha alvo, a produtividade (variável dependente) associada às cultivares plantadas em Planaltina, DF e Luiz Eduardo Magalhães,

BA foram correlacionadas com as respectivas severidades da doença aos 86 dias e às áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD, de acordo com Shaner & Finney,1977) (variáveis independentes). As produtividades por ha foram estimadas com base nas produções mensuradas nas parcelas úteis.

## **2.8. Análises estatísticas**

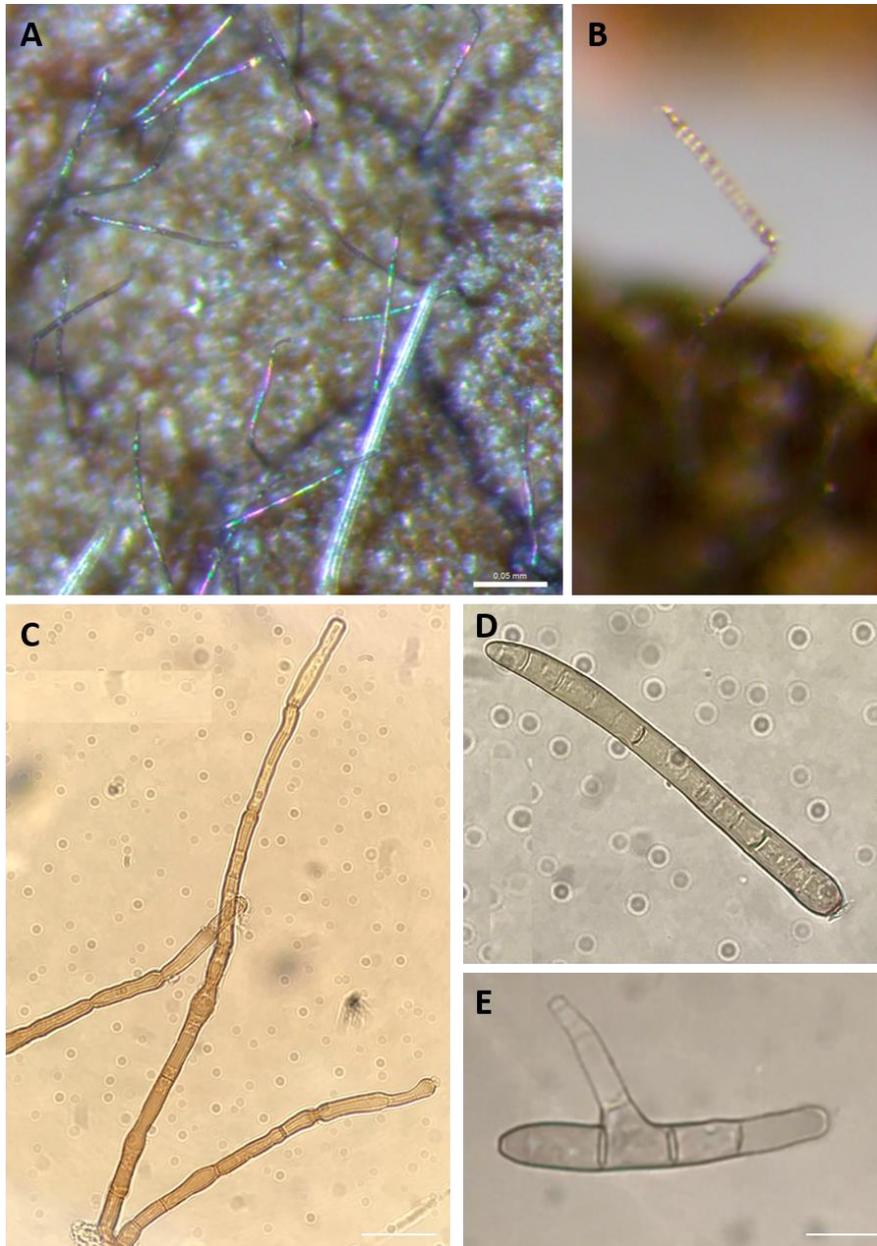
Para os dados obtidos de severidade, período de latência e eficiência de inóculo dos experimentos de casa de vegetação, os testes de distribuição normal de dados, análise de variância e comparação de médias foram realizados pelo método de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade através do programa IBM SPSS Statistics®. Os dados de severidade e incidência dos experimentos de campo foram transformados por arcseno para realização das análises de variância e teste de comparação de médias a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa estatístico SAS. As análises de correlação e regressão dos dados de produtividade e severidade foram feitas através do programa R®. Os gráficos foram produzidos através dos programas R e SigmaPlot® 14.0.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1. Identificação dos isolados**

As estruturas coletadas das folhas de algodão continham conidióforos pigmentados, eretos e em grande quantidade ao centro da lesão (Figura 1A) e conídios alongados, de maior espessura e localizados no ápice dos conidióforos (Figura 1B), quando observados em lupa estéreo microscópica. Em observação por microscopia de luz, os isolados apresentaram conidióforos eretos, longos, septados, hialinos ou pigmentados e com presença de cicatriz (Figura 1C), conídios do tipo fragmósporo com pseudoseptos de número variável (Figura

1D,E), características que estão de acordo com a descrição da espécie por Ellis (1957). Pela análise molecular, os isolados utilizados neste trabalho foram identificados como *Corynespora cassiicola* com média de identidade de nucleotídeos de 98%.

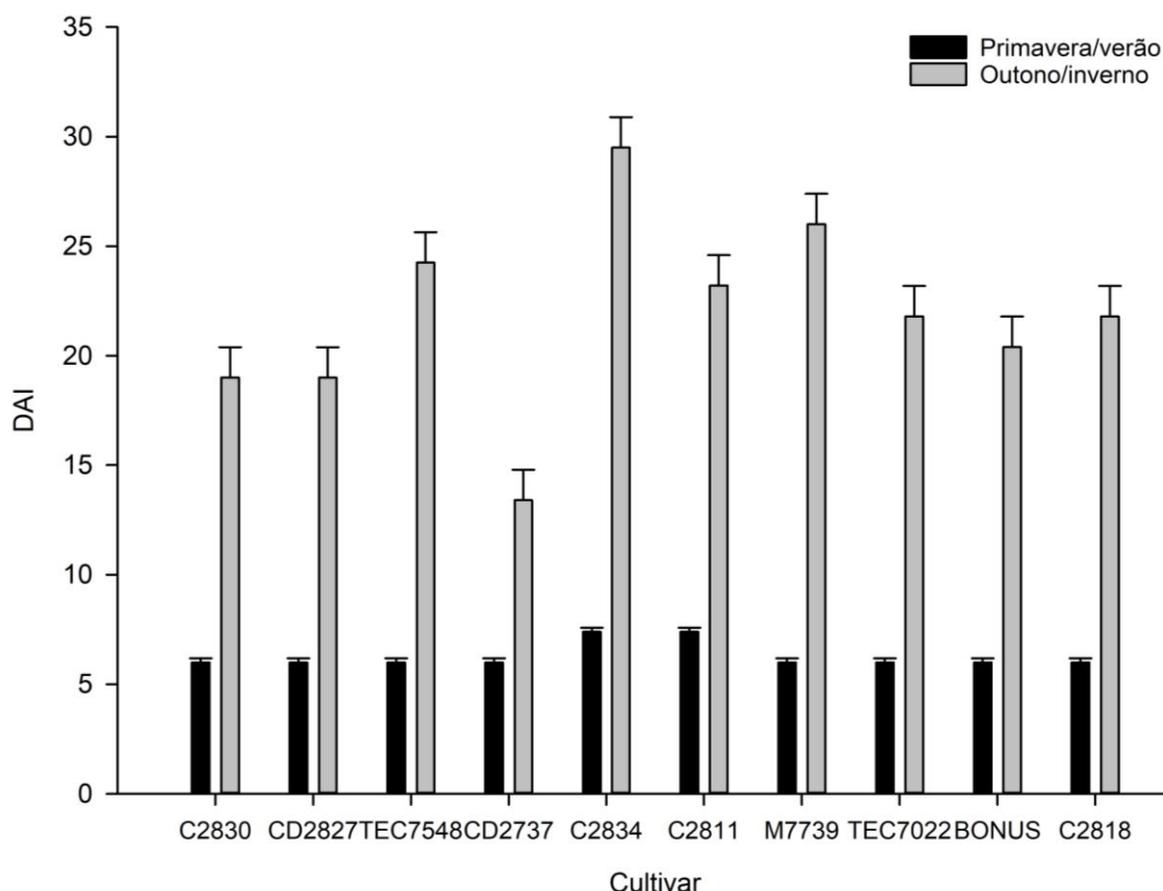


**Figura 1.** *Corynespora cassiicola* **A.** Conidióforos no centro da lesão, **B.** Conídio no ápice do conidióforo, **C.** Conidióforos, **D.** Conídio, **E.** Conídio emitindo tubo germinativo.

### **3.2. Determinação do período de latência e severidade da mancha alvo em cvs. de soja com diferentes padrões de resposta relatada à doença em condições controladas**

Maiores intensidades de doença foram verificadas no ensaio de primavera em comparação com o ensaio de outono. As condições climáticas ocorridas durante o ensaio de primavera/verão foram a principal causa para uma maior intensidade de mancha alvo em todos as cultivares. Durante esse período foram relatadas temperaturas que variaram de 15,3 °C a 39,9 °C, e umidades relativas (UR) de 30,6 a 100%, condições que permitem o desenvolvimento favorável da doença. Em contraste, durante o ensaio de outono/inverno as médias de temperatura ficaram entre 9,8 e 42,5°C, e entre 27 e 99% de UR média, intervalos que excedem as condições de desenvolvimento de patógenos foliares (Agrios 2005). De acordo com Sinclair (1982) a severidade de mancha alvo é reduzida em 20 °C, com processo patogênico abaixo dessa temperatura, e sendo a temperatura máxima de crescimento de micélio *in vitro* é 39 °C.

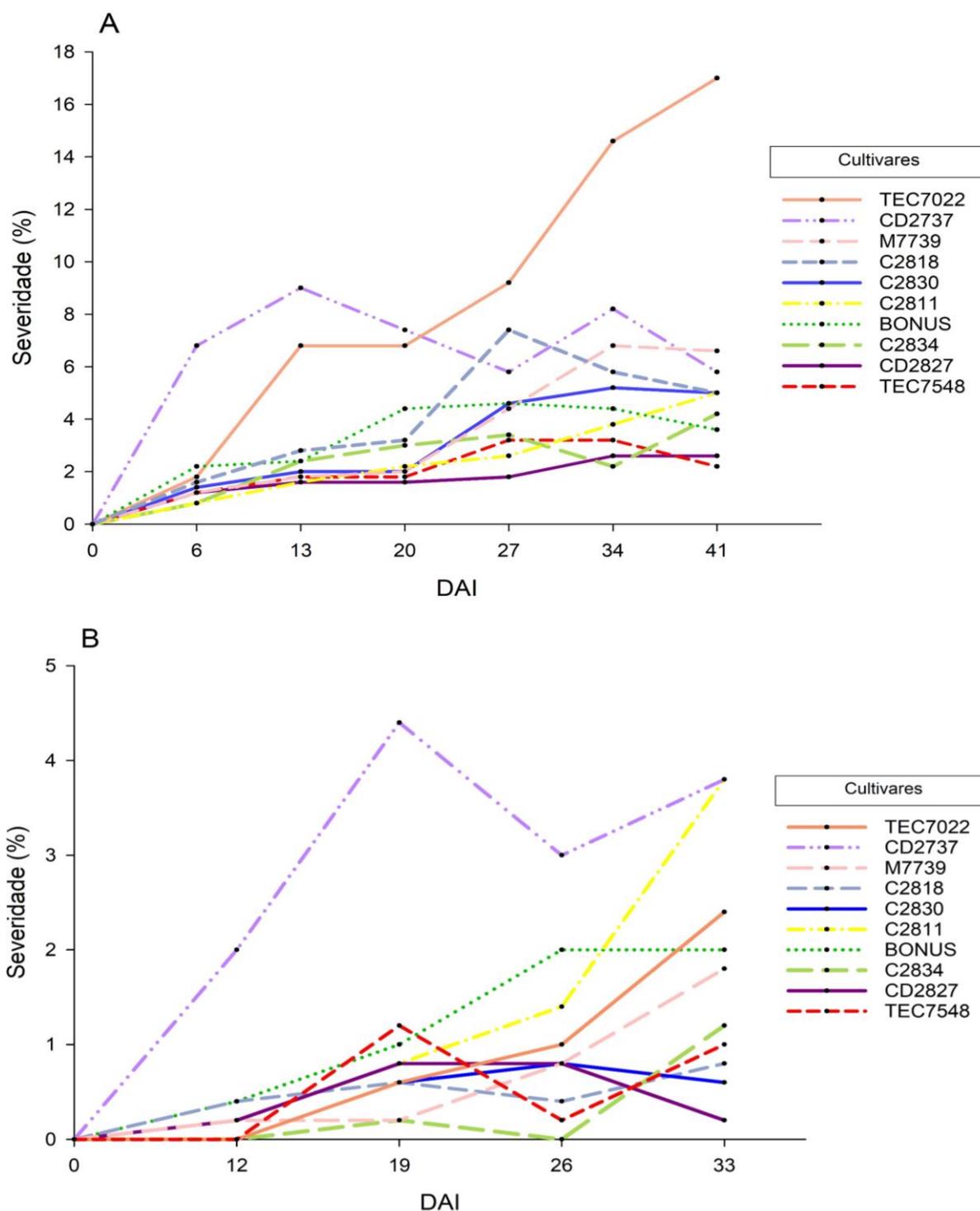
No ensaio conduzido na primavera/verão o período médio de latência foi de 6,0 dias para a maioria das cultivares, exceto para as cultivares C 2834 e C 2811, que apresentaram um período de latência médio de 7,4 dias. Já no ensaio de outono/inverno o período de latência médio subiu para 13,4 dias para a cultivar CD 2737, mais do que o dobro verificado na primavera/verão. Neste ensaio foram verificados períodos médios de latência ainda maiores, de 19,0, 19,0, 20,4, 21,8, 21,8, 23,2, 24,3, 26,0 e 29,5 dias também para as cultivares C 2830, CD 2827, BMX Bônus, TEC 7022, C 2818, C 2811, TEC 7548, M 7739 e C 2834, respectivamente (Figura 2). Entre os dois ensaios houve diferença significativa no período de latência ( $P < 0,001$ ) pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney a 5% de probabilidade.



**Figura 2.** Períodos de latência em dias após a inoculação (DAI) de *Corynespora cassiicola*, causador da mancha alva, inoculado em dez cultivares de soja em dois ensaios distintos, primavera/verão e outono/inverno.

Curvas de progresso da doença foram construídas no ensaio de primavera/verão após avaliações de severidade aos 6, 13, 20, 27, 34 e 41 dias após a inoculação (DAI) (Figura 3). A severidade foi observada em maior intensidade na cultivar TEC 7022 com severidade média de 17% aos 41 DAI, e na cultivar CD 2737 que atingiu 9% aos 13 DAI. As demais cultivares apresentaram baixa severidade de mancha alva, com destaque para as cultivares CD 2827 e TEC 7548, que não atingiram severidade acima de 3,2% (Figura 3A). Severidades bastante inferiores foram observadas no ensaio de outono/inverno, com início do aparecimento dos sintomas mais tardio, aos 12, 19, 26 e 33 DAI (Figura 3B). em média, houve uma redução de severidade média de 70% em relação ao ensaio anterior. A cultivar CD 2737 apresentou as maiores intensidades de severidade durante todo o experimento, atingindo uma média de

4,5%. As demais cultivares tiveram taxa reduzidas de severidade, não atingindo os 2%, exceto a cultivar C 2811 que atingiu 3,8% aos 33 DAI (Figura 3).



**Figura 3.** Curvas de progresso da doença em casa de vegetação, dada pela severidade média (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja, em dias após a inoculação (DAI) nos ensaios de **A.** primavera/verão e **B.** outono/inverno.

A severidade média verificada no ensaio de primavera/verão foi estatisticamente diferente entre as cultivares ( $P < 0,001$ ). O teste de comparação de médias da Tabela 4 demonstrou que a cultivar CD 2737 apresentou a maior severidade de doença e se diferenciou estatisticamente das cultivares CD 2827, TEC 7548, C 2811, C 2834, C 2830, BMX Bônus e M 7739. A cultivar CD 2827, que apresentou a menor severidade, se diferenciou também da cultivar TEC 7022 e C 2811. As demais cultivares não apresentaram outras diferenças significativas (Tabela 1, anexo).

**Tabela 4.** Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de primavera/verão, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05).

COMPARAÇÃO <sup>A</sup>	ESTATÍSTICA DE TESTE	ERRO PADRÃO	ERRO PADRÃO DA ESTATÍSTICA	SIG.	ADJ. SIG. <sup>B</sup>
<b>CD2827-CD2737</b>	-128,150	21,602	-5,932	0,000	<0,001
<b>TEC7548-CD2737</b>	-108,267	21,602	-5,012	0,000	<0,001
<b>C2811-CD2737</b>	106,000	21,602	4,907	0,000	<0,001
<b>C2834-CD2737</b>	106,000	21,602	4,907	<0,001	<0,001
<b>CD2827-TEC7022</b>	-91,133	21,602	-4,219	0,000	0,001
<b>C2830-CD2737</b>	-74,000	21,602	-3,426	0,001	0,028
<b>BONUS-CD2737</b>	71,433	21,602	3,307	0,001	0,042
<b>M7739-CD2737</b>	71,233	21,602	3,298	0,001	0,044
<b>CD2827-C2818</b>	-70,917	21,602	-3,283	0,001	0,046

<sup>a</sup> Comparação por pares entre os valores de  $P$  para os tratamentos (cultivares). Cada linha testa a hipótese nula em que as distribuições Amostra 1 e Amostra 2 são iguais.

<sup>b</sup> Os valores de significância foram ajustados pela correção Bonferroni para vários testes, rejeitando-se a hipótese de nulidade quando  $P < 0,05$ .

Para o ensaio de outono/inverno, apenas a cultivar CD 2737 apresentou severidade significativamente superior às demais cultivares ( $P < 0,001$ ), exceto para a cultivar BMX Bônus, conforme Tabela 5. As demais cultivares não apresentaram outras diferenças significativas (Tabela 2, anexo). A tabela descritiva das pelo teste de Kruskal-Wallis encontram-se na Tabela 3, anexo.

**Tabela 5.** Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de outono/inverno, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05).

COMPARAÇÃO <sup>A</sup>	ESTATÍSTICA DE TESTE	ERRO PADRÃO	ERRO PADRÃO DA ESTATÍSTICA	SIG.	ADJ. SIG. <sup>B</sup>
<b>C2834-CD2737</b>	95,675	16,972	5,637	0,000	<0,001
<b>TEC7548-CD2737</b>	-86,750	16,972	-5,111	0,000	<0,001
<b>C2830-CD2737</b>	-83,750	16,972	-4,935	0,000	<0,001
<b>CD2827-CD2737</b>	-80,200	16,972	-4,725	0,000	<0,001
<b>M7739-CD2737</b>	76,600	16,972	4,513	0,000	<0,001
<b>C2818-CD2737</b>	76,225	16,972	4,491	0,000	<0,001
<b>TEC7022-CD2737</b>	65,900	16,972	3,883	0,000	0,005
<b>C2811-CD2737</b>	57,450	16,972	3,385	0,001	0,032
<b>BONUS-CD2737</b>	46,950	16,972	2,766	0,006	0,255

<sup>a</sup> Comparação por pares entre os valores de  $P$  para os tratamentos (cultivares). Cada linha testa a hipótese nula em que as distribuições Amostra 1 e Amostra 2 são iguais.

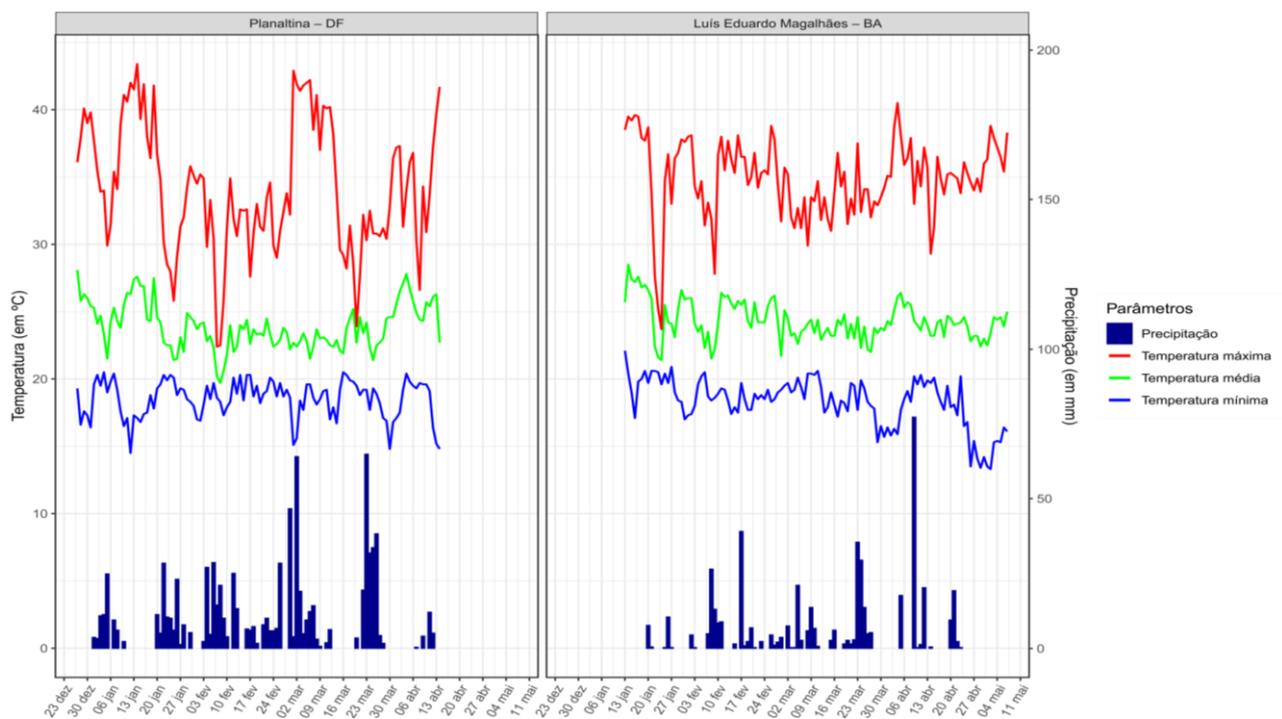
<sup>b</sup> Os valores de significância foram ajustados pela correção Bonferroni para vários testes, rejeitando-se a hipótese de nulidade quando  $P < 0,05$ .

### 3.3. Epidemiologia comparada em cultivares de soja em duas regiões produtoras

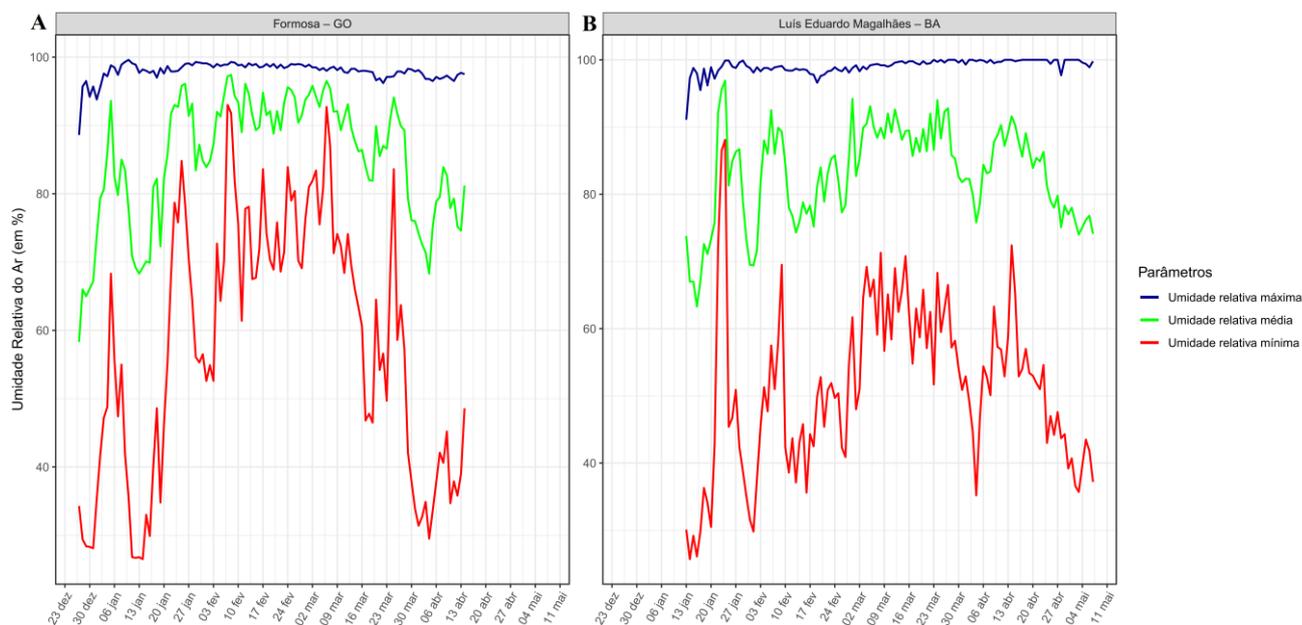
As medidas climáticas no dossel das plantas indicaram que em Planaltina, DF, a temperatura média foi de 24 °C, variando de 14 °C a 43 °C durante todo o experimento (Figura 4A). A umidade relativa do ar (UR) média foi de 85%, mínima de 26% e máxima de

99,5% (Figura 5A). A precipitação total registrada pela estação localizada no Instituto Phytus foi de 818,7 mm (Figura 4A). Até o aparecimento de sintomas a temperatura média foi de 24 °C e UR média de 84%. Durante o período de avaliações, onde foi possível encontrar a doença em campo, a temperatura média se manteve e a UR foi de 87%.

Para Luís Eduardo Magalhães, BA, a temperatura variou de 13 e 41 °C, com média de 24 °C, apresentando maior número de dias com temperaturas máximas próximas aos 40 °C do que a região de Planaltina (Figura 4B). A UR variou de 25 a 100% com média de 83%. Apesar disso é possível observar os picos da UR mínima e máxima, demonstrando que a houve alta variação durante o dia (Figura 5B). A precipitação total (mm) foi de 460 mm (Figura 4B).



**Figura 4.** Temperaturas máximas, médias e mínimas (°C) medidas com termo-higrômetro e precipitação total (mm) fornecida pelo Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet) durante os ensaios em **A.** Planaltina, DF e **B.** Luís Eduardo Magalhães, BA.



**Figura 5.** Umidade relativa do ar máxima, média e mínima (%) medidas com termohigrômetro durante os ensaios em **A.** Planaltina, DF e **B.** Luís Eduardo Magalhães, BA.

A primeira detecção de mancha alvo foi aos 59 dias após a emergência (DAE) para a todas as cultivares e tratamentos em Planaltina, DF. Em Luís Eduardo Magalhães, BA, a primeira detecção foi aos 86 DAE, exceto para a cultivar CD 2737 RR, de ciclo precoce, que já havia atingido o estágio R7 e com alto índice de desfolha aos 86 DAE. Tanto a incidência quanto a severidade foram maiores na região de Planaltina, DF, em relação à Luís Eduardo Magalhães, BA. As maiores incidências e severidades foram de 100% (Figura 6A) e 52% (Figura 7A) respectivamente para o DF, e 55% (Figura 6B) e 33% (Figura 7B) para BA.

Em Planaltina foram consideradas quatro avaliações, sendo a primeira, em 45 DAE estabelecida como a leitura inicial, onde todos os parâmetros avaliados foram iguais a zero, aos 59 DAE compreendendo o início do aparecimento de sintomas, quinze dias após a leitura aos 74 DAE e posteriormente aos 86 DAE. Após esse período não foi possível realizar avaliações, pois, as cultivares de ciclo precoce e médio encontravam-se em plena desfolha e, as de ciclo tardio apresentavam alta intensidade de ferrugem asiática da soja, impossibilitando que fossem realizadas análises precisas de mancha alvo nas folhas restantes. Em Luís Eduardo

Magalhães apenas na avaliação aos 86 DAE foi detectada a presença da doença, sendo, portanto, a única medida de intensidade de mancha alvo realizada neste ensaio.

Em Planaltina, a cultivar CD 2827 apresentou a maior incidência de doença, seguida em ordem decrescente pelas cultivares TEC 7022, CD 2737, BMX Bônus, M7739, TEC 7548, C 2818, C 2834, C 2811 e C 2830 nos tratamentos sem a aplicação de fungicida. O ranqueamento das cultivares com aplicação de fungicida foi semelhante, em ordem decrescente: CD 2827, TEC 7022, BMX Bônus, C 2811, TEC 7548, M 7739, C 2818, CD 2737, C 2834 e C 2830 (Figura 6A). As maiores severidades foram nos tratamentos sem a aplicação de fungicida para todas as cultivares, sendo CD 2827, TEC 7022 e BMX Bônus as que apresentaram as taxas maiores e C 2811 e C 2830 as que apresentaram as taxas menores. As demais cultivares apresentaram valores intermediários. Para os tratamentos com a aplicação de fungicida as cultivares seguiram o mesmo padrão (Figura 7A).

Em Luís Eduardo Magalhães a cultivar TEC 7022 apresentou as maiores incidências, entretanto em média 48% menores que no ensaio conduzido em Planaltina, seguido das cultivares CD 2827, C 2834, TEC 7548, C 2818, BMX Bônus, C 2811, M 7739, C 2830 e CD 2737 para ambos os tratamentos (Figura 6B). A severidade também foi reduzida em cerca de 19% em relação à Planaltina, e as taxas foram variáveis em relação ao tratamento com fungicida. As cultivares TEC 7022, CD 2827 e TEC 7548 apresentaram as maiores severidades tanto na presença quanto na ausência de aplicações fungicidas, e as cultivares BMX Bônus e C2811 apresentaram taxas mais altas apenas no tratamento sem aplicação de fungicida, enquanto as cultivares CD 2737, M7739 e C2818 apresentaram severidades próximas a zero tanto com quanto sem a aplicação de fungicidas. As demais cultivares apresentaram severidades intermediárias (Figura 7B).

No Distrito Federal, o fator cultivar afetou significativamente incidência e severidade de mancha alvo a partir dos 74 DAE, enquanto na Bahia a diferença significativa só foi detectada

na última leitura, aos 86 DAE (Tabela 6). O efeito da aplicação de fungicida afetou significativamente a incidência e a severidade apenas no experimento de Planaltina, aos 76 e 86 DAE. As AACPDs calculadas para Planaltina, confirmaram tendência semelhante às demais medidas de intensidade da doença. Não foi detectada interação entre os fatores cultivar e tratamento com fungicidas (Tabela 6).

**Tabela 6.** Valores de probabilidade (níveis de significância) da análise do modelo linear misto dos efeitos do tratamento de fungicidas e variedade de incidência e severidade de mancha alvo da soja aos 59, 74 e 86 dias após a emergência e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)

Localização <sup>a</sup>	Fatores <sup>b</sup>	Incidência <sup>c</sup>			Severidade <sup>c</sup>			AACPD <sup>d</sup>
		59	74	86	59	74	86	
DF	Cultivar	0.053	<0.001	<0.001	0.061	<0.001	<0.001	<0.001
	Fungicida	0.904	<0.001	<0.001	0.528	0.018	<0.001	<0.001
	Cult*Fung	0.111	0.434	0.407	0.666	0.772	0.721	0.448
BA	Cultivar	0 <sup>e</sup>	0	<0.001	0	0	0.002	0
	Fungicida	0	0	0.391	0	0	0.274	0
	Cult*Fung	0	0	0.231	0	0	0.395	0

<sup>a</sup> Os experimentos foram realizados em Planaltina, no Distrito Federal, e Luís Eduardo Magalhães, no estado da Bahia.

<sup>b</sup> Fatores testados nas duas regiões dez cultivares submetidas ao tratamento com e sem aplicação de fungicida.

<sup>c</sup> Incidência média calculada pelo número de folhas doentes dividido pelo número de folhas totais no terço médio e inferior da planta, e severidade média dada por escala diagramática de notas para a folha que apresentava maior índice de sintoma de mancha alvo, observada aos 59, 74 e 86 dias após a emergência.

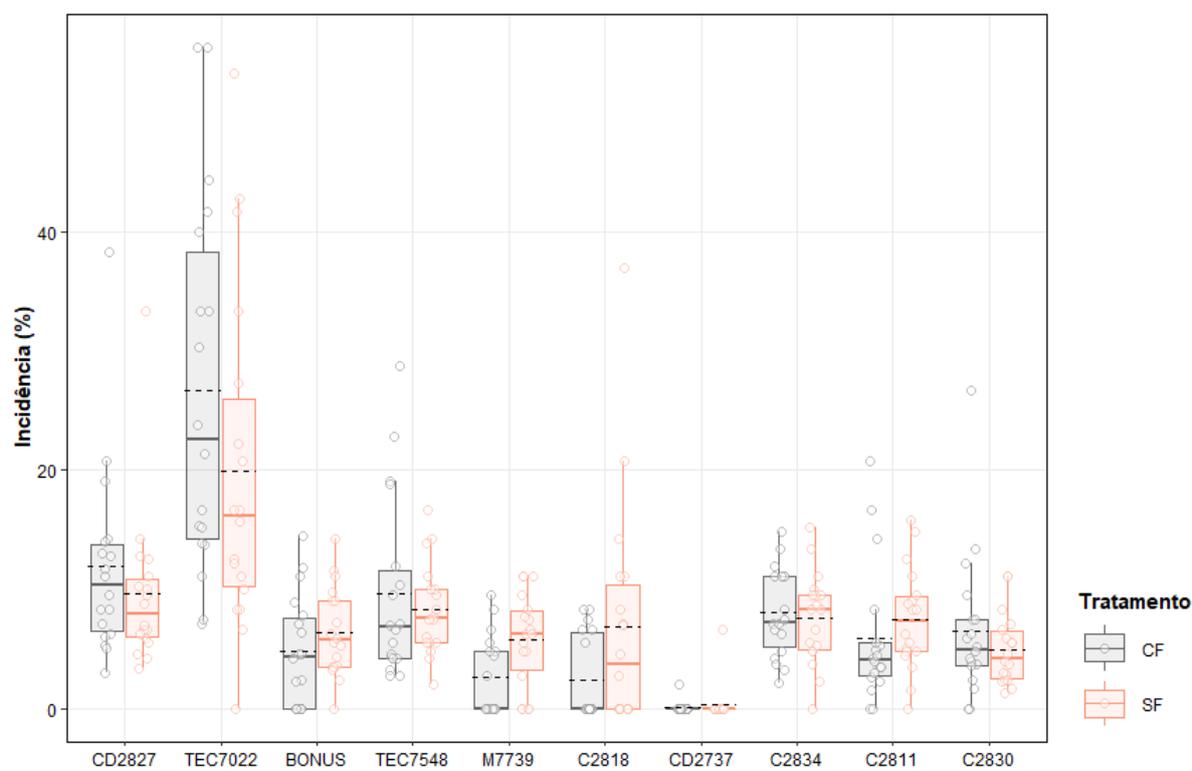
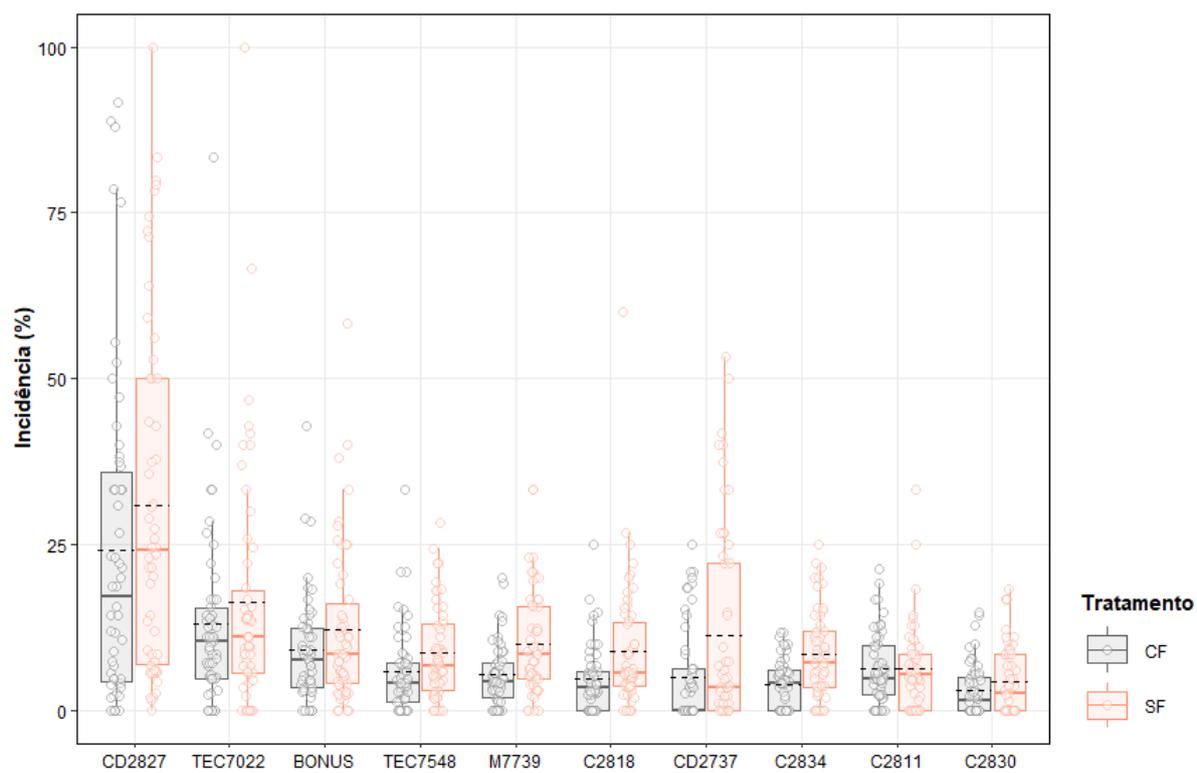
<sup>d</sup> Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

<sup>e</sup> Dados em zero representam o período de análises em que não havia presença de mancha alvo no local do experimento, o que impossibilitou o cálculo de AACPD para Bahia.

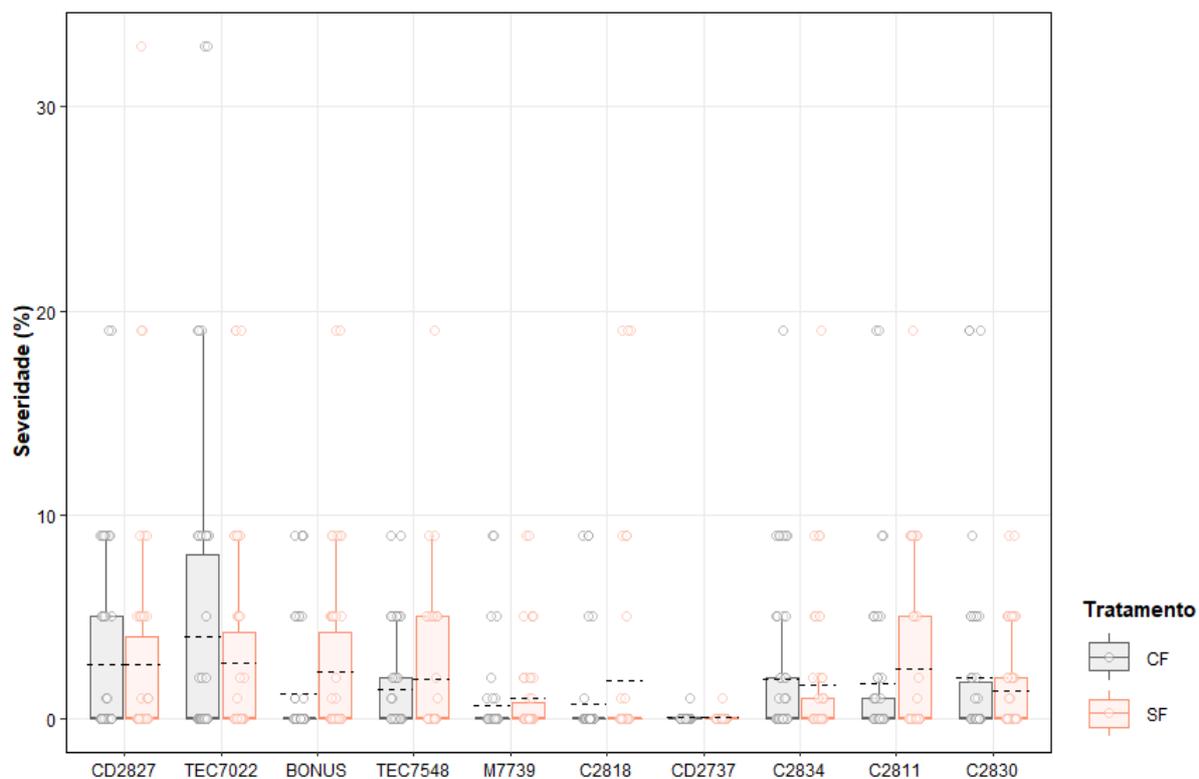
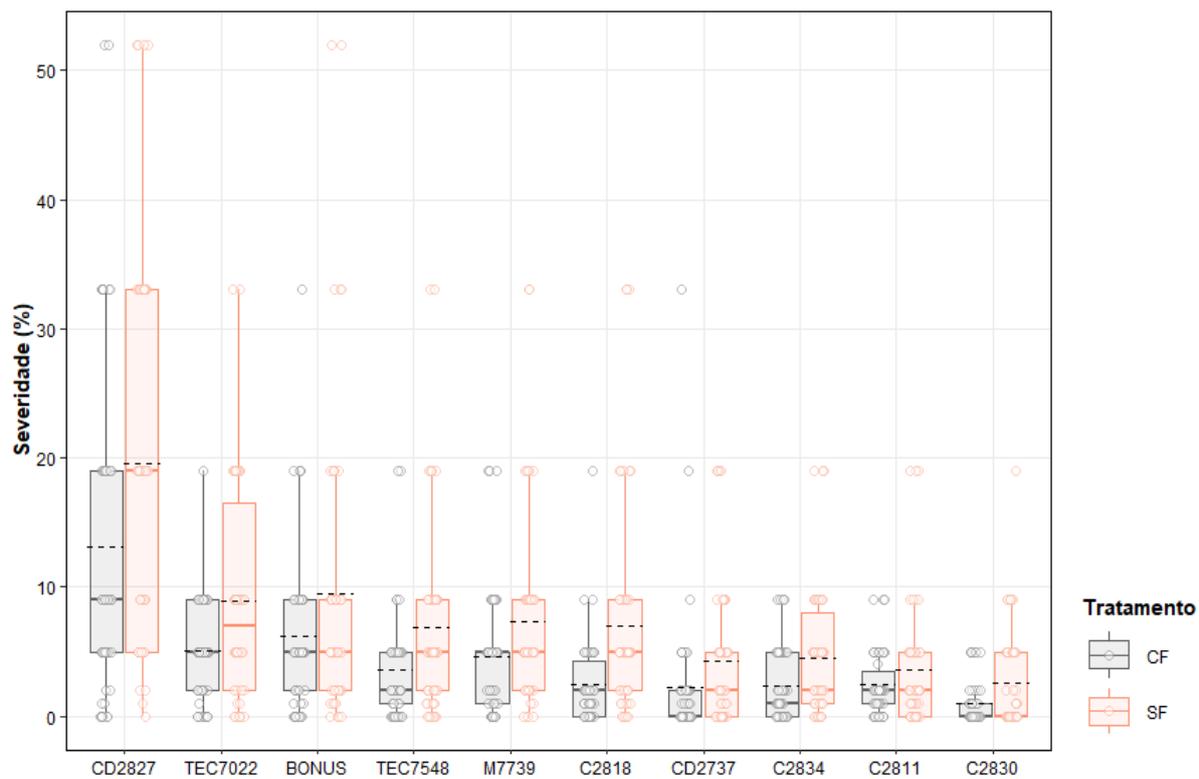
Aos 59 DAE, em Planaltina, há uma diferença marginalmente significativa de incidência entre as cultivares, demonstrada na Tabela 7. O ranking da diferença entre as cultivares muda aos 74 DAE e apoia uma tendência até os 86 DAE. A cultivar CD2827 apresenta diferença com incidência superior das demais cultivares, e a cultivar C2830 com

incidência inferior das demais cultivares. A cultivar CD 2827 apresenta severidade estatisticamente maior que a das demais cultivares, enquanto a cultivar C 2830 apresenta severidade inferior às demais (Tabela 8). Como esperado, as medidas de AACPD seguiram, quase que em sua totalidade, ao mesmo ranking de cultivares apresentado pela diferença de severidade entre as cultivares. A cultivar CD 2827 apresentou a maior área de progresso, enquanto as cultivares C2830 e C2811 apresentaram as taxas mais baixas (Tabela 8).

A Figura 8 demonstra o contraste de médias de incidência e severidade entre as cultivares aos 86 DAE em Planaltina e Luís Eduardo Magalhães. As cultivares que compartilham dados de “*lsmeans*” (mínimos quadrados) e respectivos erros padrão, não são significativamente diferentes. A distribuição de incidência e severidade de mancha alvo nos cultivares segue a mesma tendência nos ensaios conduzidos em ambas as localidades. Em Planaltina, a cultivar CD 2827 apresenta incidência e severidade significativamente diferentes das demais cultivares. A cultivar TEC 7022 também se destaca com maiores índices de doença, não se diferenciando apenas de BMX Bônus e CD 2737 quanto à incidência de mancha alvo. As demais cultivares não apresentam diferenças significativas entre si. Também no ensaio conduzido na Bahia, TEC 7022 apresenta severidade significativamente superior à todas as demais cultivares, exceto CD 2827. Com valores reduzidos de severidade, as cultivares apresentaram taxas intermediárias, com exceção da cultivar CD 2737 que apresentou taxas próxima a zero de ambas as medidas de intensidade da doença.



**Figura 6.** Box plot da incidência (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja em duas regiões do cerrado brasileiro, sob dois tratamentos com aplicação de fungicida e sem aplicação de fungicida. **A.** Planaltina, DF, **B.** Luís Eduardo Magalhães, BA.



**Figura 7.** Box plot da severidade (%) de mancha alvo em dez cultivares de soja em duas regiões do cerrado brasileiro, sob dois tratamentos com aplicação de fungicida e sem aplicação de fungicida. **A.** Planaltina, DF, **B.** Luís Eduardo Magalhães, BA.

**Tabela 7.** Mínimos quadrados transformados por arcseno e teste T entre as médias estimadas de incidência para as cultivares em Planaltina, DF, aos 59, 74 e 86 DAE.

Cultivar <sup>a</sup>	Incidência <sup>b</sup>		
	59	74	86
	Estimado <sup>c</sup>	Estimado	Estimado
<b>CD2827</b>	0.1993 a b	0.5208 a	0.8226 a
<b>TEC7022</b>	0.2009 a	0.3302 b	0.5376 b
<b>CD2737</b>	0.0838 c	0.1624 d	0.4548 b c
<b>BONUS</b>	0.2127 a	0.2928 b c	0.4392 c d
<b>TEC7548</b>	0.1765 a b c	0.2325 c d	0.3624 c d e
<b>C2818</b>	0.1915 a b	0.1871 d	0.3549 d e
<b>M7739</b>	0.2275 a	0.2711 c b	0.3172 e f
<b>C2834</b>	0.2305 a	0.1886 d	0.2834 e f
<b>C2811</b>	0.2384 a	0.2235 c d	0.2774 e f
<b>C2830</b>	0.0968 b c	0.1741 d	0.2429 f

<sup>a</sup> Cultivares com diferentes padrões de suscetibilidade à mancha alvo utilizadas no experimento de Planaltina, DF.

<sup>b</sup> Medida de intensidade de doença calculada pela diferença do número de folhas doentes dividido pelo número de folhas totais do terço médio e inferior da planta.

<sup>c</sup> Valores estimados dos mínimos quadrados onde, as médias que compartilham as mesmas letras não possuem diferenças significativas pelo teste t a 5% de probabilidade.

**Tabela 8.** Mínimos quadrados transformados por arcseno e teste T entre as médias estimadas de severidade e Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para as cultivares em Planaltina, DF, aos 59, 74 e 86 DAE

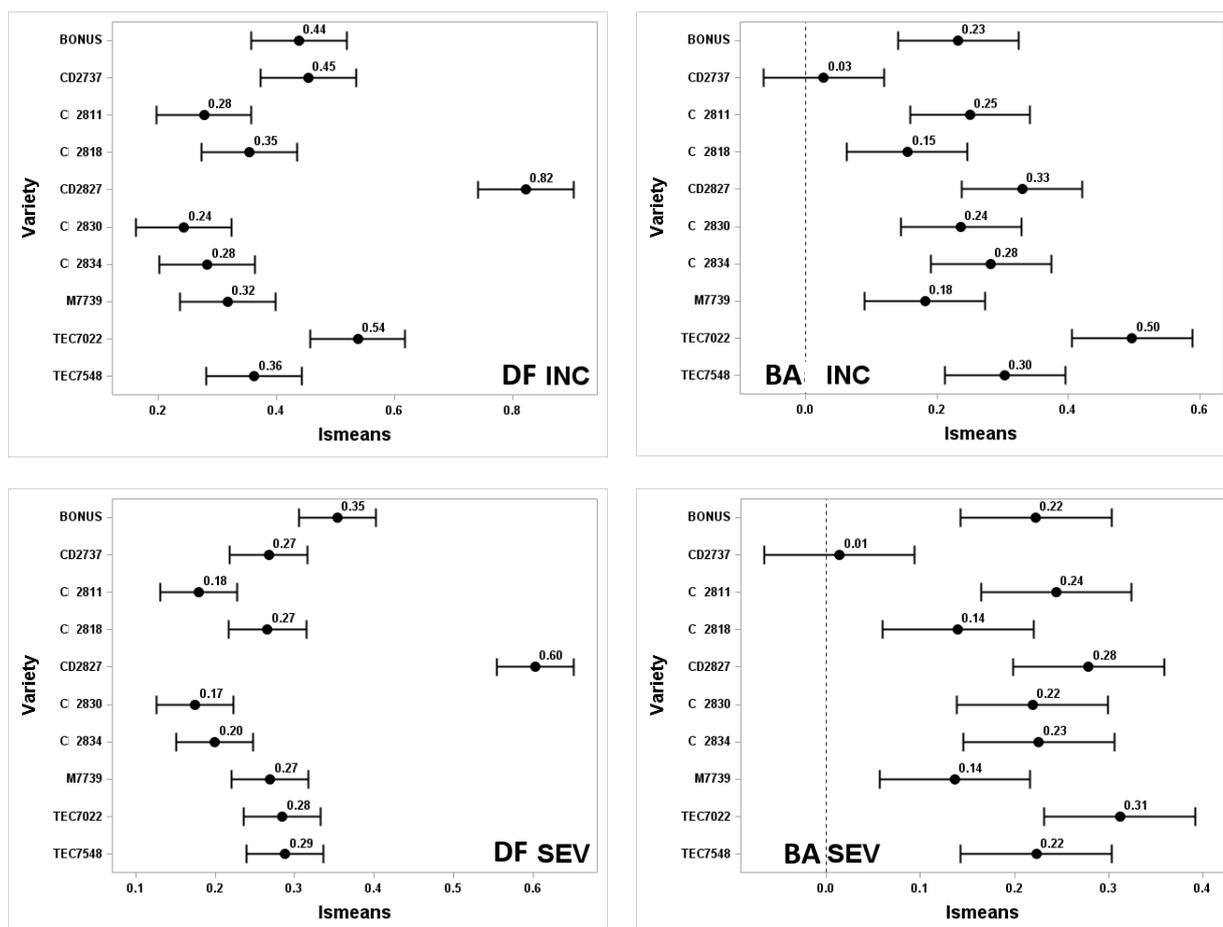
Cultivar <sup>a</sup>	Severidade <sup>b</sup>		Cultivar	AACPD <sup>c</sup>
	74	86		Estimado
	Estimado <sup>d</sup>	Estimado		
<b>CD2827</b>	0.3097 a	0.6027 a	<b>CD2827</b>	211.63 a
<b>BONUS</b>	0.2321 b	0.3541 b	<b>BONUS</b>	947.90 b
<b>TEC7548</b>	0.1966 b c	0.2874 b c	<b>TEC7022</b>	681.23 b c
<b>TEC7022</b>	0.2290 b	0.2841 b c	<b>C2818</b>	577.92 c d
<b>M7739</b>	0.2218 b c	0.2690 c d	<b>TEC7548</b>	567.92 c d
<b>CD2737</b>	0.1126 d e	0.2672 c d	<b>M7739</b>	500.82 c d e
<b>C2818</b>	0.1476 c d e	0.2659 c d	<b>CD2737</b>	453.35 c d e
<b>C2834</b>	0.1698 b c d	0.1994 d e	<b>C2834</b>	318.48 d e
<b>C2811</b>	0.1591 b c d	0.1789 e	<b>C2830</b>	230.70 e
<b>C2830</b>	0.0804 e	0.1743 e	<b>C2811</b>	228.90 e

<sup>a</sup> Cultivares com diferentes padrões de suscetibilidade à mancha alvo utilizadas no experimento de Planaltina, DF.

<sup>b</sup> Intensidade de doença avaliada por escala diagramática para a folha que apresentava com maior intensidade de mancha alvo.

<sup>c</sup> Valores integrados da severidade em aos 59, 74 e 86 DAE, pelo cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença.

<sup>d</sup> Valores estimados dos mínimos quadrados onde, as médias que compartilham as mesmas letras não possuem diferenças significativas pelo teste t a 5% de probabilidade.



**Figura 8.** Mínimos quadrados transformados pela raiz quadrada do arcoseno, de incidência e severidade de mancha alvo em dez cultivares de soja, nos experimentos de Planaltina, DF e Luís Eduardo Magalhães, BA.

No ensaio conduzido em Luís Eduardo Magalhães, mesmo com incidência e severidade reduzidas quando comparadas à Planaltina, a resposta das cultivares à mancha alvo foi semelhante. As cultivares TEC 7022 e CD 2827 apresentaram as maiores incidências, enquanto a cultivar CD 2737 apresentou a menor incidência da doença (Tabela 9). Para severidade, a cv. TEC 7022 foi a cultivar afetada com a maior intensidade de mancha alvo, e as cultivares C2818 e CD 2737 com as menores intensidades, conforme Tabela 9.

**Tabela 9.** Mínimos quadrados transformados por arcseno e teste T entre as médias estimadas de incidência e severidade para as cultivares em Luís Eduardo Magalhães, Bahia, aos 86 DAE.

Cultivar <sup>a</sup>	Incidência <sup>b</sup>		Cultivar <sup>a</sup>	Severidade <sup>d</sup>	
	Estimado <sup>c</sup>			Estimado <sup>c</sup>	
TEC7022	0.3117	a	TEC7022	0.4966	a
CD2827	0.2784	a	CD2827	0.3296	b
C2811	0.2443	a b	TEC7548	0.3032	b c
C2834	0.2257	a b	C2834	0.2818	b c d
TEC7548	0.2228	a b	C2811	0.2502	b c d
BONUS	0.2226	a b	C2830	0.2364	b c d
C2830	0.2190	a b	BONUS	0.2321	b c d
C2818	0.1398	b	M7739	0.1814	c d
M7739	0.1366	b	C2818	0.1543	d e
CD2737	0.0137	c	CD2737	0.0272	e

<sup>a</sup> Cultivares com diferentes padrões de suscetibilidade à mancha alvo utilizadas no experimento de Luís Eduardo Magalhães, Bahia.

<sup>b</sup> Intensidade de doença estimada com empreDF de escala diagramática para a folha que apresentava a maior intensidade de mancha alvo.

<sup>c</sup> Valores estimados dos mínimos quadrados onde, as médias que compartilham as mesmas letras não possuem diferenças significativas pelo teste t a 5% de probabilidade.

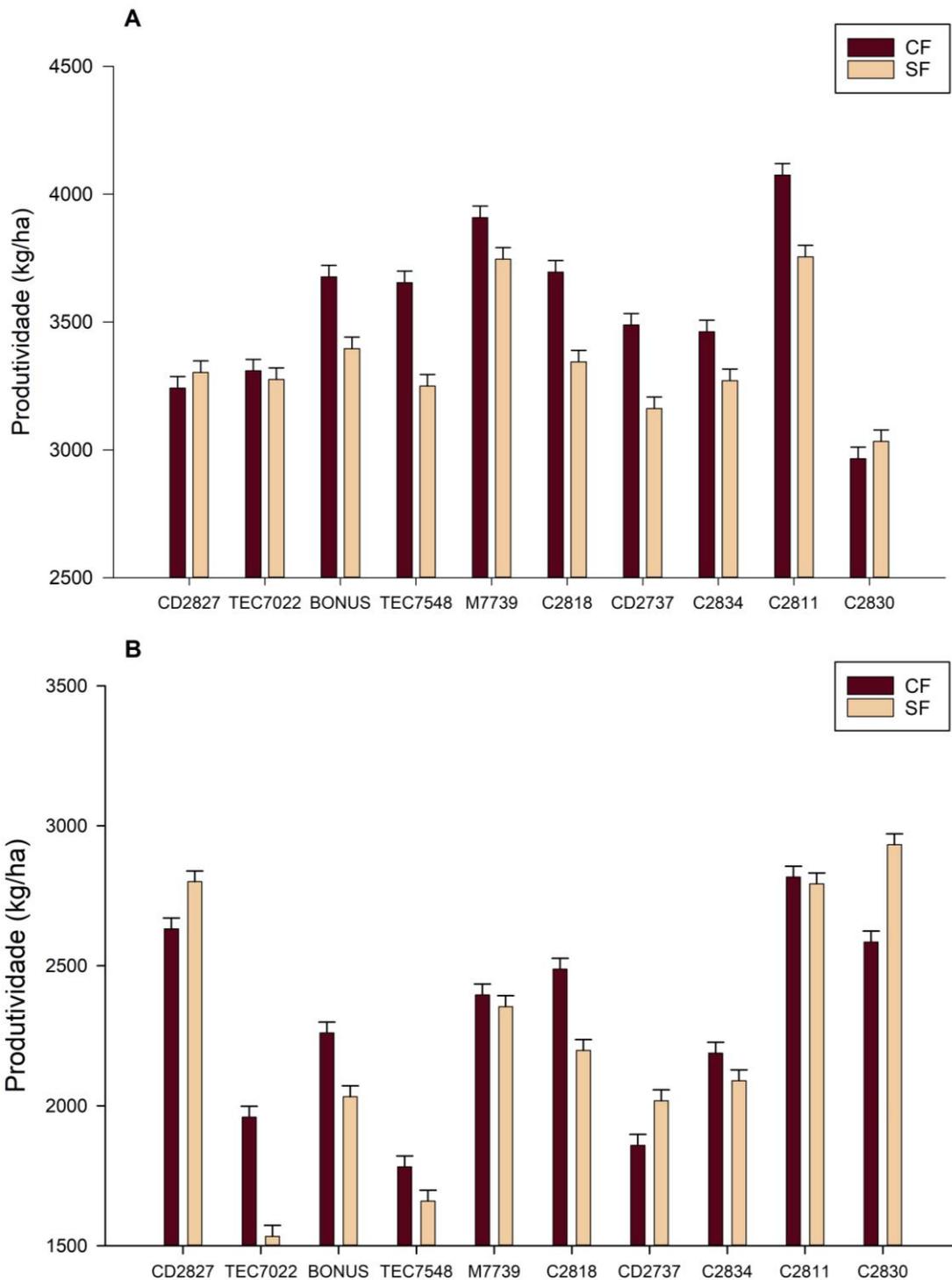
### 3.4. Efeito da mancha alvo na produtividade de cultivares de soja

No ensaio conduzido em DF, todas as cultivares apresentaram maior produtividade quando realizada a aplicação com fungicida recomendada para controle da ferrugem, exceto para CD 2827 e C 2830. A produtividade média com uso de fungicidas foi de 3.547,7 Kg/ha e sem a aplicação de fungicidas foi de 3.353,6 Kg/ha. A cv. C 2811 apresentou a maior produtividade com 4.074,7 Kg/ha, seguido em ordem decrescente pelas cvs. M 7739, C 2818, BMX Bônus, TEC 7548, CD 2737, C2834 e TEC 7022, com produtividades variando entre 3.908,6 e 3.309,2 Kg/ha. A cultivar CD 2827 atingiu uma das produções mais baixas tanto com aplicação de fungicidas quanto sem fungicidas, com uma média de 3.272,3 Kg/ha. A cultivar C 2830 apresentou produtividade reduzida apesar da baixa intensidade de mancha alvo (Figura 9A).

No ensaio conduzido na Bahia, a produtividade foi bastante inferior à observada em DF, para todas as cultivares. A aplicação de fungicida não favoreceu qualquer acréscimo de produtividade para as cultivares CD 2827, CD 2737 e C 2830. A cultivar C 2830 foi a mais produtiva atingindo 2.932,4 Kg/ha, seguida por C 2811, CD 2827, C 2818, M 7739, BMX Bônus, C 2834, CD 2737, TEC7022 e TEC 7548 com produtividades entre 2.816,9 e 1.782,1 Kg/ha (Figura 9B). A não aplicação de fungicida influenciou para que a cultivar TEC 7022 apresentasse a menor produção com 1.533,8 Kg/ha, uma diferença de 425,5 Kg/ha em relação à produção atingida com a parcela submetida ao tratamento com fungicida.

Em ambos os experimentos, o fator cultivar afetou significativamente quanto a produtividade quanto o peso de mil sementes (PMS) com e sem presença de umidade. Em Planaltina, as cultivares apresentaram produtividades maiores que em Luís Eduardo Magalhães. Na primeira região foi registrado efeito significativo da aplicação de fungicida nas variáveis de produtividade. Em ambos os experimentos não foi observada interação entre as cultivares e o tratamento com fungicida (Tabela 10).

Foi observada a mesma resposta da produção das cultivares, medida pelo peso de mil sementes seco (PMSB) e produtividade total seco (PTB) nas duas regiões estudadas (Figura 10). Em Planaltina, a cultivar TEC 7458 diferenciou-se significativamente das demais cultivares apresentando o maior PMSB. Com o menor peso, a cultivar C2830 não se diferenciou apenas da cultivar C2834. As demais cultivares apresentaram PMSB intermediários, sem diferenças significativas entre eles. Quanto ao PTB, em Planaltina, a cultivar C2811 apresentou diferença significativa de todas as cultivares, exceto da cultivar M7739. As cultivares CD 2737, C2834 e TEC 7022 que apresentaram dados inferiores de produtividade, não diferiram estatisticamente das cultivares que tiveram produção intermediária.



**Figura 9.** Produtividade média total estimada em kg/ha das dez cultivares de soja submetidas aos tratamentos com aplicação de fungicida (CF) e sem aplicação de fungicida (SF) realizados em **A.** Planaltina, DF. **B.** Luís Eduardo Magalhães, Bahia.

A cultivar C2830 foi semelhante apenas às cultivares CD 2737 e TEC 7022. Para Bahia, as cvs. TEC 7548, BMX Bônus e TEC 7022 apresentaram os mais altos PMSB. As demais

cultivares que apresentaram valores intermediários e baixos, não diferenciaram estatisticamente entre si. Não houve diferença significativa para nenhuma cultivar em PT (Figura 10).

**Tabela 10.** Valores de probabilidade (níveis de significância) da análise do modelo linear misto dos efeitos do tratamento com fungicida e da variedade de peso total úmido (PTU) e seco (PT) dos grãos e peso úmido (PMSU) e seco de mil sementes (PMS).

Localização <sup>a</sup>	Fatores <sup>b</sup>	PTU <sup>c</sup>	PT <sup>d</sup>	PMSU <sup>e</sup>	PMS <sup>f</sup>
<b>DFi</b>	Cultivar	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Fungicida	0.008	0.008	<0.001	<0.001
	Cult*Fung	0.626	0.714	0.035	0.032
<b>BA</b>	Cultivar	0.014	0.011	<0.001	<0.001
	Fungicida	0.414	0.531	0.160	0.405
	Cult*Fung	0.729	0.692	0.421	0.554

<sup>a</sup> Experimentos foram realizados em Planaltina, no estado de DF, e Luís Eduardo Magalhães, no estado da Bahia.

<sup>b</sup> Fatores testados nas duas regiões, sendo dez cultivares submetidas ao tratamento com e sem aplicação de fungicida.

<sup>c</sup> Produtividade total acrescido do peso de umidade dos grãos, medidos ao mesmo dia da colheita.

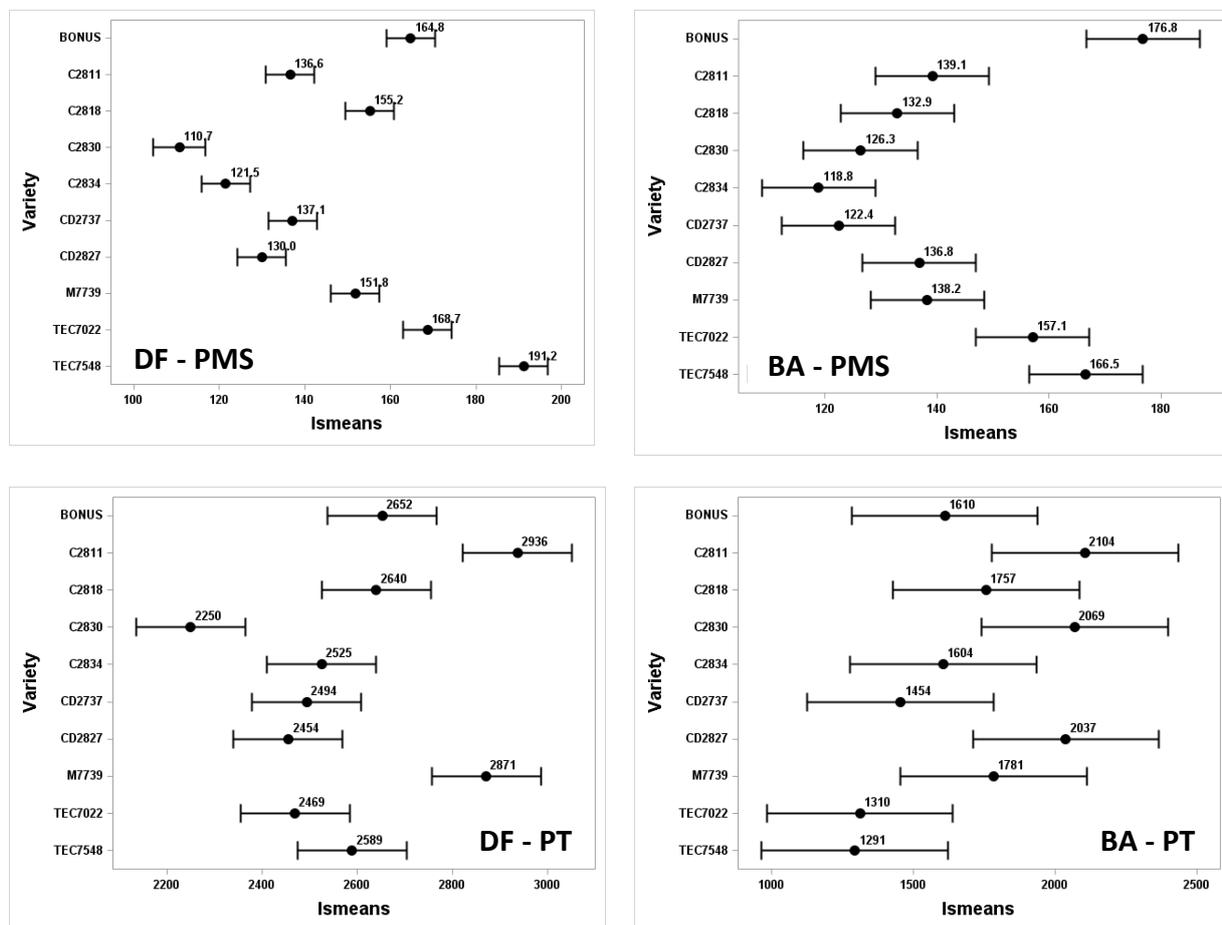
<sup>d</sup> Produtividade total desconsiderando-se o peso da umidade dos grãos.

<sup>e</sup> Peso de mil sementes acrescido do peso de umidade dos grãos.

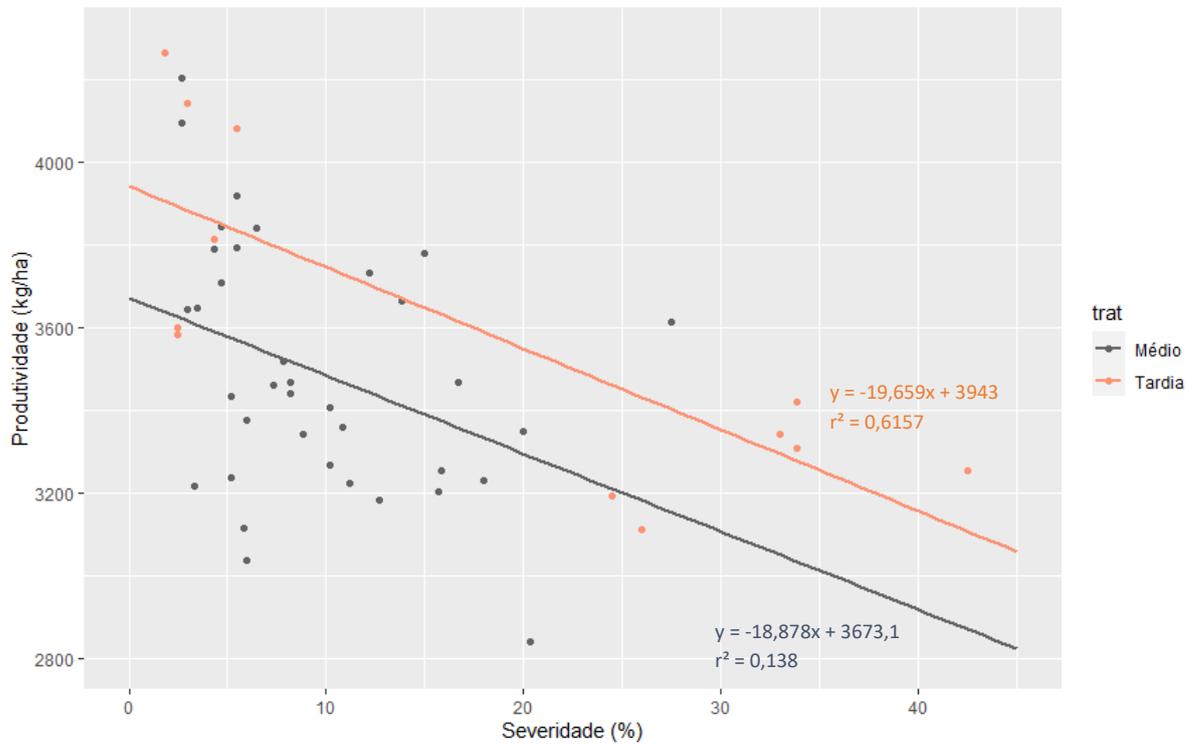
<sup>f</sup> Peso de mil sementes desconsiderando-se o peso da umidade dos grãos.

Foi detectada relação negativa entre a produtividade das cultivares e a severidade de mancha alvo aos 86 DAE em Planaltina, DF (Figura 11). As cultivares C 2830 e C 2834 não foram utilizadas para o cálculo da correlação por terem apresentado alta severidade de ferrugem asiática da soja no final do ciclo da cultura. Observando-se as cvs. separadamente por ciclo, nota-se uma relação negativa mais pronunciada nas cvs. de ciclo tardio ( $r = -0,7846$ ,  $P = 0,003$ ) do que nas de ciclo médio ( $r = -0,3714$ ,  $P = 0,03$ ): aos 20% de severidade a perda de produtividade em cvs. tardias chega a 393,2 kg/ha em uma produtividade máxima de 3.943 Kg/ha, e para as cultivares médias a perda seria de 377,6 kg/ha em uma produtividade

máxima de 3.673,1 Kg/ha. Embora haja diferença entre as correlações, foram encontradas taxas de redução de produtividade semelhantes para as cultivares (Figura 11). Não foi encontrada relação negativa entre a severidade de mancha alvo e produtividade das cultivares no experimento conduzido em Luís Eduardo Magalhães, BA.



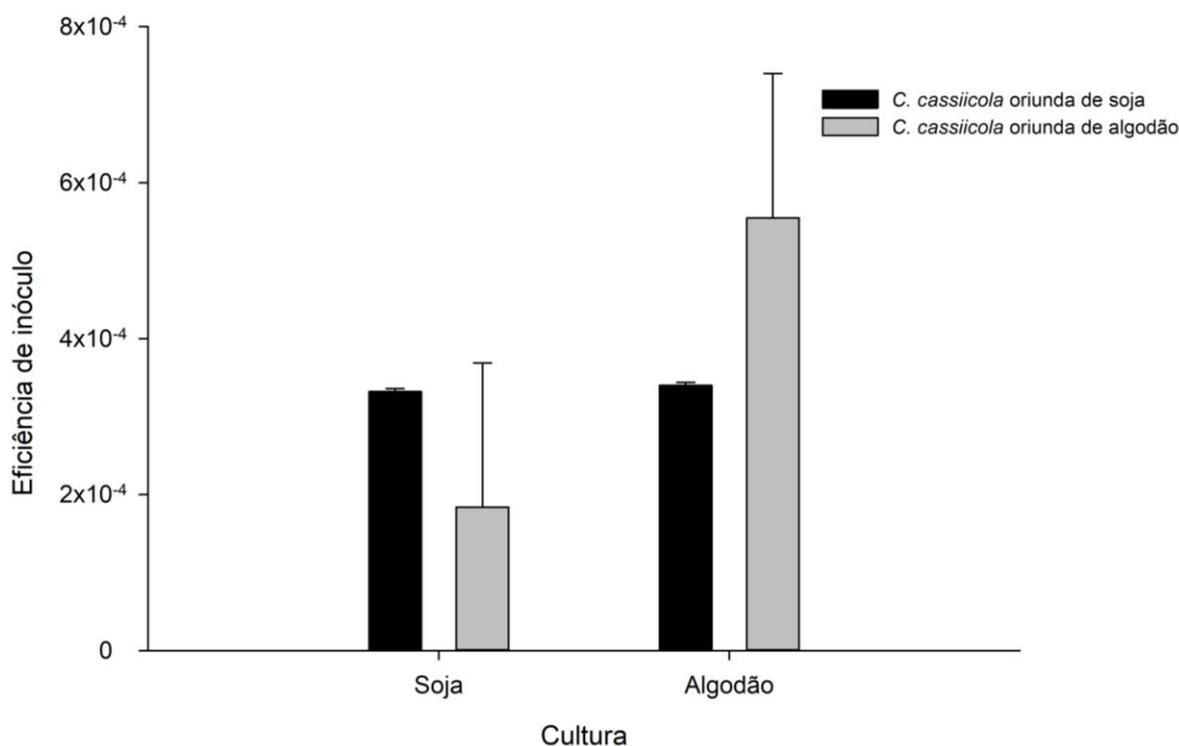
**Figura 10.** Mínimos quadrados transformados pela raiz quadrada do arco, do peso de mil sementes seco (PMS) e peso total seco (PT) em dez cultivares de soja, nos experimentos de Planaltina, DF e Luís Eduardo Magalhães, BA.



**Figura 11.** Relação entre severidade de mancha alvo aos 86 DAE e produtividade nas cultivares de soja, com ciclos médio e tardio, submetidas ao tratamento com e sem aplicação de fungicidas, no ensaio em Planaltina, DF.

### 3.5. Estudos de patogenicidade cruzada

Ambos os isolados de *C. cassiicola* oriundos de plantas de soja e algodão foram patogênicos às culturas da soja e do algodão. Quando comparados os períodos de latência, os dados apresentaram valores únicos de 7,0 DAI. Em plantas de soja, os isolados oriundos de soja e algodão não diferiram estatisticamente quanto a severidade ( $P = 0,683$ ) ou incidência ( $P = 0,604$ ). Os isolados oriundos de algodão apresentaram maior agressividade nas plantas de algodão que os isolados de soja tanto em severidade ( $P < 0,001$ ) quanto em incidência ( $P = 0,0022$ ). Foi encontrada uma maior eficiência de infecção do inóculo, quando o isolado de *C. cassiicola* foi inoculado na cultura de origem em relação a outra cultura testada (Figura 12).



**Figura 12.** Eficiência de inóculo dada pela proporção de lesões no aparecimento de sintomas e a concentração de inóculo de isolados de *Corynespora cassiicola* oriundos de plantas de soja e algodão, inoculados artificialmente nas duas culturas.

#### 4. DISCUSSÃO

Foram detectadas semelhanças e diferenças significativas entre as epidemias de mancha alvo entre cultivares e regiões de cultivo na safra de soja de 2019/2020. Dez cultivares de soja foram separadas em quatro grupos pela reação de suscetibilidade à mancha alvo. Em Planaltina, DF o primeiro grupo inclui a cultivar que obteve a maior intensidade da doença, caracterizada neste trabalho como altamente suscetível. Esta cultivar (CD 2827 IPRO) apresentou os maiores valores tanto de incidência (Tabela 4) quanto de severidade (Tabela 5) com diferença significativa das demais cultivares aos 74 e 86 DAE e maior AACPD (Tabela 6). O segundo grupo compreende as cultivares TEC 7022 IPRO, BMX Bônus e TEC 7548 IPRO, que apresentaram reação como suscetível à mancha alvo. O terceiro grupo compreende as cultivares M7739 IPRO, CD737 RR e C2818 IPRO que apresentaram reação de

moderadamente resistente à mancha alvo, e o quarto grupo compreendendo as cultivares C 2811 IPRO, C 2830 IPRO e C 2834 IPRO como resistentes à mancha alvo. Devido às menores intensidades de doença verificadas em Luís Eduardo Magalhães, BA, esses resultados foram utilizados de forma complementar aos encontrados em DF.

Cabe observar que Yorinori (2007), através do Anexo II – Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de soja proposta pelo MAPA, classificou de reação de cultivares de soja à mancha alvo utilizando além da severidade em % de área foliar infectada, o tamanho do halo amarelo formado ao redor da lesão. Outro parâmetro que poderia ser considerado para a avaliação da resistência é a quantificação da desfolha causada pela doença. Neste trabalho, as cultivares foram classificadas com a combinação das medidas repetidas de severidade e incidência em campo e em condição controlada, do período de latência e da AACPD. Tamanho do halo clorótico da lesão e intensidade da desfolha não foram consideradas.

Apesar das baixas intensidades da doença verificadas nos ensaios com inoculação artificial em casa de vegetação, estes também confirmaram uma tendência de maior suscetibilidade das cultivares CD 2737 e TEC 7022. A maior resistência quantitativa das cultivares C 2830, C 2834, e C 2811 à mancha alvo relaciona-se positivamente com os maiores períodos de latência encontrados nas duas últimas cultivares. Por se tratar de uma doença policíclica, portanto, as diferenças de período de latência e eficiência de inóculo vão sendo compostas a cada ciclo do patógeno, com efeitos exponencialmente maiores a cada ciclo (Bergamin Filho *et al.*, 2018). Diferenças aparentemente pequenas, como um período de latência de 6,0 ou de 7,4 dias serão compostas a cada ciclo de infecção. Outros fatores como quantidade de inóculo produzido a cada ciclo (não estudado neste trabalho) também podem ter um papel na resposta das cultivares ao progresso da mancha alvo. Edwards Molina (2018) testou a resposta de sensibilidade de 19 genótipos de soja à isolados de *C. cassiicola*,

encontrando diferentes progressos no aparecimento de lesões de mancha alvo a depender da cultivar. Na cultivar BMX Potência, o período de latência de 5,3 dias após inoculação levou a um incremento rápido da doença, com 38 lesões por folíolo, em contrapartida, a cultivar BRS 360 que apresentou baixo progresso da doença e número de lesões por folíolo reduzido, teve período de latência de 14,2 dias.

Diferentemente do observado nos experimentos de campo com inoculação natural, a cultivar CD 2827 aqui classificada como suscetível a mancha alvo, apresentou baixos índices de severidade no ensaio em casa de vegetação com inoculação artificial. Os contrastes entre as medidas de intensidade de doença encontradas nos ensaios de casa de vegetação e de campo, principalmente para esta cultivar, podem estar relacionados à expressão de resistência horizontal, notoriamente variável dependendo das condições ambientais (Camargo, 2018). Entre outros fatores, as variáveis climáticas, as condições de cultivo em vaso, a idade da planta no momento da inoculação artificial (ocorrida em V4) e a qualidade do inóculo podem ter afetado a reação desta cultivar em condições controladas. Em campo, os sintomas apareceram a partir do estágio R2 no período reprodutivo, mesmo estágio encontrado por Mesquini (2012) em ensaios de campo.

Existe no germoplasma dos cvs. comerciais de *Glycine max* mecanismos de resistência horizontal capazes de reduzir o progresso da doença (Teramoto *et al.*, 2013a), seja por aumentar o período de latência por idade da planta no momento da infecção ou outro mecanismo de defesa. Estes mecanismos podem ser combinados com outros, como a redução da taxa de esporulação, taxa de crescimento do tamanho de lesão, redução da eficiência de infecção, para orientar a escolha de cultivares a serem plantadas.

Conforme Agrios (2005), as doenças foliares são extremamente dependentes das condições ambientais, incluindo os fatores climáticos para seu desenvolvimento. Para mancha alvo da soja períodos prolongados de molhamento foliar e temperaturas entre 22 a 30 °C são

condições ideais para infecção, estabelecimento e aparecimento dos sintomas iniciais (Sinclair, 1982). A principal diferença ambiental encontrada entre as duas regiões analisadas foram as amplitudes das temperaturas máxima e mínima atingidas. Na maior parte do ciclo em Luís Eduardo Magalhães, a temperatura máxima atingiu valores próximos os 40 °C, enquanto a temperatura mínima ficou em torno dos 20 °C. Em Planaltina, a temperatura máxima foi menor (c. 5 °C a menos), com menor número de dias acima dos 35 °C, principalmente durante o desenvolvimento da doença. A precipitação total em Planaltina até a primeira quinzena de fevereiro (55 DAE) foi de 414 mm e temperatura média de 24 °C, fatores que propiciaram a aparecimento de sintomas aos 59 DAE. Para LEM, contabilizando um período de 59 DAE a precipitação acumulada foi de 206 mm, 50% menor que em Planaltina, e temperatura média de 25 °C. A UR média no dossel das plantas nesse mesmo período foi de 83 % e 82 % para DF e BA, respectivamente. Mesmo com as médias semelhantes de temperatura entre as duas regiões, a amplitude diária das medidas de temperaturas mínima e máxima, juntamente com a baixa precipitação provavelmente contribuíram para o menor desenvolvimento da doença no ensaio conduzido na Bahia. Além disso, é possível que a população do patógeno tenha sido menor (levando um menor inóculo inicial), visto que o plantio anterior era de milho, o que pode ter contribuído para o aparecimento tardio da doença, e conseqüentemente, menor progresso da doença em Luís Eduardo Magalhães.

De modo geral, quando se comparam aos ensaios em ambiente protegido, encontra-se uma resposta similar à encontrada em campo nas duas regiões. O ensaio de outono/inverno apresentou variações de temperatura durante o dia de até 30 °C, com temperaturas mínimas de até 9 °C no início da manhã, atingindo máximas de até 40 °C ao meio-dia. O mesmo ocorreu para a UR, onde durante os períodos mais quentes do dia, a UR ficava em torno de 50% e nos horários com temperaturas amenas com cerca de 90%. Condições estas que aumentaram

significativamente o período de latência e diminuíram a intensidade da doença nesta época de cultivo, em contraste com o ensaio de primavera/verão, diminuindo assim, o potencial de desenvolvimento da epidemia de mancha alvo em condições adversas. Mello *et al.* (2018) demonstraram que a esporulação *in vitro* de *C. cassiicola* é favorecida em temperaturas de 24 °C  $\pm$  2 °C, fator importante para a progressão de doenças policíclicas. Segundo a função beta-generalizada realizada por Mesquini (2012), a temperatura ótima para de severidade de mancha alvo é de 26 °C, onde temperaturas maiores reduzem a severidade da doença incluindo o número de lesões por folha, e temperaturas inferiores a 15 °C cessa o aparecimento de sintomas.

Maiores produtividades foram geralmente associadas à aplicação de fungicidas em Planaltina, com redução de severidade da doença e das perdas de produção. Mesmo assim houve relação negativa de produtividade e severidade da doença aos 86 DAE, independentemente do tratamento, indicando perdas importantes de produção principalmente nas cultivares mais tardias como a CD 2827 (Figura 11). Em Luís Eduardo Magalhães a intensidade da doença não se correlacionou com a produtividade, e, portanto, o tratamento com fungicidas não interferiu na redução de danos causados pela doença, pelo fato de a severidade nesse ensaio ter ficado abaixo dos 20%. A produtividade nessa região foi reduzida principalmente pelo plantio tardio da safra de 2019/2020, quando as plantas tiveram um porte reduzido devido ao fotoperíodo desfavorável durante o ensaio. Conforme Câmara (2015) o plantio tardio provoca, além do crescimento vegetativo reduzido, o florescimento prematuro principalmente em cultivares precoces e redução da produção pela consequente redução da inserção das primeiras vagens.

Estudos de perda em produtividade causada pela mancha alvo da soja apresentaram resultados variados. Mesquini (2012) descreve que apesar de encontrada taxas de 37% de severidade de mancha alvo no terço inferior da planta de soja, não foi encontrada correlação

com a perda de produtividade. Sinclair (1982) relata que a desfolha severa é o principal fator de perda da produtividade em cultivares suscetíveis. A correlação negativa entre a produtividade de soja e severidade mancha alvo foi observada por Edwards Molina *et al.* (2019a), apontando que a mancha alvo pode causar perdas importantes em cultivos de soja, em média 42%. Koenning *et al.* (2006b) apontam que essa perda pode chegar até 40,5% de redução da produção final. Apesar de outros fatores também tenham contribuído para a produtividade avaliada nestes estudos de campo, foi detectada uma significativa relação negativa entre a mancha alvo da soja e a produção neste trabalho.

Os estudos em patogenicidade cruzada confirmaram a hipótese de patogenicidade cruzada entre os isolados e as espécies de plantas estudadas. Apesar da eficiência de infecção mais baixa dos isolados de *C. cassiicola* oriundos de algodão em infectar as plantas de soja, esse estudo confirmou que a sucessão dessas culturas pode favorecer o aumento de inóculo no campo, visto que os isolados de *C. cassiicola* oriundos de soja são igualmente eficientes na infecção das duas culturas. Ao estudar a filogenia de *C. cassiicola* de diferentes hospedeiros e localidades, Dixon *et al.* (2009b) demonstram que há cruzamento de infecções de isolados de outros hospedeiros em diversas culturas, incluindo a soja. Sumabat *et al.* (2018a) demonstraram que os isolados oriundos de algodão e soja pertencem à um mesmo haplótipo, e confirmam que os isolados oriundos de algodão são mais agressivos em plantas de algodão que em outros hospedeiros, e que isolados oriundos de soja são igualmente agressivos em plantas de soja, algodão e tomate.

## 5. CONCLUSÕES

A cultivar CD 2827 IPRO destacou-se como a mais suscetível à mancha alvo da soja, confirmada para as regiões de Cerrado do Planalto Central no Distrito Federal e Oeste da Bahia. As cultivares C 2811 IPRO, C 2830 IPRO e C 2834 IPRO apresentam reação de

resistência em ambas as regiões. C 2811 e C 2834 também apresentaram os maiores períodos de latência, indicando que este mecanismo de resistência pode ter um papel relevante na resistência de campo.

Os fatores ambientais como temperatura, umidade relativa e precipitação afetaram significativamente o aparecimento e o progresso da doença nas duas regiões estudadas. O controle químico foi eficiente em controlar a doença no DF, região onde foi mais severa, reduzindo a produtividade nos tratamentos sem a aplicação de fungicidas. Na Bahia, onde a doença foi menos severa, não foi constatado efeito do controle químico.

Foi encontrada relação negativa entre a produtividade total das cultivares e a severidade de mancha alvo da soja, inclusive nas parcelas tratadas com fungicidas apesar da redução do efeito na produtividade. Os cvs. de ciclo tardio tiveram índice de relação negativa superior aos cvs. de ciclo médio.

As cultivares mais precoces tendem a atingir o escape quando a doença ocorre no final do ciclo, evitando a redução da produtividade.

A confirmação da possibilidade de infecção cruzada entre os isolados de *C. cassicola* oriundos de soja e algodão é uma informação relevante para a epidemiologia da doença, principalmente visando a redução do inóculo inicial, visto que as duas culturas são amplamente cultivadas no Cerrado brasileiro e em outras regiões.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. 2005. Plant Pathology, 5<sup>a</sup> ed.
- AGROFIT-MAPA. 2020. Agrofit - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Consultado em: 13 /06/2020.
- ALMEIDA, A.M.R.; MACHADO, C.C., FERREIRA, L.P., LEHMAN, P.S.
- ANTONIO, H. 1976. Ocorrência de *Corynespora casiicola* (Berk. & Curt.) Wei no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 1:111–112.
- BAIRD, R.E.; MULLINIX, B.G.; PEERY, A.B.; LANG, M.L. 1997. Diversity and longevity of the soybean debris mycobiota in a no-tillage system. *Plant Disease* 81:530–34.
- BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. 2018. Ambiente e doença. *In*: AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; REZENDE, J.A.M. (eds) Manual de fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos. 5<sup>a</sup> ed. Agrônoma Ceres. Piracicaba. p.93-97.
- BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L.; WILLOCQUET, L.; SAVARY, S. 2018. Epidemiologia de doenças de plantas. *In*: AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; REZENDE, J.A.M. (eds) Manual de fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos. 5<sup>a</sup> ed. Agrônoma Ceres. Piracicaba. p.71-83.
- BEZERRA, A.R.G.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M.M. 2015. Importância econômica. *In*: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (eds) Soja do plantio à colheita. Editora UFV. Viçosa. p.9–26.
- BONETTI, L.P. 1981. Distribuição da soja no mundo. *In*: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Ed.). A soja no Brasil. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas. p.1-16.
- CÂMARA, G.M.S. 2015. Preparo do solo e plantio. *In*: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (eds) Soja do plantio à colheita. Editora UFV. Viçosa. p.66-109.
- CAMARGO, L. 2018. Controle Genético. *In*: AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; REZENDE, J.A.M. (eds) Manual de fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos. 5<sup>a</sup> ed. Agrônoma Ceres. Piracicaba. p.229-238.
- CASTELLANI, A. 1939. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*. 24: 270–276.
- CONAB. 2020. Acompanhamento da safra brasileira Grãos. Safra 2019/2020. Décimo levantamento. Julho 2020. v.7 n.10. Brasília. p.1–29.
- DALLA LANA, F.; ZIEGELMANN, P.K.; MAIA, A.D.H.N.; GODOY, C.V.; DEL PONTE, E.M. 2015. Meta-analysis of the relationship between crop yield and soybean rust severity. *Phytopathology* 105, 307–15.
- DELGADO, G.V.; COSTA, L.H.; FREITAS, M.; CAMPOS, A.L.T.; GOMES, P.F.; CAFÉ-FILHO, A.C. 2008. Avaliação da resistência de genótipos de soja a *Colletotrichum dematium* var. *truncatum* por meio de inoculação de sementes. *Tropical Plant Pathology*

33:S281.

- DÉON, M.; SCOMPARIN, A.; TIXIER, A.; MATTOS, C.R.R.; LEROY, T.; SEGUIN, M.; ROECKEL-DREVET, P.; PUJADE-RENAUD, V. 2012. First characterization of endophytic *Corynespora cassiicola* isolates with variant cassicolin genes recovered from rubber trees in Brazil. *Fungal Diversity* 54:87-99.
- DIAS, M.D.; DIAS-NETO, J.J.; SANTOS, M.D.; FORMENTO, N.A.; BIZERRA, L.V.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; CAFÉ-FILHO, A.C. 2019. Current status of soybean anthracnose associated with *Colletotrichum truncatum* in Brazil and Argentina. *Plants* 8:459–478.
- DIAS, M.D. & MARTINS, J.H. 2006. Avaliação da eficiência do controle químico da Antracnose na cultura da soja. In: XXVIII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. Embrapa, pp 265–266
- DIXON, L.J.; SCHLUB, R.L.; PERNEZNY, K.; DATNOFF, L.E. 2009 Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. *Phytopathology* 99: 1015-1027.
- EDWARDS MOLINA, J.P. 2018. Yield losses of soybean due to target spot (*Corynespora cassiicola*), its genetic and chemical management. Tese de doutorado. USP - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, Brasil.
- EDWARDS MOLINA, J.P.; 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.; BALARDIN, R.S.; CARLIN, V.J.; GRIGOLLI, J.F.J.; BELUFI, L.M. de R.; NUNES JUNIOR, J.; GODOY, C.V. 2019a. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. *Plant Pathology* 68:107–115.
- EDWARDS MOLINA, J.P.; 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.; BALARDIN, R.S.; CARLIN, V.J.; GRIGOLLI, J.F.J.; BELUFI, L.M. de R.; GODOY, C.V. 2019b. Meta-analysis of fungicide efficacy on soybean target spot and cost–benefit assessment. *Plant Pathology* 68:94–106.
- ELLIS, M. 1957. Some species of *Corynespora*. *Commonwealth Mycological Institute* 65:15.
- ELLIS, M.B. & HOLLIDAY, P. 1971. *Corynespora cassiicola*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* 303:1-2.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. 2014. *Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014*. Embrapa Soja. Londrina. p.265
- FARR, D.F. & ROSSMAN, A.Y. *Fungal Databases, US National Fungus Collections, ARS, USDA*. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> Consultado em: 10/09/20
- FREIRE, J.R.J. & VERNETTI, F.D.J.V. 1997. Artigo de revisão a pesquisa com soja, a seleção de rizóbio e a produção de inoculantes no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha* 5:1–10.
- FURUKAWA, T.; USHIYAMA, K.; KISHI, K. 2008. *Corynespora* leaf spot of scarlet sage caused by *Corynespora cassiicola*. *Journal of General Plant Pathology* 74:117–119.

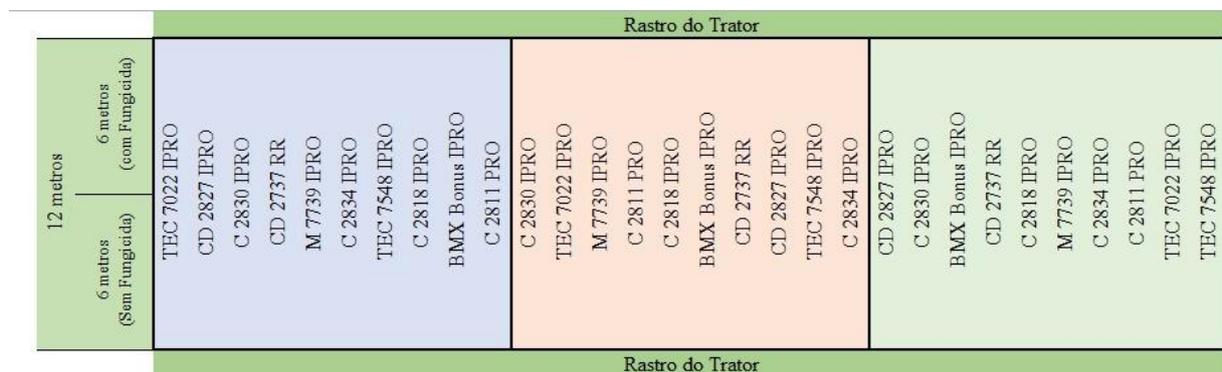
- GALBIERI, R.; ARAÚJO, D.; KOBAYASTI, L.; GIROTTO, L.; MATOS, J.; MARANGONI, M.; ALMEIDA, W.; MEHTA, Y. 2014. *Corynespora* Leaf Blight of Cotton in Brazil and Its Management. American Journal of Plant Sciences 5:3805-3811.
- GODOY, C. V.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C.; DIAS, W.P.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A.; YORINORI, J.T.; FERREIRA, L.P.; SILVA, J.F.V. 2016. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.F.A. Manual de fitopatologia vol 2: doenças de plantas cultivadas. 5ª ed. p. 657-675.
- GODOY C V., UTIAMADA CM, MEYER MC, CAMPOS, H. D.; PIMENTA, C. B.; MIGUEL-WRUCK, D. S. 2017. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular técnica. Embrapa. Londrina p.6.
- GODOY C V., UTIAMADA CM, MEYER MC, CAMPOS, H. D.; LOPES, I.O.N.; DIAS, A. R.; BULHÕES, C.C.; PIMENTA, C. B.; MIGUEL-WRUCK, D. S.; MOREIRA, E.N.; RAMOS JUNIOR, E.U.; BORGES, E.P.; SIQUERI, F.V.; ARAÚJO JUNIOR, I.P.; GRIGOLLI, J.F.J.; NUNES JÚNIOR, J.; BELUFI, L.M.R.; CARREGAL, L.H.; VOLF, M.R.; GOUSSAIN, M.; DIAS, M.D.; MARTINS, M.C.; CARLIN, V.J. 2018. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo, *Corynespora cassiicola*, na cultura da soja, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular técnica. Embrapa. Londrina p.6.
- GONÇALVES, R.C.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. 2016. Armazenamento de microrganismos em cultura com ênfase em fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, E.G. (Eds.) Métodos em Fitopatologia. 2ª ed. p.94-105.
- HARTWIG, E.E. 1959. Effect of target spot on yield of soybeans. Plant Disease Reporter 43:504–505.
- HYMOWITZ, T. 1970. On the domestication of the soybean. Economic Botany 24:408–42.
- KINGSLAND, G.C. 1986. Pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassiicola* in the republic of seychelles. Tropical Pest Management 32:283–287.
- KOENNING, S.R.; CRESWELL, T.C.; DUNPHY, E.J.; SIKORA, E. J.; MUELLER, J. D. 2006. Increased occurrence of target spot of soybean caused by *Corynespora cassiicola* in the southeastern United States. Plant Disease 90:974.
- L S, H C, J S (2008) Fortalecida e agressiva. Rev Cultiv – Gd Cult n. 14:20–2.
- MATSUO, E.; FERREIRA, S.C.; SEDIYAMA, T. 2015a. Botânica e fenologia. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BOREM, A. Soja do plantio à colheita. Editora UFV. Viçosa. p. 27–53.
- MATSUO, E.; LOPES, E.A.; SEDIYAMA, T. 2015b. Manejo de doenças. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BOREM, A. Soja do plantio à colheita. Editora UFV. Viçosa. p.288–309
- MELO, M.M. & REIS, E.M. 2010. Efeito de substratos, luz e sobreposição de papel de filtro na esporulação de *Corynespora cassiicola*. Summa Phytopathologica 36:251–253.

- MELLO, F.E.; SILVA, H.P.; GOMES, G.C.; LOPES, I.O.N.; BALBI-PEÑA, M.I.; GODOY, C.V. 2018. Crescimento micelial radial e esporulação de isolados de *Corynespora cassiicola*. Summa Phytopathologica 44:374–379.
- MENDONÇA, R.F.; RODRIGUES, W.N.; JESUS JÚNIOR, W.C.; SAMBUGARO, R.; MARTINS, L.D. 2012. Mancha de *Corynespora*: desafio para a cultura do café conilon no Estado do Espírito Santo. Enciclopédia Biosfera 8:724–734.
- MESQUINI, R. 2012. Componentes monocíclicos e quantificação de danos no patossistema *Corynespora cassiicola* - soja. Dissertação de mestrado. USP - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, Brasil.
- MUNDSTOCK, C. M. & THOMAS, A.L. 2005. Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos. 1<sup>st</sup> ed. Evangraf. Porto Alegre.
- OERKE, E.C. 2006. Crop losses to pests. The Journal of Agricultural Science. 144:31-43.
- OLIVEIRA, R.R.; AGUIAR, B.M.; TESSMANN, D.J; PUJAD-RENAUD, V.; VIDA, J.B. 2012. Chlamydospore formation by *Corynespora cassiicola*. Tropical Plant Pathology 37:415-418.
- ONESIROSAN, P.T.; ARNY, D.C.; DURBIN, R.D. 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassiicola*. Phytopathology 64:1364–1367.
- PLOPER, L.D. & RAMALLO, N. 1988. Las enfermedades de soja en Tucumán: Evolución, situación actual y recomendaciones para su control. Revista la Asociación Argentina la Soja Año VIII N:29–39.
- QI, Y.; ZHANG, X.; PU, J.; LIU, X.; LU, Y.; ZHANG, H.; LV, Y.; XIE, Y. 2011. Morphological and molecular analysis of genetic variability within isolates of *Corynespora cassiicola* from different hosts. European Journal of Plant Pathology 130:83-95.
- RUPE, J. & SCONYERS, L. 2008. Soybean Rust. APS. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalbasidio/pdlessons/Pages/SoybeanRust.aspx> . Consultado em 13/06/2020.
- SHANER, G. & FINNEY, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. Phytopathology 67:1051–1056.
- SINCLAIR, J. 1982. Compendium of soybean disease. 2<sup>a</sup> ed. The American Phytopathological Society, St Paul.
- SMITH, L.J. 2008. Host range, phylogenetic and pathogenic diversity of *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei. Ph.D. Dissertation. University of Florida, Gainesville. Snow.
- SOARES, R.M.; GODOY, C.V.; OLIVEIRA, M.C.N. 2009. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. Tropical Plant Pathology 34:333-338.
- SOUSA, F.M.G.; BENTES, J.L.S. 2014. Variabilidade de isolados de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei procedentes do Amazonas, em meios de cultura. Summa Phytopathologica 40:84–87.

- SUMABAT, L.G.; KEMERAIT, R.C.; BREWER, M.T. 2018a. 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* 108:892–901.
- SUMABAT, L.G.; KEMERAIT, R.C.; KIM, D.K.; MEHTA, Y.R.; BREWER, M.T. 2018b. Clonality and geographic structure of host-specialized populations of *Corynespora cassiicola* causing emerging target spot epidemics in the southeastern United States. *PLoS One* 13:1–19.
- TERAMOTO, A.; MACHADO, T.A.; SANTOS, L.M.; VOLF, M. R.; MEYER, M. C.; CUNHA, M. G. 2013a. Reação de cultivares de soja à *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology* 38:68–71.
- TERAMOTO, A.; PARISI, M.; CUNHA, M. 2013b. Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology* 38:313–322.
- USDA 2020. World Agricultural Production. Circular Series WAP 3-20. Washington DC: USDA/FAS, 32p.
- VANDERPLANK, J.E. 1963. *Plant Diseases: Epidemics and Control*. Academic Press. New York.
- WEI, C. 1950. Notes on *Corynespora*. *Mycol. Pap.* 34:1-10.
- XAVIER, S.A.; CANTERI, M.G.; BARROS, D.C.M.; GODOY, C.V. 2013. Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. *Tropical Plant Pathology* 38:431-435.
- YORINORI, J.T. 1989. Levantamento e avaliação da situação de doenças da soja na safra 1987/88. *In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Londrina, p.158-159.*
- YORINORI, J.T. 2007. Característica 36. Reação à mancha alvo (*Corynespora cassiicola*). *In: Anexo II - INSTRUÇÕES PARA EXECUÇÃO DOS ENSAIOS DE DISTINGUIBILIDADE, HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE DE CULTIVARES DE SOJA (Glycine max Merrill). MAPA. p.19-22.*
- YORINORI, J.T.; CHARCHAR, M.J.D.; NASSER, L.C.B.; HENNING, A.A. 1993. Doenças da soja e seu controle. *In: ARANTES, N.E. & SOUZA, P.I.M. (eds) Cultura da soja nos cerrados. POTAFOS. Uberaba p. 333–397.*
- ZADOKS, J.C. & SCHEIN, R.D. 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*. Oxford University Press. New York. p.427.

# ANEXOS

**Figura 1.** Esquemática dos ensaios de campo contendo os tratamentos (cultivares) e subparcelas com e sem fungicidas, distribuídos em três blocos casualizados.



**Tabela 1.** Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de primavera/verão, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05).

COMPARAÇÃO <sup>A</sup>	ESTATÍSTICA DE TESTE	ERRO PADRÃO	ERRO PADRÃO DA ESTATÍSTICA	SIG.	ADJ. SIG. <sup>B</sup>
CD2827-TEC7548	-19,883	21,602	-0,920	0,357	1,000
CD2827-C2834	-22,150	21,602	-1,025	0,305	1,000
CD2827-C2811	-22,150	21,602	-1,025	0,305	1,000
CD2827-C2830	54,150	21,602	2,507	0,012	0,548
CD2827-BONUS	-56,717	21,602	-2,626	0,009	0,389
CD2827-M7739	-56,917	21,602	-2,635	0,008	0,379
CD2827-C2818	-70,917	21,602	-3,283	0,001	0,046
CD2827-TEC7022	-91,133	21,602	-4,219	0,000	0,001
CD2827-CD2737	-128,150	21,602	-5,932	0,000	0,000
TEC7548-C2834	-2,267	21,602	-0,105	0,916	1,000
TEC7548-C2811	-2,267	21,602	-0,105	0,916	1,000
TEC7548-C2830	34,267	21,602	1,586	0,113	1,000
TEC7548-BONUS	-36,833	21,602	-1,705	0,088	1,000
TEC7548-M7739	-37,033	21,602	-1,714	0,086	1,000
TEC7548-C2818	-51,033	21,602	-2,362	0,018	0,817
TEC7548-TEC7022	-71,250	21,602	-3,298	0,001	0,044
TEC7548-CD2737	-108,267	21,602	-5,012	0,000	0,000
C2834-C2830	32,000	21,602	1,481	0,139	1,000
C2811-C2830	32,000	21,602	1,481	0,139	1,000
C2834-CD2737	106,000	21,602	4,907	0,000	0,000
C2811-CD2737	106,000	21,602	4,907	0,000	0,000
C2834-C2811	0,000	21,602	0,000	1,000	1,000
C2834-BONUS	-34,567	21,602	-1,600	0,110	1,000
C2834-M7739	-34,767	21,602	-1,609	0,108	1,000

C2834-C2818	-48,767	21,602	-2,258	0,024	1,000
C2834-TEC7022	-68,983	21,602	-3,193	0,001	0,063
C2811-BONUS	-34,567	21,602	-1,600	0,110	1,000
C2811-M7739	-34,767	21,602	-1,609	0,108	1,000
C2811-C2818	-48,767	21,602	-2,258	0,024	1,000
C2811-TEC7022	-68,983	21,602	-3,193	0,001	0,063
C2830-BONUS	-2,567	21,602	-0,119	0,905	1,000
C2830-M7739	-2,767	21,602	-0,128	0,898	1,000
C2830-C2818	-16,767	21,602	-0,776	0,438	1,000
C2830-TEC7022	-36,983	21,602	-1,712	0,087	1,000
C2830-CD2737	-74,000	21,602	-3,426	0,001	0,028
BONUS-M7739	0,200	21,602	0,009	0,993	1,000
BONUS-C2818	-14,200	21,602	-0,657	0,511	1,000
BONUS-TEC7022	34,417	21,602	1,593	0,111	1,000
BONUS-CD2737	71,433	21,602	3,307	0,001	0,042
M7739-C2818	-14,000	21,602	-0,648	0,517	1,000
M7739-TEC7022	-34,217	21,602	-1,584	0,113	1,000
M7739-CD2737	71,233	21,602	3,298	0,001	0,044
C2818-TEC7022	20,217	21,602	0,936	0,349	1,000
C2818-CD2737	57,233	21,602	2,649	0,008	0,363
TEC7022-CD2737	37,017	21,602	1,714	0,087	1,000

<sup>a</sup> Comparação por pares entre os valores de *P* para os tratamentos (cultivares). Cada linha testa a hipótese nula em que as distribuições Amostra 1 e Amostra 2 são iguais.

<sup>b</sup> Os valores de significância foram ajustados pela correção Bonferroni para vários testes, rejeitando-se a hipótese de nulidade quando  $P < 0,05$ .

**Tabela 2.** Diferença de severidade média das cultivares do cultivo de outono/inverno, pelo método de Kruskal-Wallis (0,05).

COMPARAÇÃO <sup>A</sup>	ESTATÍSTICA DE TESTE	ERRO PADRÃO	ERRO PADRÃO DA ESTATÍSTICA	SIG.	ADJ. SIG. <sup>B</sup>
C2834-TEC7548	8,925	16,972	0,526	0,599	1,000
C2834-C2830	11,925	16,972	0,703	0,482	1,000
C2834-CD2827	15,475	16,972	0,912	0,362	1,000
C2834-M7739	-19,075	16,972	-1,124	0,261	1,000
C2834-C2818	-19,450	16,972	-1,146	0,252	1,000
C2834-TEC7022	-29,775	16,972	-1,754	0,079	1,000
C2834-C2811	-38,225	16,972	-2,252	0,024	1,000
C2834-BONUS	-48,725	16,972	-2,871	0,004	0,184
C2834-CD2737	95,675	16,972	5,637	0,000	0,000
TEC7548-C2830	3,000	16,972	0,177	0,860	1,000
TEC7548-CD2827	6,550	16,972	0,386	0,700	1,000
TEC7548-M7739	-10,150	16,972	-0,598	0,550	1,000
TEC7548-C2818	-10,525	16,972	-0,620	0,535	1,000
TEC7548-TEC7022	-20,850	16,972	-1,229	0,219	1,000
TEC7548-C2811	-29,300	16,972	-1,726	0,084	1,000

