EVANDRO ZACCA FERREIRA

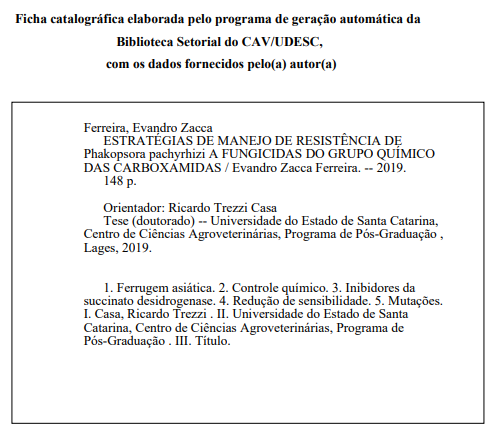
ESTRATÉGIAS DE MANEJO DE RESISTÊNCIA DE *Phakopsora pachyrhizi* A FUNGICIDAS DO GRUPO QUÍMICO DAS CARBOXAMIDAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção vegetal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Produção vegetal.

Orientador: Dr. Ricardo Trezzi Casa

LAGES

2019



**EVANDRO ZACCA FERREIRA**

ESTRATÉGIAS DE MANEJO DE RESISTÊNCIA DE *Phakopsora pachyrhizi* A FUNGICIDAS DO GRUPO QUÍMICO DAS CARBOXAMIDAS

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Produção Vegetal.

**Banca examinadora**

Orientador: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Ricardo Trezzi Casa

UDESC/Lages, SC

Membro: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Dr. Laércio Luiz Hoffmann

Syngenta/Passo Fundo/RS

Membro: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Dr. Leandro Luiz Marcuzzo

IFC/Rio do Sul, SC

Membro: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Dr. Fábio Nascimento da Silva

UDESC/Lages, SC

Membro: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Dr. Luis Sangoi

UDESC/Lages, SC

Lages, Santa Catarina

23 de Agosto de 2019

Dedico a minha mãe, Jane Maria Maciel Zacca. Minha eterna gratidão.

Ofereço à Marta Maria Casa Blum, Ricardo Trezzi Casa, Fernando Gava e àqueles que contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

**AGRADECIMENTOS**

Aos minha mãe e irmã, Jane Maria Zacca Ferreira e Rosane Maria Dias Figueira, pela entrega absoluta e incondicional para minha formação pessoal e profissional.

À minha família, por terem me apoiado sempre nesta jornada.

Ao professor Ricardo Trezzi Casa, pela oportunidade concedida, pela orientação e por todos os conhecimentos técnicos transmitidos.

A coorientadora Marta Maria Casa Blum por todo apoio técnico, confiança, motivação e ensinamentos como pessoa transmitidos durante todo trabalho.

A Fernando Gava pela amizade, parceria no desenvolvimento do trabalho, acreditando no meu potencial como futuro pesquisador na área, sendo em muitos momentos este apoio e motivação essencial para continuidade do trabalho.

Ao professor Fábio Nascimento, pelos ensinamentos e auxílio em todas as questões da parte de genética e biotecnologia.

A Guilherme Pelleti Bueno, André Ludwig, Flávio Schupel Martins, Diego Bevilaqua e Marina Bortoluzzi por toda a ajuda para realização dos experimentos.

Aos demais integrantes do laboratório que de alguma contribuíram na elaboração, construção e/ou condução do trabalho.

A Tiago Miqueloto por ser este grande amigo, e estar apoiando em todos os momentos.

Aos amigos da república arapuca pelos momentos de descontração e diversos, sendo estes de suma importância para conseguir enfrentar as adversidades.

À UDESC, pelo ensino de qualidade e estrutura disponíveis desde a minha graduação até o desenvolvimento dessa Tese.

À FUMDES pela concessão de bolsa de estudo.

A BASF pela parceria, disponibilização da estrutura e custeio das análises.

A todos os funcionários terceirizados da UDESC pela cooperação e amizade.

A todos os professores e colegas do curso de pós-graduação.

A todos que de alguma forma contribuíram na construção deste trabalho.

“Aqueles que não podem mudar de idéia, não podem mudar nada”. (George Bernard Shaw)

**RESUMO**

FERREIRA, Evandro Zacca. **Estratégias de manejo de resistência de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas)**. 2019. 148p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Centro de Ciências Agro-veterinárias - CAV. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal. Lages, 2019.

A redução de sensibilidade de populações de *P. pachyrhizi* a fungicidas,e consequentemente redução de eficiência de controle da doença a nível de campo tem sido um grande desafio para produtores, agrônomos e pesquisadores. Não há informações sobre o efeito de diferentes estratégias de manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas. Os objetivos desta tese foram: 1) Quantificar a eficiência de carboxamidas aplicadas isoladas e/ou em mistura no controle de isolados de *P. pachyrhizi* com a mutação I86F, em diferentes fases do processo de infecção do fungo; 2) Monitorar a ocorrência e distribuição da mutação I86F em populações do patógeno no estado de Santa Catarina; 3) quantificar o efeito de diferentes programas de aplicação de fungicidas na evolução da mutação I86F; 4) verificar o efeito de da utilização de cultivares com resistência genética na frequência da mutação I86F. Foram conduzidos experimentos de avaliação de fungicidas em casa de vegetação, levantamento de populações de *P. pachyrhizi* no estado de Santa Catarina e avaliação de estratégias de manejo de resistência em condições de campo. As avaliações de severidade da doença e quantificação da mutação I86F foram realizadas, nos laboratórios da UDESC/CAV e estação experimental da BASF em Santo Antônio de Posse. Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas apresentaram redução de eficiência de controle da ferrugem asiática com o aumento do número de horas após a inoculação. A adição de fungicidas triazóis a carboxamidas aumenta o controle da doença em pulverizações realizadas após a infecção do patógeno. Aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir resultam em maiores frequências da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi,* quando comparadas a pulverizações de piraclostrobina + fluxapiroxada. O uso de cultivares de soja com a tecnologia Inox reduz a frequência da mutação I86F em populações do patógeno. A mistura do fungicida fenpropimorfo a piraclostrobina + fluxapiroxada reduz a frequência da mutação I86F. A utilização de cultivares com genes de resistência a *P. pachyrhizi* e mistura de morfolina a fungicidas do grupo químico das carboxamidas são estratégias de manejo que permitem reduzir a frequência da mutação I86F.

**Palavras chave:** Ferrugem asiática. Controle químico. Inibidores da succinato desidrogenase. Redução de sensibilidade. Mutações.

**ABSTRACT**

FERREIRA, Evandro Zacca. **Resistance management strategies of *Phakopsora pachyrhizi* the carboxamide chemical group fungicides)**. 2019. 148p. Teshis (Doctorate’s Degree in Plant Science) - Santa Catarina State University - UDESC, Center of Agroveterinarian Science - CAV. Postgraduete Program in Plant Production, Lages, 2019.

Reducing the sensitivity of *P. pachyrhizi* populations to fungicides, and consequently reducing disease control efficiency at field level, has been a major challenge for producers, agronomist engineers and researchers. There is no information on the effect of different resistance management strategies of *P. pachyrhizi* on carboxamide chemical fungicides. This thesis aimed: 1) to quantify the efficiency of applied and/or mixed applied carboxamides in the control of *P. pachyrhizi* isolates with the I86F mutation at different stages of the fungal infection process; 2) to monitor occurrence and distribution of the I86F mutation in pathogen populations in Santa Catarina state, Brazil; 3) to quantify the effect of different fungicide application programs on the evolution of the I86F mutation; and 4) to verify the effect of using genetically resistant cultivars on the frequency of the I86F mutation. Experiments were carried out to evaluate fungicides in greenhouse, survey of *P. pachyrhizi* populations in Santa Catarina state and evaluation of resistance management strategies under field conditions. Disease severity assessments and I86F mutation quantification were performed at the UDESC/CAV laboratories and BASF experimental station in Santo Antônio de Posse, São Paulo state, Brazil. The fungicides of the carboxamide chemical group showed reduction of control efficiency of Soybean Asian Rust by increasing the number of hours after inoculation. The addition of triazole fungicides to carboxamides increases disease control in sprays after pathogen infection. Applications of azoxystrobin + benzovindiflupyr result in higher frequencies of I86F mutation in *P. pachyrhizi* populations when compared to pyraclostrobin + fluxapyroxad sprays. The use of technology Inox soybean cultivars reduces the frequency of the I86F mutation in pathogen populations. Mixing the fenpropimorph fungicide with pyraclostrobin + [fluxapyroxad](https://www.google.com/search?biw=1366&bih=695&q=fluxapyroxad&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwjHso6R_-3jAhW4I7kGHbeeAj4QkeECCC4oAA) reduces the frequency of the I86F mutation. The use of cultivars with resistance genes to *P. pachyrhizi* and morpholine mixture to fungicides of the carboxamide chemical group are very important and significative management strategies to reduce the frequency of I86F mutation.

**Keywords**: Asian soybean rust. Chemical control. Succinate dehydrogenase inhibitors. Sensitivity reduction. Mutations.

**LISTA DE FIGURAS**

[Figura 1 - Mapa do estado de Santa Catarina identificando os locais de coleta de populações de *Phakopsora pachyrhizi*. Lages, 2018........ 91](#_Toc16173058)

[Figura 2 - Mapa do estado de Santa Catarina identificando os locais de coleta de populações de *Phakopsora pachyrhizi* nas quais foi quantificado a mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase. Lages, 2018. 92](#_Toc16173059)

**LISTA DE TABELAS**

[Tabela 1 - Produto comercial, ingrediente ativo e dose de fungicidas aplicados em diferentes fases do processo de infecção do fungo Phakopsora pachyrhizi em plantas de soja. Lages, SC. 2019. 64](#_Toc16173037)

[Tabela 2 - Número de lesões.cm-2 de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas isoladas. Lages, SC. 2017. 66](#_Toc16173038)

[Tabela 3 - Eficiência de controle da ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas isoladas. Lages, SC. 2017. 66](#_Toc16173039)

[Tabela 4 - Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas isoladas proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017. 67](#_Toc16173040)

[Tabela 5 - Número de lesões.cm-2 de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. Lages, SC. 2017. 68](#_Toc16173041)

[Tabela 6 - Controle de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. Lages, SC. 2017. 69](#_Toc16173042)

[Tabela 7 - Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017. 72](#_Toc16173043)

[Tabela 8 - Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas, carboxamidas + estrobilurinas, carboxamidas + estrobilurinas + triazóis/triazolinthione e carboxamidas + estrobilurinas + ditiocarbamato proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017. 73](#_Toc16173044)

[Tabela 9 - Lista de locais de coleta de amostras de folhas de soja infectadas por P. pachyrhzi no estado de Santa Catarina. 88](#_Toc16173045)

[Tabela 10 - Porcentagem de amostras por faixa de valores de frequência da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de P. pachyrhizi. Lages, 2018. 92](#_Toc16173046)

[Tabela 11 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 401 e 600 m. Lages, 2018. 93](#_Toc16173047)

[Tabela 12 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 601 e 800 m. Lages, 2018. 94](#_Toc16173048)

[Tabela 13 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 401 e 600 m. 94](#_Toc16173049)

[Tabela 14 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região do Alto vale do Itajaí. Lages, 2018. 95](#_Toc16173050)

[Tabela 15 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região do planalto catarinense. Lages, 2018. 95](#_Toc16173051)

[Tabela 16 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região oeste. Lages, SC. 96](#_Toc16173052)

[Tabela 17 - Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região extremo oeste. Lages, 2018. 96](#_Toc16173053)

[Tabela 18 - Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas, coletadas aos 14, 28, 42 e 56 dias após a detecção do fungo. Lages, 2019. 108](#_Toc16173054)

[Tabela 19 - Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas no cultivar TMG 7262RR, coletadas aos 17, 35 e 52 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019. 110](#_Toc16173055)

[Tabela 20 - Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas no cultivar BMX Lança IPRO, coletadas aos 17, 35 e 52 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019. 112](#_Toc16173056)

[Tabela 21 - Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes misturas de fungicidas no cultivar BMX Lança IPRO, coletadas aos 14, 28 e 42 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019. 113](#_Toc16173057)

SUMÁRIO

[1 INTRODUÇÃO 25](#_Toc22568213)

[2 FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA (FAS) 28](#_Toc22568214)

[2.1 TAXONOMIA E ETIOLOGIA DO AGENTE CAUSAL 28](#_Toc22568215)

[2.2 EPIDEMIOLOGIA 29](#_Toc22568216)

[2.2.1 Sobrevivência 29](#_Toc22568217)

[2.2.2 Disseminação 30](#_Toc22568218)

[2.2.3 Processos de infecção e fatores do ambiente 30](#_Toc22568219)

[**2.2.3.1** Temperatura 31](#_Toc22568220)

[2.2.3.2 Molhamento foliar 32](#_Toc22568221)

[2.2.3.3 Fotoperíodo e radiação solar 33](#_Toc22568222)

[2.2.3.4 Regime hídrico 33](#_Toc22568223)

[2.2.3.5 Fenologia e idade da folha 34](#_Toc22568224)

[2.2.3.6 Grupos de maturação 35](#_Toc22568225)

[2.3 ANÁLISE DA EPIDEMIOLOGIA DA FAS NO ESTADO DE SANTA CATARINA 35](#_Toc22568226)

[2.4 SINTOMATOLOGIA 36](#_Toc22568227)

[2.5 HOSPEDEIROS 37](#_Toc22568228)

[2.6 DANOS 38](#_Toc22568229)

[2.7 MEDIDAS DE CONTROLE 39](#_Toc22568230)

[2.7.1 Controle cultural 39](#_Toc22568231)

[2.7.1.1 Eliminação de plantas voluntárias e hospedeiros secundários 39](#_Toc22568232)

[2.7.1.2 Época de semeadura 40](#_Toc22568233)

[2.7.1.3 Arranjo de plantas 40](#_Toc22568234)

[2.7.2 Controle genético 41](#_Toc22568235)

[2.7.3 Controle químico 44](#_Toc22568236)

[2.7.3.1 Histórico 44](#_Toc22568237)

[2.7.3.2 Importância do controle químico no manejo da FAS 46](#_Toc22568238)

[2.7.3.3 Risco de resistência a fungicidas 47](#_Toc22568239)

[2.7.3.4 Mecanismos de ação de fungicidas utilizados no controle de P. pachyrhizi 48](#_Toc22568240)

[2.7.3.4.1 Fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis 48](#_Toc22568241)

[2.7.3.4.2 Fungicidas inibidores da quinona externa (IQE) 50](#_Toc22568242)

[2.7.3.4.3 Fungicidas inibidores da succinato desidrogenase 52](#_Toc22568243)

[2.7.3.4.4 Fungicidas multissítios 54](#_Toc22568244)

[3 HIPÓTESES 55](#_Toc22568245)

[3.1 GERAL 55](#_Toc22568246)

[3.2 ESPECÍFICAS 55](#_Toc22568247)

[4 OBJETIVOS 57](#_Toc22568248)

[4.1 GERAL 57](#_Toc22568249)

[4.2. ESPECÍFICOS 57](#_Toc22568250)

[5 DESEMPENHO DE CARBOXAMIDAS NO CONTROLE DE *Phakopsora pachyrhizi* APLICADAS EM DIFERENTES FASES DO PROCESSO DE INFECÇÃO DO PATÓGENO 58](#_Toc22568251)

[5.1 RESUMO 58](#_Toc22568252)

[5.2 INTRODUÇÃO 59](#_Toc22568253)

[5.3 MATERIAIS E MÉTODOS 61](#_Toc22568254)

[5.3.1 População do fungo 62](#_Toc22568255)

[5.3.2 Manutenção do inóculo 62](#_Toc22568256)

[5.3.3 Inoculações 62](#_Toc22568257)

[5.3.4 Aplicações de fungicidas 63](#_Toc22568258)

[5.3.5 Delineamento experimental e tratamentos 63](#_Toc22568259)

[5.3.5.1 Estudo I – carboxamidas isoladas 64](#_Toc22568260)

[5.3.5.1 Estudo II – misturas de carboxamidas 64](#_Toc22568261)

[5.3.6 Avaliação de intensidade de doença 64](#_Toc22568262)

[5.3.7 Análise estatística 65](#_Toc22568263)

[5.4 RESULTADOS 65](#_Toc22568264)

[5.4.1 Estudo I - carboxamidas isoladas 65](#_Toc22568265)

[5.4.2 Misturas de carboxamidas 68](#_Toc22568266)

[5.5 DISCUSSÃO 78](#_Toc22568267)

[5.5.1. Carboxamidas isoladas 78](#_Toc22568268)

[5.5.2*.* Mistura de carboxamidas 80](#_Toc22568269)

[6 LEVANTAMENTO DA FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO I86F NA ENZIMA SUCCINATO DESIDROGENASE EM POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* NO ESTADO DE SANTA CATARINA 84](#_Toc22568270)

[6.1 RESUMO 84](#_Toc22568271)

[6.2 INTRODUÇÃO 85](#_Toc22568272)

[6.3 MATERIAL E MÉTODOS 86](#_Toc22568273)

[6.4 RESULTADOS 87](#_Toc22568274)

[6.5 DISCUSSÃO 97](#_Toc22568275)

[6.6 CONCLUSÕES 98](#_Toc22568276)

[7 FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO I86F EM POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* SUBMETIDAS A PROGRAMAS DE APLICAÇÕES DE FUNGICIDAS E RESISTÊNCIA GENÉTICA 99](#_Toc22568277)

[7.1 RESUMO 99](#_Toc22568278)

[7.2 INTRODUÇÃO 100](#_Toc22568279)

[7.3 MATERIAL E MÉTODOS 102](#_Toc22568280)

[7.3.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 102](#_Toc22568281)

[7.3.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox 104](#_Toc22568282)

[7.3.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 105](#_Toc22568283)

[7.4 RESULTADOS 106](#_Toc22568284)

[7.4.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 106](#_Toc22568285)

[7.4.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox 109](#_Toc22568286)

[7.4.2.1 Cultivar 1 – TMG7262 RR 110](#_Toc22568287)

[6.4.2.2 Cultivar 2 – BMX Lança IPRO 111](#_Toc22568288)

[7.4.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 113](#_Toc22568289)

[7.5 DISCUSSÃO 114](#_Toc22568290)

[7.5.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 114](#_Toc22568291)

[7.5.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox 117](#_Toc22568292)

[7.5.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* 117](#_Toc22568293)

[7.6 CONCLUSÕES 119](#_Toc22568294)

[REFERÊNCIAS 120](#_Toc22568295)

[ANEXOS 135](#_Toc22568296)

[ANEXO 1. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados observados na avaliação de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* Lages, 2019. 135](#_Toc22568297)

[ANEXO 2. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados observados na avaliação da frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* obtidas decultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox. Lages, 2019. 141](#_Toc22568298)

[ANEXO 3. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados obtidos pela avaliação da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*. Lages, 2019. 147](#_Toc22568299)

# 

# 1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) está entre as mais importantes plantas de lavouras cultivadas no Brasil, devido ao seu valor socioeconômico, e expressão no mercado externo e interno (HIRAKURI & LAZZAROTTO, 2014). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, atrás dos Estados Unidos. A área cultivada com soja no Brasil quase triplicou nos últimos vinte anos, aumentando de 11,38 milhões de hectares na safra de 1997/98 para 35,82 milhões de hectares na safra de 2018/19 (CONAB, 2019). A expectativa de produção total é de 114,84 milhões de toneladas, com produtividade média de 3,20 toneladas por hectare. Os principais estados produtores de soja são Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul (CONAB, 2019).

O potencial de rendimento de grãos de soja tem sido limitado em função do sistema de implantação da lavoura, condições de clima durante o ciclo de desenvolvimento da cultura, sistema de rotação e sucessão de culturas, manejo e fertilidade do solo, escolha de cultivares, qualidade de sementes, manejo de plantas daninhas, pragas, doenças e tecnologia de colheita (REUNIÃO, 2014).

No Brasil, as principais doenças são ferrugem asiática da soja (FAS) (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow), oídio (*Erysiphe diffusa* Cke. & Pk), antracnose (*Colletotrichum truncatum* Andrus & Moore), cercosporiose (*Cercospora kikuchii*), mancha parda (*Septoria glycines* Hemmi), mancha alvo (*Corynespora cassiicola* Berk & Curt.), crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* Heald), míldio (*Peronospora manshurica* Sydow), seca da haste e da vagem (*Phomopsis phaseoli* (Desmaz) Sacc.), mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary), podridão de fitóftora (*Phytophthora sojae* Kauffmann & Gardemann), podridão de fusarium (complexo de *Fusarium*), podridão cinzenta da raiz (*Macrophomina phaseolina* Tassi), rizoctoniose (*Rhizoctonia solani* Kuhn) e geográfico da haste e da raiz (*Phomopsis* spp.)(REIS et al., 2012).

A FAS é a principal doença foliar da cultura no Brasil (GODOY et al, 2016). Podem ocorrer danos de até 90% no rendimento de grãos de soja, quando não são realizadas medidas de controle (HARTMAN, WANG & TSCHANZ, 1991).

As condições climáticas das regiões produtoras de soja no Brasil são propícias ao desenvolvimento de *P. pachyrhizi*, que é favorecido por chuvas bem distribuídas e longos períodos de molhamento (DEL PONTE et al., 2008). A sobrevivência do inóculo do fungo no período de entressafra ocorre em algumas regiões do Paraguai, Bolívia e Brasil, onde se realiza o cultivo de soja segunda safra, e em plantas voluntárias. A presença da soja garante a sobrevivência do fungo e consequente disseminação dos uredosporos para as lavouras implantadas na safra brasileira.

As principais medidas de manejo da FAS são a utilização de cultivares de ciclo precoce, realização da semeadura no início da época recomendada, eliminação de plantas voluntárias e/ou não cultivo na entressafra (vazio sanitário), utilização de cultivares com genes de resistência e aplicação de fungicidas preventivamente ou no aparecimento dos primeiros sintomas (GODOY et al., 2018). De acordo com Xavier et al. (2015) a única estratégia de controle que viabiliza a semeadura de soja, na presença da doença, é a utilização de fungicidas.

A dificuldade de controle da FAS se deve a não existência de cultivares com nível de resistência satisfatória, a deficiência em tecnologia de aplicação de fungicidas, a redução de eficiência dos fungicidas (GODOY et al., 2016) e a aplicações de fungicidas sem critérios que avaliem os fatores epidemiológicos da doença.

A partir da safra 2013/14 aumentou o número de relatos por agricultores e técnicos de falhas no controle químico. Isto deve-se principalmente à redução na eficiência de fungicidas, o que foi comprovado nos ensaios do consórcio antiferrugem nas safras 2013/14, 2014/15 e 2015/16 (GODOY et al., 2014; 2015; 2016; 2017; 2018).

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos recentemente no Brasil avaliando a eficiência de fungicidas no controle de *P. pachyrhizi* (DANELLI, REIS & BOARETTO, 2015; REIS, DEUNER & ZANATTA, 2015; XAVIER et al., 2015; REIS, ZANATTA & ZANATTA, 2016). Por outro lado, no que se referem à eficiência de carboxamidas aplicadas em diferentes fases do processo de infecção do fungo não há informações, especialmente com populações de *P. pachyrhizi* provenientes do estado de Santa Catarina.

A utilização de fungicidas sitio específico em áreas extensas, com aplicações repetidos dos mesmos mecanismos de ação, pode levar a seleção de isolado do patógeno com menor sensibilidade a fungicidas (BOSCH & GILLIGAN, 2008; BOSCH et al., 2014). No Brasil foram relatadas mutações em *P. pachyrhizi*, nos genes CYP51, CYTB e na subunidade C da enzima succinato desidrogenase (SDH), as quais conferem redução da sensibilidade a fungicidas dos grupos químicos dos triazóis, estrobilurinas e carboxamidas (SCHIMTZ et al., 2013; KLOSOWSKI et al., 2016; SIMÕES et al., 2017).

O primeiro relato da mutação I86F, na subunidade C da enzima SDH em *P. pachyrhizi* ocorreu em 2017 (SIMÕES et al., 2017). A qual ocasiona a troca do aminoácido isoleucina por fenilalanina no códon 86 do gene SdhC do fungo *P. pachyrhizi*. Contudo, há necessidade da realização de estudos da distribuição da mutação nas regiões onde é cultivado soja, frequência da mutação em populações, fator de resistência a fungicidas do grupo das carboxamidas, adaptabilidade do fungo, e estratégias de manejo de resistência a fungicidas deste grupo. O comportamento da mutação nas populações do patógeno durante os próximos anos agrícolas, poderá ser influenciado pela frequência inicial, pressão de seleção e adaptabilidade de *P. pachyrhizi* (BOSCH et a., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016b).

No estado de Santa Catarina, não há relato da mutação I86F em *P. pachyrhizi.* Além disso, não foram encontrados na literatura estudos de eficiência de controle da FAS realizados no estado nas últimas cinco safras.

Neste sentido importantes contribuições, referem-se à obtenção de informações sobre: 1) eficiência de carboxamidas aplicadas isoladas e/ou em mistura com outros fungicidas no controle de populações de *P. pachyrhizi* com a mutação I86F, em diferentes fases do processo de infecção do fungo; 2) ocorrência, distribuição e frequência da mutação I86F em populações do patógeno no estado de Santa Catarina; 3) quantificar o efeito de diferentes programas de aplicação de fungicidas na evolução da mutação I86F; 4) verificar o efeito de da utilização de cultivares com resistência genética na frequência da mutação I86F.

# 2 FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA (FAS)

A ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow, foi descrita pela primeira vez no Japão,em 1902 (HENNINGS, 1903). No início do século XX foi detectada em toda a Ásia e Oceania (BROMFIELD, 1984), e em meados da década de 1990 foi relatada pela primeira vez no continente africano (PRETORIUS et al., 2001). Na América do Sul foi relatada pela primeira vez no ano de 2001 no Paraguai e Brasil (YORINORY & MOREL, 2002), e posteriormente em 2002 na Argentina (ROSSI, 2003). Nos Estados Unidos, foi relatada pela primeira vez no Havaí em 1994 (KILGORE, HEU & GARDNER, 1994), e posteriormente no continente do país em 2004 (SCHNEIDER et al., 2005).

A FAS ocorre em todas as principais regiões produtores de soja no Brasil (DALLA LANA et al., 2015), sendo considerada a principal doença foliar da cultura, em virtude da frequência de ocorrência e da severidade (GODOY et al., 2016). Epidemias de FAS podem causar rápido amarelecimento e desfolha precoce, prejudicando a formação de vagens e grãos, e consequentemente reduzindo o rendimento de grãos de soja (YANG et al., 1991; KUMUDINI et al., 2008).

## 2.1 TAXONOMIA E ETIOLOGIA DO AGENTE CAUSAL

O fungo agente causal da FAS pertence à classe Basidiomicetes, ordem Uredinales, Família Phakopsoraceae, gênero *Phakopsora* e espécie *pachyrhizi*. Alguns sinônimos para *P. pachyrhizi* são: *Malupa sojae*, *Malupa vignae, Phakopsora sojae, Phakopsora vignae, Physopella* *pachyrhizi, Uredo sojae, Uredo vignae* e *Uromyces sojae* (SINCLAIR & HARTMAN, 1999).

Os fungos pertencentes ao grupo das ferrugens podem produzir cinco diferentes estádios em seu ciclo de vida: estádio 0 (espermogônios produtores de espermácias e hifas receptivas), estádio I (aécia produzindo aeciosporos), estádio II (urédia produzindo uredosporos), estádio III (télia produzindo teliósporos) e estádio IV (basídias produzindo basidiósporos (ALEXOPOULOS et al.,1996).

O fungo *P. pachyrhizi* é descrito em seus estádios de urédia e télia, não sendo relatado nos demais estádios. Também não está totalmente esclarecido a função da fase de télia (MARCHETTI et al., 1975; YEH et al., 1981). A fase teleomórfica de *P. pachyrhizi* apresenta teliósporos irregularmente distribuídos em camadas de 2 a 7 espóros; as paredes dos teliósporos variam do amarelo ao pardo-claro, tendo espessura de 1 μm até 3 μm nos esporos mais externos da camada. Na fase anamórfica, os uredosporos medem 15-24 x 18-34 μm, são ovóides com paredes de 1,0 μm de espessura e densamente equinulados, hialinos, amarelos ou marrom claros (HENNEN & REID, 2002; HARTMAN et al., 1999).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA

### 2.2.1 Sobrevivência

O fungo *P. pachyrhizi* é um patógeno biotrófico dependendo nutricionalmente dos tecidos vivos do hospedeiro, para extrair os nutrientes essenciais e realizar suas atividades vitais (BROMFIELD, 1984). A fonte de inóculo primária é constituída por plantas de soja infectadas e/ou hospedeiros secundários que abrigam os esporos em seu estágio uredial (YORINORY et al., 2005; HARMON et al., 2005; DEL PONTE et al., 2008).

Durante a entressafra, as principais formas de sobrevivência do inóculo primário no sul do Brasil, são plantas voluntárias e hospedeiros secundários. Onde não há a ocorrência de geadas e/ou invernos rigorosos, também pode ocorrer a sobrevivência de plantas voluntárias em lavouras de inverno, pastagens e próximo a rodovias, as quais constituem importante fonte de inóculo primário. Na região das Missões e Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, Oeste do estado de Santa Catarina e em algumas regiões do Paraguai próximas da fronteira com o Brasil, pode ocorrer o cultivo de soja em segunda safra, a qual é cultivada entre os meses de janeiro a julho. Nessa situação o patógeno sobrevive e se reproduz,constituindo este cultivo importante fonte de inóculo inicial para as lavouras de soja cultivadas na safra.

Em condições de laboratório, na ausência de hospedeiros, os uredosporos do patógeno se mantem viáveis por um período de aproximadamente 50 dias (CALDWELL & LAING, 2001). Contudo, quando associados a sementes de soja os uredosporos apresentaram viabilidade entre 2 e 4%, aos 90 dias após o armazenamento das sementes (MAGNANI et al., 2012). A realização de um período sem cultivo de soja durante 90 dias (vazio sanitário), proporciona a redução da densidade de inóculo no início da próxima estação de cultivo, diminuindo assim o risco da ocorrência de epidemias de FAS em estádios iniciais da cultura. Nessa situação ocorre menor número de ciclos da doença, há redução da severidade, menor desfolha e dano da doença.

### 2.2.2 Disseminação

Os uredosporos produzidos nas folhas de hospedeiros infectados são pequenos e leves, podendo serem removidos das urédias presentes nos folíolos e disseminados a longas distâncias pelo vento, sendo assim depositados em folíolos de soja (KRUPPA et al., 2006; ZIDEK, 2007). Ao ocorrer a deposição dos uredosporos sobre a superfície foliar do hospedeiro, permanecem em repouso até ocorrer condições ambientais favoráveis a germinação e infecção (REIS et al., 2012).

A porcentagem de esporos que consegue ser removido das urédias presentes nos folíolos de soja e alcançar a corrente de ar para serem disseminados a longa distância, é maior quando o dossel das plantas de soja encontrasse mais aberto (ZIDEK, 2007).

Deste modo arranjo e arquitetura de plantas de soja, que proporcionam maior IAF e fechamento de entre-linha mais precoce, podem diminuir o percentual de uredosporos que são disseminados a longa distância.

### 2.2.3 Processos de infecção e fatores do ambiente

As condições ambientais, principalmente as relacionadas com os fatores meteorológicos, apresentam importância na compreensão da epidemiologia da FAS (MARCHETTI et al., 1976; BROMFIELD, 1984; TCHANZ et al., 1984; DEL PONTE et al., 2006).

A germinação de esporos de *P. pachyrhizi*, formação do tubo germinativo e do apressório, penetração, colonização e esporulação do fungo são influenciadas por temperatura, molhamento foliar, fotoperíodo, radiação solar e nebulosidade. A germinação de esporos e formação do tubo germinativo são as subfases do processo de infecção do fungo mais influenciadas por estes fatores metereológicos (MELCHING et al., 1989; ALVES et al., 2007; BONDE et al., 2007; BLUM et al., 2015).

A germinação de esporos ocorre entre uma e duas horas após a inoculação, com molhamento foliar contínuo e temperatura entre 15 e 25°C (BONDE et al., 2007). Os tubos germinativos dos uredosporos apresentam comprimento variando entre 5 e 400 μm, e as suas extremidades aumentam de volume formando o apressório (KOCH et al., 1983). A formação do apressório ocorre entre quatro e seis horas após a inoculação. A germinação de esporos e a formação de apressórios estão relacionados com o genótipo de soja (ZAMBENEDETTI et al., 2007; 2007b).

A principal forma de penetração ocorre na junção das células da epiderme; sendo baixa a ocorrência de penetração pelos estômatos e, quando isto ocorre, não há formação de apressórios (ZAMBENEDETTI et al., 2007; 2007b).

Após a penetração do fungo, ocorre colonização do tecido vegetal através do crescimento miceliano intercelular. A formação de lesões angulares ocorre em virtude do crescimento das hifas ser restrito as nervuras do folíolo. Lesões visíveis podem ser observadas aproximadamente seis dias após a inoculação. A formação de urédias ocorre por uma agregação de hifas, formando o primórdio uredial, sendo visíveis oito a nove dias após a inoculação (ZAMBENEDETTI, 2005). Os uredospóros são formados três a quatro dias após a formação das urédias, podendo novas urédias serem formadas até o 28° dia após a inoculação (REIS et al., 2012).

#### **2.2.3.1** Temperatura

A temperatura ideal para germinação de uredosporos apresenta variação, sendo relatadas de 15 a 25°C (MARCHETTI et al., 1976), 18 a 26 °C (GODOY & FLAUSINO, 2004), 21,8 a 23,4 °C (BONDE et al., 2007) e 21,8 e 22,3°C (BLUM et al., 2015). Para o crescimento do tubo germinativo há informação de temperatura ideal de 21 a 24,4°C (BONDE et al., 2007) e de 21,4 e 22,1 °C (BLUM et al., 2015). Maiores intensidades da FAS ocorrem com temperaturas de 20 °C (VALE et al., 1990; ALVES et al., 2007) e 18 a 26 °C (CASEY et al., 1990).

Temperaturas extremas podem afetar a germinação de uredosporos, crescimento do tubo germinativo e a ocorrência da doença. A temperatura mínima que permite a formação de lesões em folíolos é 9 °C (MELCHING et al., 1989). Entretanto, Casey (1990) observou a não formação de lesões em temperaturas abaixo de 15°C, resultados que diferem dos obtidos por Alves e colaboradores (2007) os quais observaram que sob temperaturas inferiores a 15°C houve redução na intensidade da doença, mas ainda assim ocorreu a formação de lesões. Da mesma forma, Blum et al. (2015) relataram redução da germinação de esporos e comprimento do tubo germinativo a 10°C, porém esta temperatura não foi capaz de inibir totalmente a germinação de esporos e crescimento do tubo germinativo. A germinação não foi observada a 27,5°C (MARCHETTI et al., 1976) e 30°C (BONDE et al, 2007), entretanto, Blum et al. (2015) relataram haver germinação de esporos e formação do tubo germinativo a 35°C. Segundo Bonde et al. (2007) não há diferença entre isolados na temperatura ótima para germinação de esporos e formação do tubo germinativo.

De acordo com Melching et al. (1989) nenhuma lesão foliar é formada quando a temperatura está acima de 28,5°C. Resultados semelhantes foram encontrados por Casey (1990) não havendo a formação de lesões a 30°C. Entretanto, Alves et al. (2007) observaram a formação de lesões a 30°C. As diferenças encontradas podem ter ocorrido pela variação no genótipo e interação entre temperatura e molhamento foliar (ALVES et al., 2007).

Temperaturas de 29, 33 e 37°C por uma hora durante o dia diminuíram a esporulação em 36, 19 e 0%, respectivamente, quando comparadas com temperaturas de 21 e 25 ° C (BONDE et al., 2012).

Folíolos de soja submetidos a temperatura de 35 °C durante uma hora em três dias consecutivos (15 dias após a inoculação), reduziram a esporulação em 50%, exigindo 9 a 12 dias para iniciar a esporulação novamente (BONDE et al., 2013). Além disso, três dias consecutivos com temperatura de 37 °C, começando após a inoculação e posterior ao período de molhamento, reduziu o número de lesões em 60%. O efeito de temperaturas superiores a 30 °C na redução do número de lesões e esporulação, associado a maior intensidade da FAS próximo a 20 °C pode explicar o registro nas últimas safras de epidemias mais severas na região sul do Brasil.

A formação de teliósporos é rara em regiões onde não há temperatura em torno de 10ºC (BROMFIELD,1984), no entanto Carmona et al., 2005 relataram presença de teliósporos no nordeste e noroeste da Argentina. No Brasil, Sousa et al. (2006) observaram a formação de soros teliais em plantas mantidas a 15 °C durante 25 a 30 dias. Temperaturas próximas a 15 °C muitas vezes ocorrem no final ciclo da soja na região de Campos de Cima da Serra, Rio grande do Sul, e região de Planalto do estado de Santa Catarina, porém não com este período de duração o que pode não permitir a formação dos teliósporos.

#### 2.2.3.2 Molhamento foliar

Condições ideais para que o processo de infecção ocorra encontram-se com 12 horas de molhamento foliar contínuo a temperaturas entre 16 e 26,5°C (ALVES et al., 2007; BONDE et. al., 2007). Epidemias de FAS estão diretamente relacionadas com a alta frequência de chuvas durante o ciclo da cultura da soja (DEL PONTE, et al., 2006). Esta relação pode estar associada a maior ocorrência de sombreamento (DIAS et al., 2011), número de dias com nebulosidade (DIAS, LI & YANG, 2014) e maiores períodos com molhamento foliar contínuo superior a 12 horas em anos agrícolas com maior frequência de chuvas.

#### 2.2.3.3 Fotoperíodo e radiação solar

A germinação de uredosporos de *P. pachyrhizi* é maior quando estes são expostos a seis horas de escuro, sendo que a luz contínua reduz, mas não é capaz de inibir totalmente a sua germinação (BLUM, et al., 2015).

A viabilidade de uredosporos expostos à diferentes níveis de radiação apresentam correlação negativa com a radiação solar, sendo menores os valores de germinação quando estes foram submetidos as maiores radiações (ISARD et al., 2006).

Plantas de soja mantidas a sombra por dois dias apresentam maior intensidade de FAS (DIAS et al., 2011).

No Brasil e África do Sul, anos agrícolas que apresentaram 19,5 ou mais dias nublados durante o ciclo da cultura da soja tiveram ocorrência de epidemias mais severas da FAS (DIAS, LI & YANG, 2014).

A maior intensidade da ferrugem asiática em folhas do terço inferior das plantas de soja e principalmente em estádios fenológicos posteriores ao fechamento da entre-linha, pode estar associada a menor intensidade de radiação solar incidente e maior molhamento foliar nas folhas inferiores das plantas (FURTADO et al., 2009).

#### 2.2.3.4 Regime hídrico

O período latente do fungo e a intensidade da FAS pode ser influenciado pelo regime hídrico ao qual são submetidas as plantas de soja. Plantas de soja cultivadas em solo com umidade de 50 a 60 % da capacidade de campo, tiveram a detecção da primeira pústula de *P. pachyrhizi* 11,25 (com aplicação de fungicida) e 1,75 (sem aplicação fungicida) dias mais tarde que plantas cultivadas em umidade de 90 a 100% da capacidade de campo. Neste estudo, a severidade da FAS aos 30 dias após aplicação de fungicida, foi menor em plantas submetidas a estresse hidríco. Apesar disto, o rendimento de grãos foi menor em plantas submetidas a estresse hidríco (STEFANELLO et al., 2016).

O maior período latente e menor intensidade da doença, pode estar relacionado a maior concentração do fungicida em células de plantas sob estresse hídrico, causada pela menor degradação do fungicida e menor potencial hídrico destas plantas (STEFANELLO et al., 2016). Contudo, neste experimento não foi quantificado a concentração de fungicida nas células das plantas de soja.

#### 2.2.3.5 Fenologia e idade da folha

A FAS pode ocorrer em todos os estádios fenológicos da cultura (BROMFIELD & YANG, 1976; YANG et al., 1990), no entanto, a doença ocorre com maior frequência entre o início da floração (estádio fenológico R1) e o final do enchimento de grãos (estádio fenológico R6).

Plantas de soja em estádios fenológicos R4 e R5 são mais suscetíveis a FAS que plantas em estádios vegetativos (XAVIER et al., 2017). De acordo com Koga, Canteri e Godoy (2007) para muitas cultivares de soja, a expressão de resistência diminui à medida que a planta envelhece, podendo a resposta estar associada a mudanças nos mecanismos de defesa da planta. Isto ocorre porque durante a floração e as fases de enchimento de grãos, a planta possui alta demanda de fotoassimilados e nutrientes, afetando a capacidade da planta para ativar os mecanismos de defesa. Estas mudanças nos mecanismos de defesa das plantas, não foram quantificadas e comprovadas pelos autores. Entretanto, Furtado et al. (2009) relatam que plantas mais jovens apresentam maior suscetibilidade a FAS.

O período latente do patógeno é menor em plantas em estágios vegetativos, mas a maior severidade da doença é encontrada em plantas em estágios reprodutivos (MELCHING et al, 1988; XAVIER et al., 2017).

Folíolos de soja mais velhos são mais suscetíveis à infecção de *P. pachyrhizi*, independentemente do estágio fenológico da planta, apresentando maior tamanho médio de lesão, número de lesões/cm2 e severidade (MELCHING et al., 1988; FURTADO et al., 2009; XAVIER et al., 2017). Contudo, folíolos da mesma idade cronológica, apresentam maior severidade em plantas no estádio fenológico V4 do que em R4 e R5 (XAVIER et al., 2017).

Em lavouras comerciais de soja os sintomas iniciais de FAS são geralmente detectados em folíolos do terço inferior das plantas, o que pode ocorrer em virtude destes folíolos apresentarem maior idade cronológica, menor exposição à radiação solar e maior período de molhamento foliar contínuo.

#### 2.2.3.6 Grupos de maturação

Cultivares de soja com diferentes grupos de maturação apresentam diferença no padrão epidemiológico da FAS, independente da época de semeadura (MOREIRA et al., 2015).

A taxa de progresso da FAS e severidade máxima da doença é maior para cultivares de soja de ciclo precoce quando comparado a ciclo médio e tardio, sendo os menores valores detectados em cultivares tardias. O número de dias para atingir a severidade máxima da FAS é crescente para genótipos de grupo de maturação precoce, médio e tardio, respectivamente. Isto ocorre em virtude de que quanto mais longo o ciclo das cultivares de soja dentro de uma mesma época de semeadura, maiores serão os valores de IAF absoluto e tempo para atingir o IAF máximo, o que consequentemente dilui a severidade da doença (MOREIRA et al., 2015).

O IAF de genótipos de soja do mesmo grupo de maturação é maior quanto mais precocemente ocorre a semeadura. Cultivares de soja de grupo de maturação precoce quando semeadas no final da época recomendada, apresentam maior risco de dano da FAS, em virtude do comportamento fisiológico de desenvolvimento da cultura e comportamento epidemiológico da doença (MOREIRA et al., 2015). Portanto, na região sul do Brasil, quando são semeados genótipos precoces em sucessão a cultura do trigo, há maior risco de dano da FAS. Segundo Moreira et al. (2015), o controle químico deve ser antecipado em cultivares de ciclo precoce, especialmente quando estas são semeadas no final da época recomendada.

## 2.3 ANÁLISE DA EPIDEMIOLOGIA DA FAS NO ESTADO DE SANTA CATARINA

Uma cultivar de soja de grupo de maturação 5.9 a 6.8 cultivada na região de Santa Maria, Rio Grande do Sul, tem duração de 131 dias entre emergência e maturação fisiológica quando semeada no dia 1 de novembro (TRENTIN et al., 2013). Considerando que esta é a principal época de semeadura na região do Planalto Catarinense, teríamos aproximadamente 124 dias de ciclo entre emergência e o estádio R6 (final do enchimento de grãos). Estimando que os primeiros sintomas de FAS ocorreriam no dia 10 de janeiro (safra com maior densidade de inóculo), teríamos 59 dias para ocorrência de FAS até o término do enchimento de grãos. Como a duração do ciclo da doença é de aproximadamente nove dias poderíamos ter 6,5 ciclos durante a estação de cultivo.

Na região do oeste catarinense, onde pode haver o cultivo de soja segunda safra, o início da semeadura ocorre no mês de outubro e o cultivo se extende até final do mês de maio. Considerando um ano com maior densidade de inóculo de *P. pachyrhizi*, os primeiros ciclos da FAS poderiam ser observados na segunda quinzena de dezembro, sendo possível ocorrer até 18,4 ciclos da doença na região por ano agrícola. O cultivo de segunda safra apresenta maior risco de dano da FAS, devido a presença do patógeno desde os primeiros estádios de desenvolvimento, bem como maior densidade de inóculo quando comparado ao cultivo na época recomendada.

## 2.4 SINTOMATOLOGIA

Os sintomas causados pela FAS, no seu estado inicial, podem ser confundidos com outras doenças, como pústula bacteriana, crestamento bacteriano e mancha parda (YORINORI et al., 2005).

As frutificações da FAS não são tão evidentes, de modo que a olho nu não e fácil identificar as pústulas ferruginosas que conferem o nome comum a esse grupo de doenças (REIS et al., 2012). Os sintomas iniciais da doença são observados como áreas foliares cloróticas de forma poligonal, por causa da delimitação imposta pelas nervuras, podendo atingir um tamanho de até 2 a 5 mm2 (HARTMAN, SINCLAIR & RUPE, 1993). Estes sintomas são denominados de lesões, e não de pústulas como nas demais ferrugens, isso por que ocorre a necrose do tecido foliar e em cada lesão podem existir várias pústulas (REIS et al., 2012). Progressivamente, as urédias ou pustulas, adquirem cor castanho-clara a castanho escuro, as quais se abrem em um minúsculo poro, liberando os uredospóros, de coloração hialina, os quais tornam-se bege e acumulam-se ao redor dos poros ou são removidos pelo vento (YORINORI et al., 2004; REIS et al.,2012). À medida que prossegue a esporulação, o tecido da folha, ao redor das pústulas, passa para uma coloração castanho-clara ou ainda para uma coloração castanho-avermelhada, onde são definidas as lesões características à doença, visíveis em ambas as faces da folha (YORINORI et al., 2004). As primeiras lesões, em geral, são encontradas nas folhas baixeiras próximas ao solo (REIS et al., 2012).

O estádio final da epidemia da ferrugem da soja numa lavoura caracteriza-se por amarelecimento geral da folhagem com intensa desfolha, chegando até a queda completa das folhas (REIS et al., 2006; KUMUDINI et al., 2008). O rápido amarelecimento ou bronzeamento e queda prematura de folhas, impedem a formação total dos grãos. Quanto mais precoce for a desfolha, maiores os danos sobre o rendimento e qualidade de grãos (grãos pequenos e verdes). Em caso de desfolha, ainda nos estádios vegetativos, pode ocorrer aborto de flores e queda prematura de vagens (YANG et al., 1991; HARTMAN, WANG & TSCHANZ, 1991; YORINORI et al., 2004, KUMUDINI et al., 2008).

## 2.5 HOSPEDEIROS

O fungo *P. pachyrhizi* é um patógeno biotrófico que sobrevive em plantas de soja e/ou hospedeiros secundários. Ao contrário de outros agentes causais de ferrugens, *P. pachyrhizi* pode naturalmente infectar uma vasta gama de espécies vegetais (HARTMAN et al., 1999). As espécies infectadas pelo patógeno, pertencem a família Fabaceae, subfamília Papilionoideae (SLAMINKO et al, 2008).

A subfamília Papilionoideae contém aproximadamente 476 gêneros e 13.860 espécies de plantas (DOYLE et al., 2000), sendo relatada a infecção de *P. pachyrhizi* em 93 espécies, incluindo 42 gêneros de plantas desta subfamília (RYTTER, DOWLER & BROMFIELD, 1984; ONO, BURITICA & HENNEN, 1992; SCONNYERS et al, 2006; LYNCH et al., 2006). Complementando, Slaminko et al. (2008)encontraram 65 novos hospedeiros distribuídos em 25 gêneros, sendo que 12 destes gêneros não haviam sido relatados como hospedeiros do fungo. Entre as novas espécies hospedeiras, 39 apresentaram urédias e uredosporos visíveis. Embora algumas espécies de plantas não apresentem esporulação do fungo, elas foram consideradas hospedeiras porque tiveram a infecção de *P. pachyrhizi* confirmada pelo teste de ELISA. Com a introdução do fungo em novas áreas, é provável que o agente causal da da FAS infecte outras espécies desta subfamília (SLAMINKO et al., 2008).

As diferenças de esporulação do fungo, entre espécies e/ou genótipos da mesma espécie, sugerem que alguns hospedeiros podem apresentar maior importância epidemiológica (BONDE et al., 2008; SLAMINKO et al., 2008). Os hospedeiros mais suscetíveis ao patógeno são soja, kudzú (*Pueraria lobata* (Willd) Ohwi) e ervilha (*Pisium sativum L.*), baseado em avaliações da densidade de lesões, porcentagem de lesões com esporulação e número médio de uredias por lesão. No entanto, plantas de ervilha infectadas, desfolham rapidamente limitando a produção de uredosporos nesta espécie. A severidade da FAS, apresenta diferença entre genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e isolados de *P. Pachyrhizi*. Cultivares de feijão produzem numerosas lesões, muitas das quais apresentam esporulação, mas o número de uredias por lesão é menor do que na soja, kudzú e ervilha (MILLES et al., 2007; BONDE et al., 2008).

No Brasil, os principais hospedeiros são plantas de soja, feijão, kudzú e feijão miúdo (*Vigna unguiculata* L. Walp) (REIS et al., 2012).

O conhecimento da gama de hospedeiros permite a compreensão das possíveis formas de sobrevivência do patógeno durante a entresafra, o qual irá constituir a fonte de inóculo primário para infecção de plantas de soja no início da estação de crescimento.

## 2.6 DANOS

O dano da FAS sobre o rendimento de grãos de soja, depende do estádio de crescimento da cultura ocorreram os primeiros sintomas e do tempo e intensidade em que a doença permaneceu durante o cultivo (DALLA LANA et al., 2015; XAVIER et al., 2015). Epidemias em plantas mais jovens podem levar a uma desfolha precoce do cultivo, comprometendo a formação de vagens, número de grãos por vagem e o peso de grãos (YANG et al., 1991; YORINORI et al., 2005, KUMUDINI et al., 2008). A redução da atividade fotossintética, causada pela redução da área foliar através da formação de lesões e desfolha precoce, resulta em menor acumulo de matéria seca e índice de colheita (massa de grãos / massa da planta) (KUMUDINI et al., 2008).

A redução do rendimento de grãos causado pela doença e a intensidade da FAS são influenciadas pelas condições climáticas, época de semeadura, arranjo de plantas, nível de tolerância e ciclo do cultivar, densidade de inóculo do fungo e estratégias de controle químico realizadas.

Foram relatados danos no rendimento de grãos entre 10% e 40% na Tailândia, 10% e 90% na Índia, 10% e 50% no sul da China, 40% no Japão (SINCLAIR & HARTMAN, 1999), 23% e 90% em Taiwan (HARTMAN, WANG & TSCHANZ) e 40 a 80% no Zimbabwe (LEVY, 2005). No Paraguai Morel (2001) cita danos de 50%, e no Brasil estimativas de dano relatam variação de 10% a 100% nas diversas regiões geográficas onde foi identificada a doença (HIKISHIMA et al., 2010; YORINORI & MOREL, 2002).

Na América do Sul são observados os maiores danos no rendimento de grãos de soja ocasionados pela doença, o que ocorre em virtude do tamanho da área cultivada e da ausência de inverno rigoroso permitindo que o inóculo sobreviva na entressafra, favorecendo a ocorrência da doença na safra seguinte (LI et al., 2010).

No Brasil, Dalla Lana et al. (2015) relataram redução de 0,41 a 0,79 % no rendimento de grãos para 1% de severidade da FAS no estádio R6. As maiores reduções relativas de rendimento ocorreram quando os primeiros sintomas da doença foram detectados antes do estádio R1, e/ou quando a severidade no estádio R6 foi inferior a 70 % nos tratamentos sem aplicação de fungicidas. No entanto, Danelli (2015) e colaboradores encontraram redução no rendimento de grãos de 0,36 a 0,68 % para 1 % de incidência foliolar, e 1,33 a 9,57 % de redução no rendimento para 1 lesão/cm2 de FAS no estádio R5.5. Considerando o tamanho médio de lesão igual a 1 mm2 (REIS et al., 2012), uma lesão/cm2 de FAS representaria 1% de severidade da doença. Com isto, os dados obtidos por Danelli et al. (2015) demonstram maior potencial de dano que os obtidos por Dalla Lana et al. (2015).

## 2.7 MEDIDAS DE CONTROLE

Em virtude de não existirem cultivares de soja com níveis de resistência genética satisfatória para evitar os danos da FAS, as principais medidas de controle da doença baseiam-se em estratégias que visam a diminuição da fonte de inóculo primário, a utilização de fungicidas e o escape. Entre estas estratégias de controle encontram-se o vazio sanitário, a semeadura no início da época recomendada, utilização de cultivares precoces e aplicação de fungicidas (XAVIER et al., 2015; GODOY et al., 2018).

### 2.7.1 Controle cultural

A semeadura de cultivares precoces no início da época recomendada; adequação do arranjo de plantas; adubação equilibrada; eliminação de plantas voluntárias e hospedeiros secundários; e ausência de cultivo de soja segunda safra (vazio sanitário) são estratégias de controle cultural recomendadas visando a redução dos danos da FAS (MADALLOSO, et al., 2010; REUNIÃO, 2014; GODOY et al., 2015).

#### 2.7.1.1 Eliminação de plantas voluntárias e hospedeiros secundários

A eliminação de plantas voluntárias e hospedeiros secundários, durante o período de entressafra resulta na ausência de hospedeiros para a sobrevivência e reprodução de *P. pachyrhizi*. Em virtude de ser um patógeno biotrófico, nestas condições a densidade de inóculo do fungo no início da próxima safra será menor, e consequentemente pode haver atraso na ocorrência de epidemias da FAS na próxima estação de cultivo.

No Brasil é recomendada a realização do vazio sanitário, que consiste na ausência de plantas de soja por um período de ao menos 60 dias, variando conforme a região e época de semeadura. No Brasil treze estados (MT, MS, GO, SP, MG, PR, SC, BA, PI, TO, PA, RO, MA) e o Distrito Federal adotaram essa medida, estabelecida por meio de normativas. O objetivo do vazio sanitário é reduzir a sobrevivência do fungo causador da ferrugem asiática durante a entressafra e assim atrasar a ocorrência da doença na safra (SEIXAS & GODOY, 2007; GODOY et al., 2015, EMBRAPA, 2019).

#### 2.7.1.2 Época de semeadura

A época de semeadura influencia o desenvolvimento da cultura da soja e a dinâmica de ocorrência da FAS. Quando ocorre a semeadura no início da época recomendada a cultura é exposta a maior radiação solar e fotoperíodo, resultando em maior período de crescimento e índice de área foliar (IAF). Com isto, semeaduras mais precoces resultam em maior tempo para atingir a intensidade máxima da FAS (MOREIRA et al., 2015).

A densidade do inóculo de *P. pachyrhizi* é menor em lavouras de soja semeadas no início da época recomendada, ocorrendo o aumento da densidade de uredosporos no ar no início da época de semeadura até o final da estação de cultivo (NASCIMENTO et al., 2012). A menor densidade de inóculo do patógeno em lavouras semeadas no início da estação de cultivo, resulta no atraso da detecção dos primeiros sintomas da doença, menor taxa de progresso, maior tempo para atingir a severidade máxima, menor intensidade de doença no final do enchimento de grãos e menor dano no rendimento da cultura (TWIZEYIMANA et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2012; MOREIRA et al., 2015).

No Brasil, o uso de cultivar precoce de soja semeada no início da época recomendada, é uma das práticas de manejo para reduzir o dano causado pela FAS (OLIVEIRA, GODOY & MARTINS, 2005). Nesta situação, a cultura será exposta a menor densidade de inóculo em estádios iniciais, bem como será reduzido o tempo de exposição ao patógeno no campo. No entanto, o atraso da época de semeadura favorece a ocorrência da FAS, resultando em maior severidade da doença e redução no rendimento de grãos (TWIZEYIMANA et al., 2011; MOREIRA et al., 2015).

#### 2.7.1.3 Arranjo de plantas

O arranjo de plantas de soja influencia fatores de predisposição para a ocorrência da FAS, como temperatura, molhamento foliolar, radiação solar e pode dificultar a deposição de fungicidas no dossel das plantas. A maior densidade de plantas pode favorecer o fechamento mais rápido das entrelinhas (HEIFFIG et al., 2006), proporcionando maior período de molhamento foliolar (IGARASHI et al.,2014), menor radiação solar incidente e temperatura no interior do dossel das plantas de soja. Estas condições, favorecem períodos críticos para infecção do fungo, o que pode resultar em maior intensidade da FAS. Segundo Madalosso et al. (2010) a redução do espaçamento de entre-linhas de 60 para 40 cm proporciona maior taxa de progresso da FAS, intensidade da doença e menor eficácia de controle. Entretanto, Roese (2012) e colaboradores relataram que o efeito do espaçamento de entre-linhas na severidade da FAS é variável, dependendo da safra e cultivar. Quando foram observadas diferenças entre espaçamentos de entre-linhas, o aumento para distâncias superiores a 45 cm proporcionou redução na severidade da doença. Igarashi (2014) não encontrou diferenças na detecção dos primeiros sintomas e desenvolvimento da FAS para espaçamentos de entre-linhas, mas observaram maior período de molhamento foliolar no terço médio das plantas de soja em cultivos mais adensados. As diferenças de resultados destes estudos, podem estar relacionadas a densidade de inóculo, cultivares e condições climáticas.

Em condições de maior adensamento de plantas há dificuldade de deposição do fungicida no dossel da planta, principalmente do terço médio e inferior. Com a menor penetração e cobertura de gotas, o ingrediente ativo não consegue atingir o alvo biológico em quantidade e qualidade necessários, o que pode reduzir o residual e a eficiência de controle da FAS (NAVARINI, 2008; MADALOSSO et al., 2010).

### 2.7.2 Controle genético

Não há cultivares de soja com resistência duradoura a todos os isolados de *P. pachyrhizi* (KAWASHIMA et al., 2016), e em virtude da intensidade e frequência de ocorrência da FAS nas regiões produtoras de soja no Brasil é necessária a aplicação de fungicidas para controlar a doença.

Considerando o custo de controle, o impacto ambiental em virtude da aplicação de fungicidas e a redução de eficiência de fungicidas, torna-se fundamental a obtenção de cultivares com resistência genética duradoura à *P. pachyrhizi* como estratégia de manejo para reduzir os danos causados pela doença.

O conhecimento da variabilidade genética do patógeno é importante para que os programas de melhoramento genético possam realizar seu planejamento estratégico, uma vez que a probabilidade de quebra de resistência, quando variedades contendo apenas um gene de resistência vertical são desenvolvidas, é maior na medida em que a variabilidade do patógeno aumenta (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

Existe variabilidade em populações de *P. pachyrhizi* em relação à virulência do patógeno(SINCLAIR & HARTMAN, 1999; YAMAOKA et al., 2002; BONDE et al., 2006; FREIRE et al., 2008). Apesar disto são escassas informações sobre o número de raças do fungo (ANDERSON et al., 2008). No Japão, foram identificadas 18 raças patogênicas de *P. pachyrhizi* em isolados coletados em *P. lobata* e *Glycine soja* Sieb. & Zucc., e nove raças obtidas em plantas de *G. max* (YAMAOKA et al., 2002).

No Brasil, foi observada a variabilidade genética entre isolados do patógeno coletados em diferentes regiões, com tendência de populações coletadas na região Centro Oeste do Brasil formar um grupo distinto das populações coletadas no Sul (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

A virulência de isolados apresenta resposta distinta em relação aos genes Rpp2 e Rpp4 (SOARES et al., 2008), demonstrando variabilidade na patogenicidade do fungo no Brasil. Contudo, não há informações sobre o número de raças do patógeno existentes no país.

Segundo Tschurtschenthaler et al. (2012), cinco genes de resistência à *P. pachyrhizi* foram identificados em soja: Rpp1 (CHENG & CHAN, 1968; HIDAYAT & SOMAATMADJA, 1977; McLEAN & BYTH, 1980; HARTWIG & BROMFIELD, 1982); Rpp2 (HIDAYAT & SOMAATMADJA, 1977); Rpp3 (SINGH & THAPLIYAL, 1977; BROMFIELD & HARTWIG, 1980); Rpp4 (HARTWIG, 1985); Rpp5 (GARCIA et al., 2008), e Rpp6 (KIN et al. 2012). No entanto, estes genes de resistência são específicos a determinados isolados do fungo (BONDE et al., 2006). Recentemente, Kawashima et al. (2016) identificou o gene CcRpp1 em *Cajanus cajan* L.(guandu) como fonte de resistência horizontal ao patógeno, o qual foi clonado e inserido em genótipos de soja.

No Brasil, na safra 2008/09, as fontes de resistência contendo o gene Rpp1 e Rpp3 apresentaram-se suscetíveis a 100% das populações de *P. pachyrhizi* testadas. As duas linhagens que continham o gene Rpp2 foram suscetíveis em 48,8 e 71,4 % dos casos. Genótipos com a presença do gene Rpp4 foram suscetíveis a 57,1% das populaões testadas. A cultivar Shira Nui, com o gene Rpp5 apresentou resistência a 85,7% das populações testadas e reação intermediária a outras 12,5% (SOARES et al., 2008).

Na Argentina e no Paraguai, na safra 2007/08, as fontes de resistência que continham o gene Rpp1 apresentaram resistência a 12,5% das populações do fungo, e genótipos com o gene Rpp3 resistente aa 20%das mesmas. Fontes de resistência contendo os genes Rpp2, Rpp4 e Rpp5 foram resistentes a 28,6, 60 e 57,1% das populações de *P. pachyrhizi*, respectivamente (SOARES et al., 2008).

A inserção de genes de resistência a *P. pachyrhizi* em genótipos de soja é denominada no Brasil como tecnologia Inox, porém não há informação de quais genes estão inseridos nesta. As cultivares comerciais que possuem esta tecnologia são TMG7060 IPRO, TMG7062 IPRO, TMG7063 IPRO, TMG7067 IPRO e BRS7280 RR (TMG, 2017; EMBRAPA, 2017).

Os genes de resistência Rpp2 e Rpp5 limitam o crescimento e a esporulação de *P. pachyrhizi* pela reação de hipersensibilidade apresentando lesões marrom-avermelhadas, descritas como “reddish-brown” (RB) (BONDE et al., 2006; GARCIA et al., 2008). Plantas de soja suscetíveis ao fungo quando infectadas apresentam lesões de coloração bronzeada denominadas “Tan” (BROMFIELD & HARTWIG, 1980; BROMFIELD, 1984; MILLES et al., 2006).

A eventual presença de esporos de *P. pachyrhizi* em lesões RB, relativamente comum em avaliações de campo, pode ser decorrente da infecção da planta por diferentes raças do patógeno, em que a planta desenvolve a reação de hipersensibilidade (RB) para uma determinada raça, mas não para outra, o que resultaria na esporulação (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

Ao avaliar 16.595 acessos do banco de germoplasma de soja do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (EUA), Milles et al. (2006) não identificaram plantas com imunidade a *P. pachyrhizi*, sendo observada resistência moderada em 33 acessos. Em virtude da capacidade do patógeno em superar a resistência mediada por genes Rpp1, Rpp2, Rpp3, Rpp4, Rpp5, Rpp6 (AKAMATSU et al., 2013), há preocupação de que novos genes de resistência ao fungo possam ser específicos para um isolado e, portanto rapidamente superados à campo (KAWASHIMA et al., 2016).

Genes CcRpp1 identificados em plantas de guandu, e clonados em plantas de soja, apresentaram resistência horizontal a 77 isolados de campo coletados em diferentes regiões do Brasil, dois isolados dos EUA e um isolado japonês. Estes genes de resistência obtidos em espécies de plantas da família das leguminosas, podem ser usados ​​para desenvolver estratégias de controle a FAS duráveis (KAWASHIMA et al., 2016).

A resistência baseada em genes únicos tende a ser “quebrada” em virtude da variabilidade do patógeno. A existência de variabilidade genética entre os isolados, ainda que não associada à variação na patogenicidade, é um alerta para que o desenvolvimento de cultivares resistentes seja baseado em mecanismos de resistência mais duradoura, seja pela resistência horizontal ou pela piramidação de genes de resistência vertical (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

Embora não tenham sido identificados isolados de *P. pachyrhizi* que possam superar o CcRpp1, o fungo demonstrou que pode superar rapidamente os genes de resistência que são implantados individualmente (KAWASHIMA et al., 2016). Com 30 milhões de hectares de soja cultivada no Brasil, seria prudente apenas implantar o gene CcRpp1 em soja, quando associado a outros genes de resistência que tenham diferentes especificidades ou diferentes mecanismos de resistência ao patógeno, para aumentar a durabilidade desses recursos (KAWASHIMA et al., 2016).

### 2.7.3 Controle químico

#### 2.7.3.1 Histórico

As primeiras pesquisas avaliando a eficiência de fungicidas no controle da FAS foram realizadas em Taiwan no ano de 1986 com a aplicação de mancozeb (YANG et al., 1991). Fungicidas cúpricos, maneb e benzimidazóis também foram testados na Ásia durante o final da decada de 80 e início dos anos 90, os quais reduziram a intensidade da doença (SINCLAIR & HARTMAN, 1996). Entretanto, o controle do patógeno passou a ser mais eficiente com a introdução dos fungicidas inibidores da desmetilação (DMI) (PATIL & ANAHOSUR, 1998).

A utilização de fungicidas em soja no Brasil foi intensificada após a detecção da FAS. As primeiras moléculas utilizadas foram ingredientes ativos registrados para outros agentes causais e que também apresentavam eficiência sobre *P. pachyrhizi*.

O número de fungicidas registrados para a cultura da soja aumentou de cinco, em 2002, para 227, em 2017. Especificamente para FAS, ocorreu a suspensão de registro de 63 fungicidas, restando 75 produtos registrados (GODOY et al., 2016; AGROFIT, 2019). Nas safras agricolas de 2001/02 a 2004/05, a maioria das moléculas registradas pertenciam ao grupo químico dos triazóis, e uma mistura de triazol e estrobilurina (GODOY et al., 2016). Durante as safras de 2003/04 a 2006/07, os fungicidas do grupo químico dos triazóis aplicados de forma isolada apresentaram melhor eficiência de controle comparado com estrobilurinas, com variação no controle entre ingredientes ativos do mesmo grupo. Entre os triazóis, protioconazole e tebuconazole obtiveram as maiores eficiências de controle da FAS, enquanto fluquinconazole e difenoconazole apresentaram os menores valores de eficiência (SCHERM et al., 2009).

Em razão da alta eficiência de controle e baixo custo, os triazóis foram utilizados pelos produtores isoladamente, em aplicações sequenciais e curativas desde a detecção do patogeno no país (GODOY et al., 2012 in XAVIER et al., 2015). Cinco anos após o início da utilização destes fungicidas, na safra 2007/08, foi observada a redução da eficiência dos DMI’s na região do cerrado e na safra seguinte na região sul do Brasil*.*

Em 2008/09, foi recomendado evitar o uso de triazóis de maneira isolada e utilizar misturas de triazóis e estrobilurinas na região do cerrado. No região sul, a recomendação foi utilizar fungicidas do grupo químico dos triazóis isolados somente no início da estação de crescimento, e nunca em aplicações sequenciais.

Na safra 2009/10, foi recomendado a utilização somente de misturas de triazóis e estrobilurinas em todo o Brasil (GODOY, 2012; XAVIER et al., 2015; GODOY et al., 2016). O fungicida protioconazole, pertencente ao grupo químico triazolintione, foi o único DMI a não apresentar redução na eficiência de controle da FAS entre 2007/08 e 2009/10. Este ingrediente ativo, foi avaliado de maneira isolada desde 2005/06, mas seu registro foi realizado somente no ano de 2010 em mistura comercial com trifloxistrobina (GODOY et al., 2016).

A partir de 2009/10, os fungicidas utilizados no controle de *P. pachyrhizi* constituiram-se basicamente de misturas de triazóis/triazolintione e estrobilurinas. Entre 2009/10 e 2012/13, a eficiência média de controle da FAS com estas misturas de fungicidas, apresentou redução de 77% para 62,4% (GODOY et al., 2010; GODOY et al., 2013).

Em 2013, teve início no Brasil a comercialização de fungicidas do grupo químico das carboxamidas, formulados em misturas comerciais com estrobilurina e/ou triazol. Foram registrados produtos comerciais compostos por fluxapyroxada + piraclostrobina e benzovindiflupir + azoxistrobina. Em 2016 foi registrado a mistura comercial dos ingredientes ativos fluxapyroxada + piraclostrobina+ epoxiconazole.

Durante os anos agrícolas de 2013/14, 2014/15 e 2015/16, misturas comerciais de fungicidas benzovindiflupir com azoxistrobina ou picoxistrobina apresentaram as maiores eficiências de controle da FAS. Também nestas safras houve redução na eficiência de controle da doença pela aplicação de triazóis/trizolintione + estrobilurina, de 61,9% para 48,2. A redução da eficiência de triazóis e estrobilurinas utilizados isolados neste mesmo período, foi de 43,5 para 22,5% e 47 para 24%, respectivamente para triazóis e estrobilurinas (GODOY et al., 2013; GODOY et al., 2016).

Em virtude da redução de eficiência de misturas de IDM e IQe (inibidor da quinona externa – estrobilurina) e do risco da redução da sensibilidade do fungo as carboxamidas, foi recomendado a utilização de fungicidas protetores dos grupos químicos ditiocarbamatos, cloronitrilas, dinitroanilinas e fungicidas cúpricos em mistura com triazóis/triazolintione + estrobilurina, carboxamida + estrobilurina, carboxamida + estrobilurina + triazol.

Em amostragens de isolados de *P. pachyrhizi* realizadas pelo FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) nos anos agrícolas de 2015/16 e 2016/17 foi detectada mutação na subunidade C da enzima succinato desidrogenase, que causa a substituição de aminoácidos na posição I86F. Esta mutação confere menor sensibilidade do patógeno aos fungicidas do grupo químico das carboxamidas (SIMÕES et al., 2017).

Os novos produtos comerciais a serem lançados nos próximos anos são novas misturas de ingredientes ativos dos mesmos grupos já existentes. Portanto, a redução na sensibilidade de *P. pachyrhizi* a carboxamidas pode representar a perda das moléculas mais eficientes entre os fungicidas disponíveis.

#### 2.7.3.2 Importância do controle químico no manejo da FAS

Antecipação da época de semeadura, semear cultivar precoce e utilizar cultivar com grau de resistência genética nem sempre são estratégias utilizadas de forma conjunta para manejar a FAS. Com a comprovação da redução de eficiência dos fungicidas no controle do patógeno há uma tendência do aumento do número de pulverizações, na tentativa de manter níveis satisfatórios de controle da FAS.

Considerando a média de severidade de FAS em parcelas sem aplicação de fungicidas de 72,6 % (GODOY et al., 2014; 2015; 2016; 2017; 2018), o dano de 0,6% no rendimento para 1% de severidade da doença (DALLA LANA, 2015) e a safra brasileira de 114,84 milhões de toneladas de soja (CONAB, 2019), tem-se um potencial de dano causado pela ferrugem no Brasil que pode atingir a 50,02 milhões de toneladas de soja ou 62,52 bilhões de reais considerando o valor de R$ 75,00 por saco de soja.

A mistura comercial de fungicidas com maior controle da FAS na safra 2017/18 apresentou 80% de eficiência (GODOY et al., 2018), sendo extrapolado com base nesse porcentual de controle (considerando mesmo número de aplicações, intervalo de aplicações) uma redução de perda de 50,01 bilhões de reais por ano. Analisando o mesmo fungicida verifica-se que seu uso ainda manteve em 15,6% a severidade média da doença (média de 39 ensaios nacionais), o que representa aproximadamente 9,4% de dano no rendimento de grãos. Neste contexto estima-se 10,74 milhões de reais de perda da FAS no Brasil.

O custo de controle da aplicação de fungicidas em aplicações terrestres é composto principalmente pelo custo do produto, amassamento das plantas, depreciação de máquinas, combustível, hora de trabalho do funcionário.

Ao considerar uma aplicação terrestre com pulverizador autopropelido com barras de 30m de comprimento, estima-se um custo de R$ 202,68 para cada aplicação por hectare (expectativa de produtividade de 75 sacos por hectare e preço médio de venda da soja de R$ 60,00), conforme descrito abaixo:

- Amassamento médio de R$56,25 por aplicação (1,25 % de amassamento por aplicação, 5 % para quatro aplicações);

- Custo de combustível de R$2,56 ha-1 (preço de R$ 3,20 por litro de óleo diesel e utilização de 0,8 L ha-1);

- Custo de funcionário de R$ 0,87 por hectare (salário + encargos sociais = R$ 3.500,00 mensais; 160 horas de trabalho por mês, uma hora para abastecimento e pulverização de 25 hectares);

- Custo médio de fungicida de R$143,00 por pulverização (mistura de triazol/triazollintione + estrobilurina + protetor + adjuvante.

Na safra 2018/19 foram cultivados aproximadamente 35,82 milhões de hectares de soja no país. Considerando a média de três aplicações de fungicida e custo de R$ 202,68 por aplicação, estima-se gasto de R$ 21,78 bilhões para controle químico da FAZ, ou U$ 5,7 bilhões (cotação do dólar de R$ 3,82). Este valor é superior ao custo de controle de U$ 2,2 bilhões estimado por Godoy et al. (2016) para a safra 2012/13 onde foi considerado U$ 25,00 por aplicação de fungicida, valor abaixo do custo atual de aplicação.

#### 2.7.3.3 Risco de resistência a fungicidas

A classificação de patógenos em classes de risco de resistência a fungicidas é realizada considerando seis características do fungo: duração do ciclo de vida, capacidade de esporulação, disseminação a longa distância, capacidade de infectar plantas em diferentes estádios, reprodução sexuada e capacidade de mutação ou de expressão de genes mutantes (BRENT & HOLLOMON, 2007; OLIVER, 2014). Os agentes causais de ferrugens apresentam ciclo de vida curto, alta capacidade de esporulação, disseminação a longa distância e capacidade de infectar plantas em diferentes estádios, sendo considerados como alto risco de resistência a fungicidas (OLIVER, 2014). Porém a capacidade de mutação ou de expressão de genes mutantes faz com que os patógenos causadores de ferrugens sejam classificados como baixo risco de resistência pelo FRAC. O fungo *P. pachyrhizi* é descrito em seus estádios de urédia e télia (MARCHETTI et al., 1975; YEH et al., 1981), sendo encontrado em condições de campo no Brasil apenas a fase uredial, não apresentando a forma sexuada. Como o fungo é dicariótico em grande parte do seu ciclo de vida o FRAC considera haver menor probabilidade de ocorrer mutações recessivas e/ou estas mutações serem letais, classificando-o como fungo de baixo risco de resistência a fungicidas.

Os mecanismos de resistência de fungos a fungicidas são mutações que reduzem a ligação do fungicida ao sítio de ação e aumentam a transcrição e tradução do sítio de ação, expressão de bombas que removem o fungicida e expressão de genes que agem na detoxificação do fungicida. Assim, em todos estes casos é necessário mais fungicida para manter o mesmo efeito inibitório.

No FRAC são descritos 46 grupos de fungicidas, mas apenas inibidores da biossíntese de esteróis, inibidores da quinona externa e inibidores da succinato desidrogenase são utilizados no controle de ferrugens de tal forma a exercer pressão de seleção sobre os patógenos (OLIVER, 2014; FRAC, 2017). Entretanto, já foram relatados redução da sensibilidade a estes três grupos de fungicidas para agentes causais de ferrugens, o que põem em dúvida a classificação como baixo risco para este grupo de fungos proposta pelo FRAC (FRAC, 2017).

A variabilidade genética de *P. pachyrhizi*, a extensão da área cultivada com soja pulverizada com fungicidas, o número de aplicações de fungicidas por ciclo, a utilização de misturas de grupos químicos com alto risco de resistência, a repetição de pulverizações com os mesmos mecanismos de ação e a possibilidade de sobrevivência do patógeno no período de entressafra em regiões de inverno ameno no Brasil e/ou na fronteira com o Paraguai e Bolívia, são características que demonstram o alto risco de seleção de populações do patógeno com redução da sensibilidade a fungicidas. A combinação destes fatores é forte fator indicativo da redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi* a triazóis, estrobilurinas e carboxamidas no Brasil.

#### 2.7.3.4 Mecanismos de ação de fungicidas utilizados no controle de P. pachyrhizi

No Brasil, os principais fungicidas utilizados no controle de *P. pachyrhizi,* tem como mecanismos de ação a DMI, IQe e SDHI (inibição da succinato desidrogenase). Além disso, nas últimas três safras iniciou-se a utilização de fungicidas multissítios (mancozebe, clorotalonil, hidróxido e oxicloreto de cobre) no controle da doença, os quais interrompem funções das células do fungo de uma maneira não específica (GULLINO et al., 2010).

##### 2.7.3.4.1 Fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis

Os fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis (IBE) podem ser divididos em dois grupos: os inibidores da desmetilação (DMI) do C14 e os inibidores da isomerase Δ8‐Δ7 e redutase Δ14 (IIR).

O mecanismo de ação dos fungicidas DMI’s, consiste na inibição da remoção do grupo metila C14 do 24-metilenodihidrolanasterol, resultando no acúmulo de precursores de esteróis e redução do ergosterol. Da mesma forma, os fungicidas IRR ao inibirem as enzimas isomerase Δ8‐Δ7 e redutase Δ14, ocasionam redução de ergosterol e acúmulo de precursores de esteróis (REIS, REIS & CARMONA, 2016).

A redução na disponibilidade de ergosterol resulta na ruptura da membrana plasmática e na saída de eletrólitos, ocasionando a perda dos elementos intracelulares. Também ocorre a inibição da biossíntese de triglicerídeos e fosfolipídios do fungo, resultando na necrose celular. O ergosterol é importante para integridade da membrana plasmática da maioria dos fungos basidiomicetos, ascomicetos e deuteromicetos, o que explica o amplo espectro de ação deste grupo de fungicidas. Entretanto os fungicidas IIR, apresentam espectro de ação limitado quando comparados aos DMI’s, sendo sua utilização principalmente contra agentes causais de oídios (REIS, REIS & CARMONA, 2016). Contudo, em 2017 foi registrado no Brasil o fungicida fenpropimorfo (IIR) pertencente ao grupo químico das morfolinas para o controle de *P. pachyrhizi* (AGROFIT, 2019).

Os principais ingredientes ativos de fungicidas IDM registrados no Brasil em misturas comerciais para controlar *P. pachyrhizi* são o ciproconazole, difenoconazol, epoxiconazol, fluquinconazol, flutriafol, tebuconazol, tetraconazol, metconazol e protioconazol. Há fungicidas comerciais compostos por misturas de triazóis como propiconazol + ciproconazol, ciproconazol + difenoconazol. Porém a principal forma de comercialização de inibidores de esteróis para o controle deste patógeno, ocorre em misturas de triazóis e estrobilurinas. As principais misturas de triazóis e estrobilurinas registradas no Brasil são azoxistrobina + ciproconazol, azoxistrobina + tebuconazol, azoxistrobina + flutriafol, epoxiconazol + piraclostrobina, trifloxistrobina + ciproconazol, trifloxistrobina + protioconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, picoxistrobina + ciproconazol e picoxistrobina + tebuconazol. Em 2016 foi lançada a primeira mistura tripla de triazol + carboxamida + estrobilurina visando o controle deste fungo, composta por fluxapiroxada + piraclostrobina + epoxiconazole (JULLIATI, AZEVEDO & JULLIATI, 2017). No ano de 2017 foi registrada outra mistura tripla composta por fungicidas dos mesmos grupos químicos, formulada com bixafeno + trifloxistrobina + protioconazole.

Os inibidores da biossíntese de esteróis são fungicidas penetrantes móveis e apresentam ação protetora, curativa e erradicante (REIS, DEUNER & ZANATTA, 2015). Além disto, este grupo de fungicidas não inibem a germinação de esporos, pois os esteróis utilizados na sua germinação são armazenados nestas estruturas, podendo assim ocorrer a germinação na ausência da biossíntese de esteróis. No caso específico de *P. pachyrhizi,* a síntese de esteróis inicia-se 24 horas após o início da germinação (REIS, REIS & CARMONA, 2016). Entre os fungicidas utilizados no controle deste patógeno, os inibidores de esteróis são o único grupo que apresenta ação posterior a infecção do fungo. Portanto pulverizações realizadas posteriormente a detecção de sintomas da FAS, necessitam da presença de ingrediente ativo do grupo químico triazol, triazolintione ou morfolinas para aumento da eficiência de controle da doença.

A redução da sensibilidade de fungos a fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis pode ser ocasionada por três mecanismos de resistência: mutação na sequência de aminoácidos na enzima CYP51, superexpressão da enzima CYP51 e superexpressão de proteínas relacionadas ao efluxo do fungicida (COOLS et al., 2012; PRICE et al., 2015). Em *P. pachyrhizi* foram detectadas as mutações F120L, Y131F/H, K142R, I145F e I475T, bem como a superexpressão da enzima CYP51 (SCHIMITZ et al., 2014).

A exposição de *P. pachyrhizi* a fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis utilizados de maneira isolada, a recomendação de estratégias como a mistura com fungicida sitio específico, redução do intervalo entre aplicações e aumento do número médio de aplicações por ciclo da cultura, são fatores que contribuíram para redução da eficiência dos triazóis cinco anos após o início da sua utilização.

##### 2.7.3.4.2 Fungicidas inibidores da quinona externa (IQE)

O mecanismo de ação dos fungicidas IQe consiste na inibição da respiração mitocondrial, no complexo III da cadeia respiratória, pelo bloqueio da transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1 no sítio Qe, interferindo na produção de ATP. A germinação de esporos é a fase do ciclo biológico do patógeno com maior sensibilidade a ação das estrobilurinas. Esses controlam uma ampla gama de doenças fúngicas, incluindo míldios, oídios, manchas foliares, murchas vasculares, podridões de frutas e ferrugens (REIS, REIS & CARMONA, 2016).

O principal grupo químico de fungicidas IQe são as estrobilurinas. No caso específico da FAS, não é recomendado a utilização destes fungicidas em aplicações isoladas. As estrobilurinas têm sido amplamente utilizados em misturas com triazóis. Em 2013 também foram comercializados em mistura com carboxamidas, e apartir de 2016 teve início a recomendação da mistura com carboxamida e triazol (GODOY et al., 2016).

Os principais fungicidas registrados para o controle de *P. pachyrhizi* contendo estrobilurinas são: azoxistrobina + ciproconazole, azoxistrobina + tebuconazol, azoxistrobina + flutriafol, epoxiconazol + piraclostrobina, trifloxistrobina + ciproconazol, trifloxistrobina + protioconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, picoxistrobina + ciproconazol, picoxistrobina + tebuconazol azoxistrobina +benzovindiflupir, picoxistrobina + benzovindiflupir, piraclostrobina + fluxapiroxada, piraclostrobina + fluxapiroxada + epoxiconazol e trifloxistrobina + bixafeno + protioconazole.

As estrobilurinas possuem translocação mesostêmica, apresentam afinidade com a superfície foliar podendo serem absorvidas pela camada de cera, formando um depósito na superfície do órgão da planta. Posteriormente, o fungicida pode ser redistribuído na superfície da planta na fase de vapor. O ingrediente ativo penetra nos tecidos apresentando atividade translaminar ou de profundidade, porém com translocação vascular mínima ou inexistente (REIS, REIS & CARMONA, 2016).

Mutações no sitio de ação no citocromo b (CYTB) podem resultar em redução da sensibilidade de fungos a estrobilurinas. Foram relatadas mutações no CYTB nas posições F129L, G137R e G143A, em isolados de patogenos com menor sensibilidade a fungicidas IQe (SCHMITZ et al, 2013).

A substituição de glicina por alanina na posição 143 (G143A) é a mutação mais comum em patógenos resistentes a IQe e está associada aos maiores fatores de resistência (GISI et al., 2002; GRASSO et al., 2006). Porém, análises de sequenciamento do gene CYTB revelaram que os agentes causais de ferrugens, incluindo *P. pachyrhizi*, possuem um intron após o códon 143, desta forma sendo letal a mutação para o fungo (SCHIMITZ et al., 2013).

As mutações F129L e G137R foram relatadas como de menor fator de resistência a estrobilurinas. Avaliações realizadas em isolados de *P. pachyrhizi* coletados no Brasil, nas safras 2012/13 e 2013/14, detectaram a mutação F129L em 51 % das amostras. Não foram detectadas outras mutações, incluindo G143A e G137R. A frequência da mutação F129L foi superior a 90 % em 65 % dos isolados onde foi detectada a mutação, entre 50 e 90 % de frequência em 28 %, e inferior a 50 % em 7% das amostras. Todas as amostras da safra 2013/14 de diferentes regiões do Brasil apresentaram a mutação F129L, com variações na freqüência. No estado de Mato Grosso, 92% dos isolados apresentaram a mutação (todos na safra 2013/14). Das amostras coletadas no estado do Paraná, 32 % apresentaram a mutação F129L, sendo que da safra 2012/13 à 2013/14, a porcentagem de isolados com a mutação aumentou de 9 para 47 % (KLOSOWSK et al., 2016).

No estado de Santa Catarina não há dados sobre a porcentagem de isolados de *P. pachyrhizi* com mutações F129L e G143R. Portanto a quantificação da porcentagem de isolados com estas mutações, distribuição destes isolados no estado, e frequência das mutações seria uma importante contribuição para auxiliar nas recomendações de controle químico do patógeno.

##### 2.7.3.4.3 Fungicidas inibidores da succinato desidrogenase

Os fungicidas que inibem o complexo II da cadeia respiratória na enzima succinato desidrogenase (SDHI), foram originalmente chamados de carboxamidas. A enzima succinato desidrogenase (SDH) é composta por quatro sub-unidades A, B, C e D. O mecanismo de ação das carboxamidas consiste na ligação do fungicida a enzima succinato desidrogenase em uma das sub-unidades B, C ou D, inibindo o transporte de elétrons no complexo II da cadeia respiratória do fungo e consequentemente a produção de ATP. Esta inibição da produção de ATP, causa defict de energia e a morte do fungo. A germinação de esporos é a fase do ciclo biológico do fungo com maior sensibilidade a ação das carboxamidas (SIEROTZK & SCALLIET, 2013, REIS, REIS & CARMONA, 2016, SIMÕES et al., 2017).

O primeiro composto com este mecanismo de ação a ser descoberto foi a carboxina, com início da sua comercialização em 1966. Entre 1971 e 1997, teve início a comercialização de benodanil, fenfuram, mepronil, flutolanil, furametpyr e thifluzamide. Estes compostos são também denominados como a primeira geração de carboxamidas, e apresentavam espectro de ação limitado quando comparados aos fungicidas deste grupo lançados posteriormente (SIEROTZK & SCALLIET, 2013).

O início da comercialização das carboxamidas de segunda geração ocorreu no ano de 2003, com a comercialização da boscalida. Esta nova geração de SDHI apresenta amplo espectro de açãosendo comparável ao espectro dos fungicidas IQe, com exceção da atividade de oomicetos, a qual ainda não foi comprovada. Nos últimos anos, vários novos fungicidas que inibem a enzima succinato desidrogenase (SDH) foram lançados e denominados coletivamente como SDHI’s (SIEROTZK & SCALLIET, 2013). Existem 23 fungicidas com este mecanismo de ação (benodanil, flutolanil, mepronil, sofetamida, fluopyram, fenfuram, carboxina oxycarboxina, thifluzamide, benzovindiflupir, bixafen, fluindapir, fluxapyroxada, furametpir, inpyrfluxam, isopyrazam, penflufen, penthiopirada, sedaxane, soflucypram, pydiflumetofen, boscalida, pyraziflumida) (FRAC, 2019).

As SDHIs são estruturalmente distintas, mas apresentam uma característica comum essencial, que é a ligação amida. Este grupo de fungicidas pode ser dividido em nove grupos químicos, porém os grupos mais representativos em termos de moléculas comercializadas são pirazol-carboxamidas, seguido por benzamidas e oxa-carboxilamidas (SIEROTZK & SCALLIET, 2013; FRAC, 2019). Os fungicidas SDHI utilizados para o controle de *P. pachyrhizi* são benzovindiflupir, fluxapiroxada e bixafeno, todos pertencendo ao grupo químico pirazol-carboxamidas. Contudo, a nomenclatura mais utilizada para este grupo químico e carboxamida, a qual sera utilizada neste texto.

No Brasil a comercialização de carboxamidas visando o controle de *P. pachyrhizi* teve início em 2013, com o registro dos fungicidas fluxapiroxada + piraclostrobina e benzovindiflupir + azoxistrobina. Em 2016 foi registrado o fungicida fluxapiroxada + piraclostrobina + epoxiconazole, e no ano seguinte benzovindiflupir + picoxistrobina. Em 2019, foi registrado o fungicida trifloxistrobina + protioconazole + bixafeno.

Quanto a mobilidade os SDHI’s são classificados como penetrantes translaminares ou penetrantes sistêmicos (REIS, REIS & CARMONA, 2016, JULLIATI, AZEVEDO & JULLIATI, 2017).

Os primeiros indícios de possíveis mutações ocasionando redução da sensibilidade a carboxamidas foram relatados para *Ustilago maydis* e *Aspergillus nidulans* na década de 1970. Estes mutantes foram selecionados após irradiação UV em meios modificados com fungicida (VAN TUYL, 1975; GEORGOPOULOS & ZIOGAS, 1977).

Após o aumento do uso de SDHIs como fungicidas foliares, a redução da sensibilidade foi relatada em *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Didymella brioniae*, *Corynespora cassiicola* e *Podosphaera xanthii*, sendo possível a ocorrência de mutações nas sub-unidades B, C, D. Na maioria dos patógenos, mais de uma mutação pode ser selecionada em condições de campo, mas elas raramente ocorrem juntas. No total, foram relatadas 27 mutações que conferem resistência a SDHI em populações de diferentes patógenos (SIEROTZK & SCALLIET, 2013).

Na safra 2015/16, isolados de *P. pachyrhizi* com menor sensibilidade a fungicidas SDHI foram detectados pela primeira vez em estudos de monitoramento realizados pelo FRAC. Nestes isolados foi identificada a mutação na sub-unidade C da enzima succinato desidrogenase, que causa a substituição de aminoácidos na posição I86F. A mutação I86F pode apresentar frequência de até 50 %, sendo o fator de resistência distinto para benzovindiflupir, fluxapiroxada e bixafeno. A relevância prática da mutação sobre a eficácia das carboxamidas no campo, necessita ser pesquisada com maior detalhamento (SIMÔES et al., 2017).

Apesar da mutação I86F não ter sido relatada no estado de Santa Catarina até o momento, devido a disseminação do fungo ocorrer pelo vento é possível que a mutação esteja presente no estado. Contudo não há trabalhos de pesquisa avaliando a sua ocorrência e distribuição em isolados de *P. pachyrhizi* oriundos de diferentes regiões do estado.

Neste sentido, uma importante contribuição seria a quantificação da distribuição e frequência da mutação em isolados do estado de Santa Catarina, bem como sua relação com a adaptabilidade de *P. pachyrhizi*. Além disto, em situações de campo diferentes fases do processo de infecção do fungo podem estar ocorrendo simultaneamente, quando se realiza a pulverização. Portanto, a avaliação da eficiência de carboxamidas + estrobilurinas aplicadas isolados e/ou em mistura, sob diferentes fases do processo de infecção do fungo representaria importante contribuição de pesquisa, especialmente em isolados com a mutação I86F.

##### 2.7.3.4.4 Fungicidas multissítios

Os fungicidas que interferem em várias funções celulares, são também denominados de multissítios. Estes compostos interrompem a função da célula de uma maneira não específica, apresentando amplo espectro de ação (GULLINO et al., 2010). Substâncias que pertencem a este grupo de fungicidas não apresentam mobilidade, e caso fossem absorvidos pelas células causariam fitotoxicidade. A absorção pelo fungo acontece no momento em que o esporo absorve água para germinação com a presença do fungicida, por isto são denominados fungicidas protetores (REIS, REIS & CARMONA, 2016).

Os principais fungicidas protetores utilizados no controle de *P. pachyrhizi* no Brasil são mancozebe, clorotalonil, hidróxido de cobre e oxicloreto de cobre**.**

A ação destas substâncias ocorre em um grupo de enzimas, interferindo diversos processos bioquímicos das células fúngicas ao mesmo tempo. De maneira geral, enzimas contendo radicais sufidrilas, hidroxila ou carboxila podem sofrer interferência da ação de fungicidas multissítios.

A ocorrência de mutações, capazes de ocasionarem redução da sensibilidade de patógenos a este grupo de fungicidas, apresenta baixo risco. Não há relato da redução da sensibilidade de patógenos a mancozebe, clorotalonil e fungicidas cúpricos (GULLINO et al., 2010; REIS, REIS & CARMONA, 2016).

A utilização de fungicidas protetores na cultura da soja aumentou principalmente em virtude da redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi* a triazóis, estrobilurinas e carboxamidas. A adição de fungicidas protetores as misturas comerciais de moléculas com ação sitio específico resultam em aumento da eficiência de controle da FAS, além de ser uma estratégia de manejo da resistência.

# 3 HIPÓTESES

## 3.1 GERAL

A utilização de diferentes estratégias de controle químico e genético podem reduzir a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi*.

## 3.2 ESPECÍFICAS

1. Há redução de eficiência de fungicidas do grupo das carboxamidas quando aplicadas após a inoculação de *P. pachyrhizi* com presença da mutação I86F;
2. A adição de fungicidas do grupo químico dos triazóis a carboxamidas proporciona aumento de controle da ferrugem asiática da soja independente da fase do processo de infecção do fungo em que são pulverizados;
3. Há variabilidade na frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* oriundas de regiões com diferentes altitudes no estado de SC;
4. A mutação I86F está presente em todas as regiões do estado, mas apresenta diferenças na porcentagem de populações resistentes e frequência da mutação em populações mutantes;
5. Os menores valores de porcentagem de populações mutantes e frequência da mutação I86F são observados no momento da detecção dos primeiros sintomas;
6. Existe incremento na porcentagem de populações mutantes e frequência de mutações I86F em populações de *P. pachyrhizi* durante o ciclo da cultura da soja;
7. A menor porcentagem de populações mutantes e frequência de mutação I86F é encontrada em programas sem a utilização de fungicidas do grupo químico das carboxamidas;
8. O aumento do número de aplicações de fungicidas contendo carboxamida resulta em maior frequência de mutações I86F;
9. A utilização de cultivares de soja com a tecnologia Inox reduz a porcentagem de populações mutantes e frequência da mutação I86F.

# 4 OBJETIVOS

## 4.1 GERAL

O principal objetivo deste estudo será quantificar a eficiência de carboxamidas isoladas ou em mistura com outros fungicidas no controle de isolados de *P. pachyrhizi* com mutação I86F aplicadas em diferentes fases do processo de infecção do fungo.

## 4.2. ESPECÍFICOS

1. Monitorar a ocorrência, distribuição e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* oriundas de diferentes regiões do estado de Santa Catarina;
2. Avaliar a eficiência de fungicidas do grupo químico das carboxamidas isolados ou em mistura com estrobilurinas, triazóis e ditiocarbamatos pulverizados em diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi* com isolado apresentando 47% de frequência da mutação I86F;
3. Avaliar o efeito de diferentes programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi;*
4. Comparar cultivares de soja com ausência e presença da tecnologia Inox na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi.*

# 5 DESEMPENHO DE CARBOXAMIDAS NO CONTROLE DE *Phakopsora pachyrhizi* APLICADAS EM DIFERENTES FASES DO PROCESSO DE INFECÇÃO DO PATÓGENO

## 5.1 RESUMO

A ferrugem asiática da soja tem limitado o potencial de produtividade em virtude da frequência de ocorrência, severidade e potencial de dano. A mutação I86F afeta a eficiência de controle de fungicidas do grupo químico das carboxamidas, mas não há informações sobre seu efeito em diferentes fases do processo de infecção do fungo onde é realizada a aplicação de carboxamidas isoladas e/ou em mistura. O objetivo deste trabalho foi obter informações quantitativas da eficiência de carboxamidas isoladas e/ou em mistura com outros fungicidas no controle de uma população de *P. pachyrhizi* com 47 % de frequência da mutação I86F, em diferentes fases do processo de infecção do fungo. A inoculação foi realizada em plantas de soja cultivar BMX Lança IPRO mantidas em casa de vegetação no estádio fenológico V2. Os fungicidas avaliados foram fluxapyroxada, bixafeno, azoxistrobina + benzovindiflupir, piraclostrobina + fluxapiroxada, picoxistrobina + benzovindiflupir, piraclostrobina + fluxapiroxada +epoxiconazol, trifloxistrobina + bixafeno + protioconazol, azoxistrobina + benzovindiflupir + difenoconazol + ciproconazol, azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe, trifloxistrobina + protioconazol. Foram realizadas aplicações de fungicidas em seis momentos: M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação. A avaliação de severidade da doença foi realizada aos vinte dias após a inoculação. Aplicação de forma preventiva de carboxamidas isoladas propiciaram menor número de lesões e maior controle do patógeno, quando comparada com aplicações curativas. Os fungicidas testados apresentaram diferença quanto ao potencial curativo, sendo trifloxistrobina + protioconazole + bixafeno, trifloxistrobina + protioconazole, picoxistrobina + benzovindiflupyre azoxistrobina + benzovindiflupyr + ciproconazole + difenoconazole os tratamentos com maior eficiência de controle curativo. A eficiência de controle de *P. pachyrhizi* pelos fungicidas do grupo químico das carboxamidas fluxapyroxada e bixafeno é reduzida linearmente quando esses são pulverizados após a inoculação do fungo. Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas proporcionam controle da doença mesmo em população de *P. pachyrhizi* com alta frequência da mutação I86F, quando pulverizados em fases iniciais do processo de infecção do fungo e/ou aplicados em mistura.

**Palavras chave:** Fungicidas.Controle químico. Controle curativo. Ferrugem asiática

## 5.2 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill.) é uma das plantas de lavoura mais cultivadas no mundo. No Brasil, a área cultivada triplicou nos últimos vinte anos, aumentando de 11,38 milhões de hectares na safra de 1997/98 para 35,8 milhões de hectares na safra de 2017/18 (CONAB, 2019).

Apesar do incremento crescente de área, a produção e a produtividade não tem tido o mesmo crescimento em razão de alguns fatores abióticos e bióticos.

A ocorrência de doenças, como a ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow,relatada pela primeira vez na América do Sul em 2001 (YORINORI & MOREL, 2002), tem limitado o potencial de produtividade (YORINORI et al., 2005) em virtude da frequência de ocorrência, severidade e potencial de dano (DALLA LANA et al., 2015; GODOY et al., 2016). A FAS pode causar rápido amarelecimento e desfolha precoce das plantas, prejudicando a formação de vagens e grãos, e consequentemente reduzindo a produtividade (YANG et al., 1991; KUMUDINI et al., 2008).

Danos da FAS foram estimados de 23 a 90% em Taiwan (HARTMAN, WANG & TSCHANZ, 1991), 10 a 40% na Tailândia, 10 a 90% na Índia, 10 a 50% no sul da China e 40% no Japão (SINCLAIR & HARTMAN, 1999), 50% no Paraguai (MOREL, 2001) e 40 a 80% no Zimbabwe (LEVY, 2005). No Brasil, estimativas de dano variam de 10 a 100% (YORINORI & MOREL, 2002; HIKISHIMA et al., 2010). Correlação entre severidade e redução da produtividade indicou redução de 0,41 a 0,79% (média 0,6%) para cada 1% de severidade da doença (DALLA LANA et al., 2015). Ao considerar a área cultivada na safra de 2018/19 de 35,82 milhões de hectares, a severidade média da testemunha nos ensaios em rede de 78,1%, a redução de 0,6% de produtividade para 1% de severidade e a produtividade média de 3.206 kg.ha-1, tem-se o dano potencial estimado da FAS no Brasil nesta safra de 53,81 milhões de toneladas de soja ou 67,27 bilhões de reais considerando o preço do saca de R$ 75,00 (DALLA LANA et al., 2015; CONAB, 2019; GODOY et al., 2018).

Cultivares de soja com resistência duradoura a todos os isolados de *P. pachyrhizi* não estão disponíveis. Outras estratégias de controle como a escolha da época de semeadura, o arranjo da população de plantas, o cultivo de genótipos precoces e a eliminação de plantas voluntárias são estratégias complementares, no entanto, devido facilidade de dispersão do inóculo o patógeno tem sido detectado em praticamente todos os sistemas de cultivo, o que torna o controle químico a estratégia mais utilizada no controle da doença (KAWASHIMA et al., 2016). Quando o controle químico se torna a única estratégia ou a mais utilizada, pode ocorrer necessidade do aumento do número de pulverizações e consequentemente maior período de exposição do patógeno aos fungicidas. O aumento do período de exposição do patógeno ao fungicida e/ou aumento da dose total de ingrediente ativo pulverizado durante o ciclo da cultura, causa aumento da taxa de seleção de isolados do patógeno com menor sensibilidade a fungicidas (HOBBELEN et al., 2011; van den BOSCH et al., 2014). O patógeno ao ser exposto a aplicações repetidas de fungicidas de sítio específico com o mesmo mecanismo de ação sofre pressão de seleção, proporcionando incremento da frequência de indivíduos menos sensíveis na população do fungo.

A redução de eficiência dos fungicidas no controle da FAS observada a nível de campo, deve-se a menor sensibilidade do fungo a fungicidas com mecanismo de ação DMI’s, IQe’s e SDHI’s (SCHMITZ et al., 2013; KLOSOWSK et al., 2016; SIMÕES et al., 2017). Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas, inibem a respiração mitocondrial através da ligação a enzima succinato desidrogenase (SDHI’s) no complexo II da cadeia respiratória, impedindo a transferência de elétrons e consequentemente a produção de ATP, levando a uma deficiência de energia e morte do fungo (SIEROTZKI & SCALLIET, 2013). As carboxamidas foram registradas no Brasil para o controle da FAS no ano de 2013, sendo os produtos comerciais formulados por misturas de carboxamidas e estrobilurinas (IQe’s) e desde então apresentavam os maiores valores de controle da doença nos ensaios do consórcio em rede (GODOY et al. 2016a; GODOY et al. 2016b). Os fungicidas SDHI’s e IQe’s são classificados como fungicidas de alto risco de resistência pelo FRAC (FRAC, 2017). A recomendação do FRAC internacional para utilização de misturas nas formulações com SDHI, visando o manejo de resistência, menciona a necessidade deste produto parceiro apresentar eficiência satisfatória quando utilizado de maneira isolada visando o controle da doença alvo (FRAC, 2017). Contudo, na safra 2012/13, o fungicida azoxistrobina quando avaliado de maneira isolada nos ensaios do consórcio em rede apresentava eficiência de controle da FAS inferior a 30% em 25% dos locais de avaliação, havendo presença de locais com controle inferior a 10% (GODOY et al., 2013). Na safra seguinte, quando houve aumento de utilização de carboxamidas em misturas com estrobilurinas, o controle de azoxistrobina isolada foi inferior a 10% em 25% dos locais avaliados nos ensaios do consórcio em rede (GODOY et al., 2014). Desta forma, as carboxamidas foram registradas em mistura com fungicidas com baixa eficiência, aceitando assim maior risco de seleção de indivíduos com menor sensibilidade a este grupo de fungicidas.

Em monitoramento realizado pelo FRAC, foi verificado em populações do patógeno coletadas na safra 2015/16, a presença da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase, a qual confere menor sensibilidade de *P. pachyrhizi* a carboxamidas (SIMÕES et al., 2017). Além disso, nos ensaios do consórcio em rede observou-se a redução de eficiência de carboxamidas, principalmente na região sul do país (GODOY et al., 2017). A redução da sensibilidade do fungo a este grupo de fungicidas, pode representar a perda dos ingredientes ativos considerados eficientes no controle de *P. pachyrhizi.* A existência de custo de adaptação para mutações relacionadas a redução de sensibilidade a fungicidas, proporciona a possibilidade de aumento da frequência de indivíduos com maior sensibilidade aos fungicidas quando ocorre redução da exposição do fungo a ingredientes ativos relacionados com estas mutações (HAWKINS & FRAAIJE, 2018). Portanto, há necessidade de realização de estudos avaliando o custo de adaptação da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* visando compreender quais estratégias de manejo de resistência serão eficazes para proporcionar aumento de eficiência de fungicidas do grupo das carboxamidas.

A nível de campo as aplicações de fungicidas são recomendadas preventivamente, porém quando há presença do patógeno na lavoura todas fases do processo de infecção ocorrem ao mesmo tempo (van den BOSCH et al., 2016). Diante do exposto há necessidade de compreender a eficiência de fungicidas aplicados em diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi*, pois pouca informação foi obtida neste sentido (GODOY & CANTERI, 2004), descritas antes dos relatos de redução da sensibilidade a fungicidas do grupo químico dos triazóis, estrobilurinas e carboxamidas. Da mesma forma não há comprovação científica de que aplicações curativas de fungicidas proporcionam maior taxa de seleção de isolados resistentes (van den BOSCH et al., 2014). A mutação I86F afeta a eficiência de controle de fungicidas do grupo químico das carboxamidas, mas não há informações sobre seu efeito em diferentes fases do processo de infecção do fungo, bem como sobre o efeito de mistura de carboxamidas com fungicidas de outros grupos químicos visando aumentar o controle do patógeno em isolados mutantes. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi obter informações quantitativas da eficiência de carboxamidas isoladas e/ou em mistura com outros fungicidas no controle de uma população de *P. pachyrhizi* com a mutação I86F aplicadas em diferentes fases do processo de infecção do fungo.

## 5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação localizados no Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina. Foram conduzidos dois estudos com aplicações de fungicidas carboxamidas de forma isolada (primeiro estudo) e em mistura (segundo estudo) de carboxamidas com estrobilurinas, triazóis e ditiocarbamato. Cada estudo foi replicado uma vez.

### 5.3.1 População do fungo

A população de *P. pachyrhizi* selecionada para utilização nos experimentos foi coletada no município de Lages, estado de Santa Catarina, e apresentou 47% de frequência da mutação I86F, sendo que em geral a mutação ocorre em apenas um dos núcleos alcançando 50 % de frequência.

Para quantificação da frequência da mutação foi realizada a extração do DNA da população do patógeno conforme metodologia descrita por Schimitz et al. (2014), na Estação Experimental da empresa BASF, em Santo Antônio de Posse, estado de São Paulo, A análise quantitativa genética da mutação I86F na subunidade SDHc, foi realizada através de PCR em tempo real pela metodologia desenvolvida e descrita por Simões et al. (2017).

### 5.3.2 Manutenção do inóculo

A manutenção do inóculo da população de *P. pachyrhizi* foi feita em plantas de soja do cultivar BMX Lança IPRO cultivadas em casa de vegetação com semeadura a cada duas semanas para manutenção do inóculo durante todo o período de estudo.

Folhas de soja com lesões e urédias contendo uredosporos foram coletadas sempre que necessário para produção do inóculo. No Laboratório de Fitopatologia os folíolos infectados foram inseridos dentro de Erlenmeyrs, contendo água destilada com duas gotas por litro do surfactante Tween 20, os quais foram agitados manualmente para formar uma suspensão de uredosporos. Foram coletadas alíquotas dessa suspensão para mensuração da concentração de inóculo em microscópio ótico utilizando hemacitômetro.

### 5.3.3 Inoculações

Os dois estudos foram conduzidos com a mesma cultivar BMX Lança IPRO, porém mantidas em outra casa de vegetação separada daquela onde havia manutenção do inóculo.

Foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 0,5 L contendo o substrato Plant max HT ®, composto por casca de pinus, turfa, vermiculita expandida, e enriquecido com macro e micronutrientes. Em cada vaso foram semeadas dez sementes sendo que após a emergência dos cotilédones manteve-se seis plântulas até o estádio fenológico V2 (primeiro trifólio aberto) (FEHR & CAVINESS,1977) onde procedeu-se os tratamentos.

As inoculações nesse estádio foram realizadas com borrifador manual plástico, aplicando 10 mL da suspensão da concentração 1,5 x 105 uredosporos mL-1 por vaso.

Após a inoculação as plantas foram mantidas na casa de vegetação com temperatura de 22oC ± 2oC, sob luz natural, sendo acionado o sistema de nebulização por cinco minutos com intervalos de três horas nas primeiras 24 horas. Durante os 17 dias posteriores à inoculação manteve-se a aspersão de água por cinco minutos no início da noite visando manter o molhamento foliar noturno e umidade relativa entre 70 e 95 %.

### 5.3.4 Aplicações de fungicidas

As aplicações de fungicidas foram realizadas com um pulverizador costal pressurizado com gás CO2, equipado com ponta de pulverização tipo leque duplo (TJ 60 - 11002), calibrado para vazão de 200 L ha‑1. As aplicações de fungicidas foram realizadas fora da casa de vegetação, em ambiente coberto, posicionando os vasos de cada tratamento no chão equidistantes para passagem da barra do pulverizador com velocidade uniforme sobre as plantas com o objetivo de proporcionar cobertura completa dos folíolos.

### 5.3.5 Delineamento experimental e tratamentos

Nos dois estudos os fungicidas foram aplicados em seis momentos: M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação. Cada experimento foi replicado uma vez.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituindo um fatorial entre fungicidas e momentos de aplicação, sendo realizadas cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso onde foram avaliados quatro folíolos centrais.

#### 5.3.5.1 Estudo I – carboxamidas isoladas

Nesse estudo foram avaliados os ingredientes ativos bixafeno e fluxapiroxada, nas doses de 62,5 e 58,45 g de i.a ha-1, respectivamente. Foram utilizados em mistura o óleo vegetal Aureo e óleo mineral Assist, ambos na dose de 0,5 L.ha-1, respectivamente para bixafeno e fluxapiroxada.

#### 5.3.5.1 Estudo II – misturas de carboxamidas

Os fungicidas utilizados nesse estudo constam de mistura de carboxamidas com estrobilurinas, triazóis e ditiocarbamatos (Tabela 1).

Tabela 1. Produto comercial, ingrediente ativo e dose de fungicidas aplicados em diferentes fases do processo de infecção do fungo *Phakopsora pachyrhizi* em plantas de soja. Lages, SC. 2019.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Produto**  **Comercial** | **Ingrediente**  **ativo (i.a.)** | **Dose**  **(g i.a. ha-1)** |
| Testemunha | \_ | \_ |
| Fox1 | trifloxistrobina + protioconazol | 60 + 70 |
| Elatus2 | azoxistrobina + benzovindiflupir | 60 + 30 |
| Orkestra3 | piraclostrobina + fluxapiroxada | 116,55 + 58,45 |
| Vessarya2 | picoxistrobina + benzovindiflupir | 60 + 30 |
| Ativum3 | piraclostrobina + fluxapiroxada +epoxiconazol | 64,8 + 40 +40 |
| Flint + Redigo + Bixafeno1,4 | trifloxistrobina + bixafeno + protioconazol | 75 + 87,5 + 62,5 |
| Elatus + Cypress2 | azoxistrobina + benzovindiflupir + difenoconazol + ciproconazol | 60 + 30 +  62,5 + 37,5 |
| Elatus + Unizeb Gold2 | azoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe | 60 + 30 + 1500 |

1 Adição do óleo vegetal Aureo (0,5 l. ha-1); 2 Adição do óleo mineral Nimbus (0,6 l. ha-1); 3Adição do óleo mineral Assist (0,5 l. ha-1); 4 Fungicidas Redigo e Bixafeno são produtos pré-comerciais.

### 5.3.6 Avaliação de intensidade de doença

A avaliação de severidade da doença foi realizada 20 dias após a inoculação do fungo. De cada unidade experimental foram removidos quatro folíolos centrais de folhas trifolioladas. Os folíolos foram levados ao laboratório onde sob lupa estereoscópica foi quantificado o número de lesões em uma área de dois discos de um cm2 de diâmetro demarcada para cada folíolo (um em cada lado do folíolo considerando a nervura central). Foram consideradas lesões de FAS aquelas com a presença de no mínimo uma urédia de *P. pachyrhizi*. Posteriormente foi calculado o número de lesões por cm2 de tecido foliar.

### 5.3.7 Análise estatística

Os dados de número de lesões por cm2 foram transformados em arc seno [raiz (x/k)], onde x é o número de lesões e k é uma constante com valor igual a 100. A análise de variância foi realizada em esquema fatorial sendo considerada a interação entre momentos de aplicação e fungicidas. As análises foram feitas no programa SAS. As variáveis significativas no teste F, da análise de variância foram comparadas por teste de médias de Tukey (P < 0,05). Foi realizada a análise de regressão para o número de lesões.cm-2 e controle da doença com os valores dos tratamentos realizados 0, 24, 48, 72, 120 e 168 h após a inoculação. Através das equações de regressões lineares foi determinado o número de horas após a inoculação em que os fungicidas obtiveram controle de 50 e 80%, bem como a redução média de controle por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação.

## 5.4 RESULTADOS

### 5.4.1 Estudo I - carboxamidas isoladas

Os dados apresentados e discutidos abaixo são formados pela média dos dois experimentos, em virtude de não ter ocorrido interação estatística.

Os fungicidas fluxapiroxada e bixafeno diferem com relação à eficiência de controle de *P. pachyrhizi* quando aplicados em diferentes momentos de infecção do fungo (Tabela 2). Aplicação de forma preventiva das duas carboxamidas propiciaram menor número de lesões (Tabela 2) e maior controle do patógeno (Tabela 3), quando comparada com aplicações curativas. Com o aumento do número de horas após a inoculação em que os fungicidas foram aplicados foi observado incremento significativo do número médio de lesões (Tabela 2) e da redução da eficiência de controle (Tabela 3).

Tabela 2. Número de lesões.cm-2 de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas isoladas. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tratamento** | **M1** | **M2** | **M3** | **M4** | **M5** | **M6** | **Média** |
| **Lesões/cm2** | | | | | | |
| Testemunha | 11,7Aa | 11,5Aa | 11,8Aa | 11,6Aa | 11,8Ba | 11,5Ba | 11,6A |
| Fluxapiroxada | 0,1Cd | 1,2Ccd | 1,4Cc | 2,1Cc | 7,6Cb | 10,7Ba | 3,8C |
| Bixafeno | 2,5Be | 7,3Bd | 8,7Bc | 10,0Bb | 15,3Aa | 15,8Aa | 9,9B |
| **Média** | 4,8e | 6,7d | 7,3c | 7,9b | 11,6a | 12,7a | 8,4 |
| **C.V. (%)** | 15,6 |  |  |  |  |  |  |

M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação;

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Tabela 3. Eficiência de controle da ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas isoladas. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tratamento** | **M1** | **M2** | **M3** | **M4** | **M5** | **M6** | **Média** |
| **Controle (%)** | | | | | | |
| Testemunha | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Fluxapiroxada | 99,1 | 89,7 | 87,9 | 82,1 | 35,4 | 9,3 | 67,3 |
| Bixafeno | 78,2 | 37,2 | 25,8 | 14,9 | 0,0 | 0,0 | 26,1 |
| **Média** | 88,7 | 63,5 | 56,9 | 48,5 | 17,7 | 4,7 | 46,7 |

M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação;

Em média as carboxamidas isoladas apresentaram aumento do número de lesões de 4,8 lesões.cm-2 (Tabela 2) quando aplicadas 48 horas antes da inoculação, para 11,6 lesões.cm-2 (Tabela 2) quando aplicadas 120 horas após a inoculação. Aplicações de fungicidas do grupo das carboxamidas quando realizadas até 72 horas após a inoculação reduziram o número de lesões em relação a testemunha (Tabela 2) e apresentaram controle superior a 46,8 % (Tabela 3).

Porém quando as aplicações foram realizadas entre 120 e 168 hs após a inoculação a média de controle e número de lesões não diferiu da testemunha (Tabela 2), além disto não houve diferença na eficiência e número de lesões médio dos fungicidas aplicados nestes dois momentos (Tabela 2).

O fungicida Fluxapyroxada (Flux) apresentou menor número de lesões e maior eficiência de controle de *P. pachyrhizi* que bixafeno (Bix), independente do momento em que foram aplicados.

O fungicida Flux apresentou eficiência de 82,1 % quando aplicado 72 hs após a inoculação (Tabela 3), enquanto Bix obteve controle próximo a 80 % (78,2 %) somente quando aplicado 48 hs antes da inoculação (Tabela 3).

A aplicação de Bix obteve redução de 78,2 para 37,2 % quando aplicado 48 hs antes e 24 hs após a inoculação (Tabela 3), respectivamente. O fungicida Flux apresentou maior estabilidade de controle do patógeno quando aplicado em diferentes fases do processo de infecção do fungo, sendo o controle de 99,1 %, 82,1 % e 35,4 %, respectivamente para aplicações 48 horas antes, 72 e 120 horas após a inoculação (Tabela 3).

Com base na análise das equações de regressão linear para as aplicações de fungicidas realizadas em diferentes fases do processo de infecção houve redução média de controle por dia de atraso da aplicação após a inoculação de 10,6 e 8,9 % (Tabela 4), respectivamente para Flux e Bix. Porém, Flux apresenta eficiência de 50% quando aplicado 103,3 horas após a inoculação e Bix obtem a mesma eficiência em aplicação 0,7 horas antes da inoculação (Tabela 4).

Tabela 4. Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas isoladas proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **% Controle** | | | | | |  |
| **Trat** | **A** | **B** | **C** | **80%** | **50%** | **R2** | **Equação** |
| Flu | -0,44 | 95,4 | -10,6 | 35,0 | 103,3 | 0,84 | Y= 0,44x +95,4 |
| Bix | -0,37 | 49,7 | -8,9 | <-48,0 | -0,7 | 0,90 | Y= 0,37x +49,7 |
| **Média** | -0,40 | 72,6 | -9,7 | -18,4 | 55,8 | 0,98 |  |

A) Redução de % de controle da FAS por hora de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; B) % de controle da FAS quando os fungicidas são aplicados no momento da inoculação; C) Redução de % de controle da FAS por dia de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; 80%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; 50%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; R2) Coeficiente de determinação; Equação) Equação obtida através da análise de regressão linear.

### 5.4.2 Misturas de carboxamidas

Os dados apresentados e discutidos abaixo são formados pela média dos dois experimentos, em virtude de não ter ocorrido interação estatística entre experimentos.

O comportamento de mistura de ingredientes ativos de fungicidas mostrou interação estatística com os momentos de aplicação, indicando que o aumento do número de horas após a inoculação do fungo proporcionou incremento significativo da severidade de FAS (Tabela 5).

Tabela 5. Número de lesões.cm-2 de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tratamentos** | **M1** | **M2** | **M3** | **M4** | **M5** | **M6** | **Média** |
| Lesões.cm-2 | | | | | | |
| 1.Testemunha | 11,6 Aa | 11,4 Aa | 11,8 Aa | 11,6 Aa | 11,8 Ba | 11,6 Ca | 11,6 A |
| 2.Tr + Pz | 0,3 CDc | 0,1 Ec | 0,2 Ec | 0,7 Fc | 2,4 FGb | 4,0 Fa | 1,3 EF |
| 3.Az + Bz | 6,8 Be | 6,8 Be | 7,8 Bd | 8,5 Bc | 17,2 Aa | 15,6 Ab | 10,4 B |
| 4.Pr + Fl | 0,2 CDd | 1,0 CDc | 3,6 Cb | 3,2 Db | 7,5 Da | 7,7 Ea | 3,9 D |
| 5.Pc + Bz | 0,1 Dc | 0,5 DEbc | 0,4 Ebc | 0,9 Fb | 2,8 Fa | 2,8 Ga | 1,2 EF |
| 6.Pr + Fl + Ep | 0,8 Cd | 1,1 CDd | 1,4 Dd | 2,3 Ec | 4,9 Eb | 14,0 Ba | 4,1 D |
| 7.Tr + Bx + Pr | 0,1 Dc | 1,0 Ec | 0,4 Ec | 0,4 Fc | 2,0 Gb | 3,4 FGa | 1,1 F |
| 8.Az + Bz + Ci + Di | 0,4 CDb | 0,6 DEb | 0,6 Eb | 0,6 Fb | 3,0 Fa | 3,6 Fa | 1,5 E |
| 9.Az + Bz + Mz | 0,3 CDe | 1,6 Cd | 4,1 Cc | 7,8 Cb | 9,7 Ca | 9,8 Da | 5,6 C |
| **Média** | 2,3 f | 2,6 e | 3,4 d | 4,0 c | 6,8 b | 8,0 a | 4,5 |

Momentos: M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação; Tratamentos: 1. Testemunha, 2. Trifloxistrobina +Protioconazole, 3. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr, 4. Piraclostrobina + Fluxapyroxada, 5. Picoxistrobina + Benzovindiflupyr, 6. Piraclostrobina + Fluxapyroxada + Epoxiconazole, 7. Trifloxistrobina + Bixafeno + Protioconazole, 8. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr + Ciproconazole + Difenoconazole, 9. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr + Mancozebe.

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Quando os fungicidas foram aplicados 48 h antes e 48 horas depois da inoculação o número médio de lesões.cm-2 foi de 2,3 e 2,6. Em valores porcentuais a aplicação preventiva (M1) reduziu em 47,8% o número de lesões.cm-2 quando comparada com aplicação 48 horas após a inoculação (M3). Com o aumento do tempo das aplicações a partir de 48 h nota-se crescente incremento do número de lesões.cm-2, com valores de 4,0, 6,8 e 8,0, respectivamente para 72, 120, 168 h após inoculação (Tabela 5).

Transformando os dados do número de lesões para porcentagem de controle, constatou-se que quando os fungicidas foram aplicados 48 h antes da inoculação o número médio de lesões foi de 2,3 lesões.cm-2 (Tabela 5) e o controle médio da doença foi 89,2% (Tabela 6), porém quando as aplicações foram realizadas 168 horas após a inoculação foi quantificado 8,0 lesões.cm-2 (Tabela 5) e 41,2 % de eficiência de controle (Tabela 6).

Tabela 6. Controle de ferrugem asiática da soja em folíolos trifoliolados com diferentes momentos de aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Trat** | **M1** | **M2** | **M3** | **M4** | **M5** | **M6** | **Média** |
| **Controle (%)** | | | | | | |
| 1.Testemunha | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 2.Tr + Pz | 97,6 | 98,9 | 97,9 | 94,2 | 78,9 | 65,7 | 88,9 |
| 3.Az + Bz | 41,8 | 40,5 | 34,0 | 26,4 | 0,0 | 0,0 | 23,8 |
| 4.Pr + Fl | 98,1 | 91,4 | 69,2 | 72,1 | 35,3 | 33,0 | 66,5 |
| 5.Pc + Bz | 99,2 | 95,4 | 96,8 | 92,4 | 76,1 | 75,8 | 89,3 |
| 6.Pr + Fl + Ep | 92,7 | 90,1 | 87,8 | 80,1 | 57,9 | 0,0 | 68,1 |
| 7.Tr + Bx + Pr | 99,4 | 99,3 | 96,4 | 96,1 | 82,6 | 70,6 | 90,7 |
| 8.Az + Bz + Ci + Di | 96,1 | 94,5 | 94,9 | 94,4 | 74,4 | 68,7 | 87,2 |
| 9.Az + Bz + Mz | 89,0 | 85,7 | 64,9 | 32,8 | 17,7 | 15,5 | 50,9 |
| **Média** | 89,2 | 87,0 | 80,2 | 73,6 | 52,9 | 41,2 | 70,7 |

Momentos: M1) 48 h antes da inoculação; M2) 24 h após a inoculação; M3) 48 h após a inoculação; M4) 72 h após a inoculação; M5) 120 h após a inoculação; M6) 168 h após a inoculação; Tratamentos: 1. Testemunha, 2. Trifloxistrobina +Protioconazole, 3. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr, 4. Piraclostrobina + Fluxapyroxada, 5. Picoxistrobina + Benzovindiflupyr, 6. Piraclostrobina + Fluxapyroxada + Epoxiconazole, 7. Trifloxistrobina + Bixafeno + Protioconazole, 8. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr + Ciproconazole + Difenoconazole, 9. Azoxistrobina + Benzovindiflupyr + Mancozebe.

A média de controle foi superior a 80 % quando os fungicidas foram aplicados até 48 horas após a inoculação (Tabela 6), e a redução média de eficiência de controle por dia de atraso da aplicação de fungicida foi 5,9 % (Tabela 6). Quando os fungicidas foram aplicados até 120 horas após a inoculação a média de controle da FAS foi superior a 50% (Tabela 6).

Todos os fungicidas apresentaram menor número de lesões que a testemunha quando aplicados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação (Tabela 5). A eficiência de controle da FAS pelo fungicida azoxistrobina + benzovindiflupyr (Az + Bz) foi nula quando a aplicação ocorreu entre 120 e 168 hs após a inoculação (Tabela 6). O mesmo ocorreu para aplicação de piraclostrobina + fluxapyroxada + epoxiconazole (Pr + Fl +Ep) 168 hs após a inoculação (Tabela 6).

Os maiores valores de intensidade de FAS e menor eficiência de controle entre os fungicidas testados foram observados para Az + Bz independente do momento de aplicação (Tabela 5 e Tabela 6).

Os fungicidas testados apresentaram diferença quanto ao potencial curativo, sendo trifloxistrobina + protioconazole + bixafeno (Tr + Bx + Pz), trifloxistrobina + protioconazole (Tr + Pz), picoxistrobina + benzovindiflupyr (Pc + Bz) e azoxistrobina + benzovindiflupyr + ciproconazole + difenoconazole (Az + Bz + Ci +Di) os tratamentos com maior eficiência de controle curativo (Tabela 6). Estes fungicidas foram os únicos a apresentarem controle superior a 90 % quando pulverizados 72 hs após a inoculação, e maior que 65 % quando aplicados 168 horas após a inoculação (Tabela 6).

Quando as aplicações foram realizadas 48 hs antes da inoculação o menor valor de número de lesões.cm -2 foi observado para Tr + Bx + Pz (0,08), o qual não diferiu de Tr + Pz (0,28), piraclostrobina + fluxapyroxada (Pr + Fl) (0,23), Pc + Bz (0,10), Az + Bz + Ci + Di (0,45), azoxistrobina + benzovindiflupyr + mancozebe (Az + Bz + Mz) (0,35) (Tabela 5). A média de controle da doença foi 89,2 %, sendo neste momento de aplicação observadas as menores diferenças entre os fungicidas (Tabela 6).

Em pulverizações realizadas 24 hs após a inoculação somente o fungicida Az + Bz apresentou controle inferior a 80 % (Tabela 6). O número médio de lesões.cm-2 e controle da FAS foram 2,58 (Tabela 5) e 87 % (Tabela 6) respectivamente. Os maiores valores de controle foram observados para Tr + Bx + Pz, o qual não diferiu quanto ao número de lesões.cm-2 em relação a Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di e Pc + Bz (Tabela 6).

A média de controle da FAS dos fungicidas quando aplicados 48 hs após a inoculação foi de 80,2 % (Tabela 6). A aplicação de Pr + Fl e Az + Bz + Mz apresentaram menor número de lesões que Az + Bz e testemunha, porém estes valores foram superiores aos tratamentos com os demais fungicidas testados (Tabela 5). Os menores valores de número de lesões.cm-2 foram observados para Tr + Pz (0,25), o qual não diferiu de Tr + Bx + Pz (0,43), Az + Bz + Ci + Di (0,6) e Pc + Bz (0,38). O fungicida Pr + Fl + Ep (87,8 %) apresentou controle da doença superior a Pr + Fl (69,2 %) e Az + Bz + Mz (64,9 %), os dois últimos tratamentos não diferindo entre si (Tabela 5).

Quando as pulverizações de fungicidas foram realizadas 72 hs após a inoculação foi observado menor número de lesões.cm-2 para Pr + Fl + Ep (2,3) que Pr + Fl (3,23), sendo a intensidade de doença deste último inferior a detectada para Az + Bz + Mz (7,78) (Tabela 5). Os maiores valores de controle da FAS foram observados para Tr + Bx + Pz (96,1%), o qual não diferiu de Tr + Pz (94,2 %), Az + Bz + Ci + Di (94,4 %) e Pc + Bz (92,4 %) (Tabela 6).

Ao avaliar a estabilidade de controle dos fungicidas aplicados em diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi*, foi verificado entre quais momentos de aplicação um mesmo fungicida não apresenta variação no número de lesões de FAS (Tabela 5). Desta forma a aplicação de Tr + Bx + Pz, Tr + Pz, e Az + Bz + Ci + Di não diferiram quanto ao número de lesões de FAS quando aplicados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 5)*.* Enquanto Pc + Bz e Pr + Fl + Ep quando pulverizados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação do fungo não diferiram entre si (Tabela 5).

O número médio de lesões.cm-2 quando os fungicidas foram pulverizados 120 hs após a inoculação do fungo foi 6,83 (Tabela 5), e o controle 52,9 % (Tabela 6). O número de lesões.cm-2 de FAS observado para Pr + Fl + Ep foi inferior a Pr + Fl, que por sua vez é inferior a Az+Bz+Mz (Tabela 5). O maior valor de controle neste momento de aplicação foi detectado para a pulverização de Tr + Bx + Pz, o qual não diferiu de Tr + Pz. Porém Tr + Pz não diferiu de Az + Bz + Ci + Di e Pc + Bz quando a eficiência de controle (Tabela 6) e intensidade da FAS (Tabela 5).

Os menores números de lesões.cm-2 em pulverizações realizadas 168 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* foi detectado para os fungicidas Pc + Bz e Tr + Bx + Pz (Tabela 5). Além disto a intensidade de FAS observada para Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di não diferiu de Tr + Bx + Pz (Tabela 5). A média de controle da FAS neste momento foi de 41,2 % (Tabela 6), e o número de lesões.cm-2 8,05 (Tabela 5), entretanto Tr + Bx + Pz, Pc + Bz, Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di apresentaram controle superior a 65% (Tabela 6).

O controle médio de todos fungicidas e momentos de aplicação avaliados foi 70,7 % (Tabela 6) e o número de lesões.cm-2 4,53 (Tabela 5). Todos os fungicidas apresentaram intensidade da FAS média para diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi* inferior a testemunha (Tabela 5). A aplicação de Az + Bz obteve o menor valor de controle (23,8 %) da FAS na média dos diferentes momentos de aplicação (Tabela 6). Avaliando a média de controle da FAS nas diferentes fases do processo de infecção do fungo, o maior controle da doença foi observado para Tr + Bx + Pz (90,7%), o qual não diferiu de Pc + Bz (89,3%) e Tr + Pz (88,9%) (Tabela 6). Entretanto, Az + Bz + Ci + Di não diferiu de Pc + Bz e Tr + Pz, e quanto ao controle médio para diferentes fases do processo de infecção do patógeno (Tabela 6). Os fungicidas Pr + Fl, e Pr + Fl + Ep apresentaram controle médio da FAS superior a Az + Bz + Mz e Az + Bz, e inferior aos demais fungicidas avaliados (Tabela 6). O tratamento Az + Bz + Mz obteve controle médio da FAS para diferentes momentos de aplicação superior a Az + Bz (Tabela 6).

Ao analisar as equações de regressões foi observado que carboxamidas aplicadas isoladas apresentam redução média de 0,4 % no controle para cada hora de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação do patógeno, e 9,7 % de redução de controle da FAS por dia de atraso da aplicação (Tabela 7).

Tabela 7. Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas em mistura com estrobilurinas, triazóis, triazolinthione e ditiocarbamato. proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **% Controle** | | | | | |  |
| **Trat** | **A** | **B** | **C** | **80%** | **50%** | **R2** | **Equação** |
| Tri + Pro | -0,16 | 98,9 | -3,8 | 120,6 | >168,0 | 0,76 | Y= 0,16x +98,9 |
| Azo + bem | -0,23 | 38,7 | -5,6 | <168,0 | -48,4 | 0,84 | Y= 0,23x +38,7 |
| Pir + flu | -0,34 | 88,5 | -8,2 | 24,7 | 112,0 | 0,89 | Y= 0,34x +88,5 |
| Pic + bem | -0,13 | 97,4 | -3,0 | 137,8 | >168,0 | 0,81 | Y= 0,13x +97,4 |
| Pir + flu+ epo | -0,41 | 94,0 | -9,7 | 34,6 | 108,7 | 0,73 | Y= 0,41x +94,0 |
| Tri + pro + bix | -0,14 | 99,5 | -3,3 | 142,0 | >168,0 | 0,79 | Y= 0,14x +99,5 |
| Azo + ben+ dif + cip | -0,14 | 96,2 | -3,4 | 114,9 | >168,0 | 0,75 | Y= 0,14x +96,2 |
| Azo + ben + man | -0,41 | 77,0 | -9,8 | -7,4 | 66,3 | 0,88 | Y= 0,41x +77,0 |
| **Média** | -0,25 | 86,7 | -5,9 | 27,0 | 148,0 | 0,90 |  |

A) Redução de % de controle da FAS por hora de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; B) % de controle da FAS quando os fungicidas são aplicados no momento da inoculação; C) Redução de % de controle da FAS por dia de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; 80%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; 50%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; R2) Coeficiente de determinação; Equação) Equação obtida através da análise de regressão linear

As misturas de carboxamidas + estrobilurinas apresentaram em média redução de controle da doença por hora de atraso da aplicação de fungicidas de 0,23 %, e redução de controle por dia de atraso da pulverização de 5,6 %, o que demonstra maior potencial curativo de carboxamidas em mistura com estrobilurinas quando comparado a carboxamidas isoladas (Tabela 8).

O controle da FAS quando aplicados no momento da inoculação foi semelhante para carboxamida (72,6 %) e carboxamida + estrobilurina (74,9 %) (Tabela 8). Carboxamidas isoladas obtiveram em média 80 % e 50 % de controle quando aplicadas -18,3 e 55,8 hs após a inoculação, respectivamente (Tabela 8). Enquanto que carboxamidas + estrobilurina obtiveram controle de 50 e 80 % quando aplicados 21,9 hs antes e 106 hs após a inoculação (Tabela 8).

Tabela 8. Redução de eficiência de controle da ferrugem asiática da soja por hora e dia de atraso da aplicação após a inoculação do patógeno, e número de horas após a inoculação que a aplicação de carboxamidas, carboxamidas + estrobilurinas, carboxamidas + estrobilurinas + triazóis/triazolinthione e carboxamidas + estrobilurinas + ditiocarbamato proporciona controle de 50 e 80 %. Lages, SC. 2017.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **% Controle** | | | | | |
| **Trat** | **A** | **B** | **C** | **80%** | **50%** | **R2** |
| C | -0,40 | 72,6 | -9,7 | -18,4 | 55,8 | 0,98 |
| C+E | -0,23 | 74,9 | -5,6 | -21,9 | 106,1 | 0,88 |
| C+E+T | -0,23 | 96,6 | -5,5 | 72,8 | >168,0 | 0,77 |
| C+E+MS | -0,44 | 80,4 | -10,6 | 0,8 | 69,0 | 0,88 |
| **Média** | -0,25 | 86,7 | -5,9 | 27,0 | 148,0 | 0,90 |

A) Redução de % de controle da FAS por hora de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; B) % de controle da FAS quando os fungicidas são aplicados no momento da inoculação; C) Redução de % de controle da FAS por dia de atraso da aplicação após a inoculação do fungo; 80%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; 50%) Número de horas após a inoculação do fungo em que o fungicida obtem 80 % de controle; R2) Coeficiente de determinação;

A eficiência de controle da FAS quando pulverizados no momento da inoculação para Pc + Bz, Pr + Fl e Az + Bz foi de 97,4, 88,5 e 38,7 %, respectivamente (Tabela 7). O fungicida Pc + Bz apresenta controle superior a 80 % mesmo quando aplicados 168 hs após a inoculação do patógeno, enquanto que Az + Bz não obtem controle superior a 50 % nem mesmo quando aplicado 48 horas antes da inoculação (Tabela 7). A aplicação de Pr + Fl apresenta controle da FAS de 80 e 50 % em pulverizações realizadas 24,7 e 112 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 7). A redução de controle da doença para cada dia de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação foi de 5,6 %, 8,2 % e 3,0 para Az + Bz, Pr + Fl e Pc + Bz, respectivamente.

Fungicidas compostos por misturas de carboxamida, estrobilurinas e triazol/triazolinthione apresentam redução média de 0,23 % no controle para cada hora de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação do patógeno, e 5,5 % de redução de controle da FAS por dia de atraso da aplicação (Tabela 8). Estes valores são semelhantes aos encontrados para misturas de carboxamidas e estrobilurinas. Porém o número de horas após a inoculação do fungo em que misturas de carboxamida + estrobilurina + triazol/triazolinthione obtem 80 % de controle foi de 72,8 hs, bem como estes mesmos quando aplicados 168 hs após a inoculação proporcionam controle superior a 50 % (Tabela 8). Quanto maior o número de horas após a inoculação do fungo em que os fungicidas apresentam eficiência, maior é o potencial curativo dos mesmos. Desta forma, o maior número de horas após a inoculação em que misturas de carboxamida, estrobilurina e triazol/triazolinthione obtem 50 e 80 % de controle quando comparados a misturas de carboxamida + estrobilurina, demonstram a importância de adição de inibidores da biosssintese de ergosterol para obter controle curativo de *P. pachyrhizi.*

Entre as misturas de carboxamida, estrobilurina e triazol/triazolinthione há diferenças no potencial curativo dos fungicidas, sendo que Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di apresentam redução de controle da FAS de 0,23 % para hora de atraso da aplicação após a inoculação do fungo, enquanto que Pr + Fl + Ep obteve 0,41 % de redução de controle por hora de atraso (Tabela 7). Para cada dia em que a aplicação de fungicida foi atrasada em relação a inoculação, Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di apresentaram redução de 3,3 e 3,4 % de controle, respectivamente (Tabela 7). Os valores observados para estes fungicidas demonstram maior potencial de controle curativo de FAS em relação a Pr + Fl + Ep, o qual reduz 9,7 % de controle para cada dia de atraso da aplicação (Tabela 7). O controle de FAS quando a aplicação ocorreu 120 hs após a aplicação, foi 57,9, 82,6 e 74,4 %, respectivamente para Pr + Fl + Ep, Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di (Tabela 7), o que reforça o maior potencial de controle curativo destas duas últimas misturas.

Ao comparar a eficiência de mistura de mancozebe ou ciproconazole + difenoconazole a Az + Bz, observamos que a adição de mancozebe proporciona controle superior a 80 % (85,7%) somente quando pulverizado até 24 hs após a inoculação (Tabela 7), enquanto que a mistura de ciproconazole+difenoconazole resulta em controle superior a 90 % (94,4%) quando aplicado até 72 hs após a inoculação (Tabela 7).

Nota-se uma diferença 1,1 lesões entre aplicação preventiva e curativa considerando os mesmos tempos. Em valores porcentuais a aplicação preventiva reduziu em 47,8% o número de lesões.cm-2 quando comparada com aplicação curativa. Com o aumento do tempo das aplicações a partir de 48 h nota-se crescente incremento do número de lesões.cm-2, com valores de 4,0, 6,8 e 8,0, respectivamente para 72, 120, 168 h após inoculação (Tabela 5).

Transformando os dados do número de lesões para porcentagem de controle, constatou-se que quando os fungicidas foram aplicados 48 h antes da inoculação o número médio de lesões foi de 2,3 lesões.cm-2 (Tabela 5) e o controle médio da doença foi 89,2% (Tabela 6), porém quando as aplicações foram realizadas 168 horas após a inoculação foi quantificado 8,0 lesões.cm-2 (Tabela 5) e 41,2 % de eficiência de controle (Tabela 6).

A média de controle foi superior a 80 % quando os fungicidas foram aplicados até 48 horas após a inoculação (Tabela 6), e a redução média de eficiência de controle por dia de atraso da aplicação de fungicida foi 5,9 % (Tabela 6). Quando os fungicidas foram aplicados até 120 horas após a inoculação a média de controle da FAS foi superior a 50% (Tabela 6).

Todos os fungicidas apresentaram menor número de lesões que a testemunha quando aplicados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação (Tabela 5). A eficiência de controle da FAS pelo fungicida azoxistrobina + benzovindiflupyr (Az + Bz) foi nula quando a aplicação ocorreu entre 120 e 168 hs após a inoculação (Tabela 6). O mesmo ocorreu para aplicação de piraclostrobina + fluxapyroxada + epoxiconazole (Pr + Fl +Ep) 168 hs após a inoculação (Tabela 6).

Os maiores valores de intensidade de FAS e menor eficiência de controle entre os fungicidas testados foram observados para Az + Bz independente do momento de aplicação (Tabela 5 e Tabela 6).

Os fungicidas testados apresentaram diferença quanto ao potencial curativo, sendo trifloxistrobina + protioconazole + bixafeno (Tr + Bx + Pz), trifloxistrobina + protioconazole (Tr + Pz), picoxistrobina + benzovindiflupyr (Pc + Bz) e azoxistrobina + benzovindiflupyr + ciproconazole + difenoconazole (Az + Bz + Ci +Di) os tratamentos com maior eficiência de controle curativo (Tabela 6). Estes fungicidas foram os únicos a apresentarem controle superior a 90 % quando pulverizados 72 hs após a inoculação, e maior que 65 % quando aplicados 168 horas após a inoculação (Tabela 6).

Quando as aplicações foram realizadas 48 hs antes da inoculação o menor valor de número de lesões.cm -2 foi observado para Tr + Bx + Pz (0,08), o qual não diferiu de Tr + Pz (0,28), piraclostrobina + fluxapyroxada (Pr + Fl) (0,23), Pc + Bz (0,10), Az + Bz + Ci + Di (0,45), azoxistrobina + benzovindiflupyr + mancozebe (Az + Bz + Mz) (0,35) (Tabela 5). A média de controle da doença foi 89,2 %, sendo neste momento de aplicação observadas as menores diferenças entre os fungicidas (Tabela 6).

Em pulverizações realizadas 24 hs após a inoculação somente o fungicida Az + Bz apresentou controle inferior a 80 % (Tabela 6). O número médio de lesões.cm-2 e controle da FAS foram 2,58 (Tabela 5) e 87 % (Tabela 6) respectivamente. Os maiores valores de controle foram observados para Tr + Bx + Pz, o qual não diferiu quanto ao número de lesões.cm-2 em relação a Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di e Pc + Bz (Tabela 6).

A média de controle da FAS dos fungicidas quando aplicados 48 hs após a inoculação foi de 80,2 % (Tabela 6). A aplicação de Pr + Fl e Az + Bz + Mz apresentaram menor número de lesões que Az + Bz e testemunha, porém estes valores foram superiores aos tratamentos com os demais fungicidas testados (Tabela 5). Os menores valores de número de lesões.cm-2 foram observados para Tr + Pz (0,25), o qual não diferiu de Tr + Bx + Pz (0,43), Az + Bz + Ci + Di (0,6) e Pc + Bz (0,38). O fungicida Pr + Fl + Ep (87,8 %) apresentou controle da doença superior a Pr + Fl (69,2 %) e Az + Bz + Mz (64,9 %), os dois últimos tratamentos não diferindo entre si (Tabela 5).

Quando as pulverizações de fungicidas foram realizadas 72 hs após a inoculação foi observado menor número de lesões.cm-2 para Pr + Fl + Ep (2,3) que Pr + Fl (3,23), sendo a intensidade de doença deste último inferior a detectada para Az + Bz + Mz (7,78) (Tabela 5). Os maiores valores de controle da FAS foram observados para Tr + Bx + Pz (96,1%), o qual não diferiu de Tr + Pz (94,2 %), Az + Bz + Ci + Di (94,4 %) e Pc + Bz (92,4 %) (Tabela 6).

Ao avaliar a estabilidade de controle dos fungicidas aplicados em diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi*, foi verificado entre quais momentos de aplicação um mesmo fungicida não apresenta variação no número de lesões de FAS (Tabela 5). Desta forma a aplicação de Tr + Bx + Pz, Tr + Pz, e Az + Bz + Ci + Di não diferiram quanto ao número de lesões de FAS quando aplicados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 5)*.* Enquanto Pc + Bz e Pr + Fl + Ep quando pulverizados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação do fungo não diferiram entre si (Tabela 5).

O número médio de lesões.cm-2 quando os fungicidas foram pulverizados 120 hs após a inoculação do fungo foi 6,83 (Tabela 5), e o controle 52,9 % (Tabela 6). O número de lesões.cm-2 de FAS observado para Pr + Fl + Ep foi inferior a Pr + Fl, que por sua vez é inferior a Az+Bz+Mz (Tabela 5). O maior valor de controle neste momento de aplicação foi detectado para a pulverização de Tr + Bx + Pz, o qual não diferiu de Tr + Pz. Porém Tr + Pz não diferiu de Az + Bz + Ci + Di e Pc + Bz quando a eficiência de controle (Tabela 6) e intensidade da FAS (Tabela 5).

Os menores números de lesões.cm-2 em pulverizações realizadas 168 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* foi detectado para os fungicidas Pc + Bz e Tr + Bx + Pz (Tabela 5). Além disto a intensidade de FAS observada para Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di não diferiu de Tr + Bx + Pz (Tabela 5). A média de controle da FAS neste momento foi de 41,2 % (Tabela 6), e o número de lesões.cm-2 8,05 (Tabela 5), entretanto Tr + Bx + Pz, Pc + Bz, Tr + Pz, Az + Bz + Ci + Di apresentaram controle superior a 65% (Tabela 6).

A média de controle de todos fungicidas e momentos de aplicação avaliados foi 70,7 % (Tabela 6) e o número de lesões.cm-2 4,53 (Tabela 5). Todos os fungicidas apresentaram intensidade da FAS média para diferentes fases do processo de infecção de *P. pachyrhizi* inferior a testemunha (Tabela 5). A aplicação de Az + Bz obteve o menor valor de controle (23,8 %) da FAS na média dos diferentes momentos de aplicação (Tabela 6). Avaliando a média de controle da FAS nas diferentes fases do processo de infecção do fungo, o maior controle da doença foi observado para Tr + Bx + Pz (90,7%), o qual não diferiu de Pc + Bz (89,3%) e Tr + Pz (88,9%) (Tabela 6). Entretanto, Az + Bz + Ci + Di não diferiu de Pc + Bz e Tr + Pz, e quanto ao controle médio para diferentes fases do processo de infecção do patógeno (Tabela 6). Os fungicidas Pr + Fl, e Pr + Fl + Ep apresentaram controle médio da FAS superior a Az + Bz + Mz e Az + Bz, e inferior aos demais fungicidas avaliados (Tabela 6). O tratamento Az + Bz + Mz obteve média de controle da FAS para diferentes momentos de aplicação superior a Az + Bz (Tabela 6).

Ao analisar as equações de regressões foi observado que carboxamidas aplicadas isoladas apresentam redução média de 0,4 % no controle para cada hora de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação do patógeno, e 9,7 % de redução de controle da FAS por dia de atraso da aplicação (Tabela 7).

As misturas de carboxamidas + estrobilurinas apresentaram em média redução de controle da doença por hora de atraso da aplicação de fungicidas de 0,23 %, e redução de controle por dia de atraso da pulverização de 5,6 %, o que demonstra maior potencial curativo de carboxamidas em mistura com estrobilurinas quando comparado a carboxamidas isoladas (Tabela 8).

O controle da FAS quando aplicados no momento da inoculação foi semelhante para carboxamida (72,6 %) e carboxamida + estrobilurina (74,9 %) (Tabela 8). Carboxamidas isoladas obtiveram em média 80 % e 50 % de controle quando aplicadas -18,3 e 55,8 hs após a inoculação, respectivamente (Tabela 8). Enquanto que carboxamidas + estrobilurina obtiveram controle de 50 e 80 % quando aplicados 21,9 hs antes e 106 hs após a inoculação (Tabela 8).

A eficiência de controle da FAS quando pulverizados no momento da inoculação para Pc + Bz, Pr + Fl e Az + Bz foi de 97,4, 88,5 e 38,7 %, respectivamente (Tabela 7). O fungicida Pc + Bz apresenta controle superior a 80 % mesmo quando aplicados 168 hs após a inoculação do patógeno, enquanto que Az + Bz não obtem controle superior a 50 % nem mesmo quando aplicado 48 horas antes da inoculação (Tabela 7). A aplicação de Pr + Fl apresenta controle da FAS de 80 e 50 % em pulverizações realizadas 24,7 e 112 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 7). A redução de controle da doença para cada dia de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação foi de 5,6 %, 8,2 % e 3,0 para Az + Bz, Pr + Fl e Pc + Bz, respectivamente.

Fungicidas compostos por misturas de carboxamida, estrobilurinas e triazol/triazolinthione apresentam redução média de 0,23 % no controle para cada hora de atraso da aplicação de fungicida após a inoculação do patógeno, e 5,5 % de redução de controle da FAS por dia de atraso da aplicação (Tabela 8). Estes valores são semelhantes aos encontrados para misturas de carboxamidas e estrobilurinas. Porém o número de horas após a inoculação do fungo em que misturas de carboxamida + estrobilurina + triazol/triazolinthione obtem 80 % de controle foi de 72,8 hs, bem como estes mesmos quando aplicados 168 hs após a inoculação proporcionam controle superior a 50 % (Tabela 8). Quanto maior o número de horas após a inoculação do fungo em que os fungicidas apresentam eficiência, maior é o potencial curativo dos mesmos. Desta forma, o maior número de horas após a inoculação em que misturas de carboxamida, estrobilurina e triazol/triazolinthione obtem 50 e 80 % de controle quando comparados a misturas de carboxamida + estrobilurina, demonstram a importância de adição de inibidores da biosssintese de ergosterol para obter controle curativo de *P. pachyrhizi*.

Entre as misturas de carboxamida, estrobilurina e triazol/triazolinthione há diferenças no potencial curativo dos fungicidas, sendo que Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di apresentam redução de controle da FAS de 0,23 % para hora de atraso da aplicação após a inoculação do fungo, enquanto que Pr + Fl + Ep obteve 0,41 % de redução de controle por hora de atraso (Tabela 7). Para cada dia em que a aplicação de fungicida foi atrasada em relação a inoculação, Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di apresentaram redução de 3,3 e 3,4 % de controle, respectivamente (Tabela 7). Os valores observados para estes fungicidas demonstram maior potencial de controle curativo de FAS em relação a Pr + Fl + Ep, o qual reduz 9,7 % de controle para cada dia de atraso da aplicação (Tabela 7). O controle de FAS quando a aplicação ocorreu 120 hs após a aplicação, foi 57,9, 82,6 e 74,4 %, respectivamente para Pr + Fl + Ep, Tr + Bx + Pz e Az + Bz + Ci + Di (Tabela 7), o que reforça o maior potencial de controle curativo destas duas últimas misturas.

Ao comparar a eficiência de mistura de mancozebe ou ciproconazole + difenoconazole a Az + Bz, observamos que a adição de mancozebe proporciona controle superior a 80 % (85,7%) somente quando pulverizado até 24 hs após a inoculação (Tabela 7), enquanto que a mistura de ciproconazole+difenoconazole resulta em controle superior a 90 % (94,4%) quando aplicado até 72 hs após a inoculação (Tabela 7).

## 5.5 DISCUSSÃO

### 5.5.1. Carboxamidas isoladas

Embora moléculas de um mesmo grupo químico apresentem similaridade química, as mesmas apresentam diferenças estruturais que podem propiciar variação na sensibilidade de patógenos a estes fungicidas. Além disto, o fator de resistência para uma determinada alteração no sítio de ação de fungicidas pode ser distinto para diferentes moléculas de um grupo químico, o que foi observado por Schimitz e colaboradores para mutações no CYP51 e Simões e colaboradores em mutações na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* (SCHIMITZ et al., 2013; SIMÕES et al., 2017). No caso da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase, é conhecido que fungicidas do grupo químico das carboxamidas com tamanho molecular maior apresentam maior redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi*, o que pode explicar os menores números de lesões (Tabela 2) e maior controle (Tabela 3) obtidos pelo fungicida fluxapyroxada em relação à bixafeno.

As carboxamidas tem como mecanismo de ação inibição da enzima succinato desidrogenase, sendo as fases do processo de infecção mais afetadas a germinação de espóros (REIS, REIS & CARMONA, 2016). O modo de ação destes fungicidas explica a maior eficiência quando os mesmos são aplicados preventivamente, bem como sua redução de eficiência em aplicações com maior número de horas após a inoculação de *P. pachyrhizi*.

As carboxamidas quando aplicadas nos últimos dias (M5 e M6) do processo de colonização apresentaram controle médio da FAS de 11,7% (Tabela 3), ou seja, são ineficientes no controle da doença. Porém, quando estes mesmos fungicidas foram aplicados preventivamente (48 horas antes da inoculação) a eficiência de controle foi de 88,7%, o que demonstra a importância de recomendação dos fungicidas do grupo químico das carboxamidas preventivamente ou quando há predominância de ação sobre germinação de esporos ou fases iniciais do processo de infecção do fungo. Avaliando a eficiência curativa de fungicidas aplicados em diferentes números de dias após a inoculação de *P. pachyrhizi,* Godoy & Canteri (2004) observaram eficiência de controle de 93% quando azoxistrobina foi pulverizada dois dias após a inoculação e 56% para aplicações realizadas oito dias após a inoculação. O fungicida azoxistrobina tem mecanismo de ação no complexo III da cadeia respiratória, enquanto carboxamidas agem no complexo II da cadeia respiratória porém os mecanismos de ação destes dois grupos de fungicidas resultam numa menor síntese de ATP e redução da germinação de espóros, o que pode explicar a mesma tendência encontrada neste experimentos e nos resultados observados por Godoy & Canteri (2004).

Os resultados demonstram haver diferença no potencial curativo de controle da FAS entre carboxamidas, sendo fluxapyroxada mais eficiente que bixafeno quando aplicado após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 3). A redução média de controle por dia de atraso da aplicação após a inoculação foi de 10,6 e 8,9 % (Tabela 4), respectivamente para Flux e Bix o que demonstra ação principalmente preventiva destes fungicidas. Além disto, estes resultados demonstram a necessidade de que quando carboxamidas são aplicadas em situações onde já ocorreram infecções de *P. pachyrhizi*, deve ser adicionado fungicidas com maior potencial curativo na mistura.

### 5.5.2*.* Mistura de carboxamidas

O aumento do número de horas após a inoculação de *P. pachyrhizi* em que os fungicidas foram aplicados proporcionou incremento significativo de intensidade de FAS (Tabela 5) e redução no controle do patógeno (Tabela 6), sendo que resultados semelhantes foram observados para aplicações de fungicidas do grupo dos triazóis, estrobilurinas e misturas de triazol + estrobilurina por Godoy & Canteri (2004) e Twizeyimana & Hartman (2017). Além disto, Angelotti e colaboradores (2014) avaliando a eficiência curativa de fungicidas no controle de *Phakopsora euvitis* Ono também observaram redução de controle com o aumento do número de dias após a inoculação em que triazóis e estrobilurinas (isolados e em misturas) foram pulverizados.

A média de controle foi superior a 80% quando os fungicidas foram aplicados até 48 horas após a inoculação (Tabela 6), estes resultados são semelhantes aos encontrados por Godoy & Canteri (2004). Entretanto Twizeyimana & Hartman (2017), encontraram valores de controle de *P. pachyrhizi* superiores a 95% quando triazóis e estrobilurinas foram aplicados isolados ou em misturas em até 48 hs após a inoculação. Os maiores valores de controle observados por Twizeyimana & Hartman (2017), podem ser explicados em virtude de nos Estados Unidos ainda não serem relatadas mutações no CYTb e CYP51 em *P. pachyrhizi*, enquanto que no Brasil mutações nestes sítios foram relatadas e estão amplamente distribuídas (SCHMITZ et al., 2013; KLOSOWISK et al., 2016).

Em aplicações de fungicidas realizadas 96 horas após a inoculação de *P. pachyrhizi* Godoy & Canteri (2004) observaram controle de 93% para azoxistrobina, 64% para tebuconazole, 69% para difenoconazole, e 85% para piraclostrobina + epoxiconazole. Twizeyimana & Hartman (2017) encontraram valores de controle da FAS superiores a 90 % para aplicações de azoxistrobina, azoxistrobina + propiconazole, e tebuconazole quando os fungicidas foram pulverizados 96 horas após a inoculação do patógeno. Ao quantificar o controle da ferrugem da videira em aplicações de fungicidas realizadas 96 horas após a inoculação de *P. euvitis* Angelotti e colaboradores (2014), observaram controle igual ou superior a 99,7% para pulverizações de triazóis (tebuconazole e ciproconazole), 57,2 e 89% para azoxistrobina, e 57,2 e 39,7% para piraclostrobina + metiram nos estudo 1 e 2, respectivamente. Reis, Zanatta & Zanatta (2016) realizaram aplicações de misturas de triazóis e estrobilurinas (trifloxistrobina + ciproconazole, picoxistrobina + ciproconazole, azoxistrobina + ciproconazole, piraclostrobina + epoxiconazole) quatro dias (96 hs) após a inoculação de *P. pachyrhizi* e obtiveram controles da FAS entre 99,5 e 100%. Entretanto nos estudos realizados neste capítulo, quando os fungicidas foram pulverizados 120 horas após a inoculação foi observado controle médio de 52,9 % para os diferentes fungicidas avaliados.

Os menores valores de controle observados para Az + Bz podem serem explicados em virtude da mutação I86F apresentar maiores valores de fator de resistência para benzovindiflupir em relação a fluxapyroxada (SIMÕES et al., 2017).

Os fungicidas Tr + Bx + Pz, Tr + Pz, Pc + Bz, Az + Bz + Ci +Di apresentarem controle superior a 90% quando pulverizados 72 hs após a inoculação, e maior que 65% quando aplicados 168 horas após a inoculação, o que pode estar relacionado a maior eficiência de controle observada para fungicidas com presença de protioconazole em populações do patógeno no sul do Brasil (GODOY et al., 2017). Bem como as doses de ciproconazole e difenoconazole utilizadas para o tratamento Az + Bz + Ci +Di são superiores as de quando as moléculas foram lançadas e utilizadas isoladas, o que pode aumentar a eficiência do fungicida em populações de *P. pachyrhizi* com superexpressão do CYP51. Entretanto, o fungicida Pc + Bz apresenta eficiência curativa mesmo sem a presença de inibidores da biossíntese de ergosterol, o que pode ter relação com o menor fator de resistência de picoxistrobina em populações com a mutação F129L quando comparado a azoxistrobina e piraclostrobina. Os primeiros fungicidas registrados contendo carboxamidas no Brasil foram Az + Bz e Pr + Fl, os quais foram os mais utilizados até o momento da realização da pesquisa sendo estes utilizados sem misturas de fungicidas protetores ou triazóis. Desta forma, ao mesmo tempo que a pressão de seleção foi aumentada para fungicidas inibidores da succinato desidrogenase, ela foi reduzida para inibidores da biossíntese de ergosterol, picoxistrobina e trifloxistrobina.

A aplicação de Tr + Bx + Pz, Tr + Pz, e Az + Bz + Ci + Di não diferiu quanto ao número de lesões de FAS quando aplicados entre 48 hs antes e 72 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi* (Tabela 5), isto demonstra a importância da mistura de inibidores da biossíntese de ergosterol para obter eficiência de controle em um maior espectro de fases do processo de infecção do fungo*.* Nos experimentos realizados por Angelotti e colaboradores foi observado que entre os grupos de fungicidas avaliados, os triazóis apresentam as maiores eficiências quando pulverizados após a infecção do patógeno. Em aplicações de fungicidas realizadas com a presença de inóculo onde pode ocorrer maior presença de infecções latentes, a adição de inibidores da biossíntese de ergosterol pode apresentar maiores aumentos de eficiência de controle e redução da frequência da mutação I86F que a mistura de fungicidas protetores. Entretanto o fungicida Pr + Fl + Ep não apresentou a mesma eficiência em aplicações curativas quando comparado as demais misturas de ingredientes ativos com três mecanismos de ação, o que pode estar relacionado a dose de Ep utilizada ser igual a do lançamento de produto em 2004, bem como pela menor eficiência desta molécula em relação as demais com mesmo mecanismo de ação.

Fungicidas protetores como Mz não apresentam sistemicidade, o que dificulta sua ação quando são pulverizados após a infecção do fungo, isto explica a observação de valores de controle superior a 80% para adição de Mz a Az + Bz somente quando aplicados até 48 hs após a inoculação de *P. pachyrhizi.* Enquanto que a mistura de Di + Ci a Az + Bz proporcionou controle da FAS de 94,4% mesmo quando pulverizados 72 horas após a inoculação do fungo.

Apesar dos experimentos serem realizados com uma população de *P. pachyrhizi* com 47% de frequência da mutação (valor máximo de 50%), foi possível obter eficiências de controle da FAS superior a 80 % com a aplicação de fungicidas do grupo químico das carboxamidas pulverizados em fases iniciais do processo de infecção do fungo e/ou aplicados em misturas. O manejo de resistência deve ser realizado alternando mecanismos de ação e limitando o número de aplicações de um mesmo mecanismo de ação de fungicidas, com isto a posicionamento de carboxamidas em misturas e períodos com menor densidade de inóculo de *P. pachyrhizi* permite utilizarmos inibidores da succinato desidrogenase dentro de programas de aplicação obtendo controle da FAS e diminuindo a pressão de seleção sobre os demais mecanismos de ação de fungicidas disponíveis no mercado.

5.6CONCLUSÕES

A eficiência de controle de *P. pachyrhizi* pelos fungicidas do grupo químico das carboxamidas fluxapyroxada e bixafeno é reduzida linearmente quando esses são pulverizados após a inoculação do fungo.

A adição de fungicidas do grupo químico dos triazóis a carboxamidas proporciona aumento de controle da FAS independente da fase do processo de infecção do fungo em que são pulverizados.

Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas proporcionam controle da doença mesmo em população de *P. pachyrhizi* com alta frequência da mutação I86F, quando pulverizados em fases iniciais do processo de infecção do fungo e/ou aplicados em mistura.

As misturas de carboxamidas e estrobilurinas azoxistrobina + benzovindiflupir, piraclostrobina + fluxapyroxada e picoxistrobina + benzovindiflupir apresentam diferença de controle da FAS em população com presença da mutação I86F.

A metodologia utilizada nestes experimentos, com análise de regressão linear para obtenção do número de horas após a inoculação do fungo em que os fungicidas proporcionam 80 e 50 % de controle da FAS pode servir para avaliação do potencial curativo de fungicidas.

# 6 LEVANTAMENTO DA FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO I86F NA ENZIMA SUCCINATO DESIDROGENASE EM POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* NO ESTADO DE SANTA CATARINA

## 6.1 RESUMO

A FAS é a principal doença da cultura da soja no Brasil, em virtude de ocorrer em todas as regiões produtoras e por seu potencial de dano. Após a detecção dos sintomas da doença, a aplicação de fungicidas é a única estratégia de controle que apresenta eficiência. Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas são as moléculas com potencial de controle da FAS registradas mais recentemente. Não há informações sobre a variabilidade da mutação I86F na enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* no estado de Santa Catarina. Os objetivos destes experimentos foram avaliar a ocorrência, distribuição e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* oriundas de diferentes regiões e altitudes no estado de Santa Catarina. Populações de *P. pachyrhizi* foram coletadas de folhas de soja naturalmente infectadas*,* provenientes de diferentes regiões e altitudes no estado de Santa Catarina, durantes a safra de 2017/18. As amostras foram divididas de acordo com a altitude do ponto de coleta em altitude entre 401 e 600 m, 601 a 800 m, e superior a 800 m. Além disto, também foram divididas de acordo com as regiões de coleta, sendo estas alto vale do Itajaí, planalto catarinense, oeste, e extremo oeste. As amostragens foram realizadas entre os estádios fenológicos R5/R7, sendo coletados cinquenta folíolos infectados por repetição. Foi extraído o DNA do inóculo proveniente das amostras de campo, e quantificado a frequência da mutação I86F na subunidade da enzima succinato desidrogenase. Em 92,1 % das populações de *P. pachyrhizi* avaliadas foi detectada a mutação, com média de 12,1 % de frequência. Porém, 59,4 % das populações do patógeno apresentam valores iguais ou inferiores a 10 % de frequência da mutação. As populações com frequência da mutação superior a 30 % representaram 5,5 % das populações amostradas. A média da frequência da mutação I86F foi de nove, quatorze e dezoito por cento para populações do fungo coletadas em altitudes superior a 800 m, entre 601 e 800 m, e 401 a 600 m, respectivamente. A mutação I86F está presente em todas regiões onde foram avaliadas populações de *P. pachyrhizi* no estado de Santa Catarina. Os dados obtidos neste levantamento servirão como base para o monitoramento desta mutação em populações de *P. pachyrhizi* nos próximos anos agrícolas.

**Palavras chave**: Fungicidas. Carboxamidas. Redução de sensibilidade. Resistência. Ferrugem asiática da soja.

## 6.2 INTRODUÇÃO

A FAS é a principal doença da cultura da soja no Brasil, com estimativas de dano variando de 10 a 100% (YORINORI & MOREL, 2002; HIKISHIMA et al., 2010). Quando ocorrem epidemias da doença, pode haver rápido amarelecimento e desfolha precoce das plantas, prejudicando a formação de vagens e grãos, e consequentemente reduzindo a produtividade (YANG et al., 1991; KUMUDINI et al., 2008).

O controle químico é a única estratégia possível de ser utilizada após a detecção dos primeiros sintomas. Porém quando a utilização de fungicidas se torna a única estratégia ou a mais utilizada, pode ocorrer o aumento do número de pulverizações e consequentemente maior pressão de seleção sobre o patógeno. O aumento da pressão de seleção de um ou mais mecanismos de ação de fungicidas, pode levar a maior frequência de indivíduos mutantes e consequentemente menor sensibilidade média da população do patógeno aos principais fungicidas disponíveis no mercado.

Os fungicidas inibidores da enzima succinato desidrogenase (SDHI’s), agem no complexo II da cadeia respiratória dos fungos inibindo a respiração mitocondrial. Isto ocorre através da ligação a SDH não permitindo a transferência de elétrons e consequentemente a produção de ATP, ocasionando deficiência energética e morte do fungo (SIEROTZKI & SCALLIET, 2013). As principais moléculas com este mecanismo de ação, pertencem ao grupo químico das carboxamidas.

Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas foram registrados no Brasil para o controle da FAS em 2013, sendo os produtos comerciais formulados por misturas de carboxamidas e estrobilurinas (IQe’s). Entre o lançamento e a safra 2015/16 misturas de carboxamidas e estrobilurinas apresentavam os maiores valores de controle da doença nos ensaios do consórcio em rede (GODOY et al. 2016a; GODOY et al. 2016b).

Em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na safra 2015/16 em monitoramento realizado pelo FRAC Brasil, foi detectado a presença da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase, a qual confere menor sensibilidade do patógenoa carboxamidas (SIMÔES et al., 2017). Além disso, nos ensaios do consórcio em rede foi observada a redução de eficiência dos fungicidas do grupo químico das carboxamidas principalmente na região sul do Brasil (GODOY et al., 2017). A redução de sensibilidade de *P. pachyrhizi* a carboxamidas, pode representar a perda de moléculas com potencial de controle e importância para o manejo de resistência do patógeno.

Contudo, não há informações sobre a variabilidade da mutação I86F na enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* provenientes de diferentes locais da região sul do Brasil. No estado de Santa Catarina, a mutação não foi reportada até o momento em periódicos científicos, bem como não há informações sobre a sua variabilidade em regiões com diferentes condições climáticas e/ou altitudes.

Neste sentido, o conhecimento da variabilidade da frequência da mutação I86F na enzima succinato desidrogenase em diferentes populações de *P. pachyrhizi* no estado de Santa Catarina, seria uma importante contribuição para compreensão da variabilidade da mutação entre regiões e/ou locais com distintas altitudes.

Os objetivos destes estudos foram avaliar a ocorrência, distribuição e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* oriundas de diferentes regiões e altitudes no estado de Santa Catarina.

## 6.3 MATERIAL E MÉTODOS

Populações de *P. pachyrhizi* foram coletadas de folhas de soja naturalmente infectadas*,* provenientes de diferentes regiões e altitudes no estado de Santa Catarina, durantes a safra de 2017/18. As amostras foram divididas de acordo com a altitude do ponto de coleta em altitude entre 401 e 600 m, 601 a 800 m, e superior a 800 m. Além disto, também foram divididas de acordo com as regiões de coleta, sendo estas alto vale do Itajaí, planalto catarinense, oeste, e extremo oeste. Foi definida como região extremo oeste, os pontos coletados entre os municípios de Chapecó e Xanxerê e a divisão do estado com a Argentina, em virtude terem sido observadas plantas guaxas de soja com sintomas da FAS dentro desta região no período de entresafra o que consequentemente propicia que possa haver inóculo mais cedo nesta região.

As populações do fungo foram coletadas de lavouras cultivadas na época recomendada pelo zoneamento agrícola. As repetições foram constituídas por populações do fungo oriundas de diferentes lavouras comerciais.

As amostragens foram realizadas entre os estádios fenológicos R5/R7, sendo coletados cinquenta folíolos infectados por repetição. Cada repetição foi identificada com a data de coleta, localização geográfica, altitude e estádio fenológico. As folhas infectadas foram armazenadas, exsicatadass e enviadas para o laboratório de pesquisa da BASF, no município de Santo Antônio de Posse.

Para extração de DNA foram recortados aproximadamente vinte e cinco discos de um cm2 de limbo foliar de soja com presença de urédias e uredosporos de *P. pachyrhizi*. Foi extraído o DNA do inóculo proveniente das amostras de campo conforme metodologia descrita por Schimitz et al. (2013). A análise quantitativa genética da mutação I86F na subunidade SDHc, foi realizada através de PCR em tempo real pela metodologia desenvolvida e descrita por Simões et al. (2017).

Foram obtidos resultados da porcentagem de isolados com a mutação I86F, e frequência de mutação nos isolados mutantes provenientes do estado de Santa Catarina.

A unidade experimental foi constituída pela amostra de uma população de uredósporos de *P. pachyrhizi* proveniente de lavoura comercial de soja. Os dados foram avaliados através de análise descritiva da porcentagem de populações com presença da mutação, variação e média da frequência da mutação para as diferentes regiões e altitudes.

## 6.4 RESULTADOS

Foram coletadas 65 amostras no total, porém somente 38 destas amplificaram, nas quais foi possível a quantificação da frequência da mutação I86F (Tabela 9).

Tabela 9. Lista de locais de coleta de amostras de folhas de soja infectadas por *P. pachyrhzi* no estado de Santa Catarina.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Latitude** | | **Longitude** | **Altitude (m)** | **Município** | **Data coleta** | **Cultivar** | **Estádio fenológico** | **Resultado da extração** |
| 1 | 27°10'41.20"S | 53°44'4.89"O | | 335 | Itapiranga | 04/03/2018 | NA5909RR | R7 | - |
| 2 | 27°30'43.00"S | 49°41'9.30"O | | 406 | Petrolândia | 12/03/2018 | BMX Alvo RR | R7 | - |
| 3 | 26°49'51.65"S | 53° 7'57.48"O | | 453 | Cunha Porã | 21/02/2018 |  | R7 | + |
| 4 | 27°24'48.92"S | 49°38'56.32"O | | 468 | Ituporanga | 12/03/2018 | BS1558 IPRO | R7 | + |
| 5 | 26°47'57.51"S | 53°18'26.13"O | | 485 | Iraceminha | 21/02/2018 |  | R5.3 | + |
| 6 | 26°49'48.26"S | 53° 4'25.01"O | | 496 | Cunha Porã | 21/02/2018 |  | R7 | + |
| 7 | 26°52'40.81"S | 52°57'10.25"O | | 519 | Pinhalzinho | 21/02/2018 |  | R5.5 | + |
| 8 | 26°49'1.70"S | 53° 9'39.31"O | | 528 | Cunha Porã | 21/02/2018 |  | R7 | + |
| 9 | 27° 8'6.13"S | 52°33'6.72"O | | 530 | Chapecó | 20/03/2018 | AS3570 IPRO | R6 | + |
| 10 | 27°25'7.60"S | 49°43'10.80"O | | 533 | Atalanta | 12/03/2018 | BMX Alvo RR | R7 | + |
| 11 | 27°30'59.30"S | 49°30'38.70"O | | 534 | Ituporanga | 02/04/2018 |  | R7 | - |
| 12 | 27°28'6.80"S | 49°42'39.90"O | | 541 | Petrolândia | 12/03/2018 | BMX Alvo RR | R7 | - |
| 13 | 27°23'14.89"S | 49°42'3.10"O | | 565 | Ituporanga | 12/03/2018 | BMX Alvo RR | R7 | + |
| 14 | 27°25'16.74"S | 49°42'28.55"O | | 574 | Atalanta | 12/03/2018 | BMX Alvo RR | R7 | - |
| 15 | 26°36'54.19"S | 52°32'58.06"O | | 586 | Ipuaçú | 30/01/2018 | P95R51 RR | R6 | - |
| 16 | 26°28'12.04"S | 53° 1'50.27"O | | 622 | São Bernardino | 17/02/2018 | BMX Raio IPRO | R5.4 | + |
| 17 | 26°38'7.00"S | 52°29'9.00"O | | 622 | Ipuaçú | 12/05/2018 | P95R51 RR | R7 | + |
| 18 | 26°39'11.00"S | 52°30'53.00"O | | 632 | Ipuaçú | 12/05/2018 | TMG7062 RR | R7 | + |
| 19 | 26°49'47.09"S | 52°31'4.23"O | | 637 | Xanxerê | 20/03/2018 |  | R5.4 | - |
| 20 | 26°43'51.52"S | 52°23'9.44"O | | 668 | Bom jesus | 02/04/2018 |  | R7 | + |
| 21 | 26°40'8.09"S | 53°31'17.40"O | | 675 | Guaraciaba | 21/02/2018 | P95R95 IPRO | R5.4 | + |
| 22 | 27°43'41.67"S | 49°21'43.41"O | | 678 | Alfredo Wagner | 12/03/2018 |  | R6 | - |
| 23 | 26°27'47.070''S | 52°41'22.956''O | | 683 | Galvão | 08/04/2018 |  | R7 | - |
| 24 | 26°28'20.345''S | 52°41'8.423''O | | 684 | Galvão | 08/04/2018 |  | R7 | + |

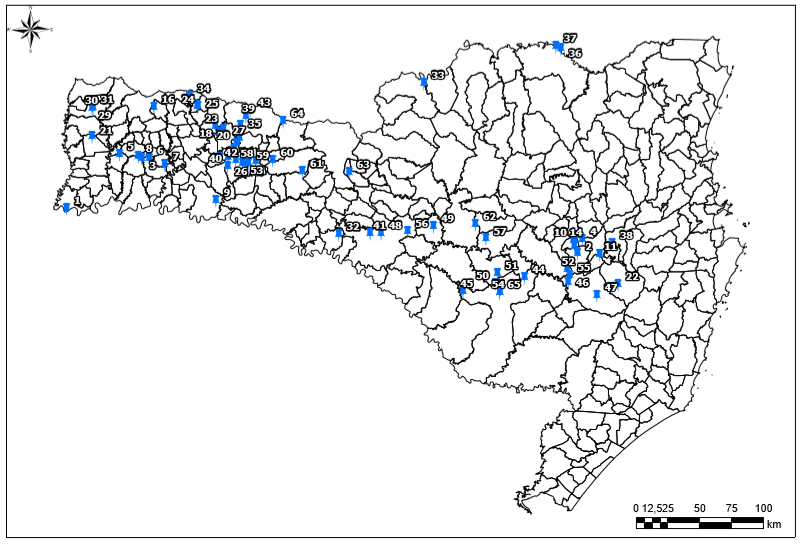
\*Amostra com o sinal de + na coluna de extração de DNA amplificaram e foram possível a quantificação da mutação I86F; amostras não amplificadas apresentam sinal de – na coluna de extração de DNA.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Latitude** | **Longitude** | **Altitude (m)** | **Município** | **Data coleta** | **Cultivar** | **Estádio fenológico** | **Resultado da extração** |
| 25 | 26°28'20.345''S | 52°41'8.423''O | 684 | Galvão | 08/04/2018 |  | R6 | + |
| 26 | 26°49'59.50"S | 52°27'8.50"O | 686 | Xanxerê | 02/04/2018 |  | R7 | - |
| 27 | 26°42'1.23"S | 52°21'37.89"O | 688 | Bom Jesus | 02/04/2018 |  | R7 | - |
| 28 | 26°46'29.56"S | 52°24'17.81"O | 698 | Bom Jesus | 02/04/2018 |  | R7 | + |
| 29 | 26°25'43.88"S | 53°31'37.36"O | 700 | São José Do Cedro | 21/02/2018 |  | R7 | + |
| 30 | 26°28'12.39"S | 53°31'2.71"O | 701 | São José Do Cedro | 21/02/2018 | NS 5959 IPRO | R5.4 | + |
| 31 | 26°27'46.19"S | 53°30'30.49"O | 714 | São José Do Cedro | 21/02/2018 | P96Y90 IPRO | R7 | + |
| 32 | 27°23'9.80"S | 51°34'49.24"O | 722 | Capinzal | 11/03/2018 |  | R5.5 | + |
| 33 | 26°18'45.130''S | 50°54'27.594''O | 773 | Porto União | 29/03/2018 | TMG7062 RR | R6 | - |
| 34 | *26°23'53.052''S* | *52°44'57.466''O* | 774 | Jupiá | 08/04/2018 |  | R5.2 | + |
| 35 | 26°36'38.73"S | 52°21'5.78"O | 782 | Registro | 02/04/2018 |  | R7 | - |
| 36 | 26° 3'36.18"S | 49°50'2.49"O | 787 | Mafra | 31/03/2018 | NA5909RR | R7 | + |
| 37 | 26° 2'53.42"S | 49°52'19.78"O | 792 | Mafra | 31/03/2018 | TMG7062 RR | R7 | - |
| 38 | 27°26'13.805''S | 49°24'46.814''O | 802 | Imbúia | 02/05/2018 | BMX Potência RR | R6 | + |
| 39 | 26°32'44.71"S | 52°18'26.98"O | 821 | Abelardo Luz | 02/04/2018 |  | R7 | + |
| 40 | 26°53'34.47"S | 52°27'17.46"O | 822 | Xanxerê | 03/02/2018 | SYN1163 RR | R5.2 | - |
| 41 | 27°22'48.80"S | 51°19'58.00"O | 843 | Campos Novos | 02/04/2018 |  | R6 | + |
| 42 | 26°51'20.10"S | 52°23'29.00"O | 852 | Xanxerê | 02/04/2018 |  | R7 | - |
| 43 | 26°30'14.00"S | 52°16'29.60"O | 861 | Abelardo Luz | 02/04/2018 |  | R7 | + |
| 44 | 27°41'18.58"S | 50° 6'21.62"O | 864 | Palmeira | 01/04/2018 | M6410 IPRO | R6 | + |
| 45 | 27°47'20.22"S | 50°35'39.45"O | 870 | Lages | 09/03/2018 | M6410 IPRO | R6 | + |
| 46 | 27°43'6.00"S | 49°45'29.30"O | 875 | Bom Retiro | 12/03/2018 |  | R6 | + |
| 47 | 27°48'25.10"S | 49°31'43.81"O | 880 | Bom Retiro | 12/03/2018 |  | R6 | - |
| 48 | 27°22'31.20"S | 51°14'44.20"O | 890 | Campos Novos | 12/04/2018 |  | R6 | + |
| 49 | 27°19'40.30"S | 50°49'50.90"O | 897 | Brunópolis | 12/04/2018 |  | R7 | + |

\*Amostra com o sinal de + na coluna de extração de DNA amplificaram e foram possível a quantificação da mutação I86F; amostras não amplificadas apresentam sinal de – na coluna de extração de DNA.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Latitude** | **Longitude** | **Altitude (m)** | **Município** | **Data coleta** | **Cultivar** | **Estádio fenológico** | **Resultado da extração** |
| 50 | 27°43'46.15"S | 50°20'6.96"O | 900 | Lages | 12/03/2018 |  | R5.3 | - |
| 51 | 27°39'34.80"S | 50°19'17.40"O | 903 | Correia Pinto | 12/04/2018 |  | R7 | + |
| 52 | 27°37'41.10"S | 49°46'3.10"O | 910 | Otacílio Costa | 12/03/2018 |  | R6 | - |
| 53 | 26°52'46.20"S | 52°20'19.00"O | 910 | Xanxerê | 12/04/2018 |  | R6 | + |
| 54 | 27°47'33.16"S | 50°18'7.36"O | 911 | Lages | 16/02/2018 | BMX Lança IPRO | R5 | - |
| 55 | 27°40'17.20"S | 49°44'46.90"O | 963 | Bom retiro | 12/03/2018 | NS6006 IPRO | R5.5/R6 | - |
| 56 | 27°21'41.00"S | 51° 2'9.40"O | 975 | Monte Carlo | 12/04/2018 |  | R7 | + |
| 57 | 27°24'52.20"S | 50°24'53.80"O | 976 | Ponte alta | 12/04/2018 |  | R7 | - |
| 58 | 26°51'46.27"S | 52°13'59.72"O | 993 | Vargeão | 21/02/2018 |  | R6 | - |
| 59 | 26°52'32.67"S | 52°17'29.36"O | 994 | Faxinal dos Guedes | 02/04/2018 |  | R6 | - |
| 60 | 26°51'20.70"S | 52° 5'59.23"O | 1046 | Ponte Serrada | 21/02/2018 |  | R6 | - |
| 61 | 26°56'17.80"S | 51°52'1.60"O | 1056 | Vargem Bonita | 12/04/2018 |  | R7 | - |
| 62 | 27°18'42.80"S | 50°29'56.00"O | 1073 | Curitibanos | 12/04/2018 |  | R7 | + |
| 63 | 26°56'43.57"S | 51°29'52.21"O | 1076 | Água Doce | 18/03/2018 |  | R5.5 | + |
| 64 | 26°34'45.50"S | 52° 0'56.06"O | 1134 | Passos Maia | 18/03/2018 |  | R5.5 | + |
| 65 | 27°47'33.16"S | 50°18'7.36"O | 911 | Lages | 18/06/2018 | BMX Lança IPRO | R8 | - |

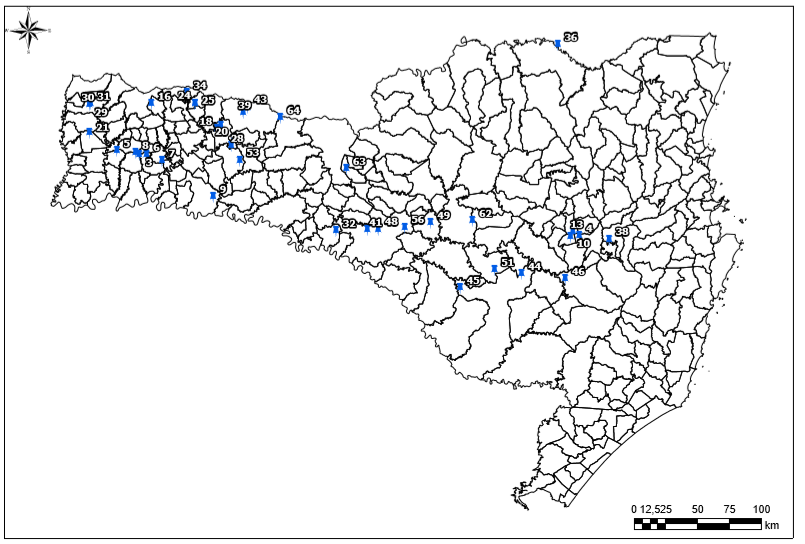
\*Amostra com o sinal de + na coluna de extração de DNA amplificaram e foram possível a quantificação da mutação I86F; amostras não amplificadas apresentam sinal de – na coluna de extração de DNA.

Figura 1. Mapa do estado de Santa Catarina identificando os locais de coleta de populações de *Phakopsora pachyrhizi*. Lages, 2018.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Entre as 38 populações do fungo coletadas no estado de Santa Catarina em que foi possível quantificar a mutação I86F, em 92,1 % das amostras foi detectada a mutação com média de 12,1 % de frequência.

Figura 2. Mapa do estado de Santa Catarina identificando os locais de coleta de populações de *Phakopsora pachyrhizi* nas quais foi quantificado a mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase. Lages, 2018.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Porém, 59,4 % das populações do patógeno apresentam valores iguais ou inferiores a 10 % de frequência da mutação (Tabela 10). Além disto, as populações com frequência da mutação igual ou superior a 31 % representam somente 5,5 % das populações amostradas.

Tabela 10. Porcentagem de amostras por faixa de valores de frequência da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi*. Lages, 2018.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **% I86F** | **% total de amostras** | **% acumulada** |
| 0-10 | 59,4 | 59,4 |
| 11-20 | 16,2 | 75,6 |
| 21-30 | 18,9 | 94,5 |
| 31-40 | 2,7 | 97,2 |
| 41-50 | 2,7 | 100,0 |

Para discussão dos resultados as amostras foram divididas por altitudes e regiões onde as populações de *P. pachyrhizi* foram coletadas.

Em média a frequência da mutação I86F foi de nove, quatorze e dezoito por cento para populações do fungo coletadas em altitudes superior a 800 m, entre 601 e 800 m, e 401 a 600 m, respectivamente (Tabelas 11,12,13).

Tabela 11. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 401 e 600 m. Lages, 2018.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Município** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 3 | Cunha Porã | 453 | 7% |
| 4 | Ituporanga | 468 | 14% |
| 5 | Iraceminha | 485 | 3% |
| 6 | Cunha Porã | 496 | 49% |
| 7 | Pinhalzinho | 519 | 17% |
| 8 | Cunha Porã | 528 | 29% |
| 9 | Chapecó | 530 | 6% |
| 10 | Atalanta | 533 | 25% |
| 13 | Ituporanga | 565 | 15% |
| **Média** |  | **401- 600** | **18%** |

Tabela 12. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 601 e 800 m. Lages, 2018.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Município** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 16 | São Bernardino | 622 | 32% |
| 17 | Ipuaçu | 622 | 12% |
| 18 | Ipuaçu | 632 | 3% |
| 20 | Bom Jesus | 668 | 29% |
| 21 | Guaraciaba | 675 | 3% |
| 24 | Galvão | 684 | 0% |
| 25 | Galvão | 684 | 8% |
| 28 | Bom jesus | 698 | 10% |
| 29 | São José do Cedro | 700 | 3% |
| 30 | São José do Cedro | 701 | 5% |
| 31 | São José do Cedro | 714 | 2% |
| 32 | Capinzal | 722 | 18% |
| 34 | Jupiá | 774 | 18% |
| 36 | Mafra | 787 | 49% |
| **Média** |  | **601-800** | **14%** |

Tabela 13. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em locais com altitude entre 401 e 600 m.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Município** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 38 | Imbúia | 802 | 1% |
| 39 | Abelardo Luz | 821 | 8% |
| 41 | Campos Novos | 843 | 24% |
| 43 | Abelardo Luz | 861 | 24% |
| 44 | Palmeira | 864 | 0% |
| 45 | Lages | 870 | 3% |
| 46 | Bom Retiro | 875 | 8% |
| 48 | Campos novos | 890 | 1% |
| 49 | Brunópolis | 897 | 8% |
| 51 | Correia pinto | 903 | 0% |
| 53 | Xanxerê | 910 | 1% |
| 56 | Monte Carlo | 975 | 2% |
| 62 | Curitibanos | 1073 | 25% |
| 63 | Água Doce | 1076 | 10% |
| 64 | Passos maia | 1134 | 26% |
| **Média** |  | **> 800** | **9%** |

Ao avaliar as amostras dentro de cada faixa de altitude, percebe-se haver variação de tal maneira que o maior e o menor valor detectado são superiores a metade e dobro do valor da média, respectivamente.

Para as populações do patógeno coletadas em altitudes entre 401 e 600 m, os valores da mutação I86F variaram de 3 a 49%, com média de 18 %. Das nove amostras avaliadas nesta faixa de altitude três apresentaram valores superiores a média (Tabela 11).

Na faixa de altitude de 601 a 800 m, foram observados valores de frequência de mutação entre 0 e 49 %, com média de 14 %. Entre as quatorze amostras coletadas nesta faixa de altitude, cinco amostras apresentaram valores superiores a média (Tabela 12).

As populações de *P. pachyrhizi* coletadas e avaliadas em locais com altitudes superiores a 800 m, apresentaram valores entre 0 e 25 % de frequência da mutação I86F, com média de 9 %. Cinco amostras de um total de quinze apresentaram valores superiores a média (Tabela 13).

Quando as populações foram separadas por regiões, as médias das frequências da mutação I86F foram 14, 9, 19 e 11 % para Alto vale do Itajaí, planalto catarinense, oeste e extremo oeste, respectivamente (Tabela 14, 15, 16,17).

Tabela 14. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região do Alto vale do Itajaí. Lages, 2018.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Cidade** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 4 | Ituporanga | 468 | 14% |
| 10 | Atalanta | 533 | 25% |
| 13 | Ituporanga | 565 | 15% |
| 38 | Imbúia | 802 | 1% |
| **Média** | **Região Alto Vale Do Itajaí** |  | **14%** |

Tabela 15. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região do planalto catarinense. Lages, 2018.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Cidade** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 32 | Capinzal | 722 | 18% |
| 41 | Campos Novos | 843 | 24% |
| 44 | Palmeira | 864 | 0% |
| 45 | Lages | 870 | 3% |
| 46 | Bom Retiro | 875 | 8% |
| 48 | Campos Novos | 890 | 1% |
| 49 | Brunópolis | 897 | 8% |
| 51 | Correia Pinto | 903 | 0% |
| 56 | Monte Carlo | 975 | 2% |
| 62 | Curitibanos | 1073 | 25% |
| 63 | Água Doce | 1076 | 10% |
| **Média** | **Região Planalto** |  | **9%** |

Tabela 16. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região oeste. Lages, SC.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Cidade** | **Altitude** | **I86F (%)** |
| 3 | Cunha Porã | 453 | 7% |
| 6 | Cunha Porã | 496 | 49% |
| 7 | Pinhalzinho | 519 | 17% |
| 8 | Cunha Porã | 528 | 29% |
| 9 | Chapecó | 530 | 6% |
| 53 | Xanxerê | 910 | 1% |
| 64 | Passos Maia | 1134 | 26% |
| **Média** | **Região Oeste** |  | **19%** |

Tabela 17. Frequências da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi* coletadas na região extremo oeste. Lages, 2018.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Amostra** | **Cidade** | **Altitude (m)** | **I86F (%)** |
| 5 | Iraceminha | 485 | 3% |
| 16 | São Bernardino | 622 | 32% |
| 17 | Ipuaçu | 622 | 12% |
| 18 | Ipuaçu | 632 | 3% |
| 20 | Bom Jesus | 668 | 29% |
| 21 | Guaraciaba | 675 | 3% |
| 24 | Galvão | 684 | 0% |
| 25 | Galvão | 684 | 8% |
| 28 | Bom Jesus | 698 | 10% |
| 29 | São José do Cedro | 700 | 3% |
| 30 | São José do Cedro | 701 | 5% |
| 31 | São José do Cedro | 714 | 2% |
| 34 | Jupiá | 774 | 18% |
| 39 | Abelardo Luz | 821 | 8% |
| 43 | Abelardo Luz | 861 | 24% |
| **Média** | **Região Extremo Oeste** |  | **11%** |

Na região do planalto catarinense as frequências da mutação variaram de 0 a 25 %, sendo que cinco populações do fungo em um total de quatorze apresentaram frequência entre 0 e 3 % (Tabela 15).

A região oeste apresenta o maior valor médio de frequência de mutação (19%), porém três populações de um total de sete apresentaram valores iguais ou inferiores a 7 % (Tabela 16). Além disto, foram detectadas amostras com valores entre 1 e 49 %.

No extremo oeste as frequências da mutação I86F observadas variaram de 0 a 32 %, contudo sete amostras de um total de quinze apresentaram valores entre 0 e 5 %.

## 6.5 DISCUSSÃO

Não há informações de levantamentos e/ou variabilidade de mutações na enzima succinato desidrogenase em *P. pachyrhizi* na literatura. Para está mutação está publicado apenas o first report da mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase em *P. pachyrhizi* (SIMÕES et al., 2017), não havendo o relato da existência da mesma no Estado de Santa Catarina.

Os resultados demonstram que a mutação está presente em mais de 90 % das populações do fungo avaliadas no Estado de Santa Catarina na safra 2017/18. Porém ao agruparmos os dados por regiões do estado ou altitude, foi observado desvio padrão superior a média. A variabilidade pode estar relacionada aos programas de aplicações de fungicidas utilizados nas lavouras em que foram coletadas as populações do patógeno.

Em 59,4 % das populações de *P. pachyrhizi* avaliadas os valores de frequência da mutação I86F estiveram iguais ou inferiores a 10 %. Simões e colaboradores (2017) ao avaliar uma população de *P. pachyrhizi* com 10 % de frequência da mutação I86F, observaram CI50 para benzovindiflupir igual ou duas vezes maior em que populações sem a presença da mutação. Além disto, para este levantamento as populações do fungo foram coletadas no final do ciclo da soja, momento o qual a população do patógeno foi submetida ao maior período de exposição ao fungicida se considerarmos que carboxamidas são pulverizadas no início do ciclo. Caso haja custo adaptativo para isolados mutantes, há uma tendência de redução da frequência da mutação nas populações que estarão se multiplicando na entressafra, e consequente as populações submetidas as aplicações de fungicidas do grupo químico das carboxamidas no próximo ano agrícola podem apresentar menor frequência da mutação quando comparadas aos valores observados no levantamento. Desta forma, os fungicidas do grupo químico das carboxamidas são importantes para elaborarmos programas de aplicação de fungicidas com alternância de mecanismos de ação, reduzindo assim a pressão de seleção sobre os demais grupos químicos utilizados no controle da FAS.

Contudo ao avaliar os valores médios de cada faixa de altitude, observa-se aumento da frequência da mutação I86F em lavouras de soja cultivadas em locais de menor altitude. Enquanto que a média das lavouras localizadas na região do planalto catarinense e extremo oeste apresentam populações de *P. pachyrhizi* com menor frequência da mutação I86F em relação as coletadas na região oeste do estado.

## 6.6 CONCLUSÕES

A mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase está presente em todas as regiões onde foram avaliadas populações de *P. pachyrhizi* no estado de Santa Catarina.

Independente da altitude de coleta das populações do fungo, há presença da mutação I86F.

A maioria das populações de *P. pachyrhizi* avaliadas apresentam valores baixos de frequência da mutação I86F (inferior a 10%).

A variabilidade da mutação observada dentro das regiões e/ou altitudes demonstra haver populações de *P. pachyrhizi* distintas em pontos de coleta com característica de clima similar.

Os dados obtidos neste levantamento servirão como base para o monitoramento desta mutação em populações de *P. pachyrhizi* nos próximos anos agrícolas no estado de Santa Catarina.

# 7 FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO I86F EM POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* SUBMETIDAS A PROGRAMAS DE APLICAÇÕES DE FUNGICIDAS E RESISTÊNCIA GENÉTICA

## 7.1 RESUMO

A estratégia de manejo utilizada com maior frequência visando o controle da FAS é a aplicação de fungicidas. A redução de eficiência de controle da FAS tem sido observada para os principais fungicidas recomendados. Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas são os fungicidas registrados mais recentes recentemente para controle da doença, porém foi relatada a mutação I86F na subunidade c da enzima succinato desidrogenase em populações de *P. pachyrhizi,* a qual ocasionada redução de sensibilidade a carboxamidas. Não há informações sobre efeito de diferentes programas de aplicação de fungicidas, uso de resistência genética e/ou misturas de fungicidas no manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas. Os objetivos deste trabalho foram: I) Avaliar o efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi;* II) Quantificar o efeito de cultivares de soja com a tecnologia Inox na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi;* III) Avaliar misturas de fungicidas e sua relação com a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi.*

Foram realizados três experimentos de campo sob condições de inóculo natural do patógeno, sendo cada um destes relacionados com um dos objetivos acima. As aplicações de fungicidas foram realizadas com pulverizador costal CO2, sendo a primeira no estádio fenológico V7/V8 e as demais com intervalo de quinze dias, até o estádio fenológico R6. Folhas contendo urédias e uredosporos de *P. pachyrhizi* foram coletadas em diferentes momentos do ciclo da cultura, as quais foram excicatadas. Apartir das folhas excicatadas foram cortadas discos contendos urédias e uredosporos, dos quais foi extraído DNA e quantificado a frequência da mutação I86F. A frequência da mutação I86F observada foi menor nos tratamentos sem aplicação de fungicidas do grupo químico das carboxamidas. Os tratamentos com aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir obtiveram maiores valores de frequência da mutação I86F quando comparados a piraclostrobina + fluxapiroxada. A utilização de cultivar com tecnologia Inox proporcionou menores valores de frequência da mutação em relação a cultivar sem gene de resistência. A adição de fenpropimorfo a piraclostrobina + fluxapyroxada reduziu a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi.* A utilização de cultivar de soja com a tecnologia Inox é uma estratégia de manejo integrado, que pode ser utilizada visando o manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas.

**Palavras chave**: Controle químico. Ferrugem asiática. Carboxamidas. Redução de sensibilidade. Misturas de fungicidas.

## 7.2 INTRODUÇÃO

A ferrugem asiática da soja (FAS) causada pelo fungo *P. pachyrhizi* é a principal doença da cultura da soja no Brasil, em virtude da sua frequência de ocorrência, potencial de dano e custos de controle (GODOY et al., 2016).

A doença ocorre em todas as regiões onde a soja é cultivada no Brasil, sendo a média de severidade 72,6 % em parcelas sem aplicação de fungicidas considerando mais de 150 locais onde foi avaliada a eficiência de fungicidas no seu controle entre os anos agrícolas de 2014 e 2018 (GODOY et al., 2014; 2015; 2016; 2017; 2018). Considerando esta média de severidade; dano de 0,6 % no rendimento para 1% de severidade da doença (DALLA LANA, 2015); e safra brasileira de 114,84 milhões de toneladas de soja (CONAB, 2019); o potencial de dano no Brasil pode chegar a 50,02 milhões de toneladas de soja, ou perdas de 62,52 bilhões de reais (R$ 75/Sc de 60 Kg de soja).

Na presença da doença o fungicida é a principal estratégia de controle utilizada para reduzir os danos. Ao considerar um potencial de controle de 80 % dos fungicidas (GODOY et al., 2018), o controle químico pode ser capaz de evitar perdas de aproximadamente 50,01 bilhões de reais por ano. O fungicida com maior controle, apresentou 15,6 % de severidade da doença na safra agrícola 2017/18 (GODOY et al., 2018), o que representa aproximadamente 9,4 % de redução do rendimento de grãos (DALLA LANA, 2015). Neste contexto, teriamos 10,74 milhões de reais de perda causada pela FAS no Brasil ao ano, utilizando o fungicida com maior eficiência de controle da doença.

A utilização de cultivares com menor suscetibilidade, ciclo precoce, e a realização de semeadura no início da época recomendada, não são realizadas em muitas situações, sendo assim o controle químico a única estratégia de controle utilizada. Desta forma, há um aumento da seleção direcional ocasionada pelos fungicidas, principalmente em virtude de haver no mercado apenas quatro grupos químicos de fungicidas sítio específico (estrobilurina, triazól, carboxamida e morfolina) com potencial de controle de *P. pachyrhizi.*

O aumento da seleção direcional resultou na seleção de isolados com menor sensibilidade a fungicidas, e consequentemente menor eficiência de controle da FAS (SCHIMITZ et al., 2013; SIMÔES et al., 2017; GODOY et al., 2018).

Nos últimos cinco anos agrícolas os intervalos de aplicações de fungicidas recomendados pelos fabricantes na cultura da soja visando o controle da FAS, foram reduzidos de 21 para 15 dias ocasionando um aumento do número médio de aplicações e consequentemente aumento da pressão de seleção sobre o patógeno. Além disto, as recomendações de início das aplicações de fungicidas eram próximas ao fechamento das entre-linhas da cultura da soja, e atualmente pesquisadores e empresas do setor de defensivos agrícolas recomendam iniciar a aplicação de fungicidas nos estádios fenológicos V3/V4. O resultado da utilizações destas recomendações a nível de campo por agricultores e agrônomos, tem sido a utilização de quatro a cinco aplicações por ciclo da cultura da soja.

Os fungicidas do grupo químico das carboxamidas foram registrados no Brasil visando o controle de *P. pachyrhizi* no ano de 2013, sendo que os fungicidas comerciais contendo carboxamidas em mistura com estrobilurinas (azoxistrobina + benzovindiflupir e piraclostrobina + epoxiconazole) apresentaram média de controle nos ensaios em rede de 77,5 % na safra 2012/13 (GODOY et al., 2013). Porém na safra agrícola 2016/17 foi detectada a mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase do fungo, a qual resulta na redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas (SIMÕES et al., 2017). Na mesma safra, foi observada redução de eficiência de controle da FAS pelos fungicidas do grupo químico das carboxamidas, de tal forma que a mistura de azoxistrobina + benzovindiflupir obteve controle de 51 % em algumas regiões onde foram avaliados fungicidas pelos ensaios em rede (GODOY et al., 2017).

O grupo de fungicidas das carboxamidas é uma importante ferramenta para o manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas, sendo necessário a sua utilização para a obtenção de programas de aplicações que obtenham controle da doença e limitação do número de pulverizações de triazóis/triazolinthione, estrobilurinas e morfolinas. Isto ocorre em virtude do seu potencial de controle, e disponibilidade de um número limitado de modos de ação de fungicidas com fungitoxicidade a *P. pachyrhizi*.

A redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi* a fungicidas dos grupos químicos das carboxamidas precisa ser manejada, para que não ocorra a perda desta importante ferramenta de controle da FAS.

Contudo não há trabalhos de pesquisa em relação a estratégias de manejo da FAS, e sua relação com frequência de mutações relacionadas a redução de sensibilidade a fungicidas. Sendo que as recomendações para manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidassão realizadas com base em conceitos gerais e/ou estudos realizados em outros patossitemas.

A redução da sensibilidade de *P. pachyrhzi* a fungicidas do grupo químico das carboxamidas é ocasionada pela mutação I86F na subunidade C da enzima succinato desidrogenase do patógeno. Contudo isto, há necessidade de compreender o efeito de estratégias de manejo da FAS na redução da taxa de seleção e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhzi*, para desenvolver recomendações de manejo de resistência a carboxamidas eficientes e evitar a perda deste grupo de fungicidas para o controle da doença.

Neste sentido, os objetivos deste trabalho foram: I) Avaliar o efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi;* II) Quantificar o efeito de cultivares de soja com a tecnologia Inox na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi;* III) Avaliar misturas de fungicidas e sua relação com a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi.*

## 7.3 MATERIAL E MÉTODOS

### 7.3.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

Os experimentos foram realizados na área experimental da UDESC/CAV, no município de Lages/SC. Foi utilizada a cultivar de soja BMX Lança IPRO (ciclo 5.9), semeada 10/01/2018 sob condições de inoculo natural de *P. pachyrhizi*.

A densidade de semeadura foi de 16 sementes por metro linear. As sementes serão tratadas com metalaxil + fludioxonil + tiabendazole + tiametoxan + cobalto + molibdênio (2,5 + 3,1+ 18,7 + 70 + 2 + 20 g.i.a. para 100 Kg de sementes). A adubação utilizada foi 505 Kg. ha-1 de fertilizante com formulação 05-20-10 na linha de semeadura e 150 Kg.Ha-1 de cloreto de potássio (00-00-60) a lanço. A inoculação foi realizada com 3 doses de Master Fix Soja por hectare. Para o controle de plantas daninhas foi realizada uma aplicação do herbicida glifosato (1440 g.ha-1 de equivalente ácido de glifosato) em pós- emergência no estádio fenológico V4. O controle de insetos foi realizado com aplicações de inseticidas nos estádios V4, V7, R1 e R4 de acordo com as espécies e populações de pragas existentes na área.

Os tratamentos se constituiram de: T1) sem aplicação de fungicidas do grupos das carboxamidas (primeira e terceira aplicação de trifloxistrobina + protioconazole, segunda e quarta aplicação picoxistrobina + tebuconazole); T2) uma aplicação de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira aplicação); T3) duas aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira e segunda aplicação); T4) três aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira, segunda e terceira aplicação); T5) uma aplicação de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira aplicação); T6) duas aplicações de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira e segunda aplicação); T7) três aplicações de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira, segunda e terceira aplicação); T8) sem aplicação de fungicidas. As aplicações dos tratamentos foram iniciadas no pré-fechamento das entre-linhas (V7/V8) e realizadas com intervalo de quinze dias entre pulverizações até o estádio fenológico de R6 (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7). Em todos os tratamentos com aplicações de fungicidas foram realizadas quatro pulverizações, sendo que as demais pulverizações para completar as quatro pulverizações dos tratamentos T2, T3, T4, T5, T6, T7 realizadas da mesma forma que o T1. As doses utilizadas foram: trifloxistrobina + protioconazole (60 + 70 g.i.a. ha-1) + 0,3 l. ha-1 de Aureo; picoxistrobina + tebuconazole (60 + 100 g.i.a. ha-1) + 0,5 l. ha-1 de Nimbus; piraclostrobina + fluxapiroxada (116,5 + 58,4 g.i.a. ha-1) + 0,5 l. ha-1 de Assist; azoxistrobina + benzovindiflupir (60 + 30 g.i.a. ha-1) + 0,6 l. ha-1 de Nimbus;

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída de 5 linhas com 4 metros de comprimento, com espaçamento de entre-linha de 0,5 m.

As populações de uredosporos foram coletadas no momento da detecção dos primeiros sintomas da doença (P0 - ponto inicial), quatorze (14 DAP0), vinte e oito (28 DAP0), quarenta e dois (42 DAP0), e cinquenta e seis dias após a detecção dos primeiros sintomas da doença (56 DAP0). Cinquenta folíolos infectados foram coletados por repetição em cada um dos momentos.

As folhas infectadas foram armazenadas, exsicatadas e enviadas para o laboratório de pesquisa da BASF, no município de Santo Antônio de Posse.

Para extração de DNA foram recortados aproximadamente vinte e cinco discos de um cm2 de limbo foliar de soja com presença de urédias e uredosporos de *P. pachyrhizi*. Foi extraído o DNA do inóculo proveniente das amostras de campo conforme metodologia descrita por Schimitz et al. (2013). A análise quantitativa genética da mutação I86F na subunidade SDHc, foi realizada através de PCR em tempo real pela metodologia desenvolvida e descrita por Simões et al. (2017).

Foram obtidos resultados da frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em cinco momentos durante o ciclo da cultura da soja, submetidas a diferentes programas de aplicações de fungicidas. Sendo o experimento um fatorial entre momento de coleta e programas de aplicações de fungicidas.

A unidade experimental foi constituída pela amostra de uma população de uredósporos de *P. pachyrhizi*, oriunda de parcela experimental coletada em um determinado momento. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com três repetições.

Nos resultados observados foi realizada a análise de normalidade dos resíduos pelo teste Shapiro-wilk e quando não atendidos os pressupostos de normalidade, os dados foram transformados em arc seno [raiz (x/100)].

Os resultados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e quando significativos, as médias das variáveis avaliadas foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05). Além disto, foi também realizada análise de contrastes pelo teste t de Student visando complementar algumas comparações que não foram possíveis de serem avaliadas pelo teste de média, em virtude da observação de interação estatística.

### 7.3.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox

Os experimentos foram realizados na área experimental da UDESC/CAV, no município de Lages/SC. Foram utilizadas as cultivares de soja BMX Lança IPRO (ciclo 5.9) e TMG 7262 RR (ciclo 6.2 com a tecnologia Inox), semeadas dia 10/01/2018 sob condições de inoculo natural de *P. pachyrhizi*.

A densidade de semeadura foi de doze (TMG 7262 RR) e dezesseis (BMX Lança IPRO) sementes por metro linear. Os tratos culturais realizados foram os mesmos citados no item 7.3.1.

Os tratamentos se constituiram de: T1) Testemunha sem aplicação de carboxamida, (primeira e terceira aplicação de trifloxistrobina + protioconazole; segunda e quarta aplicação picoxistrobina + tebuconazole); T2) Primeira aplicação da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T3) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T4) Primeira aplicação da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T5) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T6) Testemunha sem aplicação de fungicida. Em todos os tratamentos com aplicações de fungicidas foram realizadas quatro pulverizações, sendo que as demais pulverizações para completar quatro foram realizadas de acordo com o T1. As doses de ingredientes ativos e adjuvantes utilizadas foram as mesmas citadas no item 7.3.1.

Os tratamentos foram realizados nas duas cultivares, sendo o experimento um fatorial de cultivares, programas de aplicações de fungicidas e momentos de coleta. A unidade experimental foi constituída de 5 linhas com 4 metros de comprimento, com espaçamento de entre-linha de 0,5 m.

As populações de uredosporos foram coletadas em cinquenta folíolos infectados no momento da detecção dos primeiros sintomas da doença (P0 – somente nas parcelas testemunhas), e em todas unidades experimentais aos dezessete (17 DAP0), trinta e cinco (35 DAP0), e cinquenta e dois dias após a detecção dos primeiros sintomas da FAS (52 DAP0). As folhas infectadas foram armazenadas, exsicatas e enviadas para o laboratório de pesquisa da BASF, no município de Santo Antônio de Posse.

A metodologia para extração de DNA, e quantificação da mutação I86F utilizadas foram as mesmas citadas no item 7.3.1.

Foram obtidos resultados da frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em quatro momentos durante o ciclo da cultura da soja, submetidas a cultivares com e sem resistência genética com diferentes programas de aplicações de fungicidas. Sendo o experimento um fatorial entre cultivares (com e sem resistência genética), programas de aplicações de fungicidas e momentos de coleta.

A unidade experimental foi constituída pela amostra de uma população de uredósporos de *P. pachyrhizi*, oriunda de parcela experimental coletada em um determinado momento. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com três repetições.

Nos resultados observados foi realizada a análise de normalidade dos resíduos pelo teste Shapiro-wilk e quando não atendidos os pressupostos de normalidade, os dados foram transformados em arc seno [raiz (x/100)].

Os resultados foram submetidos a análise variância pelo teste F, e quando significativos, as médias das variáveis avaliadas foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05). Além disto, foi também realizada análise de contrastes pelo teste t de Student visando complementar algumas comparações que não foram possíveis de serem avaliadas pelo teste de média, em virtude da observação de interação estatística.

### 7.3.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

O experimento foi realizado na área experimental da UDESC/CAV, no município de Lages/SC. Foi semeada a cultivar de soja BMX Lança IPRO (ciclo 5.9), semeada dia 10/01/2018 sob condições de inoculo natural de *P. pachyrhizi*. A densidade de semeadura e tratos culturais utilizados foram citados no item 7.3.1.

As aplicações dos tratamentos foram realizadas no pré-fechamento das entre-linhas da cultura da soja (estádio fenológico V8), V8 +15 DAA (dias após a aplicação), V8 + 30 DAA. Os tratamentos se constituiram de: T1) Três aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada; T2) Três aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada + mancozebe; T3) Três aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada + fenpropimorfo; T4) Testemunha sem sem aplicação de fungicida. As doses utilizadas foram piraclostrobina + fluxapiroxada (116,5 + 58,4 g.i.a. ha-1) + 0,5 l. ha-1 de Assist; piraclostrobina + fluxapiroxada +mancozebe (116,5 + 58,4 +1125 g.i.a. ha-1) + 0,5 l. ha-1 de Assist; piraclostrobina + fluxapiroxada fenpropimorfo (116,5 + 58,4 + 225 g.i.a. ha-1) + 0,5 l. ha-1 de Assist. A unidade experimental foi constituída de 5 linhas com 4 metros de comprimento, com espaçamento de entre-linha de 0,5 m.

As populações de uredosporos foram coletadas em cinquenta folíolos infectados no momento da detecção dos primeiros sintomas da doença (P0 – somente nas parcelas testemunhas), e em todas unidades experimentais aos quatorze (14 DAP0), vinte oito (28 DAP0), e quarenta e dois dias após a detecção dos primeiros sintomas da FAS (42 DAP0). As folhas infectadas foram armazenadas, exsicatas e enviadas para o laboratório de pesquisa da BASF, no município de Santo Antônio de Posse.

A metodologia para extração de DNA, e quantificação da mutação I86F utilizadas foram as mesmas citadas no item 7.3.1.

Foram obtidos resultados da frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* coletadas em quatro momentos durante o ciclo da cultura da soja, submetidas a aplicação de diferentes misturas de fungicidas.

A unidade experimental foi constituída pela amostra de uma população de uredósporos de *P. pachyrhizi*, oriunda de parcela experimental coletada em um determinado momento. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com três repetições.

Nos resultados observados foi realizada a análise de normalidade dos resíduos pelo teste Shapiro-wilk e quando não atendidos os pressupostos de normalidade, os dados foram transformados em arc seno [raiz (x/100)].

Os resultados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e quando significativos, as médias das variáveis avaliadas foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05).

## 7.4 RESULTADOS

### 7.4.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

A detecção dos primeiros sintomas da FAS ocorreu no dia 30/03/2018, aos 51 dias após a emergência no estádio fenológico V8 (pré-fechamento). A frequência inicial da mutação I86F na população inicial (P0) de *P. pachyrhizi* foi 2,75 %.

Houve interação estatística entre os momentos de coleta e os programas de aplicações de fungicidas (tratamentos), com isto foi realizada a análise de contrastes estatísticos para comparar média de momentos de avaliação, médias de tratamentos nos diferentes momentos de coleta e/ou grupos de tratamentos.

A média da frequência da mutação I86F nos tratamentos contendo aplicação dos fungicidas do grupo das carboxamidas foi estatisticamente superior aos tratamentos testemunhas (T1 e T8) aos 14, 28, 42, e 56 DAP0 pela análise de contrastes estatísticos (p <0,0001) (Anexo 1).

Ao avaliar a média de frequência da mutação I86F nos tratamentos com utilização de fungicidas do grupo químico das carboxamidas ao longo dos diferentes momentos de avaliação, foram observados os menores valores da mutação aos 14 DAP0 (23,4 %), quando comparados as avaliações realizadas aos 28 (37,4 %), 42 (40,3 %) e 56 DAP0 (33,7 %).  No entanto, populações de *P. pachyrhizi* coletados aos 28 DAP0 não apresentaram diferença estatística em relação a 42 e 56 DAP0. Além disto, a frequência da mutação apresentou redução entre 42 e 56 DAP0 (Anexo 1).

O tratamento com aplicações de misturas de estrobilurina + triazol/triazolinthione (T1) apresentou os menores valores de frequência da mutação I86F independente do momento de coleta, contudo diferiu estatisticamente da testemunha sem aplicação de fungicidas (T8) apenas aos 28 e 42 DAP0. Para os dois tratamentos testemunhas, não houve diferença estatística ao comparar os diferentes momentos de coleta dentro de cada tratamento (Tabela 18).

Tabela 18. Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas, coletadas aos 14, 28, 42 e 56 dias após a detecção do fungo. Lages, 2019.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dias após a detecção do fungo** | | | | | |
| **Prog. Apl.** | **14 DAP0** | **28DAP0** | **42DAP0** | **56DAP0** | **Média** |
| T1 | 8,0 Da | 8,5 Ea | 3,1 Ea | 8,5 Da | 7,0 E |
| T2 | 16,9 BCb | 31,6 BCa | 29,4 Ca | 30,4 Ba | 27,1 C |
| T3 | 26,7 ABab | 29,6 Ca | 27,7 Cab | 17,6 Cb | 25,4 C |
| T4 | 20,1 ABCb | 34,2 BCa | 36,9 BCa | 43,5 Aa | 33,7 B |
| T5 | 23,2 ABCb | 44,0 Aba | 47,6 Aba | 20,4 BCb | 33,8 B |
| T6 | 29,8 Ab | 37,0 ABCab | 49,0 Aba | 43,5 Aa | 39,8 A |
| T7 | 23,9 ABb | 48,1 Aa | 51,3 Aa | 46,7 Aa | 42,5 A |
| T8 | 12,9 CDa | 17,4 Da | 13,8 Da | 11,0 CDa | 13,8 D |
| **Média** | 20,2 c | 31,3 a | 32,3 a | 27,7 b | 27,9 |
| **CV (%)** | 28,6 |  |  |  |  |

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Momentos de coleta: 14 DAP0- 14 dias após a detecção do fungo (P0); 28 DAP0- 28 dias após a detecção do fungo (P0); 42 DAP0- 42 dias após a detecção do fungo (P0); 56 DAP0- 56 dias após a detecção do fungo (P0). Tratamentos: T1) sem aplicação de fungicidas do grupos das carboxamidas (primeira e terceira aplicação de trifloxistrobina + protioconazole, segunda e quarta aplicação picoxistrobina + tebuconazole); T2) uma aplicação de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira aplicação); T3) duas aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira e segunda aplicação); T4) três aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina (primeira, segunda e terceira aplicação); T5) uma aplicação de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira aplicação); T6) duas aplicações de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira e segunda aplicação); T7) três aplicações de benzovindiflupyr + azoxistrobina (primeira, segunda e terceira aplicação); T8) sem aplicação de fungicidas.

O fungicida piraclostrobina + fluxapyroxada na média de uma, duas e três aplicações apresesentaram menores valores de frequência da mutação I86F em relação a uma, duas e três pulverizações de azoxistrobina + benzovindiflupyr em avaliações realizadas aos 28, 42 DAP0 e média de todos os momentos de coleta (Anexo 1).

Ao analisar o número médio de aplicações de fungicidas do grupo das carboxamidas não houve diferença estatística entre uma e duas pulverizações, entretanto três aplicações apresentaram maiores valores de frequência da mutação na média dos momentos de avaliações e aos 42 e 56 DAP0 (Anexo 1). A realização de duas aplicações de carboxamidas não diferiu de três pulverizações dos mesmos fungicidas (Anexo 1).

Aos 14 DAP0 não houve diferença entre os tratamentos com aplicação de carboxamidas. Nas avaliações realizadas aos 28 DAP0, o tratamento T7 (três aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir) apresentou frequência de mutação superior aos demais programas de aplicações com fungicidas do grupo químico das carnoxamidas (Tabela 18). A aplicação de uma (T5), duas (T6) ou três (T7) aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir obteve maiores valores de frequência de mutação I86F que uma (T2) ou duas (T3) pulverizações piraclostrobina + fluxapyroxada em observações realizadas aos 42 DAP0. Os tratamentos T2 e T4 obtiveram menores valores de frequência de mutação que T5, T6, T7, porém o tratamento T3 não diferiu estatisticamente de T5 (Tabela 18).

Os tratamentos sem aplicações de fungicidas do grupo químico das carboxamidas (T1 e T8), não apresentaram diferença estatística para os valores da mutação I86F quando comparados os diferentes momentos de coleta dentro de cada tratamento (Tabela 18).

A frequência da mutação I86F observada considerando a média de todos momentos de coleta, demonstrou que duas (T6) ou três (T7) aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir apresentam maiores valores que uma aplicação de azoxistrobina + benzovindiflupir (T5) e três aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada (T4) (Tabela 18). Além disto, uma (T2) ou duas (T3) aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada obtiveram menores valores de frequência da mutação que os demais tratamentos com fungicidas do grupo químico das carboxamidas (Tabela 18).

A verificação da variação da frequência da mutação I86F de um mesmo tratamento em diferentes momentos de coleta de populações de *P. pachyrhizi*, demonstrou que a frequência de mutação observada aos 42 DAP0 foi superior aos valores observados aos 14 DAP0, para os tratamentos contendo fungicidas do grupo químico das carboxamidas (exceto para T3). Além disto, a frequência da mutação I86F detectada aos 52 DAP0 foi superior aos valores observados aos 14 DAP0 para T2, T4, T6, T7 (Tabela 18).

As avaliações de severidade da FAS no estádio fenológico R6 não foram possíveis em virtude da ocorrência de geadas aos 48 e 51 DAP0.

### 7.4.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox

Os primeiros sintomas da FAS foram detectados dia 30/03/2019 nas duas cultivares, sendo a frequência inicial da mutação (P0) nas populações de *P. pachyrhizi* de 2,75 e 2,0 %, para BMX Lança IPRO e TMG 7262 RR (com tecnologia Inox).

Houve interação estatística entre os programas de aplicações e cultivares, desta forma os dados serão avaliados separadamente para cada cultivar.

Porém, para verificar a diferença na frequência da mutação I86F entre cultivares nos três momentos e médias dos momentos foi realizada a análise de contrastes estatístico pelo teste t de student.

Em todos os momentos de avaliações, e tratamentos contendo fungicidas do grupo das carboxamidas a cultivar TMG 7262 RR apresentou valores de frequência da mutação I86F estatisticamente inferiores aos resultados observados na cultivar BMX Lança IPRO (Anexo 1).

A ocorrência de geadas aos 48 e 51 DAP0 impossibilitou as avaliações de severidade da FAS, que seriam realizadas no estádio fenológico R6.

#### 7.4.2.1 Cultivar 1 – TMG7262 RR

Os programas de aplicações sem fungicidas do grupo químico das carboxamidas (T1 e T6) diferiram estatisticamente entre si apenas na média dos três momentos de avaliações, sendo a frequência da mutação I86F para T6 (4,1 %) inferior a T1 (8,2 %) (Tabela 19).

Tabela 19. Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas no cultivar TMG 7262RR, coletadas aos 17, 35 e 52 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **TMG 7262 RR** | | | | |
| **Dias após a detecção do fungo** | | | | |
| **Prog. Apl.** | **17 DAP0** | **35 DAP0** | **52 DAP0** | **Média** |
| T1 | 7,8 Ca | 10,0BCa | 6,8 BCa | 8,2 C |
| T2 | 18,6 Aba | 14,6 Ba | 11,5 Ba | 14,9 B |
| T3 | 12,5ABCa | 12,7 Ba | 11,2 Ba | 12,1 B |
| T4 | 20,0 Ab | 40,0 Aa | 32,3 Aab | 30,8 A |
| T5 | 10,5 Bbc | 45,7 Aa | 39,3 Aa | 31,8 A |
| T6 | 6,4 Ca | 4,6 Cab | 1,4 Cb | 4,1 D |
| **Média** | 12,6 b | 21,2 a | 17,1 b | 17,0 B |
| **CV (%)** | 24,18 |  |  |  |

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Momentos de coleta: 17 DAP0- 17 dias após a detecção do fungo (P0); 35 DAP0- 35 dias após a detecção do fungo (P0); 52 DAP0- 52 dias após a detecção do fungo (P0). Tratamentos: T1) Testemunha sem aplicação de carboxamida, (primeira e terceira aplicação de trifloxistrobina + protioconazole; segunda e quarta aplicação picoxistrobina + tebuconazole); T2) Primeira aplicação da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T3) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T4) Primeira aplicação da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T5) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T6) Testemunha sem aplicação de fungicida.

Os tratamentos com aplicações de carboxamidas (T2, T3, T4, T5) apresentaram valores de frequência da mutação superiores estatisticamente ao tratamento testemunha sem aplicação de fungicidas (T6) nas avaliações realizadas aos 35 DAP0, 52 DAP0 e na média de todos os momentos (Tabela 19). Apenas o tratamento com duas aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada (T3) não diferiu de T1 e T6 na avaliação realizada aos 14 DAP0 (Tabela 19). A testemunha com aplicação de misturas de fungicidas estrobilurina + triazol/triazolinthione (T1) não diferiu dos tratamentos com uma (T2) ou duas (T3) aplicações de piraclostrobina + fluxapyroxada nas observações realizadas aos 35 DAP0 e 52 DAP0 (Tabela 19).

Foram observados maiores valores da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* avaliadas aos 35 DAP0 em comparação as avaliações realizadas aos 17 DAP0, porém as observações determinadas aos 52 DAP0 não diferiram das desenvolvidas aos 17 e 35 DAP0 (Anexo 2).

Os tratamentos com pulverizações de azoxistrobina + benzovindiflupir (T4 + T5) apresentaram maiores valores de frequência da mutação I86F em comparação aos tratamentos com aplicações de (T2 + T3) na média dos três momentos de avaliações, 35 e 52 DAP0 (Anexo VII).

Os programas de aplicações de fungicidas com duas aplicações de carboxamidas (T3 + T5) não diferiram dos tratamentos com uma aplicação de fungicidas do grupo químico das carboxamidas (T2 + T4), nas observações realizadas aos 35, 52 DAP0 e média dos três momentos (Anexo 2).

As frequências da mutação I86F observadas para T2 e T3 foram inferiores estatisticamente a T4 e T5, aos 35, 52 DAP0 e média dos três momentos. Os tratamentos T2 e T3 não diferiram entre si em todos os momentos de avaliações (Tabela 19). A realização de uma (T4) ou duas (T5) aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir não diferiram quanto a frequência da mutação nas avaliações determinadas aos 35, 52 DAP0 e média dos três momentos de avaliações (Tabela 19).

#### 6.4.2.2 Cultivar 2 – BMX Lança IPRO

Os programas de aplicações sem fungicidas do grupo químico das carboxamidas (T1 e T6) diferiram estatisticamente entre si na média dos três momentos de avaliações, aos 35 e 52 DAP0, sendo a frequência da mutação I86F superior para T6 em relação a T1 (Tabela 20). As frequências de mutações detectadas para T6 foram de 9,5, 12,7, e 13,5 %, respectivamente para avaliações realizadas aos 17, 35 e 52 DAP0 (Tabela 20).

Tabela 20. Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes programas de aplicação de fungicidas no cultivar BMX Lança IPRO, coletadas aos 17, 35 e 52 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **BMX Lança IPRO** | | | | |
| **Dias após a detecção do fungo** | | | | |
| **Prog. Apl.** | **17 DAP0** | **35 DAP0** | **52 DAP0** | **Média** |
| T1 | 4,3 Ca | 3,1 Da | 5,3 Da | 4,2 D |
| T2 | 18,6 Ba | 27,2 Ba | 28,3 Ba | 22,6 B |
| T3 | 18,2 Ba | 26,2 Ba | 23,2 Ba | 22,6 B |
| T4 | 37,4 Ab | 53,7 Ab | 44,8 Aab | 45,3 A |
| T5 | 34,3 Aa | 42,5 Aa | 47,3 Aa | 41,4 A |
| T6 | 9,5 Ca | 12,7 Ca | 13,5 Ca | 11,9 C |
| **Média** | 20,4 b | 27,6 a | 27,1 a | 25,0 A |
| **CV (%)** | 12,1 |  |  |  |

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Momentos de coleta: 17 DAP0- 17 dias após a detecção do fungo (P0); 35 DAP0- 35 dias após a detecção do fungo (P0); 52 DAP0- 52 dias após a detecção do fungo (P0). Tratamentos: T1) Testemunha sem aplicação de carboxamida, (primeira e terceira aplicação de trifloxistrobina + protioconazole; segunda e quarta aplicação picoxistrobina + tebuconazole); T2) Primeira aplicação da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T3) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 1 (fluxapyroxada + piraclostrobina); T4) Primeira aplicação da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T5) Primeira e segunda aplicações da carboxamida 2 (benzovindiflupyr + azoxistrobina); T6) Testemunha sem aplicação de fungicida.

As populações de *P. pachyrhizi* coletadas nos tratamentos testemunhas (T7 e T12) apresentaram valores da mutação I86F inferiores estatisticamente a todos tratamentos contendo aplicações de fungicidas do grupo químico das carboxamidas, independente do momento de avaliação (Tabela 20).

A frequência média da mutação para os tratamentos contendo fungicidas do grupo químico das carboxamidas aos 17 DAP0 (27,1 %) foi inferior estatisticamente as observações realizadas para os mesmos tratamentos aos 35 (37,4 %) e 52 DAP0 (35,9 %) (Anexo 2). Além disto, as avaliações realizadas aos 35 e 52 DAP0 não diferiram entre si quanto a frequência da mutação (Anexo 2).

Os tratamentos com pulverizações de azoxistrobina + benzovindiflupir (T4 + T5) apresentaram valores de frequência da mutação I86F estatisticamente superiores aos tratamentos com aplicações de piraclostrobina + fluxapiroxada (T2 + T3) em todos os momentos avaliados (Anexo 2).

A realização de uma aplicação de fungicidas do grupo químico das carboxamidas (T2 + T4), não apresentou diferença estatística de duas pulverizações dos mesmos fungicidas (T3 + T5) quanto a frequência da mutação I86F, independente do momento de avaliação (Anexo 2).

As frequências da mutação I86F observadas para T4 e T5 foram superiores estatisticamente a T2 e T3, em todos os momentos avaliados. Os tratamentos T2 e T3, não diferiram entre si em todos os momentos de avaliações (Tabela 20). A realização de uma (T4) ou duas (T5) pulverizações de azoxistrobina + benzovindiflupir não diferiram quanto a frequência da mutação em avaliações realizadas aos 17, 35 e 52 DAP0 (Tabela 20).

### 7.4.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

Os primeiros sintomas da doença foram observados no dia 30/03/2018, aos 51 dias após a emergência no estádio fenológico V8 (pré-fechamento). A frequência inicial da mutação I86F na população inicial (P0) de *P. pachyrhizi* foi 2,75 %.

A ocorrência de geadas aos 48 e 51 DAP0 não permitiu realizar as avaliações de severidade da FAS no estádio fenológico R6.

Nas avaliações realizadas aos 14 DAP0 não houve diferença estatística na frequência da mutação I86F para as diferentes misturas de fungicidas (Tabela 21).

Tabela 21. Frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* submetidas a diferentes misturas de fungicidas no cultivar BMX Lança IPRO, coletadas aos 14, 28 e 42 dias após a detecção do fungo (DAP0). Lages, 2019.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Dias após a detecção do fungo** | | | | |
| **Prog. Apl.** | **14 DAP0** | **28DAP0** | **42DAP0** | **Média** |
| T1 | 20,1 Ab | 34,2 Aa | 36,9 Aa | 30,4 A |
| T2 | 16,8 Ab | 33,9 Aa | 37,4 Aa | 29,4 A |
| T3 | 16,0 Ab | 19,5 Bab | 25,8 Ba | 20,4 B |
| T4 | 12,9 Aa | 17,4 Ba | 14,2 Ca | 14,9 C |
| **Média** | 16,5 b | 26,3 a | 28,6 a |  |
| **CV (%)** | 15,65 |  |  |  |

\*Médias seguidas de letras minúsculas igual na linha não diferem estatisticamente entre si, e média seguidas de letras e maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Momentos de coleta: 14 DAP0- 14 dias após a detecção do fungo (P0); 28 DAP0- 28 dias após a detecção do fungo (P0); 42 DAP0- 42 dias após a detecção do fungo (P0). Tratamentos: T1) três aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina; T2) três aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina + mancozebe; T3) três aplicações de fluxapyroxada + piraclostrobina + fenpropimorfo; T4) sem aplicação de fungicidas.

A testemunha sem aplicação de fungicidas (T1) apresentou o menor valor de frequência da mutação na média dos momentos, diferindo estatisticamente de todos os demais (Anexo 3).

A adição de mancozebe a piraclostrobina + fluxapiroxada não reduziu a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* em nenhum dos momentos avaliados (Tabela 21). A mistura de fenpropimorfo a piraclostrobina + fluxapiroxada reduziu a frequência da mutação I86F nas avaliações realizadas aos 28, 42 DAP0 e média dos momentos (Tabela 21).

A mistura de piraclostrobina + fluxapiroxada + fenpropimorfo (T3) não diferiu estatisticamente da testemunha (T4) quanto a frequência da mutação, em avaliações realizadas aos 28 e 42 DAP0 (Tabela 21).

## 7.5 DISCUSSÃO

O único artigo publicado sobre a mutação I86F em *P. pachyrhizi* é o *first report* desenvolvido por Simões e colaboradores (2017). Não há na literatura nenhuma publicação avaliando estratégias de manejo de resistência deste patógeno a fungicidas através de análises moleculares, especialmente em condições de campo. Bem como não há uma metodologia definida para avaliação de estratégias de manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas, sendo o método utilizado neste trabalho inédito. Em virtude disto, serão utilizados um número limitado de artigos para discussão dos resultados obtidos nestes experimentos.

Nos resultados obtidos nos três experimentos foi observado maior frequência da mutação I86F nos programas de aplicações com fungicidas do grupo químico das carboxamidas, o que demonstra a possibilidade de avaliação de estratégias de manejo de resistência a fungicidas através desta metodologia. Estes dados evidenciam que a o uso de fungicidas do grupo químico das carboxamidas seleciona a mutação em populações de *P. pachyrhizi*, o que também foi observado por Simões e colaboradores (2017).

A época de semeadura utlizada para realização dos experimentos foi atrasada em relação a época preferencial para a região, com o objetivo de avaliar as estratégias de manejo numa situação de maior densidade de inóculo de *P. pachyrhizi* e risco de seleção de populações mutantes. Ao fazer uma análise de risco neste tipo de cenário, há uma tendência de que as estratégias que apresentam menores valores de frequência de mutação também possam ser recomendadas em ambientes com menor risco de seleção direcional.

### 7.5.1 Efeito de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

Com o objetivo de discutir o risco de resistência dos fungicidas testados, foi verificado que para o tratamento T7 o valor da mutação observado aos 42 DAP0 é 18,6 vezes maior que a frequência inicial. Se considerarmos um período latente médio de dez dias para *P. pachyrhizi,* este resultado representa um aumento de 4,4 vezes na frequência da mutação I86F em apenas um ciclo do patógeno. Enquanto que para T4, aos 42 DAP0 foi detectado frequência de mutação 13,4 vezes maior que o valor inicial, e aumento de 3,2 vezes por ciclo do fungo. A observação destas taxas de seleção com a utilização de mistura de fungicidas (carboxamida + estrobilurina), demonstra o risco de seleção de populações mutantes por este grupo de fungicidas. O fungo *P. pachyrhizi* pode ser disseminado pelo vento a longas distâncias, o que faz com que isolados selecionados numa lavoura possam ser introduzidos em lavouras distantes e continuar o seu processo de seleção. Desta forma, por exemplo uma lavoura semeada no início da época ideal de semeadura onde foi realizada duas aplicações com carboxamidas, podem selecionar isolados com maior frequência da mutação e estes serem disseminados até uma lavoura semeada no final da época de semeadura e serem expostos a mais aplicações de moléculas deste grupo, aumentando o período de exposição do patógeno a fungicidas e proporcionando continuidade processo de seleção. Segundo Bosch e colaboradores (2014), o período de exposição e taxa de seleção são dois dos principais fatores que determinam o processo de seleção de isolados mutantes com menor sensibilidade a fungicidas. Avaliando a taxa de seleção para a mutação G143A em isolados de *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* por diferentes doses e números de aplicações de azoxistrobina, em cinco ambientes Hobbelen e colaboradores (2011), no Reino Unido, observaram em dois destes ambientes taxa de seleção entre 15 e 20 durante o ciclo da cultura para três aplicações de azoxistrobina (250 g.i.a.ha-1). Porém, quando utilizado três pulverizações de azoxistrobina (83,3 g.i.a.ha-1), o que representa uma dose mais próxima da recomendada a nível de campo, os maiores valores de taxa de seleção observados ficaram entre 5 e 10 para um ciclo da cultura. Ao comparar estes valores com os obtidos para três aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir (T7) neste trabalho, fica evidente o maior risco de resistência para benzovindiflupir sobre populações de *P. pachyrhizi*. Isto porque o maior valor de taxa de seleção (18,6) foi observado utilizando mistura de ingredientes ativos com dois mecanismos de ação, utilizados em dose de campo, e durante um período que representa aproximadamente um terço do ciclo da cultura. Tudo isto pode explicar o porque de em apenas três anos após o registro das carboxamidas para o controle da FAS, ter ocorrido o primeiro relato da mutação I86F.

As moléculas com maior fungitoxicidade a patógenos durante seu desenvolvimento, tendem a apresentarem maior risco de resistência (taxa de seleção), e com isto devem ser utilizadas visando reduzir risco de redução de sensibilidade dos patógenos alvo. Ao ser observado maiores valores de frequência de mutação para um determinado fungicida, há necessidade de recomendação de um posicionamento mais técnico, para preservar a vida útil da molécula. Contudo, não se recomenda descartar a mesma dos programas de aplicações, pois quanto menor for a diversidade de mecanismos de ação e/ou ingredientes ativos que compõem a recomendação de fungicidas, poderá ocorrer mais rapidamente a redução de eficiência de controle químico em condições de campo.

A observação de menores valores de frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* para aplicação de piraclostrobina + fluxapyroxada em relação a azoxistrobina + benzovindiflupir, pode ser explicada pelos dados detectados por Simões et al. (2017), os quais encontraram maiores valores de frequência da mutação para folíolos destacados inoculados com o patógeno e tratados com benzovindiflupir em relação a fluxapyroxada. A mistura de azoxistrobina ou piraclostrobina a fungicidas do grupo químico das carboxamidas pode não estar proporcionando redução da frequência da mutação I86F, em virtude de estes compostos apresentarem controle da FAS da soja inferior a 20 % quando pulverizados isolados (REIS, CARREGAL & ZANATTA, 2019). As estrobilurinas azoxistrobina e piraclostrobina apresentam menor fungitoxicidade em isolados de *P. pachyrhizi* com presença das mutações F129L e G137R, as quais são as principais mutações encontradas no patógeno no Brasil causando alterações no citocromo b (SCHIMITZ et. al., 2013; KLOSOWSKI et al., 2016b).

O tempo para registro de um novo fungicida no Brasil é de aproximadamente dez anos, o que pode ocasionar a redução da sensibilidade de componentes definidos para mistura entre o desenvolvimento e o registro de um fungicida. E consequentemente resultar que no momento do registro alguns ingredientes ativos possam estar formulados em mistura com fungicidas ineficientes no controle do patógeno alvo, e proporcionar maior exposição de novas moléculas.

O aumento do número de aplicações de fungicidas resulta no aumento da taxa de seleção e frequência de mutações relacionadas a redução de sensibilidade de fungos a fungicidas (HOBBELEN et al., 2011; BOSCH et al., 2014), contudo neste presente estudo duas aplicações de azoxistrobina + benzovindiflupir ou piraclostrobina + fluxapyroxada não diferiram quanto a frequência da mutação I86F em comparação a uma e três aplicações dos mesmos fungicidas. Porém uma aplicação de azoxistrobina + benzovindiflupir apresentou menor valor de frequência de mutação em relação a três aplicações deste fungicida, sendo a mesma tendência observada para pulverizações de piraclostrobina + fluxapyroxada.

### 7.5.2 Ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* emcultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox

Os valores observados de frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* foram menores na cultivar com presença da tecnologia Inox, sendo esta a primeira informação que demonstra a nível molecular a importância da utilização de genes de resistência a patógenos como uma ferramenta para manejar a redução de sensibilidade do fungo a fungicidas.

As diferenças de frequência da mutação entre os fungicidas utilizados e número de aplicações detectadas neste experimento, seguem a mesma lógica do estudo anterior portanto já foram discutidas no item acima.

Na próxima década inúmeros eventos biotecnológicos relacionados a genes de resitência a *P. pachyrhizi* serão inseridos em genótipos de soja e receberão registro para comercialização no Brasil, podendo esta tese ser usada como base para futuros estudos da utilização destas novas tecnologias no manejo de resistência da FAS a fungicidas. Caso estes dados sejam verificados também para outros eventos biotecnológicos, e a utilização dos mesmos aumentem em escala poderemos reduzir a taxa de seleção aos principais fungicidas recomendados sem alterar o número de pulverizações.

Quando comparado a utilização de genes de resistência a mistura de fungicidas, a utilização de resistência genética apresenta a vantagem de estar expressa em todas as folhas durante o ciclo da soja. Enquanto que a mistura de fungicidas é limita pela dificuldade de deposição de fungicida em toda a planta, bem como pela persistência limitada dos fungicidas em camadas de folhas onde não é possível reaplicar o fungicida.

### 7.5.3 Efeito da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*

Dados experimentais sobre o efeito de rotação e misturas de ingredientes ativo no manejo de resistência são limitados (BRENT and HOLLOMON, 2007). Em ampla revisão bibliográfica sobre resistência de fungos a fungicidas Bosch et al. (2014), concluem que misturar fungicidas multisítios e reduzir a dose do fungicida em risco é uma estratégia eficiente para manejo de resistência. Porém não foi citado nenhum trabalho com avaliações moleculares de mutações e/ou avaliações de sensibilidade após a utilização desta estratégia, sendo as afirmações embasadas em experimentos que avaliam eficiência de controle de patógenos. Entretanto foi observado que em estufas e/ou casas de vegetação, quando era adicionado mancozebe a fungicidas sítios especítificos como oxadixyl e cimoxanil a eficiência de controle era mantida tanto em isolados de *Phytophthora infestans* resistentes como suscetíveis (SAMOUCHA & GISI, 1987). Através de modelagem matemática Hobbelen et al. (2011 b), observou redução da taxa de seleção e aumento da vida de fungicidas inibidores da quinona externa para adição de clorotalonil, avaliando o manejo de *Mycosphaerella graminicola.*

Neste experimento a adição de mancozebe a piraclostrobina + fluxapyroxada não reduziu a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi*, porém estes dados foram coletadas em condições de campo onde há possbilidade de lavagem e em soja semeada após a época recomendada. Estes fatores podem reduzir a dose de produto nas folhas de soja, bem como possibilitar que infecções ocorram entre as aplicações sendo que mancozebe não apresenta eficiência de controle curativo. Entre a primeira e a terceira aplicação de fungicida choveu 66,4 mm, distribuídos em nove chuvas segundo dados da estação meteorológica da UDESC/CAV.

A recomendação da adição de fungicidas protetores a ingredientes ativos com mecanismos de ação sítios específicos visando o manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas tem sido realizada em todo o Brasil, embasada principal em observações de aumento de eficiência de controle da FAS. Esta tese demonstra a necessidade da realização de mais experimentos avaliando o efeito desta estratégia na redução da sensibilidade do fungo a fungicidas.

Entretanto a adição de fenpropimorfo a piraclostrobina + fluxapyroxada reduziu a frequência da mutação, o que pode estar associado a mobilidade deste fungicida e seu potencial de controle curativo. No capítulo 5, foi obervado que a adição de ciproconazole + difenoconazole a azoxistrobina + benzovindiflupir aumentou a eficiência de controle após a infecção de *P. pachyrhizi,* enquanto mancozebe somente proporcionou controle preventivamente. O experimento foi realizado em condições de maior densidade de inóculo do fungo que o cultivo de soja na época recomendada. Esta maior densidade de inóculo, hospedeiro suscetível, emissão de um novo trifólio aproximadamente entre cinco e sete dias sem a presença de fungicida, pode ocasionar infecções entre as pulverizações e fazer com que haja necessidade de controle curativo pela mistura pulverizada neste cenário.

## 7.6 CONCLUSÕES

A metodologia utilizada pode servir para futuras avaliações de estratégias de manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas.

Os menores valores de frequência da mutação I86F são observados no momento da detecção dos primeiros sintomas

A porcentagem de frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi* aumenta durante o ciclo da cultura da soja.

Os menores valores de frequência da mutação I86F são observados em tratamentos sem a utilização de fungicidas do grupo químico das carboxamidas.

A utilização de cultivares de soja com a tecnologia Inox reduz a frequência da mutação I86F em populações de *P. pachyrhizi*.

A adição de fenpropimorfo a piraclostrobina + fluxapyroxada reduz a frequência da mutação I86F.

Há necessidade da realização de mais experimentos avaliando estratégias de manejo de resistência de *P. pachyrhizi* a fungicidas, para fornecer embasamento para as recomendações de controle químico visando aumentar a vida útil dos principais ingredientes ativos utilizados no controle da ferrugem asiática da soja.

# REFERÊNCIAS

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/ DAS. <<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>>. Acesso em: 20/06/2019.

AKAMATSU H, YAMANAKA N, YAMAOKA Y, SOARES RM, MOREL W, IVANCOVICH AJG, BOGADO AN, KATO M, YORINORI JT, SUENAGA K. Pathogenic diversity of soybean rust in Argentina, Brazil, and Paraguay. **J Gen Plant Pathol**. v.79, p.28–40. 2013.

ALEXOPOLUS, C. J.; MIMS, C. W. BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. New York: John Willey & Sons, 1996.

ALVES, M. C.; POZZA, E. A.; FERREIRA, J. B.; ARAÚJO, D. V.; COSTA, J. C. B.; DEUNER, C. C.; MUNIZ, M. F. S.; ZAMBENEDETTI, E. B.; MACHADO, J. C. Intensidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow) da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] nas cultivares conquista, savana e suprema sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento foliar. ***Summa* *Phytopathologica***, v. 33, n. 3, p. 239-244, 2007.

ANDERSON, S.J.; STONE, C.L.; POSADA-BUITRAGO, M.L.; BOORE, J.L.; NEELAM, B.A.; STEPHENS, R.M.; LUSTER, D.G.; FREDERICK, R.D.; PEDLEY, K.F. Development of simple sequence repeat markers for the soybean rust fungus, Phakopsora pachyrhizi. **Molecular Ecology Resources**, v.8, p.1310-1312, 2008.ANGELOTTI, F.; REGINA, C.; BUFFARA, S.; VIEIRA, R.A.; VIDA, J.B. Protective, curative and eradicative activities of fungicides against grapevine rust. **Ciência Rural**. v. 44, p. 1367–70. 2014.

BALLARDIN, R.S.; DALLAGNOL, L.J.; DIDONÉ, H.T.; NAVARINI, L. Influência do Fósforo e do Potássio na Ferrugem asiática da Soja Phakopsora pachyrhizi. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.462-467, 2006.

BLOOM, A.J. Nutrição Mineral. In: Taiz, L. & Zeiger, E. (Eds.) In: Taiz, L. & Zeiger, E. (Eds.) **Fisiologia Vegetal**. 3º ed, 2004. p. 96-103.

BLUM, M. M. C.; REIS, E. M.; VIEIRA, F.T.; CARLINI, R. In vitro effect of substrate, temperature and photoperiod on *Phakopsora pachyrhizi* urediniospore germination and germ tube growth. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 2, p. 101-106, 2015.

BONDE, M. R., NESTER, S. E., AND BERNER, D. K. Effects of daily temperature highs on development of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean. **Phytopathology** 102:761-768. 2012.

BONDE, M. R.; BERNER, D. K.; NESTER, S. E.; FREDERICK, R. D. Effects of temperature on urediniospore germination, germ tube growth, and initiation of infection in soybean by *Phakopsora* isolates. ***Phytopathology***, v. 97, n. 8, p. 997-1003, 2007.

BONDE, M. R.; NESTER, S. E.; BERNER, D. K.; FREDERICK, R. D; MOORE, W. F.; LITTLE, S. Comparative Susceptibilities of Legume Species to Infection by Phakopsora pachyrhizi. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n.1, p. 30-36. 2008.

BONDE, M. R.; NESTER, S. E.; BERNER. Effects of Frequency of “Extreme” Temperature Highs on Development of Soybean Rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n.7, p. 708-716, 2013.

BONDE, M.R.; NESTER, S.E.; AUSTIN, C.N.; STONE, C.L.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L.; MILES, M.R. Evaluation of virulence of *Phakopsora pachyrhizi* and P. meibomiae isolates. **Plant Disease**, Saint Paul, v.90, p.708-716, 2006.

BOSCH, F. van den; and GILLIGAN, C. A. 2008. Models of fungicide resistance dynamics. **Annual Review of Phytopathology**. v.46, p.123–147.

BOSCH; F, Van Den; OLIVER, R.; BERG, F. Van Den; PAVELEY, N. Governing principles can guide fungicide resistance management tactics. **Annu. Rev. Phytopathol**., v. 52, p.175–195, 2014.

BRENT, K. J., AND D. W. HOLLOMAN. 2007. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph 1 2nd ed., Fungicide Resistance Action Committee, CropLife International, Brussels, Belgium. (http://www.frac.info/publication/anhang/FRAC\_ Mono1\_2007\_100dpi.pdf)

BROMFIELD, K. R. AND C. Y. YANG. 1976. Soybean rust: Summary of available knowledge. In: R. M. Goodman, ed. Expanding the Use of Soybeans, p.161-164. INTSOY Series No. 10. Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.

BROMFIELD, K. R. and HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop. Sci.** v. 20, p. 254–255, 1980.

BROMFIELD, K. R. *Soybean rust*. Monograph n. 11. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, 63 p., 1984.

CALDWELL, P., and M. LAING. Soybean Rust – A New Disease on the Move. Southern African Society for Plant Pathology. Stellenbosch South Africa, 2001. <http://www.saspp.org/archived_articles/FeatureMarch.php>

CARMONA, M.A.; GALLY, M.E.; LOPEZ, S.E. Asian soybean rust: incidence, severity, and morphological characterization of *Phakopsora pachyrhizi* (uredinia and telia) in Argentinia. **Plant Disease,** v.89, p.109, 2005.

CASEY, P.S. The epidemiology of soybean rust: *Phakopsora pachyrhizi* Syd. **Soybean Rust Newsletter**, v.4, p.3-5, 1981.

CHENG, Y. W., AND K. L. CHAN. The breeding of rust resistant soybean Tainung 3. **J. Taiwan Agr. Res.** v.17, p.30-34, 1968.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos (safra 2018/20119)**. Brasília: CONAB, 2019. 154p. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\_09\_11\_10\_42\_03\_boletim\_graos\_junho\_2019.pdf>. Acesso em: 26/06/2019.

**CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM SAFRA** 2008/2009, 2009, Londrina. Resumos. Londrina: Embrapa Soja, 2009. p.93-101. (Embrapa Soja. Documentos 315).

COOLS, H.J.; BAYON, C.; ATKINS, S.; LUCAS, J.A.; FRAAIJE, B.A. Overexpression of the sterol 14a-demethylase gene (MgCYP51) in *Mycosphaerella graminicola* isolates confers a novel azole fungicide sensitivity phenotype. **Pest Management Science.** v. 68, 1034–40, 2012.

DALLA LANA, F.; ZIEGELMANN, PATRICIA K. ; MAIA, A. de H. N. ; [GODOY, C. V.](http://lattes.cnpq.br/7176435560478135); DEL PONTE, E. M. Meta-Analysis of the Relationship Between Crop Yield and Soybean Rust Severity. **Phytopathology**, v. 105, p. 307-315, 2015.

DANELLI, A.L.D.; REIS, E.M.; BOARETTO, C. Critical-point model to estimate yield loss caused by Asian soybean rust. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v.41, n.4, p.262-269, 2015.

DEL PONTE, E.M.; ESKER, P.D. Meteorological factors and Asian soybean rust epidemics: a systems approach and implications for risk assessment. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. spe, p. 88-97, 2008.

DEL PONTE, E.M.; GODOY, C.V.; LI, X.; YANG, X.B. Predicting severity of Asian soybean rust epidemics with empirical rainfall models. *Phytopathology*, St. Paul, v.96, p.797-803, 2006.

DIAS, A. P. S., LI, X., HARMON, P. F., HARMON, C. L., AND YANG, X. B. Effects of shade intensity and duration on Asian soybean rust caused by Phakopsora pachyrhizi. **Plant Dis**, v.95, p. 485-489, 2011.

DIAS, A.P.S.; LI, X. and YANG, X.B. Modeling the Effects of Cloudy Weather on Regional Epidemics of Soybean Rust. **Plant Disease**, St. Paul, v.98, p.811-816, 2014.

DOYLE, J. J., CHAPPILL, J. A., BAILEY, C. D., AND KAJITA, T. 2000. **Towards a comprehensive phylogeny of legumes: Evidence from the rcbL sequences and non-molecular data.** Pages 1-20 in: Advances in Legume Systematics, P. S. Herendeen and A. Bruneau, eds. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, UK.

**EMBRAPA**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria: Centro Nacional de Pesquisa de soja. <http:// www.embrapa.br/soja >. Acesso em: 20/06/2017.

**EMBRAPA**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria: Centro Nacional de Pesquisa de soja. <http:// www.embrapa.br/soja >. Acesso em: 03/08/2019.

FEHR, W.R., AND C.E. CAVINESS. 1977. **Stages of soybean development**. Special Report 80. Coop. Ext. Serv., Iowa State Univ., Ames, IA.

**FRAC – Fungicide Resistance Action Committee (2018)**. FRAC Code List© 2019: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). <www.frac.info> Acesso em: 20/07/2019.

**FRAC (Fungicide resistance action committee)**, Crop Life. <www.frac.info> Acesso em: 15/07/2017.

**FRAC (Fungicide resistance action committee)**, Crop Life. <www.frac.info> Acesso em: 15/07/2017.

FREIRE, M.C.M.; OLIVEIRA, L.O. de; ALMEIDA, A.M.R. de; SCHUSTER, I.; MOREIRA, M.A.; LIEBENBERG, M.M.; MIENIE, C.M.S. Evolutionary history of *Phakopsora pachyrhizi* (the Asian soybean rust) in Brazil based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of the nuclear ribosomal DNA. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.920-931, 2008.

FURTADO, G.Q; ALVES, S.A.M.; CARNEIRO, L.C.; GODOY, C.V.; JÚNIOR, N.S.M. Influência do estádio fenológico e da idade dos trifólios de soja na infecção de *Phakopsora pachyrhizi*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.2, p.118-122, 2009.

GARCIA, A., CALVO, E., SOUZA KIIHL, R., HARADA, A., HIROMOTO, D.; VIEIRA, L. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theor. Appl. Genet**. v.117, p. 545–553, 2008.

GASPAR, G.G.; TAKAHASHI, H.W.; CANTERI, M.G. ALMEIDA, J.C.V. DE; FIORETTO, R.A.; ANDRADE, B.L.G.; FANTIN, L.H. Balance among calcium, magnesium and potassium levels affecting Asian Soybean Rust severity. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.1, n. 1, p. 39 - 44, 2015.

GEORGOPOULOS, S.G., and ZIOGAS, B. N. A new class of carboxin resistant mutants of Ustilago maydis. Neth. **J. Plant Pathol**. v. 83. p. 235-242. 1977.

GISI, U.; SIEROTZKE, H.; COOK, A.; MCCAFFERY, A. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. **Pest Manage. Sci**., v.58, p. 859–867. 2002.

GODOY C.V.; UTIAMADA C.M.; SILVA L.H.C.P.; SIQUERI, F.V.; HENNING, A.A.; ROESE, A.D.; FORCELINI, C.A. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem asiática da soja, Phakopsora pachyrhizi, na safra 2009/10:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8p. (Embrapa Soja. Circular Técnica 80).

GODOY, C. V.; FLAUSINO, A. M. Efeito da temperatura na germinação de uredosporos de *Phakopsora pachyrhizi*, viabilidade e sobrevivência em diferentes condições de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, 29 (Supl.):124. 2004.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B. et al*.* **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Circular Técnica 119. Londrina: EMBRAPA, 2016.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; PIMENTA, C. B.; CASSETARI NETO, D. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2012/13: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Circular Técnica 99. Londrina: EMBRAPA, 2013.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; PIMENTA, C. B.; CASSETARI NETO, D. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2013/14: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Circular Técnica 103. Londrina: EMBRAPA, 2014.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; PIMENTA, C. B.; CASSETARI NETO, D. et al. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Circular Técnica 111. Londrina: EMBRAPA, 2015.

GODOY, C.V. **Risk and management of fungicide resistance in the Asian soybean rust fungus Phakopsora pachyrhizi**. In: THIND, T.S. (Ed.). Fungicide resistance in crop protection: risk and management. London, UK: CABI, 2012. p.87-95.

GODOY, C.V.; CANTERI, M.G. Efeitos protetor, curativo e erradicante de fungicidas no controle da ferrugem da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi*, em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.97-101. 2004.

GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; MARCELINO-GUIMARAES, F.C.; MEYER, M.C.; COSTAMILAN, L.M. 2016. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. v. 51. p. 407–421.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M. MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; LOPES, I.O.N.; FORCELINI, C.A. et al.  **Eficiência de fungicidas para o controleda ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra** **2016/17:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular Técnica 129. Londrina: EMBRAPA, 2017.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M. MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; LOPES, I.O.N.; FORCELINI, C.A. et al.  **Eficiência de fungicidas para o controleda ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra** **2017/18:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular Técnica 138. Londrina: EMBRAPA, 2018.

GRASSO, V.; PALERMO, S.; SIEROTZKI, H.; GARIBALDI, A.; GISI, U. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. **Pest Manag. Sci**. v. 62, p.465–472, 2006.

GULLINO, M.L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb, past, present and future**. Plant Disease,** St. Paul, v. 94, n. 9, p. 1076-1087. 2010.

HARMON, P. F., MOMOL, M. T., MAROIS, J. J., DANKERS, H., AND HARMON, C. L. **Asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and kudzu in Florida.** 2005. Online publication. doi:10.1094/PHP-2005-0613-01RS. Plant Health Progress.

HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4th ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1993. p. 3-4.

HARTMAN, G. L.; WANG, T. C.; TSCHANZ, A. T. Soybean rust development and the

quantitative relationship between rust severity and soybean yield. **Plant Disease**, v. 75, p. 596-600, 1991.

HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. **Compendium of soybean diseases**.4. ed. St. Paul, Minnesota: APS Press. 1999. 100p.

HARTWIG, E.E. Identification of a fourth major gene conferring resistance to soybean rust. **Crop Science**, v.26, p.1135-1136, 1985.

HARTWIG, E.E.; BROMFIELD, K.R. Relationships among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. **Crop Science**, v.23, p.237-239, 1982.

HAWKINS & FRAAIJE, Fitness penalties in the evolution fungicide resistance. **Annu. Rev. Phytopathol.** v. 56. p. 339-360. 2018

HEIFFIG, L. S., CÂMARA, G. M. DE S., MARQUES, L. A., PEDROSO, D. B., PIEDADE, S. M. DE S. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. **Bragantia**, v.65, p.285-295, 2006.

HENNEN, J.; REID, F. NPAG Data: *Phakopsora Pachyrhizi* Australian Asian Soybean Rust. Draft - December 9, 2002.

HENNINGS, V. P. [A few new Japanese Uredinaceae]. *Hedwigia*, v.42, p. S107-108, 1903.

HIDAYAT, O.O.; SOMAATMADJA, S. Screening of soybean breeding lines for resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow). Soybean Rust Newsletter, v.1, p.9-22, 1977.

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

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Documentos 349. Londrina: EMBRAPA Soja, 2014.

HOBBELEN, P.H.F.; FRAAIJE, B.; LUCAS, J.A.; PAVELEY, N.D.; BOSCH, F. Derivation and testing of a model to predict selection for fungicide resistance. **Plant Pathology**. V. 60. p. 304–13. 2011.

HOBBELEN, P. H. F.; PAVELEY, N. D.; VAN DEN BOSCH, F. Delaying selection for fungicide insensitivity by mixing fungicides at a low and high risk of resistance development: A modeling analysis. **Phytopathology.** v. 101. p. 1224-1233. 2011b.

IGARASHI, W. T.; AGUIAR E SILVA, M. A.; IGARASHI, S.; ABI SAAB, O. J. G.; FRANÇA, J. A. Duração e porcentagem de molhamento foliar determinados pelo espaçamento entrelinhas, e influência sobre a ferrugem asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 2, p. 123-127, 2014.

ISARD, S. A., N. S. DUFAULT, M. R. MILES, G. L. HARTMAN, J. M. RUSSO, E. D. DE WOLF, AND W. MOREL. The effect of solar irradiance on the mortality of *Phakopsora pachyrhizi* urediniospores. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, p. 941-945, 2006.

JULIATTI, F. C., AZEVEDO, L. A. S., & CRISTINA, J. (2017). Strategies of chemical protection for controlling soybean rust. In M. Kasai (Ed.), Soybean (pp. 35–62). London: Intech Open.  <https://doi.org/10.5772/67454>.

KAWASHIMA CG, GUIMARAES GA, NOGUEIRA SR, MACLEAN D, COOK DR, STEUERNAGEL B, et al. A pigeonpea gene confers resistance to Asian soybean rust in soybean. **Nat Biotechnol**. 2016.

KILLGORE, E.**;** HEU, R.**;** GARDNER, D. E.First report of soybean rust in Hawaii. **Plant Dis.** v.78, p.1216. 1994.

KIM K. S.; UNFRIED J.R.; HYTEN D. L.; FREDERICK R. D.; HARTMAN G. L.; NELSON R. L.; SONG Q.; DIERS B. W.; Molecular mapping of soybean rust resistance in soybean accession PI561356 and SNP haplotype analysis of the Rpp1 region in diverse germplasm. Theoretical and Applied Genetics 125, 1339–1352, 2012.

KLOSOWSKI, A.C.; BRAHM, L.; STAMMLER, G., MAY DE MIO, L.L. Competitive fitness of Phakopsora pachyrhizi isolates with mutations in the CYP51 and CYTB genes. **Phytopathology**. v. 106, p. 1278–1284, 2016b.

KLOSOWSKI, A.C.; MAY DE MIO, L.L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R., STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene on Phakopsora pachyrhizi. **Pest Manag Sci**. v.72, p. 1211–1215, 2016.

KOCH, E.; EBRAHIM-NESBAT, F.; HOPE, H. H. Light and electron microscopic studies on the development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in susceptible soybean leaves (*Glycine max*). **Phytopathologische Zeitschrift**. v.106, p. 302–320, 1983.

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. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 28, p. 571-580, 2007.

KRUPA, S.; BOWERSOX, V.; CLAYBROOKE, R.; BARNES, C. W.; SZABO, L.; HARLIN, K.; KURLE, J. Introduction of Asian soybean rust urediniospores into the Midwestern United States – a case study**. Plant Disease**, St. Paul, v. 90, n. 9, p. 1254-1259, 2006.

KUMUDINI, S.; GODOY, C.V.; BOARD, J.E.; OMIELAN, J.; TOLLENAAR, M. Mechanisms involved in soybean rust-induced yield reduction. **Crop Sci.**, v.48, p.2334–2342. 2008.

LEVY, C. Epidemiology and chemical control of soybean rust in southern Africa. **Plant Disease**. v. 89, p. 669-674, 2005.

LI, X.; ESKER, P. D.; PAN, Z.; DIAS, A. P.; XUE, L.; YANG, X. B. Uniqueness of the SBR Pathosystem and Its Scientific Value. **Plant Disease**, v. 94, n. 7, p. 796-805, 2010.

LYNCH, T. N.; MAROIS, J. J.; WRIGHT, D. L.; HARMON, P. F.; HARMON, C. L.; MILES, M. R.; HARTMAN, G. L. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* on *Phaseolus spp.* in the United States. **Plant Disease**. v.90, p. 970, 2006.

MADALOSSO, M.G.; DOMINGUES, L.S.; DEBORTOLI, M.P.; LENZ, G.; BALARDIN, R.S. Cultivares, espaçamento entrelinhas e programas de aplicação de fungicidas no controle de *Phakopsora pachyrhizi* Sydow em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria. v.40, p.2256-2261, 2010.

MAGNANI, E.B.Z.; MENDONÇA; E.A.F. DE; ALBUQUERQUE, M.C.F. Adhesion of uredospores of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean seeds and their viability during storage. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 34, n. 2, p. 1-6, 2012.

MARCHETTI, M. A.; UECKER, F. A.; BROMFIELD, K. R. Uredial development of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean. **Phytopathology**, St. Paul, v. 65, p. 822-823, 1975.

MARCHETTI, M.A.; MELCHING, J.S.; BROMFIELD, K.R. The effects of temperature and dew period on germination and incfetion by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phythopatology**. v. 66. p. 461- 463. 1976.

MCLEAN, R.J.; BYTH, D.E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in

soybeans. **Aust J Agric Res**, v.31, p. 951–956, 1980.

MELCHING, J.S.; DOWLER, W.M.; KOOGLE, D.L.; ROYER, M.H. Effect of plant age on suscetibility of soybean to soybean rust. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.10, p. 30-35, 1988.

MELCHING, J.S.; DOWLER, W.M.; KOOGLE, D.L.; ROYER, M.H. Effect of duration, frequency, and temperature of leaf wetness period on soybean rust. **Plant Disease,** v.73, p. 117-122, 1989.

MILES, M. R.; LEVY, C.; MOREL, W.; MUELLER, T.; STEINLAGE, T.; RIJ, N. van; FREDERICK, R. D.; HARTMAN, G. L. International fungicide efficacy trials for the management of soybean rust. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, n. 11, p. 1450-1458, 2007.

MILES, M.R.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L. Evaluation of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Health Progress**, 2006. Doi:10.1094/PHP-2006-0104-01-RS.

MOREIRA, E.N.; VALE, F.X.R.; PAUL, P.A.; RODRIGUES, F.A.; JESUS JÚNIOR, W.C. Temporal dynamics of soybean rust associated with leaf area index in soybean cultivars of different maturity groups. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 9, p. 1216-1226, 2015.

MOREL, W. P. **Roya de Ia soja**. Itapúa: Ministério de Agricultura y Ganaderia, Subsecretaria de Agricultura, Dirección de Investigación Agrícola: Centro Regional de Investigación Agrícola - CRIA. 2001. (Comunicado Técnico - Reporte Oficial, Série Fitopatologia, 1).

NASCIMENTO, J. F.; VIDA, J.B.; TESSMANN, D.J.; ZAMBOLIM, L.; VIEIRA, R.A.; OLIVEIRA, R. R. Progress of Asian soybean rust and airborne urediniospores of *Phakopsora pachyrhizi* in southern Brazil. **Summa phytopathologica,** v. 38, p. 280–287, 2012.

NAVARINI, L. **Resposta de cultivares de soja ao controle químico de ferrugem asiática**. 2008. 74 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

OLIVEIRA, A.C.B.; GODOY, C.V.; MARTINS, M.C. Avaliação da Tolerância de Cultivares de Soja à Ferrugem Asiática no Oeste da Bahia. **Fitopatolologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.6, p.658- 662, 2005.

OLIVER, R. P. 2014. A reassessment of the risk of rust fungi developing resistance to fungicides. Pest Manag. Sci. 70 1641–1645 10.1002/ps.3767

ONO, Y.; P. BURITICA; J. HENNEN. Delimitation of Phakopsora, Physophella and Cerotylium and their species on Leguminosae. **Mycological Research**. v. 96, p. 825-850, 1992.

PATIL, P.V.; ANAHOSUR, K.H. Control of soybean rust by fungicides. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 51, p. 265-268, 1998.

PRETORIUS, Z.A.; KLOPPERS, F.J.; FREDERICK, R.D. First report of soybean rust in South Africa. **Plant Disease**, v.85, p.1288, 2001. DOI: 10.1094/PDIS.2001.85.12.1288C.

PRICE, C.L.; PARKER, J.E.; WARRILOW, A.G.S.; KELLY, D.E.; KELLY, S. L. Azole fungicides understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. **Pest Management Science**, v. 71, p. 1054–1058, 2015.

REIS, E. M.; DEUNER, E.; ZANATTA, M. In vivo sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* to DMI and QoI fungicides. **Summa Phytopathologica**, Botucatu. v. 41, n. 1, p. 21-24, 2015.

REIS, E. M.; ZANATTA, T.; ZANATTA, M. Curative and eradicant action of fungicides to control Phakopsora pachyrhizi in soybean plants. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v.42, n.4, p.295-302, 2016.

[REIS, E. M.](http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/?IsisScript=iah/iah.xis&base=article%5Edlibrary&format=iso.pft&lang=i&nextAction=lnk&indexSearch=AU&exprSearch=REIS,+ERLEI+MELO); [CARREGAL, L. H.](http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/?IsisScript=iah/iah.xis&base=article%5Edlibrary&format=iso.pft&lang=i&nextAction=lnk&indexSearch=AU&exprSearch=CARREGAL,+LUIS+HENRIQUE)  &  [ZANATTA, M](http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/?IsisScript=iah/iah.xis&base=article%5Edlibrary&format=iso.pft&lang=i&nextAction=lnk&indexSearch=AU&exprSearch=ZANATTA,+MATEUS). **Comparação da eficácia de**

**fungicidas IQes, isolados ou em mistura com triazóis, no controle da ferrugem asiática da soja, safra 2016/17. Summa phytopathol***.* vol.45, n.1, pp.28-32. 2019.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Doenças da soja: etiologia, sintomatologia, diagnose e manejo integrado**. Passo Fundo: Berthier, 2012, v. 1, 433p.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; CARMONA, M.A. **Manual de fungicidas: Guia para controle químico racional de doenças de plantas.** 7º ed. Passo Fundo. Ed. Universidade de Passo Fundo, 278p. 2016.

REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 40, 2014, Pelotas. Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 124p.

ROESE, A.D.; MELO, C.L.P.; GOULART, A.C.P. Espaçamento entre linhas e severidade da ferrugem-asiática da soja. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.300-305, 2012.

ROSSI, R.L. First report of *Phakopsora pachyrhizi*, the causal organism of soybean rust in the province of Misiones, Argentina. **Plant Disease**, v.87, p.102, 2003. DOI: 10.1094/ PDIS.2003.87.1.102A.

RYTTER, J.L.; DOWLER, W.M.; BROMFIELD, K.R. Additional alternative hosts of *Phakopsora pachyrhizi*, causal agent of soybean rust. **Plant Disease**, v.68, p.818‑819, 1984.

SAMOUCHA, Y. AND GISI, U. Systemicity and persistence of cymoxanil in mixture with oxadixyl and mancozeb against *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. **Crop Prot.** v. 6. p. 393-398. 1987.

SCHERM, H.; CHRISTIANO, R.S.C.; ESKER, P.D.; DEL PONTE, E.M.; GODOY, C.V. Quantitative review of fungicide efficacy trials for managing soybean rust in Brazil. **Crop Protection**, v.28, p.774‑782, 2009.

SCHMITZ, H.K.; MEDEIROS, C.A.; CRAIG, I.R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone‑outside‑inhibitors and demethylation‑inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v.70, p.378‑388, 2013.

SCHNEIDER, R.W.; HOLIER, C.A.; WHITAM, H.K; PALM, M.E.; McKEMY, J.M.;

HERNÁNDEZ, J.R.; LEVY, L.; DEVRIES‑PATERSON, R. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* in the continental United States. **Plant Disease**, v.89, p.774, 2005.

SCONYERS, L. E.**;** KERMERAIT, R. C.**;** BROCK, J.**;** PHILLIPS, D. V.**;** JOST, P. H.**;** SIKORA, E. J.**;** GUTIERREZ-ESTRADA, A.**;** MUELLER, J. D.**;** MAROIS, J. J.**;** WRIGHT, D. L.**; and** HARMON, C. L. Asian soybean rust development in 2005: A perspective from the Southeastern United States. **APSnet Feature**. Online publication. 2006. <https://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/SoybeanRustDev.aspx>

SEIXAS, C.D.S.; GODOY, C.V. 2007. Vazio sanitário: panorama nacional e medidas de monitoramento. Anais do simpósio brasileiro de ferrugem asiática da soja. Embrapa, Londrina, p 23–33.

SIEROTZKI, H., and SCALLIET, G. 2013. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. **Phytopathology**. v.103. p.880-887.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi.* **J Plant Dis Prot.,** v.124, p. 1-6, 2017.

SINCLAIR, J.B.; HARTMAN G.L. Management of Soybean Rust. In: Proceedings of the Soybean Rust Workshop, 1, 1995, Urban. Urbana: College of agricultural, Consumer, and Environmental Sciences, National Soybean Research Laboratory Publication, 1996.

SINCLAIR, J.B.; HARTMAN, G.L. Soybean rust. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. (Eds.) **Compendium of soybean diseases**. 4a ed. St. Paul EUA. APS Press. p.3-4, 1999.

SINGH, B.B.; THAPLIYAL, P.N. Breeding for resistance to soybean rust in India. In: FORD, R.E.; SINCLAIR, J.B. (Ed.). **Rust of soybean: the problem and research needs.** Urbana: University of Illinois, 1977. p. 62-65. (INTSOY. Series, 12).

SLAMINKO, T. L.; MILES, M. R.; FREDERICK, R. D.; BONDE, M. R.; HARTMAN, G. L. New legume hosts of *Phakopsora* *pachyrhizi* based on greenhouse evaluations. **Plant Disease**, v. 92, n. 5, p. 767-771, 2008.

SOARES, R.M.; AKAMATSU, H.; YAMANAKA, N.; SUENAGA, K.; YAMAOKA, Y.; IVACOVICH, A.; MOREL, W.; JANEGITZ, T. **Variabilidade patogênica do fungo *Phakopsora pachyrhizi.*** Parte I – projeto ferrugem da soja JIRCAS/Embrapa Soja/ CRIA/ INTA/Tsukuba University.

SOUSA, P. F. C.; ALVES, E.; CASTRO, H. A. Effect of temperature on teliospores development of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean leaflets. **Summa Phytopathologica**. v.32, n.3, p.227-231, 2006.

STAUB, T. Fungicide resistance: practical experience and anti resistance strategies and the role of integrated use. **Ann. Rev. Phytopathol.** v. 29. p. 421-422. 1991.

STEFANELLO, M.T.; MARQUES, L.N.; PINTO, F.F.; RAMOS, J.P. de; CADORE, P.C.; BALARDIN, R.C. Dinâmica do controle químico de *Phakopsora pachyrhizi* em plantas de soja submetidas a diferentes regimes hídricos**. Arq. Inst. Biol.** v.83, p.1-6, 2016.

TMG. Tropical Melhoramento & Genética. Disponível em:< <http://tmg.agr.br/cultivares/soja> >. Acesso em: 23 mai. 2017.

TRENTIN, R.; HELDWEIN, A.B.; STRECK, N.A.; TRENTIN, G.; SILVA, J.C. da. Subperíodos fenológicos e ciclo da soja conforme grupos de maturidade e datas de semeadura. **Pesq. agropec. bras.**. Brasília. v.48, n.7, p.703-713, jul. 2013.

TSCHANZ, A. T. 1984: **Soybean Rust Epidemiology: Final Report**. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan. 157 p.

TSCHURTSCHENTHALER, N. N.; VIEIRA, E. S. N.; DALLA NORA, T.; SCHUSTER, I. Variabilidade genética de *Phakopsora pachyrhizi* avaliada por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 47, n. 2, p. 181-186, 2012.

TWIZEYIMANA, M.; OJIAMBO, P. S.; HAUDENSHIELD, J. S.; CAETANO-ANOLLÉS; PEDLEY, K. F.; BANDYOPADHYAY, R. et al. Genetic structure and diversity of Phakopsora pachyrhizi isolates from soybean. **Plant Pathology**, v.60*. p*. 719–729. 2011.

VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. Efeito do binômio temperaturaduração do molhamento foliar sobre a infecção por *Phakopsora pachyrhizi* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília DF, v.15, n.3, pg. 200-202, 1990.

Van TUYL, J. M. Acquired resistance to carboxin in *Aspergillus nidulans.* **Neth. J. Plant Pathol.** v.81, p.122-123, 1975.

XAVIER, S.A.; KOGA, L.J.; BARROS, D.C.M.; CANTERI, M.G.; LOPES, I.L.N.; GODOY, C.V**.** Variação da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da desmetilação no Brasil. **Summa Phytopathologica,** v. 41, p. 191-196, 2015.

XAVIER, S.A.; MARTINS, D.C.; FANTIN, L.H.; CANTERI, M.G. Older leaf tissues in younger plants are more susceptible to soybean rust. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 39, n. 1, p. 17-24, Jan.-Mar. 2017.

YAMAOKA, Y.; FUJIWARA, Y.; KAKISHIMA, M.; KATSUYA, K.; YAMADA, K.; HAGIWARA, H. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of General Plant and Pathology**, v.68, p.52-56, 2002.

YANG, X. B.; ROYER, M. H.; TSCHANZ, A. T.; TSIA, B. Y. Analysis and quantification of soybean rust epidemics from seventy-three sequential planting experiments. **Phytopathology** v. 80. p. 1421-1427. 1990.

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, pg. 1420-1426. 1991.

YEH, C. C.; TSCHANZ, A. T. and SINCLAIR, J. B. Induced teliospore formation by *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and other hosts. **Phytophatology***,* St. Paul, v. 71, p. 1111-1112, 1981.

YORINORI, J. T.; and MOREL, W. P. 2002. **Ferrugem da soja (*Phakopsora pachyhrizi*): Alerta: Embrapa**. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, Brazil.

YORINORI, J. T.; NUNES JUNIOR, J.; LAZZAROTTO, J. J. **Ferrugem “asiática” da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle.** Londrina: Embrapa Soja, 2004, 36p.

YORINORI, J.T.; PAIVA, W.M.; FREDERICK, R.D.; COSTAMILAN, L.M.; BERTAGNOLLI, P.F.; HARTMAN, G.E.; GODOY, C.V.; NUNES JR., J. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. **Plant Disease**, St. Paul, v.89, p.675-677, 2005.

ZAMBENEDETTI, E. B.; ALVES, E.; ARAÚJO, D. V. Eventos dos processos de pré-penetração, penetração e colonização de *Phakopsora* *pachyrhizi* em folíolos de soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 156-160, 2007b.

ZAMBENEDETTI, E. B.; ALVES, E.; POZZA, E. A.; ARAÚJO, D. V. Germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes métodos de armazenamento. **Summa Phytopathologica**, v.33, n. 1, p. 83-85, 2007.

ZIDEK, J. 2007. ***Phakopsora pachyrhizi* urediniospore escape from a soybean canopy**. State College: Pennsylvania State University, p. 125.

# ANEXOS

## ANEXO 1. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados observados na avaliação de programas de aplicações de fungicidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* Lages, 2019.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 1** | **Testemunha c/ e s/ fungicida** | **x** | **Prog. Apl. com carbox.** |
| Contraste | (T1 + T8) |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) |
| Média | 10,4 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 2** | **Testemunha c/ e s/ fungicida** | **x** | **Prog. Apl. com carbox.** |
| Contraste | (T1 + T8) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |
| Média | 10,5 |  | 23,4 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 3** | **Testemunha c/ e s/ fungicida** | **x** | **Prog. Apl. com carbox.** |
| Contraste | (T1 + T8) 28 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 13 |  | 37,4 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 4** | **Testemunha c/ e s/ fungicida** | **x** | **Prog. Apl. com carbox.** |
| Contraste | (T1 + T8) 42 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 42 DAP0 |
| Média | 8,5 |  | 40,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 5** | **Testemunha c/ e s/ fungicida** | **x** | **Prog. Apl. com carbox.** |
| Contraste | (T1 + T8) 56 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 56 DAP0 |
| Média | 9,7 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 6** | **14 DAP0** | **x** | **28 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 23,4 |  | 37,8 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 7** | **28 DAP0** | **x** | **42 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 37,4 |  | 40,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 8** | **42 DAP0** | **x** | **56 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 40,3 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | 0,037 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 9** | **14 DAP0** | **x** | **42 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 23,4 |  | 40,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 10** | **14 DAP0** | **x** | **56 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 23,4 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | 0,002 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 11** | **28 DAP0** | **x** | **56 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 37,4 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 12** | **Carbox. 1** | **x** | **Carbox. 2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4) |  | (T5 + T6 + T7) |
| Média | 28,7 |  | 38,7 |
| Probabilidade(p) | < 0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 13** | **Carbox. 1** | **x** | **Carbox. 2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4) 14 DAP0 |  | (T5 + T6 + T7) 14 DAP0 |
| Média | 21,2 |  | 25,7 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 14** | **Carbox. 1** | **x** | **Carbox. 2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4) 28 DAP0 |  | (T5 + T6 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 31,8 |  | 43 |
| Probabilidade(p) | 0,0003 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 15** | **Carbox. 1** | **x** | **Carbox. 2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4) 42 DAP0 |  | (T5 + T6 + T7) 42 DAP0 |
| Média | 31,3 |  | 49,3 |
| Probabilidade(p) | < 0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 16** | **Carbox. 1** | **x** | **Carbox. 2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4) 56 DAP0 |  | (T5 + T6 + T7) 56 DAP0 |
| Média | 30,5 |  | 36,9 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 17** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) |  | (T3 + T6) |
| Média | 30,4 |  | 32,6 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 18** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 28 DAP0 |  | (T3 + T6) 28 DAP0 |
| Média | 37,8 |  | 33,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 19** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 42 DAP0 |  | (T3 + T6) 42 DAP0 |
| Média | 38,5 |  | 38,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 20** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 56 DAP0 |  | (T3 + T6) 56 DAP0 |
| Média | 25,4 |  | 30,5 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 21** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) |  | (T4 + T7) |
| Média | 30,4 |  | 38,1 |
| Probabilidade(p) | 0,0237 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 22** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 14 DAP0 |  | (T4 + T7) 14 DAP0 |
| Média | 20 |  | 22 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 23** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 28 DAP0 |  | (T4 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 37,8 |  | 41,1 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 24** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 42 DAP0 |  | (T4 + T7) 42 DAP0 |
| Média | 38,5 |  | 44,1 |
| Probabilidade(p) | 0,042 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 25** | **1 aplicação Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T5) 56 DAP0 |  | (T4 + T7) 56 DAP0 |
| Média | 25,4 |  | 45,1 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 26** | **2 aplicações Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T3 + T6) |  | (T4 + T7) |
| Média | 32,6 |  | 38,1 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 27** | **2 aplicações Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T3 + T6) 14 DAP0 |  | (T4 + T7) 14 DAP0 |
| Média | 28,3 |  | 22 |
| Probabilidade(p) | 0,01 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 28** | **2 aplicações Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T3 + T6) 28 DAP0 |  | (T4 + T7) 28 DAP0 |
| Média | 33,3 |  | 41,1 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  | 12,18 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 29** | **2 aplicações Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T3 + T6) 42 DAP0 |  | (T4 + T7) 42 DAP0 |
| Média | 38,3 |  | 44,1 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 30** | **2 aplicações Carbox.** | **x** | **3 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T3 + T6) 56 DAP0 |  | (T4 + T7) 56 DAP0 |
| Média | 30,5 |  | 45,1 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 31** | **1 aplicação Carbox.1** | **x** | **2 aplicações Carbox.1** |
| Contraste | (T2) |  | (T3) |
| Média | 27,1 |  | 25,4 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 32** | **1 aplicação Carbox.1** | **x** | **3 aplicações Carbox.1** |
| Contraste | (T2) |  | (T4) |
| Média | 27,1 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 33** | **2 aplicações Carbox.1** | **x** | **3 aplicações Carbox.1** |
| Contraste | (T3) |  | (T4) |
| Média | 25,7 |  | 33,7 |
| Probabilidade(p) | 0,027 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 34** | **1 aplicação Carbox.2** | **x** | **2 aplicações Carbox.2** |
| Constraste | (T5) |  | (T6) |
| Média | 33,8 |  | 39,8 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 35** | **1 aplicação Carbox.2** | **x** | **3 aplicações Carbox.2** |
| Constraste | (T5) |  | (T7) |
| Média | 33,8 |  | 42,5 |
| Probabilidade(p) | 0,02 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 36** | **2 aplicações Carbox.2** | **x** | **3 aplicações Carbox.2** |
| Constraste | (T6) |  | (T7) |
| Média | 39,8 |  | 42,5 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

## ANEXO 2. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados observados na avaliação da frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* obtidas decultivares de soja com presença e ausência da tecnologia Inox. Lages, 2019.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 37** | **Carbox. CV1** | **x** | **Carbox. CV2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) CV1 |  | (T2 + T3 + T4 + T5) CV2 |
| Média | 22,4 |  | 33,5 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 38** | **Carbox. CV1** | **x** | **Carbox.CV2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) CV1/17 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5) CV2/17 DAP0 |
| Média | 15,4 |  | 27,1 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 39** | **Carbox. CV1** | **x** | **Carbox. CV2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) CV1/ 35 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5) CV2/35 DAP0 |
| Média | 28,2 |  | 37,4 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 40** | **Carbox. CV1** | **x** | **Carbox. CV2** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) CV1/52 DAP0 |  | (T2 + T3 + T4 + T5) CV2/52 DAP0 |
| Média | 23,6 |  | 35,9 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 41** | **Carbox.1 CV1** | **x** | **Carbox.1 CV2** |
| Contraste | (T2 + T3) CV1 |  | (T2 + T3) CV2 |
| Média | 13,5 |  | 23,6 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 42** | **Carbox.2 CV1** | **x** | **Carbox.2 CV2** |
| Contraste | (T4 + T5) CV1 |  | (T4 + T5) CV2 |
| Média | 31,3 |  | 43,3 |
| Probabilidade(p) | 0,03 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 43** | **1 aplicação Carbox. 1/CV1** | **x** | **1 aplicação Carbox. 1 CV2** |
| Contraste | (T2)/ CV1 |  | (T2)/ CV2 |
| Média | 14,9 |  | 24,7 |
| Probabilidade(p) | 0,0003 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 44** | **2 aplicações Carbox. 1/CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox.1 CV2** |
| Contraste | (T3)/ CV1 |  | (T3)/ CV2 |
| Média | 12,1 |  | 22,6 |
| Probabilidade(p) | 0,0003 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 45** | **1 aplicação Carbox. 2/CV1** | **x** | **1 aplicação Carbox. 2/CV2** |
| Contraste | (T4)/ CV1 |  | (T4)/ CV2 |
| Média | 30,8 |  | 45,3 |
| Probabilidade(p) | 0,0003 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 46** | **2 aplicações Carbox. 2/CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox. 2/CV2** |
| Contraste | (T5)/ CV1 |  | (T5)/ CV2 |
| Média | 31,8 |  | 41,4 |
| Probabilidade(p) | 0,0006 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 47** | **Carbox. 1/CV1** | **x** | **Carbox. 2/ CV1** |
| Contraste | (T2 + T3) |  | (T4 + T5) |
| Média | 13,5 |  | 31,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 48** | **Carbox. 1/CV1** | **x** | **Carbox. 2/ CV1** |
| Contraste | (T2 + T3) 17 DAP0 |  | (T4 + T5) 17 DAP0 |
| Média | 15,6 |  | 15,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 49** | **Carbox./CV1** | **x** | **Carbox. 2/ CV1** |
| Contraste | (T2 + T3) 35 DAP0 |  | (T4 + T5) 35 DAP0 |
| Média | 13,6 |  | 42,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 50** | **Carbox. 1/CV1** | **x** | **Carbox. 2/ CV1** |
| Contraste | (T2 + T3) 52 DAP0 |  | (T4 + T5) 52 DAP0 |
| Média | 11,4 |  | 35,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 51** | **1 aplicação Carbox. 1/CV1** | **x** | **1 aplicação Carbox. 2/CV1** |
| Contraste | T2 |  | T4 |
| Média | 14,9 |  | 30,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 52** | **2 aplicações Carbox. 1/CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox. 2/CV1** |
| Contraste | T3 |  | T5 |
| Média | 12,1 |  | 31,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 53** | **2 aplicações Carbox. 1/CV1** | **x** | **1 aplicação Carbox. 2/CV1** |
| Contraste | T3 |  | T4 |
| Média | 12,1 |  | 30,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 54** | **CV1/ 17 DAP0** | **x** | **CV1/ 35 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 15,4 |  | 28,2 |
| Probabilidade(p) | 0,026 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 55** | **CV1/ 17 DAP0** | **x** | **CV1/ 52 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 15,4 |  | 23,6 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 56** | **CV1/ 35 DAP0** | **x** | **CV1/52 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 28,2 |  | 23,6 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 57** | **1 aplicação Carbox. /CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox. /CV1** |
| Contraste | (T2 + T4) |  | (T3 + T5) |
| Média | 22,8 |  | 22 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 58** | **1 aplicação Carbox. /CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox./CV1** |
| Contraste | (T2 + T4) 17 DAP0 |  | (T3 + T5) 17 DAP0 |
| Média | 19,3 |  | 11,5 |
| Probabilidade(p) | 0,007 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 59** | **1 aplicação Carbox. / CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox./CV1** |
| Contraste | (T2 + T4) 35 DAP0 |  | (T3 + T5) 35 DAP0 |
| Média | 27,3 |  | 29,2 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 60** | **1 aplicação Carbox. /CV1** | **x** | **2 aplicações Carbox. /CV1** |
| Contraste | (T2 + T4) 52 DAP0 |  | (T3 + T5) 52 DAP0 |
| Média | 21,9 |  | 25,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 61** | **CV2/ 17 DAP0** | **x** | **CV2 / 35 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 27,1 |  | 37,4 |
| Probabilidade(p) | 0,021 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 62** | **CV2 / 17 DAP0** | **x** | **CV2 / 52 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 27,1 |  | 35,9 |
| Probabilidade(p) | 0,022 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 63** | **CV2 / 35 DAP0** | **x** | **CV2 / 52 DAP0** |
| Contraste | (T2 + T3 + T4 + T5) |  | (T2 + T3 + T4 + T5) |
| Média | 37,4 |  | 35,9 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 64** | **Carbox. 1 / CV2** | **x** | **Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | (T2 + T3) |  | (T4 + T5) |
| Média | 23,6 |  | 35,8 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 65** | **Carbox. 1 / CV2** | **x** | **Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | (T2 + T3) 17 DAP0 |  | (T4 + T5) 17 DAP0 |
| Média | 18,4 |  | 48,1 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 66** | **Carbox. 1 / CV2** | **x** | **Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | (T2 + T3) 35 DAP0 |  | (T4 + T5) 35 DAP0 |
| Média | 26,7 |  | 46,1 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 67** | **Carbox. 1 / CV2** | **x** | **Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | (T2 + T3) 52 DAP0 |  | (T4 + T5) 52 DAP0 |
| Média | 25,8 |  | 43,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 68** | **1 aplicação Carbox. 1 / CV2** | **x** | **1 aplicação Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | T2 |  | T4 |
| Média | 24,7 |  | 45,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 69** | **2 aplicações Carbox. 1 /CV2** | **x** | **2 aplicações Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | T3 |  | T5 |
| Média | 22,6 |  | 41,4 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 70** | **2 aplicações Carbox 1 / CV2** | **x** | **1 aplicação Carbox. 2 / CV2** |
| Contraste | T3 |  | T4 |
| Média | 22,6 |  | 45,3 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 71** | **CV2 / 1 aplicação Carbox.** | **x** | **CV2 / 2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T4) |  | (T3 + T5) |
| Média | 35 |  | 32 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 72** | **CV2 / 1 aplicação Carbox.** | **x** | **CV2 / 2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T4) 17 DAP0 |  | (T3 + T5) 17 DAP0 |
| Média | 28 |  | 26,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 73** | **CV2 / 1 aplicação Carbox.** | **x** | **CV2 / 2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T4) 35 DAP0 |  | (T3 + T5) 35 DAP0 |
| Média | 40,5 |  | 34,4 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 74** | **CV2 / 1 aplicação Carbox.** | **x** | **CV2 / 2 aplicações Carbox.** |
| Contraste | (T2 + T4) 52 DAP0 |  | (T3 + T5) 52 DAP0 |
| Média | 36,6 |  | 35,3 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

## ANEXO 3. Contrastes estatísticos, médias e probabilidade de significância realizados pelo teste t, com os resultados obtidos pela avaliação da adição de fungicidas a carboxamidas na ocorrência e frequência da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*. Lages, 2019.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 75** | **Carbox. + Estrob.** | **x** | **Testemunha sem fungicida** |
| Contraste | T4 (14 a 42 DAP0) |  | T8 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 30,4 |  | 14,9 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 76** | **Carbox. + Estrob. + Protetor** | **x** | **Testemunha sem fungicida** |
| Contraste | T16 (14 a 42 DAP0) |  | T17 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 29,4 |  | 14,9 |
| Probabilidade(p) | <0,0001 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 77** | **Testemunha sem fungicida** | **x** | **Carbox. + Estrob. + Morfolina** |
| Contraste | T8(14 a 42 DAP0) |  | T17 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 14,9 |  | 20,4 |
| Probabilidade(p) | 0,01 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 78** | **Carbox. + Estrob.** | **x** | **Carbox. + Estrob. + Protetor** |
| Constraste | T4 (14 a 42 DAP0) |  | T16 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 30,4 |  | 29,4 |
| Probabilidade(p) | ns\* |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 79** | **Carbox. + Estrob.** | **x** | **Carbox. + Estrob. + Morfolina** |
| Constraste | T4 (14 a 42 DAP0) |  | T17 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 30,4 |  | 20,4 |
| Probabilidade(p) | 0,01 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Contraste 80** | **Carbox + Estrob. + Protetor** | **x** | **Carbox. + Estrob. + Morfolina** |
| Constraste | T16 (14 a 42 DAP0) |  | T17 (14 a 42 DAP0) |
| Média | 29,4 |  | 20,4 |
| Probabilidade(p) | 0,046 |  |  |