**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Componentes monocíclicos e quantificação de danos no
patossistema *Corynespora cassiicola* - soja**

Renata Moreschi Mesquini

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2012**

Renata Moreschi Mesquini
Engenheira agrônoma

Componentes monocíclicos e quantificação de danos no patossistema
***Corynespora cassiicola* - soja**

Orientador:
Prof. Dr. **ARMANDO BERGAMIN FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Mesquini, Renata Moreschi

Componentes monocíclicos e quantificação de danos no patossistema *Corynespora cassiicola* - soja / Renata Moreschi Mesquini.- - Piracicaba, 2012.
92 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Doenças de plantas 2. Mancha alvo 3. Molhamento foliar 4. Produtividade
5. Severidade 6. Soja 7. Temperatura I. Título

CDD 633.34
M582c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Márcia e Milton Mesquini

Dedico

Aos meus irmãos Renan e Rachel

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Armando Bergamin Filho pela orientação, sugestões, objetividade e ensinamentos.

À Dra. Cláudia Godoy, por ter proporcionado a realização deste trabalho contribuindo com a sugestão do assunto, pelo total suporte nos experimentos no campo e correção do texto.

Aos funcionários da Embrapa Soja, Allan Flausino e Angelo Mônico que muito contribuíram nos experimentos no campo, e aos estagiários, Silvander, Daiane, Cristian Rafael e Tamires pelo auxílio na coleta das amostras.

À Professora Dra. Lilian Amorim pelas sugestões nas análises dos dados.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP pelos conhecimentos compartilhados ao longo do curso.

Aos colegas dos laboratórios de Epidemiologia e Fisiologia do Parasitismo pela convivência e bons momentos compartilhados, em especial às amigas Ana Raquel Soares Coletti, Caroline Rabelo, Dalilla Rezende, Juliana Baggio, Paula Panosso e Simone Brand pela grande amizade construída.

À Silvia Afonseca pela ajuda com materias e equipamentos para a realização dos experimentos.

Ao Professor Dr. Francisco Tanaka e ao técnico Renato Salaroli pelo auxílio e sugestões no preparo das amostras de microscopia eletrônica.

À secretária da Pós-graduação Fabiana Wolak pela ajuda e esclarecimentos durante o curso.

Às amigas fitopatologistas, Dra. Kátia Schwan-Estrada e Dra. Maria Isabel Balbi Peña pela amizade e apoio desde o início da iniciação científica.

À Professora Andréia Poppi Maia pela revisão do Abstract

À Fundação de Apoio ao Amparo a Pesquisa (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos.

Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 A cultura da soja.....	19
2.1.1 Histórico e características da cultura.....	19
2.1.2 Importância econômica	20
2.2 Mancha- alvo da soja	21
2.2.1 Histórico e importância.....	21
2.2.2 Etiologia.....	21
2.2.3 Sintomatologia.....	22
2.2.4 Ciclo da doença e epidemiologia.....	23
2.2.5 Estratégias de controle.....	24
2.3 Doença e sua relação com as variáveis ambientais.....	25
2.4. Quantificação de danos através da área foliar fotossintetizante	26
2.5 Estudos com <i>Corynespora cassicola</i> na cultura da soja	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Ensaio <i>in vitro</i>	29
3.1.1 Obtenção e cultivo dos isolados de <i>Corynespora cassicola</i>	29
3.1.2 Efeito da temperatura no crescimento micelial de diferentes isolados de <i>Corynespora cassicola</i>	29
3.1.3 Esporulação de diferentes isolados de <i>Corynespora cassicola</i> em dois meios de cultura.....	30
3.2 Germinação de conídios de <i>Corynespora cassicola</i> em diferentes períodos de molhamento foliar avaliados com o microscópio eletrônico de varredura	30
3.3 Ensaio em ambiente controlado	31
3.3.1 Influência da temperatura no monociclo da mancha-alvo da soja.....	31

3.3.2 Influência do molhamento foliar no monociclo da mancha-alvo da soja	33
3.4 Quantificação de danos em condições de campo	33
3.4.1 Instalação do experimento	33
3.4.2 Obtenção de gradiente de doença	34
3.4.3 Avaliação da mancha-alvo	35
3.4.4 Avaliação da área foliar e obtenção do LAI, HLAI, AULIAPC, NDVI, HAD e HAA	36
3.4.5 Avaliação da produtividade	37
3.4.6 Dados climáticos	37
3.4.7 Análise dos dados	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Efeito da temperatura no crescimento micelial de diferentes isolados de <i>Corynespora cassiicola</i>	39
4.2 Esporulação de diferentes isolados <i>Corynespora cassiicola</i> em dois meios de cultura	45
4.3 Germinação de conídios em diferentes períodos de molhamento foliar avaliados com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura	47
4.4 Influência da temperatura e molhamento foliar no monociclo da mancha-alvo da soja	50
4.5 Quantificação de danos em condições de campo	60
4.5.1 Condições climáticas	60
4.5.2 Severidade e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) x produtividade	62
4.5.3 Índice de área foliar (LAI), índice de área foliar sadia (HLAI), área abaixo da curva de progresso do índice de área foliar sadia (AULAIPC) e índice vegetativo da diferença normalizada (NDVI) x produtividade	67
4.5.4 HAD e HAA x produtividade	74
5 CONCLUSÕES GERAIS	79
REFERÊNCIAS	81
APÊNDICES	89

RESUMO

Componentes monocíclicos e quantificação de danos no patossistema *Corynespora cassiicola* - soja

A soja é a cultura de grãos mais importante no Brasil. Na safra de 2010/11 ocupou uma área de 24 milhões de hectares, se destacando como principal oleaginosa produzida e consumida no mundo. Alguns fatores podem limitar a produção da soja, entre eles as doenças. A mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*) é frequente nas em todas as regiões produtoras de soja no Brasil e nos últimos anos tem se atribuído prejuízos crescentes à doença. Os objetivos deste trabalho foram: determinar a faixa ideal de temperatura para o crescimento micelial de diferentes isolados de *C. cassiicola*; verificar a esporulação em função do meio de cultura; avaliar a germinação de conídios sob diferentes períodos de molhamento foliar; estudar o efeito da temperatura e molhamento foliar nos componentes monocíclicos e realizar estudos de quantificação de danos. Para avaliar o efeito da temperatura no crescimento micelial, diferentes isolados foram mantidos nas temperaturas de 5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. A temperatura mínima e máxima estimada pela função beta generalizada para o crescimento micelial foi de 6,9°C e 33°C, respectivamente. A esporulação foi estudada nos meios de cultura BDA e Czapek. Os dados obtidos foram comparados por meio do teste Scott-Knott ($P < 0,05$). A produção de conídios foi variável em função do isolado, tanto em meio BDA como Czapek. O ensaio de germinação foi feito em folhas de soja utilizando-se diferentes períodos de molhamento foliar (2, 6, 12, 24, 48 e 72 horas). A contagem de conídios germinados foi feita em microscópio eletrônico de varredura. A germinação de conídios na superfície das folhas foi verificada a partir do período de 6 horas. Para o estudo dos componentes monocíclicos as temperaturas testadas foram 10°C, 15°C, 20°C, 25 °C e 30°C e os períodos de molhamento foliar foram 12, 24, 48 e 72 horas. As variáveis quantificadas foram a severidade, o número e o diâmetro das lesões. Os dados foram ajustados às funções beta generalizada e monomolecular. A temperatura mínima, máxima e ótima capazes de promover o desenvolvimento da mancha-alvo foram de 18°C, 32°C e 27°C, respectivamente. O período de molhamento foliar de 48 horas resultou em maior desenvolvimento da doença. No ensaio de quantificação de danos, cultivares comerciais foram semeadas em duas épocas. Os componentes avaliados em campo foram: a severidade, a área foliar, o índice vegetativo da diferença normalizada (NDVI) e a produtividade (kg ha^{-1}). Com o uso destes dados foram calculadas a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a área abaixo da curva de progresso do índice de área foliar (AULIAPC), o índice de área foliar (LAI), o índice de área foliar sadia (HLAI), a duração da área foliar sadia (HAD) e a absorção da área foliar sadia (HAA). Neste ensaio verificou-se que valores de severidade de até 37% no dossel inferior não causam danos no patossistema *C.cassicola* - soja. As variáveis HLAI e AULAIPC se correlacionaram com a produtividade e podem ser úteis para estudos futuros de quantificação de danos para este patossistema.

Palavras-chave: Temperatura; Molhamento foliar; Produtividade; Severidade; Mancha-alvo

ABSTRACT

Monocyclic components and damage quantification of *Corynespora cassiicola* - soybean pathosystem

Soybean is the most important grain crop in Brazil. The production of 2010/11 occupied an area of 24 million hectares, becoming the most important oilseed produced and consumed worldwide. Some factors, such as diseases, may limit soybean production. The target spot caused by *Corynespora cassiicola* is frequent in all soybean producing regions in Brazil and in the past years, an increasing loss has been assigned to it. The aims of the present study were to determine the ideal temperature range for mycelial growth of different isolates of *C. cassiicola*; verify the sporulation in relation to the culture medium; evaluate the conidia germination under different periods of leaf wetness; study the effect of the temperature and the leaf wetness on the monocyclic components and carry out studies of crop loss in the field. In order to evaluate the effect of the temperature on the mycelial growth, different isolates were cultivated at the temperatures of 5 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C and 35 °C. The minimum and maximum estimated temperature by the beta function to provide *C. cassiicola* mycelial growth was 6.9 °C and 33 °C, respectively. The sporulation was analyzed in PDA and Czapek culture media. The results obtained were compared through the Scott-Knott test ($P < 0.05$). The conidia production varied according to each isolate on both PDA and Czapek medias. The germination test was carried out in soybean leaves using different leaf wetness periods (0, 12, 24, 48 and 72 hours). The germinated conidia measurement was done in a scanning electron microscope. The conidia germination on the leaves surface was observed from 6 hours. The temperatures used to study the monocyclic components were 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C and 30 °C and the leaf wetness periods were 12, 24, 48 and 72 hours. The variables quantified were severity, number and diameter of lesions. The data were adjusted to the generalized beta and monomolecular functions. The minimum, maximum and optimum temperature able to promote the development of target spot in soybean leaves were 18 °C, 32 °C and 27 °C, respectively. The 48-hour leaf wetness resulted in greater development of the disease. For damage quantification, commercial cultivars were sown in two sowing times. The components evaluated in the field were: severity, leaf area, normalized difference vegetation index (NDVI) and grain yield (kg ha^{-1}). Using these data, it was calculated the area under disease progress curve (AUDPC), area under the leaf area index progress curve (AULIAPC), leaf area index (LAI), healthy leaf area index (HLAI), healthy area duration (HAD) and healthy area absorption area (HAA). The severity values up to 37% in the lower canopy do not cause crop loss in *C. cassiicola* - soybean pathosystem. The variables HLAI and AULAIPC correlated with grain yield and may be useful for future studies of crop loss for this pathosystem.

Keywords: Temperature; Leaf wetness; Grain Yield; Severity; Target Spot

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é originária do sudoeste asiático e há relatos de seu cultivo há mais de 6 ou 7 mil anos na China. Esta leguminosa pertence a família das Fabaceas (GOMES, 1990) e é uma espécie que possui ampla adaptabilidade a diferentes latitudes e condições climáticas podendo ser cultivada em diversos campos de produção no mundo. O desenvolvimento de variedades adequadas às diferentes regiões tem sido um dos principais fatores responsáveis pelo sucesso da cultura no Brasil.

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, sendo superado apenas pelos Estados Unidos. Na safra de 2009/2010, no Brasil, a área de soja foi de 23,06 milhões de hectares, o que corresponde a um crescimento de 6,1%, ou 1,32 milhão de hectares superior à da safra 2008/2009, quando foram cultivados 21,74 milhões de hectares. A produção total foi estimada em 69,7 milhões de toneladas e a produtividade foi de 2.941 kg ha⁻¹ (CONAB, 2010).

A soja é uma excelente fonte de nutrientes, o que contribui para que tenha condição para ocupar uma posição de destaque na indústria de alimentos. (CÂMARA, 2000).

O fungo *Corynespora cassiicola* foi constatado pela primeira vez por Deighton em Serra Leoa na cultura da seringueira em 1936 (KINGSLAND, 1986). No Brasil, a mancha-alvo foi relatada em soja pela primeira vez no Estado do Paraná e posteriormente no Estado de São Paulo (ALMEIDA et al., 1976). O fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curtis) Weir é classificado no Filo Ascomycota (AGRIOS, 2005). O patógeno produz conidióforos eretos, ramificados e conídios com dimensão de 4-11 x 44-135 µm (SNOW & BERGGREN, 1989). O patógeno tem crescimento rápido e esporula nos meios de cultura BDA (batata-dextrose-agar), Czapek e V8 (SINCLAIR, 1982). A faixa de temperatura para o crescimento micelial é de 18-21°C, embora alguns isolados crescem melhor sob a temperatura de 28°C (SINCLAIR, 1982).

Os sintomas característicos da mancha-alvo em folhas têm início com pequenos pontos com halo amarelo que crescem até 2 cm de diâmetro tornando-se circulares, de coloração castanho-claro a castanho-escuro. O nome da doença se deve às pontuações mais escuras no centro e com halo amarelo ao redor, o que lembra o formato de um alvo. Desfolha precoce pode ocorrer em cultivares suscetíveis, assim como apodrecimento das vagens e intensas manchas nas hastes.

Por ser um patógeno necrotrófico, o fungo sobrevive em restos culturais, além de plantas voluntárias, em sementes e em hospedeiros alternativos. A disseminação ocorre principalmente pelo vento e também por gotas de chuva (ALMEIDA et al., 2005). O prolongado molhamento foliar auxilia o desenvolvimento da infecção. Os primeiros sintomas de mancha-alvo em soja aparecem 5 a 7 dias após a penetração, quando submetidas a temperatura de 20 a 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (AGRIOS, 1988). O fungo produz esporos nas duas faces das folhas, mas são mais abundantes na face adaxial (ALMEIDA et al., 2005).

Várias estratégias são recomendadas para o controle da doença tais como: o uso de cultivares resistentes, o tratamento de sementes, a rotação/sucessão de culturas e pulverizações com fungicidas (HENNING et al., 2005). Embora não tenham sido determinados os danos, dentre as doenças que afetam a soja, a mancha-alvo merece destaque em função da visibilidade de seus sintomas.

Informações sobre danos no rendimento de culturas são a base para qualquer análise econômica de quantificação de doença. Para determinar danos na produção, pesquisadores examinaram a relação entre rendimento e severidade da doença, porém esta relação muitas vezes não apresenta resultados satisfatórios (WAGGONER; BERGER, 1987). Estes resultados podem ser explicados por alguns fatores como: a produção pode variar em cada local devido a fatores edafoclimáticos, o efeito da doença, considerada isoladamente, é diferente quando ocorre precoce ou tardiamente no ciclo da cultura, ou porque não é considerada a desfolha ou a área foliar das plantas (SQUIRE, 1990).

Waggoner e Berger (1987) defendem que a produção depende da área verde fotossintetizante da planta, sendo assim, as doenças reduzem a produção em consequência da redução na taxa fotossintética do tecido foliar fotossintético ativo. Isto explica a ausência da relação dano-doença em culturas com hábito de crescimento indeterminado, pois a produção depende da área do tecido verde e não doente (AMORIM et al., 1995; BERGAMIN FILHO et al., 1997).

Uma nova abordagem foi proposta para quantificação de danos, a qual consiste em modelos que compreendem a soma de conceitos fisiológicos e os efeitos da doença sobre a folhagem da planta hospedeira. Os parâmetros estudados são a duração da área sadia (*Healthy Area Duration* - HAD), a qual é a integral do índice de área foliar sadia da cultura durante a estação de crescimento, e a absorção da área foliar sadia (*Healthy Area Absorption* - HAA), que é a integral da

quantidade de insolação absorvida pela área foliar sadia (WAGGONER; BERGER, 1987). Estes parâmetros têm se mostrado mais eficientes para serem utilizados como preditores de rendimento, substituindo a severidade da doença (AQUINO et al., 1992; BASTIAANS, 1993; GAUNT, 1995; MADDEN ; NUTTER JUNIOR, 1995; BERGAMIN FILHO et al., 1997; JESUS JÚNIOR et al., 2001; LEITE et al., 2006). Tais estudos mostram que a utilização destes parâmetros proporciona maior entendimento das relações entre a doença e os danos ocasionadas por esta.

Os objetivos deste trabalho foram: determinar a faixa ideal de temperatura para o crescimento micelial de diferentes isolados de *C. cassiicola*; verificar a esporulação em função do meio de cultura; avaliar a germinação de conídios sob diferentes períodos de molhamento foliar; estudar o efeito da temperatura e molhamento foliar no monociclo em condições controladas e realizar estudos de quantificação de danos causados pela mancha-alvo nas cultivares comerciais BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR em condições de campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da soja

2.1.1 Histórico e características da cultura

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é originária do quente e chuvoso sudoeste asiático, onde se encontram atualmente o Vietnã, a Malásia, a Tailândia, reunidos quase totalmente numa península (GOMES, 1990).

Na América foi citada pela primeira vez, nos Estados Unidos, no início do século XIX, como promissora forrageira e produtora de grãos, tendo iniciado sua expansão em 1930. No Brasil a soja foi introduzida em 1882 na Bahia, chegando ao Estado de São Paulo em meados de 1890. O início da soja como grande cultura no Brasil, data nos anos 40, no Estado do Rio Grande do Sul. Nos anos 50, devido à ocorrência de geadas na região Sul, que dizimaram áreas cafeeiras, a soja expandiu-se pelos estados do Paraná e de São Paulo. Nos anos 60 e 70 a cultura conquistou o Centro Oeste e na década de 90, avançou para a região Norte do Brasil, finalizando o século XX, como maior cultura nacional em área cultivada (CÂMARA, 2000). A expansão da cultura no Brasil aconteceu apenas a partir da década de 70, devido ao interesse crescente da indústria de óleo a base de soja e pela demanda do mercado internacional pelos grãos e seus derivados (Embrapa, 2003).

A soja é uma planta herbácea, geralmente anual, raramente perene. É ereta ou não, protuberante. As folhas são longopecioladas, com 3 folíolos muito desenvolvidos e com abundante presença de pêlos na parte abaxial. O caule é ramoso, hispido, com 80-150 cm de comprimento. As flores são reunidas em cachos curtos, são axilares, sésseis e a coloração varia com a cultivar. As vagens levemente arqueadas têm de 1 a 5 sementes (GOMES, 1990).

A soja é uma excelente fonte de proteína e ácidos graxos, o que faz com que ocupe uma posição de destaque na produção de alimentos. Parte do consumo brasileiro não se refere de fato ao consumo da soja, mas à sua transformação em farelo e óleo. A disponibilidade de novas áreas no Brasil, principalmente nos estados do Centro Oeste, Norte e Nordeste, aliada à evolução da pesquisa agrônoma voltada para a espécie, proporcionam ao País ótimas condições para ter uma participação crescente no mercado de soja (CÂMARA, 2000).

2.1.2 Importância econômica

A soja é a grande responsável pelo surgimento da agricultura moderna e comercial brasileira, acelerando a mecanização das lavouras, permitindo a modernização do transporte e a expansão da fronteira agrícola (DALL'AGNOL, 2000).

No Brasil, a partir dos anos 1970, a produção da soja passou a ter grande relevância para o agronegócio, apresentando significativo incremento na área cultivada acompanhada pelo aumento da produtividade, reflexo da utilização de novas tecnologias. O complexo da soja compreende uma cadeia produtiva que envolve desde produção interna voltada para a exportação do produto bruto até a transformação dos grãos em farelo ou óleo para exportação ou para consumo interno (SILVA; LIMA; BATISTA, 2011).

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, sendo superado apenas pelos Estados Unidos. No Brasil, na safra 2009/2010 a área da soja foi de 23,06 milhões de hectares, o que corresponde a um crescimento de 6,1%, ou 1,32 milhão de hectares superior à da safra 2008/2009, quando foram cultivados 21,74 milhões de hectares. A produção total foi estimada em 69,7 milhões de toneladas e a produtividade foi de 2.941 kg ha⁻¹ (CONAB, 2010).

O maior Estado produtor de soja no Brasil é o Mato Grosso, com um volume estimado em 18,65 milhões de toneladas, em uma área estimada em 6,14 milhões de hectares, seguido pelo Estado do Paraná com 13,28 milhões de toneladas e do Rio Grande do Sul (8,76 milhões de toneladas).

Na safra 2010/11 foram semeadas 24,08 milhões de CONAB (2012). Este resultado corresponde a um crescimento de 2,6%, em relação à da safra 2009/10. Já a produção nacional, estimada em 68,55 milhões de toneladas, é 0,2% inferior ao volume colhido na safra anterior (CONAB, 2011). Na última safra (2011/2012) a cultura da soja apresentou uma redução de 8,7 milhões de toneladas comparada com a safra de 2010/2011, devido a condições climáticas adversas causadas pelo fenômeno "La Niña (CONAB, 2012).

No mundo, a produção total da soja foi de 264,2 milhões de toneladas na safra 2010/2011. Este volume foi reduzido para 251,1 milhões de toneladas na safra 2011/2012 (USDA, 2012).

2.2 Mancha- alvo da soja

2.2.1 Histórico e importância

O fungo *Corynespora cassiicola* foi constatado pela primeira vez em 1936 por Deighton em Serra Leoa na cultura da seringueira (KINGSLAND, 1986). A mancha-alvo em soja foi constatada pela primeira vez nos Estados Unidos em 1945 (OLIVE et al., 1945) onde os danos à produtividade foram de 5 a 32% em cultivares suscetíveis, no Estado do Mississippi, durante estações de cultivo em que foram observadas altas precipitações (HARTWIG, 1959). No Brasil, foi relatada pela primeira vez no Estado do Paraná e posteriormente no Estado de São Paulo (ALMEIDA et al., 1976). Cerca de dez anos mais tarde a doença foi detectada nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul (YORINORI, 1989).

A mancha-alvo é uma doença frequente em todas as regiões produtoras de soja do Brasil. Historicamente, esta doença causou danos ocasionais em cultivares suscetíveis, mas, a partir da safra 2005/2006, tem se atribuído prejuízos crescentes em diversas regiões, especialmente em cultivares resistentes ou tolerantes ao nematóide de cisto da soja (CASSETARI NETO; MACHADO; SILVA, 2010). Porém, no Brasil não existem estudos de danos relacionados a mancha-alvo em diferentes cultivares e localidades.

A mancha-alvo da soja pode incidir em qualquer período e estágio fenológico e depende principalmente de alta precipitação e suscetibilidade da cultivar.

2.2.2 Etiologia

O fungo *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curtis) Weir é classificado no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Dothideomycetes, Ordem Pleosporales e gênero *Corynespora* (AGRIOS, 2005). A forma sexuada da espécie ainda não é conhecida. O patógeno produz conidióforos eretos, ramificados, com até 20 septos. A dimensão dos conídios é de 4-11 x 44-135µm. Os conídios apresentam-se isolados ou em cadeia de dois a seis. A coloração é hialina a marrom, são retos ou ligeiramente curvados no ápice, cilíndricos e truncados no hilo basal (SNOW; BERGGREN, 1989). Os clamidósporos são formados em culturas mais velhas, são hialinos, de formato oval e dimensão de 16-30 por 14-20 µm. O patógeno tem crescimento rápido e esporula nos meios de cultura BDA (batata-dextrose-agar), Czapec e V8 (SINCLAIR, 1982). A temperatura ótima para o crescimento micelial é de 18-21°C. A

temperatura máxima que permite o crescimento *in vitro* é de 34-39°C e a mínima é de 5-7°C (SINCLAIR, 1982).

2.2.3 Sintomatologia

Os sintomas ocasionados pelo fungo *C.cassicola* são observados em folhas, hastes, raízes e flores em mais de 280 hospedeiros de diversos países de clima tropical e subtropical (FARR et al., 2007). Existem relatos ocasionais da presença do patógeno em regiões temperadas, particularmente na cultura da soja (MALVICK, 2004).

Os sintomas surgem como pequenos pontos com halo amarelo que crescem até 2 cm de diâmetro e tornam-se circulares de coloração castanho-claro a castanho-escuro. Desfolha prematura pode ocorrer em cultivares suscetíveis, assim como apodrecimento das vagens e intensas manchas nas hastes. O fungo pode atingir também as sementes. Na temperatura de 20°C, os sintomas são menos severos e abaixo desta temperatura não são observados sintomas (SINCLAIR, 1982).

A podridão de raiz causada pelo fungo *C. cassicola* é também comum, principalmente em áreas de semeadura direta. Os sintomas são de folhas amareladas e raízes de coloração castanho-escuro. Todavia, severas infecções em folhas, vagens e hastes geralmente não estão associadas com a podridão de raiz. Ainda não está esclarecido se a espécie do fungo que causa a mancha foliar é a mesma que infecta o sistema radicular. A ocorrência da podridão de raiz está aumentando com a expansão das áreas em semeadura direta (ALMEIDA et al., 2005).

Figura 1 - Sintomas da mancha-alvo da soja com lesões circulares de coloração castanho-escuro circundadas por halo amarelo

2.2.4 Ciclo da doença e epidemiologia

A sobrevivência de *C. cassiicola* ocorre em restos culturais, onde o patógeno sobrevive na ausência de seu hospedeiro por um período de até dois anos. Esta sobrevivência com metabolismo ativo, é caracterizada pela atividade saprofítica (KUROSAWA; PAVAN; REZENDE, 2005).

A capacidade de sobrevivência dos fungos depende do ambiente e da habilidade competitiva na ausência do hospedeiro. A longevidade do inóculo pode variar, em função destes fatores (AMORIM; PASCHOLATI, 2011). O patógeno também pode sobreviver em sementes (SINCLAIR; BACKMAN, 1989), em plantas daninhas como a trapoeraba (*Commelia benghalensis*) e assa peixe (*Vernonia polyanthes*) (CUTRIM; SILVA, 2003) e plantas alternativas como: o feijoeiro (MENDES et al., 1998), a acerola (SILVA; RODRIGUES; SOARES JÚNIOR, 1997), o algodão (FULMER et al., 2012), a seringueira e mamoeiro (YAN-XIANG et al., 2011), a alface (SANTOS et al., 2007), o tomateiro (MENDES et al., 1998, LOPES; ÁVILA, 2005), o pimentão (SHIMOMOTO et al., 2008), a abóbora, o maxixe e o quiabeiro (CUTRIM; SILVA, 2003).

A disseminação engloba os processos de liberação/remoção, dispersão/transporte e deposição do inóculo. A liberação de esporos de *C. cassiicola* ocorre de forma passiva. De acordo com Almeida et al. (2005), a disseminação dos propágulos de *C. cassiicola* ocorre principalmente pelo vento e também por gotas de chuva. Pernezny e Simone (1993) estudaram a periodicidade da liberação de esporos e evidenciaram que a maior concentração de conídios capturados no ar está relacionada ao período da manhã. Alguns autores consideram que a remoção e

a dispersão dos conídios deste patógeno são favorecidas pelo tempo seco (CASSETARI NETO; MACHADO; SILVA, 2010).

A infecção, processo que compreende o início da germinação até as relações parasitárias estáveis (AMORIM; PASCHOLATI, 2011), é favorecida por prolongado período de molhamento foliar e temperatura de 22°C a 30°C (SINCLAIR, 1982). Os conídios de *C. cassiicola*, após serem depositados na superfície do hospedeiro, fixam-se através de apressórios e emitem tubo germinativo para iniciar a penetração, a qual ocorre de forma direta através da superfície da epiderme.

A colonização, fase parasítica do organismo patogênico, é caracterizada pela retirada de nutrientes da planta hospedeira. O fungo *C. cassiicola* é um parasita necrotrófico (LAMOTTE et al., 2007; SNOW; BERGGREN, 1989), o que significa que o mesmo matam as células da planta hospedeira antes mesmo de invadi-las.

O desenvolvimento e a invasão dos tecidos ocorrem sempre pela atividade saprofítica, com retirada de nutrientes de células mortas. Estes organismos caracterizam-se por apresentar atividade enzimática e toxicogênica (AMORIM; PASCHOLATI, 2011). O fungo causador da mancha-alvo produz a toxina cassiicolin que é liberada nas células e mata os tecidos adjacentes ao local da infecção.

Os primeiros sintomas aparecem 5 a 7 dias após a penetração do fungo, quando as plantas são submetidas a temperatura de 20 a 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (AGRIOS, 1988). O fungo produz esporos nas duas faces das folhas, mas são mais abundantes na face adaxial (ALMEIDA et al., 2005).

2.2.5 Estratégias de controle

Várias estratégias são recomendadas para o controle da mancha-alvo. Entre elas estão: uso de cultivares resistentes, produção de sementes saudáveis, tratamento de sementes com fungicida carbendazim (150g L⁻¹) e tiram (350g L⁻¹) na dose de 200 mL/100kg de sementes; rotação/sucessão de culturas como o milho e outras espécies gramíneas e pulverizações com fungicidas sistêmicos (HENNING et al., 2005). No Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estão registrados 16 fungicidas para manejo da mancha-alvo entre eles estão as estrobilurinas, os triazóis e suas misturas. Os benzimidazóis e seus precursores, completam o quadro de defensivos disponíveis. Estes fungicidas também são indicados para o manejo de outras doenças na cultura da soja, como a antracnose, a ferrugem e doenças de final de ciclo. Assim seu uso no manejo de alguma destas

doenças colaboraram também no manejo da mancha-alvo (SUSSEL; ZACARONI, 2012).

2.3 Doença e sua relação com as variáveis ambientais

O desenvolvimento de uma doença é resultado da interação entre planta suscetível, agente patogênico e fatores ambientais favoráveis. O ambiente é um componente relevante nesta interação, podendo impedir a ocorrência da doença mesmo na presença de hospedeiro e patógeno (BEDENDO, 1995). Dentre os fatores ambientais, a temperatura e a umidade são os que mais influenciam no desenvolvimento de doenças.

A temperatura pode interferir tanto no hospedeiro quanto no patógeno. A influência da temperatura na quantificação dos parâmetros monocíclicos, como frequência de infecção, período latente e infeccioso e esporulação, tem sido objeto de estudo em diversos patossistemas (ZADOKS; SCHEIN, 1979).

O período de molhamento foliar consiste em um importante fator para o desenvolvimento de doenças, pois a maioria dos patógenos necessitam de água livre na superfície foliar para a germinação e penetração no hospedeiro (ZADOKS; SCHEIN, 1979). No patossistema *C.cassicola* x soja, infecções nas folhas ocorrem quando água livre está presente e a umidade relativa do ar é maior que 80 %. O clima seco inibe a infecção e colonização tanto nas folhas quanto nas raízes.

Alguns estudos referentes aos componentes monocíclicos já foram realizados na cultura da soja. Alves (2007) estudou o patossistema soja x *Phakopsora pachyrhizi* e concluiu que a temperatura influencia os parâmetros frequência de infecção, severidade e período latente. O período de molhamento foliar influencia na frequência de infecção e severidade. Para promover a infecção foi necessário um período de molhamento foliar mínimo de 6 horas. Molhamentos foliares acima de 15 horas e temperaturas próximas a 20 °C determinaram maior intensidade da ferrugem asiática da soja. Temperaturas extremas, próximas a 15°C e 30 °C ocasionaram menor intensidade da doença.

O efeito da interação temperatura e molhamento foliar sob a severidade da doença olho-de-rã (causada pelo fungo *Cercospora sojina*) foi estudado na cultura da soja. A maior intensidade da doença foi observada a 30 °C com 72 horas de molhamento foliar. Com molhamento foliar inferior a 24 horas, os sintomas da

doença não foram observados, independentemente das temperaturas testadas (CAMERA, 2012).

2.4 Quantificação de danos através da área foliar fotossintetizante

Informações sobre danos no rendimento de culturas são a base para qualquer análise econômica de quantificação de doença. Para determinar danos na produção, pesquisadores examinaram a relação entre rendimento e severidade da doença, porém esta relação muitas vezes não demonstra resultados satisfatórios (WAGGONER; BERGER, 1987). Estes resultados podem ser explicados por alguns fatores como: a produção pode variar em cada local devido a fatores edafoclimáticos, o efeito da doença, considerada isoladamente, é diferente quando ocorre precoce ou tardiamente no ciclo da cultura, ou porque não é considerada a desfolha ou a área foliar das plantas (SQUIRE, 1990). O manejo de doenças de plantas baseia-se no limiar de dano econômico. Para que este seja operacional, o modelo de quantificação de danos deve se manter válido em diferentes locais e épocas do ano (DO VALE et al., 2004).

Waggoner e Berger (1987) defendem que a produção de uma planta é resultado em grande parte da área verde fotossintetizante da planta, portanto doenças reduzem a produção em consequência da redução na taxa fotossintética através do tecido foliar fotossintético ativo. Goddwin (1992) reforça a ideia de que a redução da eficiência fotossintética de plantas lesionadas ou doentes é a principal causa na redução da produtividade da cultura. No caso de culturas com hábito de crescimento indeterminado, não é observada relação dano-doença, em função de que a produção depende da área do tecido verde (AMORIM et al., 1995; BERGAMIN FILHO et al., 1997). Já em culturas em que o número de folhas é fixo, como no caso de cereais, as áreas foliares sadia e doente são altamente relacionadas, justificando a utilização da função de dano baseada na intensidade da doença (PATAKY; HEADRICK; SUPARYONO, 1988; BISSONNETTE; DARCY; PEDERSEN, 1994).

Para a maioria das doenças foliares, a fotossíntese líquida de folhas doentes é reduzida desde a infecção do patógeno. Esta redução pode ser causada por redução na interceptação da radiação (RI), resultante da perda de área foliar fotossintetizante e/ou pela diminuição da eficiência de uso da radiação interceptada (RUE), devido à redução da taxa fotossintética do tecido verde remanescente

(alteração na difusão de CO₂ na folha, alteração da relação de solutos entre as células do hospedeiro) (JOHNSON, 1987).

Sendo assim, foi proposta para a quantificação de danos que consiste em modelos que compreendem a soma de conceitos fisiológicos e os efeitos da doença sobre a folhagem da planta hospedeira. Os parâmetros estudados são a duração da área sadia (*Healthy Area Duration*- HAD), a qual é a integral do índice de área foliar sadia da cultura durante a estação de crescimento, e a absorção da área foliar sadia (*Healthy Area Absorption*- HAA), que resulta da integral da quantidade de insolação absorvida pela área foliar sadia (WAGGONER; BERGER, 1987). Estes parâmetros tem se mostrado mais eficientes para serem utilizados como preditores de rendimento em substituição da severidade da doença (AQUINO et al., 1992; BASTIAANS, 1993; GAUNT, 1995; MADDEN; NUTTER JUNIOR, 1995; BERGAMIN FILHO et al., 1997; JESUS JÚNIOR et al., 2001; LEITE et al., 2006). Tais estudos mostram que a utilização destes parâmetros proporciona um maior entendimento das relações entre doença e danos ocasionados por doenças.

2.5 Estudos com *Corynespora cassicola* na cultura da soja

Avozani (2011) estudou a patogenicidade de cinco isolados de *C.cassicola* e concluiu que as condições ideais para o desenvolvimento da doença em casa-de-vegetação somente foram obtidas quando se adotou um conjunto de medidas como: uso de cultivar suscetível, ambiente com temperatura entre 21 a 25 °C, fotoperíodo de 12/12 horas, inoculação por aspersão, densidade de inóculo de 5×10^4 esporos mL⁻¹, umidade relativa saturada 48 horas após a inoculação e molhamento por aspersão após o aparecimento dos primeiros sintomas. A mesma autora também realizou ensaios *in vitro* para conhecer a sensibilidade do micélio de *C.cassicola* a triazóis e benzimidazóis bem como a germinação de esporos a estrubirulinas. Alguns isolados apresentam perda da sensibilidade ao ingrediente ativo carbendazim. O ingrediente ativo ciproconazol apresentou os maiores valores da CI50 entre os demais triazóis testados. A perda de sensibilidade dos isolados testados para as estrubirulinas não foi verificada.

Melo (2009) realizou experimentos *in vitro* e em casa-de-vegetação. A autora avaliou diferentes meios de cultura (BDA, Czapek, alimento infantil, mate ágar, farinha de aveia e suco V8) e combinações com a presença e ausência de luz e papel filtro para promover o crescimento micelial de *C. cassicola* isolado da soja. Os

resultados indicaram maior esporulação do fungo no meio de cultura Czapek, com luz e fotoperíodo de 12/12 horas e sobreposição de papel de filtro. Foram avaliados também a temperatura ótima e os limiares térmicos para germinação de conídios. As temperaturas estudadas foram de 6 °C até 41 °C. Constatou-se que a temperatura ótima para a germinação de conídios foi de 23°C, a mínima foi de 7°C e a máxima, de 39°C. A mesma autora ainda estudou o efeito de diferentes concentrações de inóculo na intensidade da mancha-alvo da soja. As concentrações 5×10^3 , 15×10^3 , 25×10^3 , 35×10^3 e 45×10^3 conídios.mL⁻¹ foram testadas. A concentração de 35×10^3 conídios.mL⁻¹ causou uma intensidade satisfatória de doença, podendo ser utilizada em ensaios de quantificação. O experimento em casa-de-vegetação consistiu em avaliar a reação de diferentes cultivares comerciais de soja ao fungo. A cultivar BMX Potência foi considerada a mais suscetível, apresentando maior número e diâmetro de lesões.

Seaman; Showmaker; Peterson (1969) estudaram a patogenicidade de *C. cassiicola* em soja em diferentes temperaturas. Os sintomas foram menos severos com temperaturas entre 20 °C a 25 °C. A temperatura ótima para o crescimento *in vitro* ocorreu a 20°C.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ensaios *in vitro*

3.1.1 Obtenção e cultivo dos isolados de *Corynespora cassiicola*

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, São Paulo. Isolados de *C. cassiicola* provenientes dos estados de São Paulo, Mato Grosso e Paraná foram cedidos pela Embrapa Soja (Tabela 1). Os mesmos foram mantidos em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) sob 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas.

Tabela 1 - Isolados de *Corynespora cassiicola* obtidos de plantas de soja de diferentes localidades do Brasil

Isolado	Cidade	Estado
MES 313	Nova Mutum	MT
MES 321	Gurapuava	PR
MES 629	Campo Verde	MT
MES 667	Sete Quedas	MT
MES 670	Pirassununga	SP
MES 927	Rolândia	PR
MES 928	Londrina	PR
MES 932	Londrina	PR
MES 933	Deciolândia	MT
MES 931	Mauá da Serra	PR

3.1.2 Efeito da temperatura no crescimento micelial de diferentes isolados de *Corynespora cassiicola*

Para avaliar o efeito da temperatura no crescimento das colônias, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro dos diferentes isolados foram repicados para placas contendo meio BDA. As placas foram incubadas em BOD nas temperaturas de 5 °C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C, sob fotoperíodo de 12 horas. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 10x7 (10 isolados e 7 temperaturas), com quatro repetições, onde cada placa de Petri consistiu em uma unidade experimental. O experimento foi realizado duas vezes.

As avaliações foram feitas a partir de medidas diárias do crescimento micelial dos isolados até as colônias atingirem 3/4 da placa. A partir dos dados coletados

foram estabelecidas as curvas de crescimento micelial no tempo para cada temperatura.

Os valores de Y (crescimento micelial final) foram ajustados a uma extensão da função beta generalizada (BASSANEZI et al., 1998; CHRISTIANO et al., 2009):

$$Y = Y_{\text{opt}} \left[\frac{(T - T_{\text{min}})}{(T_{\text{opt}} - T_{\text{min}})} \right]^{B_1} \frac{(T_{\text{opt}} - T_{\text{min}})}{(T_{\text{max}} - T_{\text{opt}})} \left[\frac{(T_{\text{max}} - T)}{(T_{\text{max}} - T_{\text{opt}})} \right]^{B_1}$$

onde, Y é a variável independente, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo. Os parâmetros foram comparados entre si pelo teste t para verificar sua significância. Os dados foram analisados pelo software STATISTICA versão 7.0 (STATSOFT, Tulsa, EUA).

3.1.3 Esporulação de diferentes isolados de *Corynespora cassiicola* em dois meios de cultura

A esporulação foi avaliada nos meios de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) e Czapek. Cada isolado foi repicado e mantido em cada meio de cultura por um período de incubação de 20 dias a 25°C (definido pelos ensaios prévios de temperatura) e fotoperíodo de 12 horas (MELO, 2009). Após este período 10 mL de água destilada esterilizada foram adicionados em cada placa (contendo uma área micelial conhecida) para obter uma suspensão de conídios com o auxílio de uma alça de Drigalski. Uma alíquota de 200 µL desta suspensão foi retirada com uma micropipeta e a quantificação da concentração de conídios foi feita utilizando-se o hemocitômetro. A concentração da suspensão de esporos foi expressa em número de esporos mL⁻¹. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 10 (dois meios de cultura e 10 isolados) e quatro repetições.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente as médias foram comparadas em esquema fatorial por meio do teste Scott-Knott a 5 % de probabilidade, com auxílio do software SISVAR.

3.2 Germinação de conídios de *Corynespora cassiicola* em diferentes períodos de molhamento foliar avaliados com o microscópio eletrônico de varredura

Sementes de soja da cultivar BMX Potência foram semeadas em vasos com capacidade de 2,5 L contendo a mistura de solo e areia (3:1). Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação até o estágio fenológico V4 das plantas. Os

períodos de molhamento estudados foram: 0, 12, 24, 48 e 72 h, sob temperatura constante de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Folhas de soja foram destacadas e inseridas em placas do tipo Gerbox com a presença de papel filtro umedecido. Regiões de cada folha foram delimitadas com área aproximada de $1,0\text{ cm}^2$. Em cada região foi aplicada uma alíquota de 700 μL de suspensão de inóculo obtida do isolado MES 927 e calibrada em 17×10^4 esporos mL^{-1} . As folhas foram mantidas em câmara úmida (na própria placa) para cada um dos períodos de molhamento, onde a gota (alíquota) era o próprio molhamento. Após o fim deste período, as gotas foram secadas com papel filtro e uma gota do fixador Carnovisk foi aplicada em cada uma das regiões previamente delimitadas. Após 2h, o fixador foi removido e segmentos de folhas de 5 mm^2 foram cortados, colocados em placas de Petri com papel filtro umedecido. No interior de cada placa foi inserido um recipiente contendo 3 gotas do reagente ósmio. As placas foram mantidas no escuro em capela de exaustão por 18 horas, para melhor fixação através do vapor de ósmio. Ao término deste processo, os fragmentos foram retirados das placas e colados em stubs com auxílio de uma fita adesiva dupla face. Os stubs então foram transferidos para placas gerbox contendo sílica gel. Por fim, as amostras foram então metalizadas, onde receberam um banho de ouro por 180 segundos. Para a obtenção das imagens, as amostras foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP (KITAJIMA; TANAKA, 2001) no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da ESALQ/USP. As variáveis analisadas foram o número de conídios germinados, contando-se 50 conídios ao acaso e determinando a porcentagem de germinação.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e posteriormente as médias foram comparadas por meio do teste Scott-Knott a 5 % de probabilidade. As análises foram realizadas com o software estatístico SISVAR.

3.3 Ensaios em ambiente controlado

3.3.1 Influência da temperatura no monociclo da mancha-alvo da soja

Sementes de soja da cultivar BMX Potência foram semeadas em vasos contendo 2,0 L de solo esterilizado e areia na proporção de 3:1 e mantidas em casa de vegetação. Plantas no estágio fenológico V4 foram transferidas para câmaras de

crescimento (Conviron modelo E7) com temperatura e fotoperíodo previamente regulados, para a aclimação das mesmas.

O isolado MES 927 foi escolhido para promover a inoculação das plantas. O mesmo foi mantido em meio de cultura Czapek e multiplicado até obter esporulação abundante. A suspensão de conídios foi preparada em água destilada com a adição de Tween 20 (1 gota/100mL) para melhorar a aderência dos esporos na superfície foliar. A suspensão foi calibrada com auxílio de um hemocítômetro para obter a concentração de 35×10^3 conídios.mL⁻¹ (MELO, 2009).

Após o período de aclimação, as plantas foram inoculadas até o ponto de escoamento com a utilização de um atomizador manual. Após a inoculação as plantas permaneceram em câmara úmida, que consistiu em vasos envolvidos por um saco plástico molhado, para garantir o processo de infecção. No tratamento testemunha as plantas foram pulverizadas apenas com água.

As temperaturas estudadas neste experimento foram: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C sob período de molhamento de 48 horas e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi totalmente ao acaso, com quatro repetições, onde cada planta/vaso consistiu em uma unidade experimental. Os parâmetros monocíclicos quantificados foram: a severidade (%), por meio de fotografias digitais de cada uma das folhas quantificadas pelo software Quant (DO VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003); o número de lesões totais de cada folha inoculada e o diâmetro médio das lesões (mm). Os parâmetros foram avaliados até a estabilização dos mesmos. As avaliações foram realizadas a cada 72 horas em dois trifólios de cada planta.

Os dados coletados foram analisados por meio de regressões não-lineares, utilizando o software STATISTICA versão 7.0 (STATSOFT, Tulsa, EUA). Os dados foram ajustados a extensão da função beta generalizada (BASSANEZI et al., 1998; CHRISTIANO et al., 2009):

$$Y = Y_{\text{opt}} \left[\frac{(T - T_{\text{min}})}{(T_{\text{opt}} - T_{\text{min}})} \right]^{B_1} \frac{(T_{\text{opt}} - T_{\text{min}})}{(T_{\text{max}} - T_{\text{opt}})} \left[\frac{T_{\text{max}} - T}{(T_{\text{max}} - T_{\text{opt}})} \right]^{B_1}$$

onde, Y é a variável independente, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo que não possui significado biológico.

3.3.2 Influência do molhamento foliar no monociclo da mancha-alvo da soja

A duração do período de molhamento foliar foi estudada a partir dos tempos de 12, 24, 48 e 72 horas de molhamento foliar constante. As plantas foram mantidas sob temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A metodologia utilizada neste experimento foi a mesma descrita no item 3.3.1.

A análise dos dados coletados foi feita por meio de regressões não-lineares e os dados foram ajustados individualmente à função monomolecular:

$$Y = B_1 * (1 - (1 - B_2) * \exp(B_3 * M))$$

onde, Y é a variável independente, M é o molhamento foliar, B_1 , B_2 e B_3 são parâmetros da equação.

As funções beta generalizada e monomolecular foram multiplicadas gerando a função beta-monomolecular:

$$Y = B_1 * (((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - B_7) * \exp(-B_8 * M)))$$

onde, Y é o componente monocíclico, T é a temperatura, M é a duração do molhamento foliar e B_1 a B_8 são parâmetros do modelo. Esta função foi utilizada para elaborar um modelo que indicasse o efeito das diferentes combinações de temperatura e do molhamento foliar no desenvolvimento da mancha-alvo da soja, gerando uma superfície de resposta da severidade, do número de lesões e do diâmetro médio das lesões em função dessas variáveis climáticas.

3.4 Quantificação de danos em condições de campo

3.4.1 Instalação do experimento

Os ensaios foram conduzidos na área experimental da Embrapa Soja em Londrina, PR. As cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR foram semeadas em duas épocas, sendo a primeira em 02 de novembro de 2011 e a segunda em 08 de dezembro de 2011. As características agrônômicas das cultivares estão presentes na Tabela 2. A semeadura foi realizada sob plantio direto, com densidade de 12 plantas m^{-1} e espaçamento de 0,50 m entre linhas. Os tratamentos culturais como controle de pragas e de plantas daninhas foram realizados de acordo com a necessidade.

Tabela 2 - Características agronômicas das cultivares utilizadas em ensaio para quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) em soja. Londrina,PR, safra 2011/2012

Cultivar	Ciclo	Hábito de crescimento	Grupo de maturação
BMX Potência RR	semiprecoce	Indeterminado	6.7
BMX Força RR	precoce	Indeterminado	6.2
NA 5909 RG	semiprecoce	Indeterminado	6.6
BRS 295 RR	precoce	Determinado	5.8

3.4.2 Obtenção de gradiente de doença

Para obter diferentes níveis de doença, foram realizadas pulverizações com fungicidas e inoculações com o patógeno em diferentes estádios fenológicos (Tabela 3). A determinação do estágio fenológico foi feita de acordo com a escala de Fehr e Caviness (1977).

Tabela 3 - Tratamentos para a avaliação de danos causados pela mancha-alvo da cultura da soja, nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295RR, em duas épocas de semeadura, Londrina, Paraná

Tratamento	Estádio Fenológico
1. Inoculação com o patógeno	V8
2. Inoculação com o patógeno	R4
3. Inoculação com o patógeno	V8 e R4
4. Piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapyroxad + adjuvante	V8
5. Piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapyroxad + adjuvante	V8 e R4
6. Piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapyroxad + adjuvante	V8, R4 e R5.3

Para obter diferentes severidades da doença, foram realizadas inoculações com o isolado de *C. cassicola* MES 927, proveniente da micoteca da Embrapa Soja. O fungo foi cultivado em BDA e mantido em BOD durante 10 dias sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após este período, o meio de cultura colonizado pelo patógeno foi retirado das placas de Petri e colocado em um liquidificador e batido em água. A suspensão foi calibrada em 10^4 esporos mL⁻¹ com auxílio de um hemocítmetro. O espalhante adesivo Tween 80 (5 mL) foi adicionado na solução

final. Cada parcela recebeu 1,25 L da suspensão patogênica. As inoculações foram realizadas com pulverizador costal pressurizado com CO₂ no final da tarde, para proporcionar clima mais favorável à infecção. A área experimental foi previamente irrigada por aspersão, logo antes da inoculação, e 12 horas após a mesma.

Com o objetivo de controlar a mancha-alvo, foram realizadas pulverizações com o fungicida piraclostrobina + epoxiconazole + fluxapyroxad (64,8+40+40 g.i.a ha⁻¹) adicionado de 0,5 L ha⁻¹ de adjuvante. Para evitar a incidência de outras doenças, como a ferrugem asiática da soja, foram realizadas aplicações com o fungicida epoxiconazole + piraclostrobina (25+66,5 g i.a. ha⁻¹+ 0,5 L ha⁻¹ de adjuvante). Os triazóis e estrobilurinas têm registro no MAPA para o controle da mancha-alvo, porém não tem sido observada eficiência a destes no campo (Embrapa, 2012).

As aplicações foram realizadas utilizando pulverizador costal pressurizado com CO₂, barras de 5 metros de comprimento e bico do tipo duplo leque.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde cada parcela consistiu em 8 linhas de 5 metros de comprimento. O experimento contou com quatro repetições, seis tratamentos (Tabela 3) e quatro cultivares (Tabela 2) totalizando 96 parcelas por época de semeadura.

3.4.3 Avaliação da mancha-alvo

A severidade da mancha-alvo foi avaliada a partir do estágio reprodutivo R2 (FEHR; CAVINESS, 1977), período em que a doença foi detectada. Na primeira época de semeadura foram realizadas quatro avaliações de severidade em intervalos semanais. Na segunda época, foram realizadas três avaliações de severidade a partir de R4, nas quatro ruas centrais, em intervalo semanais. A quantificação da severidade foi feita em 24 folhas do terço inferior em oito plantas/parcela. Os dados de severidade de todas as avaliações foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), integrando-se a curva de progresso da doença para cada parcela, com o uso da equação proposta por Campbell e Madden (1990):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} [x_i + x_{i+1}] / 2 (t_{i+1} - t_i)$$

onde, n é o número de avaliações, x é a proporção de área foliar lesionada no tempo t_i e $(t_{i+1} - t_i)$ é o intervalo entre duas avaliações consecutivas.

3.4.4 Avaliação da área foliar e obtenção do LAI, HLAI, AULIAPC, NDVI, HAD e HAA

A área foliar foi quantificada nos estádios R2, R4 e R5.3. Para isto plantas em 1m² foram coletadas de cada parcela. Estas plantas foram desfolhadas e pesadas em laboratório. Uma sub-amostra de folhas foi retirada e pesada para a leitura da área foliar em cm² com o medidor de área foliar LI-3000 *Leaf Area Meter* (Li-Cor®) e foi calculado o LAI (*Leaf area index*) para cada avaliação. Para isso, utilizou-se o valor de área foliar em cm² obtido de cada parcela em função do espaçamento entre linhas (0,50 m). Com os valores de LAI de cada avaliação foi calculado a AULIAPC (*Area under the leaf area index progress curve*), a qual é a integral da curva de progresso do índice da área foliar, para cada parcela. Calculou-se também o HLAI (*Healthy leaf area index*) a partir da equação:

$$HLAI = LAI_i (1 - x_i)$$

em que, LAI_i é o índice de área foliar no tempo t_i ; x_i é o tecido doente no tempo t_i , e $(1 - x)$ representa o tecido sadio.

A partir do LAI foram calculadas a duração de área foliar sadia (*Healthy Area Duration*-HAD, em dias) e a absorção da área foliar sadia (*Healthy Area Absorption*-HAA, em MJ/m² dia) (WAGGONER; BERGER, 1987) a partir das equações:

$$HAD = \sum_{i=1}^{n-1} [LAI_i (1 - x_i) + LAI_{i+1} (1 - x_{i+1})] / 2 (t_{i+1} - t_i)$$

$$HAA = \sum_{i=1}^{n-1} [(1 - x_i)(1 - \exp(-kLAI_i)) + (1 - x_{i+1})(1 - \exp(-kLAI_{i+1}))] / 2 (t_{i+1} - t_i)$$

onde, LAI é o índice de área foliar adimensional no tempo i ; t é o tempo; x_i é a severidade da doença (proporção); I é a radiação solar média incidente em cada

intervalo (x_{i+1}) (MJ/m^2) sobre a cultura e k é o coeficiente de extinção da luz; utilizou-se o coeficiente do feijoeiro ($k=0,7$) (BERGAMIN FILHO et al., 1997).

Outro componente também avaliado foi o NDVI (*Normalized difference vegetation index*) nas quatro linhas centrais de cada parcela, o qual foi medido com o radiômetro portátil GreenSeeker® (Trimble, Ukiah, CA). As avaliações tiveram início a partir do estágio fenológico R5.3 com intervalos de 5 dias. Foram realizadas três leituras e duas leituras para a primeira e segunda época de semeadura, respectivamente.

3.4.5 Avaliação da produtividade

As plantas foram colhidas com auxílio de colhedoras de parcelas (Wintersteiger) no estágio fenológico R7. A colheita foi realizada em 21 de março (139 dias após a semeadura) e 18 de abril (130 dias após a semeadura), para a primeira e segunda época, respectivamente. A área colhida de cada parcela foi de $6,4 \text{ m}^2$. A umidade dos grãos foi corrigida para 13 % e os valores transformados para kg ha^{-1} .

3.4.6 Dados climáticos

Dados climáticos (temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa (%), precipitação (mm dia^{-1}) e radiação solar (MJ m^{-2}) referentes ao período de realização do experimento foram coletados da estação meteorológica da Embrapa Soja localizada a 1500 m do local do experimento (Latitude: $23^{\circ} 11' 50''$ sul; Longitude $51^{\circ} 12' 04''$ oeste) e altitude de 621 metros.

3.4.7 Análise dos dados

Os componentes avaliados em campo foram: a severidade, a área foliar (cm^2 por parcela) e o NDVI (índice vegetativo da diferença normalizada). Com o uso destes dados foram calculadas as variáveis: AACPD, AULIAPC, LAI, HLAI, HAD e HAA.

Os dados foram analisados por meio de regressões lineares utilizando o software SigmaPlot 2004 (SIGMAPLOT, 2004) e STATISTICA versão 7.0 (STATSOFT, Tulsa, EUA). A equação $Y = B_0 + B_1 \cdot X$, onde Y é produtividade dos grãos (Kg ha^{-1}), X representa as variáveis utilizadas para correlação com a produtividade e B_0 e B_1 são os coeficientes linear e angular, respectivamente, foi

ajustada aos dados de cada cultivar. Os dados obtidos dos dois experimentos (duas épocas de semeadura) para cada cultivar foram analisados de forma conjunta com objetivo de obter uma única equação que representasse as duas épocas de semeadura

Os dados da severidade obtidos da última avaliação e os valores de produtividade dos tratamentos para as diferentes cultivares foram comparados entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito da temperatura no crescimento micelial de diferentes isolados de *Corynespora cassiicola*

Os isolados de *C. cassiicola* cultivados por um período de 8 dias em meio de cultura BDA apresentaram diferentes aspectos morfológicos entre os isolados e também quando submetidos às diferentes temperaturas (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C) (Figura 2). Resultado semelhante foi obtido por Dung (1995): todos os isolados de *C. cassiicola* coletados da seringueira, em duas localidades da Malásia exibiram variabilidade na coloração e taxas de crescimento em meio de cultura BDA (DUNG, 1995).

Figura 2 - Variabilidade na morfologia das colônias, após oito dias de incubação em meio BDA de 10 isolados de *C.cassiicola* obtidos em diferentes regiões do Brasil

Os isolados apresentaram crescimento em ampla faixa de temperatura, sendo observado crescimento micelial em todas as temperaturas testadas, exceto a 5 °C . A temperatura de 30 °C promoveu o menor crescimento dentre as temperaturas avaliadas, sendo observados diâmetros de 0,2 a 1,5 cm. Para os isolados MES 933, MES 629, MES 313, MES 931, MES 927, MES 928, MES 670, MES 932 e MES 667 a temperatura ótima para o crescimento micelial foi de 23,7°C a 27°C. Já para o isolado MES 321 a temperatura ótima foi de 32°C. As faixas de temperaturas mínimas e máximas estimadas pelo modelo para proporcionar o crescimento dos isolados foram de 6,9 °C a 8,5 °C e 33,0 °C a 38,6 °C, respectivamente. Os menores valores de Y_{opt} , ou seja, os menores diâmetros de crescimento micelial foram observados nos isolados MES 629 e MES 321 (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros da equação, coeficientes de determinação (R^2) e nível de significância obtidos de regressões não-lineares para o ajuste de dados de crescimento micelial em diferentes temperaturas de isolados de *Corynespora cassiicola*. Os valores consistem no ajuste da extensão da função beta generalizada ($Y=Y_{opt}((y-T_{min})/(T_{opt}-T_{min}))^{b_1}(T_{opt}-T_{min})/(T_{max}-T_{opt})((T_{max}-T_{opt})^{b_1})$)

Isolado	Parâmetros ⁽¹⁾					R^2
	Y_{opt}	T_{min}	T_{opt}	B_1	T_{max}	
MES 933	2,9793 0,05	7,3177 2,15	25,7368 0,28	0,9694 0,22	35,3713 0,30	0,98
MES 321	2,4096 0,11	7,8140 4,22	32,0052 0,32	0,1221 -	35,0000 -	0,84
MES 629	1,6372 0,07	7,7561 2,43	25,2988 -	0,6230 -	35,8964 -	0,96
MES 313	3,2370 0,99	6,9999 3,78	23,7495 -	1,2495 -	33,0563 -	0,95
MES 931	3,1465 0,06	6,9999 4,88	25,5083 -	0,7886 -	35,9362 -	0,94
MES 927	2,8655 0,07	7,8668 3,22	25,3782 0,47	1,3098 0,61	36,9322 1,60	0,97
MES 928	3,1204 0,13	8,5157 -	26,1055 -	1,0807 -	37,5190 -	0,97
MES 670	3,3804 0,88	7,5804 2,95	25,7654 0,48	1,0131 0,69	35,6854 1,88	0,97
MES 932	3,1489 0,99	7,3035 5,17	27,0503 0,38	4,8300 1,20	38,6864 0,89	0,94
MES 667	3,3700 0,99	7,3438 3,83	25,7654 0,44	1,0103 0,47	35,6856 0,83	0,96

⁽¹⁾ Y_{opt} : Y ótimo; T_{min} : Temperatura mínima; T_{opt} : Temperatura ótima; B_1 : parâmetro da equação; T_{max} : Temperatura máxima. (-) erro não obtido.

O crescimento micelial aumentou a partir da temperatura de 10 °C e teve um pico em 25 °C para todos os isolados (Figura 3). Nas temperaturas acima de 25 °C observou-se uma queda no incremento do crescimento. Este fato foi observado para os dois experimentos realizados. Os maiores diâmetros de crescimento foram constatados para isolados MES 670 e MES 667 ambos na mesma faixa de temperatura ótima (25°C).

Figura 3 - Curvas ajustadas para o crescimento micelial (cm) em função da temperatura para os isolados A (MES 932), B (MES 933), C (MES 931), D (MES 313), E (MES 321), F (MES 629), G (MES 667), H (MES 670), I (MES 927), J (MES 928). Círculo cheio representa a média do primeiro experimento e círculo vazio a média do segundo experimento. Linhas consistem no ajuste da extensão da função beta generalizada ($Y = Y_{opt}((y-T_{min})/(T_{opt}-T_{min}))^{(b_1(T_{opt}-T_{min})/(T_{max}-T_{opt}))((T_{max} \text{ var1}) / (T_{max} T_{opt}))^{b_1}}$). Círculo cheio e círculo vazio refere-se ao I e II experimento, respectivamente

Melo (2009) estudou o efeito de diferentes temperaturas na germinação de conídios de *C. cassicola* e constatou que os valores de germinação foram crescentes até 25°C e a temperatura ótima de 23 °C. O fungo germinou em uma faixa de temperatura de 7 °C a 39 °C. Esses dados estão de acordo com os resultados deste trabalho em relação à ampla faixa de crescimento micelial do fungo, embora a temperatura ótima obtida por essa autora foi menor.

Os dados de Lustosa (2001) foram muito semelhantes aos obtidos no presente trabalho. A autora avaliou o efeito da temperatura no crescimento micelial e na esporulação de *C. cassicola* isolado de *Commelina benghalensis*. O maior crescimento foi observado entre 20 °C e 30°C, sendo a temperatura ótima de 27 °C. À 10°C e 35°C o crescimento foi muito reduzido.

Teramoto (2008) verificou que a temperatura de 25 °C foi a que propiciou o maior crescimento micelial em isolados de *C. cassicola* oriundos de diferentes culturas, incluindo soja e pepino. As temperaturas de 15 °C e 35 °C desfavoreceram o desenvolvimento das colônias e temperaturas entre 25 °C a 30 °C proporcionaram os maiores índices de crescimento micelial.

O coeficiente de determinação (R^2), apresentou valores de 0,84 a 0,98, evidenciando boa precisão do ajuste dos dados à função beta generalizada. Além do R^2 , também foram plotados os erros absolutos em função da variável independente (Figura 4). Observou-se que, de forma geral os erros não ultrapassaram 10 % indicando uma boa distribuição e precisão dos dados.

Figura 4 - Erros absolutos (resíduos) obtidos de valores de crescimento micelial (cm) dos isolados A (MES 932), B (MES 933), C (MES 931), D (MES 313), E (MES 321), F (MES 629), G (MES 667), H (MES 670), I (MES 927), J (MES 928) e temperaturas (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C) ajustados a extensão da função beta generalizada nos isolados (Os pontos correspondem ao erro do I e II experimento)

As taxas de progresso do crescimento micelial foram calculadas para os isolados submetidos às diferentes temperaturas (Tabela 5). Para o isolado MES 933, a menor taxa de progresso foi observada a 35 °C demonstrando crescimento micelial mais lento. As maiores taxas foram constatadas nas temperaturas de 20 °C, 25 °C e 30 °C. Os isolados MES 321, MES 629 e MES 931 apresentaram as menores taxas a 10 °C e 35 °C e as maiores sob temperaturas de 15 °C e 30 °C. Já para o isolado MES 313 os menores índices ocorreram a 10 °C e 35 °C e os maiores a 20 e 25 °C, os quais diferiram significativamente dos demais. Os isolados MES 927, MES 928, MES 670 e MES 932 mostraram que as menores taxas de progresso foram obtidas a 10 °C, 15 °C e 35 °C, já o crescimento micelial mais acelerado foi observado nas temperaturas de 20 °C, 25 °C e 30 °C. Por fim, o isolado MES 667 apresentou menores valores nas temperaturas de 10 °C e 35 °C e maiores valores sob temperaturas de 20 °C, 25°C, e 30 °C.

Entre os isolados testados, as taxas de progresso do crescimento micelial não diferiram estatisticamente sob as temperaturas de 5 °C, 10 °C, 15 °C, 30 °C e 35 °C. Diferenças estatísticas só foram constatadas nas temperaturas de 20 °C e 25 °C. A taxa de progresso de MES 629 foi mais lenta a 20 °C, o mesmo ocorreu com MES 321 e MES 629 a 25 °C.

Tabela 5 - Valores da taxa de progresso do crescimento micelial de isolados de *C. cassicola* sob as temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C

Isolado	Temperatura °C ⁽¹⁾						
	5	10	15	20	25	30	35
MES 933	0 aA	0,157 bA	0,232 cA	0,367 dA	0,411 dB	0,345 dA	0,023 aA
MES 321	0 aA	0,055 aA	0,183 bA	0,300 bA	0,246 bA	0,331 bA	0,056 aA
MES 629	0 aA	0,098 aA	0,168 bA	0,169 bA	0,232 bB	0,198 bA	0,071 aA
MES 313	0 aA	0,105 aA	0,301 bA	0,444 cB	0,374 cB	0,263 bA	0,075 aA
MES 931	0 aA	0,155 aA	0,299 bA	0,392 bB	0,393 bB	0,442 bA	0,086 aA
MES 927	0 aA	0,133 bA	0,192 bA	0,357 cA	0,384 cB	0,293 cA	0,112 bA
MES 928	0 aA	0,161 bA	0,250 bA	0,383 cB	0,392 cB	0,360 cA	0,210 bA
MES 670	0 aA	0,190 bA	0,217 bA	0,398 cA	0,462 cB	0,391 cA	0,132 bA
MES 932	0 aA	0,137 bA	0,211 bA	0,341 cA	0,425 cB	0,327 cA	0,132 bA
MES 667	0 aA	0,106 aA	0,231 bA	0,354 cA	0,429 cB	0,386 cA	0,072 aA

⁽¹⁾ Os valores apresentados de taxa de progresso são média de dois experimentos. Letras minúsculas iguais não diferem na linha e letras maiúsculas iguais não diferem na coluna pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Alves (2007) estudou a germinação *in vitro* de *P. pachyrhizi* submetida a diferentes temperaturas. Os urediniósporos germinaram e formaram apressórios entre temperaturas que variaram de 8 °C a 30 °C, apresentando uma faixa mais favorável entre 15 °C e 25 °C. Lustosa (2001) constatou que a faixa de temperatura na qual ocorreu maior crescimento micelial para *C. cassiicola* foi na faixa de 20 °C a 30 °C, sendo a temperatura ótima próxima de 27 °C. Aos 15 °C o crescimento foi lento, e aos 10 °C e 35 °C muito reduzido. Spencer e Walters (1969) observaram que a 5 °C e 35 °C não houve crescimento micelial de *C. cassiicola*.

Celoto (2009) estudou o crescimento micelial de *C. cassiicola* isolado da aceroleira sob diferentes temperaturas. A faixa de temperatura ótima para o crescimento micelial do fungo foi de 20 °C a 30 °C, com temperatura ótima de 26 °C. Outros autores estudaram o efeito da temperatura no crescimento micelial do mesmo fungo em outra planta hospedeira, como é o caso de Know e Park (2003), que relataram que a temperatura ótima para o crescimento micelial de *C. cassiicola* em *Hibiscus* foi de 30°C.

Isolados de *C. cassiicola* da cultura da soja em Ottawa apresentaram crescimento micelial ótimo em meio ágar água a 20 °C, mas a 30 °C o crescimento foi muito restrito. Os conídios germinaram entre 5 °C e 35 °C (SEAMAN; SHOWMAKER; PETERSON, 1969). Já para isolados da cultura da seringueira o crescimento micelial ótimo foi observado na temperatura de 28°C (DUNG, 1995).

4.2 Esporulação de diferentes isolados *Corynespora cassiicola* em dois meios de cultura

Houve interação isolado x meio de cultura quanto à esporulação. O isolado MES 670 quando cultivado em meio BDA na temperatura de 25 °C foi o que apresentou maior produção de conídios expressos como número de conídios mL⁻¹ (Tabela 6), ao contrário dos isolados MES 932, MES 933, MES 931, MES 313, MES 321 e MES 928 que apresentaram menor esporulação. Para o meio de cultura Czapek observou-se os maiores índices de esporulação para o isolado MES 667.

Para os isolados MES 932, MES 933, MES 931, MES 313 e MES 321 não foram observadas diferenças estatísticas em relação aos meios de cultura. Já os isolados MES 629, MES 670 e MES 927 apresentaram maior esporulação mL⁻¹

quando cultivados no meio BDA, diferente de MES 667 e MES 928 cujos maiores valores foram constatados no cultivo em meio Czapek.

Tabela 6 - Esporulação média de dez isolados de *C. cassiicola* após 20 dias de incubação à 25 °C nos meios BDA e Czapek

Isolado	Esporulação ($\times 10^5$ conídios mL ⁻¹) ⁽¹⁾	
	BDA	Czapek
MES 932	0,97 a A	0,72 a A
MES 933	0,85 a A	1,32 a A
MES 931	1,25 a A	2,10 b A
MES 313	1,17 a A	2,00 b A
MES 321	1,02 a A	0,70 a A
MES 629	2,47 b A	1,32 a B
MÊS 667	2,07 b A	8,47 d B
MES 670	8,65 c A	5,87 c B
MÊS 927	3,27 b A	0,87 a B
MES 928	1,30 a A	2,92 b B
CV %	28,42	

⁽¹⁾ Média de dois experimentos. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si e letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

Melo (2010) estudou a esporulação de um isolado de *C. cassiicola* da cultura da soja em diferentes meios de cultura e observou que a maior esporulação ocorreu no meio de cultura Czapek, com fotoperíodo de 12 horas de luz, com e sem papel de filtro sobreposto ao meio de cultura. Almeida e Yamashita (1976) estudaram o efeito de meios de cultura sobre o crescimento e esporulação de isolados de *C. cassiicola* de soja submetidos à luz contínua ou escuro total e concluíram que o meio V8 (Suco de tomate - CaCO₃ - ágar) induz maior esporulação, e que a presença de luz contínua favorece o crescimento e a esporulação.

Oluma e Amuta (1999) testaram os meios de cultura BDA, BDA + tiamina, extrato de malte (EM), extrato de malte + tiamina (EMT) e meio Czapek no comportamento *in vitro* de *C. cassiicola* isolado do mamão papaia. Os autores observaram que a maior taxa de crescimento do fungo ocorreu no meio com extrato de malte. Os maiores e menores valores de esporulação foram observados nos meios Czapek + biotina e BDA, respectivamente. Os maiores esporos (μ m) foram observados no meio EMT enquanto que os menores ocorreram em meio BDA.

O meio de cultura BSA (batata-sacarose-ágar) foi o que mais promoveu a esporulação de isolados de *C. cassicola* da cultura da seringueira, quando comparado ao meio BDA (batata-dextrose-ágar) e meio com extrato de folhas de seringueira. Foi acrescentado também a estes meios um extrato de leveduras o qual não promoveu um incremento na esporulação (DUNG, 1995).

Corroborando com estes resultados publicados os dados obtidos no presente trabalho refletem a hipótese de que isolados de *C. cassicola* da cultura da soja e de outros hospedeiros não seguem um padrão em relação à esporulação, variando o meio de cultura favorável varia para cada isolado.

4.3 Germinação de conídios em diferentes períodos de molhamento foliar avaliados com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura

Diferentes tempos de molhamento foliar foram avaliados neste experimento (Tabela 7). O menor período (2 horas) não proporcionou a germinação de conídios de *C. cassicola*. A partir do período de 6 horas de molhamento foliar, foi possível observar 10% de esporos germinados. Nos períodos de 12, 24 e 72 horas a formação de hifas ocorreu de forma mais intensa sob a superfície foliar e o incremento na porcentagem de conídios germinados também foi superior. As porcentagens de germinação com 6 e 12 horas de molhamento não foram significativamente diferentes entre si, sendo inferiores às porcentagens de germinação com períodos de molhamento de 24, 48 e 72 horas, sendo que os dois últimos períodos apresentaram os maiores índices de germinação, não diferindo significativamente entre si ($p < 0,05$). Não foi observada a formação de apressórios em nenhum tratamento.

Teramoto (2008) testou diferentes tempos de molhamento (1, 2, 4, 8 e 24 horas) na germinação de conídios de *C. cassicola* em 10 isolados de diferentes espécies vegetais, entre elas tomate, pepino melão, e concluíram que o tempo de 24 horas foi suficiente para atingir a germinação máxima de conídios. Em 4 horas de molhamento todos atingiram pelo menos 50 % de germinação e em 1 hora de molhamento três isolados apresentaram índices de germinação.

Os dados da Tabela 7 indicam que no presente trabalho foi necessário maior período de molhamento para promover a germinação dos conídios, comparado aos dados de Teramoto (2008).

Segundo Agrios (2005) a umidade é indispensável para a germinação da maioria dos esporos fúngicos e para a penetração do tubo germinativo no hospedeiro, além de aumentar a suscetibilidade a certos patógenos, afetando a incidência e severidade da doença.

Chee (1988) estudou diferentes isolados e constatou que para o isolado de *C. cassiicola* da seringueira, 4 horas de molhamento foram suficientes para atingir a germinação máxima dos conídios, o que não foi confirmado com os dados obtidos no presente estudo, em que o tempo de molhamento necessário para atingir a máxima germinação foi entre 48 e 72 horas.

Schuh et al. (1991) testaram os períodos de molhamento 18, 24, 30 e 36 horas na germinação de conídios de *Cercospora kikuchii*, causador de mancha foliar na superfície de folhas de soja, e mostraram que com o aumento do período de molhamento foliar ocorreu incremento da germinação, sendo que mais de 90 % germinaram em todos os tempos de molhamento testados. O incremento da germinação com o aumento do molhamento foliar também foi obtido para *C. cassiicola*, no presente trabalho.

Tabela 7 - Germinação de esporos de *C.cassiicola* submetidos a diferentes períodos de molhamento foliar

Molhamento foliar (horas)	Germinação (%) ⁽¹⁾
2	0,0 a
6	10,0 b
12	16,6 b
24	33,3 c
48	90,0 d
72	93,3 d
CV (%)	12,0

⁽¹⁾ Média de 30 esporos/período de molhamento foliar. Cada tratamento contou com 3 repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

Em relação à morfologia dos conídios observou-se diferentes formas, desde arredondadas (Figura 5C) até ovaladas (Figura 5D). Verificou-se pouca variação na dimensão dos conídios submetidos aos diferentes períodos de molhamento foliar. As dimensões dos conídios variaram de 10 a 20 µm de comprimento (Figura 5).

Segundo Snow e Berggren (1989) a dimensão dos conídios de *C. cassiicola* é de 4-11 x 44-135 µm. A coloração varia de hialina a marrom. Podem ser retos ou

ligeiramente curvados para o ápice. Yan-Xiang et al. (2011) fizeram a análise molecular e morfológica da variabilidade de 22 isolados de *C. cassicola* obtidos de diferentes hospedeiros. Observaram diferentes formas e tamanhos entre os isolados e também dentro de um mesmo isolado, sendo que estes apresentaram formas ovais, cilíndricas e ligeiramente curvas. As dimensões variaram de 10-227 μm e 1 por 1-7 μm . A Figura 5 indica que no presente estudo as formas dos conídios do mesmo isolado foram diferentes, da mesma forma como foi observado por Yan-Xiang et al. (2011).

Fulmer et al. (2012) estudaram a morfologia de conídios de *C. cassicola* coletados do algodoeiro no Estado da Georgia (EUA). Os conídios apresentaram dimensões de 50 a 197 μm de comprimento e 7 a 16 μm de largura. Quanto à forma, eram obclavados a cilíndricos. A Figura 5 indica que no presente estudo as formas dos conídios do mesmo isolado foram diferentes, da mesma forma como foi observado por Yan-Xiang et al. (2011) e Fulmer et al. (2012).

Figura 5 - Fotografias de microscopia eletrônica evidenciando a germinação de conídios de *C. cassicola* submetidos a diferentes tempos de molhamento foliar. (A). Conídio germinado após 12h de molhamento foliar; (B) Conídio germinado após 24h de molhamento foliar; (C) Conídio não germinado; (D) Conídio germinado após 48h de molhamento foliar. (Imagens fotografadas pelo microscópio de varredura modelo LEO 435 VP)

4.4 Influência da temperatura e molhamento foliar no monociclo da mancha-alvo da soja

A temperatura influenciou a severidade da doença, o número e diâmetro das lesões, sendo explicada pela função beta generalizada. Os sintomas surgiram seis dias após a inoculação, nas temperaturas de 20 °C, 25 °C e 30 °C. O aumento da severidade ocorreu até 26 °C, sendo esta considerada a temperatura ótima, de acordo com o modelo. Temperaturas maiores que a temperatura ótima ocasionaram redução da doença (Figura 6). A temperatura mínima e máxima estimada pela função beta generalizada para o desenvolvimento da doença foi de 18 °C a 32 °C. As temperaturas de 10 °C e 15 °C não promoveram qualquer sintoma da doença.

A temperatura de 27 °C proporcionou um pico máximo no número e diâmetro das lesões (Figura 7 e 8). A temperatura mínima e máxima estimada pela função beta generalizada para a ocorrência de lesões da mancha-alvo foi de 18 °C e 31 °C, respectivamente (Tabela 8). A faixa de temperatura de 25 °C e 30 °C promoveu o maior número de lesões/folha, sendo que a 31 °C este número reduziu-se significativamente.

Figura 6 - Severidade da mancha-alvo da soja em função da temperatura. A linha corresponde o ajuste à extensão da função beta generalizada. $= Y_{opt} \left[\frac{(T - T_{min})}{(T_{opt} - T_{min})} \right]^{B_1 \frac{(T_{opt} - T_{min})}{(T_{max} - T_{opt})} \left[\frac{(T_{max} - T)}{(T_{max} - T_{opt})} \right]^{B_1}}$, onde y é a severidade, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo

Figura 7 - Número de lesões/folha da mancha-alvo da soja em função da temperatura. A linha corresponde o ajuste à extensão da função beta generalizada. $= Y_{opt} [(T - T_{min}) / (T_{opt} - T_{min})]^{B_1} [(T_{opt} - T_{min}) / (T_{max} - T_{opt})]^{B_1} [T_{max} - T] / (T_{max} - T_{opt})^{B_1}$, onde y é o número de lesões, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo

Figura 8 - Diâmetro médio de lesões da mancha-alvo da soja em função da temperatura. A linha corresponde o ajuste à extensão da função beta generalizada. $= Y_{opt} [(T - T_{min}) / (T_{opt} - T_{min})]^{B_1} [(T_{opt} - T_{min}) / (T_{max} - T_{opt})]^{B_1} [T_{max} - T] / (T_{max} - T_{opt})^{B_1}$, onde y é o diâmetro médios das lesões, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo

Tabela 8 - Parâmetros da extensão da função beta generalizada, $Y_{opt} [(T-T_{min}) / (T_{opt}-T_{min})]^{B_1} [(T_{max}-T) / (T_{max}-T_{opt})]^{B_1}$, onde y é o componente monocíclico considerado, T_{min} , T_{max} e T_{opt} são as temperaturas mínima, máxima e ótima, Y_{opt} é o valor máximo de cada variável, B_1 é um parâmetro do modelo sem significado biológico, ajustada em diferentes temperaturas

Componentes monocíclicos	Y_{opt} (erro)	T_{min} (erro)	T_{opt} (erro)	B_1 (erro)	T_{max} (erro)
Severidade	1,98 (0,19)	18,02 (3,02)	26,73 (0,11)	1,02 (0,66)	32,73 (0,99)
Número de lesões/folha	11,27 (0,32)	18,07 (4,18)	27,27 (-)	0,55 (0,82)	31,74 (-)
Diâmetro das lesões (mm)	0,89 (-)	17,83 (4,98)	27,86 (-)	0,80 (0,69)	32,28 (-)

(-) erro não obtido

A faixa ótima de temperatura para o desenvolvimento da doença observada nas condições estudadas neste trabalho situa-se entre 26 °C e 27 °C. A mínima para a ocorrência da doença foi de 18 °C. Os primeiros sintomas de mancha-alvo em soja aparecem 5 a 7 dias após a penetração, quando submetidas a temperatura de 20 °C a 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (AGRIOS, 1988). Na temperatura de 20°C, os sintomas são menos severos e abaixo desta temperatura não são observados sintomas (SINCLAIR, 1982).

Os maiores valores de severidade da mancha-alvo em diversas espécies de vegetais ocorrem sob temperatura de 28 °C (PERNEZNY e SIMONE, 1993). Lustosa (2001) estudou o efeito da temperatura em plantas de trapoeraba com a presença do fungo *C. cassicola* e concluiu que a maior área foliar lesionada foi observada entre 15 °C e 20 °C. Celoto (2009) estudou o efeito da temperatura na mancha-alvo em plantas de acerola e relatou que a temperatura ótima para o desenvolvimento de lesões da mancha-alvo em câmara de crescimento foi de 30°C.

Segundo Lopes e Avila (2005), a mancha-alvo do tomateiro tem seu pico máximo de doença sob temperatura acima de 28 °C combinada com alta umidade. Kwon et al. (2003), ao estudarem a ocorrência de *C. cassicola* em pepino, mostraram que períodos longos de orvalho e altas temperaturas aumentam a severidade da doença.

A função beta generalizada utilizada neste trabalho para descrever o efeito da temperatura nos componentes monocíclicos na cultura da soja tem sido útil em

diversos patossistemas tais como: *Aternaria helianthi* x girassol (LEITE, 2002), *Phakopsora pachyrhizi* x soja (ALVES, 2007), *Colletotrichum lindemuthianum* x feijão (DALLA PRIA, 1997), *Xanthomonas axonopodis* x citros (CHRISTANO, 2003), entre outros.

O aumento da ocorrência de sintomas da mancha-alvo foi proporcional ao aumento do período de molhamento foliar nas temperaturas testadas, o que foi descrito pelo modelo monomolecular (Figura 9). O período de 48 horas de molhamento foliar apresentou os valores máximos de severidade enquanto que no período de 12 horas observou-se os menores valores. A doença ocorreu em todos os tempos de molhamento testados, exceto na ausência de molhamento e em 72 horas, sendo que o último ocasionou a queda das folhas da plantas.

Resultados diferentes foram obtidos por Lustosa (2001) onde a infecção causada pelo fungo *C. cassiicola* em uma espécie de planta daninha (*C.benghalensis*) apresentou baixa incidência na ausência de molhamento foliar, o que não foi observado aqui (Figura 9).

Para o número de lesões o mesmo foi observado. O ponto de inflexão foi em torno de 22 horas de molhamento foliar (Figura 10). O período de 48 horas de molhamento demonstrou ser o mais eficiente para promover novas lesões, no entanto, apresentou índices próximos ao período de 24 horas, podendo-se concluir que com o período de 24 horas de molhamento foliar já é possível obter praticamente um nível máximo de lesões foliares.

No período de molhamento foliar de 12 horas foram constatadas lesões com menor diâmetro quando comparadas ao período de molhamento de 48 horas, o qual promoveu maior diâmetro das lesões, conseqüentemente, maior severidade da doença (Figura 11).

Figura 9 - Severidade da mancha-alvo da soja em função do molhamento foliar. A linha corresponde o ajuste à função monomolecular, $y = B_1 * (1 - (1 - B_2) * \exp(B_3 * M))$, onde y é a severidade, M é o molhamento foliar, B_1 , B_2 e B_3 , são parâmetros da equação

Figura 10 - Número de lesões/folha da mancha-alvo da soja em função do molhamento foliar. A linha corresponde o ajuste à função monomolecular, $y = B_1 * (1 - (1 - B_2) * \exp(B_3 * M))$, onde y é o número de lesões, M é o molhamento foliar, B_1 , B_2 e B_3 , são parâmetros da equação

Figura 11 - Diâmetro médio de lesões da mancha-alvo da soja em função do molhamento foliar. A linha corresponde o ajuste à função monomolecular, $y = B_1 \cdot (1 - (1 - B_2) \cdot \exp(B_3 \cdot M))$, onde y é o diâmetro das lesões, M é o molhamento foliar, B_1 , B_2 e B_3 , são parâmetros da equação

Tabela 9 - Parâmetros do ajuste à função monomolecular, $y = B_1 \cdot (1 - (1 - B_2) \cdot \exp(B_3 \cdot M))$, onde y é o diâmetro das lesões, M é o molhamento foliar, B_1 , B_2 e B_3 , são parâmetros da equação

Componente monocíclico	B_1 (erro)	B_2 (erro)	B_3 (erro)
Severidade	34,852 (1,700)	1,005 (0,001)	0,001 (0,00)
Número de lesões/folha	10,286 (0,988)	2,875 (2,460)	0,139 (0,099)
Diâmetro das lesões (mm)	0,812 (0,237)	1,600 (0,930)	0,056 (0,048)

Resultado semelhante foi obtido por Almeida e Yamashita (1976), nesse trabalho, o fungo *C. cassiicola* causou maior severidade quando as plantas permaneceram em câmara úmida por 48 horas. Nos período de umidade de 12 e 24 horas ocorreu baixa severidade da doença e com 72 horas de molhamento as folhas das plantas amareleceram e caíram prematuramente.

De acordo com os resultados de Lustosa (2001) pode-se inferir que a duração do molhamento foliar de 48 horas é o ideal para o desenvolvimento da infecção de *C. cassiicola* em trapoeraba.

A presença e a duração de água livre na superfície das folhas de acerola, na forma de condensação, foram necessárias para o desenvolvimento da mancha-alvo. A área das lesões da doença aumentou com o prolongamento do molhamento foliar, sendo necessário pelo menos 12 horas de molhamento para promover a infecção (CELOTO, 2009).

O modelo monomolecular foi utilizado para descrever o efeito do molhamento foliar nos componentes monocíclicos neste experimento, sendo utilizado também por outros autores (ALVES, 2007; MAY DE MIO; AMORIM, 2002).

A superfície de resposta resultante da multiplicação das funções beta generalizada e monomolecular, obtidas dos dados de temperatura e molhamento foliar, respectivamente, apresentou um bom ajuste dos dados de severidade, número e diâmetro das lesões com R^2 de 0,96, 0,85 e 0,97 respectivamente (Tabela 10). Os modelos elaborados para estimar a severidade da mancha-alvo (a), o número de lesões (b) e o diâmetro das lesões (c) compreendem as seguintes funções:

$$(a) Y = ((0,043) * ((T - (18,53)) ^ (1,169)) * (((30,764) - T) ^ (0,492)) * ((4,477) * (1 - (1,048) * \exp(-(0,0147) * M))));$$

$$(b) Y = ((1,348) * ((T - (18,313)) ^ 1,233)) * (((31,072) - T) ^ (0,4698)) * ((0,3057) * (1 - (10,897) * \exp(-(0,265) * M))));$$

$$(c) Y = ((0,038) * ((T - (18,403)) ^ (1,376)) * (((30,454) - T) ^ (0,298)) * ((0,951) * (1 - (1,600) * \exp(-(0,056) * M)))), \text{ onde } Y \text{ é o componente monocíclico, } T \text{ é a temperatura e } M \text{ é a duração do molhamento foliar.}$$

A temperatura mínima e máxima necessária para a ocorrência da severidade, para o número e diâmetro das lesões foi de 19 °C e 30 °C, 18 °C e 31 °C e 18 °C e 30 °C, respectivamente (Tabela 10).

Os componentes monocíclicos avaliados crescem com o aumento da duração do molhamento foliar combinado com o aumento da temperatura, em que o máximo de desenvolvimento ocorre por volta de 48 horas de molhamento foliar e 26 °C. Os menores períodos de molhamento e baixas temperaturas proporcionam menor desenvolvimento da doença (Figura 12, 13 e 14).

Figura 12 - Superfície de resposta da severidade da mancha-alvo da soja em função da temperatura e da duração do molhamento foliar (h), descrita pela função $Y = B_1 * (((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - B_7) * \exp(-B_8 * M)))$, onde Y é a severidade, T é a temperatura, M é a duração do molhamento foliar (h) e B_1 a B_8 são parâmetros do modelo. Círculos vazios são pontos atrás da superfície

Figura 13 - Superfície de resposta do número de lesões/folha da mancha-alvo da soja em função do número de lesões e da duração do molhamento foliar (h), descrita pela função $Y = B_1 * (((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - B_7) * \exp(-B_8 * M)))$, onde Y é o número de lesões, T é a temperatura, M é a duração do molhamento foliar (h) e B_1 a B_8 são parâmetros do modelo. Círculos vazios são pontos atrás da superfície

Figura 14 - Superfície de resposta do diâmetro de lesões da mancha-alvo da soja em função do número de lesões e da duração do molhamento foliar (h), descrita pela função $Y = B_1 * ((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - B_7) * \exp(-B_8 * M))$, onde Y é o diâmetro de lesões, T é a temperatura, M é a duração do molhamento foliar (h) e B1 a B8 são parâmetros do modelo. Círculos vazios são pontos atrás da superfície

Tabela 10 - Coeficiente de determinação e parâmetros estimados pela função beta-monomolecular: $Y = B_1 * ((T - B_2)^{B_4}) * ((B_3 - T)^{B_5}) * (B_6 * (1 - B_7) * \exp(-B_8 * M))$ onde Y é o componente monocíclico, T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento foliar (horas)

Componente monocíclico	Parâmetros da função beta-monomolecular								R ²
	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆	B ₇	B ₈	
Severidade	0,05	19,44	30,00	1,24	0,16	5,41	1,04	0,01	0,96
Número de lesões/folha	1,34	18,31	31,07	1,23	0,46	0,30	10,99	0,26	0,85
Diâmetro das lesões (mm)	0,03	18,4	30,4	1,37	0,29	0,95	1,60	0,05	0,97

A função beta - monomolecular permitiu bom ajuste dos dados de severidade em relação a temperatura e molhamento foliar (MAY DE MIO; AMORIM, 2002).

A importância do estudo da interação da temperatura com o molhamento foliar é explicada por Zadoks e Schein (1979), que defendem a idéia de que diferentes intensidades de uma doença são obtidas utilizando-se diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar, sendo esta interação um item fundamental para a ocorrência e intensidade das doenças.

Camera (2012) estudou o efeito da temperatura e molhamento foliar na ocorrência da mancha foliar “olha-de-rã” em soja. Plantas submetidas a 15 °C apresentaram sintomas apenas com 60 horas de molhamento foliar. A maior intensidade da doença foi observada a 30 °C com 72 horas de molhamento foliar. Com molhamentos inferiores a 24 horas, nenhum sintoma foi detectado, independente da temperatura. Com relação ao período de molhamento foliar, para a severidade, número de lesões por folíolo e diâmetro de lesões, observou-se que a intensidade dessa doença aumentou linearmente à medida que o período de molhamento foliar aumentou. Estes dados corroboram com os dados no presente estudo, inferindo que tanto a mancha-alvo da soja quanto a mancha-olho de-rã são altamente dependentes do período em que as folhas permanecem com água livre na superfície. A mancha-alvo necessita de 12 horas de molhamento foliar para ocorrer, diferente da doença estudada por Camera (2012), a qual necessita de no mínimo 24 horas.

Alves (2007) estudou a influência da temperatura e molhamento foliar nos parâmetros monocíclicos do patossistema *P. pachyrhizi* x soja e concluiu que o período mínimo de molhamento foliar para promover a infecção é de 6 horas. Depois de estabelecida a infecção, a temperatura de 23 °C a 30 °C não influencia a severidade da doença. Temperaturas maiores que 35 °C impedem a colonização deste fungo. Diferente de *C. cassicola*, o fungo *P. pachyrhizi* causador da ferrugem da soja, inicia sua infecção com períodos de molhamento menores que 12 horas.

4.5 Quantificação de danos em condições de campo

4.5.1 Condições climáticas

A umidade relativa (%) no período estudado foi de 71% (Figura 15). A média da temperatura mínima e máxima registrada foi de 18°C e 28°C, respectivamente, encontrando-se dentro da faixa de condições favoráveis para a ocorrência da

doença (Sinclair,1982). A mancha-alvo da soja é favorecida por longos períodos de molhamento foliar combinado com temperaturas amenas.

Durante os meses de novembro a abril ocorreram 50 dias com chuva totalizando 608 mm. Mesmo ocorrendo precipitações em todos os meses do ciclo da soja, pode-se considerar que o índice pluviométrico para a safra em que foram instalados os experimentos foi abaixo da média história para a cidade de Londrina, PR. Os meses menos chuvosos foram fevereiro e abril, com máximo de 29 mm e 43 mm de precipitação, respectivamente.

O valor médio de incidência da radiação solar foi de $28 \text{ MJ m}^{-2}/\text{dia}$ nos meses de novembro a abril (Figura 16).

Figura 15 - Temperatura média diária (°C) e precipitação total diária (mm) observados na área experimental da Embrapa Soja, Londrina, no período de condução dos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Figura 16 - Radiação solar (MJ m^{-2}) e umidade relativa média diária (%) observados na área experimental da Embrapa Soja, Londrina, no período de condução dos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C. cassiicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

4.5.2 Severidade e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) x produtividade

A mancha-alvo foi detectada no estágio reprodutivo R2, nas duas épocas de semeadura. Os maiores valores de severidade foram observados na primeira época, onde a média para as cultivares foi de 37% de área foliar lesionada. Na segunda época a média da severidade máxima para as cultivares foi de 13%. As avaliações foram realizadas apenas no terço inferior e médio de cada planta, em função da doença não ter sido observada no terço superior das plantas.

Em ambos os experimentos foi possível obter ampla variação na severidade, sendo formados dois grupos de três tratamentos: o primeiro grupo refere-se às plantas inoculadas, com maior severidade, e o segundo, às plantas pulverizadas com fungicidas, com menor severidade. Na primeira época de semeadura, para o primeiro grupo, a média de severidade observada no estágio R5.2 foi semelhante para as cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295RR, sendo de 29%, 34%, 35 % e 30 %, respectivamente. No segundo grupo, a menor e a maior severidade foram observadas para a cultivar BMX Potência RR (2%) e NA 5909 RG (8%), respectivamente. Na segunda época de semeadura, o grupo com alta severidade apresentou o valor máximo de 13% para BMX Potência RR e o grupo com baixa severidade apresentou 1,6% de severidade máxima para as cultivares BMX Potência RR e BRS 295 RG (Tabela 11).

Sabe-se que a ocorrência da mancha-alvo é altamente dependente da precipitação. A baixa severidade observada na segunda época de semeadura pode estar relacionada ao baixo índice pluviométrico observado no mês de fevereiro, onde foram detectados os primeiros sintomas da doença, em plantas no estágio R2. O índice pluviométrico observado para o mês de fevereiro foi de 30 mm distribuídos em nove dias com média de aproximadamente 3 mm/dia. Já na primeira época de semeadura, a doença foi constatada mais cedo, durante o mês de janeiro. Neste mês a chuva foi de 188 mm distribuídos em 18 dias, com média de 10 mm/dia.

A média da produtividade dos grãos não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos de tratamentos (inoculados e pulverizados) para todas as cultivares na primeira época de semeadura, exceto para a cultivar BMX Força RR, onde os valores de produtividade obtidos nos tratamentos com fungicidas foram significativamente superiores (Tabela 11).

Já para a segunda época de semeadura, diferenças significativas entre os dois grupos foram frequentes. Para a cultivar BMX Potência RR os tratamentos pulverizados com fungicida e inoculados nos estádios fenológicos V8 e R4 não diferiram ($P < 0,05$) entre si. Para BMX Força RR, o tratamento com uma aplicação de fungicida no estágio V8 não diferiu dos tratamentos inoculados, onde os menores índices de produtividade foram observados. Na cultivar NA 5909 RG não houve diferença estatística entre os tratamentos inoculados em V8 e em V8 e R4. No entanto, o tratamento inoculado duas vezes, nos estádios V8 e em R4 apresentou redução significativa na produtividade ($P < 0,05$). A cultivar BRS 295 RR apresentou diferenças significativas entre os tratamentos inoculados e pulverizados com fungicida, sendo observada maiores produtividades nos tratamentos pulverizados.

Os dados de severidade da última avaliação dos dois experimentos foram relacionados com a produtividade. Não foi encontrada correlação entre os valores de severidade e produtividade em nenhuma cultivar (Figura 17). Este resultado está de acordo com Guerzoni (2001) e Martins (2003) os quais afirmam não existir correlação entre a severidade de doenças de final de ciclo (DFC) e a produção na cultura da soja. Os autores concluíram que a severidade da DFC não é um bom parâmetro para estimar reduções no rendimento na cultura da soja devido à falta de relação direta da severidade com componentes de produção.

Segundo Squire (1990) a relação entre doença e produtividade muitas vezes não é satisfatória, o que pode ser explicado pelo fato de que a produção pode variar

em diferentes locais devido a fatores edafoclimáticos. O efeito da doença, considerada isoladamente, é diferente quando ocorre precoce ou tardiamente no ciclo da cultura.

Tabela 11 - Severidade máxima da mancha-alvo (*C. cassicola*) e produtividade (Kg ha^{-1}) na cultura da soja nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295RR, semeadas em 02/11/11⁽¹⁾ e em 08/12/11⁽²⁾ nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Cultivar	Tratamento/ Estádio fenológico	Severidade (%) ^{(1)**}	Severidade (%) ⁽²⁾	Produtividade (Kg ha^{-1}) ⁽¹⁾	Produtividade (Kg ha^{-1}) ⁽²⁾
BMX Potência RR	Inoculação (V8)	26,37 a	12,45 a	3496 ^{ns}	1935 a
	Inoculação (R4)	30,62 a	15,27 a	3231	2396 b
	Inoculação (V8 e R4)	32,75 a	12,55 a	3277	2634 c
	Fungicida (V8) *	3,10 b	2,10 b	3254	2948 c
	Fungicida (V8 e R4)	1,78 b	1,45 b	3682	2862 c
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	2,42 b	1,67 b	3519	2934 c
CV %	--	22,69	21,69	11,89	10,15
BMX Força RR	Inoculação (V8)	33,61 a	9,80 a	3403 a	2752 a
	Inoculação (R4)	35,60 a	11,50 a	3542 a	2651 a
	Inoculação (V8 e R4)	36,67 a	12,50 a	3562 a	2438 a
	Fungicida (V8)	3,11 b	2,75 b	2985 b	2651 a
	Fungicida (V8 e R4)	3,96 b	1,18 b	2861 b	2967 b
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	3,88 b	1,20 b	3085 b	2992 b
CV %	--	11,51	19,00	9,35	7,73
NA 5909 RG	Inoculação (V8)	33,69 a	13,00 a	2987 ^{ns}	2799 c
	Inoculação (R4)	35,61 a	12,25 a	3519	2738 c
	Inoculação (V8 e R4)	37,40 a	13,75 a	3350	2042 a
	Fungicida (V8)	12,90 b	1,75 b	3112	3037 c
	Fungicida (V8 e R4)	4,07 c	1,30 b	3264	2642 c
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	8,16 c	1,05 b	3433	2442 b
CV %	--	12,28	23,21	10,97	8,92
BRS 295 RR	Inoculação (V8)	30,41 a	11,65 a	3171	2078 a
	Inoculação (R4)	30,52 a	12,00 a	3106	2056 a
	Inoculação (V8 e R4)	31,79 a	13,95 a	3467	1967 a
	Fungicida (V8)	3,56 b	2,20 b	2749	2229 b
	Fungicida (V8 e R4)	2,51 b	1,47 b	3250	2194 b
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	3,11 b	2,22 b	3491	2280 b
CV %	--	20,58	10,11	18,21	7,01

** Letras seguidas na mesma coluna, não diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

* Fungicida: piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapyroxad + adjuvante ($0,8 \text{ L ha}^{-1} + 0,5 \text{ L ha}^{-1}$).

Figura 17 - Severidade máxima da mancha-alvo da soja e produtividade (kg ha^{-1}) nas cultivares (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos causados pela mancha-alvo (*C. cassiicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Os valores de AACPD apresentaram valores bem distribuídos de doença em plantas inoculadas com o patógeno e pulverizadas com fungicida com variação de 0 a 500 unidades de área, condição importante para a obtenção de uma função de dano.

A partir da análise conjunta dos dados de AACPD dos dois experimentos (duas épocas de semeadura) e produtividade, não foi observada correlação entre a produtividade e a AACPD (Figura 18). Uma hipótese que pode explicar a falta de relação entre doença e produtividade nestes experimentos foi o fato da doença ocorrer com maior intensidade nas folhas baixas, as quais caem naturalmente das plantas antes que possam ser um fator prejudicial à produção. Outra hipótese pode estar relacionada à capacidade fotossintética, que teoricamente não é alterada pela

doença, já que a mesma se instala nas folhas do terço inferior da planta, e a fotossíntese é realizada com maior intensidade pelas folhas superiores, pois recebem a radiação solar diretamente.

A falta de relação entre AACPD e produtividade pode ser resultante da falta de estimativa de desfolha, bem como pela desfolha ocasionada pela doença e pelo hábito de crescimento indeterminado do hospedeiro (BERGAMIN FILHO et al., 1997). Os autores Waggoner e Berger (1987) sugerem que a AACPD não fornece informações sobre a duração da área foliar e insolação absorvida pela planta, assim, plantas com severidade semelhante, mas com diferentes áreas foliares apresentam diferentes potenciais de produção. Outros autores obtiveram resultados semelhantes para a cultura do feijoeiro (DIAZ et al., 2001; GODOY, 1995; CARNEIRO, 1995; FERNANDES-BUZZERIO, 2001).

Embora a ausência de relação seja mais comumente observada em estudos de quantificação de danos, resultados contraditórios têm sido observados em outros patossistemas. Leite (2002) observou relação entre AACPD da mancha de alternaria e rendimento de aquênios de girassol, a qual foi descrita pelo modelo exponencial negativo. Outra constatação é no patossistema *Erysiphe diffusa* x soja, onde se observou relação negativa entre AACPD e produção fato este, devido à diferença de severidade observada e também da época de ocorrência da doença (GODOY; CANTERI, 2004). Para o patossistema *Phakopsora pachyrhizi* x soja, Hikishima et al. (2010) observaram que a produtividade apresentou relação linear negativa com a AACPD, com coeficientes de determinação variando de 85,9% a 95,2%. Yang et al. (1991) encontraram alta correlação da AACPD com a produtividade no mesmo patossistema, com R^2 variando de 89% a 95%.

Figura 18 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e produtividade (kg ha^{-1}) nas cultivares (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C. cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Linhas representam ajuste do modelo linear

4.5.3 Índice de área foliar (LAI), índice de área foliar sadia (HLAI), área abaixo da curva de progresso do índice de área foliar sadia (AULAIPC) e índice vegetativo da diferença normalizada (NDVI) x produtividade

Os valores de LAI e HLAI obtidos das avaliações de área foliar, realizadas em R2, R4 e em R5.3 foram plotadas em gráficos para as cultivares nas duas épocas de semeadura (Figura 19). Os maiores valores de LAI foram observados no estágio reprodutivo R4, para todas as cultivares, sendo o maior valor observado na cultivar BMX Força RR, na primeira época de semeadura (Figura 19B). Na segunda época de semeadura, os valores de LAI em R5.3 foram em média 40% menores do que os valores observados em R4, principalmente para a cultivar NA 5909 RG (Figura 19C) em função da desfolha precoce provocada pelo estresse hídrico.

A redução na área foliar das cultivares na segunda época pode estar relacionada com a época de semeadura, que teoricamente é tardia para essas cultivares, as quais possuem como época preferencial de semeadura os meses de outubro e novembro. A mudança na época ideal de semeadura pode afetar a quantidade de incidência de luz requerida sobre a planta, afetando seu florescimento e desenvolvimento. Neste experimento, a semeadura tardia foi uma opção, pois plantas semeadas após o período convencional são mais passíveis à incidência de doenças, devido ao inóculo oriundo de outras plantas de soja da mesma área e de áreas próximas. No entanto, neste trabalho, plantas da segunda época de semeadura apresentaram menores índices de severidade em relação à primeira época de semeadura.

Os valores de HLAÍ foram muito próximos aos valores de LAÍ, o que pode ser explicado pelos baixos níveis de severidade e também por ocorrer apenas nas folhas baixas, sendo assim, a parte superior ficou livre de sintomas e, para o cálculo do HLAÍ, utilizou-se a severidade total de cada planta, reduzindo então, pela metade a severidade quantificada. De acordo com Canteri (1998), altos valores de HLAÍ podem ocorrer devido à alta fertilidade da área experimental, à homogeneidade da área experimental ou também devido aos baixos níveis de severidade.

Figura 19 - Índice de área foliar (LAI) e índice de área foliar sadia (HLAI) em diferentes estádios fenológicos da cultura da soja nas cultivares (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (● e ○) e 08 de dezembro de 2011 (▲ e △) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C. cassiicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

O índice de área foliar sadia (HLAI) obtido da média dos tratamentos da última avaliação (estádio R5.3) dos dois experimentos foi correlacionado com a produtividade de cada cultivar. Observou-se correlação significativa ($P < 0,05$) entre HLAI e produtividade para as cultivares BMX Potência RR e NA 5909 RG com R^2 de 0,30 e 0,65, respectivamente, descrita por regressão linear simples, inferindo que a mancha-alvo afeta a área foliar nestas cultivares (Figura 20 e Tabela 12). Os índices de HLAI foram maiores na primeira época de semeadura, com valores 3 a 7 unidades de HLAI.

Fernandes-Buzzerio (2001) estudando o patossistema *Phaeoisariopsis griseola* x feijão encontrou correlação entre HLAI x produção a partir de regressões lineares com passagem forçada pela origem. Bergamin Filho et al. (1997) e Carneiro

(1995) conseguiram resultados semelhantes para o mesmo patossistema. Neste último caso, foi relatada a relação do HLAI com número de vagens/planta e produção de plantas individualizadas em diferentes datas durante o ciclo da cultura. Para o patossistema *Uromyces appendiculatus* x feijoeiro a variável HLAI foi considerada adequada para a tomada de decisão dentro de um sistema integrado de doenças desta cultura (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Na cultura do girassol também foi constatada a relação de HLAI com produção, sob a influência da mancha de alternaria (LEITE, 2002). Schmidt (2009) conclui que HLAI obteve melhores valores de R^2 comparado com a AACPD no patossistema *P. pachyrhizi* x soja, porém, devido à alta variação das taxas da regressão entre as cultivares e estádios fenológicos, a variável HLAI não foi recomendada para quantificar danos.

Neste experimento os valores dos coeficientes angulares (taxas das regressões) resultantes da relação entre HLAI x produtividade para as cultivares BMX Potência RR e NA 5909 RG, para os dois experimentos, não foram suficientes para comprovar que o HLAI pode ser utilizado para estimar a função de dano, pois não foi possível verificar se os dados mostraram tendência de estabilização com apenas três avaliações de HLAI. No entanto, observando os baixos valores de R^2 obtidos para as duas cultivares e somando ao fato de que existiu uma variação nas taxas das regressões obtidas nas três avaliações de HLAI, pode-se inferir que este parâmetro não seja indicado para a tomada de decisão para manejo nesse patossistema, nas condições em que foram realizadas esse experimento (Figura 21).

A integração do índice de área foliar (AULAIPC) foi a variável que mais se correlacionou com a produtividade dos grãos, sendo esta relação explicada por regressões lineares significativas ($P < 0,05$) para todas as cultivares (Figura 22). As produtividades das quatro cultivares utilizadas neste experimento apresentaram correlação positiva com a AULAIPC, embora os coeficientes de determinação tenham sido baixos ($R^2 = 0,30$ - BMX Potência RR, $R^2 = 0,18$ - BMX Força RR, $R^2 = 0,66$ - NA 5909 RG e $R^2 = 0,45$ - BRS 295RR).

Para o patossistema feijoeiro x *Phaeoisariopsis griseola* a AULAIPC também apresentou correlação positiva com a produtividade, além do número de vagens/planta, do número de sementes/vagem e do peso de 100 sementes (GODOY, 1995; CARNEIRO, 1995).

Figura 20 - Índice de área foliar sadia (HLAI) e produtividade (kg ha⁻¹) em plantas com a incidência da mancha-alvo da soja nas cultivares (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Linhas representam ajuste do modelo linear

Figura 21 - Relação entre coeficientes angulares das regressões lineares entre HLAI x produtividade obtidos da média dos valores de duas épocas de semeadura nos estádios fenológicos R2, R4 e R5.3 para as cultivares BMX Potência RR (A) e NA 5909 RG (B) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Figura 22 - Área abaixo da curva de progresso do índice da área foliar (AULAIPC) e produtividade (kg ha^{-1}) em plantas com a incidência da mancha-alvo da soja nas cultivares (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C. cassiicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Linhas representam ajuste do modelo linear

Com os dados obtidos do índice vegetativo da diferença normalizada (NDVI), o qual se relaciona com a desfolha, foi possível observar diferenças entre as duas épocas de semeaduras (Figura 23). Os valores mais próximos de 1,0 (ou 100%) indicam maior índice de área foliar captado pelo aparelho medidor da refletância. Na primeira e segunda época de semeadura não foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os valores de NDVI das avaliações aos 112, 177 e 122 dias após a semeadura entre os tratamentos, para nenhuma cultivar (Apêndice A e B). Na avaliação aos 112 dias na primeira época de semeadura a média dos tratamentos para a cultivar BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR foi de 0,50, 0,38, 0,30 e 0,5, respectivamente. Aos 122 dias, 10 dias após a primeira

avaliação, os valores de desfolha final foram reduzidos em 84% para todas as cultivares, exceto para NA 5909 RG em que a redução foi 100%.

Na segunda época de semeadura, a primeira avaliação foi realizada aos 101 dias após a semeadura, no estágio R5.3. Os maiores valores de NDVI foram observados para as cultivares BMX Potência e BRS 295 RR, sendo próximos de 0,4 (ou 40 %), diferente da cultivar NA 5909 RG a qual apresentou NDVI igual a 0,15, ou seja, apresentou redução de 62%. Após cinco dias, o índice obtido na avaliação aos 101 dias após a semeadura apresentou redução de 98 a 100%, para todas as cultivares

Como os valores de NDVI entre plantas com alta severidade e plantas com severidade baixa ou nula não diferiram entre si, pode-se inferir que a desfolha neste experimento foi ocasionada pela senescência natural das plantas, não apresentando relação com a doença.

Figura 23 - Índice vegetativo da diferença normalizada (NDVI) nas avaliações aos 112, 117 e 122 dias após a semeadura da cultura da soja, para as cultivares BMX Potência RR (A e E), BMX Força RR (B e F), NA 5909 RG (C e G) e BRS 295RR (D e H) em duas épocas de semeadura (A - D - semeadura em 02/11/11 e E- H- semeadura em 02/12/11) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Cada barra corresponde a média dos tratamentos em cada avaliação

Outros autores relataram a relação do NDVI com a produtividade ocasionada pela incidência de doenças. Hikishima et al. (2010) observaram alta relação da variável NDVI com a produtividade da cultura da soja sob efeito da ferrugem asiática

em diferentes experimentos (duas épocas de semeadura e duas safras agrícolas). Neste estudo, o NDVI apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com e sem controle da doença quando as culturas encontravam-se nos estádios R5.5 na primeira safra e R5.4 na segunda safra. Nesses estádios, as parcelas sem controle da doença na primeira safra apresentavam em média 28% (primeira época) e 41% (segunda época) de severidade, enquanto no experimento da segunda safra, a severidade média das parcelas sem controle foi de 79% e 80%, para a primeira e segunda época, respectivamente. A relação entre a refletância, representada pelo NDVI nos estádios de enchimento de grãos, foi significativa em todos os ensaios.

Tabela 12 - Coeficiente de determinação (R^2), nível de significância (P), parâmetros e respectivos erros estimados da equação da regressão $Y = b_0 + b_1 * X$ onde Y representa a produtividade (Kg ha^{-1}) e X as variáveis HLAI e AULAIPC nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295RR nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Componente	Cultivar	Parâmetros		R^2	P
		b_0 (erro)	b_1 (erro)		
HLAI	BMX Potência RR	2265,56 (278,78)	219,56 (77,58)	0,21	0,001
	BMX Força RR	-	-	-	0,570
	NA 5909 RG	2386,82 (128,08)	234,67 (39,63)	0,53	<0,001
	BRS 295RR	-	-	-	0,090
AULAIPC	BMX Potência RR	1431,24 (442,93)	8,39 (2,01)	0,37	0,001
	BMX Força RR	2353,51 (277,54)	3,26 (1,16)	0,18	0,001
	NA 5909 RG	1280,92 (236151,08)	8,57 (1,12)	0,66	<0,001
	BRS 295RR	870,64 (312,72)	8,93 (1,77)	0,45	<0,001

(-) dados não significativos

4.5.4 HAD e HAA x produtividade

Os valores da duração da área foliar sadia - HAD e absorção da área foliar sadia (HAA) não diferiram significativamente entre os tratamentos com plantas inoculadas e plantas pulverizadas com fungicidas (dados não apresentados) e a média destes tratamentos foram semelhantes entre as cultivares nas duas épocas de semeadura (Figura 24 e Figura 26). A interação HAD x produtividade não foi

constatada entre as cultivares, exceto para a cultivar Nidera 5909 RG, porém, com coeficiente de determinação muito baixo ($R^2=0,22$) (Figura 25 e Tabela 13). Quando se utiliza diferentes cultivares, fatores como o hábito de crescimento e potencial de produção da área foliar pode influenciar a relação entre HAD e HAA e a produção (CARNEIRO,1995).

A variável HAA não se relacionou significativamente com os dados de produtividade das cultivares (Figura 27). Este resultado pode ser atribuído à baixa quantidade de doença observada nos experimentos, a qual não foi suficiente para observar dano, e também própria característica desta doença de ocorrer de forma intensa e localizada nas folhas mais velhas.

Martins (2003) obteve resultados semelhantes estudando as doenças de final de ciclo na cultura da soja, em que a autora não observou relação entre a HAD com a produção, em três anos experimentais. A autora atribui este resultado às pulverizações com fungicida, que podem ter interferido na quantidade final de doença. Os valores médios de severidade das plantas de soja para os três anos experimentais variou de 6,9 % a 9,6%. A produtividade nos três anos experimentais foi muito semelhante, independente da duração da área folia sadia. No entanto, quando a produção foi correlacionada com a absorção da área foliar sadia - HAA, encontrou-se correlação positiva.

Em outros patossistemas, principalmente em plantas de ciclo indeterminado, encontrar uma relação funcional entre produção com variáveis relacionadas à área sadia do hospedeiro é muito comum, principalmente quando a relação doença x produtividade é inexistente.

Na cultura da soja sob influência da ferrugem asiática a produtividade apresentou aumento com o incremento da HAD e da HAA, confirmando a possibilidade de uso destas variáveis para estimar os danos (KOGA; GODOY; CANTERI, 2007; YANG,1992). Schmidt (2009) estudou o mesmo patossistema e concluiu que a HAA apresentou melhor relação com a produção dos grãos quando comparado ao HAD. De acordo com Bryson et al. (1997) a HAD apresenta desvantagem pois não leva em consideração o tamanho das folhas e nem a diminuição do efeito do aumento do tamanho do dossel na proporção de radiação interceptada. O HAD estima apenas a área foliar sadia total, diferente do HAA que considera a energia absorvida pelas plantas, além de levar em consideração a radiação total incidente sobre a cultura,

Outros autores relataram que a utilização das variáveis HAD e HAA é útil na determinação de danos e podem auxiliar em programas de manejo integrado de doenças. Na cultura do feijoeiro são inúmeros trabalhos (GODOY, 1995; CARNEIRO, 1995; BERGAMIN FILHO et al., 1997; CANTERI, 1998, DÍAZ et al., 2001; FERNANDES-BUZZERIO, 2001; SILVA, 1998). Em outras culturas, como batata (ROTEM; BASCHI; KRANZ, 1983) e girassol (LEITE, 2002), esta relação também foi observada.

Figura 24 - Duração da área foliar sadia (HAD - *Healthy area duration*) em dias para as cultivares BMX Potência BMX RR, Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR em duas épocas de semeadura (A - semeadura em 02/11/11 e B- semeadura em 02/12/11) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C. cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Cada barra corresponde a média dos tratamentos em cada avaliação

Figura 25 - Duração da área foliar sadia (*HAD* - *Healthy area duration*) em dias e produtividade (kg ha⁻¹) em plantas com a incidência da mancha-alvo da soja nas (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Linhas representam ajuste do modelo linear

Figura 26 - Absorção da área foliar sadia (*HAA* - *Healthy area absorption*) em MJ m⁻² para as cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR em duas épocas de semeadura (A - semeadura em 02/11/11 e B- semeadura em 02/12/11) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012. Cada barra corresponde a média dos tratamentos em cada avaliação

Figura 27 - Absorção da área foliar sadia (HAA - *Healthy area absorption*) em MJ m⁻² e produtividade (kg ha⁻¹) em plantas com a incidência da mancha-alvo da soja nas (A) BMX Potência RR, (B) BMX Força RR, (C) NA 5909 RG e (D) BRS 295RR semeadas em 02 de novembro de 2011 (•) e 08 de dezembro de 2011 (°) nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Tabela 13 - Coeficiente de determinação (R²), nível de significância (P), parâmetros e respectivos erros estimados da equação da regressão $Y = b_0 + b_1 * X$ onde Y representa a produtividade (Kg ha⁻¹) e X o componente HAD e HAA nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, PR, safra 2011/2012

Componente	Cultivar	Parâmetros		R ²	P
		b ₀ (erro)	b ₁ (erro)		
HAD	BMX Potência RR	-	-	-	0,486
	BMX Força RR	-	-	-	0,163
	NA 5909 RG	1398,88 (460,53)	8,22 (2,79)	0,22	0,006
	BRS 295 RR	-	-	-	0,396
HAA	BMX Potência RR	-	-	-	0,500
	BMX Força RR	-	-	-	0,655
	NA 5909 RR	-	-	-	0,423
	BRS 295 RR	-	-	-	0,089

(-) dados não significativos

5 CONCLUSÕES GERAIS

- Ensaio *in vitro*:

- i) A temperatura mínima e máxima estimada pela função beta generalizada para proporcionar o crescimento micelial *in vitro* de *C.cassicola* foi de 6,9°C a 33°C, demonstrando que os diferentes isolados crescem em ampla faixa de temperatura. A temperatura ótima média foi de 25°C;
- ii) A esporulação dos conídios foi variável para cada isolado em meio BDA e Czapek;
- iii) A germinação de conídios de *C. cassicola* na superfície foliar foi constatada a partir de 6 horas de molhamento foliar contínuo.

- Componentes monocíclicos da mancha-alvo na cultura da soja:

- iv) A temperatura mínima, máxima e ótima capazes de promover o desenvolvimento da mancha-alvo em folhas de soja foram 18°C, 32°C e 27°C respectivamente;
- v) O período de molhamento foliar contínuo de 48 horas resultou em maior severidade, maior número e diâmetro de lesões da doença.

- Quantificação de danos do patossistema *C.cassicola* - soja:

- vi) A severidade e a área abaixo de curva de progresso da doença (AACPD) não apresentaram correlações com a produtividade das cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 NG e BRS 295 RR;
- vii) Valores de severidade de até 37% no dossel inferior não causam danos no patossistema *C.cassicola* - soja nas cultivares estudadas;
- viii) Variáveis relacionadas à área foliar, como a área foliar sadia (HLAI) e a área abaixo da curva de progresso do índice de área foliar (AULAIPC) apresentaram correlação com a produtividade e podem ser úteis para estudos futuros de quantificação de danos para este patossistema.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 3th. San Diego: Academic Press, 1988. 803p.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th. San Diego: Academic Press, 2005. 922p.
- ALMEIDA, A.M.R.; MACHADO, C.C.; FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S. Ocorrência de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.1, n.1, p. 111 -112, 1976.
- ALMEIDA, A.M.R.; YAMASHITA, J. Crescimento e esporulação de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 3, p. 203-206, 1976.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. cap.61, v.2, p. 569-588.
- ALVES, S. **Quantificação de parâmetros da pré-penetração e monocíclicos relacionados ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja**. 2007. 67p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; GODOY, C.V.; IMAUTI, M.T.; NUNES, W.M.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Avaliação de danos na cultura do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.21, p.82-84, 1995.
- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S.F. Ciclo das relações planta- patógeno. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. cap. 4, p. 59-100.
- AQUINO, V.M.; SHOKES, F.M.; BERGER, R.D.; GORBET, D.W.; KUCHARÉK, T.A. Relationships among late leafspot, healthy leaf area duration, canopy reflectance, and pod yield of peanut. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, p. 546-552, 1992.
- AVOZANI, A. **Sensibilidade de *Corynespora cassiicola* isolados da soja à fungicidas *in vitro***. 2011. 135p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2011.
- BASSANEZI, R.B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B. Effects of line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. **Plant Pathology**, Oxford, v. 47, p.289-298, 1998.
- BASTIAANS, L. Effects of leaf blast on photosynthesis of rice. **Netherland Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.99, p.197-203, 1993.

BEDENDO, I.P. Ambiente e Doença. In: Bergamin FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. cap.18, v.1, p. 331-341.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 299p.

BERGAMIN FILHO, A.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGER, R.; HAU, B. Angular leaf spot of *Phaseolus* bean: relationships between disease, healthy area, and yield. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 506-515, 1997.

BISSONNETTE, S.M.; DARCY, C.J.; PEDERSEN, W.L. Yield loss in two spring oat cultivars due to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in the presence or absence of barley yellow dwarf virus. **Phytopathology**, St. Paul, v.84, p.363-371, 1994

BRYSON, R.J.; PAVELEY, N.D.; CLARK, W.S.; SYLVESTER-BRADLEY, R.; SCOTT, R.K. Use of in-field measurements of green leaf area and incident radiation to estimate the effects of yellow rust epidemics on the yield of winter wheat. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v.7, p.53-62, 1997.

CÂMARA, G.M.S. **Soja: Tecnologia da produção**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2000. 450p.

CAMERA, J.N. **Patogenicidade, esporulação e interação entre temperatura e período de molhamento foliar na intensidade da mancha foliar “olho de rã” em soja**. 2012. 117p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley, 1990. 532p.

CANTERI, M.G. **Uso de medidas da área foliar sadia e refletância no manejo da mancha angular do feijoeiro**. 1998. 81p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. **Quantificação de danos causados por *Phaeoisariopsis griseola* em feijoeiro no município de Londrina – PR**. 1995. 102p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q.; SILVA, R.A. **Doenças da soja**. São Paulo: Cheminova Brasil. 2010. 57p.

CELOTO, M.I.B. **Fisiologia e manejo de *Corynespora cassiicola* (Berk & M.A. Curtis) C.T. Wei, causador da mancha-alvo na cultura da acerola (*Malpighia emarginata*)**. 2009. 132p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2009,

CHEE, K.H. Studies on sporulation, pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassiicola* on *Hevea rubber*. **Journal of Natural Rubber Research**, Kuala Lumpur, v.3, p-21-29, 1988.

CHRISTIANO, R.S.C. **Componentes monóclicos do cancro cítrico no sistema *Xanthomonas axonopodis* pv. Citri-limão tahiti- *Phyllocnistis citrella*, sob condições controladas**. 2003. 115p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CHRISTIANO, R.S.C.; DALLA PRIA, M.; JESUS JUNIOR, W.C.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Modelling the progress of Asiatic citrus canker on Tahiti lime in relation to temperature and leaf wetness. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.124, p 1-7, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra 2009/2010- Grãos**. Brasília: quarto levantamento, 2010. 39p.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra 2010/2011- Grãos**. Brasília: quarto levantamento, 2011. 40p.

COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra 2011/2012- Grãos**. Brasília: quarto levantamento, 2012. 36p.

CUTRIM, F.A.; SILVA, G.S. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a diferentes espécies de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 193-194, 2003.

DALLA PRIA, M. **Quantificação de parâmetros monocíclicos da antracnose e da mancha angular do feijoeiro**. 1997. 82p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

DALL'GNOL, A.; The impact of soybeans on the brazilian economy. In: **Technical information for agriculture**. São Paulo: Máquinas Agrícolas Jacto, 2000. p.17.

DÍAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V.; LOPES, D.B.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do crestamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.1, p. 71-76, 2001.

DO VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. Quant a software for plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch New Zealand. **Abstract...** Christchurch: 2003. Abstract 105.

DO VALE, F.X.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Editora Perfil, 2004. 531p.

DUNG, T.P. **Studies on *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei on rubber.** 1995. 25p. Dissertation (Plant pathology) - Universiti Putra Malaysia, Selangor Darul Ehsan, 1995.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja 4 - Região Central do Brasil.** Londrina, 2003. 237p

EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa em soja. **Eficiência de fungicidas para o controle da mancha-alvo - *Corynespora cassiicola*, na safra 2011/12:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa soja, 2012. 6p. (Circular Técnica, 94.)

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y.; PALM, M.E.; MCCRAY, E.B. **Fungal databases.** Systematic Botany and Mycology Laboratory, ARS, USDA, 2007. Disponível em: http://nt.arsgrin.gov/fungal_databases/. Acesso em: 8 nov.2011.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development.** Ames: State University of Science and Technology, 1977. 11p. (Special report, 80)

FERNANDES-BUZZERIO, N. **Ferrugem e mancha angular do feijoeiro: efeito de fungicidas no desenvolvimento do hospedeiro e no progresso das doenças.** 2001. 136p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

FULMER, A.M.; WALLS, J.T.; DUTTA, B.; PARKUNAN, V.; BROCK, J.; KEMERAIT J, R, C. First report of target spot caused by *Corynespora cassiicola* on cotton in Georgia. **Coastal Plain Experiment Station**, Georgia, v.96, n.7, p.1066, 2012.

GAUNT, R.E. The relationship between plant disease severity and yield. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.33, p.119-144, 1995.

GODOY, C.V. **Danos causados pela mancha angular em feijoeiro, no município de Piracicaba.** 1995. 72p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

GODOY, C.V.; CANTERI, M.G. Efeito da severidade de oídio e crestamento foliar de cercospora na produtividade da cultura da soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n.5, p. 526-531, 2004.

GOMES, P. **A soja.** 5 ed. São Paulo: Nobel, 1990. 149p.

GOODWIN, P.H. Effects of common bacterial blight on leaf photosynthesis of bean. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.14, p. 203-206, 1992.

GUERZONI, R.A. **Efeito das doenças foliares de final de ciclo (*Septoria glycines* Hemmi e *Cercospora kikuchii* (Matsu & Tomoyasu) Gardner) na duração da área foliar sadia da soja.** 2001. 49p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

HARTWIG, E.E. Effect of target spot on yield of soybeans. **Plant Disease**, St. Paul, v.43, p.504-505, 1959.

HENNING, A.A.; ALMEIDA, A.M.R.; GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; YORINORI, J.T.; COSTAMILAN, L.M.; FERREIRA, L.P.; MEYER, M.C.; SOARES, R.M. **Manual de identificação de doenças da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 72p. (Documentos, 256).

HIKISHIMA, M.; CANTERI, M.G.; GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; SILVA, A.J. Quantificação de danos e relações entre severidade, medidas de refletância e produtividade no patossistema ferrugem asiática da soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.35, n.2, p. 96-103, 2010.

JESUS JUNIOR, W.C.; DO VALE, F.X.R.; R.R, COELHO.; B,HAU.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, C.; BERGAMIN FILHO, A. Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology**, St. Paul, v.91, p.1045-1053, 2001.

JONHSON, K.B. Defoliation, disease and growth: a reply. **Phytopathology**, St.Paul, v.77, p. 1495-1497, 1987.

KINGSLAND, G.C. Pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassiicola* in the Republic of Seychelles. **Tropical Pest Management**, London, v. 32, n. 4, p. 283-287, 1986.

KITAJIMA, E.W; TANAKA, F.A.O. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. Piracicaba: NAP/MEPA ESALQ, 2001. 1 CD-ROM.

KNOW, J.H.; PARK, C.S. Leaf spot of cotton rose by *Corynespora cassiicola* in Korea. **Microbiology**, New York, v.31, n.1, p.57-59, 2003.

KOGA, L.J.; CANTERI, M.G.; GODOY, C.V. Relação entre medidas de refletância e área foliar sadia, severidade da ferrugem asiática e produtividade da cultura da soja. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.4, p.571-580, 2007.

KUROSAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças das Cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005, v. 2, p. 293-302.2005

KWON, M.K.; KANG, B.R.; CHO, B.H.; KIM, Y.C. Occurrence of target leaf spot disease caused by *Corynespora cassiicola* on cucumber in Korea. **Plant Pathology**, Oxford, v.52, p.424, 2003.

LAMOTTE, F.; DUVIAU, M.P.; SANIER, C.; THAI, R.; PONCET, J.; BIEYSSE, D.; BRETON, F.; PUJADE-RENAUD, V. Purification and characterization of cassiicolin, the toxin produced by *Corynespora cassiicola*, causal agent of the leaf fall disease of rubber tree. **Journal Chromatografy Biological analyst technology biomedical life science**, Amsterdam, v. 849, n.1-2, p.357-362, 2007.

LEITE, R.M.V.B.C. **Avaliação de danos e efeito de variáveis ambientais na mancha de alternaria (*Alternaria helianthi*) em girassol**. 2002. 107p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

LEITE, R.M.V.B.C.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Relationship of disease and leaf area variables with yield in the *Alternaria helianthi*-sunflower pathosystem. **Plant Pathology**, St. Paul, v.55, p.73-81, 2006.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. **Doenças do Tomateiro**. Brasília: CNPHortaliças, 2005. 151p.

LUSTOSA, D.C. ***Corynespora cassiicola* e *Cercospora* sp. como agentes potenciais para o controle biológico de *Commelina benghalensis***. 2001. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Viçosa, Viçosa, 2001.

MADDEN, L.; NUTTER JUNIOR, F.W. Modeling crop losses at the field scale. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v.17, p.124-137, 1995.

MALVICK, D. **Fungus foliage diseases of soybeans**. University of Illinois Extension, 2004. (Report on Plant Disease, 503.).

MARTINS, M.C. **Produtividade da soja sob influência de ocorrência natural de *Septoria glycines* Hemmi e *Cercospora kikuchii* (Matsu & Tomayasu) Gardner com e sem o controle químico**. 2003. 116p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MAY DE MIO, L.L.; AMORIM, L. Influência da temperatura e da duração do molhamento foliar nos componentes monocíclicos da ferrugem do álamo. **Summa Phytopathologica, Botucatu**, v.28, n.1, p.33-40, 2002.

MELO, M.M. **Produção de esporos e inoculação de *Corynespora cassiicola* em soja**. 2009. 76p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Univesidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A. F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 569p.

OLIVE, L. S.; BAIN, D. C.; LEFEBVRE, C. L. A leaf spot of cowpea and soybean caused by undescribed species of *Helminthosporium*. **Phytopathology**, St. Paul, v.35, p.822-831, 1945.

OLUMA, H.O.A.; AMUTA, E.U. *Corynespora cassiicola* leaf spot of pawpaw (*Carica papaya* L.) in Nigeria. **Mycopathologica**, Den Haag, v.145, n.1, p.23-27, 1999.

PATAKY, J.K.; HEADRICK, J.M.; SUPARYONO, L. Classification of sweet corn hybrid reactions to common rust, northern leaf-blight, stewart wilt, and goss wilt and associated yield reductions. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, p.172-178, 1988.

PERNEZNY, K.; SIMONE, G.W. **Target spot of several vegetable crops**. University of Florida, 1993. Disponível em: < <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/VH/VH05200.pdf> > Acesso em: 10 maio 2012.

ROTEM, J.; BASCHI, E.; KRANZ, J. Studies of crop loss in potato blight caused by *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, St. Paul, v.32, p.117-122, 1983.

SANTOS, I.P.; CARDOSO, S.S.; POLTRONIERI, L.S.; VERZIGNASSI, J.R.; BENCHIMOL, R.L. Ocorrência de mancha-alvo, causada por *Corynespora cassiicola*, em alface cultivado em hidroponia no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 419, 2007.

SCHMIDT, J. **Yield loss caused by *Phakopsora pachyrhizi* on soybean based on physiological components**. 2009. 98p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de Viçosa, Viçosa, 2009.

SCHUH, W. Influence of temperature and leaf wetness period on conidial germination *in vitro* and infection of *Cercospora kikuchii* on soybean. **Phytopathology**, St. Paul, v.81, p.1315-1318, 1991.

SEAMAN, W.L.; SHOWMAKER, R.A.; PETERSON, E.A. Pathogenecity of *Corynespora cassicola* on soybean. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.43, n.11, p.1461-1469, 1969.

SHIMOMOTO, Y.; ADACHI, R.; MORITA, Y.; YANO, K.; KIBA, A.; KIKICHI, Y.; TAKEUCHI, S. *Corynespora* blight of sweet pepper caused by *Corynespora cassicola* (Berk. & Curt.) Wei. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v.74, n.4, p.335-337, 2008.

SILVA, G. S.; RODRIGUES, A. A. C.; SOARES JÚNIOR, A. C. Mancha de *Corynespora* em acerola (*Malpighia glabra*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n.3, p. 452, 1997.

SILVA, M.B. **Área foliar verde para estimar danos causados por doenças do feijão comum**. 1998. 78p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de Viçosa, Viçosa, 1998.

SILVA, A.C.; LIMA, E.P.C.; BATISTA, H.R. **A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação**. 2011. Disponível em: <http://www.apec.unesc.net/V_eec/sesoes_tematicas/Economia%20rural%20e%20agricultura%20familiar/A%20import%C3%82ncia%20da%20soja%20PARA%20O%20agroneg%C3%93CIO%20brasileiro.pdf>. Acesso em 8 nov. 2011.

SINCLAIR, J.B. **Compendium of Soybean Disease**. 2nd ed. St Paul: The American Phytopathological Society, 1982. 104p

SINCLAIR, J.B.; BACKMAN, P.A. **Compendium of Soybean Disease**. 3rd ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1989. 106p.

SNOW, J.P.; BERGGREN, G.T. Target spot: In: **Compendium of Soybean Diseases**. 3rd ed. St Paul, 1989. 189p.

SPENCER, J.A.; WALTERS, H.J. Variations in certain isolates of *Corynespora cassiicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, p. 58-60, 1969.

SQUIRE, G.R. **The physiology of tropical crop production**. Wallingford: CAB International, 1990. 236p.

SUSSEL, A.A.B.; ZACARONI, A.B. **Clima favorece a ocorrência de doenças fúngicas em soja**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/371/>>. Acesso em: 13 jan. 2012.

TERAMOTO, A. **Caracterização morfológica, fisiológica, isoenzimática e controle de isolados de *Corynespora cassiicola*, agente causal da mancha-alvo**. 2008. 81p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) , Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

USDA - United States Department of Agriculture . **Crop Production, 2011-2012**. Summary, national agricultural statistics service, 2012. 93p.

WAGGONER, P.E.; BERGER, R.D. Defoliation, disease and growth. **Phytopathology**, St.Paul, 77, v.3, 393-398, 1987.

YAN-XIANG,Q.; XIN, Z.; JIN-JI,P.; XIAO-MEI,L.; YING.L.; HE.Z.; HUI-QIANG, Z.; YAN-CHAO,L.; YI-XIAN, X. Morphological and molecular analysis of genetic variability within isolates of *Corynespora cassiicola* from different hosts. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.130, n.1, pp.83-95, 2011.

YANG, X.B.; TSCHANZ, A.T.; DOWLER, W.M.; WANG, T.C..Development of yield loss models in relation to reductions of components of soybeans infected with *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p.1420-1426,1991

YANG,X.B.; DOWLER,W.M.; TSCHANZ,A.T.; WANG.T.C. Comparing the effects of rust on plot yield, plant yield, yield components, and vegetative parts of soybean. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.136, n.1, p.46-56, 1992

YORINORI, J.T. Levantamento e avaliação da situação de doenças da soja na safra 1987/88. In: **Resultados de Pesquisa de soja, 1987/88**. Londrina:Embrapa Soja, 1989. p.158.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and Plant Disease Management**. Oxford: University Press, 1979. 427p

APÊNDICES

Apêndice A - Índice da diferença normalizada (NDVI) aos 112, 117 e 122 dias após a semeadura nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR, semeadas em 02/11/11⁽¹⁾ em diferentes tratamentos nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, P, safra 2011/2012

Cultivar	Tratamento/ Estádio fenológico	NDVI 112 DAS	NDVI 117 DAS	NDVI 122 DAS
BMX Potência RR	Inoculação (V8)	0,50 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,13 ^{ns}
	Inoculação (R4)	0,52	0,31	0,17
	Inoculação (V8 e R4)	0,50	0,33	0,12
	Fungicida (V8)	0,50	0,32	0,19
	Fungicida (V8 e R4)	0,52	0,37	0,23
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,54	0,33	0,19
BMX Força RR	Inoculação (V8)	0,35	0,23	0,16
	Inoculação (R4)	0,34	0,20	0,20
	Inoculação (V8 e R4)	0,37	0,22	0,18
	Fungicida (V8)	0,39	0,23	0,14
	Fungicida (V8 e R4)	0,39	0,24	0,19
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,38	0,24	0,19
NA 5909 RG	Inoculação (V8)	0,33	0,33	0,02
	Inoculação (R4)	0,33	0,33	0,00
	Inoculação (V8 e R4)	0,33	0,33	0,00
	Fungicida (V8)	0,37	0,37	0,00
	Fungicida (V8 e R4)	0,34	0,34	0,00
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,34	0,34	0,01
BRS 295 RR	Inoculação (V8)	0,50	0,32	0,15
	Inoculação (R4)	0,52	0,31	0,18
	Inoculação (V8 e R4)	0,50	0,34	0,18
	Fungicida (V8)	0,50	0,32	0,20
	Fungicida (V8 e R4)	0,52	0,37	0,21
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,54	0,33	0,18

ns: dados não significativos ($P < 0,05$)

DAS: dias após a semeadura

Apêndice B - Índice da diferença normalizada (NDVI) aos 101 e 106 dias após a semeadura nas cultivares BMX Potência RR, BMX Força RR, NA 5909 RG e BRS 295 RR, semeadas em 08/12/11⁽²⁾ em diferentes tratamentos nos ensaios de quantificação de danos por mancha-alvo (*C.cassicola*) na cultura da soja. Londrina, P, safra 2011/2012

Cultivar	Tratamento/ Estádio fenológico	NDVI 101 DAS	NDVI 106 DAS
BMX Potência RR	Inoculação (V8)	0,34 ^{ns}	0,09 ^{ns}
	Inoculação (R4)	0,36	0,08
	Inoculação (V8 e R4)	0,39	0,09
	Fungicida (V8)	0,44	0,12
	Fungicida (V8 e R4)	0,39	0,10
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,38	0,12
BMX Força RR	Inoculação (V8)	0,27	0,03
	Inoculação (R4)	0,25	0,05
	Inoculação (V8 e R4)	0,25	0,05
	Fungicida (V8)	0,27	0,07
	Fungicida (V8 e R4)	0,30	0,06
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,30	0,08
NA 5909 RG	Inoculação (V8)	0,09	0,02
	Inoculação (R4)	0,14	0,00
	Inoculação (V8 e R4)	0,09	0,00
	Fungicida (V8)	0,12	0,00
	Fungicida (V8 e R4)	0,10	0,00
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,12	0,00
BRS 295 RR	Inoculação (V8)	0,44	0,06
	Inoculação (R4)	0,41	0,06
	Inoculação (V8 e R4)	0,41	0,08
	Fungicida (V8)	0,44	0,06
	Fungicida (V8 e R4)	0,47	0,10
	Fungicida (V8, R4 e R5.3)	0,47	0,07

ns: dados não significativos (P<0,05)

DAS: dias após a semeadura