

Levantamento de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, em municípios da região Oeste do Estado do Paraná

Alexandre Dinnys Roese, Ricardo David Romani, Cleber Furlanetto, José Renato Stangarlin* e Roberto Luis Portz

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Rua Pernambuco 1777, C. P. 91, 85960-000, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. *Author for correspondence. e-mail: jrstangarlin@unioeste.br

RESUMO. Com o objetivo de se conhecer os possíveis agentes infecciosos causadores de perdas econômicas no cultivo da soja, *Glycine max* (Leguminosae-Faboideae), foi realizado na região Oeste do Estado do Paraná um levantamento das doenças que ocorrem nesta cultura. Foram avaliadas 126 propriedades distribuídas nos municípios de Marechal Cândido Rondon, Quatro Pontes, Toledo, Pato Bragado, Santa Helena, Nova Santa Rosa, Mercedes, Palotina e Terra Roxa. A metodologia de avaliação consistiu na coleta de plantas sintomáticas nas áreas amostradas e posterior análise do quadro sintomatológico, herborização dos materiais coletados e estudo dos caracteres morfológicos dos agentes causais, envolvendo o preparo de lâminas semipermanentes para fungos e nematóides e o cultivo de fungos em meio BDA. Comparação do padrão perineal e observação do fenótipo isoenzimático para a enzima esterase foram realizadas para a diferenciação de espécies de *Meloidogyne*. Também foi avaliada a incidência de doenças em amostras de sementes que foram utilizadas na safra 1997/98. As análises permitiram a identificação de vinte e um agentes causais de doenças, sendo quinze de etiologia fúngica, um de etiologia bacteriana, um de etiologia viral e quatro associadas a nematóides. Dentre estas, as mais disseminadas foram míldio, oídio, crestamento bacteriano e galhas, causadas por *M. javanica* e *M. incognita*. Pelo teste de sanidade, verificou-se que sementes de 16 cultivares de soja apresentaram *Fusarium* sp., *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Phomopsis* sp.

Palavras-chave: *Glycine max*, soja, doenças.

ABSTRACT. Survey of diseases in soybean, *Glycine max* (L.) Merrill, in the municipalities of western Paraná. A survey was carried out in the western region of Parana, Brazil, to assess the occurrence and to identify diseases afflicting soybean, *Glycine max* (Leguminosae-Faboideae), particularly those of economic importance. Plant samples were collected from 126 commercial soybean crops growing in nine administrative areas: Marechal Cândido Rondon, Quatro Pontes, Toledo, Pato Bragado, Santa Helena, Nova Santa Rosa, Mercedes, Palotina and Terra Roxa. Samples were taken from plants showing symptoms of diseases proper to the crop. Disease symptomatology was recorded, and standard laboratory procedures, including preparation of permanent microscope slides with fungi, nematodes and fungus culture, on media culture PDA, were done to determine the causal agent of the diseases recorded. Perinial pattern and analysis of esterase phenotype were compared for the identification of *Meloidogyne* spp. nematodes recovered during the survey. Twenty-one causal agents of diseases in soybean were identified during this survey. They consisted of fifteen fungi, one bacterium, one virus and four nematode species. The most widespread were Downy Mildew, Powdery Mildew, Bacterial Blight and the root-knot nematodes *M. javanica* and *M. incognita* nematosis. In a complementary study samples were collected from commercial seed lots of 16 soybean cultivars. Some lots were found to be contaminated by *Fusarium* sp., *Colletotrichum dematium* var. *truncata* and *Phomopsis* sp.

Key words: *Glycine max*, soybean, diseases.

A soja é uma cultura de grande relevância na balança comercial brasileira e no suprimento do mercado interno. Dentre as regiões produtoras, o Estado do Paraná destaca-se como uma das maiores,

sendo a soja responsável por 20% da produção agropecuária do estado. No Oeste desse estado, a cultura tem importância social e econômica pela elevada produtividade e pela extensão da área

cultivada, constituindo-se em uma das principais regiões produtoras do estado (DERAL/SEAB, 2000).

Apesar da elevada produtividade por área, perdas de produção ocorrem devido ao ataque de patógenos de etiologia variada. Somente no Brasil, são responsáveis pela ocorrência de 45 doenças, das quais 28 ocasionadas por fungos e 8 por vírus, sendo que bactérias e nematóides somam 3 doenças cada, além de mais 3 doenças de etiologia desconhecida (Almeida *et al.*, 1997; Yorinori, 1997; Embrapa, 2000). Perdas superiores a 20% da produção nacional, ou seja, 4 milhões de ton/ano foram estimadas somente para doenças de final de ciclo (Embrapa, 2000). Desta forma, considerando o restante dos patógenos que afetam a cultura da soja no Brasil, perdas superiores às apresentadas acima podem ser esperadas.

A identificação de patógenos em culturas constitui-se em requisito fundamental para a orientação e adoção de medidas de controle, tendo em vista as particularidades de cada região e de cada cultura. Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar a ocorrência de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (Leguminosae-Faboideae), no Oeste do Estado do Paraná, com base na importância social e econômica desta cultura e na carência de dados representativos para esta região.

Material e métodos

Este levantamento foi realizado por meio da análise de amostras coletadas em nove localidades e, também, de materiais enviados aos Laboratórios de Fitopatologia e Nematologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE. As amostras foram coletadas em diferentes estádios da cultura, nas safras 1997/98 e 1998/99, em 126 propriedades distribuídas em municípios pertencentes ao núcleo regional de Toledo, localizados na região Oeste do Estado do Paraná (municípios de Marechal Cândido Rondon, Quatro Pontes, Toledo, Pato Bragado, Santa Helena, Nova Santa Rosa, Mercedes, Palotina e Terra Roxa).

A metodologia de avaliação compreendeu a coleta de plantas de soja com sintomas de doenças junto às áreas produtoras e a posterior diagnose. A identificação dos patógenos envolveu a herborização de plantas doentes (Fidalgo e Bononi, 1989), análise sintomatológica, isolamento de fungos em meio BDA, preparo de lâminas semipermanentes para fungos e análise da configuração perineal e do padrão isoenzimático de nematóides (Seinhorst, 1959). Além da determinação das doenças, procedeu-se à avaliação da qualidade sanitária das sementes.

Isolamento e identificação de fungos. Os fungos foram isolados por indução de crescimento do micélio, por esporulação induzida ou por isolamento direto dos sinais do patógeno (Fernandez, 1993). A identificação foi realizada pela observação das estruturas fúngicas obtidas e/ou produzidas em meio de cultivo após o isolamento.

Identificação de espécies de *Meloidogyne* (Nematoda) pela configuração perineal.

Utilizou-se metodologia descrita por Tihohod (1993). Galhas com fêmeas maduras foram selecionadas e, sob microscópio estereoscópico, as fêmeas (no mínimo 10), foram removidas com o auxílio de estilete para placas de Petri contendo 2 a 3 gotas de ácido láctico 45%. Terminada a extração, foram colocadas sobre uma lâmina de vidro com uma gota de ácido láctico 45%. A região anterior do corpo foi cortada e o conteúdo do nematóide, removido através de leve pressão. A partir daí foram preparados 10 cortes perineais de cada amostra coletada, os quais foram dispostos em lâmina de microscopia contendo uma gota de glicerina. Com o auxílio de um estilete, posicionaram-se os cortes perineais no fundo da gota, pressionando-os levemente e enfileirando-os para facilitar a observação ao microscópio ótico. Foram colocados 10 cortes em cada lâmina. As lâminas foram cobertas com lamínula, seladas com esmalte e etiquetadas. Após a preparação das lâminas, foi realizada a identificação, de acordo com Taylor e Sasser (1983).

Identificação de espécies de *Meloidogyne* pelo padrão de esterase.

Foi utilizada a metodologia descrita por Kunieda *et al.* (1995, 1998) e Ibrahim e Perry (1993). O extrato protéico para análise de isoenzimas de cada amostra foi obtido de sete fêmeas de coloração leitosa. A eletroforese foi realizada em aparelho vertical modelo MG-202 (Scientific Company), com gel de poli(acrilamida na concentração de 8,23%). Para visualização das bandas de esterase, foi utilizada solução corante com α -nafitil acetato e *fast blue* RR (Alfenas *et al.*, 1998).

Teste de sanidade de sementes. Foram analisadas amostras das 16 cultivares de soja mais semeadas na região Oeste e oriundas de campos de produção de sementes no Estado do Paraná, município de Palotina, e no Estado de Santa Catarina: Embrapa 48, 58, 62 e 136; BRS 16 e 132; OC 13 e 14; Engopa 313; FT 2000 e 2002; CD 201, 202, 203, 204 e 206. Para a análise, utilizou-se o método do papel de filtro ou teste *Blotter* em caixas plásticas, tipo gerbox de 15 x 15 cm, com três folhas de papel de filtro

estéreis umedecidas com solução de 2,4-D a 0,02%. Em cada uma, foram dispostas 20 sementes, totalizando 80 sementes por tratamento, com 4 repetições. A incubação foi a 25 °C sob regime de 12 h de luz branca fluorescente, de acordo com Goulart (1997).

Resultados e discussão

A partir da observação de sintomas, estruturas fúngicas e configuração perineal e padrão isoenzimático dos nematóides, conforme procedimentos anteriormente descritos, foi possível identificar 21 patógenos infectando a cultura da soja: 15 fungos, 1 bactéria, 1 vírus e 4 nematóides (Tabela 1). A identificação do vírus e da bactéria foi baseada apenas na sintomatologia. Todos os patógenos encontrados são endêmicos em regiões produtoras de soja no Brasil, com exceção de *Tubixaba tuxaua*, relatado apenas no Oeste do Estado do Paraná (Monteiro e Lordelo, 1980; Vovlas *et al.*, 1987; Roese e Furlanetto, 1998) e *Heterodera glycines*, o qual, com relação ao Estado do Paraná, só havia sido relatada a sua ocorrência na região Norte e no município de Tupãssi (Silva, J.F.V., 2001 – Embrapa Soja, Londrina – comunicação pessoal). Vale salientar que, dentre as cultivares de soja recomendadas e cultivadas no Oeste do Estado, predominam aquelas resistentes à maioria dos fungos, bactérias e vírus relatadas na presente avaliação. Por outro lado, poucas são as cultivares com resistência aos nematóides identificados.

De 126 propriedades amostradas, aproximadamente 50% estavam contaminadas com nematóides das galhas, sendo *M. javanica* em 22% das áreas e *M. incognita* em 27% (Tabela 2). Na maioria das áreas amostradas, verificou-se a ocorrência de ambas as espécies citadas, com exceção de Terra Roxa e Mercedes que apresentaram apenas *M. incognita*. Este resultado realça a importância da adoção de práticas agrícolas que minimizem os efeitos adversos destes patógenos na produção e a prevenção contra a disseminação para novos municípios.

A ocorrência de *T. tuxaua* foi limitada aos municípios de Quatro Pontes e Toledo, os quais representam apenas 2,4% das áreas avaliadas (Tabela 2). O nematóide de cisto da soja (NCS) (*H. glycines*), até o momento, foi constatado em duas propriedades localizadas no município de Tupãssi, em uma no município de Assis Chateaubriand e outra em área de cultivo orgânico de soja em Porto Mendes, distrito de Marechal Cândido Rondon, conforme amostras enviadas para análise no Laboratório de Nematologia, em abril de 2001. Atualmente, está

sendo realizado, em parceria com a Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná (SEAB) – Departamento de Fiscalização (DEFIS) – Divisão de Defesa Sanitária Vegetal (DDSV) – núcleos regionais de Toledo e Cascavel, um trabalho específico para verificar a ocorrência do NCS na região Oeste do Estado do Paraná.

Tabela 1. Patógenos associados a cultivares de soja cultivadas na região Oeste do Estado do Paraná, avaliados nas safras 1997, 1998 e 1999

Doença	Patógeno
Antracnose	<i>Colletotrichum dematium</i> var. <i>truncata</i> ¹
Cancro da haste	<i>Diaporthe phaseolorum</i> f.sp. <i>meridionalis</i>
Cercosporiose ou mancha olho-de-rã	<i>Cercospora sojae</i>
Crestamento bacteriano	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>
Crestamento foliar de Cercospora	<i>Cercospora kikuchii</i> ²
Ferrugem	<i>Phakopsora pachyrhizi</i>
Podridão preta de Macrophomina	<i>Macrophomina phaseolina</i>
Mancha foliar de Myrothecium	<i>Myrothecium rostratum</i>
Mancha alvo	<i>Corynespora cassiicola</i>
Mancha parda	<i>Septoria glycines</i>
Mancha de Tubixaba	<i>Tubixaba tuxaua</i>
Meloidoginose	<i>Meloidogyne incognita</i>
Meloidoginose	<i>Meloidogyne javanica</i>
Míldio	<i>Peronospora manshurica</i>
Mosaico comum	Vírus do mosaico comum da soja
Oídio	<i>Microspheera diffusa</i>
Podridão radicular de Rosellinia	<i>Rosellinia</i> sp.
Podridão vermelha da raiz	<i>Fusarium</i> sp. ¹
Seca da haste e da vagem	<i>Phomopsis sojae</i> ¹
Tombamento e murcha de Sclerotium	<i>Sclerotium rolfsii</i>

¹Patógenos encontrados também em testes de sanidade de sementes; ²Patógeno encontrado em campos de produção de soja para grãos

Tabela 2. Espécies de nematóides encontrados associados à cultura da soja em municípios da região Oeste do Estado do Paraná, durante os anos de 1997, 1998 e 1999

Municípios	Propriedades avaliadas	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	<i>Tubixaba tuxaua</i>	Amostras sadias
M. C. Rondon	32	13	12	0	7
Quatro Pontes	13	01	01	2	9
Toledo	18	0	08	1	9
Pato Bragado	10	06	03	0	1
Santa Helena	06	02	01	0	3
Nova Santa Rosa	12	04	02	0	6
Mercedes	13	01	0	0	12
Palotina	12	05	01	0	6
Terra Roxa	10	02	0	0	8
Total	126	34	28	3	61
Porcentagem	100	27	22	2,4	48

Observação: a identificação do nematóide de cisto da soja ocorreu através da análise de amostras enviadas ao Laboratório de Nematologia da UNIOESTE em 2001

As doenças com maior frequência foram oídio, míldio e crestamento bacteriano (Tabela 3). *M. diffusa* foi identificada principalmente em soja “safrinha”, devido, provavelmente, à seca prolongada que ocorreu na região Oeste do Estado durante a safra 97/98 (Romani, 1999). Os danos potenciais dessas espécies de fungos à produção de soja são evitados com o uso de cultivares resistentes, o que torna esta prática imprescindível para a manutenção de um baixo nível de inóculo no campo e, também,

à obtenção de uma melhor produtividade. Patógenos habitantes do solo, a exemplo de *Fusarium* sp., *M. phaseolina*, *Rosellinia* sp. e *S. rolfsii*, foram observados em poucas propriedades e em áreas de solos compactados e com excesso de umidade (Romani, 1999). Doenças potencialmente importantes, como o cancro da haste, a mancha olho-de-rã e a antracnose, não se mostraram danosas à soja devido ao uso de cultivares resistentes adaptadas à região Oeste do Estado do Paraná (Embrapa, 2000).

Tabela 3. Distribuição de doenças na cultura da soja em relação a municípios da região Oeste do Paraná, conforme levantamento realizado entre os anos de 1997 e 1999

Doença	Municípios
Antracnose	M. C. Rondon, Palotina, Terra Roxa, Santa Helena
Cancro da haste	M. C. Rondon
Crestamento bacteriano	Assis Chateaubriant, M. C. Rondon, Pato Bragado, Palotina, Terra Roxa
Crestamento Foliar de <i>Cercospora</i>	M. C. Rondon, Palotina, Nova Santa Rosa, Mercedes, Terra Roxa, Santa Helena
Ferrugem	M. C. Rondon, Palotina
Podridão preta	M. C. Rondon, Palotina
Mancha de <i>Myrothecium</i>	M. C. Rondon
Mancha olho de rã	M. C. Rondon, Santa Helena
Mancha alvo	M. C. Rondon, Santa Helena
Míldio	M. C. Rondon, Nova Santa Rosa, Pato Bragado, Mercedes, Palotina, Terra Roxa, Toledo
Mosaico comum da soja (sintoma foliar e mancha café)	M. C. Rondon, Palotina
Oídio	M. C. Rondon, Pato Bragado, Nova Santa Rosa, Mercedes, Palotina, Toledo, Santa Helena
Seca da Haste e da Vagem	M. C. Rondon, Toledo
Podridão de <i>Rosellinia</i>	M. C. Rondon
Podridão vermelha da raiz	M. C. Rondon
Murcha de <i>Sclerotium</i>	M. C. Rondon, Pato Bragado, Nova Santa Rosa, Palotina
Septoriose	M. C. Rondon

A adoção de sistemas de rotação/sucessão de culturas por um período mínimo de um a dois anos, aliado ao uso de algumas cultivares com resistência genética, tem favorecido o controle de nematóides das galhas (Roese, 1999). Para *T. tuxaua*, provavelmente por ser de ocorrência restrita à região Oeste e de pouca importância econômica, não há dados na literatura indicando sistemas de rotação viáveis ou mesmo outras medidas de controle, apesar de que, em áreas de trigo e soja infectadas com esse patógeno, tem-se relatado a ocorrência de perdas de produção (Antonio e Carneiro, 1981; Carneiro e Carneiro, 1983).

A incidência de *Fusarium* sp., *P. sojae* e *C. dematium* var. *truncata* nas sementes das cultivares avaliadas está representada na Figura 1. Tais patógenos ocasionam doenças importantes para a cultura da soja e, se introduzidos, podem promover perdas significativas (Goulart, 1997). Apesar de não ter sido detectada nos testes de sanidade de sementes, *C. kikuchii* é de ocorrência comum em

campos de produção de grãos de soja no Oeste do Estado do Paraná.

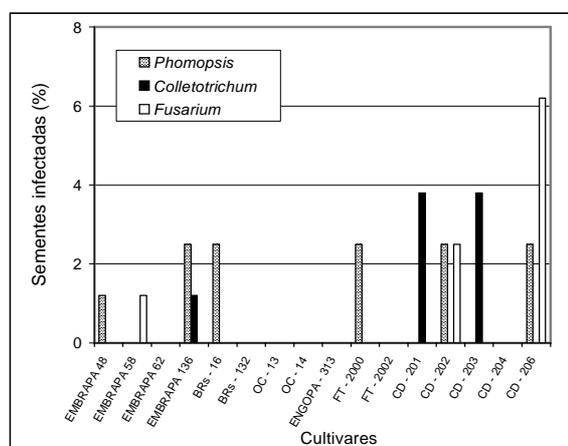


Figura 1. Fungos patogênicos associados à cultura da soja e a sementes de diferentes cultivares colhidas na região Oeste dos Estados do Paraná e Santa Catarina

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Ricardo Montalván Del Águila pela revisão do manuscrito e ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica a Alexandre D. Roese.

Referências

- ALFENAS, A. C. et al. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins* (fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos). Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1998. cap. 2. p. 85-114.
- ALMEIDA, A. M. R. et al. Doenças da soja (*Glycine max* L.). In: KIMATI, H. et al. *Manual de fitopatologia* (doenças das plantas cultivadas). São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1997. cap. 61. p. 642-664.
- ANTONIO, H.; CARNEIRO, M. D. G. Observações preliminares do parasitismo do nematóide *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello em raízes de soja. *Fitopatol. Bras.*, Brasília, v. 6 (suplemento), p.538, 1981.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G. Estudos preliminares sobre o nematóide *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello na cultura do trigo no sudoeste do Paraná. *Soc. Bras. Nematol. Publ.*, Piracicaba, v. 7, p.251-259, 1983.
- DERAL/SEAB - Soja. Curitiba: Departamento de Economia Rural/Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná, 2000.
- EMBRAPA. *Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 2000/01*. Londrina: Embrapa Soja, 2000.
- FERNANDEZ, M. R. *Manual para laboratório de Fitopatologia*. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1993.

- FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989.
- GOULART, A. C. P. *Fungos em sementes de soja: detecção e importância*. Dourados: Embrapa-CPAO, 1997.
- IBRAHIM, S. K.; PERRY, R. N. Use of esterase patterns of females and agalled roots for the identification of species of *Meloidogyne*. *Fundam. Appl. Nematol.*, Paris, v. 16, p.187-191, 1993.
- KUNIEDA, S. *et al.* Análise de isoenzimas para identificação de espécies de *Meloidogyne*. *Fitopatol. Bras.*, Brasília, v. 20, p.20-23, 1995.
- KUNIEDA, S.; ALFENAS, A. C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos*. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1998. cap. 12. p. 525-543.
- MONTEIRO, A. R.; LORDELLO, L. G. *Tubixaba tuxaua* N.G. N.SP., a suspected parasitic nematode of soybean roots (Aporcelaimidae). *Rev. Agricult.*, Piracicaba, v. 55, p.301-304, 1980.
- ROESE, A. D.; FURLANETTO, C. Detecção de nematóides na cultura da soja no oeste do Paraná. *Fitopatol. Bras.*, Brasília, v. 23 (suplemento), p.309, 1998.
- ROESE, A. D. *Nematóides patogênicos à cultura da soja em Marechal Cândido Rondon e municípios vizinhos*. 1999. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 1999.
- ROMANI, R. D. *Ocorrência de doenças na cultura da soja [Glycine max (L.) Merrill] em Marechal Cândido Rondon e municípios vizinhos*. 1999. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 1999.
- SEINHORST, J. W. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, Leiden, v. 4, p.67-69, 1959.
- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. *Biología, identificación y control de los nematodos del nódulo de la raíz*. Carolina del Norte: Agencia de Estados Unidos para Desarrollo Internacional, 1983.
- TIHOHOD, D. *Nematologia Agrícola Aplicada*. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1993.
- VOVLAS, N. *et al.* Morphological characteristics of *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello (Nematoda: Aporcelaimidae). *Nematol. Bras.*, v. 11, p.293-299, 1987.
- YORINORI, J. T. Soja [*Glycine max* (L.) Merrill] – Controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). *Controle de doenças de plantas: grandes culturas*, v. 2. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa; Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997, cap. 21. p. 953-1024.

Received on June 01, 2001.

Accepted on September 11, 2001.