

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**Identificação, caracterização e controle de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp.  
isolados de plântulas de soja no sul do Brasil**

UPF

Passo Fundo

2022

CLEISLA MOLIN

Identificação, caracterização e controle de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp.  
isolados de plântulas de soja no sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de mestre em Agronomia.

Orientadora:  
Dra. Carolina Cardoso Deuner

Coorientadora:  
Ph.D. Jaqueline Huzar-Novakowiski

Passo Fundo

2022

CIP – Catalogação na Publicação

---

M722i Molin, Cleisla  
Identificação, caracterização e controle de  
*Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. isolados de plântulas de  
soja no sul do Brasil / Cleisla Molin. – 2022.  
136 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner.  
Coorientadora: Profa. Dra. Jaqueline Huzar-Novakowski.  
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de  
Passo Fundo, 2022.

1. Soja - Plantio. 2. Soja - Doenças e pragas. 3. Soja -  
Resistência a doenças e pragas - Aspectos genéticos. 4. pragas  
agrícolas - Controle. I. Deuner, Carolina Cardoso, orientadora.  
II. Huzar-Novakowski, Jaqueline, coorientadora. III. Título.

CDU: 633.34

---

Catalogação: Bibliotecário Luís Diego Dias de S. da Silva – CRB 10/2241



**PPGAgro**  
Programa de Pós-Graduação  
em Agronomia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

**“Identificação, caracterização e controle de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. isolados de plântulas de soja no sul do Brasil”**

Elaborada por

**Cleisia Molin**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em  
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

**Aprovada em: 18/04/2022**  
Pela Comissão Examinadora

**Dra. Carolina Cardoso Deuner**  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora - UPF

**Dra. Neucimara Rodrigues Ribeiro**  
Examinador externo  
GDM Seeds

**Dra. Jaqueline Huzar Novakowski**  
Coorientadora  
Examinador interno  
UPF

**Dra. Nadia Canali Lângaro**  
Coordenadora do PPGAgro  
UPF

**Dr. Erlei Melo Reis**  
Examinador externo  
Pesquisador Independente

**Dr. Eraldo Lourenso Zanella**  
Diretor da Faculdade de Agronomia e  
Medicina Veterinária – FAMV/UPF

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, minha motivação e força para trilhar o caminho. A minha família e todos que me auxiliaram durante essa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo.

Agradeço aos meus pais Valdecir e Marli Molin, por toda força, incentivo, e ajuda na realização do mestrado, obrigada por me ajudarem financeiramente nesse projeto.

Ao meu irmão Gledison, que sempre foi meu incentivo na caminhada como Engenheira Agrônoma, me mostrando a grandiosidade que temos na agricultura, trazendo-me amor pela profissão. A minha cunhada Marciele e minha sobrinha e a afilhada Manuela, por sempre estarem presentes alegrando-nos e apoiando sempre. A toda minha família pelo incentivo e motivação.

A orientadora Dra. Carolina Cardoso Deuner que aceitou me orientar durante esse mestrado, obrigada por todos os ensinamentos.

A minha coorientadora Ph.D. Jaqueline Huzar Novakowiski, por todo suporte e ajuda.

Tu sempre serás exemplo profissional para mim, de pessoa dedicada e inteligente.

Sempre ajudou e me fez ver que sempre era capaz de realizar os ensaios e escrever, e assim o objetivo de ter artigo publicado foi realizado. Obrigada por todo ensinamento.

A GDM Seeds, a Neucimara, Norio, Nizio, Joel, e Bernardo e a toda equipe, por todo suporte nesse projeto, parceria e pela bolsa de estudos disponibilizada.

Aos estagiários Kelen Bordignon, Mauricio Barbieri e ao mestrando Maicon Balbinotti pela ajuda durante os ensaios. E todas as outras pessoas que me ajudaram nos ensaios. A todos os colegas de mestrado que sempre estiveram juntos nessa caminhada de estudos.

A Cinara Cardoso pela ajuda no Laboratório de Fitopatologia.

Obrigada a todos meus supervisores na FT Sementes, Bocchi Agrobios e Soma

Estratégias, que sempre apoiaram e incentivaram essa caminhada.

*“Se não há desafios, não há transformação.”*

*Fred Devito*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>14</b>
	2.1 <i>Importância da cultura da soja no Brasil e no mundo</i>	14
	2.2 <i>Patógenos que causam tombamento na cultura da soja</i>	15
	2.3 <i>Classificação taxonômica de <i>Globisporangium</i> e <i>Pythium</i></i>	17
	2.4 <i>Sintomas da doença</i>	20
	2.4 <i>Ciclo da doença</i>	21
	2.5 <i>Epidemiologia</i>	23
	2.6 <i>Manejo da doença</i>	24
	2.6.1 <i>Controle químico</i>	25
	2.6.2 <i>Controle genético</i>	27
	2.6.3 <i>Controle cultural</i>	28
	2.6.4 <i>Controle biológico</i>	29
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I</b>	<b>31</b>
	3.1 <i>Resumo</i>	31
	3.2 <i>Introdução</i>	32
	3.3 <i>Material e métodos</i>	35
	3.3.1 <i>Amostras de plântulas de soja</i>	35
	3.3.2 <i>Procedimento de isolamento</i>	36
	3.3.3 <i>Identificação morfológica</i>	38
	3.3.4 <i>Identificação molecular</i>	38
	3.3.5 <i>Temperatura ideal para crescimento micelial</i>	39
	3.3.6 <i>Teste de patogenicidade e agressividade em sementes de soja</i>	39
	3.3.7 <i>Teste de patogenicidade e agressividade na raiz de soja</i>	42
	3.4 <i>Resultados</i>	44
	3.5 <i>Discussão</i>	51
	3.6 <i>Conclusão</i>	55
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II</b>	<b>56</b>
	4.1 <i>Resumo</i>	56
	4.2 <i>Introdução</i>	57
	4.3 <i>Materiais e métodos</i>	59
	4.3.1 <i>Localização do estudo e origem dos isolados</i>	59



4.3.2 Cultivares de soja	60
4.3.3 Procedimento para o tratamento de sementes	60
4.3.4 Tratamentos de sementes	61
4.3.5 Ensaio de podridão de sementes	62
4.3.6 Ensaio de podridão de raiz	63
4.3.7 Análise estatística	64
4.4 Resultados	65
4.4.1 Eficácia do tratamento de sementes para <i>G. irregulare</i>	65
4.4.2 Eficácia de tratamentos de sementes para <i>G. ultimum var. sporangiiferum</i>	69
4.5 Discussão	74
4.6 Conclusão	78
<b>5 CAPÍTULO III</b>	<b>79</b>
5.1 Resumo	79
5.2 Introdução	80
5.3 Material e métodos	81
5.3 Resultados e Discussão	84
5.5 Conclusão	93
<b>6. CAPÍTULO IV</b>	<b>95</b>
6.1 Resumo	95
6.2 Introdução	96
6.3 Material e métodos	98
5.4 Resultados	102
6.5 Discussão	117
6.6 Conclusão	120
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>121</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	<b>128</b>

## RESUMO

O tombamento de plântulas de soja é um problema comum em vários campos no sul do Brasil. No entanto, há limitada informação sobre quais espécies de *Globisporangium* e *Pythium* podem ser encontradas causando tombamento assim como métodos de controle que são mais eficazes para manejo da doença. Assim, os objetivos deste estudo foram i) isolar, identificar e determinar a patogenicidade e agressividade de oomicetos isolados de plântulas de soja; ii) avaliar a eficiência do controle químico por meio do tratamento de sementes; iii) verificar a eficiência do aumento de doses de produtos à base de metalaxil-M; e iv) caracterizar a reação de cultivares de soja a *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. Inicialmente, 33 isolados de oomicetos foram obtidos de 13 campos, sendo que nove espécies foram recuperadas: *G. rostratifingens*, *G. irregulare*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* e *P. torulosum*. Assim, os resultados apontaram que todos os isolados foram patogênicos à soja, mas há diferenças nos níveis de agressividade. Em seguida, foi avaliada a eficiência de 15 tratamentos de sementes (testemunha não tratada, Certeza N, Apron RFC, Maxim, Maxim XL, Maxim Quattro, Maxim Advanced, Vitavax Thiram, Standak Top, Spectro, Verango, Derosal Plus, Carbendazim, Attic e Rancona T) em duas cultivares de soja ('DM57i52 IPRO' e 'NEO530 IPRO'). Os produtos que contêm metalaxil-M foram os mais eficazes no controle do tombamento causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum* seguido por produtos que contêm thiram. Posteriormente, foi avaliado se o aumento da dose de produtos à base de metalaxil-M poderia proporcionar maior eficiência no controle do tombamento. Assim, os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial de 3 fungicidas (Apron, Maxim Advanced e Maxim Quattro) x 7 doses (0,000; 0,003; 0,006; 0,012; 0,018; 0,024; 0,030 mg de metalaxil-M por semente) x 2 cultivares de soja ('DM57i52 IPRO' e 'NEO530 IPRO'). Foi verificado efeito significativo das doses na redução da severidade da podridão radicular para ambas as cultivares de soja. Por fim, 50 cultivares de soja recomendadas para a macrorregião M1 do sul do Brasil foram utilizadas para caracterização da sua reação a *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum* e *P. conidiophorum*. As cultivares 'BMX Apolo', 'BMX Compacta', 'BMX Elite', 'BRS 5601', 'M5947', 'M6410', 'M6210' foram menos suscetíveis a *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum*. Todavia, as cultivares 'BMX Ativa', 'BRS 543', 'BRS 6203', 'DM 5958', 'BMX Raio' e 'BMX Valente' foram menos suscetíveis a *P. conidiophorum*. Em conclusão, diversas espécies de *Pythium* e *Globisporangium* podem ser encontradas em campos com soja no sul do Brasil. Para minimizar os danos causados pelo tombamento de plântulas de soja diferentes métodos de controle devem ser empregados como o uso de fungicidas à base de metalaxil-M e thiram associado a cultivares menos suscetíveis à doença.

Palavras-chaves: 1. Controle químico. 2. *Glycine max*. 3. Metalaxil-M. 4. Resistência genética. 5. Tombamento.

## ABSTRACT

Soybean damping-off is a common problem in several fields in southern Brazil. However, there is limited information about which species of *Globisporangium* and *Pythium* species can be found causing damping-off as well as control methods that are most effective in managing the disease. Thus, the objectives of this study were *i*) to isolate, identify and determine the pathogenicity and aggressiveness of oomycetes isolated from soybean seedlings; *ii*) to evaluate the efficacy of chemical control through seed treatment; *iii*) to verify the efficacy of increasing doses of metalaxyl-M-based products; and *iv*) to characterize the reaction of soybean cultivars to *Globisporangium* spp. and *Pythium* spp. Initially, 33 oomycete isolates were obtained from 13 fields, and nine species were recovered: *G. rostratiformis*, *G. irregulare*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* and *P. torulosum*. Thus, the results showed that all isolates were pathogenic to soybean, but there are differences in the levels of aggressiveness. Then, the efficiency of 15 seed treatments was evaluated (untreated control, Certeza N, Apron RFC, Maxim, Maxim XL, Maxim Quattro, Maxim Advanced, Vitavax Thiram, Standak Top, Spectro, Verango, Derosal Plus, Carbendazim, Attic and Rancona T) in two soybean cultivars ('DM57i52 IPRO' and 'NEO530 IPRO'). Products containing metalaxyl-M were the most effective in controlling damping off caused by *G. irregulare* and *G. ultimum* var. *sporangiferum* followed by products containing thiram. Subsequently, it was evaluated whether increasing the dose of metalaxyl-M-based products could provide greater efficacy in the control of damping-off. Thus, the treatments were arranged in a factorial scheme of 3 fungicides (Apron, Maxim Advanced and Maxim Quattro) x 7 doses (0.000; 0.003; 0.006; 0.012; 0.018; 0.024; 0.030 mg of metalaxyl-M per seed) x 2 soybean cultivars ('DM57i52 IPRO' and 'NEO530 IPRO'). There was a significant effect of doses in reducing the severity of root rot for both soybean cultivars. Finally, 50 soybean cultivars recommended for the M1 macroregion of southern Brazil were used to characterize their reaction to *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiferum* and *P. conidiophorum*. The cultivars 'BMX Apolo', 'BMX Compacta', 'BMX Elite', 'BRS 5601', 'M5947', 'M6410', 'M6210' were less susceptible to *G. irregulare* and *G. ultimum* var. *sporangiferum*. However, the cultivars 'BMX Ativa', 'BRS 543', 'BRS 6203', 'DM 5958', 'BMX Raio' and 'BMX Valente' were less susceptible to *P. conidiophorum*. In conclusion, several species of *Pythium* and *Globisporangium* can be found in soybean fields in southern Brazil. To minimize the damage caused by soybean damping-off, different control methods should be used, such as the use of fungicides based on metalaxyl-M and thiram associated with cultivars less susceptible to the disease.

Keywords: 1. Chemical control. 2. *Glycine max*. 3. Metalaxyl-M. 4. Host resistance. 5. Damping-off.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] tem papel notável na economia mundial, sendo cultivada em quase todas as partes do mundo. O Brasil é o maior produtor da oleaginosa e esse é o grão mais semeado no país (CONAB, 2021). No entanto, a produtividade da cultura pode ser reduzida pela ocorrência de doenças, o que também acarreta aumento no custo de produção devido a necessidade de aplicação de métodos de controles mais eficazes. Nos últimos anos, a morte de plantas em estágios iniciais de estabelecimento da cultura da soja tem se tornado um problema em vários campos de produção, acarretando a necessidade de ressemeadura.

As mortes de plântulas na região sul do Brasil têm sido historicamente atribuídas principalmente pela ocorrência de *Phytophthora sojae* e em alguns casos devido a *Fusarium* spp. e *Rhizocotonia solani*. Até o momento, não havia sido relatado oficialmente no sul do Brasil a ocorrência de podridões de sementes, podridões de raízes ou tombamentos de pré e pós-emergência em soja devido ao ataque de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. Normalmente, condições de temperatura mais amenas e elevada umidade do solo no início da estação de crescimento são propícias à infecção e favorecem o desenvolvimento da doença.

Assim, faz-se necessário estudos no Brasil sobre as espécies existentes de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp., para posteriormente identificar formas de controle

químico, genético, biológico e cultural eficientes e que auxiliem o produtor rural na redução da morte de plântulas de soja. A partir disso, surgem as seguintes questões:

- a) quais são as espécies de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. que podem ser isoladas de plântulas de soja com sintomas de tombamento em campos de produção de soja no Rio Grande do Sul?;
- b) qual seria o tratamento de sementes com fungicida e a dose de eficácia mais eficiente para manejo da doença?;
- c) há diferença entre as cultivares de soja comercialmente disponíveis quanto a severidade de tombamento causado por *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp.?

Desta forma, o objetivo geral deste trabalho é identificar e caracterizar isolados de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. obtidos de plântulas de soja com sintomas de tombamento em campos no estado do Rio Grande do Sul e identificar formas de controle da doença.

Os objetivos específicos são:

- a) identificar as espécies de isolados de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. com base na morfologia e técnicas moleculares e avaliar a patogenicidade em soja;
- b) avaliar a eficácia do tratamento de sementes à base de fungicidas para controle de tombamento causado por *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. em soja;
- c) caracterizar a reação de cultivares de soja recomendadas para a região sul do Brasil à diferentes espécies de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp.

Esta pesquisa se justifica pela importância que a cultura da soja apresenta no Rio Grande do Sul e pelo fato de que a redução da população de plantas de soja em estádios iniciais devido ao ataque de oomicetos pode reduzir a produtividade da cultura e rentabilidade econômica ao produtor rural principalmente quando há necessidade de ressemeadura com aumento dos custos de produção.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

Esta revisão da literatura apresenta informações relacionadas aos danos que as espécies de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. causam à soja, bem como taxonomia das espécies, ciclo de vida, epidemiologia e manejo da doença. O levantamento do assunto foi realizado com base em artigos científicos, considerando as principais descobertas sobre o tema da pesquisa publicadas nas principais revistas científicas da área.

### **2.1 Importância da cultura da soja no Brasil e no mundo**

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] pertence à família Fabaceae e é uma planta originária da China (HYMOWITZ, 1970). Foi introduzida no Brasil em 1882 no estado da Bahia, mas o seu cultivo comercial iniciou apenas em 1914 no município de Santa Rosa no estado do Rio Grande do Sul (MANDARINO, 2017). Atualmente, a cultura da soja tem papel notável na economia mundial, sendo cultivada em quase todas as partes do mundo.

O Brasil possui relevante participação na oferta e demanda de produtos de toda a cadeia da soja (EMBRAPA, 2020). Sendo possível pelo estabelecimento e desenvolvimento contínuo de uma cadeia produtiva bem estruturada e que desempenha papel fundamental para o desenvolvimento econômico-social de várias regiões do País. Para destacar a importância do referido complexo para a economia nacional, pode-se utilizar algumas estatísticas básicas (EMBRAPA, 2020).

Em conjunto com todos esses fatores, a produção de soja tem aumentado muito amparado às boas condições de preço e liquidez. Além disso, o melhoramento genético por meio de cultivares adaptadas às regiões de produção e com resistência às doenças, o avanço da mecanização, o uso de agricultura de precisão, entre outros fatores corroboram para o maior rendimento e destino do produto (MOREIRA, 2009). Contudo, tudo isso faz do Brasil uma referência mundial na produção e manejo da cultura da soja.

Entretanto, o rendimento da soja pode ser influenciado por diversos fatores, entre os quais, destacam-se fertilidade do solo, disponibilidade hídrica durante o cultivo, população de plantas, época de semeadura, potencial produtivo do genótipo, ocorrência de plantas daninhas, infestação de pragas e doenças, entre outros (CASA e REIS, 2004).

## **2.2 Patógenos que causam tombamento na cultura da soja**

O custo de produção de soja e a necessidade de maximizar a produção de forma a obter o maior retorno econômico possível pressionam todos os aspectos das operações dos produtores rurais. A produtividade final de soja é resultado da contribuição de vários componentes de rendimento sendo: número de plantas por área, número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de grãos (PEIXOTO et al., 2000). A redução

da população de plantas em estágios iniciais de estabelecimento da cultura da soja pode ser decorrente do ataque de patógenos que causam podridões de sementes e/ou podridões de raízes causando tombamentos ou *damping-off* de pré- e pós-emergência (LAMICHHANE et al., 2017).

O tombamento pode ser causado por vários patógenos de solo. No Brasil, os principais patógenos associados com a doença são os fungos *Rhizoctonia solani* (SOARES, 2011) e *Fusarium* spp. (LAMICHHANE et al., 2017) e o oomiceto *Phytophthora sojae* (MARTIN; DORRANCE, 2019). Entretanto, em outros países produtores de soja, outros oomicetos também estão associados ao tombamento como *Pythium* spp., *Phytopythium* spp. (RADMER et al., 2017) e *Globosporangium* spp. (RADMER et al., 2017; SCOTT et al., 2019). A ocorrência de tombamento está diretamente relacionada a fatores como elevada umidade do solo por períodos prolongados (ZITNICK-ANDERSON; NELSON, 2014), presença de inóculo no solo (BARBOZA, 2014) e suscetibilidade das cultivares utilizadas (DENG et al., 2005).

Nos Estados Unidos, os oomicetos são comumente associados à podridão de sementes e raízes da soja e, estima-se que reduzam a produção de soja em 1,5 milhões de toneladas anualmente (ROJAS et al., 2017). Todavia, não se tem informação semelhante sobre os danos e perdas no Brasil com o ataque desses patógenos na cultura da soja.

O tombamento de plântulas é uma doença de difícil controle, sendo considerada um grande problema em todo o mundo (GOLL et al., 2013). Com isso, o aumento do rendimento da soja começa com a minimização da morte de plantas e consequentes custos de ressemeadura devido às doenças que atacam sementes e plântulas de soja (REIS et al., 2018).



### 2.3 Classificação taxonômica de *Globisporangium* e *Pythium*

*Pythium* é um gênero que, atualmente, pertence ao Reino Chromista, divisão Oomycota, classe Oomycetes, ordem Pythiales, família Pythiaceae (CANEDO, 2010). Entretanto, devido a sua semelhança com fungos filamentosos, no passado eles eram classificados dentro do Reino Fungi. A exclusão de oomicetos do Reino Fungi foi apoiada por estudos de biologia molecular (HO, 2018). Contudo, a classificação e identificação precisa de espécies do gênero *Pythium* baseia-se em características morfológicas, como forma e tamanho do zoosporângio, tamanho e ornamentação do oogônio, número de anterídios e a forma como estão unidos, além de características moleculares (SCHROEDER et al., 2013).

Os membros dos gêneros *Phytophthora* e *Pythium* são muito semelhantes morfológicamente, pois ambos apresentam micélio coenocítico (desprovidos de septos), hialino e de ramificação livre. As hifas das espécies de *Phytophthora* são geralmente mais largas em diâmetro (5 a 7  $\mu\text{m}$ ) e de crescimento lento com ramificação aproximadamente de ângulo reto, enquanto que as hifas das espécies de *Pythium* crescem rapidamente e são mais estreitas (4 a 6  $\mu\text{m}$ ) e mais flexíveis ou sinuosas na placa de ágar (HO, 2018).

A observação da morfologia do zoosporângio e do oogônio é uma das principais formas de distinguir as espécies (WHITE et al., 1990). Outros atributos como o preenchimento do oogônio pelo oósporo, tipo de anterídio, compatibilidade sexual, presença de clamidósporos, entre outros caracteres também são considerados na distinção entre espécies (SCHROEDER et al., 2013). Além desses, outras características passaram a ser usados na taxonomia e classificação das espécies como a gama de hospedeiros,

temperatura de crescimento e desenvolvimento em diferentes meios de cultura (SCHROEDER et al., 2013).

A diferenciação definitiva entre *Phytophthora* e *Pythium* reside no modo de diferenciação e descarga de zoósporos. Nas espécies de *Phytophthora*, os zoósporos são diferenciados dentro do zoosporângio propriamente dito e, quando maduros, liberados em uma vesícula evanescente no ápice esporangial, enquanto nas espécies de *Pythium*, o protoplasto de um zoosporângio é transferido geralmente através de um tubo de saída para uma vesícula fina fora do esporângio onde os zoósporos são diferenciados e liberados após a ruptura da vesícula (HO, 2018).

Com 355 espécies descritas de *Pythium* spp. (MYCOBANK, 2020), a identificação e taxonomia sempre foi difícil devido à escassez de caracteres morfológicos estáveis. A delimitação dos táxons de *Pythium* foi prejudicada pelas poucas estruturas morfológicas distintas de *Phytophthora* (por exemplo, zoosporângios, inchaços de hifas e gametângios) e muitas vezes suas diferenças nas medidas se tornam maiores com o aumento do número de espécies (MORALEJO et al., 2008).

Além disso, apenas alguns aspectos ecológicos estão disponíveis para a discriminação de espécies, porque a maioria das espécies são patógenos cosmopolitas e não específicas quanto ao hospedeiro. No total, esses problemas resultaram em muitas identificações errôneas e epítetos supérfluos de espécies. Assim, a identificação adequada das espécies associadas a doença requer um tempo para o desenvolvimento de zoosporângios e oósporos (DORRANCE; BERRY; LIPPS, 2009; LÉVESQUE; DE COCK, 2004). Por meio dos caracteres morfológicos, a identificação foi dificultada, assim, técnicas moleculares como a análise da sequência de DNA não estão sujeitas a interações ambientais e, portanto, são estáveis e reproduzíveis (PAUL, 2001).

---

Assim, para a identificação de oomicetos a nível de espécie a região mais estudada é a do espaçador interno transcrito (ITS) do rDNA, devido sua facilidade de amplificação com o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR, *polymerase chain reaction*) (WHITE et al., 1990; RISTAINO et al., 1998). A partir disso, Lévesque (2004) pode estruturar uma árvore filogenética com 116 espécies de *Pythium* com base na análise de parcimônia das sequências ITS.

Além disso, o gene citocromo c oxidase (*cox2*) tem sido utilizado também para a identificação e estudos filogenéticos de oomicetos. O gene *cox1* foi apresentado como um código de barras de DNA, no entanto, o sucesso da amplificação varia com diferentes espécies, linhagens e idades amostrais (MARTIN, 2000; CHOI et al., 2015; ZAMBRANO et al., 2017). CoI ou *cox1* é o código de barras de DNA padrão aprovado pelo GenBank e pelo Consórcio para o Código de Barras da Vida (CBOL) (ROBIDEAU et al., 2011).

Em trabalho realizado por Choi et al. (2015), foram comparados os genes *cox1* e *cox2* para identificar qual seria o mais adequado como código de barras para oomicetos. Sendo que os conjuntos de primers para *cox2* amplificaram com sucesso todos os gêneros de oomicetos testados, enquanto *cox1* não conseguiu amplificar três gêneros. Além disso, o *cox2* apresentou maior sucesso de identificação de espécies, com maiores divergências intraespecíficas e interspecíficas maiores do que o *cox1*. Portanto, *cox2* é sugerido como um código de barras de DNA parceiro juntamente com seu rDNA em vez de *cox1*.

O gênero *Pythium* foi dividido em 11 clados baseados em análises sistemáticas moleculares, sendo esses bem suportados por características morfológicas (LÉVESQUE; DE COCK, 2004). Em particular, as espécies de *Pythium* pertencentes ao clado K foram consideradas como filogeneticamente diferentes do resto das espécies e mostraram

---

características combinadas tanto de *Pythium* quanto *Phytophthora* (COCK et. al., 2015). Recentemente, o gênero *Phytopythium* foi proposto para nomear as espécies com características intermediárias de *Phytophthora* e *Pythium* (COCK et. al., 2015). Além disso, foi proposto dividir *Pythium* em quatro gêneros, baseados principalmente na morfologia do esporângio: *Ovatisporangium*, *Globisporangium*, *Elongisporangium* e *Pilasporangium* (UZUHASHI; TOJO; KAKISHIMA, 2010). Contudo, se faz necessário uma correlação dos dados de análise morfológica e molecular para identificação precisa e confiável das espécies de *Pythium*.

## 2.4 Sintomas da doença

Várias espécies dos gêneros *Globisporangium* e *Pythium* causam sintomas de tombamento e podridão das raízes em plântulas de soja. Ao contrário de *Phytophthora sojae*, *Globisporangium* e *Pythium* possuem uma gama muito ampla de hospedeiros, incluindo gramíneas e uma grande variedade de plantas dicotiledôneas (KIRKPATRICK et al. 2006; BRODERS et al., 2009).

Em muitos casos, várias espécies de *Globisporangium* e *Pythium* podem ser encontradas em uma única planta, dificultando o processo de isolamento e identificação das espécies (DORRANCE et al., 2004). A velocidade rápida com que *Globisporangium* e *Pythium* atacam as sementes de soja é uma ameaça à cultura. Os oósporos germinam em resposta a exsudatos de sementes e raízes e podem infectar sementes dentro de 90 minutos após a semeadura (STRANGHELLINI, 1971). Assim, a infecção por *Globisporangium* ou *Pythium* spp. leva à podridão das sementes e ao enfraquecimento prematuro e morte de plântulas em desenvolvimento, causando o tombamento

(KIRKPATRICK et al., 2006). Os sintomas de tombamento podem ser vistos desde a semeadura até a quarta ou sexta semana após a semeadura (HORST, 2013), sendo que os sintomas da doença podem ser divididos em sintomas de pré- emergência e sintomas de pós- emergência.

Os sintomas de pré-emergência ocorrem quando as sementes se decompõem antes da emergência, podendo ocorrer (i) antes da germinação ou quando (ii) as sementes germinadas ainda estão abaixo do solo (HORST, 2013). Com o desenvolvimento da doença, esses sintomas podem escurecer ficando com coloração marrom-avermelhada, marrom ou preta. As plântulas podem murchar e morrer logo antes da emergência (LAMICHHANE et al., 2017).

Sintomas de pós-emergência ocorrem quando as plântulas decaem, murçam e morrem após a emergência (HORST, 2013). Esses sintomas também podem ser acompanhados por manchas nas folhas e pode ocorrer podridão radicular completa. De modo geral, os sintomas nas plântulas se caracterizam como lesões escurecidas nas raízes que ocasionam a morte da plântula (LAMICHHANE et al., 2017).

Algumas plantas com condições de crescimento mais favoráveis ou quando são atacadas por espécies de menor agressividade podem continuar a se desenvolver apesar da presença de infecção nas raízes. Mesmo as plantas sobrevivendo à infecção inicial, as lesões não letais causadas pelos patógenos podem ocasionar diminuição no crescimento das raízes e da parte aérea, resultando em menor vigor e rendimento das plantas, especialmente em períodos de estresse (BRODERS et al., 2007).

## **2.4 Ciclo da doença**

As espécies de *Globisporangium* e *Pythium* apresentam reprodução assexuada por meio dos zoósporos produzidos em zoosporângios, e a reprodução sexuada por oogamia, ocorrendo pelo contato dos gametângios masculinos e femininos ou por partenogênese (RIOS e ROCHA, 2018).

Sem a presença de uma planta hospedeira, *Globisporangium* e *Pythium* sobrevivem saprofiticamente em restos culturais ou permanecem em dormência por meio dos oósporos no solo. O crescimento saprofítico e por estruturas de repouso resistentes proporciona ao patógeno a possibilidade de sobreviver no solo. Porém, não são concorrentes vigorosos e suas atividades saprofíticas são bastante restritas, crescendo saprofiticamente apenas sob circunstâncias em que não há presença de outros organismos ou com uma atividade muito baixa devido às condições ambientais (HENDRIX; CAMPBELL, 1973).

Sob condições ambientais adequadas, o oósporo germina, produzindo zoosporângios no qual o citoplasma flui para formar uma vesícula, local em que os zoósporos serão diferenciados. Os zoósporos possuem a habilidade de se mover na água e entre as partículas de solo sendo atraídos por exsudatos do hospedeiro (AMORIM et al., 2011; SCHOEDER et al., 2013).

As espécies de *Globisporangium* e *Pythium* spp. são incapazes de competir com outros organismos por bases alimentares e, como seus esporos em repouso germinam e crescem rapidamente, eles geralmente estão em um estado micelial não conseguindo mais competir (NAVI et al., 2019). Entretanto, existem três destinos possíveis para as germinações: (i) lise, (ii) infecção de um hospedeiro suscetível ou (iii) formação de novas estruturas de repouso (NAVI et al., 2019). A lise do micélio após a formação de estruturas

de repouso é comum na ausência de hospedeiros suscetíveis ou outras bases alimentares virgens (NAVI et al., 2019).

## 2.5 Epidemiologia

As espécies de *Globisporangium* e *Pythium* spp. são geralmente encontradas causando doenças em plântulas no início da estação de cultivo, quando os solos se encontram predominantemente úmidos e frios (DORRANCE et al., 2009). Em Ohio nos Estados Unidos, observou-se um maior índice da doença, o que acredita ser devido as práticas de manejo, como data de semeadura anterior aos demais estados próximos o que atrasa a germinação devido as condições frias do solo, aumentando o tempo que essas sementes ficam expostas aos patógenos (STASKO et al., 2016).

Quando avaliado o efeito da atmosfera do solo no crescimento saprofítico, constatou-se que níveis elevados de CO<sub>2</sub> no solo favoreceram a atividade saprofítica das espécies *G. irregulare* e *P. vexans*, desde que o nível de O<sub>2</sub> não fosse reduzido (GARDNER e HENDRIX, 1973).

Em alguns casos, a temperatura ideal para o crescimento da cultura da soja e o desenvolvimento da doença é semelhante, ao passo que pode não haver relação com outras espécies (BIESBROCK, 1970; HENDRIX e CAMPBELL, 1973). A morte de plantas em áreas baixas de campos, que frequentemente são inundadas por água, é frequentemente atribuída a *Pythium*. Porém, os fatores ideais de temperatura e umidade diferem entre espécies. *Pythium vexans* é uma espécie que produz zoósporos, responde mais a umidade do que a temperatura do solo, particularmente a um ciclo de umidade e

secagem envolvendo solo saturado (BIESBROCK, 1970; HENDRIX e CAMPBELL, 1973).

A temperatura é considerada um dos principais fatores para o desenvolvimento de doenças radiculares ocasionadas por *Pythium*. Em trabalhos realizados com espinafre hidropônico a temperatura da solução nutritiva apresentou grande influência na ocorrência das espécies *P. aphanidermatum* e *P. dissotocum*, e quando a temperatura foi superior a 23°C a espécie *P. dissotocum* se mostrou mais agressiva (BATES, 1984).

Em trabalho realizado por Teixeira et al. (2006), foi verificado que os isolados apresentaram desenvolvimento até temperaturas de 30°C, além disso foram ressaltadas que há diferenças nas temperaturas ideais para cada espécie, tanto para seu crescimento micelial como patogenicidade. Já Matthiesen et al. (2016) observaram que espécies como *P. sylvaticum* foi mais agressivo em temperaturas mais altas (18 e 23°C), enquanto *P. torulosum* foi mais agressivo a temperaturas mais baixas (13°C).

Além disso, a temperatura apresentou efeito significativo ao tratamento de sementes. Em trabalhos realizados por Matthiesen, Ahmad e Robertson (2016) foi verificado que espécies de oomicetos apresentaram sensibilidade a mudança de temperatura, a 13°C e 18°C, *P. oopapillum*, por exemplo, foi 23 vezes e 2,4 vezes menos sensível ao fungicida captan do que a 23°C, respectivamente.

## 2.6 Manejo da doença

As espécies de *Globisporangium* e *Pythium* variam em patogenicidade e agressividade nas diferentes culturas de grãos como soja, milho e trigo, o que dificulta o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo de doenças, porque várias espécies



devem ser manejadas (DORRANCE et al., 2009). Entretanto, há vários estudos relacionando os diferentes métodos de controle, os quais são apresentados a seguir.

### 2.6.1 Controle químico

*Globisporangium* e *Pythium* spp. são habitantes naturais do solo, assim, o controle químico está baseado no uso frequente de fungicidas, aplicados como tratamentos de sementes para manejar doenças que causam tombamento (STASKO et al., 2016). O tratamento de sementes pode ser um meio eficaz para garantir maior porcentagem de emergência de plântulas, principalmente quando realizado em sementes de baixo vigor e quando o revestimento das sementes foi danificado (MANCINI e ROMANAZZI, 2014).

Os oomicetos podem reagir de forma distinta a diferentes fungicidas, no entanto, não se pode afirmar que todas as espécies podem ser manejadas com o mesmo ingrediente ativo bem como dose de fungicida (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2014). Assim, os principais ingredientes ativos usados nas sementes de milho e soja são metalaxil e mefenoxam (metalaxyl-M), enquanto anteriormente captan era usado no milho (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2014). O metalaxil é um fungicida acilalneto que inibe a síntese de RNA ribossômico (COHEN e COFFEY, 1986). Isolados de *Pythium* obtidos de cenoura, mudas de beterraba sacarina e trigo apresentaram elevada sensibilidade ao metalaxil (DORRANCE et al., 2004). Porém, em trabalhos mais recentes realizados por Dorrance et. al., (2014), foi constatada uma possível resistência de espécies de oomicetos ou redução na sensibilidade ao metalaxil devido ao uso prolongado deste ingrediente ativo no tratamento de sementes de soja nos Estados Unidos.

O controle químico para oomicetos com aplicação foliar de fungicidas é restrito a alguns ingredientes ativos, pois apresenta um alto custo e há poucos produtos registrados para as culturas, incluindo aquelas para uso ornamental (GARZÓN et al., 2011). Dentre os fungicidas mais utilizados, destacam-se o etridiazol e o metalaxil, ativos contra *Phytophthora* e *Pythium* spp., benomil e tiofanato-metílico, ativos contra *Fusarium* e *Rhizoctonia* spp. mancozeb e maneb, ativos contra *Fusarium* e *Pythium* spp., e captan, ativo contra patógenos em geral causadores de tombamento.

O uso de tratamento de sementes contra esses patógenos, principalmente com foco em *Globisporangium* e *Pythium*, pode fornecer retorno econômico satisfatório. Em trabalhos realizados nos Estados Unidos, foi verificado que fungicidas com custo menor que US\$ 8,65 por ha podem trazer um retorno de até US\$ 43,71 por ha, devido ao controle do tombamento de plântulas (NAVI et al., 2019).

Embora o metalaxil-M seja o único fungicida registrado para controlar o tombamento no Brasil causado por oomicetos em muitas culturas, esse produto químico é caro e tem como alvo apenas um dos vários patógenos associados ao tombamento (GIANESSI e REIGNER, 2007). Existem muitos fungicidas alternativos e de menor custo, especialmente os de amplo espectro, como thiram, mancozebe, maneb, zineb e ziram, que não só poderiam ser mais eficazes, pois têm como alvo uma gama muito maior de patógenos de solo associado ao tombamento. No entanto, a limitação do uso desses fungicidas de amplo espectro devido a necessidade de ser aplicados em elevadas taxas do ingrediente ativo com conseqüente maior volume no ambiente, e, portanto, maior risco para o ambiente e aplicador.

Isolados de *Pythium* com sensibilidade reduzida a metalaxil-M foram relatados em trabalhos anteriores (BRODERS et al. 2007a; DORRANCE et al. 2004).

Recentemente, o ethaboxam, um fungicida tiazol carboxamida, mostrou excelente eficácia contra vários oomicetos (DORRANCE et al., 2012). Atualmente, não há conhecimento sobre resistência ao ethaboxam (MATTHIESEN; AHMAD; ROBERTSON, 2016).

### 2.6.2 Controle genético

O uso de cultivares resistentes é efetivo e economicamente viável para manejo de doenças nos diferentes cultivos agronômicos (MATOBA et al., 2008). Portanto, identificar fontes de resistência de soja a *Pythium* e caracterizar os genes de resistência para que possam ser prontamente introgressados em germoplasma de elite aumentaria muito a capacidade de manejar doenças de plantas (ELLIS et al., 2013). A resistência genética da planta oferece uma estratégia mais econômica para os produtores, todavia, muito pouco se sabe sobre a resistência genética para diferentes espécies de *Pythium* (STASKO et al., 2016). Há relatos de que algumas cultivares de soja diferem quanto à suscetibilidade ao tombamento causado por *Pythium* (NAVI, et al., 2019).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos, foi verificado que a cultivar de soja ‘Conrad’ apresentou resistência a *Phytophthora sojae* e *Fusarium graminearum*, enquanto a cultivar ‘Sloan’ foi moderadamente a altamente suscetível a esses patógenos (ELLIS et al., 2013). Entretanto, quando essas cultivares foram testadas para suscetibilidade a *G. irregulare* essas foram caracterizadas com suscetibilidade moderada (ELLIS et al., 2013).

Dois tipos de resistência têm sido relatados atualmente para *Pythium* na cultura soja. O gene *Rpa1* foi identificado como um gene dominante que confere resistência vertical a *P. aphanidermatum* (ROSSO et al., 2008). Além disso, alguns locos de características quantitativas (QTLs) que contribuem para resistência parcial foram identificados. Por exemplo, para *G. irregulare*, QTLs foram identificados em oito cromossomos de soja (ELLIS et al., 2013; STASKO et al., 2016), no entanto, cada QTL explicou apenas uma pequena porcentagem (8 a 20%) da variação fenotípica, sugerindo um mecanismo complexo de resistência (LIN et al., 2018).

A resistência genética a *Globisporangium* ou *Pythium* pode ser resultado de diferentes mecanismos (KLEPADLO et al., 2019; ZHU et al., 2021). Por exemplo, a resistência da soja a *P. aphanidermatum* foi conferida por um gene dominante (*Rpa1*) (ROSSO et al., 2008) ou por um QTL (URREA et al., 2017). Outros QTLs também foram identificados para resistência a *G. irregulare* (ELLIS et al., 2013; LIN et al. 2018) e a *G. ultimum* var. *ultimum* (KLEPADLO et al., 2019). Além disso, a identificação de QTLs foi realizada em populações de linhagens recombinantes de soja que foram rastreadas quanto à sua resposta a *P. sylvaticum*, *G. irregulare*, *P. oopapilum* e *P. torulosum* (CLEVINGER et al., 2021). Além disso, quatro cultivares foram resistentes a *G. ultimum* var. *ultimum* e foram apenas parcialmente resistentes a *G. irregulare* e *P. sylvaticum* (ROD et al., 2018)

### **2.6.3 Controle cultural**

As principais medidas de controle culturais para tombamento causado por *Globisporangium* e *Pythium* são a drenagem do solo e o manejo adequado da água de

irrigação para não ocorrer a saturação do solo (BRODERS et al. 2007; DORRANCE et al. 2004). O vigor da semente pode afetar o nível de severidade do tombamento causado por oomicetos, ocorrendo menor emergência com sementes de baixo vigor (HAMMAN; EGLI; KONING, 2002).

No cultivo hidropônico, o controle da temperatura da solução nutritiva é empregado, porém necessita-se ser mais estudado para que a manipulação da temperatura da solução nutritiva possa ser empregada como um método cultural para controle de certas doenças radiculares causadas por oomicetos, desde que o intervalo de temperatura utilizado permita a produção econômica da cultura (TEIXEIRA et al., 2006).

Os efeitos da temperatura na agressividade dos patógenos sugerem que a temperatura do solo na semeadura determinará o grau com que as espécies de *Pythium* possam causar maior severidade sobre as sementes de soja ou milho (TEIXEIRA et al., 2006). Em alguns patossistemas, ajustar a data de semeadura poderia reduzir o risco de tombamento. Nesse contexto, dados de trabalhos realizados por Teixeira et al. (2006) mostraram que embora seja possível ajustar a data de semeadura para certas espécies de oomicetos (por exemplo, *P. torulosum* e *G. sylvaticum*), essa prática não seria útil para outras espécies, como *P. oopapillum* e *P. lutarium*.

#### **2.6.4 Controle biológico**

O controle biológico para *Pythium* pode ser um dos métodos mais promissores e eficientes para o controle da doença, porém há poucos estudos sobre isso (SUTTON et al., 2006). Em estudos com hidroponia, a utilização do controle biológico tem a vantagem da atuação de agentes de biocontrole ser diretamente na zona de infecção do fitopatógeno,

pois ambos os microrganismos competem pelos exsudados presentes na zona radicular (CORRÊA, 2006). Bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* são as mais estudadas para o controle de doenças em sistemas hidropônicos e são promissores agentes de biocontrole da podridão de raízes (CORRÊA, 2006).

Além disso, espécies de *Trichoderma* são estudados como antagonistas para o controle biológico. Atualmente, existem diversos produtos registrados à base de *Trichoderma* para controle de doenças e inclusive para o controle da podridão de raízes induzida por *Pythium* (PAULITZ e BELANGER, 2001; HOWELL, 2003).

O controle biológico é uma ferramenta a mais para o controle de tombamento causado por *Pythium*, porém há poucos estudos sobre esse controle para grandes culturas como soja e milho podendo, assim, ser objeto de estudo para muitos pesquisadores.

### 3 CAPÍTULO I

#### **O tombamento de plântulas de soja no sul do Brasil pode ser associado a diferentes espécies de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp.**

*As informações a seguir foram publicadas em formato de artigo científico na revista Plant Pathology.*

MOLIN, C., RIBEIRO, N. R., MATSUMOTO, M.N., GIASSON, N.F., BROLLO, J., ZANARDO, B., PELISSONI, M., CAPITANIO, S., COMÍN, T., DEUNER, C.C., HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Damping-off of soybean in southern Brazil can be associated with different species of *Globisporangium* spp. and *Pythium* spp. *Plant Pathology*, v. 70, n. 7, p. 1686-1694, 2021. <https://doi.org/10.1111/ppa.13397>

#### **3.1 Resumo**

O tombamento de plântulas de soja é um problema comum em vários campos no sul do Brasil. Frequentemente, *Phytophthora sojae* tem sido apontada como o principal agente causal. No entanto, foram levantadas questões para saber se outros oomicetos também poderiam estar presentes. Assim, os objetivos deste estudo foram isolar, identificar e determinar a patogenicidade e agressividade de oomicetos isolados de plântulas de soja. Trinta e três isolados foram obtidos de 13 campos. Os isolados foram identificados com base na morfologia e métodos moleculares. Nove espécies foram recuperadas: *Pythium conidiophorum* ( $n = 14$ ; 42,4%), *Globisporangium rostratifingens* ( $n = 7$ ; 21,2%), *Globisporangium irregulare* ( $n = 2$ ; 6,1%), *Globisporangium spinosum* ( $n = 1$ ; 3,0%), *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ( $n = 2$ ; 6,1%), *Pythium acanthicum* ( $n = 2$ ; 6,1%), *Pythium deliense* ( $n = 1$ ; 3,0%), *Pythium inflatum* ( $n = 1$ ; 3,0%) e *Pythium*

*torulosum* ( $n = 3$ ; 9,1%). A patogenicidade e agressividade foram determinadas com duas cultivares de soja ('DM57i52 IPRO' e 'NEO530 IPRO') em um ensaio de podridão de sementes e um ensaio de podridão de raiz. Todos os isolados foram patogênicos à soja com níveis variáveis de agressividade em ambos os ensaios. O índice de severidade da doença na semente variou de 7,5 a 100 para 'DM57i52 IPRO' e de 23 a 100 para 'NEO530 IPRO'. A faixa do índice de severidade da doença radicular variou de 29,4 a 92,8 considerando a média das duas cultivares de soja. Esse é o primeiro relato oficial de *G. irregulare*, *G. rostrantifingens*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiiiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* e *P. toluosum* associado ao tombamento de plântulas de soja no estado do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil.

Palavras-chave: 1. Agressividade. 2. *Glycine max*. 3. Oomiceto. 4. Patogenicidade. 5. Podridão de raiz. 6. Podridão da semente.

### 3.2 Introdução

O tombamento de plântulas de soja tem sido relatado como um dos principais problemas para inúmeros produtores no estado do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil. Como resultado, os estandes de plantas são reduzidos e a ressemeadura tem sido necessária em muitos campos, levando ao aumento dos custos de produção. O problema é mais severo em campos com solos argilosos que estão sob plantio direto por muitos anos e onde a compactação do solo está presente. Portanto, a má drenagem do solo fornece condições muito favoráveis para o ataque de patógenos de solo.

Dentre todos os patógenos que podem infectar a soja, *Phytophthora sojae* Kaufmann e Gerdemann tem sido apontada como uma das principais causas do tombamento de plântulas de soja no sul Brasil (COSTAMILAN et al., 2013) juntamente com *Rhizoctonia solani* Kühn (FENILLE et al., 2002) e *Fusarium* spp. Link (MIGLIORINI et al., 2018). No entanto, foi relatado que oomicetos pertencentes ao gênero *Pythium* Pringsheim também podem causar tombamento em soja (DORRANCE



et al., 2004; BRODERS et al., 2007; ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015; RADMER et al., 2017; ROJAS et al., 2017). Algumas espécies já foram relatadas na região Centro-Norte de Brasil (SILVA et al., 2020). Portanto, foram levantadas questões se outros oomicetos também poderiam estar presentes no sul do Brasil e poderiam contribuir para a redução do estande de plantas na cultura da soja.

O gênero *Pythium* sofreu reclassificações ao longo dos anos, e mais recentemente foi dividido em quatro outros gêneros (*Ovatisporangium*, *Globisporangium*, *Elongisporangium* e *Pilasporangium*) com base na morfologia do zoosporângio (UZUHASHI et al., 2010). *Globisporangium* e *Pythium* são dois gêneros que pertencem ao reino Chromista, divisão Oomycota, classe Oomycetes, ordem Pythiales e família Pythiaceae (UZUHASHI et al., 2010). Esses organismos podem se reproduzir assexuadamente com a produção de zoósporos dentro dos zoosporângios, bem como sexualmente por meio da fertilização do oogônio pelos anterídios resultando em oósporos (RIOS e ROCHA, 2018). Como patógenos, eles têm uma ampla gama de hospedeiros incluindo plantas dicotiledôneas e monocotiledôneas (BRODERS et al., 2009). No entanto, na ausência de uma planta hospedeira, *Globisporangium* e *Pythium* podem sobreviver saprofiticamente em resíduos de colheita ou permanecer dormentes por meio de seus oósporos no solo por muitos anos (MARTIN e LOPER, 1999). Sob condições favoráveis, o oósporo germina produzindo um zoosporângio no qual o citoplasma flui para formar uma vesícula onde os zoósporos serão diferenciados (SCHROEDER et al., 2013). Zoósporos são capazes de se mover na água e entre as partículas do solo sendo atraídas para o hospedeiro por suas raízes e exsudatos (SCHROEDER et al., 2013).

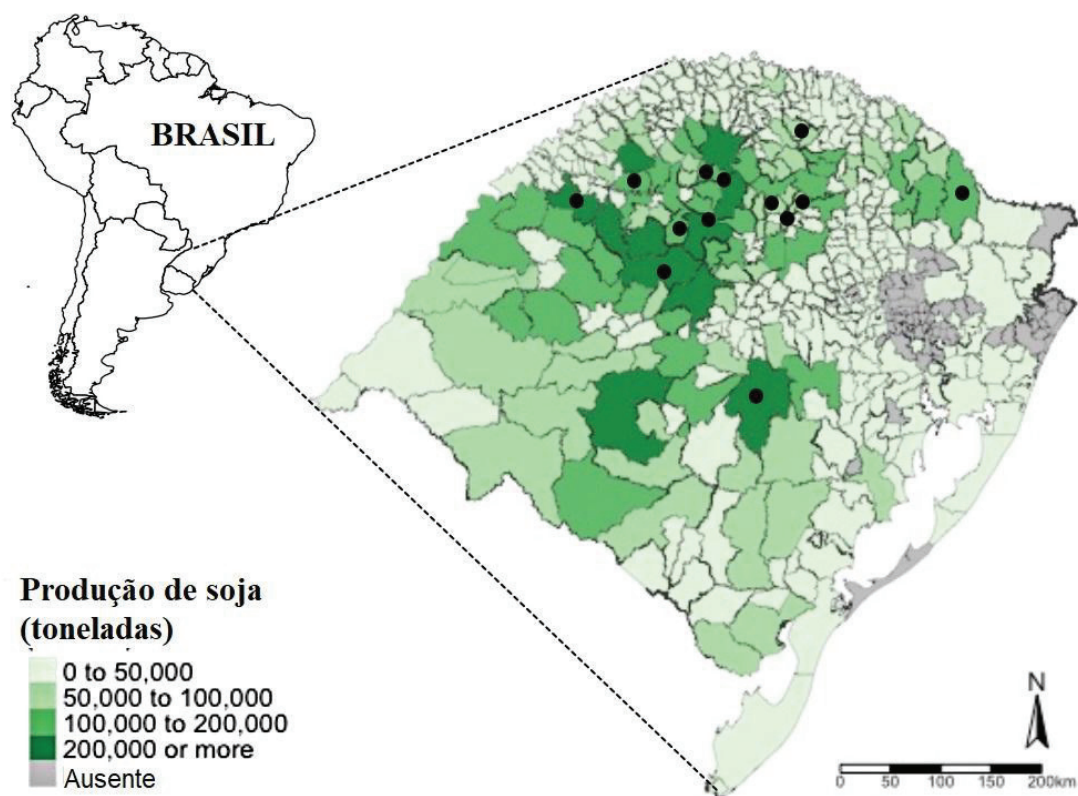
A ocorrência de tombamento está relacionada à alta umidade do solo por períodos prolongados (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015), presença de inóculo no solo e suscetibilidade das cultivares (DENG et al., 2005). *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. são geralmente encontrados causando doença em plântulas no início da estação de cultivo da soja, quando os solos são predominantemente úmidos e frios (BRODERS et al., 2009). No Brasil, 41 espécies de *Pythium* foram oficialmente relatadas (FORZZA, 2010) e mais recentemente, 14 espécies foram reportadas na região Centro-Norte do país (SILVA et al., 2020). *Globisporangium* também foi encontrado, mas como era um gênero recentemente proposto segregado de *Pythium* (Uzuhashi et al., 2010) a maioria da literatura no Brasil ainda usa *Pythium* para nomear a espécie. Alguns levantamentos sobre a ocorrência de *Globisporangium* e *Pythium* foram realizadas em solo sob vegetação nativa (MIRANDA e PIRE-ZONTARELLI, 2012), na silvicultura (POLETO et al., 2007) e hortaliças (PATELOSKI e PIRES-ZOTARELLI, 2010; PINTO et al., 2011), no entanto, as informações sobre as culturas de grãos são limitadas (RIOS e ROCHA, 2018).

A identificação adequada das espécies patogênicas à soja é essencial para desenvolver estratégias de manejo do tombamento (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015). Tendo em vista que há poucas informações a respeito de oomicetos em soja no Brasil, os objetivos deste estudo foram isolar, identificar e determinar a patogenicidade e agressividade de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. obtidos de plântulas de soja de campos no sul do Brasil. Essas informações serão úteis em estudos futuros para estabelecer programas de manejo mais eficazes para reduzir os problemas de tombamento na soja.

### 3.3 Material e métodos

#### 3.3.1 Amostras de plântulas de soja

Plântulas de soja com sintomas de tombamento foram coletadas em 13 campos de produção no estado do Rio Grande do Sul (Figura 1) de novembro a dezembro de 2019 pela Equipe de Pesquisa e Desenvolvimento da GDM Seeds. As plântulas foram colocadas em sacos plásticos e enviadas em até 24 horas após a coleta para o Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo onde foram processadas.



**Figura 1.** Mapa do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, destacando as localizações (pontos pretos) dos campos onde as amostras de plântulas de soja foram coletadas. A tonalidade da cor verde indica o volume de produção de soja dos municípios do estado.

### ***3.3.2 Procedimento de isolamento***

Uma metodologia adaptada de Dorrance et al. (2008) foi usada para o isolamento. Raízes de soja foram examinadas quanto à presença de lesões escuras. Em seguida, as raízes foram lavadas com detergente neutro com água de torneira para remover detritos e solo. A região de transição entre tecido sintomático e aparentemente sadio da raiz principal foi cortada em seções de 1 cm de comprimento, desinfestada superficialmente com álcool 70% por 10 segundos, enxaguada duas vezes em água destilada estéril e deixada para secar em uma toalha de papel. Cinco fragmentos de raízes foram colocados sob a superfície do ágar em placas de Petri contendo meio PBNIC (40 mL.L<sup>-1</sup> de suco V8; 0,6 g.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>; 1 g.L<sup>-1</sup> de sacarose; 0,20 g.L<sup>-1</sup> de extrato de levedura; 20 g.L<sup>-1</sup> de ágar; 0,054 g.L<sup>-1</sup> de pentacloronitrobenzeno; 0,01 g.L<sup>-1</sup> de benomil; 0,10 g.L<sup>-1</sup> de sulfato de neomicina; 0,01 g.L<sup>-1</sup> de cloranfenicol). As placas foram incubadas a 25°C no escuro e monitoradas diariamente quanto à presença de crescimento de hifas cenocíticas que indica a presença de oomicetos. As pontas das hifas foram transferidas para novas placas de Petri contendo meio batata-cenoura-ágar (BCA: 40 g.L<sup>-1</sup> de batata; 40 g.L<sup>-1</sup> de cenoura; 12 g.L<sup>-1</sup> de ágar) até uma cultura pura ter sido obtida. Os isolados (Tabela 1) foram transferidos para tubos de vidro contendo meio de BCA e armazenados a 4°C.

**Tabela 1.** Lista de isolados de oomicetos obtidos de plântulas de soja no sul do Brasil.

Isolado	Local	Identificação	Temp. (°C) <sup>1</sup>	Número de acesso GenBank
UPF-2602	Condor- Field 2	<i>Pythium conidiophorum</i>	22	MW605179
UPF-2606	Condor- Field 2	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605180
UPF-BOA01	Boa Vista do Cadeado	<i>Pythium torulosum</i>	24	MW605181
UPF-BOA04	Boa Vista do Cadeado	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	21	MW605182
UPF-BOA05	Boa Vista do Cadeado	<i>Pythium acanthicum</i>	25	MW605183
UPF-BOM02	Bom Sucesso	<i>Pythium deliense</i>	24	MW605184
UPF-CON04	Condor	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605185
UPF-CON03	Condor	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605209
UPF-CON06	Condor	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605186
UPF-ERN01	Ernestina	<i>Pythium conidiophorum</i>	24	MW605187
UPF-JACU01	Jacutinga	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	22	MW605188
UPF-JACU02	Jacutinga	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	21	MW605189
UPF-NMT06	Não-Me-Toque	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605190
UPF-NMT07	Não-Me-Toque	<i>Pythium conidiophorum</i>	26	MW605191
UPF-OM01	Ernestina	<i>Globisporangium irregulare</i>	21	MW604821
UPF-OM02	Ernestina	<i>Globisporangium spinosum</i>	21	MW605192
UPF-OM03	Ernestina	<i>Globisporangium irregulare</i>	21	MW604822
UPF-OM06	Victor Graeff	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	21	MW605193
UPF-OM07	Victor Graeff	<i>Pythium torulosum</i>	24	MW605194
UPF-OM08	Cachoeira do Sul	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605195
UPF-OM09	Cachoeira do Sul	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	22	MW605196
UPF-PAN01	Panambi	<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i>	27	MW605197
UPF-PAN04	Panambi	<i>Pythium conidiophorum</i>	24	MW605198
UPF-PAN06	Panambi	<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i>	26	MW605208
UPF-PAN12	Panambi	<i>Pythium conidiophorum</i>	21	MW605199
UPF-SA02	Santo Ângelo	<i>Pythium conidiophorum</i>	22	MW605200
UPF-SA03	Santo Ângelo	<i>Pythium conidiophorum</i>	23	MW605207
UPF-SA04	Santo Ângelo	<i>Pythium conidiophorum</i>	22	MW605201
UPF-SLG02	São Luiz Gonzaga	<i>Pythium acanthicum</i>	25	MW605202
UPF-SLG10	São Luiz Gonzaga	<i>Pythium torulosum</i>	24	MW605203
UPF-TUPA01	Tupanciretã	<i>Globosporangium rostratifingens</i>	23	MW605204

UPF-TUPA02	Tupanciretã	<i>Globosporangium rostratiformens</i>	22	MW605205
UPF-VAC03	Vacaria	<i>Pythium inflatum</i>	24	MW605206

<sup>1</sup> Temperatura (°C) ótima para o crescimento micelial.

### ***3.3.3 Identificação morfológica***

A morfologia dos isolados foi caracterizada usando cultura em lâmina de grama seguindo a metodologia descrita por Waterhouse (1968). Lâminas de grama foram cortadas com 2 cm de comprimento e colocadas em um frasco contendo água destilada. As lâminas foram autoclavadas a 121°C por 30 minutos em dois dias consecutivos. Placas de Petri de vidro foram usadas e 5 mL de solução de solo a 10% foram adicionados para estimular o desenvolvimento de oósporos, zoosporângios e zoósporos. Em seguida, cinco lâminas de grama foram colocadas na placa e quatro discos miceliais foram cortados da margem de crescimento de uma cultura de três dias e transferidos para as placas de Petri com a solução do solo e lâminas de grama. As placas foram mantidas a 23°C com fotoperíodo de 12 h por 7 a 10 dias. A morfologia das colônias foi observada com um microscópio equipado com uma câmera digital (AxioCam ERc5s). Imagens foram obtidas e, então, as medições foram realizadas em 20 oósporos, oogônios, zoosporângios e hifas. A média das medições para cada isolado foi obtida e usada para identificar os isolados com base na chave de van der Plaats-Niterink (1981).

### ***3.3.4 Identificação molecular***

Um disco micelial de 8,8 mm de diâmetro de cada isolado foi colocado no centro de uma placa de Petri contendo meio BCA. As placas foram cultivadas durante três dias

a 20°C no escuro. As placas foram enviadas para identificação ao Agronômica Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria (<http://www.agronomicabr.com.br/>) em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Para verificar a identidade de cada isolado, os dados de sequência da subunidade I do citocromo c oxidase (ROBIDEAU et al., 2011) ou região espaçadora interna transcrita (ITS) foi comparada com sequências depositadas no National Center for Biotechnology Information (NCBI) usando a ferramenta de pesquisa de alinhamento logístico básico (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### ***3.3.5 Temperatura ideal para crescimento micelial***

Discos miceliais de 8,8 mm de diâmetro foram posicionados no centro de uma placa de Petri contendo meio BCA e as placas foram mantidas em cinco temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C) por 48 horas. Em seguida, o diâmetro foi medido com um paquímetro. O experimento foi realizado duas vezes com quatro repetições cada. Análise de regressão foi realizada para determinar a temperatura ideal para o crescimento micelial de cada isolado. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2018).

### ***3.3.6 Teste de patogenicidade e agressividade em sementes de soja***

A patogenicidade e agressividade nas sementes de soja foram avaliadas com base na metodologia descrita por Broders et al. (2007). Discos miceliais de 8,8 mm de diâmetro foram removidos da margem de uma cultura de três dias cultivada a 20°C no escuro e

foram colocados no centro de uma placa de Petri de 15 mm contendo meio BCA. As placas foram mantidas a 20°C no escuro por três dias para os isolados crescerem. Duas cultivares de soja, ‘DM57i52 IPRO’ e ‘NEO530 IPRO’, foram utilizadas para os ensaios (Tabela 2). Essas cultivares foram escolhidas com base em informações da empresa detentora sobre seu desempenho em condições de campo, onde ‘DM57i52 IPRO’ apresenta taxas mais alta de emergência do que ‘NEO530 IPRO’ em campos com histórico de tombamento.

**Tabela 2.** Características das cultivares de soja utilizadas para os ensaios de patogenicidade neste estudo.

Características	Cultivares	
	DM57i52 IPRO	NEO530 IPRO
Grupo de maturação	5.7	5.3
Hábito de crescimento	Indeterminado	Indeterminado
Cancro da haste	R	R
Mancha olho-de-rã	R	MS
Pústula bacteriana	R	MS
Podridão radicular de fitóftora	R	R
Nematoide de cisto Raça 3	-	-
Nematoide de cisto raça 14	-	-
Acamamento	R	-
Ramificação	Alta	-

R: resistente; MS: moderadamente suscetível; S: suscetível. Nenhuma informação encontrada (-).

As sementes de soja foram desinfestadas superficialmente por 2 min com uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, enxaguada duas vezes em água destilada estéril e



deixadas para secar em toalha de papel por 30 min em uma câmara de fluxo laminar. Dez sementes foram posicionadas na borda da colônia do oomiceto. As placas foram incubadas no escuro a 20°C durante cinco dias.

Um índice de severidade da doença (ISDS) foi calculado com base nas notas atribuídas usando uma escala de avaliação relatada anteriormente (ROJAS et al., 2017): 0 = semente germinada e sem sintomas; 1 = desenvolvimento retardado com descoloração mínima ou ausente; 2 = semente germinada com lesões isoladas; 3 = sementes germinadas com lesões coalescidas; 4 = semente não germinada e colonizada pelo patógeno. O índice de severidade da doença na semente (ISDS) foi calculado da seguinte forma:

$$ISDS = \sum \frac{\text{Nota de severidade} \times \text{Número de sementes por nota}}{\text{Número total de sementes} \times \text{Nota mais alta na escala}} \times 100$$

Para cumprir os postulados de Koch, foi realizado o reisolamento dos oomicetos do tecido sintomático. O ensaio foi realizado em delineamento de blocos completos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos consistiram em um arranjo bifatorial de 33 isolados x 2 cultivares de soja. Todo o experimento foi realizado duas vezes. Placas de Petri sem os isolados foram adicionadas como controles negativos para verificar a porcentagem de germinação e a presença de patógenos transmitidos pela semente.

A análise estatística dos dados de ISDS foi realizada por meio de um modelo misto generalizado usando a distribuição Gama, uma vez que a variável resposta apresenta apenas valores positivos com distribuição assimétrica. O isolado, a cultivar de soja e sua interação foram considerados como efeitos fixos, enquanto o experimento e o

bloco alinhado dentro do experimento foram considerados como efeitos aleatórios. As médias ajustadas (*lsmeans*) foram obtidas e a comparação foi realizada pelo teste de Tukey a 5% probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2018) usando os pacotes '*lsmeans*' e '*lme4*'.

### ***3.3.7 Teste de patogenicidade e agressividade na raiz de soja***

A agressividade nas raízes da soja foi avaliada conforme metodologia descrita por Balk (2014). Sacos plásticos contendo 950 mL de areia, 50 mL de farinha de milho e 250 mL de água destilada foram autoclavados a 121°C por 1 h em dois dias consecutivos. Dez discos de micélio de 5 mm de diâmetro de uma cultura de três dias produzida em meio BCA foram utilizados para inoculação do substrato. Os sacos plásticos foram mantidos a 20°C no escuro. Em dias alternados, os sacos foram agitados para proporcionar uma colonização uniforme do substrato. Após 10 dias, o substrato foi misturado com vermiculita fina na proporção de 1:4, respectivamente. Copos plásticos de 400 mL de capacidade foram preenchidos com 100 mL de vermiculita grossa no fundo, seguido por uma camada de 300 mL de inóculo misto. Em seguida, os copos foram regados para que o substrato se acomodasse. Dez sementes de soja foram desinfestadas superficialmente conforme descrito acima, colocadas no topo do inóculo e então cobertas com uma camada de 100 mL de vermiculita grossa. Os copos foram regados novamente e mantidos em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas.

Quatorze dias após a semeadura, as plântulas de soja foram retiradas dos copos, em seguida, a vermiculita e o inóculo foram lavados das raízes com água da torneira. As raízes foram observadas quanto à presença de lesões e a agressividade foi avaliada

segundo uma escala (BALK, 2014): 0 = sem sintomas e raízes saudáveis; 1 = lesões em 20% das raízes laterais; 2 = lesões de 21 a 75% das raízes laterais; 3 = lesões na raiz principal e mais de 75% das raízes laterais; 4 = sem emergência de plântulas. Um índice de severidade de podridão radicular nas raízes (ISDR) foi calculado da seguinte forma:

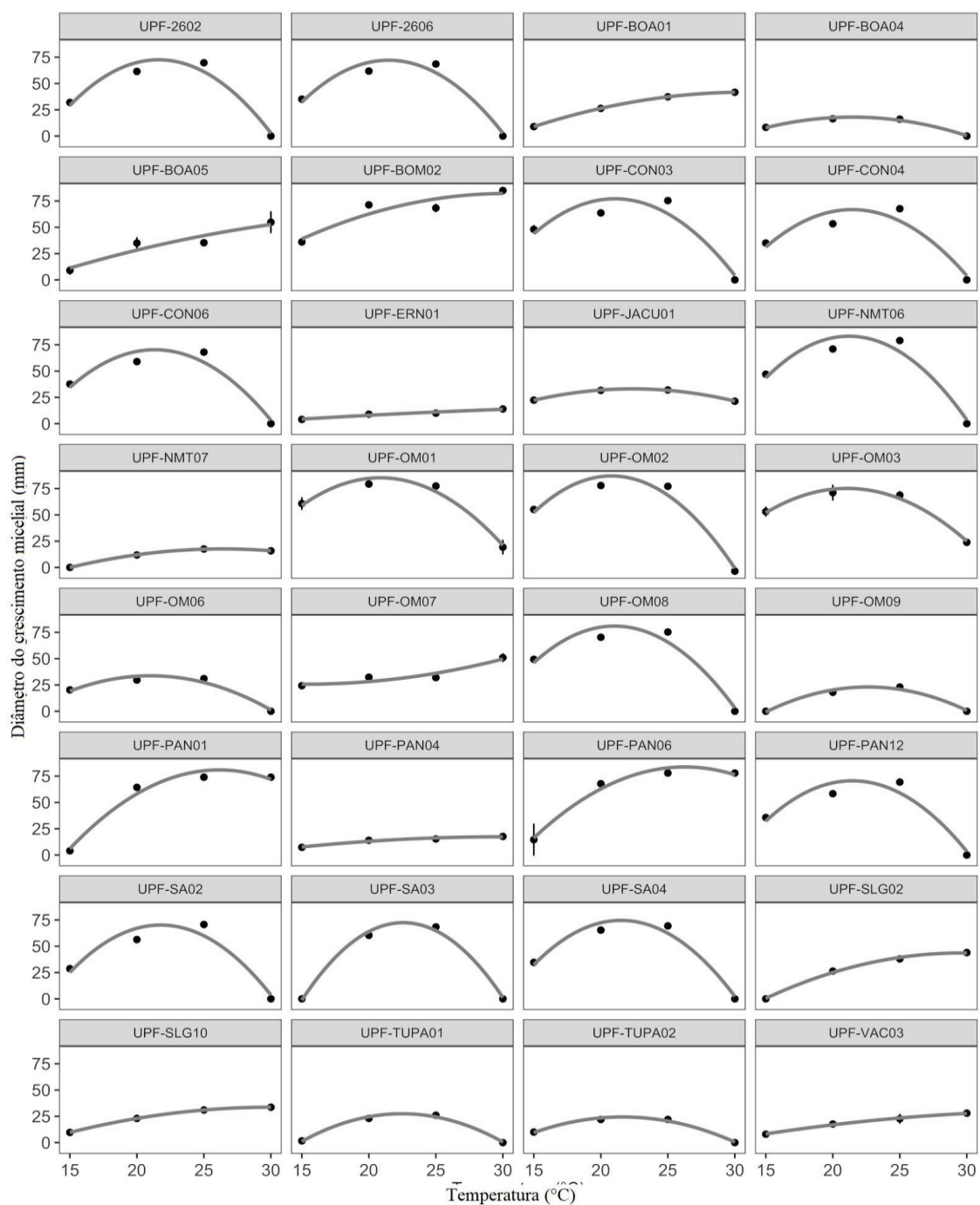
$$ISDR = \sum \frac{\text{Nota de severidade} \times \text{Número de plântulas por nota}}{\text{Número total de sementes} \times \text{Nota mais alta na escala}} \times 100$$

Para cumprir os postulados de Koch, reisolamento foi realizado a partir do tecido sintomático. O ensaio foi realizado em um delineamento de blocos completos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos consistiram em um arranjo bifatorial de 33 isolados x 2 cultivares de soja. Todo o experimento foi realizado duas vezes. Copos sem inóculo foram adicionados como controles negativos para verificar a emergência e a presença de patógenos transmitidos pela semente. Todas as análises estatísticas foram realizadas da mesma maneira descrita acima na seção de ensaio da placa de sementes.

Um mapa de calor foi criado com ISDS e ISDR para classificar os isolados dentro dos grupos de acordo com seus diferentes níveis de agressividade. Foram definidas três classes para cada variável, sendo o índice <40 considerado como um isolado de baixa agressividade, o índice de 40 a 70 como intermediário agressivo e o índice > 70 como alto agressivo. O mapa de calor foi gerado com o pacote '*heatmap*' no RStudio (R CORE TEAM, 2018).

### 3.4 Resultados

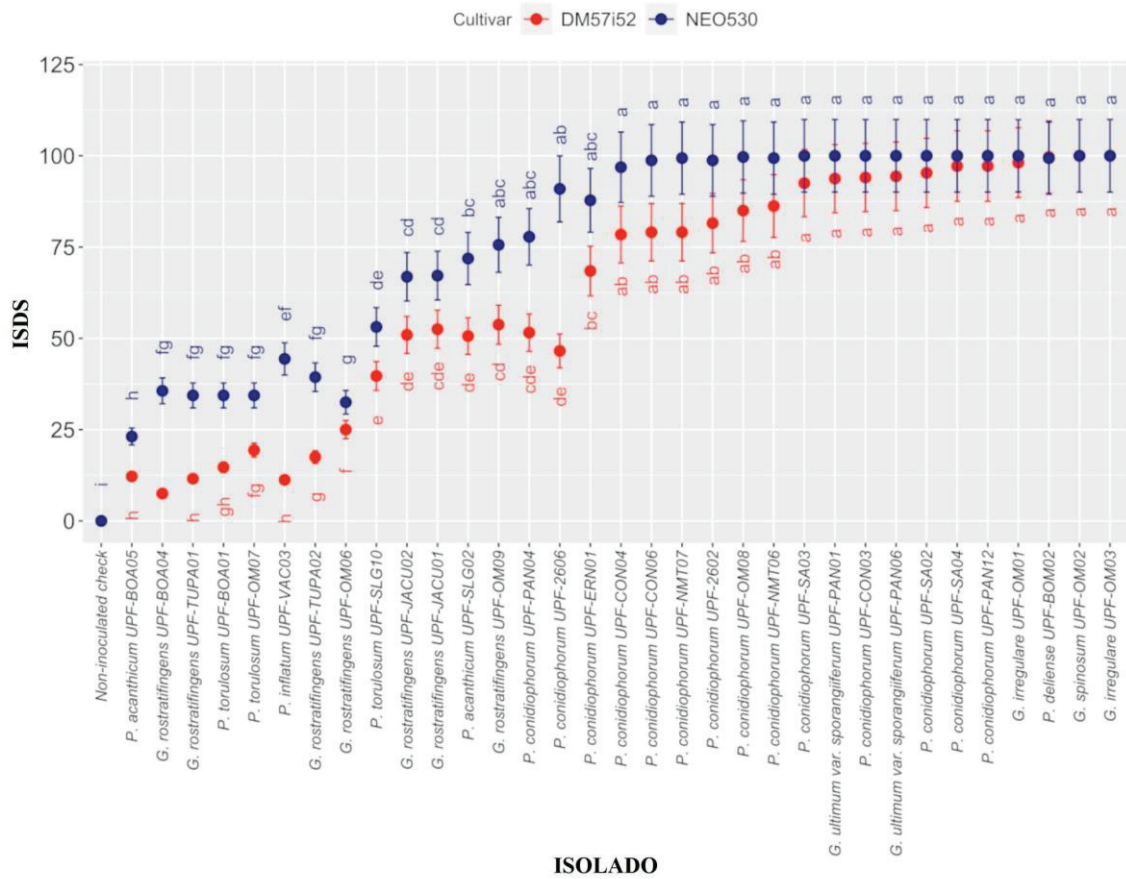
Um total de 33 isolados de oomicetos foram obtidos de 13 campos de soja (Tabela 1). As espécies recuperadas e identificadas com base na morfologia e sequenciamento foram *P. conidiophorum* ( $n = 14$ ; 42,4%), *G. rostratiformis* ( $n = 7$ ; 21,2%), *G. irregulare* ( $n = 2$ ; 6,1%), *G. spinosum* ( $n = 1$ ; 3,0%), *G. ultimum* var. *sporangiferum* ( $n = 2$ ; 6,1%), *P. acanthicum* ( $n = 2$ ; 6,1%), *P. deliense* ( $n = 1$ ; 3,0%), *P. inflatum* ( $n = 1$ ; 3,0%) e *P. torulosum* ( $n = 3$ ; 9,1%). Nenhuma dessas espécies havia sido oficialmente registrada no Brasil de acordo com o banco de dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (<https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>). A temperatura ótima para o crescimento micelial variou de 21 a 26°C dependendo do isolado (Tabela 1). No entanto, o crescimento micelial ocorreu de 15 a 30°C para todos os isolados (Figura 2).



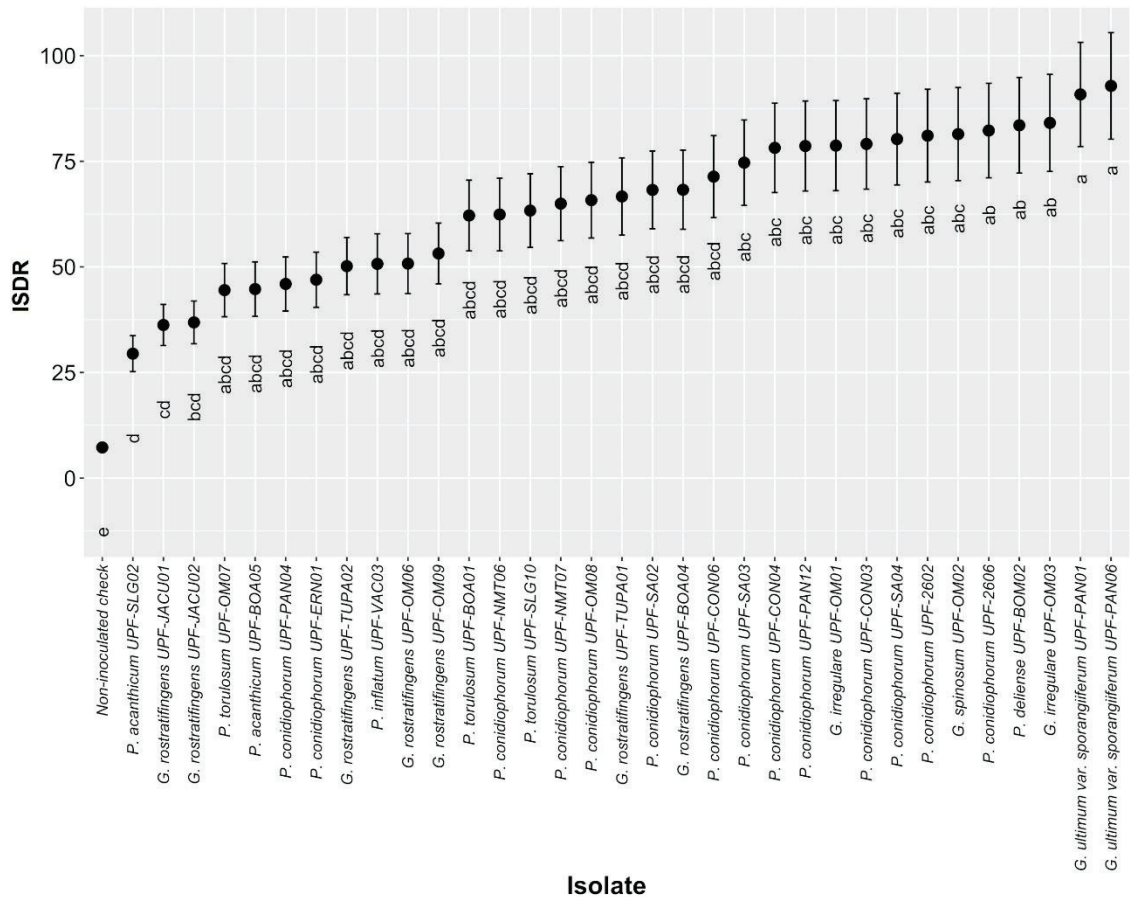
**Figura 2.** Crescimento micelial (mm) de isolados de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. sob diferentes condições de temperatura às 48 horas após a inoculação.

No ensaio *in vitro*, todas as espécies e isolados de *Globisporangium* e *Pythium* foram patogênicos à soja e capazes de causar apodrecimento das sementes (Figura 3). Os sintomas foram caracterizados por descoloração da semente, lesões marrons na radícula com ou sem coalescência, enquanto os sinais foram observados como crescimento micelial abundante e produção de oósporos no tecido doente. Houve um efeito significativo de isolado, cultivar e interação entre isolado e cultivar para ISDS (Tabela 3). A faixa de ISDS variou de 7,5 a 100 para ‘DM57i52’ e de 23,1 a 100 para ‘NEO530’ (Figura 3). Não houve diferença significativa entre cultivares de soja para isolados altamente agressivos (ISDS > 75%). No entanto, a cultivar ‘NEO530’ apresentou maior ISDS do que ‘DM57i52’ para isolados menos agressivos (ISDS < 75%).

No ensaio de podridão radicular, todas as espécies e isolados de *Globisporangium* e *Pythium* também foram patogênicos para soja (Figura 4). Os sintomas nas plântulas de soja incluíram descoloração da raiz principal e raízes secundárias, menor desenvolvimento das raízes secundárias e menor desenvolvimento da parte aérea. Houve diferença significativa de ISDR entre os isolados e entre as cultivares de soja, no entanto, não houve interação significativa entre isolado e cultivar (Tabela 3). O intervalo do ISDR variou de 29,4 a 92,8 considerando a média das duas cultivares de soja. Os isolados identificados como *Globisporangium ultimum* var. *sporangiferum* (‘UPF-PAN01’ e ‘UPF-PAN06’) apresentaram maior ISDR do que *G. rostatifingens* (‘UPF-JACU02’ e ‘UPF-JACU01’) e *P. acanthicum* (‘UPF-SLG02’), mas não diferiram dos demais.



**Figura 3.** Índice de severidade da doença na semente (ISDS,  $lsm_{mean} \pm$  intervalo de confiança) de duas cultivares de soja (‘DM57i52 IPRO’ e ‘NEO530 IPRO’) cinco dias após a inoculação com diferentes isolados de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. em um ensaio *in vitro*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



**Figura 4.** Índice de severidade da doença radicular (ISDR, *Lsmean* ± erro padrão) aos quatorze dias (média de duas cultivares de soja 'DM57i52 IPRO' e 'NEO530 IPRO') após inoculação com diferentes isolados de *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. em um ensaio de câmara de crescimento. *Lsmean* seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



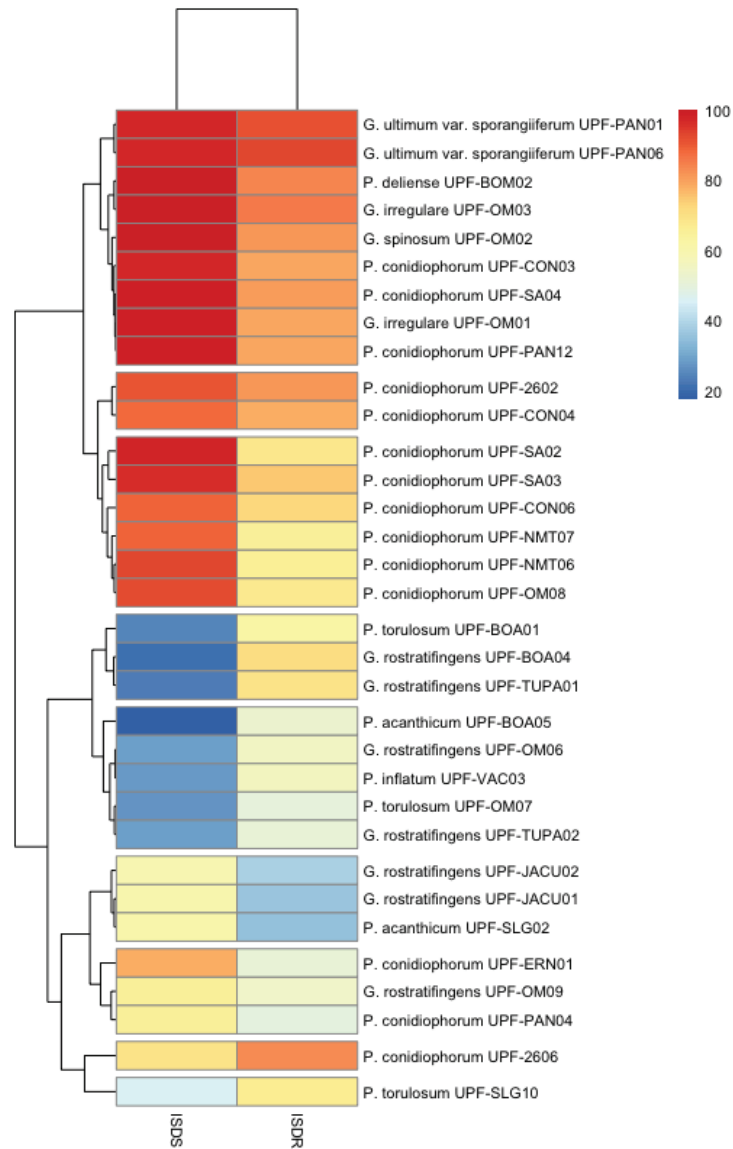
**Tabela 3.** Valores de probabilidade e componentes de variância de cada fator de variação para índice de severidade da doença na semente (ISDS) e índice de severidade da doença na raiz (ISDR) de duas cultivares de soja inoculadas com diferentes isolados de *Globisporangium spp.* e *Pythium spp.*

Fator de variação <sup>1</sup>	ISDS		ISDR	
	Qui-quadrado	Variância	Qui-quadrado	Variância
	( <i>P</i> valor)		( <i>P</i> valor)	a
Cultivar de soja (CS)	152,55 ( <i>P</i> < 0,001)	-	21,68 ( <i>P</i> < 0,001)	-
Isolado (I)	3473,18 ( <i>P</i> < 0,001)	-	125,60 ( <i>P</i> < 0,001)	-
CS x I	918,86 ( <i>P</i> < 0,001)	-	36,17 ( <i>P</i> = 0,33)	-
Replicação: experimento	-	0,000	-	0,000
Experimento	-	0,000	-	<0,001
Resíduo	-	0,023	-	0,151

<sup>1</sup> A cultivar de soja, o isolado e sua interação foram considerados efeitos fixos, enquanto a replicação aninhada dentro do experimento foi considerada como efeito aleatório no modelo estatístico.

Com base no mapa de calor (Figura 5), verificou-se que diferentes grupos podem ser formados de acordo com o nível de agressividade em causar podridão de sementes (ISDS) e podridão de raízes (ISDR). O grupo mais agressivo caracterizado pelo maior ISDS e ISDR foi composto por nove isolados: *G. ultimum* var. *sporangiferum* ('UPF-PAN01' e 'UPF-PAN06'), *P. deliense* ('UPF-BOM02'), *G. irregulare* ('UPF-OM03' e 'UPF-OM01'), *G. spinosum* ('UPF-OM02'), *P. conidiophorum* ('UPF-CON03', 'UPF-SA04' e 'UPF-PAN12'). Além disso, observou-se que houve variabilidade entre o nível de agressividade para isolados de uma mesma espécie, por exemplo, *P. conidiophorum* é

uma espécie que apresentou isolados em cinco grupos diferentes, enquanto *G. rostratiformis* possuiu isolados separados em quatro grupos.



**Figura 5.** Mapa de calor com os diferentes grupos de isolados *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. formados com base no nível de agressividade à soja (média das duas cultivares ‘DM57i52 IPRO’ e ‘NEO530 IPRO’). ISDS: índice de severidade da doença na semente; ISDR: índice de severidade da doença na raiz.

### 3.5 Discussão

Neste estudo, foi relatado pela primeira vez *Globisporangium* spp. e *Pythium* spp. como patógenos associados ao tombamento da soja no sul do Brasil. Nove espécies foram identificadas em 33 isolados obtidos de 13 campos de soja. As espécies encontradas neste estudo foram *G. irregulare*, *G. rostratifingens*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* e *P. torulosum*. Verificou-se que todos os isolados foram patogênicos à soja com níveis variados de agressividade às sementes e raízes.

Todas as espécies obtidas neste estudo já foram relatadas como patógenos da soja. *Globisporangium irregulare* foi considerado patogênico para a soja no Canadá (ROJAS et al., 2017), Japão (YOU et al., 2019) e nos Estados Unidos (ROJAS et al., 2017). *Globisporangium spinosum* foi patogênico para a soja na China (FENG et al., 2020) e nos Estados Unidos (ROJAS et al., 2017). *G. rostratifingens*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum* e *P. torulosum* foram relatados como patogênicos para soja apenas nos Estados Unidos (BRODERS et al., 2007; ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015; ROJAS et al., 2017). *Pythium deliense* foi mencionado como patogênico para a soja apenas na China (FENG et al., 2020) e na Coreia (CHO e SHIN, 2004). *Pythium inflatum* foi relatado como não patogênico à soja por Rojas et al. (2017), entretanto, outros autores obtiveram isolados patogênicos para soja nos Estados Unidos (BRODERS et al., 2007; ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015), bem como na China (FENG et al., 2020).

No Brasil, entretanto, não havia nenhum relatório oficial até agora sobre *Globisporangium* e *Pythium* serem patogênicos para a soja no sul do país. Há relatos de

*Pythium* em outras culturas, por exemplo, *P. torulosum* que foi isolado de abacaxi, *P. acanthicum* de cana-de-açúcar, *P. deliense* de pimenta, tomate e cana-de-açúcar e *G. irregulare* de abacaxi, amendoim, chicória, coentro e videira (MENDES et al., 1998). Outra espécie patogênica comumente encontrada em alface no Brasil, mas não encontrada em nosso estudo, é *P. aphanidermatum* (PATEKOSKI e PIRES-ZOTARELLI, 2010; PINTO et al., 2011), que é favorecida por temperaturas mais altas do que 25°C que não são muito comuns no início do período de cultivo no sul do Brasil.

O grupo mais agressivo de isolados para sementes e raízes de soja incluiu *G. ultimum* var. *sporangiiferum* ( $n = 2$ ), *G. irregulare* ( $n = 2$ ), *G. spinosum* ( $n = 1$ ), *P. deliense* ( $n = 1$ ) e *P. conidiophorum* ( $n = 3$ ). Estudos anteriores já relataram que as espécies de *Globisporangium* e *Pythium* podem variar em patogenicidade e agressividade em diferentes culturas de grãos, como a soja (ROJAS et al., 2017), milho e trigo (DORRANCE et al., 2009). Assim, os resultados deste estudo corroboram com outros que consideraram *G. ultimum* (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2015; ROJAS et al., 2017), bem como *G. irregulare* (ROJAS et al., 2017) como altamente agressivo à soja.

A variação na agressividade entre isolados pode ser devido às condições ambientais ou à interação com a planta hospedeira. As condições de inundação e a temperatura são os dois principais fatores que interferem no processo de infecção de *Globisporangium* e *Pythium* na soja. Sabe-se que as espécies de *Pythium* podem ter agressividade mediada pela temperatura, sendo mais agressivas em baixas ou altas temperaturas, com temperatura ótima variando entre as espécies (MATTHIESEN et al., 2016; ROJAS et al., 2017). Isso corrobora com nosso estudo, uma vez que a temperatura ótima para o crescimento micelial dos isolados variou de 21 a 26°C, mas algumas espécies

ainda cresceram a 15°C e 30°C. É importante mencionar que os ensaios de agressividade em sementes e raízes foram realizados a 20°C. Portanto, alguns isolados que tiveram crescimento micelial ideal a 26°C, por exemplo, podem se apresentar mais agressivos em temperaturas mais altas do que as condições do ensaio. Além disso, algumas espécies podem ser favorecidas por temperaturas mais baixas, como *P. conidiophorum* que foi mais agressivo a 13°C do que 20°C (ROJAS et al., 2017).

A identificação e taxonomia de oomicetos podem ser desafiadoras devido à escassez de caracteres morfológicos estáveis. A identificação adequada de todas as espécies requer tempo para o desenvolvimento do zoosporângio e oósporos (DORRANCE et al., 2009). A maioria dos trabalhos relacionados a oomicetos no Brasil na soja tem se concentrado em *Phytophthora sojae* (COSTAMILAN et al., 2013). Na verdade, este é um patógeno que pode causar elevado dano na produtividade devido à redução de estande de plantas no campo. *Phytophthora sojae* pode afetar plântulas de soja causando o tombamento ou ainda plantas adultas causando apodrecimento da raiz e escurecimento no caule (DORRANCE et al., 2007). Como as ferramentas moleculares ainda não estão disponíveis em muitos laboratórios em todo o Brasil, o diagnóstico de doenças em plantas ainda requer a observação dos sintomas da doença e dos sinais dos patógenos com o isolamento realizado em alguns casos. Pode ser que haja muitos erros nos diagnósticos de oomicetos que infectam a soja, principalmente relacionados ao tombamento. Frequentemente, o diagnóstico é feito exclusivamente com base na observação de oósporos nas raízes. No entanto, a diferenciação definitiva entre eles reside no modo de diferenciação de zoósporos e descarga de zoósporos (HO, 2018). Considerando que pouquíssimas pessoas são bem treinadas e experientes em oomicetos e com base no fato de não haver relato oficial da ocorrência e patogenicidade de

*Globisporangium* e *Pythium* no sul do Brasil, muitos sintomas de tombamento da soja foram atribuídos apenas a *Phytophthora sojae*.

Embora *Phytophthora sojae* não tenha sido isolada no presente estudo, esse patógeno poderia estar presente. Sabe-se que o crescimento micelial de espécies de *Pythium* pode superar o crescimento de *Phytophthora sojae* (TSAO e GUY, 1977). Assim, este estudo apresenta uma limitação no procedimento de isolamento, visto que não foi encontrado no Brasil o fungicida hymexazol, que pode limitar o crescimento de *Pythium* (TSAO e GUY, 1977).

Os resultados deste trabalho fornecem informações que podem impactar o manejo do tombamento de plântulas de da soja no sul do Brasil. Em primeiro lugar, é importante destacar a alta diversidade de organismos encontrados, uma vez que pelo menos quatro espécies de *Globisporangium* e cinco espécies de *Pythium* podem estar associadas ao tombamento da soja, o que pode tornar o manejo muito desafiador. Em segundo lugar, embora algumas diferenças tenham sido encontradas dependendo do isolado entre as duas cultivares de soja utilizadas no estudo, nenhuma das cultivares foi altamente resistente para todas as espécies, portanto, a resistência genética é um tópico que requer mais estudos na tentativa de identificar fontes potenciais de resistência. Terceiro, estudos sobre a eficácia do tratamento de sementes com fungicidas são necessários para identificar produtos que possam ser úteis no controle de tombamento. Quarto, com base em pesquisas anteriores, a melhoria da drenagem do solo (por exemplo: escarificação do solo) pode fornecer condições menos favoráveis para a infecção, contribuindo assim para o manejo da doença. No Brasil, o revolvimento do solo pode enfrentar críticas, uma vez que o plantio direto é uma prática amplamente utilizada em todo o país devido aos benefícios para a conservação do solo. Assim, é importante

mencionar que não está sendo sugerido que todos os sistemas de produção devam usar o preparo convencional do solo, mas aqueles campos com solos argilosos muito pesados e com ocorrência frequente de tombamento deveriam ocasionalmente considerar seu uso. Quinto, este estudo foi baseado em 33 isolados de 13 campos, portanto, um levantamento mais amplo e detalhado no sul do Brasil pode ser necessário para identificar e caracterizar as espécies prevalentes de oomicetos. Anterior a este estudo, *Phytophthora sojae* era o único oomiceto associado ao tombamento da soja no sul do Brasil.

### 3.6 Conclusão

Contudo, no presente estudo foram relatadas nove outras espécies de oomicetos também associadas à doença, sendo *G. irregulare*, *G. rostratifingens*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* e *P. torulosum*. Essas espécies foram caracterizadas quanto ao nível de agressividade na semente e raiz da soja, bem como a temperatura ideal para o crescimento micelial. Os isolados obtidos e as informações geradas neste estudo são recursos muito úteis para *i*) programas de melhoramento que visam selecionar para resistência ou caracterizar a reação de resistência de cultivares atualmente disponíveis para melhor implantação em campo, *ii*) testes para avaliação de controle químico com fungicidas e/ou métodos de controle biológico e *iii*) estudos sobre a diversidade genética de fitopatógenos.

## 4 CAPÍTULO II

### Tratamento de sementes para controle do tombamento causado por *Globisporangium irregulare* e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiferum* em soja do sul do Brasil

*As informações a seguir foram publicadas em formato de artigo científico na revista Crop Protection*

MOLIN, C., RIBEIRO, N. R., MATSUMOTO, M. N., LUTKEMEYER, A. J., BORDIGNON, K. B., FERREIRA, M. L., BARBIERI, M., DEUNER, C.C., HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Seed treatment for controlling damping-off caused by *Globisporangium irregulare* and *Globisporangium ultimum* var. *sporangiferum* in soybean from southern Brazil, *Crop Protection*, v. 149, 105782, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105782>.

#### 4.1 Resumo

*Globisporangium irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum* foram recentemente relatados como patógenos associados ao tombamento da soja no Brasil. Atualmente, não há informações conhecidas sobre tratamentos com fungicidas para sementes de soja. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de produtos comerciais à base de fungicidas no controle do tombamento da soja causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum*. Os experimentos foram realizados com 15 tratamentos de sementes



(testemunha não tratada, Certeza N, Apron RFC, Maxim, Maxim XL, Maxim Quattro, Maxim Advanced, Vitavax Thiram, Standak Top, Spectro, Verango, Derosal Plus, Carbendazim, Attic e Rancona T) e duas cultivares de soja ('DM57i52 IPRO' e 'NEO530 IPRO'). Ensaios *in vitro* foram realizados para verificar o efeito dos tratamentos de sementes na germinação e podridão de sementes, enquanto ensaios em câmara de crescimento foram realizados para avaliar o efeito dos tratamentos de sementes na emergência, podridão radicular e massa seca de plântulas. Os produtos que contêm metalaxil-M foram os mais eficazes no controle do tombamento causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum* seguido por produtos que contêm thiram. No geral, Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro tiveram maior eficácia para reduzir o tombamento causado por *G. irregulare* ou *G. ultimum* var. *sporangiiferum*, portanto, pode ser recomendado para o tratamento de sementes de soja.

Palavras-chaves: 1. Controle químico. 2. Mefenoxam. 3. Oomiceto. 4. *Pythium irregulare*. 5. *Pythium ultimum*.

## 4.2 Introdução

O tombamento da soja tem sido um problema em diversas lavouras no sul do Brasil, principalmente em locais com solos argilosos e períodos chuvosos durante a semeadura. As perdas são devido à redução do estande de plantas levando ao replantio que pode aumentar os custos de produção. Recentemente, quatro espécies de *Globisporangium* e três espécies de *Pythium* foram relatadas como agentes causais da doença no sul do Brasil (MOLIN et al., 2021). Dentre todas as espécies isoladas de plântulas de soja, *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum* foram os mais agressivos à soja em comparação com outras espécies (MOLIN et al., 2021) como já relatado em outros países (ROJAS et al., 2017).

*Globisporangium* é um gênero que foi segregado de *Pythium* e foi criado para agrupar os organismos com zoosporângios globulares (UZUHASHI et al., 2010). Atualmente, não existem cultivares de soja resistentes a *Globisporangium* (OKUBARA et al., 2014; URREA et al., 2017), e a rotação de culturas não é uma estratégia de manejo

eficaz devido à grande variedade de plantas hospedeiras (ACHARYA et al., 2018; BRODERS et al., 2007). Tratamentos de sementes com fungicidas ou oomicidas podem ser uma alternativa para o manejo do tombamento da soja (RADMER et al., 2017; SCOTT et al., 2020). No entanto, existem apenas dois produtos registrados para controle do tombamento da soja causado por *Globisporangium* (sin. *Pythium*) no Brasil.

Atualmente, metalaxil ou metalaxil-M (mefenoxam) são usados como ingredientes ativos aplicados à semente para controlar o tombamento causado por oomicetos (COOK e ZHANG, 1985; DORRANCE e MCCLURE, 2001; RADMER et al., 2017; ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2014; LAMICHHANE et al., 2020). No entanto, outras moléculas mostraram controle em relação ao *Globisporangium*, como fungicidas sítio-específicos do grupo das estrobilurinas (BRODERS et al., 2007) ou fungicidas multissítios como o tiram (GRIJALBA et al., 2017; LASCA et al., 2005) e captan (BRODERS et al., 2007). Mais recentemente, outros ingredientes ativos como o ethaboxam (WHITE et al., 2019; SCOTT et al., 2020) e a oxatiapirolina (MIAO et al., 2020) têm sido utilizados para o controle de doenças causadas por oomicetos. Os produtos para tratamento de sementes de soja disponíveis no Brasil contêm metalaxil-M, tiram ou estrobilurinas em misturas comerciais com fungicidas de grupos distintos como triazol, fenilpirrol ou benzimidazol, porém não existem produtos com apenas um ingrediente ativo. Além disso, espécies de oomicetos podem reagir de forma diferente dependendo do fungicida aplicado (SCOTT et al., 2020). Portanto, não pode ser determinado que todas as espécies podem ser manejadas com o mesmo ingrediente ativo, bem como a concentração do ingrediente ativo ou a dose do produto (ZITNICK-ANDERSON e NELSON, 2014).

No Brasil, há poucas informações sobre a eficácia do tratamentos de sementes com fungicidas no controle de *Globisporangium* em soja. Assim, é necessário identificar quais produtos comercializados no país podem ser utilizados no tratamento de sementes para controle do tombamento da soja. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a eficácia de produtos comerciais à base de fungicidas no controle do tombamento da soja causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum*.

### **4.3 Materiais e métodos**

#### ***4.3.1 Localização do estudo e origem dos isolados***

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (UPF) no período de julho a novembro de 2020.

Os isolados de *Globisporangium irregulare* ‘UPFOM03’ (GenBank: MW604822) e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘UPFPAN06’ (GenBank: MW605208) utilizados neste estudo pertencem à Coleção Micológica do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade de Passo Fundo (UPF), Rio Grande do Sul, Brasil. Os isolados foram armazenados em geladeira a 4°C em meio de cultura batata-cenoura-ágar (BCA: 20 g.L<sup>-1</sup> de batata; 20 g.L<sup>-1</sup> de cenoura, 12 g.L<sup>-1</sup> de ágar) durante o período experimental.

### ***4.3.2 Cultivares de soja***

As cultivares de soja utilizadas para os experimentos foram ‘DM57i52 IPRO’ e ‘NEO530 IPRO’. A escolha dessas cultivares foi baseada nas informações de seu desempenho em campos com histórico de tombamento, onde ‘DM57i52 IPRO’ apresentou maiores taxas de emergência do que ‘NEO530 IPRO’ (J. HUZAR-NOVAKOWISKI, *comunicação pessoal*). Para cada lote de soja utilizado, foram realizados testes de qualidade fisiológica quanto à germinação e vigor das sementes, conforme protocolo oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009) no Laboratório de Sementes da Universidade de Passo Fundo. A germinação das sementes foi avaliada usando papel germitest, enquanto o vigor das sementes foi avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado (MATERA et al., 2019).

### ***4.3.3 Procedimento para o tratamento de sementes***

As sementes de soja foram desinfestadas superficialmente com solução de hipoclorito de sódio a 1% por 2 minutos seguido de lavagem em água destilada estéril por 30 segundos. Em seguida, as sementes foram colocadas em papel toalha em câmara de fluxo laminar para secar. No dia seguinte, 200 g de sementes foram colocadas em sacos plásticos (20 x 30 cm) e os fungicidas foram adicionados com a dose recomendada na bula de acordo com cada tratamento. Foi usado como um volume de produto de 0,6% do peso das sementes. Os sacos plásticos foram fechados e agitados para distribuir uniformemente o fungicida. As sementes foram mantidas em bancada de laboratório em temperatura ambiente para secar por 24 h até a utilização nos experimentos.

#### 4.3.4 Tratamentos de sementes

A eficácia dos tratamentos de sementes foi avaliada com um ensaio de podridão de sementes e raízes. Os produtos comerciais à base de fungicidas usados neste estudo são comumente usados para tratamentos de sementes para o controle de patógenos de sementes e do solo no Brasil. Informações sobre composição, concentração e dose utilizada para cada produto podem ser encontradas na Tabela 4. Os lotes de sementes utilizados neste estudo apresentaram 95% e 91% de germinação e 92% e 74% de vigor para ‘DM57i52 IPRO’ e ‘NEO530 IPRO’, respectivamente.

**Tabela 4.** Fungicidas utilizados para tratamento de sementes de soja neste estudo.

Produto comercial	Ingrediente ativo (i.a.)	Concentração i.a. (g.L <sup>-1</sup> )	Dose (ml.kg <sup>-1</sup> )
Não tratada	-	-	-
Certeza N	fluazinam + tiofanato-metilico	52,5 + 350	2,0
Apron RFC	fludioxonil + metalaxil-M	25 + 37,5	2,0
Maxim	Fludioxonil	25	2,0
Maxim XL	fludioxonil + metalaxil-M	25 + 10	1,0
Maxim Quattro	azoxistrobina + tiabendazol + fludioxonil + metalaxil-M	15 + 300 + 37,5 + 30	1,0
Maxim Advanced	fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol	25 + 20 + 150	1,0
Vitavax Thiram	carboxina + tiram	200 + 200	1,0
Standak Top	fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metilico	250 + 25 + 225	2,0
Spectro	Difenoconazol	150	0,3
Verango	Fluopyram	600	1,5
Derosal Plus	carbendazim + tiram	150 + 350	2,0
Carbendazim	Carbendazim	500	1,0
Attic	Iprodiona	500	1,0
Rancona T	ipconazol + tiram	10 + 350	2,0

Os tratamentos consistiram de um arranjo fatorial de 15 fungicidas (14 produtos + 1 testemunha não tratada) x 2 cultivares de soja (‘DM57i52’ e ‘NEO530’) para cada

espécie de *Globisporangium*. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos completos casualizados com quatro repetições. Todo o experimento foi realizado duas vezes. Controles não inoculados foram adicionados a todos os tratamentos para verificar o efeito do tratamento de sementes na qualidade fisiológica da semente e fitotoxicidade.

#### ***4.3.5 Ensaio de podridão de sementes***

A eficácia dos tratamentos de sementes com fungicidas foi avaliada com base na metodologia de um ensaio de podridão de sementes, conforme descrito por Broders et al. (2007). Resumidamente, discos de micélio de 8,8 mm de diâmetro de uma cultura de três dias foram colocados no centro de uma placa de Petri de 90 x 15 mm contendo meio BCA. As placas foram mantidas a 20°C no escuro durante três dias. Dez sementes foram então colocadas na borda da cultura em crescimento. As placas foram mantidas a 20°C no escuro por cinco dias para avaliação da germinação e podridão das sementes. Para ser considerada uma semente germinada, a radícula precisava ter pelo menos 1 cm de comprimento. Os valores foram expressos em porcentagens. A severidade da podridão das sementes foi então determinada com base em uma escala de 0 a 4 (ROJAS et al., 2017): 0 = semente germinada sem sintomas; 1 = semente germinada com desenvolvimento retardado e descoloração mínima; 2 = semente germinada com lesões localizadas; 3 = semente germinada com lesões coalescentes; 4 = sem germinação de sementes com colonização pelo patógeno. O índice de severidade da podridão das sementes (ISDS) foi então calculado (ROJAS et al., 2017).

#### ***4.3.6 Ensaio de podridão de raiz***

A eficácia dos tratamentos de sementes na severidade da podridão radicular foi avaliada com base na metodologia adaptada de Ellis et al. (2013). Brevemente, os isolados foram cultivados durante três dias em placas de Petri de 90 x 15 mm a 20°C no escuro. Em seguida, 20 discos de micélio foram adicionados a sacos plásticos contendo substrato esterilizado composto de areia: farinha de milho: água (1500: 100: 380 mL). No dia da semeadura, o substrato foi misturado com vermiculita fina na proporção de 1:4 v/v. Em seguida, copos plásticos de 300 mL foram perfurados no fundo, sendo adicionados 50 mL de vermiculita bruta, seguido de 150 mL da mistura com o inóculo. Os copos foram saturados com água da torneira. Após a drenagem da água, foram colocadas 10 sementes seguidas de 100 mL de vermiculita grossa. Os copos foram mantidos em câmara de crescimento a 20°C com fotoperíodo de 12 h por 14 dias.

Para as avaliações, a cada dois dias, foi contabilizado o número de plântulas emergidas. Uma plântula foi considerada emergida quando os cotilédones estavam acima da superfície da vermiculita. O índice de velocidade de emergência (IVE) foi obtido pela equação descrita por Maguire (1962). Aos 14 dias após a semeadura, as plântulas foram contadas para obter a porcentagem final de emergência. Em seguida, as plântulas foram retiradas dos copos e o substrato foi lavado com água da torneira. O índice de severidade de podridão radicular (ISDR) foi então obtido com base em uma escala (BALK, 2014): 0 = sem sintomas nas raízes; 1 = lesões até 20% das raízes laterais; 2 = lesões na raiz principal e cobrindo até 21 a 75% das raízes laterais; 3 = lesões na raiz principal e mais de 75% das raízes laterais; 4 = sem emergência. Em seguida, foi calculado um índice de

severidade de podridão radicular (ISDR) (ROJAS et al., 2017). Por fim, a massa fresca total (MTF) por plântula foi determinada com balança digital com precisão de 0,01 g.

#### **4.3.7 Análise estatística**

Uma análise preliminar foi realizada com boxplots e histogramas para verificar a presença de outliers e distribuição dos dados, respectivamente. A normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade da variância foi verificada pelo teste de Levene. Os dados para MFT foram analisados sem transformação. A porcentagem de emergência aos 14 dias após a semeadura, IVE, ISDR, germinação e ISDS violaram os pressupostos da análise de variância e nenhuma transformação foi capaz de normalizar a distribuição dos resíduos. Como porcentagem de germinação e porcentagem de emergência são variáveis discretas, elas seguiram uma distribuição binomial que foi especificada no modelo estatístico. Os valores de porcentagem foram convertidos em proporções (0 – 1). A distribuição Gama foi especificada no modelo estatístico para analisar os dados para IVE, ISDR e ISDS, que são variáveis com valores positivos e distribuição assimétrica.

Modelos lineares generalizados mistos (GLMM) foram utilizados para análise dos dados onde cultivar, tratamento de sementes e suas interações foram considerados como efeitos fixos, enquanto experimento, blocos aninhados dentro do experimento e suas interações foram tratados como efeitos aleatórios. Uma análise separada foi realizada para cada isolado. As médias ajustadas (*lsmeans*) foram obtidas e utilizadas para comparar os efeitos principais dos efeitos fixos e sua interação pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. A função '*glmer*' do pacote '*lme4*' foi utilizada para análise



com modelos mistos e as médias ajustadas foram obtidas utilizando o pacote ‘*lsmeans*’ no software RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2020).

Foi criado um mapa de calor com ISDS, ISDR, MFT, emergência, IVE e germinação de sementes para classificar os tratamento de sementes em grupos. De três a quatro classes foram geradas dependendo da espécie de *Globisporangium* e da cultivar de soja. O mapa de calor foi gerado usando o pacote ‘*heatmap*’ no RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2020).

## 4.4 Resultados

### 4.4.1 Eficácia do tratamento de sementes para *G. irregulare*

Houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) da cultivar de soja, tratamento de sementes e sua interação cultivar x fungicida para emergência de plântulas de soja com inoculação de *G. irregulare* (Tabela 5). Assim, a emergência para a cultivar ‘DM57i52’ foi maior que Apron RFC (96%), Maxim Advanced (97%) e Maxim Quattro (97%) em relação aos demais tratamentos de sementes, exceto Maxim XL (91%), Derosal Plus (91%), Rancona T (94%) e Vitavax Thiram (88%) (Tabela 5). Para a cultivar ‘NEO530’, a aplicação de Apron RFC (96%) e Rancona T (94%) foi estatisticamente superior do que as demais, não diferindo de Maxim Advanced (90%), Maxim Quattro (92%), Vitavax Thiram (79%) e Derosal Plus (77%). Não houve diferença entre as cultivares de soja quando aplicados os produtos Apron RFC, Maxim Quattro, Maxim Advanced, Vitavax Thiram, Attic e Rancona T, porém, para os demais produtos a cultivar ‘DM57i52’ apresentou maior emergência quando comparada a ‘NEO530’ (Tabela 5).

Efeitos significativos ( $p < 0,01$ ) do tratamento de sementes e interação cultivar x tratamento de sementes foram detectados para IVE (Tabela 5). Para a cultivar ‘DM57i52’ não houve diferença significativa entre os tratamentos de sementes. No entanto, a cultivar ‘NEO530’ apresentou maior IVE com o uso de Apron RFC (1,44), Maxim Advanced (1,35), Maxim Quattro (1,36) e Rancona T (1,30), porém esses tratamentos diferiram apenas do tratamento com Verango (0,17) (Tabela 5). O uso do Verango causou sintomas de fitotoxicidade em plântulas de soja com bronzeamento na borda dos cotilédones.

Além disso, foram verificados efeitos significativos de cultivar e tratamento de sementes para ISDR (Tabela 2). O tratamento com Apron RFC (44,43) apresentou a menor severidade da doença, diferindo dos demais tratamentos de sementes, seguido de Maxim XL (64,78), Maxim Advanced (57,56), Maxim Quattro (58,16), Vitavax Thiram (65,50), Derosal Plus (65,54) e Rancona T (64,91). A cultivar de soja ‘DM57i52’ (66,99) apresentou RDSI menor que a cultivar ‘NEO530’ (74,68).

Além disso, o tratamento de sementes afetou significativamente a MFT (Tabela 5). Assim, a aplicação do Apron RFC (1,44) apresentou maior MFT que Spectro (0,79), Verango (0,79) e Carbendazim (0,78) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), índice de severidade de doenças radiculares (ISDR) e massa fresca total (MFT, g) de plântulas de soja com diferentes tratamentos de sementes com fungicidas para controle de *Globisporangium irregulare*.

Tratamentos	Emergência (proporção)			IVE <sup>a</sup>			ISDR <sup>b</sup>	MFT <sup>b</sup>
	DM57i52	NEO530	DM57i52	NEO530	DM57i52	NEO530		
<i>Tratamento de semente</i>								
Controle não-tratado	0,63 ± 0,11 cd A	0,20 ± 0,07 cd B	0,74 ± 0,19 a A	0,28 ± 0,07 abc A	87,74 ± 7,16 a	0,88 ± 0,13 abc		
Certeza N	0,59 ± 0,11 cd A	0,21 ± 0,08 cd B	0,67 ± 0,17 a A	0,27 ± 0,06 abc B	84,90 ± 6,75 a	0,87 ± 0,13 abc		
Apron RFC	0,96 ± 0,02 a A	0,96 ± 0,02 a A	1,38 ± 0,38 a A	1,44 ± 0,40 a A	44,43 ± 2,34 c	1,33 ± 0,13 a		
Maxim	0,64 ± 0,11 cd A	0,28 ± 0,09 cd B	0,75 ± 0,19 a A	0,38 ± 0,09 abc A	82,47 ± 6,42 a	0,86 ± 0,13 abc		
Maxim XL	0,91 ± 0,04 ab A	0,72 ± 0,09 b B	1,21 ± 0,33 a A	1,25 ± 0,34 ab A	64,78 ± 4,25 b	1,16 ± 0,13 abc		
Maxim Quattro	0,97 ± 0,02 a A	0,92 ± 0,04 ab A	1,36 ± 0,38 a A	1,39 ± 0,39 a A	58,16 ± 3,56 b	1,25 ± 0,13 abc		
Maxim Advanced	0,97 ± 0,02 a A	0,90 ± 0,04 ab A	1,35 ± 0,37 a A	1,31 ± 0,36 a A	57,56 ± 3,50 b	1,28 ± 0,13 ab		
Vitavax Thiram	0,88 ± 0,05 ab A	0,79 ± 0,08 ab A	1,11 ± 0,30 a A	1,10 ± 0,29 abc A	65,50 ± 4,32 b	1,22 ± 0,13 abc		
Standak Top	0,74 ± 0,09 bc A	0,38 ± 0,11 cd B	0,93 ± 0,24 a A	0,49 ± 0,12 abc A	80,19 ± 6,11 a	1,12 ± 0,13 abc		
Spectro	0,54 ± 0,11 cd A	0,11 ± 0,05 d B	0,64 ± 0,16 a A	0,14 ± 0,03 c B	87,95 ± 7,19 a	0,79 ± 0,13 bc		
Verango	0,54 ± 0,11 cd A	0,12 ± 0,05 d B	0,71 ± 0,18 a A	0,17 ± 0,04 bc B	86,93 ± 7,05 a	0,79 ± 0,13 c		
Derosal Plus	0,91 ± 0,04 ab A	0,77 ± 0,08 ab B	1,29 ± 0,36 a A	1,17 ± 0,31 ab A	65,54 ± 4,33 b	1,14 ± 0,13 abc		
Carbendazim	0,61 ± 0,11 cd A	0,30 ± 0,10 cd B	0,73 ± 0,19 a A	0,34 ± 0,08 abc A	84,35 ± 6,68 a	0,78 ± 0,13 c		
Attic	0,42 ± 0,11 d A	0,31 ± 0,10 cd A	0,40 ± 0,10 a A	0,29 ± 0,07 abc A	87,49 ± 7,12 a	0,95 ± 0,13 abc		
Rancona T	0,94 ± 0,03 ab A	0,94 ± 0,03 a A	1,26 ± 0,34 a A	1,30 ± 0,36 a A	64,91 ± 4,26 b	1,24 ± 0,13 abc		
<i>Cultivar de soja</i>								
DM57i52	-	-	-	-	66,99 ± 3,82 b	1,03 ± 0,11 a		
NEO530	-	-	-	-	74,68 ± 4,72 a	1,05 ± 0,11 a		
<i>Valor de probabilidade (p)</i>								
Tratamento de semente (TS)	<0,001	<0,001	0,1149	<0,001	<0,001	0,026		
Cultivar (C)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		
TS x C	<0,001	<0,001	0,0014	0,988	0,988	0,1748		

<sup>a</sup> Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas nas linhas para comparação de cultivares de soja e minúsculas na coluna para comparação de tratamentos de sementes, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>b</sup> A interação entre cultivar de soja e produto não foi significativa ( $p > 0,05$ ). As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Um efeito significativo ( $p < 0,01$ ) de cultivar de soja, tratamento de sementes e interação foi obtido para a germinação de sementes (Tabela 6). Assim, para a cultivar ‘DM57i52’, aplicação de Apron RFC (100%), Maxim XL (96%), Maxim Quattro (98%), Maxim Advanced (98%), Derosal Plus (96%) e Racona T (100 %) proporcionou maior germinação, diferindo dos demais tratamentos. Para a cultivar ‘NEO530’ o tratamento de sementes com Apron RFC (98%) foi superior às demais, mas não diferiu da Maxim XL (96%), Maxim Quattro (99%) e Maxim Advanced (99%). Verificou-se que a germinação de sementes foi maior para a cultivar ‘DM57i52’ do que ‘NEO530’ quando Vitavax Thiram, Spectro, Attic e Derosal Plus foram aplicados como tratamentos de sementes, enquanto os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre as duas cultivares (Tabela 6).

O efeito de cultivar, tratamento de sementes e sua interação foi significativo para ISDS (Tabela 6). A cultivar de soja ‘DM57i52’ apresentou o menor ISDS com Apron RFC (34,35), porém não diferiu de Maxim Quattro (40,62) e Maxim Advanced (48,74). Para a cultivar ‘NEO530’, as menores taxas de severidade ocorreram com a aplicação dos tratamentos Apron RFC (46,55), Maxim XL (55,61), Maxim Advanced (48,74), Maxim Quattro (49,74). A cultivar ‘DM57i52’ apresentou menor ISDS em relação à ‘NEO530’ tratada com Apron RFC, Maxim Quattro, Maxim Advanced, Vitavax Thiram, Derosal Plus e Rancona T, enquanto não houve diferença significativa entre as cultivares para os demais tratamentos de sementes (Tabela 6).

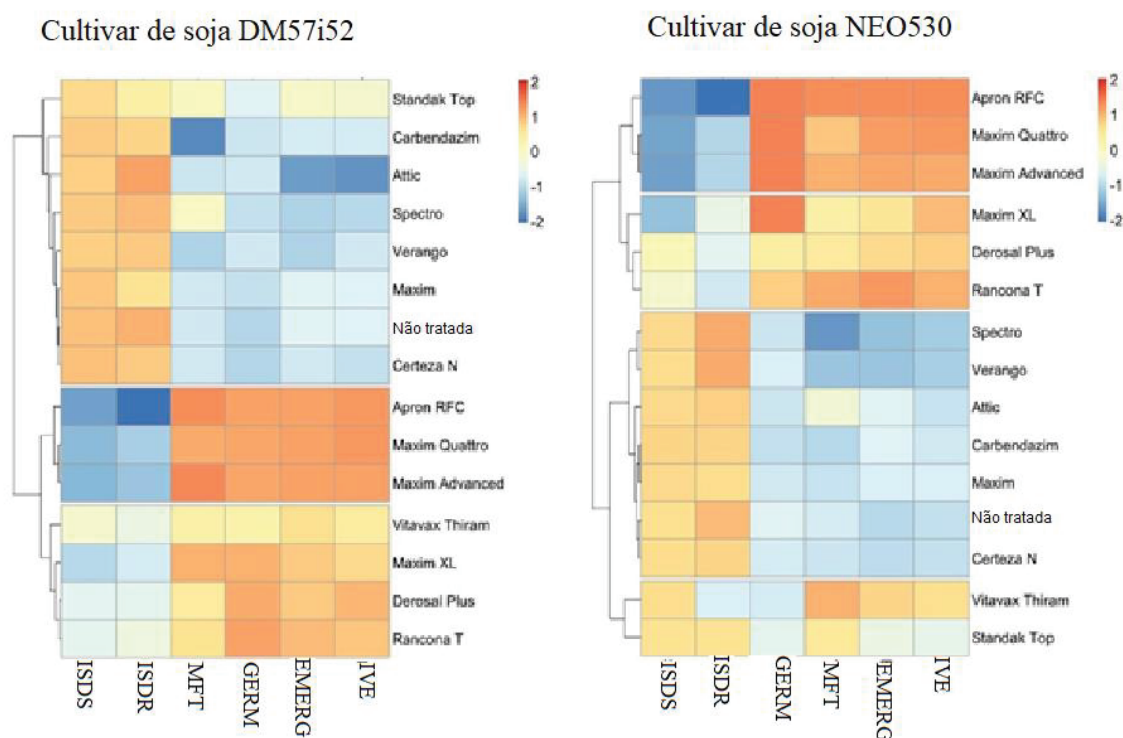
Com base nos resultados do mapa de calor para *G. irregulare*, os produtos foram classificados em três grupos para ‘DM57i52’ e em quatro grupos para ‘NEO530’ (Figura 6). Para ambas as cultivares de soja, ‘DM57i52’ e ‘NEO530’, Apron RFC, Maxim

Quattro e Maxim Advanced foram agrupados na Classe I com alta eficácia no controle do tombamento da soja devido ao menor ISDS e ISDR e maior massa fresca total, germinação, emergência e ESI.

#### **4.4.2 Eficácia de tratamentos de sementes para G. ultimum var. sporangiiferum**

Houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) do tratamento de sementes e da interação do tratamento de sementes e cultivar na emergência. A cultivar de soja ‘DM57i52’ apresentou maior emergência com o uso do Maxim Quattro (95%), porém não diferiu do Apron RFC (93%), Maxim Advanced (92%), Maxim XL (82%), Vitavax Thiram (41%) e Derosal Plus (68%). Já para a cultivar ‘NEO530’, houve maior emergência com a aplicação de Apron RFC (97%), Maxim Advanced (93%), Maxim XL (96%) e Maxim Quattro (83%). Houve maior emergência para ‘NEO530’ do que ‘DM57i52’ quando aplicado Maxim XL, enquanto ‘DM57i52’ teve maior emergência do que ‘NEO530’ com uso de Maxim Quattro e Attic (Tabela 7).

Houve efeito significativo do tratamento de sementes para ESI (Tabela 7). A aplicação de Apron RFC, Maxim Quattro e Maxim Advanced proporcionou maior ESI do que os demais tratamentos de sementes, com exceção de Maxim XL, Vitavax Thiram, Standak Top, Derosal Plus e Rancona T (Tabela 7). Um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) de cultivar e tratamento de sementes, mas não sua interação, foi observado para MFT, enquanto o tratamento de sementes afetou ISDR (Tabela 7). Assim, o tratamento de sementes com Apron RFC proporcionou o menor ISDR (Tabela 7). No entanto, o Apron RFC apresentou maior MFT do que o tratamento não tratado, Spectro e Attic (Tabela 7).



**Figura 6.** Mapa de calor com os 15 tratamentos de sementes avaliados neste estudo para controlar o tombamento causado por *Globisporangium irregulare* ‘UPFOM03’ em duas cultivares de soja (‘DM57i52’ e ‘NEO530’). ISDS = índice de severidade da doença da podridão das sementes; ISDR = índice de severidade da doença da podridão radicular; MFT= massa fresca total; GERM = germinação de sementes; EMERG = emergência; IVE= índice de velocidade de emergência. A cor vermelha indica alto valor, enquanto a cor azul indica baixo valor para as variáveis.

**Tabela 6.** Germinação de sementes (%) e índice de severidade de doenças de sementes (ISDS) de duas cultivares de soja com diferentes tratamentos de sementes com fungicidas para controle de *Globisporangium irregulare* e *Globisporangium ulimum* var. *sporangiiiferum*.

Tratamento	<i>G. irregulare</i> 'OM03'						<i>G. ulimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i> 'PAN06'					
	Germinação (%) <sup>a</sup>			ISDS <sup>a</sup>			Germinação (%) <sup>b</sup>			ISDS <sup>b</sup>		
	DM57i52	NEO530	DM57i52	DM57i52	NEO530	NEO530	DM57i52	DM57i52	NEO530	DM57i52	DM57i52	NEO530
<i>Tratamento de semente</i>												
Controle não tratado	0,05 ± 0,03 c A	0,09 ± 0,05 d A	98,37 ± 6,44 a A	98,37 ± 6,44 a A	97,11 ± 6,42 a A	97,11 ± 6,42 a A	0,51 ± 0,07 d A	0,51 ± 0,07 d A	0,25 ± 0,06 efg B	0,25 ± 0,06 efg B	87,45 ± 8,91 ab	87,45 ± 8,91 ab
Certeza N	0,05 ± 0,03 c A	0,05 ± 0,03 d A	98,35 ± 6,51 a A	98,35 ± 6,51 a A	98,37 ± 6,52 a A	98,37 ± 6,52 a A	0,62 ± 0,07 cd A	0,62 ± 0,07 cd A	0,22 ± 0,06 efg B	0,22 ± 0,06 efg B	81,54 ± 8,30 ab	81,54 ± 8,30 ab
Apron RFC	1,00 ± 0,00 a A	0,98 ± 0,02 a A	34,35 ± 2,22 f B	34,35 ± 2,22 f B	46,55 ± 2,97 b A	46,55 ± 2,97 b A	1,00 ± 0,00 a A	1,00 ± 0,00 a A	0,99 ± 0,01 ab A	0,99 ± 0,01 ab A	29,67 ± 3,02 f	29,67 ± 3,02 f
Maxim	0,09 ± 0,05 c A	0,03 ± 0,02 d A	97,10 ± 6,41 ab A	97,10 ± 6,41 ab A	98,99 ± 6,56 a A	98,99 ± 6,56 a A	0,54 ± 0,07 d A	0,54 ± 0,07 d A	0,41 ± 0,07 def A	0,41 ± 0,07 def A	79,37 ± 8,09 ab	79,37 ± 8,09 ab
Maxim XL	0,96 ± 0,03 a A	0,98 ± 0,02 ab A	49,98 ± 3,19 de A	49,98 ± 3,19 de A	55,61 ± 3,57 b A	55,61 ± 3,57 b A	0,94 ± 0,03 b A	0,94 ± 0,03 b A	1,00 ± 0,00 a A	1,00 ± 0,00 a A	35,75 ± 3,64 def	35,75 ± 3,64 def
Maxim Quattro	0,98 ± 0,02 a A	0,99 ± 0,01 ab A	40,62 ± 2,58 ef B	40,62 ± 2,58 ef B	49,74 ± 3,11 b A	49,74 ± 3,11 b A	1,00 ± 0,00 a A	1,00 ± 0,00 a A	0,91 ± 0,03 b A	0,91 ± 0,03 b A	37,69 ± 3,84 cdef	37,69 ± 3,84 cdef
Maxim Advanced	0,98 ± 0,02 a A	0,99 ± 0,01 ab A	39,68 ± 2,52 ef B	39,68 ± 2,52 ef B	48,74 ± 3,11 b A	48,74 ± 3,11 b A	1,00 ± 0,00 a A	1,00 ± 0,00 a A	0,99 ± 0,01 ab A	0,99 ± 0,01 ab A	34,14 ± 3,49 ef	34,14 ± 3,49 ef
Vitavax Thiram	0,63 ± 0,12 b A	0,06 ± 0,04 d B	72,15 ± 4,67 bc B	72,15 ± 4,67 bc B	98,36 ± 6,52 a A	98,36 ± 6,52 a A	0,98 ± 0,01 b A	0,98 ± 0,01 b A	0,60 ± 0,07 cd B	0,60 ± 0,07 cd B	58,94 ± 6,19 abcd	58,94 ± 6,19 abcd
Standak Top	0,21 ± 0,09 c A	0,12 ± 0,06 d A	92,74 ± 6,11 ab A	92,74 ± 6,11 ab A	96,19 ± 6,36 a A	96,19 ± 6,36 a A	0,85 ± 0,05 bc A	0,85 ± 0,05 bc A	0,49 ± 0,07 cde B	0,49 ± 0,07 cde B	75,49 ± 7,74 ab	75,49 ± 7,74 ab
Spectro	0,11 ± 0,06 c A	0,02 ± 0,02 d B	96,17 ± 6,35 ab A	96,17 ± 6,35 ab A	99,31 ± 6,59 a A	99,31 ± 6,59 a A	0,49 ± 0,07 d A	0,49 ± 0,07 d A	0,10 ± 0,04 g B	0,10 ± 0,04 g B	90,46 ± 9,23 ab	90,46 ± 9,23 ab
Ilvo/ verango	0,15 ± 0,07 c A	0,06 ± 0,04 d A	95,54 ± 6,31 ab A	95,54 ± 6,31 ab A	98,06 ± 6,49 a A	98,06 ± 6,49 a A	0,39 ± 0,07 d A	0,39 ± 0,07 d A	0,14 ± 0,04 fg B	0,14 ± 0,04 fg B	93,17 ± 9,49 a	93,17 ± 9,49 a
Derosal Plus	0,96 ± 0,03 a A	0,55 ± 0,13 c B	60,91 ± 3,92 cd B	60,91 ± 3,92 cd B	85,89 ± 5,63 a A	85,89 ± 5,63 a A	1,00 ± 0,00 a A	1,00 ± 0,00 a A	0,71 ± 0,06 bcd A	0,71 ± 0,06 bcd A	54,84 ± 5,77 bcde	54,84 ± 5,77 bcde
Carbendazim	0,14 ± 0,07 c A	0,00 ± 0,00 d A	95,85 ± 6,33 ab A	95,85 ± 6,33 ab A	99,93 ± 6,63 a A	99,93 ± 6,63 a A	0,59 ± 0,07 cd A	0,59 ± 0,07 cd A	0,09 ± 0,03 g B	0,09 ± 0,03 g B	87,63 ± 8,97 ab	87,63 ± 8,97 ab
Attic	0,15 ± 0,07 c A	0,02 ± 0,02 d B	94,61 ± 6,24 ab A	94,61 ± 6,24 ab A	99,30 ± 6,59 a A	99,30 ± 6,59 a A	0,65 ± 0,07 cd A	0,65 ± 0,07 cd A	0,22 ± 0,06 efg B	0,22 ± 0,06 efg B	85,86 ± 8,77 ab	85,86 ± 8,77 ab
Rancona T	1,00 ± 0,00 a A	0,73 ± 0,10 bc A	61,23 ± 3,93 cd B	61,23 ± 3,93 cd B	80,27 ± 5,24 a A	80,27 ± 5,24 a A	0,98 ± 0,01 b A	0,98 ± 0,01 b A	0,79 ± 0,05 bc B	0,79 ± 0,05 bc B	60,34 ± 6,12 abc	60,34 ± 6,12 abc
<i>Soybean cultivar</i>												
DM57i52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NEO530	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Valores de probabilidade (p)												
Tratamento de semente (TS)	<0,001	<0,001	0,0019	0,0019	0,0019	0,0019	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,042	0,042
Cultivar (C)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
TS x C	<0,001	<0,001	0,004	0,004	0,004	0,004	0,042	0,042	0,042	0,042	0,6375	0,6375

<sup>a</sup>Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas nas linhas para comparação de cultivares de soja e minúsculas na coluna para comparação de tratamento de sementes, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>b</sup>A interação entre cultivar e produto não foi significativa ( $p > 0,05$ ). As médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

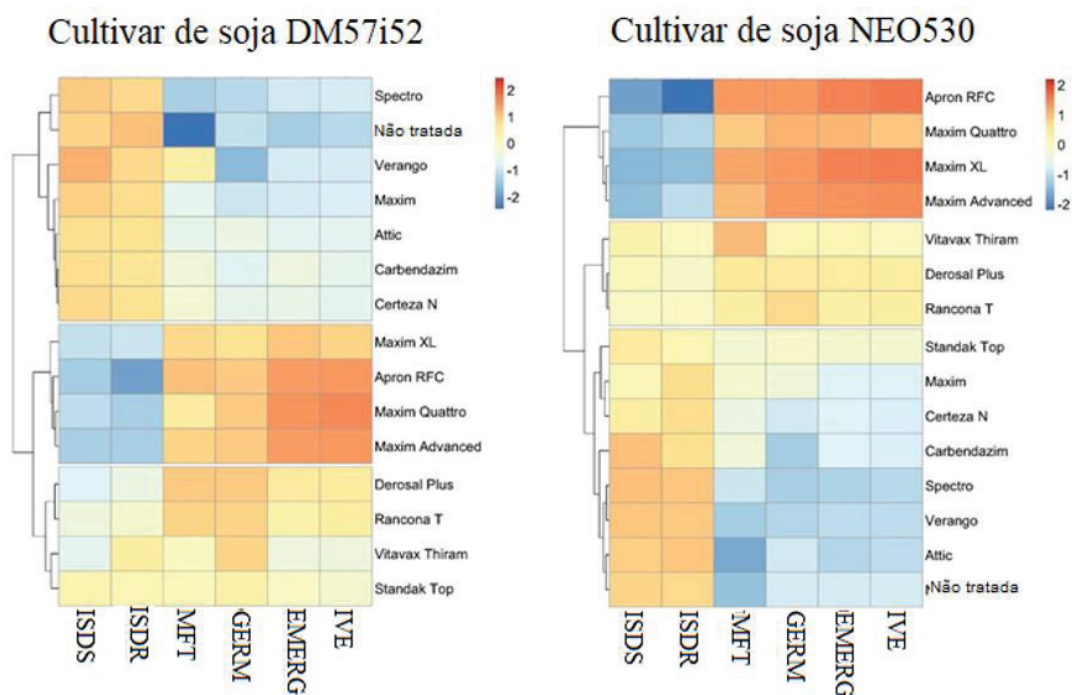
**Tabela 7.** Emergência, índice de velocidade de emergência, índice de severidade da doença na raiz (ISDR) e massa fresca total (MFT) de plântulas de soja com diferentes tratamentos de sementes com fungicidas para controle de *Globisporangium irregulare*.

Tratamento	Emergência (proporção)			MFT <sup>b</sup>	
	DM57i52	NEO530	EMERG <sup>b</sup>		ISDR <sup>b</sup>
<i>Tratamento de semente</i>					
Controle não tratado	0,13 ± 0,04 g A	0,22 ± 0,06 efg A	0,23 ± 0,04 d	94,41 ± 4,26 a	0,51 ± 0,10 d
Certeza N	0,36 ± 0,07 defg A	0,25 ± 0,06 defg A	0,37 ± 0,07 cd	91,32 ± 4,05 ab	0,88 ± 0,10 abcd
Apron RFC	0,93 ± 0,03 ab A	0,97 ± 0,01 a A	1,50 ± 0,30 a	49,01 ± 1,74 e	1,32 ± 0,10 a
Maxim	0,27 ± 0,06 efg A	0,25 ± 0,06 defg A	0,35 ± 0,07 cd	92,26 ± 4,11 ab	0,88 ± 0,10 abcd
Maxim XL	0,82 ± 0,05 abc B	0,96 ± 0,02 a A	1,33 ± 0,27 ab	61,68 ± 2,32 d	1,27 ± 0,10 ab
Maxim Quattro	0,95 ± 0,02 a A	0,83 ± 0,05 ab B	1,36 ± 0,27 a	61,88 ± 2,33 d	1,18 ± 0,10 abc
Maxim Advanced	0,92 ± 0,03 ab A	0,93 ± 0,03 a A	1,46 ± 0,29 a	62,47 ± 2,36 d	1,25 ± 0,10 ab
Vitavax Thiram	0,41 ± 0,08 defg A	0,57 ± 0,08 bcde A	0,63 ± 0,12 abcd	83,86 ± 3,56 abc	1,15 ± 0,10 abc
Standak Top	0,50 ± 0,08 cdef A	0,45 ± 0,08 cdef A	0,64 ± 0,12 abcd	83,57 ± 3,55 abc	0,95 ± 0,10 abcd
Spectro	0,25 ± 0,06 fg A	0,12 ± 0,04 g A	0,21 ± 0,04 d	93,92 ± 4,23 a	0,70 ± 0,10 bcd
Ilevo/ verango	0,27 ± 0,06 efg A	0,17 ± 0,05 fg A	0,24 ± 0,05 d	93,64 ± 4,21 a	0,81 ± 0,10 abcd
Derosal Plus	0,68 ± 0,07 bcd A	0,64 ± 0,07 bc A	0,98 ± 0,19 abc	75,58 ± 3,07 c	1,18 ± 0,10 abc
Carbendazim	0,38 ± 0,07 defg A	0,26 ± 0,06 defg A	0,38 ± 0,07 bcd	90,55 ± 4,00 ab	0,90 ± 0,10 abcd
Attic	0,32 ± 0,07 defg A	0,14 ± 0,04 fg B	0,27 ± 0,05 cd	92,92 ± 4,16 ab	0,65 ± 0,10 cd
Rancona T	0,62 ± 0,07 cde A	0,62 ± 0,07 bcd A	0,95 ± 0,19 abc	78,96 ± 3,26 bc	1,14 ± 0,10 abc
<i>Cultivar de soja</i>					
DM57i52	-	-	0,50 ± 0,04 a	76,73 ± 1,93 a	0,93 ± 0,04 a
NEO530	-	-	0,42 ± 0,03 a	77,85 ± 1,99 a	1,04 ± 0,04 a
<i>Valores de P</i>					
Tratamento de semente (TS)		0,1820	0,8379	0,2280	0,0260
Cultivar (C)		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
TS x C		0,0130	0,7984	0,6890	0,1748

<sup>a</sup> Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas nas linhas para comparação de cultivares de soja e minúsculas na coluna para comparação de tratamentos de sementes, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>b</sup> A interação entre cultivar e produto não foi significativa ( $p > 0,05$ ). As médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.





**Figura 7.** Mapa de calor com 15 tratamentos de sementes avaliados neste estudo para controlar o tombamento causado por *Globisporangium ultimum* var. *sporangiferum* ‘UPFPAN06’ em duas cultivares de soja (‘DM57i52’ e ‘NEO530’). ISDS = índice de severidade da doença nas sementes; ISDR = índice de severidade da doença na raiz; MFT= massa fresca total; GERM = germinação das sementes; EMERG = emergência; IVE= índice de velocidade de emergência. A cor vermelha indica alto valor, enquanto a cor azul indica baixo valor para as variáveis.

Foi verificado efeito significativo ( $p < 0,05$ ) de cultivar, tratamento de sementes e sua interação para a germinação de sementes (Tabela 6). Para a cultivar ‘DM57i52’, a aplicação de Apron RFC, Maxim Quattro, Maxim Advanced e Derosal Plus se destacam em relação aos demais tratamentos de sementes. A cultivar ‘NEO530’ apresentou maior germinação ao utilizar Maxim XL, porém não diferiu da Apron RFC e Maxim Advanced.

No entanto, a cultivar ‘DM57i52’ não teve diferença estatística da cultivar ‘NEO530’ nos tratamentos com Apron RFC, Maxim, Maxim XL, Maxim Quattro, Maxim Advanced e Derosal Plus, enquanto os demais tratamentos resultaram em maior germinação com a cultivar ‘DM57i52’ (Tabela 6). Por fim, houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ) de cultivar e tratamento de sementes para ISDS (Tabela 6). Assim, o tratamento de sementes com Apron RFC (29,67) apresentou menor ISDS, mas não diferiu de Maxim XL (35,75), Maxim Quattro (37,69) e Maxim Advanced (34,14). A cultivar ‘DM57i52’ apresentou menor ISDS quando comparada a ‘NEO530’ (Tabela 6).

Com base nos resultados do mapa de calor para *G. ultimum* var. *sporangiferum*, os produtos foram classificados em três grupos (Figura 7). Para ambas as cultivares de soja, ‘DM57i52’ e ‘NEO530’, Apron RFC, Maxim Quattro, Maxim Advanced e Maxim XL foram agrupados na Classe I com alta eficácia no controle do tombamento da soja devido ao menor ISDS e ISDR e maior MFT, germinação de sementes, emergência e IVE.

#### 4.5 Discussão

Neste estudo, foi verificado que os produtos comerciais atualmente disponíveis para tratamento de sementes de soja no Brasil apresentam níveis variáveis de eficácia no controle do tombamento causado por *G. irregulare* ou *G. ultimum* var. *sporangiferum*. A maior eficácia ocorreu com Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro e, portanto, podem ser recomendados para o manejo de doenças para ambas as espécies de patógenos.

O Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro são produtos que apresentam o fludioxonil em sua composição. No entanto, sabe-se que este fungicida não tem efeito

no controle de *Globisporangium* (GIESLER e MILLER, 2017). Isso foi confirmado neste estudo com o produto Maxim que contém apenas fludioxonil, pois não apresentou diferença nas variáveis avaliadas quando comparado ao controle não tratado. Além disso, o fungicida tiabendazol que está presente no Maxim Advanced e no Maxim Quattro é um triazol que atua interferindo na biossíntese do ergosterol, um lipídio na membrana plasmática do fungo (REIS et al., 2019). No entanto, os oomicetos possuem celulose ao invés de esterol na composição de sua membrana plasmática e, portanto, não são afetados por fungicidas do grupo dos triazóis (REIS et al., 2019). Como resultado, este ingrediente ativo não tem efeito no controle do tombamento causado por oomicetos.

Nosso estudo verificou que os produtos que contêm metalaxil-M em maiores concentrações tiveram a maior eficácia no controle do tombamento e podridão radicular causada por *Globisporangium* spp. Metalaxil-M é um fungicida que pertence ao grupo químico acilalaninato que inibe a síntese de RNA ribossômico em oomicetos (WEILAND et al., 2014). O ingrediente ativo se liga fortemente ao DNA do patógeno, tornando-o inadequado para a biossíntese de RNA, mas ainda permitindo que a síntese de DNA continue (RANDALL et al., 2014). Conseqüentemente, o crescimento micelial e a formação de oósporos são inibidos (SYNGENTA, 2020). Vários estudos já relataram a eficácia do metalaxil-M no controle de oomicetos (DORRANCE e MCCLURE, 2001; GASPAR et al., 2015; RADMER et al., 2017; SCOTT et al., 2020). No entanto, a presença de metalaxil-M no produto não garante altos níveis de eficácia no controle do tombamento da soja.

Neste estudo foram avaliados produtos com diferentes concentrações do mesmo ingrediente ativo, sendo que o Maxim XL é um produto que contém metalaxil-M (10 g.L<sup>-1</sup>), mas em concentrações menores que Apron RFC (37,5 g.L<sup>-1</sup>), Maxim Advanced (20 g

L<sup>-1</sup>) e Maxim Quattro (37,5 g.L<sup>-1</sup>). A dose recomendada é diferente entre esses produtos, para Apron RFC 2,0 mL.kg<sup>-1</sup>, enquanto para Maxim Advanced, Maxim Quattro e Maxim XL a dose é de 1,0 mL.kg<sup>-1</sup>. Conseqüentemente, diferentes quantidades do ingrediente ativo foram aplicadas na semente de soja. Assim, os níveis de controle de tombamento com Maxim XL foram menores do que Apron RFC, Maxim Quattro e Maxim Advanced.

Como atualmente no Brasil não existem produtos com altas concentrações de metalaxil-M, alguns produtores podem tentar compensar as baixas concentrações do ingrediente ativo aumentando a dose do produto aplicado no tratamento de sementes. No entanto, como os produtos comerciais contêm uma mistura de ingredientes ativos, o aumento da dose do produto implica na aplicação de maior quantidade dos demais ingredientes ativos. Isso pode levar à fitotoxicidade e à redução da germinação e vigor da semente (FESSEL et al., 2003; DAN et al., 2010) o que pode comprometer o estabelecimento da cultura no campo (DAN et al., 2010). Além disso, pode afetar negativamente a saúde humana, bem como organismos não-alvo (LAMICHANE et al., 2020). Assim, mais estudos são necessários para verificar se o aumento da dose desses produtos comerciais poderia proporcionar maior controle do tombamento sem causar efeitos negativos à cultura.

O uso de produtos comerciais que contenham misturas de fungicidas é desejável devido à capacidade de controlar outros patógenos do solo, como *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* spp. bem como as transmitidas por sementes (i.e. *Colletotrichum* spp. e *Phomopsis* spp.). Além disso, existe o risco de resistência ao metalaxil-M, que é comum em situações em que o fungicida tem sido usado com alta frequência (MOORMAN et al., 2002; TAYLOR et al., 2002; LAMICHHANE et al., 2016). Mesmo quando o uso de metalaxil estava ausente ou infrequente, a resistência ao metalaxil foi encontrada em

isolados de *Pythium* (BRANTNER e WINDELS., 1998). Esses achados sugerem que uma situação semelhante pode surgir com o metalaxil-M (WEILAND et al., 2014). No entanto, no Brasil ainda não existem estudos que indiquem resistência a esse ingrediente ativo (WEILAND et al., 2014).

O fungicida azoxistrobina que pertence ao grupo das estrobilurinas está presente em Maxim Quattro e Standak Top. As estrobilurinas possuem alto grau de absorção sistêmica pelas raízes e amplo controle, o que provoca um aumento na proteção das plântulas. A ação desse fungicida resulta da inibição da respiração, pois impede a transferência de elétrons. Esses fungicidas podem controlar oomicetos, porém com eficácia baixa ou média (GRIJALBA et al., 2017), o que corrobora com os resultados deste estudo.

Derosal Plus e Rancona T proporcionaram níveis moderados a baixos de controle do tombamento, devido ao tiram, o qual é um fungicida multissítio que atua como protetor e possui amplo espectro de ação (REIS et al., 2019). Estudos anteriores (YOU et al., 2020; HUDGE, 2015; LASCA et al., 2005) já mostraram que o tiram tem eficácia no controle de *Pythium* spp., mas o controle é inferior quando comparado ao metalaxil ou metalaxil-M.

As duas cultivares de soja utilizadas neste estudo, ‘DM57i52’ e ‘NEO530’, apresentaram diferença na massa de sementes. Isso gerou questionamentos sobre a quantidade de produto aplicada por semente, pois a cultivar ‘DM57i52’ apresentou menor massa e, portanto, maior número de sementes por kg quando comparada a cultivar ‘NEO530’ com maior massa de sementes. Como foi utilizada a mesma quantidade de produto por kg de semente, a quantidade de ingrediente ativo por semente é variável. É necessário investigar se os produtos para tratamento de sementes no Brasil devem

mencionar a dose por semente ou massa de mil grãos em vez de volume por kg como forma de considerar a variação da massa da semente entre as cultivares de soja, à semelhança do que ocorre nas bulas dos produtos nos Estados Unidos.

O tratamento de sementes com fungicidas comercialmente disponíveis no Brasil pode contribuir para o manejo do tombamento da soja causado por *G. irregulare* ou *G. ultimum* var. *sporangiiferum*. No entanto, não é recomendado confiar apenas nos tratamentos de sementes e a integração de métodos de controle deve ser considerada para o manejo de tombamento em soja (LAMICHHANE et al., 2020). Como não existem cultivares resistentes disponíveis, outros métodos, como a melhoria da drenagem do solo, principalmente em solos argilosos, também devem ser considerado como forma de evitar condições favoráveis à germinação dos oósporos e infecção do hospedeiro.

#### **4.6 Conclusão**

Com base nos resultados deste estudo, pode-se concluir que o tratamento de sementes de soja com produtos compostos de metalaxil-M em maiores concentrações como Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro, proporciona maior controle do tombamento da soja causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum*.

## 5 CAPÍTULO III

### **O aumento da dose de fungicida no tratamento de sementes de soja reduz a podridão radicular causada por duas espécies de *Globisporangium***

*O trabalho foi publicado como Short Communication na revista Crop Protection*

MOLIN, C., RIBEIRO, N. R., MATSUMOTO, M. N., BORDIGNON, K. B., FERREIRA, M. L., BARBIERI, M., DEUNER, C.C., HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Increasing the dose of fungicide in the seed treatment of soybean can reduce root rot caused by two species of *Globisporangium*, *Crop Protection*, v. 152, 105845, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105845>.

#### **5.1 Resumo**

No Brasil, existem alguns produtos comerciais compostos de metalaxil-M que podem ser utilizados como tratamento de sementes de soja. Metalaxil-M é um fungicida com eficácia contra oomicetos, porém, as concentrações e doses recomendadas de produtos comerciais não são muito eficazes. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do aumento da dose de produtos comerciais compostos de metalaxil-M no controle da podridão radicular da soja causada por duas espécies de *Globisporangium* (*G. irregulare* e *G. sporangiiferum* var. *ultimum*). Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial de 3 fungicidas (Apron, Maxim Advanced e Maxim Quattro) x 7 doses (0,000; 0,003; 0,006; 0,012; 0,018; 0,024; 0,030 mg de metalaxil-M por semente) x 2 cultivares de soja ('DM57i52' e 'NEO530'). Os experimentos foram conduzidos separadamente para cada espécie de *Globisporangium*. Houve efeito significativo das doses na redução da severidade da podridão radicular para ambas as cultivares de soja. A resposta da severidade da podridão radicular de acordo com as doses seguiu modelos de regressão logística ou Weibull. As concentrações efetivas de metalaxil-M que reduziram 50% da

severidade da podridão radicular para ‘NEO530’ foram maiores que ‘DM57i52’ independentemente do produto aplicado. Assim, pode-se concluir que o aumento da dose de fungicida em relação ao que já é utilizado no Brasil, pode promover maiores níveis de controle da podridão radicular causada por *G. ultimum* var. *sporangiiferum* e *G. irregulare* em soja.

**Palavras-chave:** 1. Tombamento. 2. Metalaxil-M. 3. Mefenoxam. 4. *Pythium* spp.

## 5.2 Introdução

*Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* (sin. *Pythium ultimum* var. *sporangiiferum*) e *G. irregulare* (sin. *Pythium irregulare*) foram relatados como patógenos da soja no sul do Brasil (MOLIN et al., 2021a). Essas espécies são muito agressivas causando podridão de sementes, podridão de raízes e tombamento, o que pode reduzir o número de plantas ou retardar o desenvolvimento da cultura da soja em condições de campo.

O tratamento de sementes com fungicidas é uma alternativa para o manejo da podridão radicular da soja causada por *Globisporangium* (BRODERS et al., 2007; MOLIN et al., 2021b). A eficácia do tratamento de sementes pode ser influenciada pela dose aplicada (DORRANCE e MCLURE, 2001). No Brasil, a maioria dos produtos com alguma eficácia ao *Globisporangium* são compostos de metalaxil-M (MOLIN, et al. 2021b), que é uma molécula que inibe a síntese de ácido ribonucleico (RANDALL et al. 2014). Atualmente, os produtos comerciais disponíveis no Brasil para tratamento de sementes de soja apresentam concentrações e doses recomendadas mais baixas do que em outros países (ou seja, Estados Unidos). Portanto, nossa hipótese é que o aumento da dose



de metalaxil-M como tratamento de sementes proporcionaria maiores níveis de controle da podridão radicular da soja causada por *Globisporangium*.

É importante determinar se o aumento da dose proporciona níveis de controle maiores do que a dose recomendada para que as empresas possam alterar as bulas ou mesmo fornecer produtos com maiores concentrações do princípio ativo. Assim, o objetivo do estudo foi determinar o efeito do aumento da dose de produtos com metalaxil-M para o controle da podridão radicular causada por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum* em soja.

### 5.3 Material e métodos

Os ensaios foram realizados na Universidade de Passo Fundo (UPF) no Laboratório de Fitopatologia de setembro a novembro de 2020. Três produtos comerciais à base de fungicidas (Tabela 8) foram selecionados para este estudo com base em resultados de trabalhos anteriores (MOLIN et al., 2021b). Todos os três produtos são compostos por misturas de ingredientes ativos. O metalaxil-M e o fludioxonil são comuns aos três produtos, enquanto o Maxim Advanced também possui tiabendazol e o Maxim Quattro é composto por azoxistrobina e tiabendazol. Sabe-se que o fludioxonil (GIESLER e MILLER, 2017), bem como o tiabendazol (REIS et al., 2019) não têm efeito sobre oomicetos, enquanto as estrobilurinas (ou seja, azoxistrobina) têm eficácia baixa a intermediária (GRIJALBA e RIDAO DEL, 2017). Portanto, o metalaxil-M é o ingrediente ativo que controla os oomicetos (WEILAND et al., 2014).

Cada espécie de *Globisporangium* foi avaliada em um experimento separado. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial de 3 fungicidas (Apron, Maxim

Advanced e Maxim Quattro) x 7 doses (0,000; 0,003; 0,006; 0,012; 0,018; 0,024; 0,030 mg de metalaxil-M por semente) x 2 cultivares de soja ('DM57i52' e 'NEO530'). O experimento foi realizado com quatro repetições em delineamento de blocos completos casualizados e todo o experimento foi realizado duas vezes.

Os lotes de sementes utilizados para os experimentos apresentaram alta qualidade fisiológica com 95% e 97% de germinação para 'NEO530 IPRO' e 'DM57i52 IPRO', respectivamente. Verificou-se que cada cultivar de soja apresentou uma massa distinta de mil sementes: 'NEO530' apresentou 148 g enquanto 'DM57i52' apresentou 109 g. Assim, foi necessário padronizar a dose do fungicida que foi aplicada. A dose do fungicida foi calculada considerando mg de metalaxil-M por semente e não por kg recomendado na bula dos produtos. Caso contrário, uma quantidade maior do ingrediente ativo seria distribuída na cultivar 'NEO530' devido ao menor número de sementes que 'DM57i52'. A desinfestação superficial das sementes de soja foi realizada com hipoclorito de sódio 1% por 2 minutos e duas vezes em água destilada estéril por 30 segundos. Duzentas gramas de sementes foram colocados em sacos plásticos seguidos do fungicida (Tabela 8). Foi utilizado um volume de calda de 0,6% da massa de sementes, e a dose de fungicida variou de acordo com os diferentes tratamentos. Após agitação dos sacos plásticos, as sementes permaneceram em temperatura ambiente até o dia seguinte.

O inóculo de *G. ultimum* var. *sporangiiferum* 'UPFPAN06' (GenBank: MW605208) e *G. irregulare* 'UPFOM03' (GenBank: MW604822) foi produzido em sacos plásticos contendo substrato composto de areia: farinha de milho: água (1500: 100: 380 mL). Após esterilização do substrato a 121°C por 1 hora duas vezes, 20 discos de micélio de uma colônia de três dias produzida em batata-cenoura-ágar (BCA: 12 g.L<sup>-1</sup> de ágar; 20 g.L<sup>-1</sup> de cenoura; 20 g.L<sup>-1</sup> de batata) no escuro a 20°C foi colocado nos sacos.

---

**Tabela 8.** Produtos utilizados para o tratamento de sementes de soja neste estudo.

Produto Comercial	Ingrediente ativo (i.a.)	Concentração a.i. (g.L <sup>-1</sup> )	Dose do rótulo (mL.kg <sup>-1</sup> )	Quantidade de metalaxyl-M (mg i.a. por kg)	Quantidade de metalaxyl-M (mg i.a. por semente)	
					'NEO530'	'DM57i52'
Apron RFC	fludioxonil + metalaxil-M	25 + 37,5	2	0,074	0,0110	0,0081
Maxim Quattro	azoxistrobina + tiabendazol+ fludioxonil + metalaxil-M	15 + 300 + 37,5 + 30	1	0,030	0,0044	0,0033
Maxim Advanced	fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol	25 + 20 + 150	1	0,020	0,0030	0,0022

Massa de mil grãos: 'NEO530' = 148 g; 'DM57i52' = 109 g.

O inóculo foi mantido em câmara de crescimento no escuro a 20°C por 10 dias. A cada dois dias o inóculo foi misturado para permitir a colonização uniforme do substrato pelos oomicetos. Copos plásticos (300 mL) foram preparados com perfuração no fundo para permitir a drenagem da água. Vermiculita grossa (50 mL) foi adicionada no fundo, seguida da mistura de inóculo (150 mL) que foi preparada com vermiculita fina misturada ao substrato na proporção de 4:1 v/v. Após regar os copos com água de torneira, 10 sementes foram posicionadas em cada copo e foi adicionada vermiculita grossa (100 mL). Os copos foram molhados todos os dias para manter elevada umidade. O experimento foi realizado em câmara de crescimento por 14 dias com fotoperíodo de 12 h e 20°C. A severidade da doença foi determinada com base em uma escala (BALK, 2014): 0 = sem sintomas; 1 = 20% das raízes laterais com lesões; 2 = 21 a 75% das raízes laterais e raiz principal com lesões; 3 = > 75% das raízes laterais e caule principal com lesões; 4 = sem emergência. Um índice de severidade de podridão radicular (ISDR) foi obtido (ROJAS et al., 2017).

### 5.3 Resultados e Discussão

A análise de variância foi realizada para cada produto e espécie de oomiceto separadamente (Tabela 9). Não foi detectada interação significativa entre experimento x dose, cultivar x dose e experimento x cultivar x dose. Portanto, os dados foram agrupados para análises posteriores. Os modelos logísticos e Weibull foram testados, e a escolha do modelo foi baseada no menor valor do critério de informação de Akaike (AIC) e no valor de probabilidade de 'lack of fitness' não significativo ( $p > 0,05$ ) (NOEL et al., 2018).

**Tabela 9.** Valores de probabilidade para os fatores de variação do índice de severidade da podridão radicular (ISDR) para cada produto de tratamento de sementes e espécie de *Globisporangium*.

Fator de variação	Graus de liberdade	Apron			Maxim Advanced			Maxim Quattro		
		<i>G. irregulare</i>	<i>G. ulimum var. sporangiiferum</i>	<i>G. irregulare</i>	<i>G. ulimum var. sporangiiferum</i>	<i>G. irregulare</i>	<i>G. ulimum var. sporangiiferum</i>	<i>G. irregulare</i>	<i>G. ulimum var. sporangiiferum</i>	
Bloco	3	0,361	0,321	0,645	0,778	0,572	0,013			
Experimento (E)	1	0,162	0,011	0,700	0,021	0,133	0,042			
Cultivar (C)	1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001			
Dose (D)	6	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001			
E x C	1	0,028	0,439	0,847	0,162	0,021	0,136			
E x D	6	0,167	0,124	0,059	0,209	0,453	0,339			
C x D	6	0,681	0,266	0,869	0,702	0,819	0,758			
E x C x D	6	0,811	0,423	0,364	0,395	0,745	0,298			
Erro	81	-	-	-	-	-	-			
Total	108	-	-	-	-	-	-			
Coefficiente de variação (%)		38,5	40,13	37,58	43,22	42,8	36,41			
Normalidade dos resíduos		0,901	0,196	0,344	0,977	0,537	0,166			

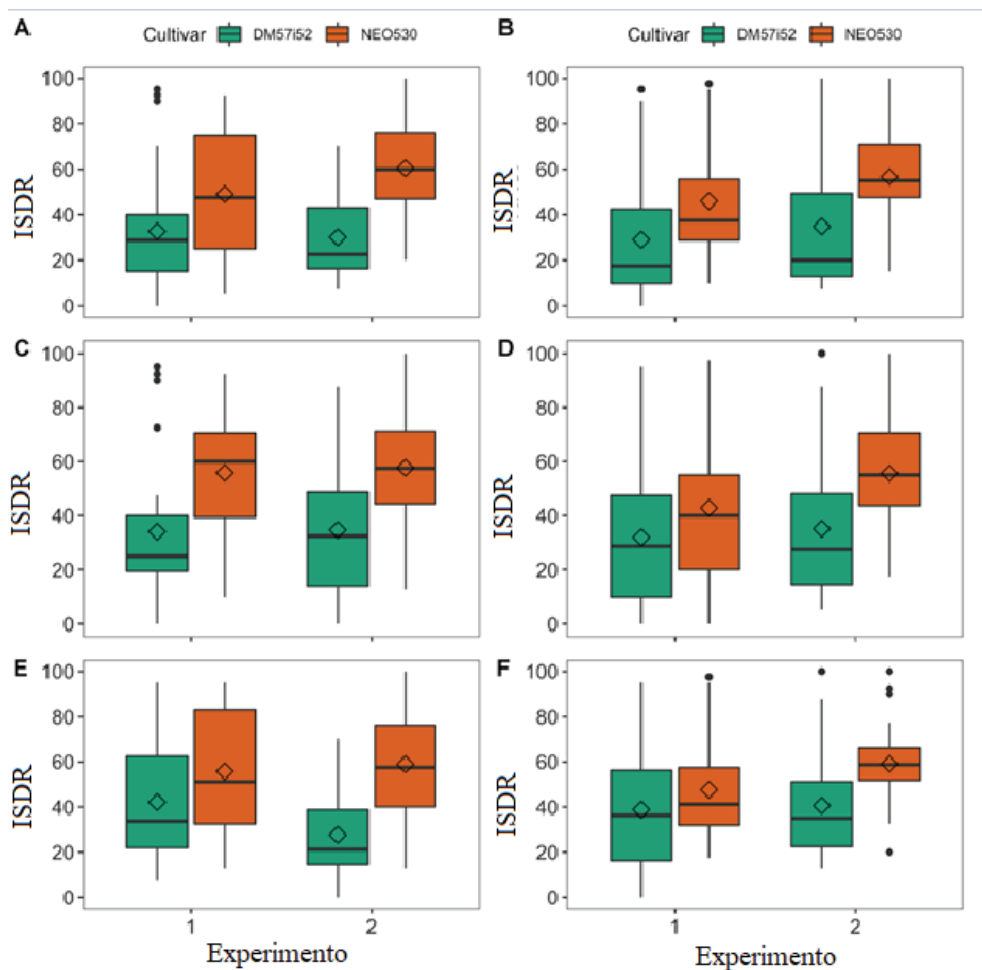
Foram calculadas as concentrações efetivas que reduziram 50% ( $EC_{50}$ ) da severidade da podridão radicular. O pacote ‘*ExpDes.pt*’ foi usado para análise de variância, enquanto a função ‘*drm*’ do pacote ‘*drc*’ foi usada para obter os modelos no software RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2020). Os conjuntos de dados dos experimentos e scripts para o RStudio podem ser encontrados em Mendeley Data (DOI: 10.17632/9spwx3tygv.1).

Houve interação significativa entre experimento e cultivar quando foi aplicado Apron e Maxim Quattro e inoculado *G. irregulare* (Tabela 9). No primeiro experimento com aplicação de Apron, a cultivar ‘DM57i52’ teve 42,5 de ISDR que é menor ( $p < 0,05$ ) que ‘NEO530’ com 58,8 (Figura 8A). No segundo experimento com Apron, a cultivar ‘DM57i52’ apresentou 39,9 de ISDR que é menor ( $p < 0,05$ ) que ‘NEO530’ com 70,2. No entanto, não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os experimentos para ambas as cultivares (Figura 8B).

No primeiro experimento com aplicação de Maxim Quattro, a cultivar ‘NEO530’ teve 55,80 de ISDR que é maior ( $p < 0,05$ ) que ‘DM57i52’ com 42,14 (Figura 8E). No segundo experimento com Maxim Quattro, a cultivar ‘NEO530’ apresentou 58,93 de ISDR que é maior ( $p < 0,05$ ) que ‘DM57i52’ com 27,68 (Figura 8F). O primeiro experimento apresentou um ISDR maior para ‘DM57i52’ do que o segundo experimento, porém, não foi verificada diferença significativa entre os experimentos para ‘NEO530’.

Doses crescentes dos produtos comerciais Maxim Quattro, Maxim Advanced e Apron como tratamento de sementes reduziram o ISDR causado pelas duas espécies de *Globisporangium* em ambas as cultivares de soja (Figura 9). Modelos log-logísticos de três parâmetros se ajustam melhor do que modelos log-logísticos de quatro parâmetros

para todos os produtos e ambas as espécies de oomicetos, com exceção de Maxim Quattro e inoculação de *G. irregulare* onde um modelo Weibull de quatro parâmetros foi ajustado (Tabela 9). Os coeficientes de cada equação foram apresentados para cada espécie de *Globisporangium* e cultivares de soja (Tabela 10).



**Figura 8.** Índice de severidade de podridão radicular (ISDR) em duas cultivares de soja (‘DM57i52’ e ‘NEO530’) para cada experimento com inoculação de *Globisporangium irregulare* (A, C, E) e *G. ultimum* var. *sporangiferum* (B, D, F) e tratamento de sementes com Apron (A, B), Maxim Advanced (C, D) e Maxim Quattro (E, F).

Não foram observados sintomas de fitotoxicidade neste estudo devido ao aumento da dose do fungicida, o que contraria trabalhos anteriores que relataram alguns isômeros de metalaxil (SINGH et al., 2003) e tiabendazol (KAISER e HANNAN, 1987) que causaram fitotoxicidade. Informações adicionais baseadas em ensaios de campo são necessárias para verificar se o aumento da dose não reduz a produtividade devido ao efeito negativo sobre a germinação e vigor das sementes (FESSEL et al., 2003; DAN et al., 2010), bem como a nodulação de sementes plantas de soja (ZILLI et al., 2009).

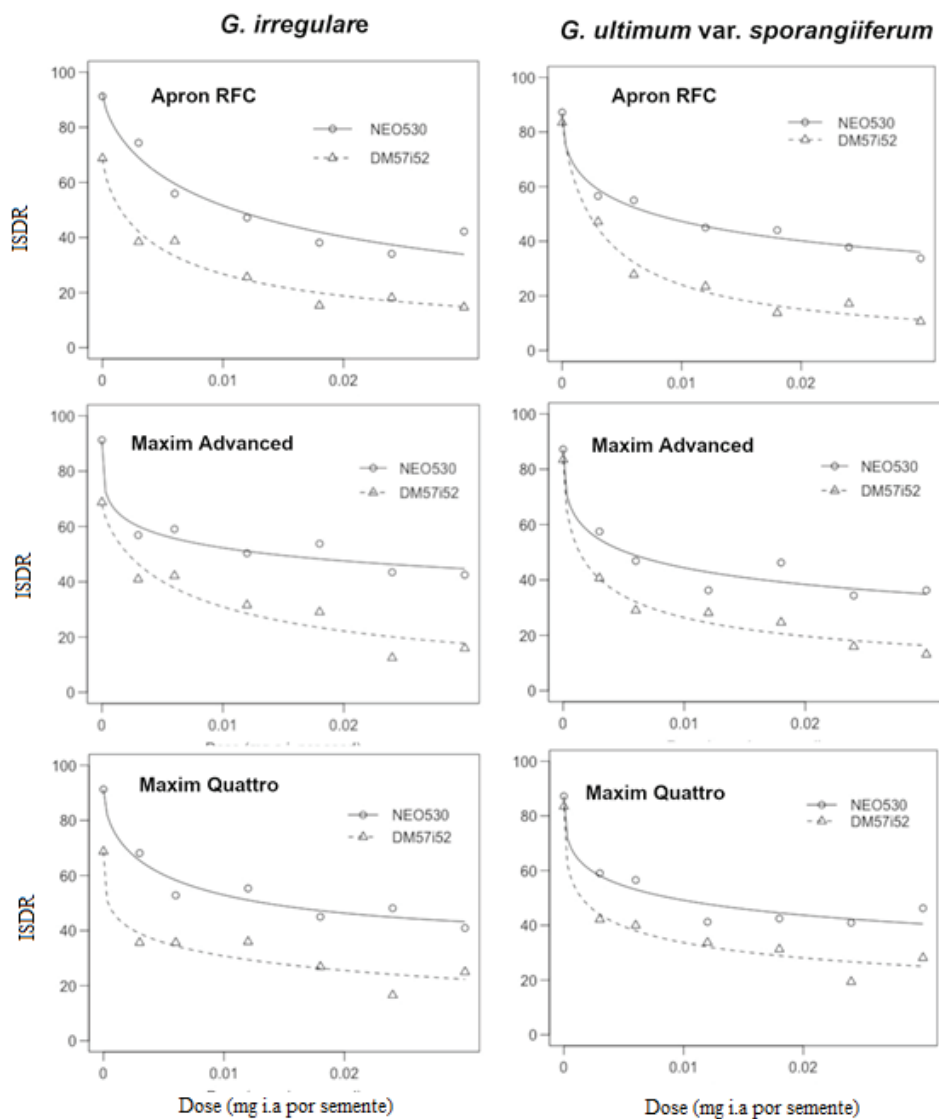
A dose na bula dos fungicidas comercializados no Brasil difere de outros países. Para efeito de comparação, o Apron XL (SYNGENTA, 2021b) nos Estados Unidos tem uma concentração de 333 g.L<sup>-1</sup> de metalaxil-M, enquanto o Apron RFC (SYNGENTA, 2021a) que é comercializado no Brasil tem uma concentração de 37,2 g.L<sup>-1</sup>. A dose recomendada para controle do tombamento de *Pythium* nos Estados Unidos varia de 0,16 a 0,64 fl oz por 100 lb de semente, que convertendo para mL.kg<sup>-1</sup> a dose varia de 0,10 a 0,42 mL.kg<sup>-1</sup>. No Brasil, a dose nos rótulos varia de 1 a 2 mL.kg<sup>-1</sup> (Tabela 8). Considerando a concentração e dose no rótulo do Apron RFC no Brasil, a quantidade de ingrediente ativo que é aplicada na semente varia de 0,02 a 0,075 g.kg<sup>-1</sup> (Tabela 8). No entanto, nos Estados Unidos a dose pode chegar a 0,139 g.kg<sup>-1</sup>, que é 1,89 vezes maior. Se convertermos esses números considerando 100 kg de semente de soja, obtemos até 7,5 g de metalaxil-M no avental RFC e até 13,9 g no avental XL.

Neste estudo foram utilizadas duas cultivares de soja com massa de sementes muito distintas. No Brasil, a dose na bula do fungicida é dada em mL por kg, com isso, diferentes quantidades de ingredientes ativos são aplicadas por semente devido à variação no número de sementes das cultivares de soja. Por exemplo, nos lotes de sementes utilizados neste estudo, 1 kg da cultivar ‘NEO530’ apresentou 6757 sementes, enquanto



1 kg da cultivar ‘DM57i52’ teve 9174 sementes. Conseqüentemente, quantidades distintas de metalaxil-M são distribuídas nas sementes com doses variando de 0,003 a 0,011 mg i.a. por semente para ‘NEO530’ e de 0,0022 a 0,0081 mg i.a. por semente para ‘DM57i52’ dependendo do produto aplicado (Tabela 8). Na bula do Apron XL, a dose já é dada por semente sendo de 0,006 a 0,023 mg i.a. (SYNGENTA, 2021b). Assim, foi necessária a padronização da dose por semente para se ter a mesma quantidade de ingrediente ativo independentemente da cultivar de soja.

Os valores de  $EC_{50}$  de metalaxil-M para ‘NEO530’ foram maiores que ‘DM57i52’ independentemente do produto aplicado como tratamento de sementes (Tabela 11). No geral, ‘NEO530’ é mais suscetível a *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum* do que ‘DM57i52’ (MOLIN et al., 2021a). Quanto mais suscetível a cultivar, maior a dose de fungicida necessária para promover o controle suficiente da doença (CAROLAN et al., 2017). Portanto, a combinação de métodos de controle (ou seja, controle químico e resistência do hospedeiro) é crucial para o manejo da doença.



**Figura 9.** Índice de severidade de podridão radicular (ISDR) de duas cultivares de soja (‘DM57i52’ e ‘NEO530’) inoculadas com *Globisporangium irregulare* ‘UPFOM03’ ou *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘UPFPAN06’ de acordo com diferentes doses de fungicidas (Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro) aplicados como tratamento de sementes. A dose é baseada na quantidade de metalaxil-M em mg por semente. Média de dois experimentos com quatro repetições cada. A análise foi realizada nos dados brutos e as médias foram utilizadas apenas para representação gráfica.

**Tabela 9.** Avaliação de modelos de três e quatro parâmetros para três produtos comerciais à base de fungicidas no índice de severidade da podridão radicular (ISDR) em soja causada por duas espécies de *Globisporangium*.

Tratamento de semente	Modelo, 'drc' <sup>1</sup>	Tipo do modelo	AIC <sup>2</sup>	Log-probabilidade	Lack of fitness (valor <i>P</i> )	ANOVA <sup>3</sup> (valor <i>P</i> )
<i>Globisporangium irregulare</i> 'UPFOM03'						
Apron RFC	LL.3	Log-logística de três parâmetros	958,42	-472,21	0,6822	0,3005
	LL.4	Log-logística de quatro parâmetros	959,83	-470,91	0,7677	
Maxim Advanced	LL.3	Log-logística de três parâmetros	964,30	-475,15	0,6814	0,7130
	LL.4	Log-logística de quatro parâmetros	967,57	-474,79	0,5453	
Maxim Quattro	W1.4	Weibull1 de quatro parâmetros	995,92	-488,96	0,6863	-
<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i> 'UPFPAN06'						
Apron RFC	LL.3	Log-logística de três parâmetros	961,29	-473,64	0,9784	0,8528
	LL.4	Log-logística de quatro parâmetros	964,94	-472,47	0,9409	
Maxim Advanced	LL.3	Log-logística de três parâmetros	974,71	-480,35	0,8664	0,9992
	LL.4	Log-logística de quatro parâmetros	978,71	-480,36	0,6961	
Maxim Quattro	LL.3	Log-logística de três parâmetros	971,84	-478,92	0,8401	0,7339
	LL.4	Log-logística de quatro parâmetros	975,17	-478,59	0,7375	

<sup>1</sup> Pacote de código aberto 'drc' no RStudio.

<sup>2</sup> AIC = Critério de Informação Akaike.

<sup>3</sup> ANOVA = Análise de variância.

**Tabela 10.** Equações para o índice de severidade da podridão radicular (ISDR) causada por duas espécies de *Globisporangium* em duas cultivares de soja ('NEO530' e 'DM57i52') de acordo com a dose de metalaxil-M para três produtos comerciais à base de fungicidas utilizados como semente tratamento.

Tratamento de semente/ Cultivar de soja		Equação
<i>Globisporangium irregulare</i> 'UPF0M03'		
Apron RFC	NEO530	$ISDR = \frac{92.16}{1 + \exp((0.7101(\log \log(x) - \log \log(0.0139))) )}$
	DM57i52	$ISDR = \frac{68.44}{1 + \exp((0.7608(\log \log(x) - \log \log(0.0056))) )}$
Maxim Advanced	NEO530	$ISDR = \frac{91.1492}{1 + \exp((0.3030(\log \log(x) - \log \log(0.0256))) )}$
	DM57i52	$ISDR = \frac{67.9796}{1 + \exp((0.7869(\log \log(x) - \log \log(0.0079))) )}$
Maxim Quattro	NEO530	$ISDR = 37.84 + (91.37 - 37.84)\exp(- \exp \exp (0.5398(\log \log(x) - \log \log(0.0139))) )$
	DM57i52	$ISDR = -14.78 + (68.68 + 14.78)\exp(- \exp \exp (0.2656(\log \log(x) - \log \log(0.0056))) )$
<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i> 'UPFPAN06'		
Apron RFC	NEO530	$ISDR = \frac{87.03}{1 + \exp((0.4736(\log \log(x) - \log \log(0.0144))) )}$
	DM57i52	$ISDR = \frac{83.61}{1 + \exp((0.8681(\log \log(x) - \log \log(0.0035))) )}$
Maxim Advanced	NEO530	$ISDR = \frac{87.31}{1 + \exp((0.4003(\log \log(x) - \log \log(0.0109))) )}$
	DM57i52	$ISDR = \frac{83.39}{1 + \exp((0.5866(\log \log(x) - \log \log(0.0027))) )}$
Maxim Quattro	NEO530	$ISDR = \frac{87.33}{1 + \exp((0.3616(\log \log(x) - \log \log(0.0201))) )}$
	DM57i52	$ISDR = \frac{83.38}{1 + \exp((0.4161(\log \log(x) - \log \log(0.0039))) )}$

x = dose do fungicida metalaxil-M em mg do ingrediente ativo por semente.

**Tabela 11.** Concentrações efetivas (EC) de metalaxil-M (mg por semente) que reduziram 50% (EC<sub>50</sub>) do índice de severidade de podridão radicular (ISDR) causado por duas espécies de *Globisporangium* em duas cultivares de soja (‘NEO530’ e ‘DM57i52’) para três produtos comerciais à base de fungicidas utilizados como tratamento de sementes.

Produto Comercial	Cultivar	EC <sub>50</sub>
<i>Globisporangium irregulare</i> ‘UPFOM03’		
Apron RFC	NEO530	0,0139 ± 0,003
	DM57i52	0,0055 ± 0,002
Maxim Quattro	NEO530	0,0333 ± 0,004
	DM57i52	0,0166 ± 0,074
Maxim Advanced	NEO530	0,0266 ± 0,018
	DM57i52	0,0079 ± 0,003
<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i> ‘UPFPAN06’		
Apron RFC	NEO530	0,0144 ± 0,006
	DM57i52	0,0035 ± 0,001
Maxim Quattro	NEO530	0,0202 ± 0,011
	DM57i52	0,0039 ± 0,002
Maxim Advanced	NEO530	0,0109 ± 0,005
	DM57i52	0,0027 ± 0,001

## 5.5 Conclusão

O aumento da dose do fungicida com base nas concentrações de metalaxil-M pode promover maiores níveis de controle da podridão radicular causada por *G. ultimum* var. *sporangiiferum* e *G. irregulare* do que a dose atualmente utilizada no Brasil. Esses resultados baseados em testes de eficácia sugerem que novos produtos podem ser formulados com maiores concentrações de metalaxil-M ou que a dose recomendada na bula do produto seja aumentada. Além disso, o custo-benefício (ROSSMAN et al., 2018), bem como a ausência de efeitos negativos em organismos não-alvo e na saúde humana

(LAMICHHANE et al., 2020) devido ao aumento da dose de fungicida precisam ser considerados antes da comercialização e uso desses produtos.

## 6. CAPÍTULO IV

### Cultivares de soja adaptadas ao sul do Brasil diferem na reação de resistência a *Globisporangium irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiferum* e *Pythium* *conidiophorum*

Capítulo submetido no formato de artigo para a revista *Plant Pathology* no dia 25 de  
janeiro de 2022

#### 6.1 Resumo

No Brasil, há poucas informações sobre a reação de cultivares de soja a *Globisporangium* e *Pythium* causando tombamento. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar a reação a *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiferum* e *P. conidiophorum* de 50 cultivares adaptadas ao sul do Brasil. O experimento foi conduzido duas vezes em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Um ensaio de podridão radicular foi realizado em câmara de crescimento e a emergência (%), índice de velocidade de emergência (IVE), massa seca total por plântula (MST; g) e índice de severidade da doença na raiz (ISDR) foram determinados. Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das cultivares em todas as variáveis: *G. irregulare* (emergência: 0,70% a 89,5%; IVE: 0,00 a 1,292; ISDR: 50 a 100; MST: 0,072 a 0,191 g), *G. ultimum* var. *sporangiferum* (emergência: 0,20% a 81,3%; IVE: 0,022 a 1,080; ISDR: 59 a 100; MST: 0,028 a 0,189 g) e *P. conidiophorum* (emergência: 50,3% a 99,5%; IVE: 0,138 a 1,498; ISDR: 31 a 93; MST: 0,067 a 0,229 g). As cultivares ‘BMX Apolo’, ‘BMX Compacta’, ‘BMX Elite’, ‘BRS 5601’, ‘M5947’, ‘M6410’, ‘M6210’ foram menos suscetíveis a *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum*. Em vez disso, as cultivares ‘BMX Ativa’, ‘BRS 543’, ‘BRS 6203’, ‘DM 5958’, ‘BMX Raio’ e ‘BMX Valente’ foram menos suscetíveis a *P. conidiophorum*. Em conclusão, existem algumas cultivares de soja que foram menos suscetíveis às três espécies de oomicetos e devem ser preferidas em campos com histórico de tombamento.

Palavras-chave: 1. *Glycine max*. 2. Resistência do hospedeiro. 3. Oomicete. 4. *Pythium irregulare*. 5. *Pythium ultimum*.

## 6.2 Introdução

O Brasil é o maior produtor de soja do mundo (USDA, 2022). A área cultivada com soja no país é dividida em macrorregiões devido às diferenças nas condições ambientais (KASTER e FARIAS, 2012), que requerem cultivares adaptadas a cada macrorregião de acordo com suas especificidades.

O tombamento de plântulas de soja é um problema comum relatado por diversos produtores da macrorregião 1 (COSTAMILAN et al., 2013; MOLIN et al., 2021a), que compreende a região sul do Brasil (KASTER e FARIAS, 2012). Dentre todos os agentes causadores de tombamento da soja, *Globisporangium* e *Pythium* foram recentemente descritos como associados à doença no sul do Brasil (MOLIN et al., 2021). Os sintomas da doença podem ser caracterizados por apodrecimento das sementes e podridão das raízes (BRODERS et al., 2007; ROJAS et al., 2017), o que pode comprometer a germinação das sementes, a emergência das plântulas e o estabelecimento inicial da cultura no campo. Normalmente, baixas temperaturas e alta umidade do solo no início da época de semeadura são propícias para infecção e desenvolvimento de doenças (MATTHIESEN et al., 2016). Sob forte tombamento, pode ser necessário replantar, levando ao aumento dos custos de produção.

O manejo do tombamento inclui o tratamento de sementes com fungicidas, no entanto, algumas espécies de oomicetos ainda podem causar tombamento severo mesmo com tratamento de sementes (BRODERS et al., 2007; DORRANCE et al., 2004; MOLIN et al., 2021b; RADMER et al., 2017;). Como os oomicetos são favorecidos pela saturação do solo (KIRKPATRICK et al., 2006; YANAR et al., 1997), práticas que possam



melhorar a drenagem do solo também são importantes, principalmente em campos com solos muito argilosos e compactados.

A resistência do hospedeiro é um dos métodos mais eficazes no manejo de doenças de plantas (RIBEIRO DO VALE et al., 2001). No entanto, a resistência genética a *Globisporangium* e *Pythium* é um desafio devido à grande diversidade de espécies que podem infectar a soja (BRODERS et al., 2007, ROJAS et al., 2017). Mesmo assim, algumas cultivares de soja têm sido relatadas nos Estados Unidos como fontes de resistência a *P. aphanidermatum* (ROSSO et al., 2008; URREA et al., 2017), *P. sylvaticum*, *P. oopapilum* e *P. torulosum* (CLEVINGER et al., 2021), *G. irregulare* (CLEVINGER et al., 2021; ELLIS et al., 2013) e *G. ultimum* var. *ultimum* (KLEPADLO et al., 2019; ROD et al., 2018). No Brasil, observações de campo de que a cultivar de soja ‘NEO530 IPRO’ foi mais suscetível a *Pythium* spp. que ‘DM57i52 IPRO’ foram confirmados por experimentos controlados (MOLIN et al., 2021), que levantaram a hipótese de que cultivares de soja também poderiam diferir em sua reação a oomicetos.

Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar a reação de resistência a *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum* e *P. conidiophorum* de cultivares de soja adaptadas ao sul do Brasil. Essas espécies foram escolhidas com base nos resultados de um levantamento de plântulas sintomáticas de soja no sul do Brasil que revelou *P. conidiophorum* como a espécie mais frequente recuperada, enquanto *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiiferum* foram altamente agressivos à soja (MOLIN et al., 2021). Esta informação será útil para empresas de melhoramento, bem como para produtores que relataram problemas com o tombamento da soja.

### 6.3 Material e métodos

O experimento foi conduzido de dezembro de 2020 a fevereiro de 2021 no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo. As espécies utilizadas neste estudo foram *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiiferum* ‘UPFPAN06’100 (GenBank: MW605208), *Globisporangium irregulare* ‘UPFOM03’ (GenBank: MW604822) e *Pythium conidiophorum* ‘UPFSA03’ (GenBank: MW605207).

Um total de 50 cultivares de soja adaptadas à macrorregião 1 do Brasil foram selecionadas para este estudo. Informações sobre sua reação a *Phytophthora sojae*, outra espécie de oomiceto, bem como quanto ao grupo de maturidade (5,0 a 6,7), cor do tegumento e peso de 100 sementes são apresentadas na Tabela 12. O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizados com três repetições e três espécies de oomicetos (*G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiiiferum* e *P. conidiophorum*). Controles não inoculados foram adicionados para comparação com os tratamentos inoculados. O experimento foi realizado duas vezes.

Um ensaio de podridão radicular adaptado de Ellis et al. (2013) foi utilizado para caracterizar a reação das cultivares de soja às espécies de oomicetos. Resumidamente, cada espécie de oomiceto foi cultivada em placas de Petri contendo meio batata-cenoura-ágar (BCA: 40 g.L<sup>-1</sup> de batata, 40 g.L<sup>-1</sup> de cenoura, 12 g.L<sup>-1</sup> de ágar) a 20°C no escuro por três dias. Vinte discos de micélio de 8 mm de diâmetro foram colocados em sacos plásticos contendo substrato estéril (950 mL de areia, 50 mL de farinha de milho e 250 mL de água destilada). Os sacos foram mantidos em incubadora a 20°C no escuro por dez dias e agitados em dias alternados para uniformizar a colonização do substrato. Na véspera da semeadura, o substrato foi misturado com vermiculita fina na proporção de 1:4 v/v.

**Tabela 12.** Cultivares de soja utilizadas neste estudo.

Cultivares de soja	Empresa	Grupo de maturação	Reação a <i>Phytophthora sojae</i> <sup>a</sup>	Cor da semente	Peso de 100 sementes (g)
BMX Alvo RR	Brasmax	5.9	R	Amarela	16,4
BMX Apolo RR	Brasmax	5.8	R	Amarela	16,8
BMX Ativa RR	Brasmax	5.6	R	Amarela	17,4
BMX Compacta RSF IPRO	Brasmax	6.5	R	Amarela	17,9
BMX Cromo TF RSF IPRO	Brasmax	5.7	R	Amarela	18,5
BMX Delta RSF IPRO	Brasmax	5.9	R	Amarela	16,8
BMX Elite RSF IPRO	Brasmax	5.5	R	Amarela	18,4
BMX Fibra RSF IPRO	Brasmax	6.4	R	Amarela	15,6
BMX Garra RSF IPRO	Brasmax	6.3	R	Amarela	18,9
BMX Lança RSF IPRO	Brasmax	5.8	R	Amarela	17,7
BMX Lótus RSF IPRO	Brasmax	6.1	R	Amarela	18,0
BMX Potência RR	Brasmax	6.7	R	Amarela	16,8
BMX Raio RSF IPRO	Brasmax	5.0	R	Amarela	20,1
BMX Tornado RSF RR	Brasmax	6.2	R	Amarela	17,5
BMX Valente RSF	Brasmax	6.7	R	Amarela	18,9
BMX Zeus RSF IPRO	Brasmax	5.5	R	Amarela	20,9
BRS 525	Embrapa	5.6	R	Amarela	19,5
BRS 543 RR	Embrapa	5.8	R	Amarela	16,9
BRS 5601 RR	Embrapa	5.6	R	Amarela	18,0
BRS 5804 RR	Embrapa	5.8	R	Amarela	21,0
BRS 6203 RR	Embrapa	6.2	R	Amarela	17,0
BS 1511 IPRO	Basf	5.1	R	Amarela	18,0
BS 2606 IPRO	Basf	6.0	R	Amarela	16,5
DM 53i54 RSF IPRO	Don Mario	5.4	R	Amarela	20,0
DM 57i52 RSF IPRO	Don Mario	5.7	R	Amarela	17,8
DM 5958 RSF IPRO	Don Mario	5.8	R	Amarela	17,2
DM 61i59 RSF IPRO	Don Mario	6.1	R	Amarela	18,2
DM 66I68 RSF IPRO	Don Mario	6.6	R	Amarela	19,4
FPS 1859 RR	FPS <sup>b</sup>	5.9	R	Amarela	18,5
FPS 1867 IPRO	FPS	6.7	R	Amarela	17,0
FPS 1954 RR	FPS	5.4	R	Amarela	18,0
FPS 2063 IPRO	FPS	6.3	R	Amarela	18,0
M5838 IPRO	Bayer	5.8	R	Amarela	17,3
M5917 IPRO	Bayer	5.9	S	Amarela	15,0
M5947 IPRO	Bayer	5.9	S	Amarela	17,3
M6210 IPRO	Bayer	6.2	S	Amarela	14,4
M6410 IPRO	Bayer	6.4	S	Amarela	12,1
NEO 530 IPRO	Neogen	5.3	R	Amarela	20,1
NEO 580 IPRO	Neogen	5.8	R	Amarela	18,9
NEO 610 IPRO	Neogen	6.1	R	Amarela	15,6
NEO 660 IPRO	Neogen	6.6	R	Amarela	17,0
NS 5258 RR	Nidera	5.2	-	Amarela	17,0
NS 5445 IPRO	Nidera	5.4	-	Amarela	17,6
NS 6601 IPRO	Nidera	6.6	-	Amarela	18,0
NS 6909 IPRO	Nidera	6.3	-	Amarela	17,1
ST 575 IPRO	Basf	5.7	R	Amarela	17,0
TMG 7061 IPRO	TMG	6.1	R	Amarela	18,5
TMG 7260 IPRO	TMG	6.0	R	Amarela	20,0
TMG 7262 RR	TMG	6.2	R	Amarela	19,4
TMG 7363 RR	TMG	6.3	R	Amarela	18,5

<sup>a</sup> R: resistente; S: suscetível. (-) Sem informação. <sup>b</sup>FPS: Fundação Pro-Sementes.

Copos plásticos de trezentos mililitros foram perfurados na parte inferior para promover a drenagem da água. Vermiculita grossa (50 mL) foi colocada no fundo de cada copo seguido do inóculo (150 mL). A irrigação foi feita com água da torneira. No dia seguinte, 10 sementes de soja foram colocadas no topo do inóculo e cobertas com vermiculita grossa (100 mL), e a irrigação foi realizada novamente. Os copos permaneceram em câmara de crescimento a  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  com 12 horas de fotoperíodo por 14 dias.

O número de plântulas emergidas foi contado em dias alternados considerando-se apenas as plântulas com os cotilédones acima da superfície da vermiculita, sendo então calculado um índice de velocidade de emergência (IVE) pela equação apresentada por Maguire (1962). As plântulas de soja foram retiradas da vermiculita aos 14 dias após a semeadura. Obteve-se então a porcentagem final de plântulas emergidas. As raízes foram lavadas com água da torneira para remover todo o substrato e vermiculita. A severidade da podridão radicular foi avaliada visualmente com base em uma escala (BALK, 2014): 0 = sem sintomas e raiz saudável; 1 = lesões até 20% das raízes laterais; 2 = lesão na raiz principal e em 21 a 75% das raízes laterais; 3 = lesão na raiz principal e em mais de 75% das raízes laterais; 4 = sem emergência. Foi calculado um índice de severidade de podridão radicular (ISDR) com base na equação apresentada por Rojas et al. (2017). As plântulas foram colocadas em sacos de papel e mantidas em estufa de ventilação forçada para secar a  $65^{\circ}\text{C}$  por três dias. A massa seca foi obtida pela pesagem das plântulas com balança de precisão de 0,01 g. A massa seca total (MST) por plântula foi calculada com base no número de plântulas emergidas e o valor foi expresso em gramas por plântula.

A presença de outliers e a distribuição dos dados foram verificadas com boxplot e histogramas, respectivamente. Modelos lineares mistos generalizados foram utilizados

para a análise estatística considerando experimento, inoculação e cultivar de soja como efeitos fixos e aninhado em blocos dentro do experimento como efeito aleatório. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para analisar a normalidade dos resíduos, e quando houve violação ( $p < 0,05$ ) a distribuição adequada foi especificada no modelo. MST e IVE foram analisados sem qualquer transformação e considerando uma distribuição normal dos resíduos. Os dados de emergência foram analisados como proporções (0 – 1) especificando a distribuição binomial no modelo estatístico. Para fins de análise, os valores zero foram ajustados para 0,001 e os valores iguais a 1 foram ajustados para 0,999. Os dados do ISDR apresentaram uma distribuição negativa assimétrica e, portanto, a seguinte equação foi utilizada para obter uma distribuição positiva assimétrica:

$$y_{transformado} = \sqrt{(k - y_{original})}$$

onde:  $y_{transformado}$  refere-se à variável de resposta (ISDR);  $k$  é uma constante onde o valor mais baixo após subtrair a constante é igual a 1;  $y_{original}$  refere-se ao valor original da variável de resposta. O valor de  $k$  foi 101.

O teste de Dunnett foi utilizado para comparar emergência, IVE e MFT entre o grupo controle sem inoculação com o grupo inoculado para cada cultivar de soja. Os dados de cada espécie de oomicetos foram analisados separadamente. A análise foi realizada com o pacote ‘*lmer*’ e as médias ajustadas calculadas com o pacote ‘*lsmeans*’ no RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2020).

A análise de correlação foi realizada entre cada par de variáveis para cada espécie de oomiceto separadamente. Em seguida, foi realizada outra análise de correlação entre as espécies de oomicetos para verificar a magnitude e a significância da correlação

das variáveis. A função ‘*cor*’ no RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2020) foi utilizada para as análises.

As médias das quatro variáveis (emergência, IVE, MST e ISDR) foram normalizadas. A distância Euclidiana foi então calculada como medida de dissimilaridade entre as cultivares de soja. Diferentes técnicas de análise de agrupamento hierárquico foram testadas, e a escolha foi baseada no maior coeficiente de correlação cofenético. Mapas de calor foram gerados para visualizar os resultados da análise de agrupamento com o pacote ‘*pheatmap*’ com RStudio versão 1.1.463 (R CORE TEAM, 2018).

#### **5.4 Resultados**

A inoculação de *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum* afetou significativamente ( $p < 0,001$ ) a emergência e IVE da soja diferente da inoculação de *P. conidiophorum* que não influenciou essas variáveis (Tabela 13). A cultivar de soja teve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na emergência, IVE e MST para todas as espécies de oomicetos. A interação entre inoculação e cultivar de soja afetou ( $p < 0,01$ ) a MST para todas as espécies de oomicetos também. O ISDR foi influenciado pela cultivar de soja para as três espécies de oomicetos, além da interação entre experimento e cultivar ( $p < 0,05$ ) quando a inoculação foi realizada com *G. irregulare* ou *G. ultimum* var. *sporangiferum*.

**Tabela 13.** Valores de probabilidade para experimento, inoculação, cultivar de soja e suas interações na emergência de plântulas (%), índice de velocidade de emergência (IVE), massa seca total por plântula (MST) e índice de severidade da doença na raiz (ISDR) para cada espécie de oomiceto.

Fator de variação	Emergência	IVE	MST (g)	ISDR
<i>Globisporangium irregulare</i>				
Experimento (E)	0,235	0,545	0,613	0,176
Inoculação (I)	<0,001	<0,001	0,589	-
Cultivar (C)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
E x I	0,919	0,377	0,457	-
E x C	0,266	0,264	0,969	0,012
I x C	0,351	0,003	<0,001	-
E x I x C	0,689	0,021	0,496	-
<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i>				
Experimento (E)	0,232	0,581	0,589	0,882
Inoculação (I)	<0,001	<0,001	0,073	-
Cultivar (C)	<0,001	<0,001	0,044	<0,001
E x I	0,610	0,630	0,044	-
E x C	0,264	0,453	0,999	<0,001
I x C	0,046	0,127	<0,001	-
E x I x C	0,767	0,129	0,463	-
<i>Pythium conidiophorum</i>				
Experimento (E)	0,226	0,554	0,829	0,966
Inoculação (I)	0,052	0,083	0,171	-
Cultivar (C)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
E x I	0,964	0,447	0,168	-
E x C	0,221	0,254	0,740	0,229
I x C	0,057	0,101	0,006	-
E x I x C	0,397	0,724	0,665	-

A emergência para as testemunhas não inoculadas variou de 54% a 99% dependendo da cultivar de soja, o que revelou disparidades na qualidade fisiológica da semente (Tabela 14). Das 50 cultivares avaliadas, três ('M6410', 'BMX Apolo' e 'FPS

1867') não tiveram redução significativa ( $p > 0,05$ ) na emergência com inoculação de *G. irregulare* (variando de 0,70 a 89,5), quando comparado ao tratamento não inoculado (Tabela 14). Além disso, apenas uma cultivar ('BRS 5601') não apresentou redução significativa ( $p > 0,05$ ) na emergência com inoculação de *G. ultimum* var. *sporangiferum* (variando de 0,20 a 81,3). Por outro lado, 34 cultivares não apresentaram diminuição da emergência com a inoculação de *P. conidiophorum* (variando de 50,3 a 99,5).

**Tabela 14.** Emergência (%; média  $\pm$  erro padrão) aos 14 dias após a semeadura de 50 cultivares de soja com e sem inoculação de três espécies de oomicetos.

Cultivar de soja	Não inoculada	<i>Globisporangium irregulare</i>		<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiferum</i>		<i>Pythium conidiophorum</i>	
	Média $\pm$ SE	Média $\pm$ SE	P valor <sup>a</sup>	Média $\pm$ SE	P valor <sup>a</sup>	Média $\pm$ SE	P valor <sup>a</sup>
BMX Alvo	93,3 $\pm$ 3,5	47,89 $\pm$ 7,23	<0,001	32,2 $\pm$ 6,7	<0,001	79,0 $\pm$ 5,7	0,045
BMX Apolo	96,9 $\pm$ 2,2	89,45 $\pm$ 4,23	0,142	57,7 $\pm$ 7,4	<0,001	95,2 $\pm$ 2,9	0,657
BMX Ativa	75,9 $\pm$ 5,9	23,00 $\pm$ 5,64	<0,001	1,3 $\pm$ 2,2	<0,001	43,0 $\pm$ 6,7	<0,001
BMX Compacta	97,1 $\pm$ 2,2	69,14 $\pm$ 6,33	<0,001	61,3 $\pm$ 7,2	<0,001	92,0 $\pm$ 3,9	0,294
BMX Cromo	94,7 $\pm$ 3,1	43,65 $\pm$ 7,41	<0,001	43,3 $\pm$ 7,8	<0,001	74,1 $\pm$ 7,9	0,016
BMX Delta	98,3 $\pm$ 2,3	53,56 $\pm$ 6,88	0,006	46,9 $\pm$ 8,4	0,002	97,3 $\pm$ 3,5	0,828
BMX Elite	96,9 $\pm$ 2,2	81,89 $\pm$ 5,11	0,018	72,6 $\pm$ 7,5	0,003	93,4 $\pm$ 3,2	0,527
BMX Fibra	94,9 $\pm$ 3,1	86,24 $\pm$ 5,08	0,018	57,2 $\pm$ 7,7	<0,001	99,5 $\pm$ 1,6	0,444
BMX Garra	88,3 $\pm$ 4,6	26,38 $\pm$ 5,92	<0,001	27,1 $\pm$ 6,3	<0,001	72,4 $\pm$ 5,9	0,039
BMX Lança	84,5 $\pm$ 5,1	33,61 $\pm$ 7,08	<0,001	18,7 $\pm$ 5,5	<0,001	80,8 $\pm$ 5,3	0,634
BMX Lótus	95,6 $\pm$ 2,7	39,03 $\pm$ 6,85	<0,001	44,1 $\pm$ 7,5	<0,001	99,2 $\pm$ 4,0	0,721
BMX Potência	95,1 $\pm$ 2,9	55,06 $\pm$ 6,74	<0,001	27,1 $\pm$ 7,5	<0,001	83,6 $\pm$ 4,8	0,051
BMX Raio	75,8 $\pm$ 6,5	11,63 $\pm$ 4,52	<0,001	0,2 $\pm$ 1,3	<0,001	41,2 $\pm$ 6,5	<0,001
BMX Tornado	88,9 $\pm$ 4,4	51,66 $\pm$ 6,80	<0,001	44,8 $\pm$ 7,2	<0,001	89,4 $\pm$ 4,2	0,876
BMX Valente	62,9 $\pm$ 7,7	0,70 $\pm$ 3,51	<0,001	6,3 $\pm$ 3,1	<0,001	34,6 $\pm$ 6,2	0,005
BMX Zeus	78,4 $\pm$ 6,0	6,68 $\pm$ 3,63	<0,001	0,9 $\pm$ 1,6	<0,001	69,8 $\pm$ 6,0	0,326
BRS 525	86,5 $\pm$ 5,1	29,31 $\pm$ 6,95	<0,001	43,2 $\pm$ 7,2	<0,001	80,0 $\pm$ 5,4	0,434
BRS 543	54,4 $\pm$ 7,2	22,77 $\pm$ 5,96	<0,001	6,1 $\pm$ 3,1	<0,001	32,6 $\pm$ 6,4	0,019
BRS 5601	98,1 $\pm$ 2,7	63,49 $\pm$ 6,15	0,013	76,1 $\pm$ 6,8	0,063	86,6 $\pm$ 4,4	0,298
BRS 5804	95,7 $\pm$ 2,8	61,30 $\pm$ 7,01	<0,001	19,2 $\pm$ 8,7	<0,001	89,7 $\pm$ 4,9	0,004
BRS 6203	99,5 $\pm$ 0,9	22,49 $\pm$ 6,37	0,001	24,4 $\pm$ 9,9	<0,001	54,9 $\pm$ 7,4	0,004
BS 1511	93,6 $\pm$ 3,2	44,93 $\pm$ 6,74	<0,001	5,2 $\pm$ 3,1	<0,001	71,7 $\pm$ 5,9	0,004



BS 2606	95,9 ± 2,7	53,38 ± 6,81	<0,001	37,6 ± 6,9	<0,001	84,7 ± 4,9	0,069
DM 53i54	83,8 ± 5,1	20,23 ± 5,59	<0,001	16,6 ± 5,3	<0,001	72,3 ± 5,9	0,159
DM 57i52	87,1 ± 4,6	39,41 ± 6,74	<0,001	13,4 ± 6,6	<0,001	74,7 ± 5,7	0,093
DM 5958	78,1 ± 5,7	27,89 ± 6,39	<0,001	13,8 ± 4,8	<0,001	53,6 ± 6,7	0,005
DM 61i59	88,9 ± 4,2	60,11 ± 6,66	<0,001	64,8 ± 7,1	0,003	86,0 ± 4,7	0,619
DM 66i68	76,6 ± 5,9	18,93 ± 5,35	<0,001	22,6 ± 5,9	<0,001	59,9 ± 6,4	0,051
FPS 1859	94,6 ± 5,4	64,56 ± 7,81	0,036	24,1 ± 6,4	<0,001	85,9 ± 6,8	0,386
FPS 1867	97,7 ± 3,2	69,49 ± 7,79	0,054	38,6 ± 11,6	0,005	82,3 ± 5,4	0,152
FPS 1954	95,7 ± 2,7	60,46 ± 6,75	<0,001	53,5 ± 7,3	<0,001	95,2 ± 2,8	0,973
FPS 2063	88,9 ± 4,2	44,59 ± 6,91	<0,001	35,9 ± 6,9	<0,001	80,0 ± 5,2	0,199
M5838	60,1 ± 6,9	10,53 ± 4,22	<0,001	5,3 ± 3,1	<0,001	50,3 ± 6,6	0,328
M5917	93,7 ± 3,2	63,61 ± 7,05	<0,001	44,9 ± 7,5	<0,001	69,3 ± 6,3	0,002
M5947	98,2 ± 2,2	75,22 ± 5,78	0,030	56,6 ± 7,2	0,004	93,3 ± 3,7	0,362
M6210	99,6 ± 0,9	78,96 ± 5,49	0,036	81,3 ± 5,8	0,048	99,7 ± 2,8	0,931
M6410	95,5 ± 2,7	85,22 ± 5,35	0,092	77,0 ± 5,8	<0,001	100,0 ± 0,3	0,557
NEO 530	91,9 ± 3,6	46,29 ± 6,98	<0,001	18,5 ± 6,4	<0,001	69,4 ± 6,3	0,004
NEO 580	97,5 ± 3,2	30,68 ± 6,73	<0,001	30,1 ± 7,0	<0,001	77,8 ± 7,2	0,112
NEO 610	95,6 ± 1,7	49,84 ± 7,90	<0,001	48,2 ± 7,2	<0,001	90,7 ± 4,6	0,140
NEO 660	89,9 ± 4,2	38,52 ± 7,65	<0,001	29,9 ± 6,6	<0,001	76,2 ± 5,6	0,067
NS 5258	85,9 ± 4,8	44,58 ± 6,91	<0,001	48,3 ± 7,4	<0,001	87,3 ± 4,4	0,868
NS 5445	92,3 ± 3,9	41,47 ± 6,67	<0,001	35,2 ± 7,5	<0,001	87,0 ± 4,4	0,437
NS 6601	81,1 ± 5,5	43,27 ± 6,71	<0,001	47,7 ± 7,5	<0,001	74,3 ± 5,8	0,439
NS 6909	80,2 ± 5,5	28,13 ± 6,03	<0,001	35,1 ± 7,6	<0,001	80,3 ± 5,2	0,950
ST 575	95,3 ± 2,8	56,59 ± 7,71	<0,001	21,1 ± 6,2	<0,001	79,4 ± 5,3	0,017
TMG 7061	97,6 ± 2,9	20,88 ± 6,89	<0,001	4,1 ± 5,0	<0,001	70,3 ± 5,9	0,022
TMG 7262	74,8 ± 6,3	21,45 ± 5,47	<0,001	12,4 ± 4,9	<0,001	64,0 ± 6,4	0,224
TMG 7270	83,8 ± 5,1	46,29 ± 6,98	<0,001	35,9 ± 6,9	<0,001	62,9 ± 6,3	0,012
TMG 7363	97,4 ± 3,4	29,83 ± 6,14	<0,001	3,9 ± 5,0	<0,001	84,1 ± 4,9	0,135

<sup>a</sup> O valor de probabilidade resultou da comparação pelo teste de Dunnet entre cada espécie de oomiceto com o controle não inoculado.

A análise foi realizada com os números em proporções e não em porcentagens.

O IVE variou de 0,56 a 1,494 para os tratamentos não inoculados (Tabela 15). Quanto maior o IVE, mais rápida a emergência das plântulas de soja. Todas as 50 cultivares apresentaram menor IVE com inoculação de *G. ultimum* var. *sporangiferum* (variando de 0,022 a 1,080), sendo que apenas 15 cultivares tiveram IVE reduzido com inoculação de *P. conidiophorum* (variando de 0,138 a 1,498) em relação à testemunha não inoculada (Tabela 14). Como houve interação significativa ( $p = 0,021$ ; Tabela 13) entre experimento x cultivar com *G. irregulare*, os dados foram apresentados separadamente (Tabela 15). No primeiro experimento, o IVE variou de 0,079 a 1,292

(média = 0,500), enquanto no segundo experimento o IVE variou de 0,00 a 1,218 (média = 0,642).

**Tabela 15.** Índice de velocidade de emergência (IVE; média ± erro padrão) de 50 cultivares de soja com e sem inoculação de duas espécies de oomicetos.

Cultivar de soja	Não inoculada	<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiferum</i>		<i>Pythium</i> <i>conidiophorum</i>	
	Média ± SE	Média ± SE	P valor <sup>a</sup>	Média ± SE	P valor <sup>a</sup>
BMX Alvo	1,327 ± 0,341	0,499 ± 0,516	0,009	1,102 ± 0,101	0,091
BMX Apolo	1,456 ± 0,374	0,822 ± 0,234	<0,001	1,386 ± 0,105	0,601
BMX Ativa	1,004 ± 0,258	0,042 ± 0,236	<0,001	0,639 ± 0,104	0,007
BMX Compacta	1,473 ± 0,378	0,798 ± 0,224	<0,001	1,334 ± 0,105	0,302
BMX Cromo	1,367 ± 0,352	0,616 ± 0,228	<0,001	0,958 ± 0,105	0,002
BMX Delta	1,436 ± 0,369	0,679 ± 0,237	<0,001	1,366 ± 0,105	0,580
BMX Elite	1,467 ± 0,377	0,821 ± 0,236	<0,001	1,352 ± 0,105	0,381
BMX Fibra	1,430 ± 0,367	0,740 ± 0,231	<0,001	1,498 ± 0,105	0,616
BMX Garra	1,256 ± 0,323	0,334 ± 0,218	<0,001	0,979 ± 0,104	0,039
BMX Lança	1,209 ± 0,311	0,271 ± 0,215	<0,001	1,194 ± 0,105	0,889
BMX Lótus	1,419 ± 0,364	0,602 ± 0,219	<0,001	1,369 ± 0,105	0,707
BMX Potência	1,381 ± 0,355	0,446 ± 0,215	<0,001	1,223 ± 0,105	0,242
BMX Raio	0,951 ± 0,253	0,0286 ± 0,252	<0,001	0,576 ± 0,105	0,001
BMX Tornado	1,260 ± 0,324	0,607 ± 0,230	<0,001	1,242 ± 0,105	0,859
BMX Valente	0,560 ± 0,158	0,075 ± 0,236	<0,001	0,436 ± 0,105	0,040
BMX Zeus	1,069 ± 0,276	0,022 ± 0,243	<0,001	0,987 ± 0,105	0,493
BRS 525	1,170 ± 0,303	0,567 ± 0,212	<0,001	1,157 ± 0,105	0,814
BRS 543	0,717 ± 0,186	0,091 ± 0,233	<0,001	0,438 ± 0,105	0,029
BRS 5601	1,389 ± 0,357	0,971 ± 0,239	0,003	1,262 ± 0,105	0,342
BRS 5804	1,454 ± 0,374	0,457 ± 0,217	<0,001	1,221 ± 0,105	0,084
BRS 6203	1,209 ± 0,311	0,474 ± 0,221	<0,001	0,639 ± 0,103	<0,001
BS 1511	1,411 ± 0,363	0,091 ± 0,227	<0,001	1,042 ± 0,105	0,006
BS 2606	1,429 ± 0,367	0,496 ± 0,215	<0,001	1,191 ± 0,105	0,079
DM 53i54	1,209 ± 0,311	0,257 ± 0,215	<0,001	1,061 ± 0,105	0,247
DM 57i52	1,248 ± 0,321	0,289 ± 0,214	<0,001	1,069 ± 0,105	0,173
DM 5958	1,056 ± 0,271	0,188 ± 0,234	<0,001	0,722 ± 0,105	0,013
DM 61i59	1,289 ± 0,331	0,805 ± 0,231	<0,001	1,101 ± 0,105	0,162
DM 66i68	1,095 ± 0,281	0,306 ± 0,214	<0,001	0,907 ± 0,105	0,159
FPS 1859	1,167 ± 0,309	0,352 ± 0,217	<0,001	1,118 ± 0,105	0,334
FPS 1867	1,334 ± 0,344	0,627 ± 0,230	<0,001	1,153 ± 0,105	0,147

FPS 1954	1,494 ± 0,384	0,783 ± 0,232	<0,001	1,434 ± 0,105	0,642
FPS 2063	1,302 ± 0,335	0,546 ± 0,216	<0,001	1,186 ± 0,105	0,373
M5838	0,810 ± 0,208	0,084 ± 0,235	<0,001	0,752 ± 0,105	0,664
M5917	1,309 ± 0,337	0,603 ± 0,225	<0,001	0,867 ± 0,105	<0,001
M5947	1,483 ± 0,381	0,754 ± 0,229	<0,001	0,867 ± 0,105	0,430
M6210	1,447 ± 0,372	0,978 ± 0,229	<0,001	0,138 ± 0,104	0,128
M6410	1,456 ± 0,374	1,080 ± 0,230	0,009	1,246 ± 0,105	0,837
NEO 530	1,336 ± 0,351	0,325 ± 0,204	<0,001	0,993 ± 0,105	0,006
NEO 580	1,277 ± 0,331	0,435 ± 0,210	<0,001	0,916 ± 0,105	0,005
NEO 610	1,415 ± 0,364	0,696 ± 0,230	<0,001	1,241 ± 0,104	0,195
NEO 660	1,344 ± 0,346	0,431 ± 0,229	<0,001	1,092 ± 0,105	0,059
NS 5258	1,222 ± 0,315	0,666 ± 0,235	<0,001	1,277 ± 0,105	0,729
NS 5445	1,268 ± 0,327	0,510 ± 0,217	<0,001	1,290 ± 0,105	0,929
NS 6601	1,163 ± 0,299	0,626 ± 0,227	<0,001	1,053 ± 0,105	0,385
NS 6909	1,156 ± 0,297	0,561 ± 0,215	<0,001	1,241 ± 0,105	0,536
ST 575	1,436 ± 0,369	0,313 ± 0,208	<0,001	1,137 ± 0,105	0,026
TMG 7061	1,374 ± 0,354	0,174 ± 0,209	<0,001	1,005 ± 0,105	0,006
TMG 7262	1,046 ± 0,271	0,209 ± 0,210	<0,001	0,903 ± 0,105	0,241
TMG 7270	1,271 ± 0,326	0,473 ± 0,210	<0,001	0,920 ± 0,105	0,009
TMG 7363	1,354 ± 0,349	0,188 ± 0,214	<0,001	1,215 ± 0,105	0,279

<sup>a</sup> O valor de probabilidade resultou da comparação pelo teste de Dunnet entre cada espécie de oomiceto com o controle não inoculado.

**Tabela 1.** Índice de velocidade de emergência (IVE; média ± erro padrão) de 50 cultivares de soja com e sem inoculação de *Globoisporangium irregulare* em dois experimentos.

Cultivar de soja	Experimento 1			Experimento 2		
	Não inoculado	Inoculado	P valor <sup>a</sup>	Não inoculado	Inoculado	P valor <sup>a</sup>
	Média ± SE	Média ± SE		Média ± SE	Média ± SE	
BMX Alvo	1,269 ± 0,00	0,444 ± 0,156	<0,001	1,389 ± 0,157	0,799 ± 0,092	0,008
BMX Apolo	1,468 ± 0,134	1,194 ± 0,134	0,148	1,444 ± 0,135	1,187 ± 0,135	0,173
BMX Ativa	0,994 ± 0,134	0,316 ± 0,134	0,001	1,014 ± 0,135	0,211 ± 0,135	<0,001
BMX Compacta	1,474 ± 0,134	1,042 ± 0,134	0,023	1,472 ± 0,134	0,728 ± 0,135	<0,001
BMX Cromo	1,286 ± 0,134	0,292 ± 0,134	<0,001	1,458 ± 0,135	0,859 ± 0,134	0,002
BMX Delta	1,367 ± 0,135	0,861 ± 0,134	0,008	1,514 ± 0,135	0,538 ± 0,134	<0,001
BMX Elite	1,534 ± 0,135	1,042 ± 0,134	0,009	1,403 ± 0,135	0,935 ± 0,134	0,014
BMX Fibra	1,403 ± 0,134	0,891 ± 0,134	0,007	1,458 ± 0,135	1,177 ± 0,134	0,137
BMX Garra	1,222 ± 0,134	0,304 ± 0,134	<0,001	1,292 ± 0,135	0,221 ± 0,134	<0,001
BMX Lança	1,149 ± 0,134	0,237 ± 0,134	<0,001	1,278 ± 0,135	0,667 ± 0,134	0,001
BMX Lótus	1,395 ± 0,134	0,361 ± 0,134	<0,001	1,444 ± 0,134	0,722 ± 0,134	<0,001
BMX Potência	1,401 ± 0,135	0,833 ± 0,134	0,003	1,361 ± 0,134	0,629 ± 0,135	<0,001
BMX Raio	0,752 ± 0,134	0,079 ± 0,134	<0,001	1,292 ± 0,134	0,197 ± 0,135	<0,001
BMX Tornado	1,185 ± 0,134	0,6948 ± 0,133	0,009	1,347 ± 0,134	0,718 ± 0,135	<0,001
BMX Valente	0,383 ± 0,134	0,167 ± 0,133	0,253	1,042 ± 0,134	0,001 ± 0,135	<0,001
BMX Zeus	0,978 ± 0,135	0,084 ± 0,133	<0,001	1,181 ± 0,133	0,149 ± 0,135	<0,001
BRS 525	1,335 ± 0,134	0,167 ± 0,133	<0,001	1,042 ± 0,133	0,649 ± 0,135	0,038
BRS 543	0,847 ± 0,134	0,163 ± 0,133	<0,001	0,704 ± 0,133	0,387 ± 0,135	0,094
BRS 5601	1,349 ± 0,134	0,843 ± 0,133	0,008	1,431 ± 0,133	0,959 ± 0,135	0,013
BRS 5804	1,437 ± 0,134	0,583 ± 0,133	<0,001	1,472 ± 0,134	0,901 ± 0,135	0,003
BRS 6203	1,163 ± 0,134	0,589 ± 0,133	0,003	1,259 ± 0,134	0,125 ± 0,135	<0,001
BS 1511	1,367 ± 0,134	0,548 ± 0,133	<0,001	1,458 ± 0,136	0,529 ± 0,135	<0,001
BS 2606	1,431 ± 0,134	0,617 ± 0,134	<0,001	1,427 ± 0,135	0,702 ± 0,135	<0,001
DM 53i54	1,127 ± 0,134	0,181 ± 0,133	<0,001	1,301 ± 0,135	0,427 ± 0,135	<0,001
DM 57i52	1,173 ± 0,134	0,339 ± 0,134	<0,001	1,333 ± 0,135	0,613 ± 0,134	<0,001
DM 5958	1,029 ± 0,134	0,236 ± 0,134	<0,001	1,083 ± 0,135	0,519 ± 0,135	0,003
DM 61i59	1,316 ± 0,134	0,722 ± 0,134	0,002	1,264 ± 0,135	0,802 ± 0,135	0,015
DM 66i68	1,068 ± 0,134	0,167 ± 0,134	<0,001	1,125 ± 0,135	0,333 ± 0,135	<0,001
FPS 1859	1,566 ± 0,134	1,292 ± 0,134	0,148	0,931 ± 0,135	0,452 ± 0,135	0,012
FPS 1867	1,210 ± 0,134	0,486 ± 0,134	<0,001	1,486 ± 0,135	1,093 ± 0,135	0,038
FPS 1954	1,437 ± 0,134	0,708 ± 0,134	<0,001	1,556 ± 0,135	0,942 ± 0,135	0,001
FPS 2063	1,375 ± 0,134	0,458 ± 0,134	<0,001	1,236 ± 0,135	0,704 ± 0,135	0,005
M5838	0,802 ± 0,134	0,084 ± 0,134	<0,001	0,819 ± 0,134	0,173 ± 0,135	<0,001
M5917	1,409 ± 0,134	0,538 ± 0,134	<0,001	1,222 ± 0,134	0,964 ± 0,135	0,173
M5947	1,417 ± 0,134	1,073 ± 0,134	0,069	1,556 ± 0,134	0,993 ± 0,135	<0,001
M6210	1,528 ± 0,134	1,048 ± 0,134	0,011	1,375 ± 0,135	0,895 ± 0,135	0,011
M6410	1,468 ± 0,134	0,986 ± 0,134	0,011	1,444 ± 0,135	1,218 ± 0,135	0,232
NEO 530	1,319 ± 0,134	0,417 ± 0,134	<0,001	1,417 ± 0,135	0,671 ± 0,135	<0,001
NEO 580	1,137 ± 0,133	0,208 ± 0,134	<0,001	1,458 ± 0,135	0,603 ± 0,135	<0,001
NEO 610	1,387 ± 0,133	0,288 ± 0,134	<0,001	1,444 ± 0,135	1,059 ± 0,135	0,042
NEO 660	1,292 ± 0,133	0,173 ± 0,134	<0,001	1,403 ± 0,134	0,776 ± 0,136	0,001
NS 5258	1,127 ± 0,133	0,427 ± 0,134	<0,001	1,333 ± 0,133	0,718 ± 0,136	0,001
NS 5445	1,389 ± 0,134	0,559 ± 0,134	<0,001	1,167 ± 0,133	0,538 ± 0,136	<0,001

NS 6601	1,256 ± 0,133	0,552 ± 0,135	<0,001	1,083 ± 0,132	0,524 ± 0,136	0,003
NS 6909	1,204 ± 0,133	0,375 ± 0,135	<0,001	1,111 ± 0,132	0,389 ± 0,136	<0,001
ST 575	1,486 ± 0,133	0,321 ± 0,135	<0,001	1,389 ± 0,132	0,935 ± 0,136	0,017
TMG 7061	1,288 ± 0,133	0,084 ± 0,134	<0,001	1,472 ± 0,132	0,514 ± 0,136	<0,001
TMG 7262	0,941 ± 0,133	0,238 ± 0,135	<0,001	0,181 ± 0,133	0,250 ± 0,136	<0,001
TMG 7270	1,264 ± 0,133	0,356 ± 0,134	<0,001	1,278 ± 0,133	0,720 ± 0,136	0,003
TMG 7363	1,264 ± 0,132	0,357 ± 0,135	<0,001	1,458 ± 0,133	0,354 ± 0,136	<0,001

<sup>a</sup> O valor de probabilidade resultou da comparação pelo teste de Dunnett entre o controle inoculado e o não inoculado.

A MST por plântula variou de 0,129 a 0,244 g para as testemunhas não inoculadas (Tabela 16). A inoculação de *G. irregulare* causou redução significativa ( $p < 0,05$ ) na MST para 19 cultivares, enquanto a inoculação de *G. ultimum* var. *sporangiferum* reduziu a MST em 17 cultivares (Tabela 16). No entanto, quando *P. conidiophorum* foi inoculado apenas três cultivares apresentaram MST inferior à testemunha não inoculada.

O ISDR variou muito entre as cultivares de soja para as três espécies de oomicetos. Como houve interação significativa entre experimento e cultivar de soja, os dados foram apresentados separadamente para ambos os experimentos. O ISDR com inoculação de *G. irregulare* variou de 64 a 99 no primeiro experimento (média = 87) e de 50 a 100 no segundo experimento (média = 82) (Tabela 17). A inoculação de *G. ultimum* var. *sporangiferum* resultou em um ISDR que variou de 65 a 100 no primeiro experimento (média = 92), e de 59 a 100 no segundo experimento (média = 86) (Tabela 17). Por fim, quando a inoculação foi realizada com *P. conidiophorum* o ISDR variou de 31 a 92 no primeiro experimento (média = 64), e de 41 a 93 no segundo experimento (média = 66) (Tabela 17).

**Tabela 16.** Massa seca total (MST, g; média ± erro padrão) por plântula aos 14 dias após a semeadura de 50 cultivares de soja com e sem inoculação de três espécies de oomicetos.

Cultivar de soja	Não inoculado	<i>Globisporangium Irregulare</i>	P valor <sup>a</sup>	<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiferum</i>	P valor <sup>a</sup>	<i>Pythium conidiophorum</i>	P valor <sup>a</sup>
	Média ± SE	Média ± SE		Média ± SE		Média ± SE	
BMX Alvo	0,1436±0,081	0,144 ± 0,086	0,986	0,127 ± 0,021	0,591	0,155 ± 0,06	0,578
BMX Apolo	0,164 ± 0,085	0,146 ± 0,086	0,435	0,156 ± 0,022	0,786	0,161 ± 0,06	0,848
BMX Ativa	0,166 ± 0,086	0,115 ± 0,086	0,038	0,037 ± 0,022	<0,001	0,134 ± 0,06	0,137
BMX Compacta	0,183 ± 0,086	0,156 ± 0,086	0,264	0,176 ± 0,022	0,804	0,156 ± 0,06	0,201
BMX Cromo	0,192 ± 0,086	0,188 ± 0,086	0,839	0,155 ± 0,022	0,237	0,148 ± 0,06	0,038
BMX Delta	0,158 ± 0,086	0,167 ± 0,086	0,718	0,132 ± 0,022	0,416	0,172 ± 0,06	0,518
BMX Elite	0,167 ± 0,086	0,142 ± 0,086	0,301	0,121 ± 0,022	0,150	0,188 ± 0,06	0,328
BMX Fibra	0,154 ± 0,086	0,144 ± 0,086	0,643	0,137 ± 0,022	0,571	0,155 ± 0,06	0,984
BMX Garra	0,140 ± 0,086	0,088 ± 0,086	0,031	0,120 ± 0,022	0,538	0,138 ± 0,06	0,944
BMX Lança	0,156 ± 0,086	0,076 ± 0,086	0,001	0,097 ± 0,022	0,067	0,136 ± 0,06	0,353
BMX Lótus	0,238 ± 0,086	0,171 ± 0,086	0,005	0,155 ± 0,022	0,009	0,219 ± 0,06	0,352
BMX Potência	0,142 ± 0,086	0,147 ± 0,086	0,857	0,118 ± 0,022	0,447	0,139 ± 0,06	0,887
BMX Raio	0,173 ± 0,086	0,087 ± 0,086	<0,001	0,029 ± 0,022	<0,001	0,169 ± 0,06	0,836
BMX Tornado	0,134 ± 0,086	0,130 ± 0,086	0,858	0,159 ± 0,022	0,451	0,148 ± 0,06	0,522
BMX Valente	0,173 ± 0,086	0,072 ± 0,086	<0,001	0,037 ± 0,022	<0,001	0,189 ± 0,06	0,456
BMX Zeus	0,237 ± 0,086	0,073 ± 0,086	<0,001	0,028 ± 0,022	<0,001	0,210 ± 0,06	0,203
BRS 525	0,167 ± 0,086	0,133 ± 0,086	0,163	0,162 ± 0,022	0,867	0,211 ± 0,06	0,042
BRS 543	0,148 ± 0,086	0,1409 ± 0,086	0,759	0,110 ± 0,022	0,233	0,134 ± 0,06	0,501
BRS 5601	0,192 ± 0,086	0,184 ± 0,086	0,724	0,161 ± 0,022	0,334	0,197 ± 0,06	0,810
BRS 5804	0,183 ± 0,086	0,139 ± 0,086	0,071	0,111 ± 0,022	0,024	0,187 ± 0,06	0,890
BRS 6203	0,146 ± 0,086	0,112 ± 0,086	0,169	0,071 ± 0,022	0,019	0,067 ± 0,06	<0,001
BS 1511	0,204 ± 0,086	0,141 ± 0,086	0,009	0,052 ± 0,022	<0,001	0,189 ± 0,06	0,451
BS 2606	0,168 ± 0,086	0,115 ± 0,086	0,028	0,104 ± 0,022	0,046	0,167 ± 0,06	0,952
DM 53i54	0,194 ± 0,086	0,146 ± 0,086	0,052	0,147 ± 0,022	0,141	0,183 ± 0,06	0,621
DM 57i52	0,193 ± 0,086	0,158 ± 0,086	0,142	0,075 ± 0,022	<0,001	0,193 ± 0,06	0,994
DM 5958	0,173 ± 0,086	0,102 ± 0,086	0,004	0,121 ± 0,022	0,104	0,180 ± 0,06	0,756
DM 61i59	0,228 ± 0,086	0,161 ± 0,086	0,006	0,176 ± 0,022	0,104	0,197 ± 0,06	0,143
DM 66i68	0,189 ± 0,086	0,103 ± 0,086	<0,001	0,109 ± 0,022	0,013	0,186 ± 0,06	0,868
FPS 1859	0,150 ± 0,086	0,114 ± 0,086	0,146	0,142 ± 0,022	0,816	0,157 ± 0,06	0,728
FPS 1867	0,152 ± 0,086	0,129 ± 0,086	0,355	0,116 ± 0,022	0,258	0,147 ± 0,06	0,804
FPS 1954	0,206 ± 0,086	0,167 ± 0,086	0,104	0,189 ± 0,022	0,554	0,191 ± 0,06	0,472
FPS 2063	0,151 ± 0,086	0,113 ± 0,086	0,117	0,125 ± 0,022	0,418	0,158 ± 0,06	0,762
M5838	0,174 ± 0,086	0,151 ± 0,086	0,347	0,074 ± 0,022	0,002	0,211 ± 0,06	0,084
M5917	0,196 ± 0,086	0,151 ± 0,086	0,068	0,156 ± 0,022	0,218	0,178 ± 0,06	0,401
M5947	0,129 ± 0,086	0,129 ± 0,086	0,989	0,112 ± 0,022	0,583	0,135 ± 0,06	0,794
M6210	0,168 ± 0,086	0,174 ± 0,086	0,813	0,160 ± 0,022	0,792	0,161 ± 0,06	0,743
M6410	0,186 ± 0,086	0,164 ± 0,086	0,361	0,169 ± 0,022	0,605	0,191 ± 0,06	0,848

NEO 530	0,206 ± 0,086	0,153 ± 0,086	0,029	0,103 ± 0,022	0,001	0,184 ± 0,06	0,279
NEO 580	0,229 ± 0,086	0,191 ± 0,086	0,112	0,173 ± 0,022	0,083	0,219 ± 0,06	0,628
NEO 610	0,145 ± 0,086	0,116 ± 0,086	0,236	0,127 ± 0,022	0,572	0,137 ± 0,06	0,696
NEO 660	0,214 ± 0,086	0,190 ± 0,086	0,316	0,151 ± 0,022	0,049	0,181 ± 0,06	0,119
NS 5258	0,195 ± 0,086	0,142 ± 0,086	0,029	0,152 ± 0,022	0,177	0,202 ± 0,06	0,756
NS 5445	0,155 ± 0,086	0,120 ± 0,086	0,152	0,124 ± 0,022	0,327	0,165 ± 0,06	0,647
NS 6601	0,175 ± 0,086	0,122 ± 0,086	0,029	0,125 ± 0,022	0,116	0,158 ± 0,06	0,425
NS 6909	0,183 ± 0,086	0,173 ± 0,086	0,661	0,145 ± 0,022	0,230	0,188 ± 0,06	0,852
ST 575	0,201 ± 0,086	0,142 ± 0,086	0,016	0,115 ± 0,022	0,008	0,178 ± 0,06	0,296
TMG 7061	0,197 ± 0,086	0,078 ± 0,086	<0,001	0,079 ± 0,022	<0,001	0,229 ± 0,06	0,125
TMG 7262	0,203 ± 0,086	0,133 ± 0,086	0,005	0,148 ± 0,022	0,089	0,208 ± 0,06	0,812
TMG 7270	0,244 ± 0,086	0,149 ± 0,086	<0,001	0,189 ± 0,022	0,083	0,208 ± 0,06	0,087
TMG 7363	0,169 ± 0,086	0,126 ± 0,086	0,074	0,065 ± 0,022	0,001	0,165 ± 0,06	0,841

<sup>a</sup> O valor de probabilidade resultou da comparação pelo teste de Dunnet entre o controle inoculado e o não inoculado.

**Tabela 17.** Índice de severidade da doença na raiz (ISDR; média  $\pm$  erro padrão) por plântula de 50 cultivares de soja com e sem inoculação de três espécies de oomicetos em dois experimentos.

Cultivar de soja	<i>Globisporangium irregulare</i>		<i>Globisporangium ultimum var. sporangiiferum</i>		<i>Pytyhium conidiophorum</i>	
	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2	Exp 1	Exp 2
BMX Alvo	91,08	80,39	91,70	90,44	65,72	66,31
BMX Apolo	69,30	63,18	85,79	72,16	39,69	63,42
BMX Ativa	93,38	95,80	100,00	97,87	93,27	81,90
BMX Compacta	71,73	75,60	82,60	78,72	64,52	51,86
BMX Cromo	92,18	79,75	94,03	82,94	90,57	67,01
BMX Delta	77,77	90,24	93,92	78,72	42,94	67,01
BMX Elite	70,09	69,86	90,18	74,99	54,90	60,80
BMX Fibra	73,86	51,72	90,37	80,02	31,11	48,44
BMX Garra	91,70	95,38	93,92	90,24	70,20	71,30
BMX Lança	96,59	82,85	95,76	94,60	71,52	71,84
BMX Lótus	92,47	74,99	92,88	82,68	58,75	49,02
BMX Potência	83,36	76,99	96,76	79,66	51,16	71,30
BMX Raio	98,50	95,89	99,34	100,00	91,58	86,10
BMX Tornado	88,61	81,99	86,64	87,01	40,78	64,76
BMX Valente	96,76	100,00	98,81	98,81	84,60	87,82
BMX Zeus	99,34	97,28	100,00	98,81	73,86	77,57
BRS 525	95,80	82,60	93,33	87,16	76,40	56,11
BRS 543	94,24	84,60	97,87	98,81	84,92	94,03
BRS 5601	73,54	76,79	83,36	60,17	48,00	54,35
BRS 5804	85,56	70,20	98,81	79,75	61,18	42,78
BRS 6203	87,16	97,87	99,34	72,16	92,42	76,79
BS 1511	85,40	84,11	98,81	98,31	65,24	59,27
BS 2606	87,01	83,69	92,65	87,60	69,30	67,13
DM 53i54	97,28	92,18	97,12	93,71	70,64	70,31
DM 57i52	90,37	81,64	99,34	87,01	66,78	66,54
DM 5958	95,76	87,16	97,12	97,12	86,48	81,55
DM 61i59	84,03	81,55	82,68	77,77	61,69	59,27
DM 66i68	97,12	93,71	96,76	92,82	82,08	79,10
FPS 1859	69,30	91,94	89,64	95,89	40,00	84,35
FPS 1867	83,02	63,18	98,50	70,64	66,31	50,87
FPS 1954	86,48	78,06	84,60	84,11	37,80	57,04
FPS 2063	91,82	84,19	89,91	84,60	60,42	65,00
M5838	97,87	95,48	99,34	97,87	76,89	85,24
M5917	87,82	72,59	88,33	82,60	70,42	63,79
M5947	73,54	67,59	79,28	82,85	49,16	41,71
M6210	65,48	70,86	70,75	75,90	39,22	56,78
M6410	76,00	63,30	66,31	80,93	31,11	52,84
NEO 530	92,30	80,21	98,31	84,84	77,28	69,53
NEO 580	96,07	87,60	96,76	87,60	82,68	67,48
NEO 610	93,49	78,44	89,64	87,53	71,73	57,70
NEO 660	95,19	78,06	94,34	90,11	71,73	67,36



NS 5258	91,94	84,44	90,70	83,44	62,68	59,53
NS 5445	88,47	88,54	95,89	84,27	61,18	57,70
NS 6601	86,33	87,60	91,01	84,44	72,48	67,59
NS 6909	89,71	91,82	93,49	81,90	72,27	63,42
ST 575	92,18	77,77	96,76	90,89	68,51	75,70
TMG 7061	98,81	90,18	100,00	93,92	73,86	73,54
TMG 7262	94,24	96,25	98,50	95,76	78,15	67,59
TMG 7270	94,40	82,68	93,92	88,96	76,40	81,90
TMG 7363	91,82	93,49	100,00	93,71	62,06	75,30

Houve correlação positiva ( $r = 0,96$  a  $0,99$ ) entre IVE e emergência de soja com inoculação das três espécies de oomicetos (Tabela 18). Além disso, houve correlação negativa ( $r = -0,81$  a  $-0,88$ ) entre IVE e ISDR e entre emergência e ISDR ( $r = -0,81$  a  $-0,90$ ) para as três espécies (Tabela 18). Além disso, quando *G. irregulare* ou *G. ultimum* var. *sporangiferum* foram inoculados MST foi moderada e negativamente correlacionado ( $r = -0,26$  a  $-0,44$ ) com ISDR enquanto foi positivamente correlacionado com IVE ( $r = 0,31$  a  $0,46$ ) e emergência ( $r = 0,29$  a  $0,29$ ). No entanto, a MST não se correlacionou com nenhuma das variáveis quando *P. conidiophorum* foi inoculado (Tabela 18). Houve correlações moderadas entre os isolados para IVE, emergência e ISDR (Tabela 19). No entanto, para MST a inoculação de *P. conidiophorum* não se correlacionou com *G. ultimum* var. *sporangiferum* (Tabela 19).

**Tabela 18.** Matriz de correlação para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (%), índice de severidade da doença na raiz (ISDR) e massa seca total (MST; g por plântula) para cada espécie de oomiceto.

Variável	IVE	Emergência	ISDR	MST
<i>Globisporangium irregulare</i>				
IVE	...	<0,001	<0,001	<0,001
Emergência	0,97	...	<0,001	<0,001
ISDR	-0,83	-0,87	...	<0,001
MST	0,31	0,29	-0,26	...
<i>Globisporangium ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i>				
IVE	...	<0,001	<0,001	<0,001
Emergência	0,99	...	<0,001	<0,001
ISDR	-0,88	-0,90	...	<0,001
MST	0,46	0,46	-0,44	...
<i>Pythium conidiophorum</i>				
IVE	...	<0,001	<0,001	0,181
Emergência	0,96	...	<0,001	0,865
ISDR	-0,81	-0,81	...	0,072
MST	0,08	0,01	-0,10	...

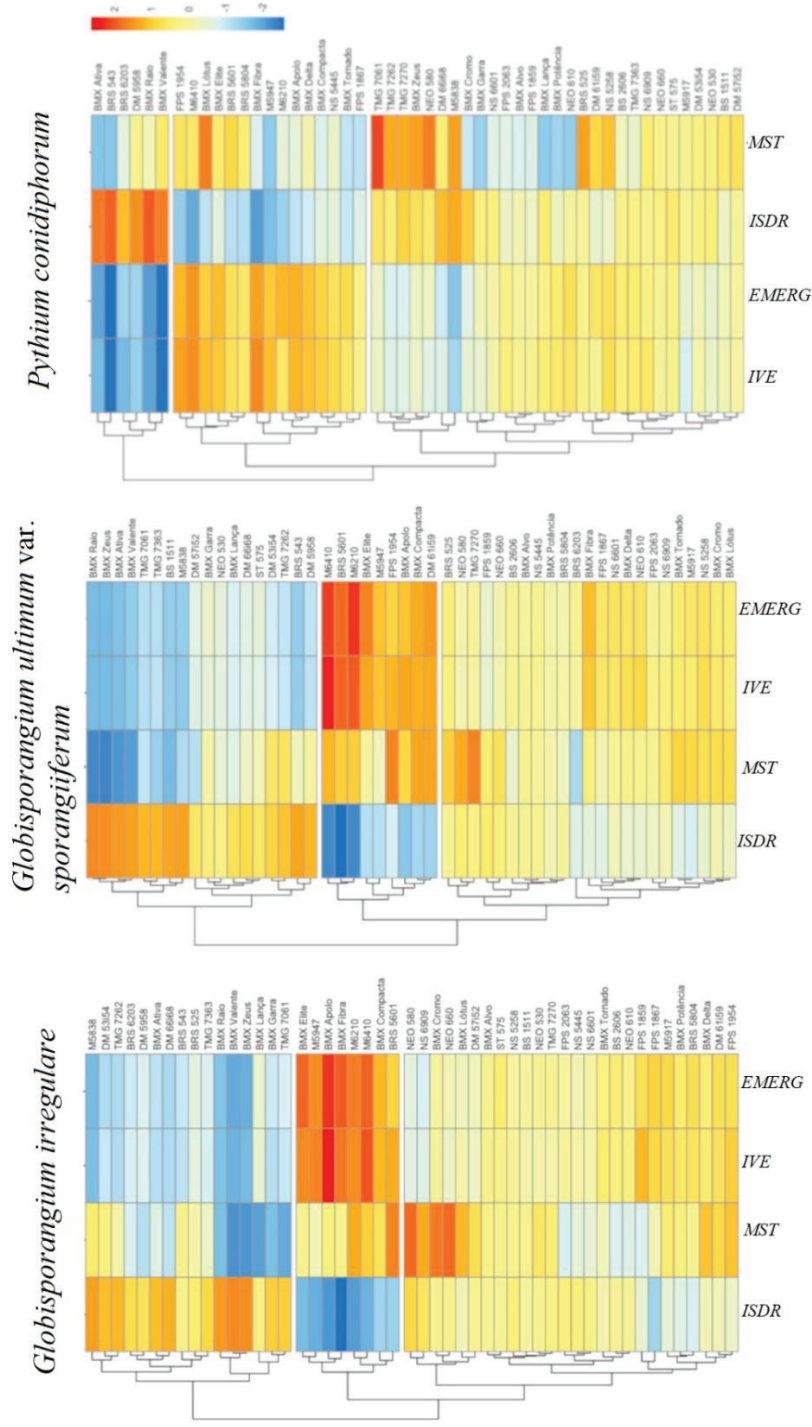
<sup>a</sup> Os coeficientes de correlação de Pearson estão presentes abaixo da diagonal e os valores de probabilidade acima da diagonal.

**Tabela 19.** Matriz de correlação entre as espécies de oomicetos para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (%), índice de severidade da doença na raiz (ISDR) e massa seca total (g por plântula).

Espécies	<i>G. irregulare</i>	<i>G. ultimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i>	<i>P. conidiophorum</i>
		IVE	
<i>G. irregulare</i>	...	<0,001	<0,001
<i>G. ultimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i>	0,48	...	<0,001
<i>P. conidiophorum</i>	0,40	0,37	...
		Emergência	
<i>G. irregulare</i>	...	<0,001	<0,001
<i>G. ultimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i>	0,49	...	<0,001
<i>P. conidiophorum</i>	0,41	0,43	...
		ISDR	
<i>G. irregulare</i>	...	<0,001	<0,001
<i>G. ultimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i>	0,42	...	<0,001
<i>P. conidiophorum</i>	0,33	0,35	...
		MST	
<i>G. irregulare</i>	...	<0,001	<0,001
<i>G. ultimum</i> var. <i>sporangiiiferum</i>	0,24	...	0,82
<i>P. conidiophorum</i>	0,31	-0,01	...

<sup>a</sup> Os coeficientes de correlação de Pearson estão presentes abaixo da diagonal e os valores de probabilidade acima da diagonal.

Com base na análise de agrupamento na média de ambos os experimentos para *G. irregulare* (Figura 10), o agrupamento com menor ISDR e maior emergência e IVE foi constituído por ‘BMX Elite’, ‘M5947’, ‘BMX Apolo’, ‘BMX Fibra’, ‘M6210’, ‘M6410’, ‘BMX Compacta’, ‘BRS 5601’. A análise de agrupamento para *G. ultimum* var. *sporangiiiferum* revelou que o cluster com o menor ISDR consistia em ‘M6410’, ‘BRS5601’, ‘M6210’, ‘BMX Elite’, ‘M5947’, ‘FPS 1954’, ‘BMX Apolo’, ‘BMX Compacta’ e ‘DM 61i59’ (Figura 10). Por outro lado, o cluster com o menor ISDR com inoculação de *P. conidiophorum* foi composto por ‘BMX Ativa’, ‘BRS 543’, ‘BRS 6203’, ‘DM 5958’, ‘BMX Raio’ e ‘BMX Valente’ (Figura 10).



**Figura 10.** Análise de agrupamento com as cultivares de soja com base na distância Euclidiana para as variáveis normalizadas com inoculação de *Globisporangium irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiiferum* e *P. conidiophorum*. Variáveis: ISDR = índice de severidade da doença na raiz; MST = massa seca total; IVE = Índice de velocidade de emergência; EMERG = emergência aos 14 dias após a semeadura.

## 6.5 Discussão

Neste estudo, 50 cultivares de soja adaptadas ao sul do Brasil foram avaliadas quanto à sua reação a *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiferum* e *P. conidiophorum* com inoculação artificial realizada separadamente em ensaios de câmara de crescimento. Houve grande variabilidade na emergência, IVE, MST e ISDR entre as cultivares, portanto, foi possível classificá-las em grupos de acordo com sua reação de suscetibilidade a cada espécie de oomiceto.

O uso de isolados de patógenos relevantes para a região em que a resistência seria implantada tem sido enfatizado por alguns autores (LERCH-OLSON et al., 2020; OTTO-HANSON et al., 2011). Isso é importante devido às diferenças na variabilidade genética que podem ocorrer entre as regiões e podem afetar a agressividade dos patógenos (OTTO-HANSON et al., 2011). Portanto, em nosso estudo usamos isolados que foram obtidos regionalmente de plântulas de soja coletadas no estado do Rio Grande do Sul no sul do Brasil em um levantamento realizado durante a safra 2019/2020 (MOLIN et al., 2021a).

No geral, o ISDR devido à inoculação de *P. conidiophorum* (média: 66,8) foi menor que *G. irregulare* (média: 85,9) e *G. ultimum* var. *sporangiferum* (média: 90,3). Já foi relatado que, embora *P. conidiophorum* tenha sido mais prevalente no sul do Brasil, também foi menos agressivo à soja do que outras espécies (MOLIN et al., 2021). Diferenças de agressividade entre espécies de oomicetos à soja já foram verificadas em estudos anteriores (LERCH-OLSON et al., 2020; MATTHIESEN et al., 2016; ROJAS et al., 2017).

As cultivares de soja ‘BMX Apolo’, ‘BMX Compacta’, ‘BMX Elite’, ‘BRS 5601’, ‘M5947’, ‘M6410’, ‘M6210’ foram consistentemente menos suscetíveis que as

demais cultivares a *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *esporangiiferum*. Embora a resistência do hospedeiro a *Globisporangium* e *Pythium* seja muito difícil devido à grande variabilidade de espécies que podem infectar a soja (ROJAS et al., 2017), algumas cultivares resistentes têm sido relatadas. ‘Archer’ é uma cultivar que foi identificada com resistência a *G. ultimum*, *G. irregulare*, *P. aphanidermatum* e *P. vexans* (BATES et al., 2008). Além disso, ‘Maverick’ é uma cultivar de soja caracterizada como resistente a *P. lutarium*, *P. oopapilum*, *P. sylvaticum* e *P. torulosum* (LERCH-OLSON et al., 2020).

A resistência genética a *Globisporangium* ou *Pythium* pode ser resultado de diferentes mecanismos (KLEPADLO et al., 2019; ZHU et al., 2021). Por exemplo, a resistência da soja a *P. aphanidermatum* foi conferida por um gene dominante (Rpa1) (ROSSO et al., 2008) ou por um QTL (URREA et al., 2017). Outros QTLs também foram identificados para resistência a *G. irregulare* (ELLIS et al., 2013; LIN et al. 2018) e a *G. ultimum* var. *ultimum* (KLEPADLO et al., 2019). Além disso, a identificação de QTLs foi realizada em populações de linhagens recombinantes de soja que foram rastreadas quanto à sua resposta a *P. sylvaticum*, *G. irregulare*, *P. oopapilum* e *P. torulosum* (CLEVINGER et al., 2021). Além disso, quatro cultivares foram resistentes a *G. ultimum* var. *ultimum* e foram apenas parcialmente resistentes a *G. irregulare* e *P. sylvaticum* (ROD et al., 2018).

O tipo de ensaio usado para rastrear a resistência pode afetar os resultados (KULL et al., 2003; LERCH-OLSON et al., 2020). Em nosso estudo, sementes de soja estiveram em contato direto com micélios produzidos em areia e misturados com vermiculita. Estudos que utilizaram o ‘método de camada’ onde o inóculo é posicionado 2 cm abaixo da semente irão retardar o processo de infecção da plântula. Além disso, a caracterização dos genótipos de soja neste estudo foi realizada com base nos escores de

podridão radicular. Uma vez que a correlação entre a podridão das sementes e o escore de podridão radicular são geralmente fracas ou insignificantes (LERCH-OLSON et al., 2020), os resultados deste estudo não podem ser traduzidos diretamente para seu desempenho em relação à podridão das sementes, uma vez que os mecanismos de resistência à podridão podem não ser o mesmo.

Um genótipo de soja para ser considerado resistente a uma espécie de *Pythium* tinha que ser significativamente diferente da verificação suscetível ‘Sloan’ nos ensaios feitos por Lerch-Olson et al. (2020). A severidade da podridão radicular em ‘Sloan’ com inoculação de *P. lutarium* (intervalo: 36,3 – 82,5), *P. oopapillum* (intervalo: 48,1 – 91,9), *P. sylvaticum* (intervalo: 33,1 – 77,5), *P. torulosum* (intervalo: 17,5 – 86,9) foi de 82,5, 74,4, 76,9 e 86,9, respectivamente. Em nosso estudo, o ISDR atingiu 100 para *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum*, e 92 para *P. conidiophorum* e a maior severidade da doença pode ser devido ao método de inoculação.

Algumas características do tegumento da semente podem afetar a resistência ao *Pythium*. Neste estudo, todas as cultivares de soja apresentaram tegumento amarelo (Tabela 1). Acessos de feijoeiro com tegumento claro apresentaram maiores níveis de sintomas de doenças causadas por *G. ultimum* (LUCAS e GRIFFITHS, 2004). Da mesma forma, acessos de grão de bico com tegumento pigmentado foram mais resistentes a *G. ultimum* do que acessos com tegumento bege (AGARWAL et al., 2021). Os tegumentos pretos têm maior qualidade fisiológica (MERTZ et al., 2009), menor velocidade de embebição (BAHRY et al., 2017), menos poros na superfície do tegumento e maior teor de lignina (KUCHLAN et al., 2010). Programas de melhoramento de soja que desejam se concentrar no desenvolvimento de genótipos com resistência podem precisar

incorporar genótipos com tegumento escuro, porém, essa característica nem sempre é desejável nas cultivares comerciais.

O nível de resistência pode refletir a composição dos exsudatos de sementes produzidos por um genótipo de soja. Exsudatos de sementes e plântulas em germinação contêm fenóis e açúcares redutores que podem reduzir o crescimento de *G. ultimum in vitro* (KRAFT, 1974). Os exsudatos da cultivar ‘Archer’ apresentaram menor concentração de carboidratos, lipídios e proteínas, mas maior concentração de isoflavonas em comparação com ‘Hutcheson’ que é mais susceptível a *P. aphanidermatum* (AVANZATO e RUPE, 2011). Em macieira, a lignificação das raízes foi identificada como um processo associado à resposta de defesa contra *Pythium ultimum* (ZHU et al., 2021).

O peso seco da raiz não apresentou correlação significativa com a severidade da podridão radicular no estudo de Lerch-Olson et al. (2020), no entanto, houve uma correlação significativa entre a emergência e a severidade da podridão radicular, o que corrobora com os resultados do nosso estudo. Assim, em estudos posteriores a avaliação da massa seca pode ser desconsiderada, o que permitirá economizar tempo e esforço na caracterização dos genótipos de soja.

## **6.6 Conclusão**

Conclui-se que existem algumas cultivares de soja adaptadas ao sul do Brasil que apresentam menor suscetibilidade a *G. irregulare*, *G. ultimum* var. *sporangiferum* e *P. conidiophorum* que poderiam ser utilizados nos campos onde essas espécies ocorrem. Uma vez que inúmeras espécies de oomicetos podem ser encontradas em um mesmo campo, a combinação de outras práticas como tratamento de sementes com fungicidas e



melhoria da drenagem do solo ainda são necessárias para o manejo do tombamento da soja no sul do Brasil.

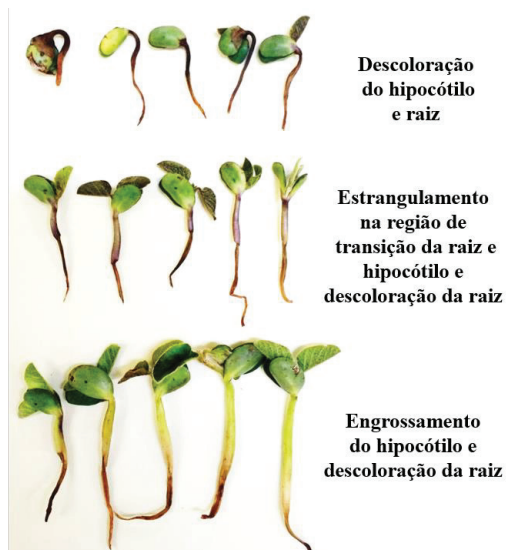
## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foram relatadas nove espécies de oomicetos associadas ao tombamento de plântulas de soja no sul do Brasil sendo *G. irregulare*, *G. rostratifingens*, *G. spinosum*, *G. ultimum* var. *sporangiferum*, *P. acanthicum*, *P. conidiophorum*, *P. deliense*, *P. inflatum* e *P. torulosum*. Além disso, o controle químico através do tratamento de sementes de soja com produtos compostos de metalaxil-M em maiores concentrações e maiores doses como Apron RFC, Maxim Advanced e Maxim Quattro, proporciona maior controle do tombamento da soja causado por *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum*.

Outra forma de controle é a resistência do hospedeiro ao patógeno, através do uso de cultivares que apresentaram nesse estudo, menor suscetibilidade a *G. irregulare* e *G. ultimum* var. *sporangiferum*. Entretanto, inúmeras espécies de oomicetos podem ser encontradas em um mesmo campo, assim, o uso conjunto das formas de controle se faz necessário para uma maior eficiência. Os isolados obtidos e as informações geradas neste estudo são recursos muito úteis para empresas detentoras de cultivares de soja, programas de melhoramento, produtores rurais e empresas de defensivos químicos.

## 8. APÊNDICES

**Apêndice 1.** Sintomas característicos do tombamento causado por *Pythium* spp. e *Globisporangium* spp.

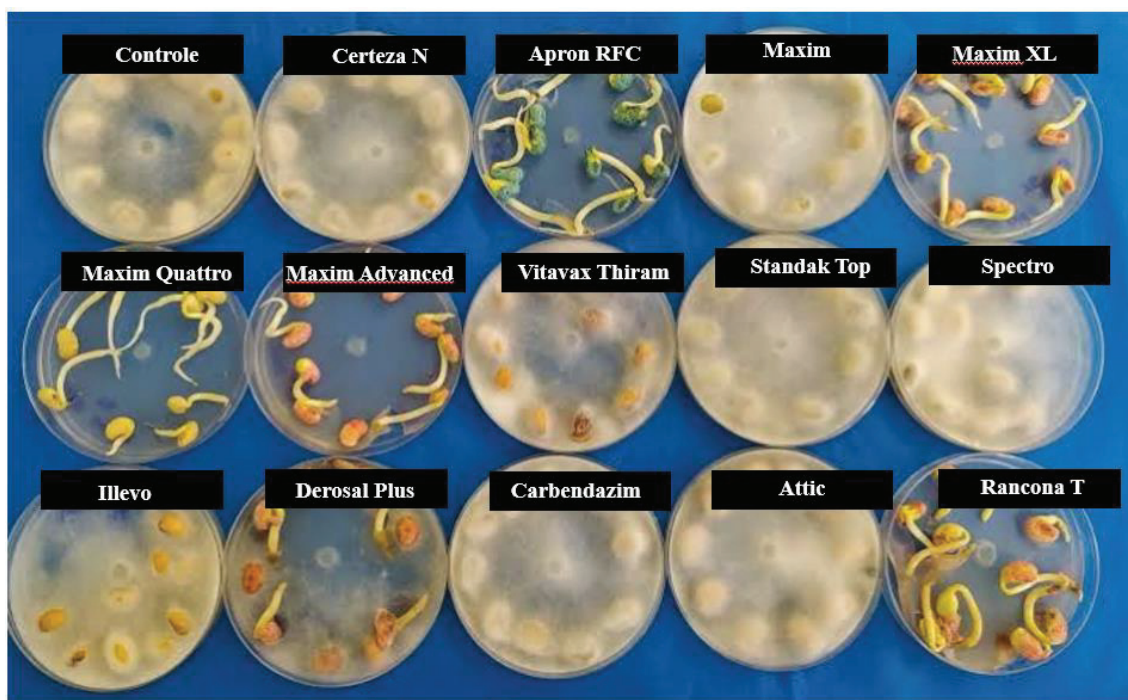


**Apêndice 2.** Plântulas de soja após 14 dias de inoculação, controle e os respectivos isolados para a cultivar de soja 'DM 57i52'

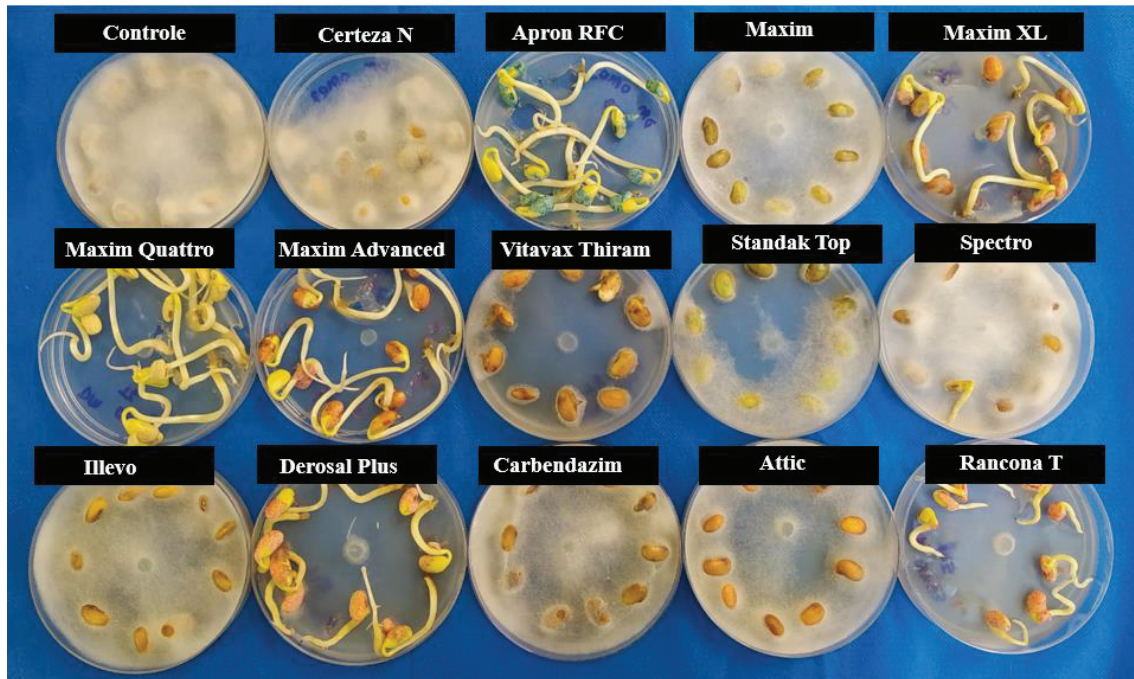




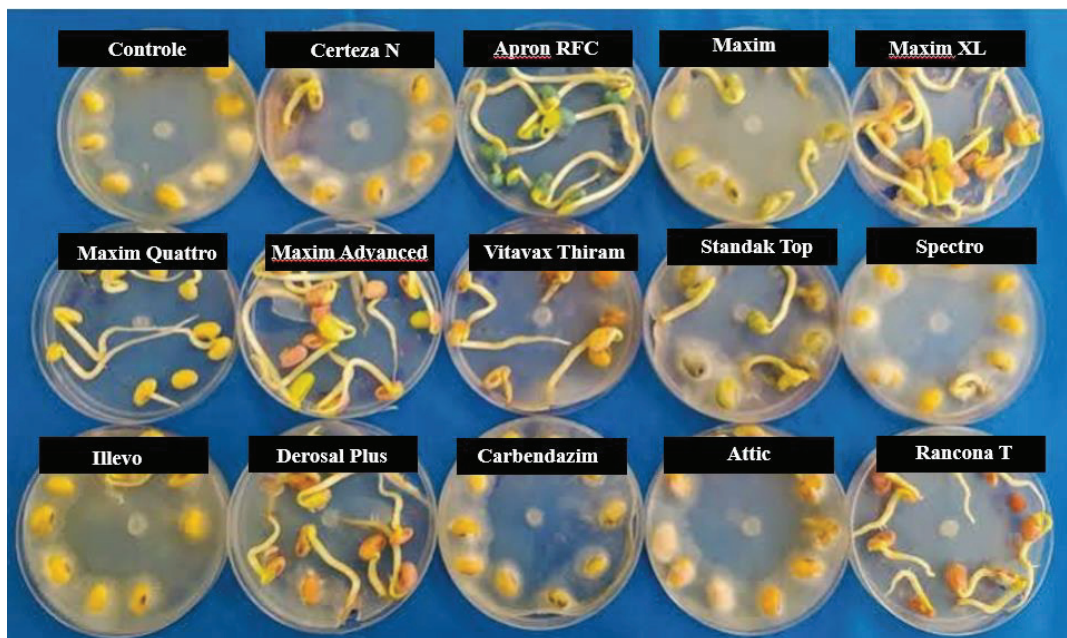
**Apêndice 3.** Plântulas de soja após 14 dias de inoculação, controle e os respectivos isolados para a cultivar de soja ‘NEO 530’



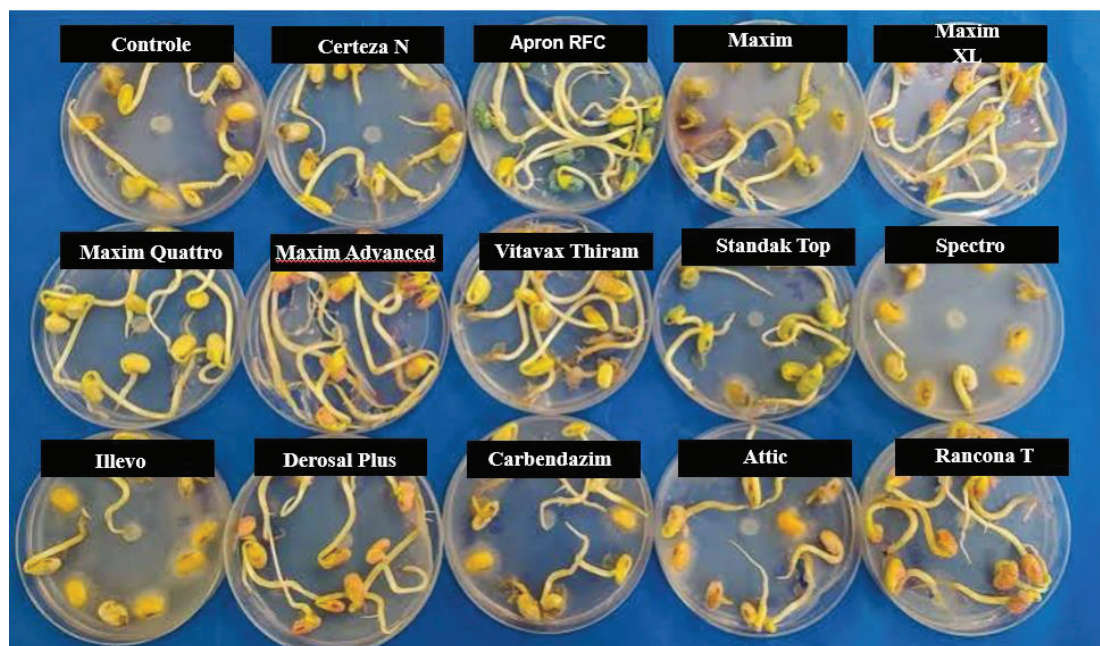
**Apêndice 4.** Índice de severidade da doença na semente, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘NEO 530’ e *Globisporangium irregulare* ‘OM03’.



**Apêndice 5.** Índice de severidade da doença na semente, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘DM 57i52’ e *Globisporangium irregulare* ‘OM03’.



**Apêndice 6.** Índice de severidade da doença na semente, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘NEO 530’ e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘PAN06’.



**Apêndice 7.** Índice de severidade da doença na semente, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘DM 57i52’ e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘PAN06’.



**Apêndice 8.** Índice de severidade da doença na raiz, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘NEO 530’ e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘PAN06’.



**Apêndice 9.** Índice de severidade da doença na raiz, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘NEO 530’ e *Globisporangium irregulare* ‘OM03’.



**Apêndice 10.** Índice de severidade da doença na raiz, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘DM 57i52’ e *Globisporangium ultimum* var. *sporangiiferum* ‘PAN06’.



**Apêndice 11.** Índice de severidade da doença na raiz, controle e demais tratamentos de semente para a cultivar de soja ‘DM 57i52’ e *Globisporangium irregulare* ‘OM03’.

## 9. REFERÊNCIAS

- ACHARYA, J.; BAKKER, M.G.; MOORMAN, T.B.; KASPAR, T.C.; LENSSEN, A.W.; ROBERTSON, A. E. Effects of fungicide seed treatments and a winter cereal rye cover crop in no till on the seedling disease complex in corn. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 40, p. 481-497, 2018. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1506503>
- ALEJANDRO ROJAS, J.A.; JACOBS, J.L.; NAPIERALSKI, S.; KARAJ, B.; BRADLEY, C.A.; CHASE, T.; ESKER, P.D.; GIESLER, L.J.; JARDINE, D.J.; MALVICK, D.K.; MARKELL, S.G.; NELSON, B.D.; ROBERTSON, A.E.; RUPE, J.C.; SMITH, D.L.; SWEETS, L.E.; TENUTA, A.U.; WISE, K.A.; CHILVERS, M.I. Oomycete species associated with soybean seedlings in North America-Part I: Identification and pathogenicity characterization. *Phytopathology*, v. 107, p. 280–292, 2017. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-16-0177-R>
- AGARWAL, C.; CHEN, W.; COYNE, C.; VANDERMARK, G. Identifying sources of resistance in chickpea to seed rot and seedling damping-off caused by metalaxyl-resistant *Pythium ultimum*. *Crop Science*, v. 61, p. 1739-1748, 2021. <https://doi.org/10.1002/csc2.20424>.
- AVANZATO, M.V.; RUPE, J.C. Role of soybean seed exudates in cultivar resistance to *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology*, v. 101, (6S): S11, 2011. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2011.101.6.S1>
- BAHRY, C.A.; PERBONI, A.T.; NARDINO, M.; ZIMMER, P.D. Physiological quality and imbibitions of soybean seeds with contrasting coats. *Revista Ciência Agronômica*, v. 48, p. 125-133, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170014>.
- BALK, C.S. Assessment of resistance in soybean to *Pythium ultimum* and sensitivity of Ohio's diverse *Pythium* species towards metalaxyl. Master Thesis, The Ohio State University, 2014.
- BATES, G.D.; ROTHROCK, C.S.; RUPE, J.C. Resistance of the soybean cultivar Archer to *Pythium* damping-off and root rot caused by several *Pythium* spp. *Plant Disease*, v. 92, p. 763-766, 2008. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-5-0763>.
- BRANTNER, J.R.; WINDELS, C.E. Variability in sensitivity to metalaxyl *in vitro*, pathogenicity, and control of *Pythium* spp. on sugar beet. *Plant Disease*, v. 82, p. 896-899, 1998. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.8.896>
- BRASIL. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p. Disponível em:



<[https://www.abrates.org.br/files/regras\\_analise\\_de\\_sementes.pdf](https://www.abrates.org.br/files/regras_analise_de_sementes.pdf)>. Acessado em: 26 de Outubro de 2020.

- BRODERS, K.D.; LIPPS, P.E.; PAUL, P.A.; DORRANCE, A.E. Characterization of *Pythium* spp. associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. *Plant Disease*, v. 91, p.727-735, 2007. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-6-0727>
- BRODERS, K.D.; WALLHEAD, M.W.; AUSTIN, G.D.; LIPPS, P.E.; PAUL, P.A.; MULLEN, R.W.; DORRANCE, A.E. Ecology and epidemiology association of soil chemical and physical properties with *Pythium* species diversity, community composition, and disease incidence. *Plant Disease*, v. 99, p. 957-967, 2009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-8-0957>
- CAROLAN, K.; HELPS, J.; VAN DEN BERG, F.; BAIN, R., PAVELEY, N.; VAN DEN BOSCH. Extending the durability of cultivar resistance by limiting epidemic growth rates. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 284, 2017. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0828>
- COOK, R.J.; ZHANG, B.X. Degrees of sensitivity to metalaxyl within the *Pythium* spp. pathogenic to wheat in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, v. 69, p. 686-688, 1985..
- CHO, W.D.; ASHIN, H.D. *List of plant diseases in Korea*. Fourth edition. Korean Society of Plant Pathology, 2004. 779 p.
- CLEVINGER, E.M.; BIYASHEV, R.; LERCH-OLSON, E.; YU, H.; QUIGLEY, C.; SONG, Q.; DORRANCE, A.E.; ROBERTSON, AE.; MAROOF, A.S. Identification of quantitative resistance loci toward four *Pythium* species in soybean. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, 644746, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.644746>.
- COSTAMILAN, L.M.; CLEBSCH, C.C.; SOARES, R.M.; SEIXAS, C.D.S.; GODOY, C.V.; DORRANCE A.E. Pathogenic diversity of *Phytophthora sojae* pathotypes from Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 135, p. 845–853, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0128-9>
- DAN L.G.M.; DAN, A.H.; BARROSO, A.L.L.; BRACCINI, A.L. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 32, p. 131-139, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200016>.
- DENG, Z.; HARBAUGH, B.K.; KELLY, R.O.; SEIJO, T.; MCGOVERN, R.J. Screening for resistance to *Pythium* root rot among twenty-three caladium cultivars. *HortTechnology*, v. 15, p. 631–634, 2005. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.15.3.0631>
- DORRANCE, A.E.; MCCLURE, S.A. Beneficial effects of fungicide seed treatments for soybean cultivars with partial resistance to *Phytophthora sojae*. *Plant Disease*, v. 85, p. 1063-1068, 2001. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.10.1063>

- DORRANCE, A.E.; BERRY, S.A.; LIPPS, P.E. Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *Plant Health Progress*, 2004. <https://doi.org/10.1094/PHP-2004-0202-01-RS>
- DORRANCE, A.E.; MILLS, D.; ROBERTSON, A. E.; DRAPER, M. A.; GIESLER, L.; TENUTA, A. Phytophthora root and stem rot of soybean. *The Plant Health Instructor*, 2007. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2007-0830-07>,
- DORRANCE, A.E.; BERRY, S.A.; TERRY, R.A.; MEHARG, C. Isolation, storage, pathotype characterization, and evaluation of resistance for *Phytophthora sojae* in soybean. *Plant Health Progress*, 2008. <https://doi.org/10.1094/PHP-2008-0118-01-DG>
- ELLIS, M.L.; MCHALE, L.K.; PAUL, P.A.; ST. MARTIN, S.K; DORRANCE, A.E. Soybean germplasm resistant to *Pythium irregulare* and molecular mapping of resistance quantitative trait loci derived from the soybean accession PI 424354. *Crop Science*, v. 53, p. 1008–1021, 2013. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.08.0461>
- FESSEL, S.A.; MENDONÇA, E.A.F.; CARVALHO, R.V.; VIEIRA, R.D. Efeito do tratamento químico sobre a conservação de sementes de milho durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 25, p. 25-28, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222003000100005>
- FENILLE, R.C.; DE SOUZA, N.L; KURAMAE, E.E. Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with soybean in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 108, p. 783–792, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000400011>
- FENG, H.; CHEN, J.; YU, Z.; LI, K.; LI, Z.; LI, Y.; SUN, Z.; WANG, Y.; YE, W.; ZHENG, X. Pathogenicity and fungicide sensitivity of *Pythium* and *Phytophthora* spp. associated with soybean in the Huang-Huai region of China. *Plant Pathology*, v. 69, p. 1083-1092, 2020. <https://doi.org/10.1111/ppa.13187>
- FORZZA, R.C. *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- GASPAR, A.P.; MITCHELL, P.D.; CONLEY, S.P. Economic risk and profitability of soybean fungicide and insecticide seed treatments at reduced seeding rates. *Crop Science*, v. 55, p. 924–933, 2015. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.02.0114>
- GIESLER, L.J.; MILLER, J.J. *Seed treatment fungicides for soybeans*. NebGuide: Nebraska Extension., 2017. Disponível em: <<https://extensionpublications.unl.edu/assets/html/g1852/build/g1852.htm>>. Acessado em: 20 de Junho de 2021.
- GRIJALBA, P.E.; RIDAO DEL, A.C. Chemical control of *Pythium* spp. in soybean seedlings. *La Revista de Investigaciones Agropecuarias*, v. 42, 2017. Disponível

em: <[http://ria.inta.gov.ar/sites/default/files/trabajosenprensa/grijalbalba-ingles\\_biblio.pdf](http://ria.inta.gov.ar/sites/default/files/trabajosenprensa/grijalbalba-ingles_biblio.pdf)>. Acessado em: 30 de Outubro de 2020.

HO, H. The taxonomy and biology of *Phytophthora* and *Pythium*. *Journal of Bacteriology & Mycology*, v. 6, p. 40-45, 2008. <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2018.06.00174>

HUDGE, B.V. Management of damping-off disease of soybean caused by *Pythium ultimum* Trow. *International Journal of Current Microbiology Applied Science*. v. 4, p. 799-808, 2015.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. *Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa*, 2020. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acessado em: 20 de Março de 2020.

KAISER, W.J.; HANNAN, R. Seed treatment fungicides for control of seedborne *Ascochyta lentis* on Lentil. *Plant Disease*, v. 71, p. 58-62, 1987. <https://doi.org/10.1094/PD-71-0058>

KASTER, M.; FARIAS, J.R.B. *Regionalização dos Testes de Valor de Cultivo e Uso e da Indicação de Cultivares de Soja – Terceira aproximação*. Embrapa Soja: Londrina, PR, 2012. 69 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54939/1/Doc-330-OL1.pdf> Acessado em: 24 de Janeiro de 2022.

KIRKPATRICK, M.T.; ROTHROCK, C.S.; RUPE, J.C.; GBUR, E.E. The effect of *Pythium ultimum* and soil flooding on two soybean cultivars. *Plant Disease*, v. 90, p. 597-602, 2006. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0597>.

KLEPADLO, M.; BALK, C.S.; VUONG, T.D.; DORRANCE, A.E.; NGUYEN, H.T. Molecular characterization of genomic regions for resistance to *Pythium ultimum* var. *ultimum* in the soybean cultivar Magellan. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 132, p. 405-417, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3228-x>.

KRAFT, J.M. The influence of seedling exudates on the resistance of peas to *Fusarium* and *Pythium* root rot. *Phytopathology*, v. 64, p. 190-193, 1974. <https://doi.org/10.1094/Phyto-64-190>.

KUHLAN, M.K.; DADLANI, M.; SAMUEL, D.V. Seed coat properties and longevity of soybean seeds. *Journal of New Seeds*, v. 11, p. 239-249, 2010. <https://doi.org/10.1080/1522886X.2010.497960>.

KULL, L.S.; VUONG, T.D.; POWERS, K.S.; ESKRIDGE, K.M.; STEADMAN, J.R.; HARTMAN, G.L. Evaluation of resistance screening methods for Sclerotinia stem rot of soybean and dry bean. *Plant Disease*, v. 87, p. 1471-1476, 2003. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.12.1471>.

LASCA, C.C.; VECHIATO, M.H.; FANTIN, G.M.; KOHARA, E.Y. Efeito do tratamento químico de sementes de milho sobre a emergência e a produção. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, p. 461-468, 2005. Disponível

em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v72\\_4/lasca.PDF](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v72_4/lasca.PDF)>.  
Acessado em: 26 de Outubro de 2020.

- LAMICHHANE, J.R. Parsimonious use of pesticide-treated seeds: an integrated pest management framework. *Trends in Plant Science*, v. 25, p. 1070-1073, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.08.002>
- LAMICHHANE, J.R.; YOU, M.P.; LAUDINOT, V.; BARBETTI, M.J.; AUBERTOT, J. Revisiting sustainability of fungicide seed treatments for field crops. *Plant Disease*, v. 104, p. 610-623, 2020. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-19-1157-FE>
- LAMICHHANE, J.R.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; KUDSK, P.; MESSÉAN, A. Toward a reduced reliance on conventional pesticides in European agriculture. *Plant Disease*, v. 100, p. 10-24, 2016. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0574-FE>
- LERCH-OLSON, E.R.; DORRANCE, A.E.; ROBERTSON, A.E. Resistance of the SoyNAM parents to seed and root rot caused by four *Pythium* species. *Plant Disease*, v. 104, p. 2489-2497, 2020. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2237-RE>
- LIN, F.; WANI, S.H.; COLLINS, P.J.; WEN, Z.; GU, C.; CHILVERS, M.I.; WANG, D. Mapping quantitative trait loci for tolerance to *Pythium irregulare* in soybean (*Glycine max* L.). *G3 (Bethesda)*, v. 8, p. 3155-3161, 2018. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200368>.
- LUCAS, B.; GRIFFITHS, P.D. Evaluation of common bean accessions for resistance to *Pythium ultimum*. *HortScience*, v. 39, p. 1193-1195, 2004. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.644746>.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, p. 176-177, 1992. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- MARTIN, F.N.; LOPER, J.E. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 18, p.111-181, 1999. <https://doi.org/10.1080/07352689991309216>
- MATERA, T.C.; PEREIRA, L.C.; BRACCINI, A.L.; KRYZANOWSKI, F.C.; SCAPIM, C.A.; PIANA, S.C.; MARTELI, D.C.; PEREIRA, R.C.; FERRI, G.C.; SUZUKAWA, A.K. Accelerated aging test and its relationship to physiological potential of soybean seeds. *Journal of Seed Science*, v.41, p. 301-308, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v41n3212746>
- MATTHIESEN, R.L.; AHMAD, A.A.; ROBERTSON, A.E. Temperature affects aggressiveness and fungicide sensitivity of four *Pythium* spp. That cause soybean and corn damping off in Iowa. *Plant Disease*, v. 100, p. 583–591, 2016. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-15-0487-RE>

- MENDES, M.A.S.; DA SILVA, V.L.; DIANESE, J.C; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N.;; URBEN, A.F.; CASTRO, C. *Fungos em Plantas no Brasil*. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasilia, 1998, 555 p.
- MERTZ, L.A.; HENNING, F.A.; CRUZ, H.L.; MENEGHELLO, G.E.; FERRARI, C.S.; ZIMMER, P.D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 31, p. 23-29, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000100003>.
- MIAO, J.; LIU, X.; DU, X.; LI, G.; LI, C.; ZHAO, D.; LIU, X. Sensitivity of *Pythium* spp. and *Phytophthora* spp. and tolerance mechanism of *Pythium* spp. to oxathiapiprolin. *Pest Management Science*, v. 76, p. 3975–3981, 2020. <https://doi.org/10.1002/ps.5946>
- MIGLIORINI, P.; MILANESI, P.M.; MEZZOMO, R.; MACIEL, C.G.; MUNIZ, M.F.B. *Fusarium solani* and *F. oxysporum*: etiological agents of damping-off in Crambe. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 13, 2018.
- MIRANDA, M.L.; PIRES-ZONTTARELLI, C.L.A. Oomicetos do Parque Estadual da Serra da Cantareira, São Paulo, SP, Brasil. *Hoehnea*, v. 39, p. 95–112, 2012.
- MOLIN, C., RIBEIRO, N.R., MATSUMOTO, M.N., GIASSON, N.F., BROLLO, J., ZANARDO, B.; PELISSONI, M.; CAPITANIO, S.; COMIN, T. DEUNER, C.C.; HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Damping-off of soybean in southern Brazil can be associated with different species of *Globisporangium* spp. and *Pythium* spp. *Plant Pathology*, v. 70, p. 1686-1694, 2021. <https://doi.org/10.1111/ppa.13397>.
- MOLIN, C., RIBEIRO, N.R., MATSUMOTO, M.N., LUTKEMEYER, A.J., BORDIGNON, K.B., FERREIRA, M.L., BARBIERI, M.; DEUNER, C.C.; HUZAR-NOVAKOWISKI. Seed treatment for controlling damping-off caused by *Globisporangium irregulare* and *Globisporangium ultimum* var. *sporangiferum* in soybean from southern Brazil, *Crop Protection*, v. 149, 105782, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105782>.
- MOORMAN, G.W.; KANG, S.; GEISER, D.M.; KIM, S.H. Identification and characterization of *Pythium* species associated with greenhouse floral crops in Pennsylvania. *Plant Disease*, v. 86, p. 1227-1231, 2002. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.11.1227>
- NOEL, Z.A.; WANG, J.; CHILVERS, M.I. Significant influence of EC<sub>50</sub> estimation by model choice and EC<sub>50</sub> type. *Plant Disease*, v. 102, p. 708-714, 2018. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-17-0873-SR>
- OKUBARA, P.A.; DICKMAN, M.B.; BLECHL, A.E. Molecular and genetic aspects of controlling the soilborne necrotrophic pathogens *Rhizoctonia* and *Pythium*. *Plant Science*, v. 228, p. 61-70, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.02.001>

- OTTO-HANSON, L.; STEADMAN, J.R.; HIGGINS, R.; ESKRIDGE, K.M. Variation in *Sclerotinia sclerotiorum* bean isolates from multisite resistance screening locations. *Plant Disease*, v. 95, p. 1370-1377, 2011. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-10-0865>.
- PATEKOSKI, K.S.; PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. Patogenicidade de *Pythium aphanidermatum* a alface cultivada em hidroponia e seu biocontrole com *Trichoderma*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, p. 805-810, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000800005>
- PINTO, Z.V.; CIPRIANO, M.A.P.; GALVÃO, J.A.H.; BETTIOL, W.; PATRÍCIO, F.R.A.; SANTOS, A.S. Podridão de raízes causada por *Pythium aphanidermatum*, em cultivares de alface produzidas em sistema hidropônico. *Summa Phytopathologica*, v. 37, p. 180-186, 2011.
- POLETTO, I.; MUNIZ, M.F.B.; CECONI, D.E.; WEBER, M.N.D.; BLUME, E. Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em ervais no Rio Grande do Sul. *Ciência Florestal*, v. 17, p. 65-69, 2007. <https://doi.org/10.5902/198050981936>
- RADMER, L.; ANDERSON, G.; MALVICK, D.M.; KURLE, J.E.; RENDAHL, A.; MALLIK, A. *Pythium*, *Phytophthora*, and *Phytopythium* spp. associated with soybean in Minnesota, their relative aggressiveness on soybean and corn, and their sensitivity to seed treatment fungicides. *Plant Disease*, v. 101, p. 62-72, 2017. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-16-0196-RE>
- RANDALL, E.; YOUNG, V.; SIEROTZKI, H.; SCALLIET, G.; BIRCH, P.R.J.; COOKE, D.E.L.; CSUKAI, M.; WHISSON, S.C. Sequence diversity in the large subunit of RNA polymerase I contributes to mefenoxam insensitivity in *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant Pathology*, v. 15, p. 664-676, 2014. <https://doi.org/10.1111/mpp.12124>
- REIS, E.M.; REIS, A.C.; CARMONA, M.A. *Manual de Fungicidas: guia para controle químico racional de doenças de plantas*. (8 ed.). Passo Fundo. Ed: Universidade de Passo Fundo, 2019, 246 p.
- RIBEIRO DO VALE, F.X.; PARLEVLIT, J.E.; ZAMBOLIN, L. Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, v. 26, p. 577-589, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000300001>.
- RIOS, T.L.; ROCHA, J.R.S. Potencial patogênico de espécies do complexo *Pythium* (oomycota) para a agricultura familiar no estado do Piauí. *Pesquisa Botânica*, v. 71, p. 147-158, 2018.
- ROBIDEAU, G.P.; DE COCK, A.W.; COFFEY, M.D.; VOGLMAYR, H.; BROUWER, H.; BALA, K.; CHITTY, D.W.; DESAULNIERS, N.; EGGERTSON, Q.A.; GACHON, C.M.M.; HU, C.; KUPPER, F.C.; RINTOUL, T.L.; SARHAN, E.; VERSTAPPEN, E.C.P.; ZHANG, Y.; BONANTS, P.J.M.; RISTAINO, J.B.; LEVESQUE, C.A. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and cytochrome c oxidase subunit I and

internal transcribed spacer. *Molecular Ecology Resources*, v. 11, p. 1002–1011, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03041>

ROD, K.S.; WALKER, D.R.; BRADLEY, C.A. Evaluation of major ancestors of North American soybean cultivars for resistance to three *Pythium* species that cause seedling blight. *Plant Disease*, v. 102, p. 2241-2252, 2018. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1341-RE>.

ROSSMAN, D.R.; BYRNE, A.M.; CHILVERS, M.I. Profitability and efficacy of soybean seed treatment in Michigan. *Crop Protection*, v. 114, p. 44-52, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.003>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acessado em: 26 de Outubro de 2020.

ROSSO, M.L.; RUPE, J.C.; CHEN, P.; MOZZONI, L.A. Inheritance and genetic mapping of resistance to *Pythium* damping-off caused by *Pythium aphanidermatum* in ‘Archer’ soybean. *Crop Science*, v. 48, p. 2215-2222, 2008.. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.01.0035>

SINGH, M.; MERSIE, W.; BRLANSKY, R.H. Phytotoxicity of the fungicide metalaxyl and its optical isomers. *Plant Disease*, v. 87, p. 1144-1147, 2003, <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.9.1144>

SYNGENTA. *Apron RFC*, 2021a. Disponível em: <[https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/apron\\_rfc\\_2.pdf?token=1601317257](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/zhg256/f/apron_rfc_2.pdf?token=1601317257)>. Acessado em: 05 de Maio de 2021.

SYNGENTA. *Apron XL*, 2021b Disponível em: <[https://www.syngenta-us.com/current-label/apron\\_xl](https://www.syngenta-us.com/current-label/apron_xl)>. Acessado em: 05 de Maio de 2021.

SCHROEDER, K.L.; MARTIN, F.N.; DE COCK; A.W.A.M.; LEVESQUE, C.A.; SPIES, C.F.J.; OKUBARA, P.A.; PAULITZ, T.C. Molecular detection and quantification of *Pythium* species: evolving taxonomy, new tools, and challenges. *Plant Disease*, 97, 4–20, 2013. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0243-FE>

TAYLOR, R.J.; SALAS, B.; SECOR, G.A.; RIVERA, V.; GUDMESTAD, N.C. Sensitivity of North American isolates of *Phytophthora erythroseptica* and *Pythium ultimum* to mefenoxam (metalaxyl). *Plant Disease*, v. 86, p. 797-802, 2002. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.7.797>

TSAO, P.H.; GUY, S.O. Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora*-isolation medium containing hymexazol. *Phytopathology*, v. 67, p. 796-801, 1977.

URREA, K.; RUPE, J.; CHEN, P.; ROTHROCK, C.S. Characterization of seed rot resistance to *Pythium aphanidermatum* in soybean. *Crop Science*, v. 57, p. 1394-1403, 2017. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.08.0669>.

- USDA. United States Department of Agriculture. *Oilseeds: world markets and trade*, 2022. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/oilseeds-world-markets-and-trade>>. Acessado em: 24 de Janeiro de 2022.
- UZUHASHI, S.; TOJO, M.; KAKISHIMA, M. Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. *Mycoscience*, v. 51, p. 337–365, 2010. <https://doi.org/10.1007/S10267-010-0046-7>
- WATERHOUSE, G.M. The genus *Pythium*. Diagnoses (or descriptions) and figures from the original papers. *Mycol. Pap.*, v. 110, p. 1-50, 1968.
- WEILAND, J.E.; SANTAMARIA, L.; GRÜNWARD, N.J. Sensitivity of *Pythium irregulare*, *P. sylvaticum*, and *P. ultimum* from forest nurseries to mefenoxam and fosetyl-Al, and control of *Pythium* damping-off. *Plant Disease*, v. 98, p. 937-942, 2014. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-0998-RE>
- WHITE, D.J., CHEN, W., SCHROEDER, K.L. Assessing the contribution of ethaboxam in seed treatment cocktails for the management of metalaxyl-resistant *Pythium ultimum* var. *ultimum* in Pacific Northwest spring wheat production. *Crop Protection*, v. 115, p. 7-12, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.026>
- YANAR, Y., LIPPS, P.E.; DEEP, E.I.W. Effect of soil saturation duration and soil water content on root rot of maize caused by *Pythium arrhenomanes*. *Plant Disease*, v. 81, p. 475-480, 1997. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.5.475>
- YOU, X.D.; ZHAO, H.; TOJO, M. First report of *Pythium irregulare* causing damping-off on soybean in Japan. *Plant Disease*, v. 103, 2696, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2247-PDN>
- ZILLI, J.E.; RIBEIRO, K.G.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, p. 917-923, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000400016>
- ZITNICK-ANDERSON, K.K.; NELSON, B.D. Identification and pathogenicity of *Pythium* on soybean in North Dakota. *Plant Disease*, v. 99, p. 31–38, 2015. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0161-RE>
- ZHU, Y.; LI, G.; SINGH, J.; KHAN, A.; FAZIO, G.; SALTZGIVER, M.; ZIA, R. Laccase directed lignification is one of the major processes associated with the defense response against *Pythium ultimum* infection in apple roots. *Frontiers of Plant Science*, v. 12, 629776, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.629776>.



