



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

KARLA BRAGA DE OLIVEIRA

**PARÂMETROS MONOCÍCLICOS DE POPULAÇÕES DE
Phakopsora pachyrhizi EM CULTIVAR RESISTENTE À
FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E SENSIBILIDADE À
PROTIOCONAZOL**

Londrina
2019

KARLA BRAGA DE OLIVEIRA

**PARÂMETROS MONOCÍCLICOS DE POPULAÇÕES DE
Phakopsora pachyrhizi EM CULTIVAR RESISTENTE À
FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E SENSIBILIDADE À
PROTIOCONAZOL**

Trabalho de Dissertação apresentado ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri.

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Oliveira, Karla Braga .

Parâmetros monocíclicos de populações de *Phakopsora pachyrhizi* em cultivar resistente à ferrugem asiática da soja e sensibilidade à protioconazol / Karla Braga Oliveira. - Londrina, 2019.
61 f. : il.

Orientador: Marcelo Giovanetti Canteri.
dissertação) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Folhas destacadas - . 2. Resistência genética - . 3. Inibidor da desmetilação - . 4. Concentração efetiva - . I. Canteri, Marcelo Giovanetti . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

KARLA BRAGA DE OLIVEIRA

PARÂMETROS MONOCÍCLICOS DE POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* EM CULTIVAR RESISTENTE À FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E SENSIBILIDADE À PROTIOCONAZOL

Trabalho de Dissertação apresentado ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Maria Isabel Balbi Penã
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Pesquisador Dr. Adriano Augusto de Paiva Custódio
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 25 de fevereiro de 2019.

Dedico aos meus pais, Maria do Carmo Braga e José Henrique Mestrineli de Oliveira, que me apoiaram de todas as formas desde o início dos meus estudos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar o melhor caminho sempre.

À meus pais Maria do Carmo Braga e José Henrique Mestrineli de Oliveira, pelo amor, por suportarem a distância e principalmente por acreditarem em meus objetivos e sonhos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri, não só pelo conhecimento transmitido, auxílio e suporte durante execução dos trabalhos, mas por me incentivar a buscar sempre o meu melhor.

Ao meu companheiro, Lucas Henrique Fantin, em especial, por aceitar minhas ideias, me ajudar a colocá-las em prática da melhor forma possível, pelo carinho, paciência e auxílio em cada etapa, sempre acreditando no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Ciro Hideki Sumida, pela recepção no laboratório, por tornar dias cansativos de trabalho mais divertidos e por estar sempre disposto a me ajudar.

A minha banca examinadora, Profa. Dra Maria Isabel Balbi Penã e ao Pesquisador Dr. Adriano Augusto de Paiva Custódio, pelas considerações realizadas e por participarem deste momento.

Aos técnicos do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina e Setor de Vegetação, José Aparecido Rocha e José Vicentini Neto (Sr. Bié), como também ao estagiário Luigi Bertolaccini Scolin, pelo auxílio durante todas as etapas do trabalho, sempre com muita gentileza, carinho e competência.

Ao pesquisador Dr. Álvaro Manuel R. de Almeida, da Embrapa Soja, por sempre me incentivar a cada etapa do programa de mestrado, pelos conselhos e amizade durante todos estes anos.

Aos colegas de laboratório Marina Faria Bracale, Felipe André Araújo, Fernanda Neves Paduan e Renata Mori Thomé, pela amizade e todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

À Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realização do mestrado.

OLIVEIRA, Karla Braga. **Parâmetros monocíclicos de populações de *Phakopsora pachyrhizi* em cultivar resistente à ferrugem asiática da soja e sensibilidade à protioconazol.** 2019. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar os componentes monocíclicos de diferentes populações de *Phakopsora pachyrhizi* sobre uma cultivar resistente e uma suscetível ao fungo, e monitorar a sensibilidade destas populações ao fungicida protioconazol através da metodologia de folhas destacadas de soja. Amostras do fungo *P. pachyrhizi* foram coletadas nas principais regiões produtoras do Paraná, Brasil e Canindeyú, Paraguai. Os uredósporos obtidos foram inoculados em folhas destacadas das cultivares TMG 7063 IPRO Inox® (resistente) e BMX Potência RR (suscetível) e incubadas a 23°C ±2°C. Os parâmetros epidemiológicos avaliados foram: período de incubação e latência, tipo de lesão e severidade aos 15 dias após inoculação. Para a sensibilidade ao protioconazol, folhas de soja foram tratadas com o i.a nas concentrações zero; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 mg L⁻¹ e inoculadas com os uredósporos das amostras de *P. pachyrhizi* das diferentes localidades. Após a inoculação, as folhas foram dispostas em placas de Petri de 15cm de diâmetro com papel filtro umedecido e incubadas em câmaras de crescimento, a 23°C ±2° C durante 15 dias para avaliação de severidade da ferrugem. A partir da severidade, foi determinada a concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle (CE50) para cada população. Na avaliação dos parâmetros, não houve variação na duração do período de incubação entre as amostras e cultivares, que foi de 7 dias. Foram observadas lesões do tipo TAN para inoculações em folhas da cultivar suscetível, e lesões RB para folhas da cultivar com resistência. O período latente foi superior em até 4 dias em folhas com genes de resistência. A severidade da doença foi inferior em todas as amostras inoculadas em folhas da cultivar resistente, exceto para as populações coletadas em Juranda, Ubiratã e La Paloma, em que não foi observada diferença significativa entre a cultivar resistente e suscetível. Em média, a redução na severidade da doença das inoculações em folhas da cultivar resistente foi de 28% em relação à suscetível. Foi observada variação na sensibilidade entre as populações de *P. pachyrhizi* ao fungicida protioconazol, onde os valores da CE50 variaram de 0,05 mg L⁻¹ a 1,04 mg L⁻¹ com média e mediana de 0,35 e 0,35 mg L⁻¹, respectivamente.

Palavras-chave: Folhas destacadas. Resistência genética. Inibidor da desmetilação.

OLIVEIRA, Karla Braga. **Monocyclic parameters of *Phakopsora pachyrhizi* populations in soybean rust resistant cultivar and sensitivity to prothioconazole.** 2019. 61 f. Dissertation (Master in Agronomy) - State University of Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the monocyclic components of different populations of *Phakopsora pachyrhizi* on a resistant and fungicide susceptible cultivar and to monitor the sensitivity of these populations to the fungicide prothioconazole using the soybean leaflet methodology. Samples of the *P. pachyrhizi* fungus were collected in the main producing regions of Paraná, Brazil and Canindeyú, Paraguay. The obtained uredospores were inoculated in leaves of cultivars TMG 7063 IPRO Inox[®] (resistant) and BMX Potência RR (susceptible) and incubated at 23°C ± 2°C. The epidemiological parameters evaluated were: incubation period and latency, type of lesion and severity at 15 days after inoculation. For sensitivity to prothioconazole, soybean leaves were treated with i.a at zero concentrations; 0.0625; 0.125; 0.25; 0.5; 1; 2; 4; 8 and 16 mg L⁻¹ and inoculated with the uredospores of the *P. pachyrhizi* samples from the different localities. After inoculation, the leaves were arranged in 15cm diameter Petri dishes with moistened filter paper and incubated in growth chambers at 23°C ± 2°C for 15 days for evaluation of rust severity. From the severity, it was determined the effective concentration that presents 50% of control efficiency (EC50) for each population. In the evaluation of the parameters, there was no change in the duration of the incubation period between the samples and cultivars, which was 7 days. TAN lesions were observed for inoculations on susceptible cultivar leaves, and RB lesions for resistance cultivar leaves. The latent period was superior in up to 4 days in leaves with resistance genes. The severity of the disease was lower in all samples inoculated on leaves of the resistant cultivar, except for the populations collected in Juranda, Ubiratã and La Paloma, where no significant difference was observed between resistant and susceptible cultivars. On average, the disease severity reduction of leaf inoculations of the resistant cultivar was 28% in relation to susceptible. Sensitivity variation was observed among *P. pachyrhizi* populations to the fungicide prothioconazole, where the EC50 values ranged from 0.05 mg L⁻¹ to 1.04 mg L⁻¹ with a mean and median of 0.35 and 0.35 mg L⁻¹, respectively.

Key words: Genetic resistance. Inhibitor of demethylation. Leaves detached.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** A) Folhas de soja cultivadas em casa de vegetação. B) Unidade amostral com folhas de soja destacadas previamente a inoculação com o fungo *Phakopsora pachyrhizi*..... 29
- Figura 2** Tipologia das lesões. A) Lesões TAN (“tanish”), de coloração palha, com pouca necrose e abundante esporulação. B) Lesões RB (“redishbrown”), de coloração marrom-avermelhada, com necrose extensa, pouca ou nenhuma e esporulação 30
- Figura 3** Severidade da ferrugem asiática da soja de amostras coletadas em diferentes regiões produtoras de soja na Safra 2017/18 inoculadas em cultivar resistente e suscetível..... 33
- Figura 4** Ensaio de sensibilidade. A) Folhas de soja cultivadas em casa de vegetação. B) Tratamento das folhas com o fungicida em diferentes concentrações C) Folha após tratamento com fungicida D) Unidade amostral com folhas de soja destacados previamente a inoculação com uredósporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi* 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Locais de origem das populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> – safra 2017/18	28
Tabela 2	Períodos de incubação e latência (dias) após inoculações do fungo <i>Phakopsora pachyrhizi</i> provenientes de diferentes localidades em cultivar de soja resistente e suscetível a ferrugem asiática. Londrina, 2018.....	31
Tabela 3	Locais de origem das populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> – safra 2017/18	42
Tabela 4	Sensibilidade de populações de <i>Phakopsora. Pachyrhizi</i> ao inibidor da desmetilação protioconazol, Safra 2017/18, Londrina, Paraná.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE	Concentração efetiva
FAS	Ferrugem asiática da soja
IDM's	Inibidores da desmetilação
IQo's	Inibidores da quinona oxidase
IQe's	Inibidores da quinona externa
ISDH's	Inibidores da succinato desidrogenase
MBC's	Metil benzimidazol carbamato
MID	Manejo Integrado de Doenças
PI	Planta introduzida
<i>Rpp</i>	<i>Resistance Phakopsora pachyrizi</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	A CULTURA DA SOJA	14
2.2	Ferrugem Asiática da Soja.....	14
2.2.1	Ciclo biológico e Epidemiologia	15
2.2.2	Sintomatologia.....	17
2.3	MEDIDAS DE CONTROLE.....	18
2.3.1	Controle cultural	18
2.3.2	Controle químico	19
2.3.2.1	Resistência a fungicidas.....	19
2.2.3	Controle genético.....	21
3	ARTIGO A: PARÂMETROS MONICÍCLICOS DE POPULAÇÕES DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i> EM CULTIVAR RESISTENTE À FERRUGEM	
3.1	RESUMO	23
3.2	ABSTRACT.....	24
3.3	INTRODUÇÃO	25
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.3	CONCLUSÕES	34
4	ARTIGO B: SENSIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i> AO FUNGICIDA PROTIOCONAZOL	
4.1	RESUMO	35
4.2	ABSTRACT.....	36
4.3	INTRODUÇÃO	37
4.4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.6	CONCLUSÕES	45

5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	47
	ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Na última safra 2017/18 a produção alcançou 116,995,9 milhões toneladas contra 114.075,3 milhões observado na safra passada, representando um aumento de 2,6% (CONAB, 2018).

Nesta safra 2018/19, a estimativa é de redução na produtividade, devido adversidades climáticas rigorosas nas principais regiões produtoras do país. De acordo com o último levantamento da Conab, a estimativa é que a produção seja de 113,5 milhões de toneladas, aproximadamente 4,9% inferior a safra passada (Conab, 2019).

Ao longo do cultivo, outros fatores podem impedir que a cultura da soja alcance todo seu potencial produtivo. Dentre os fatores de origem biótica, a ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd, se trata da doença de maior importância, devido a sua capacidade de comprometer totalmente a lavoura se medidas de controle não forem empregadas (YORINORI et al., 2004; HENNING, 2009).

Segundo dados do Consórcio Antiferrugem (CAF), desde seu surgimento no Brasil até a última safra 2017/18, o custo da doença encontra-se na ordem de US\$ 24 bilhões, correspondente ao uso de fungicidas acrescido a perdas em produtividade.

O controle da FAS demanda medidas integradas, como a preferência por variedades de ciclo precoce, semeadura antecipada, monitoramento da lavoura, vazão sanitário aliado a eliminação de plantas de soja voluntárias na entressafra, uso de cultivares resistentes e controle químico, mediante fungicidas (GODOY et al., 2018), sendo esta, a única medida executável após o estabelecimento da cultura, auxiliando diretamente na manutenção da produtividade (GODOY; CANTERI, 2004).

Nas últimas safras, reduções de sensibilidade do fungo *P. pachyrhizi* aos principais grupos químicos utilizados (triazóis, estrobirulinas e carboxamidas) foram registradas no Brasil, ocasionando a redução de eficiência e conseqüentemente falhas no controle da doença (GODOY et al., 2018). Alterações genéticas pontuais e específicas foram relacionadas a esta menor sensibilidade e resistência do fungo a fungicidas sítios-específicos destes grupos (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016; SIMÕES, 2017).

Diante do cenário supracitado e devido a baixa eficiência observada a campo no controle da doença, o monitoramento da sensibilidade de populações do fungo *P. pachyrhizi* aos principais fungicidas utilizados para controle da FAS é importante, assim como a adoção de outras medidas de manejo, como a resistência genética.

O uso de genótipos resistentes a FAS, quando disponível, pode auxiliar no

retorno da eficiência de controle da doença e reduzir a pressão de seleção para resistência do fungo a fungicidas (SEIXAS et al., 2018).

Seis genes dominantes que conferem resistência à FAS já foram identificados, denominados *Rpp1* (MCLEAN; BYTH, 1980), *Rpp2* (BROMFIELD; HARTWIG 1980), *Rpp3* (BROMFIELD; MELCHING 1982), *Rpp4* (HARTWIG, 1986), *Rpp5* (GARCIA et al., 2008), *Rpp6* (LI et al., 2012). Dois alelos de resistência alternativa (*Rpp1?* e *Rpp1-b*) também foram identificados no locus *Rpp1* (RAY et al., 2009; CHAKRABORTY et al. 2009). No entanto, a resistência conferida por estes genes tem sido superada na natureza devido à grande capacidade evolutiva e variabilidade genética de *P. pachyrhizi* (GOELLNER et al., 2010; TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

Sabendo dessa variabilidade genética do fungo *P. pachyrhizi*, o monitoramento da resposta de cultivares comerciais com resistência a FAS sobre populações do fungo de diferentes localidades é importante para o planejamento estratégico do manejo da ferrugem asiática de soja.

O objetivo do estudo foi i) avaliar os parâmetros monocíclicos de *Phakopsora pachyrhizi* de diferentes localidades inoculadas em uma cultivar resistente e outra suscetível. ii) Monitorar a sensibilidade destas populações ao fungicida prothioconazol.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

A soja *Glycine max* (L.) Merr, considerada a principal commodity agrícola produzida atualmente, desempenha um papel importante no contexto da economia mundial. Sua matéria prima pode ser utilizada em diferentes segmentos da cadeia produtiva, como na produção de proteína animal e humana, em setores da agroindústria, e também como alternativa ecológica na fabricação de biocombustíveis (HIKAKURI; LAZZAROTTO, 2014; CONAB, 2018).

De origem asiática, as plantas desta leguminosa foram introduzidas no Brasil em 1882, no estado da Bahia, sendo consolidada a partir da década de 60 como o grão mais produzido no país. Na última safra 2017/18 a produção brasileira atingiu cerca de 116.995,9 milhões de toneladas contra 114.075,3 milhões observado na safra passada, representando um aumento de 2,6% (CONAB, 2018).

Nesta safra 2018/19, a estimativa é de redução na produtividade, em função das adversidades climáticas rigorosas em alguns estados, como Mato Grosso do Sul, Goiás e Paraná. Segundo o último levantamento da Conab publicado em março, a estimativa é que a produção seja de 113,5 milhões de toneladas, aproximadamente 4,9% inferior a safra passada (CONAB, 2019).

Neste contexto, outros fatores estão envolvidos para que a cultura não alcance todo seu potencial produtivo ao longo dos anos, sobretudo relacionado a problemas fitossanitários, como a incidência de doenças (HENNING, 2009).

Na cultura da soja são registradas mais de 40 doenças, causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus (ALMEIDA et al., 2005; HENNING, 2009). A ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd, é considerada a mais importante, em razão de sua agressividade e potencial de danos produtivos (HENNING, 2009).

2.2 FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA

A FAS foi descrita pela primeira vez no Japão em 1902 e posteriormente, por volta de 1914, surgiu de forma epidêmica em diversos países do sudeste da Ásia (HENNING; GODOY, 2006). No continente africano, foi detectada inicialmente em 1980, na

cidade de Togo, parte ocidental da África. Desde então, a doença está presente em países como Zimbábue, Uganda, Zâmbia, Kenya e Ruanda (FIALLOS, 2011). Em 2001, a FAS foi relatada causando perdas consideráveis na África do Sul (CALDWELL; MCLAREN, 2004; PRETORIUS et al., 2001). Neste mesmo ano, na América do Sul, o primeiro foco de ferrugem asiática foi detectado no Paraguai, e em seguida no Brasil. Após sua detecção, a ferrugem asiática se disseminou por todo o território brasileiro, e também na Bolívia e parte da Argentina (YORINORI, 2004). Em 2004 foi relatada na Colômbia e em novembro deste mesmo ano foi detectada nos Estados Unidos, na região sul do país (SCHNEIDER et al., 2005) à beira do Golfo do México, sendo posteriormente detectada na Flórida, Alabama, Arkansas, Mississippi, Missouri e Carolina do Sul (JORGE, 2014).

No presente, a doença é encontrada em todos os países produtores de soja do mundo, em regiões com latitudes e condições climáticas diversas. Os danos observados em decorrência da FAS variam de 10% a até 90% nas situações mais críticas (SINCLAIR; HARTMAN, 1999; YORINORI et al., 2005; HARTMAN et al., 2015), podendo chegar a 100% se medidas de controle não forem adotadas (YORINORI et al., 2004).

Os maiores percentuais de danos são observados na América do Sul, onde a soja é a cultura que ocupa a maior área cultivada. No Brasil, a ferrugem está presente em todos os estados produtores de soja, exceto em Roraima (CAF, 2018), provavelmente devido a época de semeadura diferenciada do restante do País e condições climáticas não favoráveis à sobrevivência e disseminação do fungo.

Segundo o Consórcio Antiferrugem (CAF), criado em 2004 como estratégia de monitoramento da dispersão do fungo e transferência de informação e tecnologia, desde seu surgimento até a safra 2017/18 o custo observado da doença está estimado em US\$ 24 bilhões, relativos ao uso de fungicidas somados as perdas em produtividade, aproximadamente US\$ 2 bilhões por safra (CAF, 2018).

2.2.1 Ciclo Biológico e Epidemiologia

Em razão de seus requerimentos nutricionais, *P. pachyrhizi* é classificado como um fungo biotrófico, também conhecido como parasita obrigatório, ou seja, necessita dos tecidos do hospedeiro para sua sobrevivência (GODOY et al., 2016a). O ciclo de vida do patógeno inicia-se quando os uredósporos assexuais, provenientes de plantas hospedeiras ou voluntárias, disseminam-se pelo vento, água ou outras fontes de dispersão, atingindo as folhas de soja na face superior ou inferior (ZAMBOLIM, 2006).

Para o desenvolvimento da doença são relatados o mínimo de 6 horas de molhamento para que os uredósporos iniciem a germinação e penetração na epiderme da folha (MELCHING et al., 1989; MAGNANI ZAMBENEDETTI et al., 2007). A faixa de temperatura pode variar de 7 a 28°C, sendo considerada uma faixa ideal entre 15 e 25°C (MARCHETTI et al., 1976; ALVES, 2006). Resultados análogos foram relatados por Danelli e Reis (2016), em que temperatura ideal para a infecção foi de 20°C a 25°C e pelo menos 6 a 8 horas de umidade contínua das folhas. Quantificando o efeito da temperatura na germinação e formação de apressórios do fungo, Alves, (2007) observou que temperaturas constantes maiores ou iguais a 35°C impedem a colonização de *P. pachyrhizi*. O processo de colonização do patógeno acontece nos espaços intercelulares do tecido infectado e a formação de urédias ocorre por uma agregação de hifas (MAGNANI ZAMBENEDETTI et al., 2007).

Zambenedetti et al. (2007) observou que o período de incubação do patógeno, (tempo após a deposição dos esporos nas folhas e expressão dos sintomas iniciais da doença) foi de 6 dias e o período latente, (tempo entre a deposição dos esporos nas folhas e início da reprodução através da produção de esporos), variou de 6 a 12 dias. Anteriormente, em um experimento conduzido na Austrália foi observado períodos de 14 dias de 7 a 17° C, 9 dias de 17 a 27°C e 11 dias de 22 a 32°C (KOCHMAN, 1979).

O período latente é um dos componentes da resistência das plantas que mais influencia a velocidade de crescimento da epidemia, sendo muito utilizado para classificar materiais quanto a níveis de resistência. Conforme citado acima, esse parâmetro pode variar de acordo com a temperatura (DANELLI; REIS, 2016).

Para doenças policíclicas, como a FAS, quanto maior o tempo decorrido entre a inoculação e a reprodução do fungo, menor o número produzido de gerações do patógeno por ciclo do hospedeiro. Da mesma forma que, quanto mais curto for o período de latência, maior será o número de ciclos e conseqüentemente, a severidade e velocidade da epidemia. Diante disso, esse parâmetro deve ser avaliado em ambiente controlado, utilizando plantas com a mesma idade (AMORIM; PASCHOLATI, 2018).

Os uredósporos de *P. pachyrhizi* oriundos da infecção primária irão, em condições favoráveis de temperatura e molhamento foliar, originar novas infecções dentro da mesma estação de cultivo, e servirão como fonte de inóculo direta para outras lavouras de soja (ZAMBOLIM, 2006).

Na ausência da cultura, o fungo também sobrevive em plantas voluntárias (soja tiguera ou guaxa) ou em hospedeiros alternativos (CAF, 2018). Diferente do que ocorre para a maioria das ferrugens, que comumente apresentam estreita gama de hospedeiros, *P.*

pachyrhizi infecta mais de 95 espécies de plantas de mais de 42 gêneros (BROMFIELD, 1984; RYTTER et al., 1984; ONO et al., 1992).

2.2.2 Sintomatologia

Os sintomas da FAS podem ocorrer em qualquer estágio do desenvolvimento da cultura. Normalmente são observados na base e na borda dos folíolos das folhas do terço médio inferior da planta, nas folhas mais velhas do dossel, devido ao microclima favorável desta região para germinação, penetração e infecção dos tecidos foliares pelo patógeno (SINCLAIR & HARTMAN, 1999).

São observados três tipos de reações em resposta da planta ao patógeno, sendo: resposta imune (IR), sem nenhuma lesão visível, castanho clara com muitos soros uredinais e abundante esporulação (TAN – Tanish), que caracterizam genótipos suscetíveis à ferrugem ou castanho avermelhada com poucos soros uredinais e pouca ou nenhuma esporulação (RB - Reddish Brown), característica atribuída a genótipos resistentes a FAS (MILES et al., 2011).

Em interações suscetíveis, os sintomas iniciais são caracterizados por pequenos pontos com menos de 1 mm de diâmetro, de coloração levemente mais escura que o tecido sadio. Com o desenvolvimento da infecção, são observadas lesões de coloração pardo-avermelhada na face superior (adaxial) das folhas e na face inferior (abaxial) as lesões variam de castanho-clara a castanho-escura. Cada lesão produz uma ou mais urédias, que envolvem uma massa de uredósporos produzida no interior do tecido da folha. As lesões na superfície foliar tendem para o formato angular e podem atingir 2 a 5 mm de diâmetro, podendo ser encontrada em outras partes da planta, como pecíolos, vagens e caules. (SINCLAIR; HARTMAN, 1999; ALMEIDA et al, 2005).

Na medida em que a quantidade de lesões aumenta, ocorre o amarelecimento generalizado das folhas e, posteriormente, desfolha precoce, podendo ser potencializada em condições favoráveis ao patógeno. Isso leva a redução do número de vagens por planta, número de grãos por vagem, tamanho e peso final dos grãos, afetando diretamente a produtividade final da cultura (YANG et al., 1991; REIS; BRESOLIN; CARMONA, 2006).

2.3 MEDIDAS DE CONTROLE

Várias medidas conjuntas de manejo são recomendadas para que se atinja o controle efetivo da doença, sendo o controle químico a mais tradicional (GODOY et al., 2016b), e único recurso disponível após o estabelecimento da cultura no campo. Antes disso, as medidas são baseadas no manejo de fontes de inóculo do fungo.

2.3.1 Controle cultural

A cada ano vem sendo registrado o aumento do inóculo inicial do fungo *P. pachyrhizi*, em decorrência a sua sobrevivência na entressafra (MINCHIO et al., 2016; 2018). Dessa forma, as recomendações iniciam-se com a adoção do vazio sanitário, como forma de evitar a sobrevivência do fungo no hospedeiro e facilitar o manejo da doença (SEIXAS; GODOY, 2007). O manejo da FAS em lavouras semeadas tardiamente ou em cultivares de ciclo longo apresenta dificuldade, assim, os produtores são orientados a efetuar a semeadura o mais cedo possível, dentro da época recomendada para cada região, priorizando a utilização de cultivares de ciclo precoce (YORINORI; LAZZAROTTO, 2004; GODOY et al., 2018).

Seguindo os conceitos do manejo integrado de doenças (MID), o monitoramento da lavoura, visando detectar a presença do patógeno e início do desenvolvimento da doença é uma medida importante e necessária (REIS, REIS, ZANATTA, 2018), principalmente, no atual cenário, onde se busca recuperar o controle eficiente da FAS e a menor exposição dos fungicidas sítio-específicos à pressão de seleção para resistência.

Esse processo pode ser feito através de coletas e observações periódicas (diárias ou semanais) de folhas do terço inferior e/ou médio das plantas de soja (GODOY et al., 2017a). Outros métodos de monitoramento também podem ser eventualmente empregados, como o uso de armadilhas ou coletores de esporos, que atuam coletando esporos transportados pelo vento, confirmando a presença do patógeno antes do desenvolvimento da doença (SEIXAS et al., 2018).

O processo de monitoramento supracitado é fundamental para tomada de decisão da primeira aplicação com fungicidas para o controle da FAS. Esse processo deve ser estendido até o final do ciclo da cultura, visando direcionar as demais pulverizações, se necessárias.

2.3.2 Controle químico

A utilização de fungicidas tem sido a prática mais utilizada no controle da FAS desde o primeiro caso da doença no Brasil. Comumente, é executado com aplicações de fungicidas iniciando no estágio fenológico R1 até R5.5 (GODOY et al., 2018), priorizando sempre a rotação de fungicidas e misturas com diferentes modos de ação entre as aplicações. Os três tipos de fungicidas sítio-específicos utilizados pertencem ao grupo dos inibidores da desmetilação (IDM, “triazóis”), inibidores da quinona externa ou oxidase (IQe, IQo “estrobilurinas”) e os inibidores da succinato desidrogenase (ISDH, “carboxamidas”) (GODOY et al., 2016c).

Desde a safra 2007/08, reduções na eficiência dos fungicidas IDMs na região do Cerrado e Sul do Brasil, vem sendo observadas em ensaios de monitoramento. A partir disso, as recomendações para controle da ferrugem evoluíram para utilização somente de misturas formuladas de IDMs e IQos (GODOY, 2012; XAVIER et al., 2015).

Na safra de 2013/14 foram registradas as primeiras misturas de fungicidas IQo e ISDH para a cultura da soja. No entanto, já na safra 2016/17, o FRAC-BR (Fungicide Resistance Action Committee), comitê que monitora a resistência de fungos a fungicidas, alertou para redução de eficiência de algumas destas moléculas ISDHs em áreas com histórico de uso intensivo e condições de alta pressão da doença, corroborando com os resultados obtidos nos ensaios de monitoramento feitos pelo Consórcio Antiferrugem (CAF).

De acordo com a última circular técnica publicada pela Embrapa Soja, as recomendações anti-resistência para o manejo da FAS incluem não utilizar mais que duas aplicações do mesmo produto em sequência e realizar no máximo duas aplicações de produtos contendo ISDH por cultivo (GODOY et al., 2018).

2.3.2.1 Resistência de fungos a fungicidas

A emergência de populações de fungos menos sensíveis ou resistentes está diretamente relacionada à adoção de fungicidas com mesmo ingrediente ativo ou modo ação em aplicações sequenciais e/ou na mesma safra (BRENT; HOLLomon, 2007).

Populações de *P. pachyrhizi* menos sensíveis aos três tipos de sítio-específicos supracitados no tópico anterior foram detectadas nos últimos anos nos estudos de monitoramento e associadas a alterações pontuais e específicas, como mutações na enzima 14- α -desmetilase dependente do citocromo P450 (CYP51) que codifica a proteína alvo dos

IDMs, mutação na posição F129L do citocromo “b” para IQos e mutações na subunidade C na posição 186F para ISDHs (FRAC, 2017; KLOSOWSKI et al., 2016; SCHMITZ et al., 2014; SIMÕES et al., 2017).

Dentre os mecanismos envolvidos neste processo, os principais são as alterações do sítio alvo devido à mutação no gene que o codifica, a redução da absorção ou aumento do efluxo do produto, a detoxificação da molécula, a falta de conversão para o composto ativo, a compensação por meio do aumento da produção da enzima alvo e o desenvolvimento de vias metabólicas alternativas que não incluem o sítio alvo do fungicida, sendo o primeiro a forma mais comum de resistência e o grande problema das moléculas de ação específica (BRENT; HOLLOMON, 2007).

Como estratégia para minimizar o atual cenário de resistência do fungo e aumentar a eficiência de controle da doença, fungicidas “multissítios”, que atuam em diversos mecanismos bioquímicos do fungo vem sendo recomendados principalmente em misturas com fungicidas de ação específica, nos programas de aplicações para o controle da FAS (FRAC, 2017).

A resistência ou menor sensibilidade de *P. pachyrhizi* vem sendo sinalizada por meio de estudos “*in vitro*” de sensibilidade do fungo aos ingredientes ativos registrados para o controle da doença (KOGA et al., 2011; SCHMITZ et al., 2014; XAVIER et al., 2015; KLOSOWSKI et al., 2016; SIMÕES et al., 2018). Em geral, o parâmetro de avaliação é a concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle (CE_{50}), utilizado para determinar o grau de toxicidade de uma substância, que representa a concentração de um composto químico onde 50% de seu efeito máximo é observado (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). Dessa forma, o incremento no valor de CE_{50} de um fungicida eventualmente está relacionado a redução na sensibilidade do fungo ao mesmo (REIS; FORCELINI; REIS, 2007).

Estudos de sensibilidade a fungicidas permitem verificar se as causas da ineficiência de controle estão relacionadas a resistência ou menor sensibilidade do fungo, como também se as estratégias de manejo anti-resistência recomendadas estão apresentando bons resultados (SILVA JUNIOR; BEHLAU, 2018)

2.3.3 Controle genético

A busca por reduzir os custos de produção e impactos ambientais consolida a resistência genética como opção mais desejada entre as estratégias utilizadas para controle de doenças de plantas em diversos patossistemas (CAMARGO, 2018).

Seis genes dominantes que conferem resistência à FAS já foram identificados, denominados *Rpp1* (MCLEAN; BYTH, 1980), *Rpp2* (BROMFIELD; HARTWIG 1980), *Rpp3* ((BROMFIELD; MELCHING 1982),), *Rpp4* (HARTWIG, 1986), *Rpp5* (GARCIA et al., 2008), *Rpp6* (LI et al., 2012). Dois alelos de resistência alternativa (*Rpp1?* e *Rpp1-b*) também foram identificados no locus *Rpp1* (RAY et al., 2009; CHAKRABORTY et al. 2009). No entanto, a resistência conferida por estes genes tem sido suplantada na natureza devido à grande capacidade evolutiva desse patógeno (GOELLNER et al., 2010).

Quando a doença foi registrada no Brasil, em 2001, todos os genes de resistência até então identificados eram efetivos contra o fungo. No entanto, dois anos depois, a resistência das plantas introduzidas PI200492 e PI462312, que apresentam os genes *Rpp1* e *Rpp3* foi superada por um isolado do fungo coletado no Mato Grosso (YORINORI, 2005; ARIAS, 2008; GARCIA et al. 2008). Os genes *Rpp2*, *Rpp4* e *Rpp5* permaneceram efetivos contra a doença, porém demonstraram variação de sensibilidade no país (MORALES, 2012; KATO, 2017).

Yamanaka et al. (2010) avaliando a resposta de genótipos de soja inoculados com três populações de *P. pachyrhizi* (duas oriundas do Brasil e uma do Japão) observaram que as populações brasileiras diferiram entre si quanto a virulência e em relação à população de isolados do Japão. Apenas dois alelos de resistência, *Rpp4* (presente na variedade PI459025) e *Rpp5* (presente na variedade Shiranui), conferiram resistência às três populações avaliadas. Estudos realizados em áreas produtoras de soja em todo o mundo demonstraram que o gene *Rpp6* foi relativamente resistente à FAS, no entanto, reações suscetíveis também foram observadas (KATO, 2017).

No mercado nacional de cultivares com genes de resistência a ferrugem, há duas tecnologias disponíveis comercialmente: tecnologia Inox® da TMG Tropical Melhoramento Genética (TMG) e tecnologia Shield® da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Soja). O resultado da interação entre estes materiais resistentes e *P. pachyrhizi*, é caracterizado como uma reação de hipersensibilidade da planta ao fungo, com lesões denominadas RB (reddish-brown). Como o patógeno necessita de células vivas para

sobreviver e se multiplicar, com a morte dessas células, o crescimento do patógeno é limitado ao local de infecção (ZAMBENEDETTI et al., 2007).

Devido a alta variabilidade genética do fungo *P. pachyrhizi* (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012), é importante o constante monitoramento da eficácia destes materiais, bem como recomenda-se que seu uso deva sempre estar associado à fungicidas, compondo um sistema de manejo.

3 ARTIGO A: PARÂMETROS MONOCÍCLICOS DE POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* EM CULTIVAR DE SOJA RESISTENTE À FERRUGEM

3.1 RESUMO

O declínio na eficiência dos principais grupos de fungicidas registrados para o controle da ferrugem asiática da soja tem tornado mais importante a utilização conjunta de ferramentas de controle, como o uso de cultivares resistentes. O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros monocíclicos de populações de *Phakopsora pachyrhizi* sobre cultivares resistente e suscetível ao fungo. Amostras de folhas naturalmente infectadas foram coletadas nas principais regiões produtoras do Estado do Paraná, Brasil e no Departamento do Canindeyú, Paraguai. Os uredósporos obtidos foram inoculados em folhas destacadas de soja das cultivares TMG 7063 IPRO Inox® (resistente) e BMX Potência RR (suscetível) e incubadas a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Os parâmetros avaliados foram: período de incubação e latência, tipo de lesão e severidade aos 15 dias após inoculação. Não houve variação na duração do período de incubação entre as amostras e cultivares, que foi de 7 dias. Foram observadas lesões do tipo TAN para inoculações em folhas da cultivar suscetível, e lesões RB para folhas da cultivar com resistência. O período latente foi superior em até 4 dias em folhas com genes de resistência. A severidade da doença foi inferior em todas as amostras inoculadas em folhas da cultivar resistente, exceto para as populações coletadas em Juranda, Ubitatã e La Paloma, em que não foi observada diferença significativa entre a cultivar resistente e suscetível. Em média, a redução na severidade da doença das inoculações em folhas da cultivar resistente foi de 28% em relação à suscetível. A resposta da cultivar resistente sobre os parâmetros monocíclicos avaliados no presente estudo foi relacionada com a população do fungo, podendo variar de acordo com região geográfica das mesmas.

PALAVRAS-CHAVE: Ferrugem asiática da soja. Resistência vertical. Período latente. Severidade.

ARTICLE A: MONOCYCLIC PARAMETERS OF POPULATIONS OF *Phakopsora pachyrhizi* ON RUST RESISTANT SOYBEAN CULTIVAR.

3.2 ABSTRACT

The decline in the efficiency of the main groups of fungicides registered for the control of soybean Asian rust has made more important the joint use of control tools, such as the use of resistant cultivars. The objective of this study was to evaluate the monocyclic parameters of *Phakopsora pachyrhizi* populations on resistant and fungus susceptible cultivars. Samples of naturally infected leaves were collected in the main producing regions of the State of Paraná, Brazil and in the Department of Canindeyú, Paraguay. The uredospores obtained were inoculated on leaves of soybean cultivars TMG 7063 IPRO Inox® (resistant) and BMX Potência RR (susceptible) and incubated at $23^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$. The evaluated parameters were: incubation period and latency, lesion type and severity at 15 days after inoculation. There was no change in the duration of the incubation period between samples and cultivars, which was 7 days. TAN lesions were observed for inoculations on susceptible cultivar leaves and RB lesions for resistance cultivar leaves. The latent period was higher in up to 4 days in leaves with resistance genes. The severity of the disease was lower in all samples inoculated on leaves of the resistant cultivar, except for the populations collected in Juranda, Ubiratã and La Paloma, where no significant difference was observed between resistant and susceptible cultivars. On average, the disease severity reduction of leaves inoculations of the resistant cultivar was 28% in relation to susceptible. The response of the resistant cultivar to the monocyclic parameters evaluated in the present study was related to the fungus population and may vary according to the geographical region of the fungus.

KEYWORDS: Asian soybean rust. Vertical resistance. Latent period. Severity.

3.3 INTRODUÇÃO

Características epidemiológicas e de sobrevivência consolidam a ferrugem asiática, causada pelo fungo biotrófico *Phakopsora pachyrhizi* Syd & Syd, como principal doença e fator limitante de rendimento da cultura da soja. Em condições favoráveis ao seu desenvolvimento e na ausência de medidas de controle, a doença é responsável por reduções de produtividade superiores a 90% (YORINORI et al., 2005).

Para o controle da doença, recomenda-se o manejo integrado, envolvendo todos os princípios e medidas de controle disponíveis. Dentre todas, o controle químico pode ser considerado a medida mais tradicional, sendo comumente realizado com o uso de fungicidas sítio-específicos de acordo com o modo de ação, como os inibidores da desmetilação (IDMs, “triazóis”), os inibidores da quinona externa (IQes, “estrobilurinas”) e os inibidores da succinato desidrogenase (ISDHs, “carboxamidas”) (GODOY et al., 2017a).

No cenário atual da ferrugem no Brasil, em que populações de *P. pachyrhizi* menos sensíveis a estes três tipos de sítio-específicos já foram detectadas (FRAC, 2017; KLOSOWSKI et al., 2015; SCHMITZ et al., 2014; SIMÕES et al., 2017), a adoção de medidas adicionais de controle, como a resistência genética, se tornam importantes.

Já foram identificados oito alelos em seis locos de resistência: *Rpp1* identificado na PI200492 (MCLEAN; BYTH, 1980), *Rpp1-b* na PI594538A (CHAKRABORTY et al., 2009), *Rpp1?* na PI587886 e PI587880A (RAY et al., 2009), *Rpp2* na PI230970 (BROMFIELD; HARTWIG, 1980), *Rpp3* na PI462312 (BROMFIELD; MELCHING, 1982), *Rpp4* na PI459025 (HARTWIG, 1986), *Rpp5* (GARCIA et al., 2008) e *Rpp6* (LI et al., 2012).

A resistência conferida por estes genes, também denominada raça-específica, está geralmente associada ao paradigma da teoria gene-a-gene proposto por Flor (1956; 1971), onde a resposta da resistência do genótipo na incidência e severidade da doença pode variar de acordo com a variabilidade genética das populações, não sendo então, efetiva contra todas as raças do patógeno.

Mesmo não eliminando a necessidade de aplicação de fungicidas, os materiais disponíveis com resistência a FAS atuam atrasando a evolução da doença no campo, gerando maior estabilidade de produção, principalmente quando as condições climáticas são desfavoráveis à aplicação de fungicidas (MELO, 2018). Do ponto de vista epidemiológico, o atraso inicial pode ser considerado determinante para reduzir os possíveis danos causados pela doença dentro da estação de cultivo (RIOS, et al., 2018).

Diversos estudos relatam que genótipos com resistência a FAS não têm sido estáveis em diferentes regiões do mundo. No Brasil, materiais com os genes *Rpp1* e *Rpp3* só foram efetivos contra a ferrugem nos dois primeiros anos após o aparecimento da doença (YORINORI, 2008), e os genes *Rpp2*, *Rpp4* e *Rpp5* apresentaram variação de sensibilidade no país (MORALES, 2012).

O monitoramento de materiais comerciais que possuem resistência à ferrugem pode auxiliar no planejamento estratégico do manejo integrado da doença, além de fornecer informações importantes aos programas de melhoramento.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros monocíclicos de populações de *Phakopsora pachyrhizi* sobre uma cultivar resistente e uma suscetível a ferrugem asiática da soja.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Durante a safra 2017/18, foram coletadas amostras de populações do fungo *P. pachyrhizi* presentes em folhas de soja naturalmente infectadas em 17 locais, sendo 12 no Estado do Paraná - Brasil e 5 no Departamento do Canindeyú - Paraguai (Tabela 1).

Tabela 1. Locais de origem das populações de *Phakopsora pachyrhizi* – safra 2017/18.

Localidades	Coleta	FAS** (%)	Coordenadas geográficas
Engenheiro Beltrão, Paraná - BR	26/01/2018	10%	23°47'60.0"S 52°14'56.1"W
Campo Mourão, Paraná - BR	26/01/2018	30%	24°00'33.9"S 52°22'41.7"W
Juranda, Paraná - BR	26/01/2018	40%	24°25'53.5"S 52°51'13.1"W
Ubiratã, Paraná - BR	26/01/2018	55%	24°32'26.3"S 52°58'31.6"W
Nova Aurora, Paraná - BR	25/01/2018	80%	24°31'40.6"S 53°14'53.5"W
Cafelândia, Paraná - BR	25/01/2018	85%	24°37'12.8"S 53°18'36.5"W
Corbélia, Paraná - BR	25/01/2018	90%	24°46'53.3"S 53°17'23.3"W
Cascavel, Paraná - BR	26/01/2018	80%	24°54'15.3"S 53°30'27.2"W
Toledo, Paraná - BR	25/01/2018	65%	24°42'57.9"S 53°41'23.3"W
Céu Azul, Paraná - BR	25/01/2018	75%	25°08'48.7"S 53°51'55.8"W
Medianeira, PR - Brasil	26/01/2018	65%	25°16'20.9"S 54°04'19.8"W
São M. do Iguacu, PR - Brasil	25/01/2018	70%	25°22'20.3"S 54°14'53.2"W
La Paloma, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°07'00.9"S 54°38'26.3"W
Katueté, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°17'16.9"S 54°44'13.7"W
Yhovy, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°18'36.3"S 55°00'19.2"W
Curuguaty, Canindeyú - PY	01/02/2018	20%	24°27'40.5"S 55°47'08.0"W
Villa Ygatimí, Canindeyú - PY	01/02/2018	20%	24°05'11.8"S 55°35'40.1"W

*FAS= Severidade de ferrugem asiática da soja observada nas folhas no momento da coleta.

As amostras foram coletadas durante o estágio fenológico R5, sendo 15 folhas de soja consideradas uma amostra composta e representativa de cada localidade. Feito isso, as mesmas foram acondicionadas em placas de 15cm de diâmetro com papel filtro umedecido com água destilada, identificadas e posteriormente conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, PR.

O ensaio foi desenvolvido seguindo a metodologia de folhas destacadas de soja proposta por Wiebke-Strohm et al. (2015). A cultivar comercial com resistência a FAS utilizada foi a TMG 7063 IPRO Inox® e como controle suscetível foi utilizado a cultivar BMX Potência RR.

As duas cultivares de soja foram semeadas em casa de vegetação livres do patógeno, em substrato comercial estéril acondicionados em bandejas de 50 x 20cm. As folhas foram coletadas com até três semanas após a semeadura, no estágio de desenvolvimento V1. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 17, com quatro repetições, sendo os níveis representados pelas cultivares de soja (resistente e suscetível) e os locais de origem das amostras. A unidade experimental foi composta por uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro contendo cinco folhas de soja dispostas com a face abaxial voltada para cima, sobre papel filtro saturado com água destilada (Figura 1).



Figura 1. A) Folhas de soja cultivadas em casa de vegetação. B) Unidade amostral com folhas de soja destacadas previamente a inoculação com o fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Foto: Próprio autor

Previamente à instalação do ensaio, as amostras coletadas em diferentes localidades foram inoculadas em folhas livres de ferrugem da cultivar suscetível BMX Potência RR, com o objetivo de padronização da idade do inóculo. Após o início da esporulação das amostras, foi realizada a varredura das folhas com auxílio de um pincel, para liberação dos uredósporos. A viabilidade dos mesmos foi previamente aferida de acordo com a porcentagem de germinação.

A concentração das suspensões foi de 3×10^4 uredósporos mL^{-1} , determinada com auxílio da câmara de 'Neubauer' em cada amostra. Para as inoculações foi adicionado as suspensões Tween® 20 ($0,1 \text{ mL L}^{-1}$). A face abaxial das folhas das duas cultivares foi inoculada borrifando-se $0,3 \text{ mL}$ da suspensão por folha com auxílio de borrifador manual. Após esse processo, as placas foram mantidas no escuro durante 48 horas e transferidas em

seguida para câmara de crescimento, com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotoperíodo.

Os parâmetros avaliados foram período de incubação, período latente, tipo de lesão e severidade da ferrugem nas folhas. O período de incubação (tempo entre a inoculação e identificação de sintomas) foi determinado com base na identificação dos sintomas em 50% das folhas. Para determinação do período latente (tempo entre a inoculação e a produção de esporos) as folhas foram avaliadas a partir do sétimo dia após a inoculação, observando-se a presença de uredósporos com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de 20x. O final do período latente foi determinado apenas quando 50% das folhas de cada unidade experimental (pelo menos 3 folhas por placa) iniciaram a produção de esporos. A tipologia das lesões foi classificada de acordo com a metodologia descrita por Bromfield (1984): TAN (“tanish”), de coloração palha, com pouca necrose; RB (“redish brown”), de coloração marrom-avermelhada, com necrose extensa; e MX (“mixed”), para quando se observa a presença dos dois tipos de lesão na mesma folha (Figura 2).

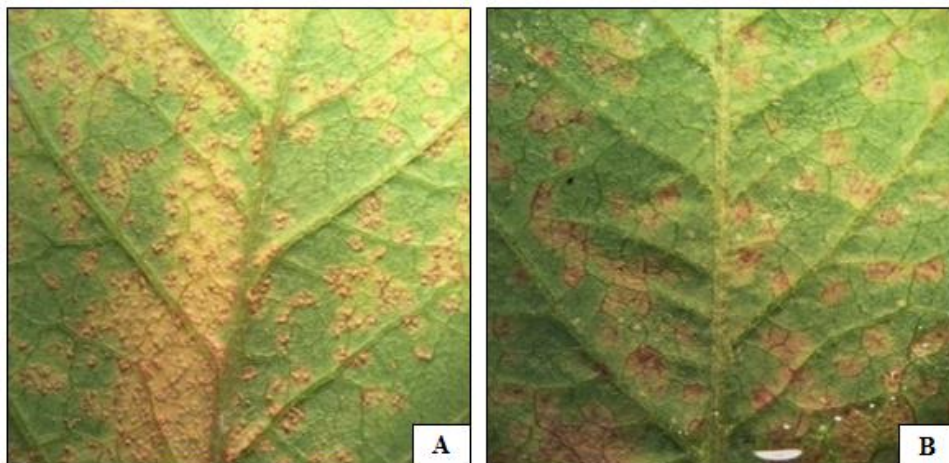


Figura 2. Tipologia das lesões. A) Lesões TAN (“tanish”), de coloração palha, com pouca necrose e abundante esporulação. B) Lesões RB (“redishbrown”), de coloração marrom-avermelhada, com necrose extensa, pouca ou nenhuma esporulação. Foto: Próprio autor

Aos 15 dias após a inoculação, a severidade da doença foi avaliada de forma visual com auxílio da escala diagramática de ferrugem asiática da soja (GODOY, KOGA E CANTERI, 2006).

Os valores de severidade foram submetidos aos pressupostos da análise de variância (normalidade e homocedasticidade) e analisados via anova e teste F. As médias de severidade das cidades foram agrupadas via teste Scott-Knott, ao nível de significância de 5%.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O período de incubação foi de sete dias e não apresentou diferença entre as amostras das diferentes localidades, para ambas as cultivares. Na classificação do tipo de lesão, foram observadas lesões do tipo TAN para inoculações em folhas da cultivar suscetível, e lesões RB para folhas da cultivar com resistência. Os resultados do período latente apresentaram diferenças entre as amostras inoculadas em folhas da cultivar resistente e suscetível e entre os locais de coleta (Tabela 2).

Tabela 2. Períodos de incubação e latência (dias) após inoculações de *Phakopsora pachyrhizi* provenientes de diferentes localidades em cultivar de soja resistente e suscetível a ferrugem asiática. Londrina, 2018.

Localidades	Período de incubação		Período de latência		≠
	Resistente	Suscetível	Resistente	Suscetível	
Engenheiro Beltrão-BR	7	7	13	10	3
Campo Mourão-BR	7	7	13	10	3
Juranda-BR	7	7	12	11	1
Ubiratã-BR	7	7	14	11	3
Nova Aurora-BR	7	7	14	11	3
Cafelândia-BR	7	7	13	10	3
Corbélia-BR	7	7	14	11	3
Cascavel-BR	7	7	14	12	2
Toledo-BR	7	7	15	13	2
Céu Azul-BR	7	7	14	10	4
Medianeira-BR	7	7	14	12	2
São M. do Iguçu-BR	7	7	13	10	3
La Paloma-PY	7	7	13	13	0
Katueté-PY	7	7	13	12	1
Yhovy-PY	7	7	14	10	4
Curuguaty-PY	7	7	13	9	4
Villa Ygatimí-PY	7	7	14	10	4
Média	7	7	13	10	

* ≠ Diferença em dias do período latente de *P. pachyrhizi* em cultivar resistente e suscetível a FAS.

Em geral, nas inoculações em folhas da cultivar resistente, a esporulação (final do período latente) iniciou 1 a 4 dias após a esporulação observada nas inoculações em folhas suscetíveis ao fungo e apresentou menor número de lesões e baixos níveis de produção de esporos. Comportamento semelhante foi observado por Zambenedetti (2007) que, avaliando parâmetros monocíclicos e o progresso da ferrugem asiática em diferentes

genótipos de soja, observou período latente superior no material com o gene de resistência *Rpp4* (PI 459025), além do menor valor de AACPI (área abaixo da curva de progresso da incidência) e AACPS (área abaixo da curva de progresso da severidade).

A ferrugem asiática da soja é uma doença policíclica, em que a alteração de quaisquer dos parâmetros monocíclicos como período de incubação e período latente influenciam diretamente o progresso da doença (PARLEVLIET, 1979). Dessa forma, o aumento de apenas um dia, contribui consideravelmente para a redução da quantidade de ciclos reprodutivos do fungo (VALLAVIELLE-POPE et al., 2000).

No presente estudo, foi observada ampla variação no período de latência em função das populações do fungo, tanto para a cultivar resistente (12 a 15 dias), como também para a suscetível (9 a 13 dias), podendo este resultado estar relacionado a variabilidade genética entre as populações utilizadas, provenientes de diferentes regiões geográficas.

Concomitantemente às avaliações de período de incubação e latência, foram realizadas análises de severidade da ferrugem nas folhas inoculadas.

Na comparação entre as amostras de populações do fungo provenientes de diferentes localidades, a severidade da FAS na cultivar resistente foi superior nas localidades Campo Mourão, Juranda, Ubiratã e La Paloma. A menor severidade da doença ocorreu nas inoculações do fungo com as amostras de Nova Aurora, Corbélia, Cascavel, Céu Azul e Curuguaty. O resultado obtidos demonstra a influência da cultivar resistente no atraso do estabelecimento das relações parasitárias para maioria das amostras, em que a menor severidade obtida está diretamente relacionada ao aumento do período latente observado (Figura 3).

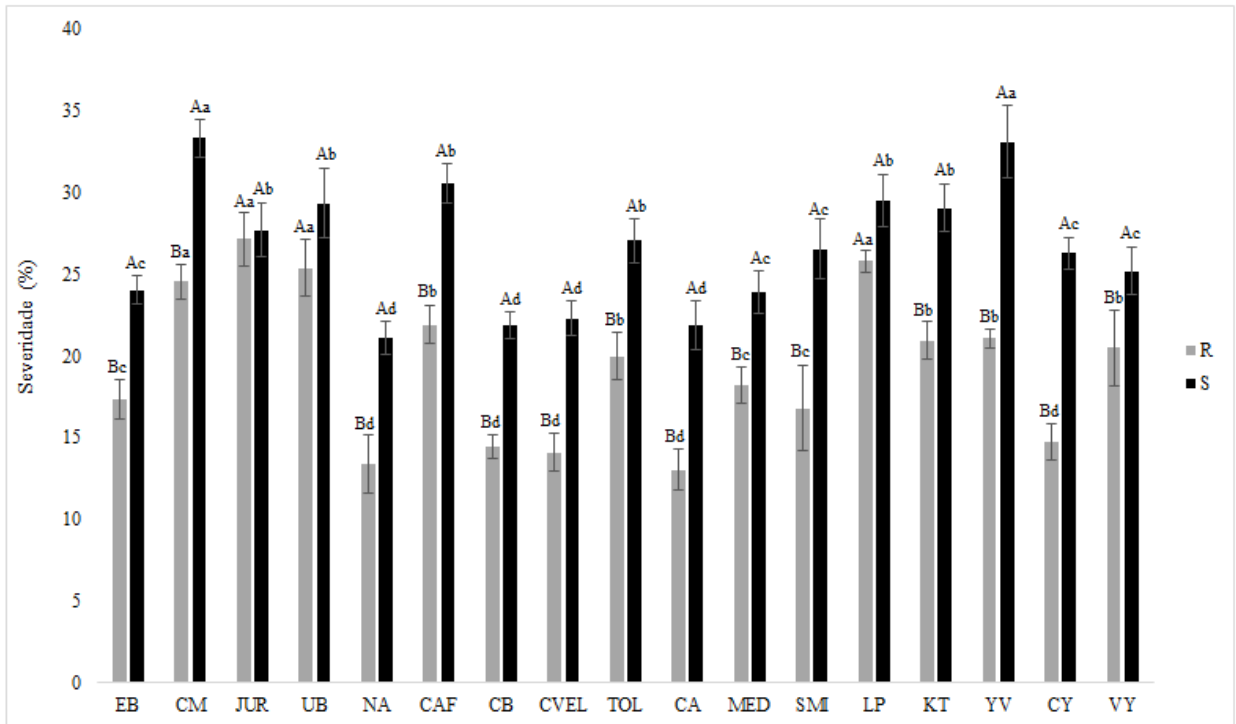


Figura 3. Severidade da ferrugem asiática da soja de amostras coletadas em diferentes regiões produtoras de soja na Safra 2017/18 inoculadas em cultivar resistente e suscetível. R: Resistente. S: Suscetível. EB: Engenheiro Beltrão/BR, CM: Campo Mourão/BR, JUR: Juranda/BR, UB: Ubiratã/BR, NA: Nova Aurora/BR, CAF: Cafelândia/BR, CB: Corbélia/BR, CVEL: Cascavel/BR, MED: Medianeira/BR, SMI: São Miguel do Iguacu/BR, LP: La Paloma/PY, KT: Katueté/PY, YV: Yhovy/PY, CY: Curuguaty/PY, VY: Villa Ygatimí/PY. *Letras maiúsculas indicam os resultados do teste Scott-Knott na comparação entre as cultivares resistente e suscetível a ferrugem. **Letras minúsculas indicam a comparação entre as localidades. Letras maiúsculas e minúsculas seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando apenas as amostras inoculadas no genótipo suscetível, as populações provenientes de Campo Mourão e Yhovy diferiram estatisticamente das demais, apresentando percentuais de severidade superiores. As amostras provenientes de Nova Aurora, Corbélia, Cascavel e Céu Azul, assim como na cultivar resistente, obtiveram os menores percentuais de severidade da ferrugem. Desta forma, estas populações de *P. pachyrhizi* podem ser eventualmente menos agressivas comparada as demais populações utilizadas no estudo.

No geral, a maioria das amostras inoculadas em folhas suscetíveis apresentaram valores de severidade superiores em relação às mesmas amostras inoculadas em folhas resistentes.

A interação entre local de coleta e hospedeiro foi significativa ao nível de 5%. A resposta das cultivares variou de acordo com o localidade do fungo. Não foi observada diferença significativa na severidade aos 15 dias entre a cultivar resistente e suscetível inoculadas com as amostras do fungo de Juranda, Ubiratã e La Paloma.

Nas demais localidades houve redução significativa da SEV-15 quando inoculadas em folhas resistentes. Em média, a redução na severidade da FAS foi de aproximadamente 28%. Neste sentido, ao atrasar o desenvolvimento da doença, estes materiais podem atuar diretamente na manutenção dos baixos níveis de inóculo da lavoura.

Seixas et al. (2018) ressaltam que apesar do custo elevado da semente, o uso de cultivares resistentes ao fungo *P. Pachyrhizi* pode reduzir os custos de produção em razão do menor número de aplicações com fungicidas. Contudo, em estudo de monitoramento do fungo *P. pachyrhizi* para tomada de decisão, produtores de diferentes regiões do Paraná que utilizaram a cultivar com tecnologia Inox® e não adotaram as práticas de MID, não se beneficiaram dessa característica, pois mantiveram o mesmo esquema de manejo, com aplicações antecipadas e calendarizadas, e com isso a média de aplicações foi a mesma (2,5) independente do tipo de cultivar (SEIXAS et al., 2018).

No presente estudo, três populações avaliadas demonstraram capacidade de suplantarem a tecnologia da cultivar com resistência a FAS (Juranda, Ubiratã e La Paloma). Dessa forma, o constante monitoramento da lavoura, torna-se crucial em função da alta variabilidade genética do fungo, que pode superar rapidamente a resistência destes materiais (TSCHURTSCHENTHALER et al., 2012).

Apesar disso e da variação dos parâmetros monocíclicos entre as populações, a resistência conferida pela cultivar se mostrou estável e efetiva a maioria das amostras. O aumento do período latente observado para as amostras de todas as localidades aponta para a redução do número de ciclos do patógeno nas folhas e conseqüentemente, em vários ciclos no campo, reduz a severidade da doença.

No cenário atual da FAS e com a verificação de resistência do fungo *P. pachyrhizi* aos fungicidas sítio-específicos, a utilização de todas as estratégias para o controle da FAS, se faz essencial a cada safra.

3.6 CONCLUSÕES

Todas as populações de *P. pachyrhizi* apresentaram aumento do período latente e conseqüentemente, reduções na severidade final da doença, demonstrando que o uso da cultivar resistente é uma importante ferramenta no controle da doença.

A porcentagem de redução na severidade da FAS na cultivar resistente está relacionada ao local de origem das populações do fungo *P. pachyrhizi*.

4 ARTIGO B: SENSIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Phakopsora pachyrhizi* AO FUNGICIDA PROTIOCONAZOL

4.1 RESUMO

A redução na eficiência de fungicidas sintéticos está associada a seleção de indivíduos que apresentam alterações genéticas que conferem resistência aos ingredientes ativos. A sinalização de variações na frequência de resistentes nas populações de fungos pode ser observada através da concentração efetiva 50 (CE50). O objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* coletados durante a safra 2017/18 em diferentes regiões produtoras de soja ao i.a protioconazol (IDM), através da concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle (CE50) em folhas destacadas. Folhas destacadas de soja foram tratadas com o i.a nas concentrações zero; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 mg L⁻¹ e inoculadas com uredósporos de *P. pachyrhizi* provenientes de 17 localidades distribuídas no Brasil e Paraguai. As folhas inoculadas foram dispostas em placas de Petri de 15cm de diâmetro com papel filtro umedecido e incubadas em câmaras de crescimento a 23° C ±2° C. A severidade da doença foi avaliada 15 dias após a inoculação. Através do ajuste log-logístico foi estimada a concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle (CE50) para cada população. Foi observada variação na sensibilidade entre as populações do fungo *P. pachyrhizi* ao fungicida protioconazol, onde os valores da CE50 variaram de 0,05 mg L⁻¹ a 1,04 mg L⁻¹ com média e mediana de 0,35 e 0,35 mg L⁻¹, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos houve variação da sensibilidade das populações de *P. pachyrhizi* ao fungicida protioconazol conforme o local de origem das populações do fungo.

PALAVRAS-CHAVE: Folhas destacadas, Inibidor da desmetilação, Triazóis, Concentração efetiva 50.

ARTICLE B: SENSITIVITY OF POPULATIONS OF *Phakopsora pachyrhizi* TO FUNGICIDE PROTHIOCONAZOLE

4.2 ABSTRACT

The reduction in the efficiency of synthetic fungicides is associated with the selection of individuals that present genetic alterations that confer resistance to the active ingredients. Signaling variations in the frequency of resistance in fungal populations can be observed through the effective concentration 50 (EC50). The objective of this work was to evaluate the sensitivity of populations of *Phakopsora pachyrhizi* collected during the 2017/18 harvest in different soybean producing regions to prothioconazole (IDM), through the effective concentration that presents 50% of control efficiency (EC50) in leaves highlighted Leaves of soybean were treated with i.a at zero concentrations; 0.0625; 0.125; 0.25; 0.5; 1; 2; 4; 8 and 16 mg L⁻¹ and inoculated with *P. pachyrhizi* uredospores from 17 localities distributed in Brazil and Paraguay. The inoculated leaves were arranged in 15 cm diameter Petri dishes with moistened filter paper and incubated in growth chambers at 23 ± 2 ° C. The disease severity was evaluated 15 days after inoculation. Through the log-logistic adjustment, the effective concentration was estimated with 50% of control efficiency (EC50) for each population. The sensitivity of *P. pachyrhizi* to the fungicide protioconazole varied from 0.05 mg L⁻¹ to 1.04 mg L⁻¹ with mean and median values of 0.35 and 0, 35 mg L⁻¹, respectively. According to the results, the sensitivity of the *P. pachyrhizi* populations to the fungicide protioconazole varied according to the origin of the fungus populations.

KEYWORDS: Leaves detached, Inhibitor of demethylation, Triazoles, Effective Concentration 50.

4.3 INTRODUÇÃO

O fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd, agente causal da ferrugem asiática da soja (FAS), pode ser considerado o principal patógeno da cultura da soja no Brasil. Desde os primeiros casos da doença no país, em 2001, estimam-se custos médios anuais de 2 bilhões de dólares (GODOY, 2016b; CAF, 2018).

As estratégias de manejo recomendadas para o controle da doença compreendem a adoção de medidas conjuntas, que incluem a utilização de cultivares de ciclo precoce e semeadura no início da época recomendada, vazio sanitário e eliminação de plantas de soja voluntárias, monitoramento da lavoura visando a detecção inicial do patógeno, uso de cultivares com genes de resistência e controle químico, com a aplicação de fungicidas via foliar (GODOY et al., 2016a).

Desde a detecção da doença no Brasil, as medidas supracitadas foram utilizadas sem considerar adequadamente o potencial evolutivo do fungo. Nas últimas safras, como provável reflexo à pressão de seleção imposta pela aplicação de fungicidas, foi observada redução da sensibilidade do fungo *P. pachyrhizi* aos três principais grupos químicos (triazóis, estrobirulinas e carboxamidas) registrados para o controle da doença (GODOY et al., 2018).

A redução de sensibilidade foi associada a alterações pontuais e específicas, como mutações na enzima 14- α - desmetilase dependente do citocromo P450 (CYP51) que codifica a proteína alvo dos IDMs, mutação na posição F129L do citocromo “b” para IQos e para ISDHs, foi observada mutações na subunidade C na posição 186F (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016; SIMÕES, 2017).

A descoberta molecular pode ser sinalizada através de estudos de monitoramento utilizando folhas destacadas de soja. Esse tipo de abordagem utiliza a concentração efetiva (CE) para avaliar indiretamente a frequência da população que é controlada pelo ingrediente ativo. A metodologia foi proposta por Scherb e Mehl (2006) para a realização de testes “*in vitro*” de sensibilidade a fungicidas, com ênfase para fungicidas do grupo dos inibidores da desmetilação (IDMs), devido a incompatibilidade deste grupo com testes de germinação de esporos.

Monitorando a sensibilidade do fungo *P. pachyrhizi* a fungicidas IDMs, Koga, Lopes e Godoy (2009), e Xavier et al. (2015) observaram variações na concentração efetiva (CE50) dos fungicidas ciproconazol, metconazol, tebuconazol e prothioconazol, demonstrando que populações de *P. pachyrhizi* com diferentes níveis de sensibilidade

ocorrem de forma simultânea no campo. Fantin e Canteri (2018) citam que durante a mesma safra a dinâmica da população de *P. pachyrhizi* é eventualmente alterada, assim, a frequência de indivíduos resistentes dentro da população no início do desenvolvimento difere da frequência encontrada no final do ciclo da cultura.

Então, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de populações do fungo *P. pachyrhizi* coletados no intervalo de uma semana durante a safra 2017/18 em diferentes regiões produtoras de soja ao ingrediente ativo prothioconazol através da concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle em folhas destacadas de soja.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Durante a safra 2017/18, foram coletadas amostras de populações do fungo *P. pachyrhizi* presentes em folhas de plantas de soja naturalmente infectadas em 17 localidades, sendo 12 no Estado do Paraná - Brasil e 5 amostras no Departamento do Canindeyú - Paraguai (Tabela 3). As coletas no Brasil e Paraguai foram realizadas no intervalo de uma semana.

Tabela 3. Locais de origem das populações de *Phakopsora pachyrhizi* – safra 2017/18.

Localidades	Coleta	FAS** (%)	Coordenadas geográficas
Engenheiro Beltrão, Paraná - BR	26/01/2018	10%	23°47'60.0"S 52°14'56.1"W
Campo Mourão, Paraná - BR	26/01/2018	30%	24°00'33.9"S 52°22'41.7"W
Juranda, Paraná - BR	26/01/2018	40%	24°25'53.5"S 52°51'13.1"W
Ubiratã, Paraná - BR	26/01/2018	55%	24°32'26.3"S 52°58'31.6"W
Nova Aurora, Paraná - BR	25/01/2018	80%	24°31'40.6"S 53°14'53.5"W
Cafelândia, Paraná - BR	25/01/2018	85%	24°37'12.8"S 53°18'36.5"W
Corbélia, Paraná - BR	25/01/2018	90%	24°46'53.3"S 53°17'23.3"W
Cascavel, Paraná - BR	26/01/2018	80%	24°54'15.3"S 53°30'27.2"W
Toledo, Paraná - BR	25/01/2018	65%	24°42'57.9"S 53°41'23.3"W
Céu Azul, Paraná - BR	25/01/2018	75%	25°08'48.7"S 53°51'55.8"W
Medianeira, PR - Brasil	26/01/2018	65%	25°16'20.9"S 54°04'19.8"W
São M. do Iguacu, PR - Brasil	25/01/2018	70%	25°22'20.3"S 54°14'53.2"W
La Paloma, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°07'00.9"S 54°38'26.3"W
Katueté, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°17'16.9"S 54°44'13.7"W
Yhovy, Canindeyú - PY	02/02/2018	90%	24°18'36.3"S 55°00'19.2"W
Curuguaty, Canindeyú - PY	01/02/2018	20%	24°27'40.5"S 55°47'08.0"W
Villa Ygatimí, Canindeyú - PY	01/02/2018	20%	24°05'11.8"S 55°35'40.1"W

*FAS= Severidade de ferrugem asiática da soja observada nas folhas no momento da coleta.

As amostras foram coletadas durante o estágio fenológico R5, sendo 15 folhas de soja, retiradas do terço médio das plantas, consideradas uma amostra composta e representativa de cada local de origem. Feito isso, as mesmas foram acondicionadas em placas de 15cm de diâmetro com papel filtro umedecido com água destilada, identificadas e posteriormente levadas ao laboratório.

O ensaio foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina seguindo a metodologia de folhas destacadas proposta pelo Comitê de Ação à Resistência de Fungicidas - FRAC (SCHERB; MEHL, 2006).

O fungicida avaliado foi o prolioconazol (Proline[®], Bayer CropScience), nas concentrações zero; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 mg L⁻¹ (ppm) e a cultivar de soja utilizada foi a BMX Potência RR (suscetível a ferrugem).

Plantas de soja foram produzidas em casa de vegetação, livres do patógeno, cultivadas em substrato comercial estéril acondicionados em bandejas de 50 x 20cm. A coleta das folhas foi realizada com até três semanas após a semeadura, no estágio de desenvolvimento V1. Após isso, as folhas foram imersas nas diferentes concentrações do fungicida por três segundos e dispostas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro sobre papel de filtro saturado com água destilada, com a face abaxial voltada para cima (Figura 4, apêndice II).

A inoculação das folhas de soja com as amostras do fungo das diferentes localidades foi realizada entre 16 a 20 horas após o tratamento com o fungicida, quando as superfícies foliares dos mesmos estavam inteiramente secas e o produto absorvido. A obtenção da suspensão de uredósporos foi realizada através da varredura das folhas com auxílio de um pincel, para liberação dos mesmos.

Foi obtida a concentração máxima de uredósporos de cada amostra e adicionando à suspensão Tween[®] 20 (0,1 mL L⁻¹). A face abaxial das folhas foi inoculada borrifando-se 0,3 mL da suspensão por folha com auxílio de um borrifador manual. Após isso, as placas foram mantidas no escuro durante 48 horas e transferidas em seguida para câmaras de crescimento, com temperatura de 23°C ± 2°C e 12 horas de fotoperíodo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para cada população, com quatro repetições de cada concentração, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro contendo quatro folhas de soja.

Após 15 dias de incubação foi avaliada a severidade da FAS, estimada de forma visual com auxílio da escala diagramática de ferrugem asiática da soja proposta por Godoy, Koga e Canteri (2006). Com os valores de severidade foi realizado o cálculo para determinar a concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle (CE50), sendo:

$$EC (\%) = [(Sev\ test - Sev\ trat) / Sev\ test] * 100.$$

Os testes foram realizados duas vezes. Os resultados foram ajustados ao modelo log-logístico e/ou Weibull com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2017), pacote “drc” (RITZ et al., 2015).

O modelo escolhido foi aquele que melhor se adequou aos dados obtidos. Para isso foram considerados o coeficiente de determinação ajustado e o critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1974; DRAPER; SMITH, 2014). A mesma abordagem foi utilizada por Ribeiro et al. (2018).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi determinada a CE50 do fungicida protioconazol para 12 das 17 populações do fungo *Phakopsora pachyrhizi* (Tabela 4). Não foi possível determinar a CE50 do fungicida para as amostras de todas as localidades em razão da severidade da doença inferior a 10% nas folhas não tratadas. As médias da CE50 variaram de 0,05 mg L⁻¹ à 1,04 mg L⁻¹, com mediana de 0,35 mg L⁻¹.

Tabela 4. Sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* ao inibidor da desmetilação protioconazol, Safra 2017/18, Londrina, Paraná.

Origem	Data coleta	CE50 (%)	Sensibilidade
Engenheiro Beltrão, Paraná - BR	26/01/18	-	-
Campo Mourão, Paraná - BR	26/01/18	0,14	Moderadamente sensível
Juranda, Paraná - BR	26/01/18	0,38	Moderadamente sensível
Ubiratã, Paraná - BR	26/01/18	0,39	Moderadamente sensível
Nova Aurora, Paraná - BR	25/01/18	-	-
Cafelândia, Paraná - BR	25/01/18	0,07	Sensível
Corbélia, Paraná - BR	25/01/18	-	-
Cascavel, Paraná - BR	26/01/18	1,04	Moderadamente resistente
Toledo, Paraná - BR	25/01/18	0,18	Moderadamente sensível
Céu Azul, Paraná - BR	25/01/18	-	-
Medianeira, PR - Brasil	26/01/18	0,20	Moderadamente sensível
São M. do Iguacu, PR - Brasil	25/01/18	0,32	Moderadamente sensível
La Paloma, Canindeyú - PY	02/02/18	0,05	Sensível
Katueté, Canindeyú - PY	02/02/18	0,74	Moderadamente resistente
Yhovy, Canindeyú - PY	02/02/18	0,55	Moderadamente resistente
Curuguaty, Canindeyú - PY	01/02/18	-	-
Villa Ygatimí, Canindeyú - PY	01/02/18	0,54	Moderadamente resistente
Mediana		0,35	

*CE50: Concentração efetiva que apresenta 50% de eficiência de controle.

De acordo com os critérios adotados por Schmitz et al. (2014) ao classificar a sensibilidade de isolados do fungo a outros fungicidas IDMs (ciproconazol, tebuconazol, epoxiconazol e metconazol) as populações de *P. pachyrhizi* provenientes das cidades de La Paloma e Cafelândia, podem ser classificadas como sensíveis (<0,1 mg L⁻¹) ao fungicida protioconazol, com CE50 de 0,05 e 0,07 mg L⁻¹, respectivamente. As populações oriundas de Campo Mourão, Juranda, Ubiratã, Toledo, Medianeira e São Miguel do Iguacu apresentaram valores entre 0,14 a 0,39 mg L⁻¹, sendo consideradas moderadamente sensíveis (0,1 a 0,5 mg

L⁻¹). As amostras de Cascavel, Katueté, Yhovy e Villa Ygatimí foram classificadas como moderadamente ou altamente resistentes ao fungicida (0,5 a 4-7), com CE50 entre 0,54 e 1,04 mg L⁻¹.

Xavier et al. (2015) avaliando a sensibilidade de populações de *P. pachyrhizi* coletadas em diversas regiões do Brasil a fungicidas IDMs, obtiveram valores de CE50 para protioconazol variando de 0,000001 mg L⁻¹ a 0,39 mg.L⁻¹, com medianas de 0,05 mg L⁻¹ e 0,04 mg L⁻¹, nas safras 2009/10 e 2010/11, respectivamente. Anteriormente, na safra 2008/09, não houve distribuição dos valores de CE50 para o fungicida protioconazol em estudo de monitoramento realizado por Koga, Lopes e Godoy (2009), pois na concentração de 0,25 mg L⁻¹, as populações das amostras avaliadas não desenvolveram sintomas da FAS. Já na safra 2009/10, a média da CE50 observada pelos autores entre as populações foi 0,059 mg L⁻¹. No presente estudo, a média e mediana obtida entre as populações foi de 0,35 mg L⁻¹, indicando a redução de sensibilidade do fungo ao ingrediente ativo avaliado.

Os resultados apresentados pelo presente estudo e por Xavier et al. (2015) corroboram com a redução na eficiência de controle da FAS observada a campo, conforme Godoy et al. (2010; 2011; 2012; 2013; 2014; 2015; 2016; 2017b; 2018). Neste período, a eficiência de controle de duas e três aplicações da mistura protioconazol + trifloxistrobina foi de 81% para safra 2009/10, 78% safra 2010/11, 75% safra 2011/12, 76% safra 2012/13, 76% safra 2013/14, 74% safra 2014/15, 68% 2015/16, 65% safra 2016/17 e 63% para a safra 2017/18.

Seguindo a mesma abordagem e metodologia, a sensibilidade de *P. pachyrhizi* aos IDMs de primeira geração como o tebuconazol, ciproconazol, epoxiconazol, metconazol e outros triazóis, também apresentaram redução ao longo das safras, (SCHERB; MELH, 2006; MEHL, 2009; SCHMITZ et al., 2014; XAVIER et al., 2015; JULIATTI et al., 2017; KLOSOWSKI et al., 2018). Em geral, os valores de sensibilidade apresentam variabilidade entre os ingredientes ativos e localidade das populações.

Assim como o observado para outros fungicidas IDMs, houve variação da sensibilidade entre as populações provenientes das diferentes regiões produtoras. No presente estudo, as amostras foram coletadas com até uma semana de diferença, em sua maioria, em intervalo de 24hrs, com o objetivo de diminuir a variação da CE50 em razão do intervalo de coleta. Entre os eventuais fatores que possam estar ligados a variação de sensibilidade, está a diferença de agressividade das populações.

Considerando um fungo com características necrotróficas, o mesmo foi observado para *Corynespora cassiicola* Berk. & M. A. Curtis (Wei, 1950), também parte do

complexo de doenças da soja. Xavier (2013) e Teramoto et al., (2017) avaliando a sensibilidade do fungo a fungicidas com diferentes modos de ação, inclusive ao i.a protioconazol, observaram a variação da CE50 entre os isolados do fungo coletados em diversas regiões do Brasil.

Os resultados obtidos no presente trabalho foi de redução de sensibilidade do fungo ao fungicida protioconazol, em razão do acréscimo nos valores da CE50 observado para as amostras testadas comparados aos valores obtidos por Xavier et al. (2015). A sensibilidade das populações variou de acordo com a região geográfica das amostras.

O constante monitoramento da sensibilidade do fungo *P. pachyrhizi* aos i.a e suas misturas são importantes, principalmente em regiões produtoras onde a demanda pelo uso de fungicidas na cultura é excessiva.

Assim, é possível detectar eventuais reduções de sensibilidade ou até a perda da sensibilidade (resistência) do fungo aos principais produtos utilizados, permitindo a elaboração de estratégias para garantir a longevidade dos fungicidas e recuperação da eficiência de controle da doença.

4.6 CONCLUSÕES

Houve variação da CE50 de 0,07 mg L⁻¹ a 1,04 mg L⁻¹ na sensibilidade de populações de *P. pachyrhizi* ao fungicida prothioconazol, que está relacionada com o local de origem das amostras.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as populações de *P. pachyrhizi* apresentaram aumento do período latente e conseqüentemente, reduções na severidade final da doença, demonstrando que o uso da cultivar resistente é uma importante ferramenta no controle da doença.

A porcentagem de redução na severidade da FAS na cultivar resistente está relacionada ao local de origem das populações do fungo *P. pachyrhizi*.

Houve variação da CE50 de 0,07 mg L⁻¹ a 1,04 mg L⁻¹ na sensibilidade de populações de *P. pachyrhizi* ao fungicida prothioconazol, que está relacionada com o local de origem das amostras.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, H. A. New Look at the Statistical Model Identification. **Transactions on Automatic Control**, v.19, n.6, p.716-723, 1974.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A. Doenças da Soja (*Glycine max* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, L. **Manual de Fitopatologia**. Doenças das Plantas Cultivadas. São Paulo: Ceres, v.2, p. 376-399, 2005.
- ALVES, S. A. M. **Quantificação de parâmetros da pré-penetração e monocíclicos relacionados ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja**. 64fls. (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.
- AMORIM, L; PASCHOLATI, S. P. **Ciclo das relações patógeno-hospedeiro**. In: L. AMORIM, L.; REZENDE, J. A.M; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia – Princípios e conceitos. - 5ª Edição. São Paulo: Ceres, v.1, p.45-69, 2018.
- ALVES, S. A. M.; FURTADO, G. Q.; BERGAMIN FILHO, E A. Influência das condições climáticas sobre a ferrugem da soja. Em: ZAMBOLIM, L. **Ferrugem Asiática da Soja**. Visconde do Rio Branco, MG, Suprema Gráfica e Editora. p. 37-59, 2006.
- ARIAS, C.A.A.; TOLEDO, J.F.F.; ALMEIDA, L.A.; PÍPOLO, A.E.; CARNEIRO, G.E.S.; ABDELNOOR, R.V.; RACHID, B.F.; RIBEIRO, A.S. Asian rust in Brazil: varietal resistance. In: KUDO et al. Facing the challenge of soybean rust in South America. Tsukuba: JIRCAS; Londrina: Embrapa Soybean, 2008. p. 29-30. (JIRCAS Working Report, 58).
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?** FRAC. 2 ed, 2007.
- BROMFIELD, K. R. Soybean rust. **American Phytopathological Society**. Saint Paul, p.65, 1984.
- BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, v.20, p.254–255, 1980.
- BROMFIELD, K.R.; MELCHING, J.S. Sources of specific resistance to soybean rust. **Phytopatology**, v.72, p.706, 1982.

CAF - CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM. **Conheça a ferrugem**: Tabela de custo. Disponível em: <<http://www.consorcioantiferrugem.net>> Acesso em: 25 de abril 2018.

CALDWELL, P. M.; MCLAREN, N. W. Soybean rust research in South Africa. In: MOSCARDI, F.; CAMPO, C. B. H.; SARAIVA, O. F.; GALERANI, P. R.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PANIZZI, M. C. C. (Ed.). Proceedings of the VII World Soybean Research Conference. Londrina: Embrapa. p. 354–360, 2004.

CAMARGO, L. E. A. **Controle Genético**. Em: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. (3th Ed.) São Paulo: Agronômica Ceres, p. 254-255, 2018.

CHAKRABORTY, N.; CURLEY, J.; FREDERICK, R.; HYTEN, D.; NELSON, R.; HARTMAN, G; DIERS, B. Mapping and confirmation of a new allele at *Rpp1* from soybean PI 594538A conferring RB lesion-type resistance to soybean rust. **Crop Science**. v. 49, p. 783—790, 2009.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim de safra de grãos**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>, Acesso em: 01 de agosto de 2018.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim de safra de grãos**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>, Acesso em: 15 de março de 2019.

DANELLI, A. L. D.; REIS, E. M. Quantification of incubation, latent and infection periods of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean, according to chronological time and degree days. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.1, p.11-17, 2016.

DRAPER, N. R., SMITH, H. **Applied regression analysis**. 3rd ed., reprint. New York: John Wiley, 2014, 736p.

FANTIN, L. H., CANTERI, M. G. Computational Simulation as a Tool for Fungicide Resistance Management. In book: **Fungicides. Perspectives, Resistance Management and Risk Assessment**, Edition: 1st. Publisher: Nova Science Publishers, Inc. New York, 2018.

FIALLOS, F. R. G. A Ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* Sydow e Sydow. Equador, p. 2-3. 2011.

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Reviews of Phytopathology**, v.9, p.275-296, 1971.

FLOR, H. H. The complementary genic systems in flax and flax rusts. **Advances in Genetics**, v.8, p.29-54, 1956.

FRAC INTERNACIONAL. **SDHI Working Group**: Informação sobre carboxamidas em ferrugem da soja. FRAC, 2017. 3p. Disponível em: http://docs.wixstatic.com/ugd/85b1d3_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf Acesso em: 9 de outubro 2018.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.63-68, 2006.

GARCIA, A.; CALVO, E. S.; DE SOUZA KIIHL, R. A.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M.; VIEIRA, L. G. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v.117, p.545-553, 2008.

GODOY, C. V. Risk and management of fungicide resistance in the Asian soybean rust fungus *Phakopsora pachyrhizi*. In: THIND, T. S. **Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management**, Wallingford: CAB International. p. 87-95, 2012a.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MEYER, M.; COSTAMILAN, L. M.; ADEGAS, F. S. Boas práticas para o enfrentamento da ferrugem-asiática da soja. Embrapa Soja: Londrina, PR, 2017a. 6p. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico. 92). Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1074899/boas-praticas-para-o-enfrentamento-da-ferrugem-asiatica-da-soja>. Acesso em: 05 janeiro 2019.

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

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; CASSETARI NETO, D.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R. de; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P. da; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; MADALOSSO, M.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.;

BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MONTECELLI, T. D. N.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 111), 6 p, 2015.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R. de; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FAVERO, F.; FEKSA, H. R.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P. da; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; VOLF, M. R.; DEBORTOLI, M. P.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/16:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 119), 6 p, 2016c.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. de O. N.; DIAS, A. R.; DEUNER, C. C.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; MOREIRA, E. N.; BORGES, E. P.; ANDRADE JUNIOR, E. R. de; SIQUERI, F. V.; JULIATTI, F. C.; FAVERO, F.; FEKSA, H. R.; ARAÚJO JUNIOR, I. P.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; BELUFI, L. M. de R.; CARNEIRO, L. C.; CARREGAL, L. H.; SATO, L. N.; CANTERI, M. G.; VOLF, M. R.; GOUSSAIN, M.; DIAS, M. D.; DEBORTOLI, M. P.; MARTINS, M. C.; BALARDIN, R. S.; FURLAN, S. H.; MADALOSSO, T.; CARLIN, V. J.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2017/2018:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Embrapa Soja. Circular técnica, 138, 8p, 2018.

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**. vol.29, n.1, pp.97-101, 2004.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; LOPES, I. O. N.; FORCELINI, C.A.; PIMENTA, C.B.; JACCOUD FILHO, D. S.; MOREIRA, E.N.; BORGES, E.P.; ANDRADE, E. R.; SIQUERI, F.V.; JULIATTI, F.C.; FAVARO, F.; FEKSA, H.R.; ARAUJO JUNIOR, I. P.; GRIGOLLI, J. F. J.; NUNES JUNIOR, J.; BELUTTI, L. M. R.; CARNEIRO, L.C.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; VOLF, M.R.; GOUSSAIN, M.; DEBORTOLI, M.P.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R.S.; FURLAN, S.F.;

MADALOSSO, T.; CARLIN, V.J.; VENANCIO, **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos.** 6 p, 2017b.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; PIMENTA, C.B.; CASSETARI NETO, D.; JACCOUD FILHO, D.S.; BORGES, E.P.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; SIQUERI, F.V.; JULIATTI, F.C.; FEKSA, H.R.; GRIGOLLI, J.F.J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L.C.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.F.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R.S.; FURLAN, S.H.; MONTECELLI, T.D.N.; CARLIN, V.J.; BARROS, V.L.P.; VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2013/14:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 103), 8 p, 2014.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; ROESE, A.D.; FORCELINI, C.A.; PIMENTA, C.B.; JACCOUD FILHO, D.S.; BORGES, E.P.; SIQUERI, F.V.; JULIATTI, F.C.; FEKSA, H.R.; NUNES JUNIOR, J.; COSTAMILAN, L.M.; CARNEIRO, L.C.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.F.; BARROS, R.; BALARDIN, R.S.; SILVA, S.A.; FURLAN, S.H.; MONTECELLI, T. D.N.; CARLIN, V.J. BARROS, V.L.P.; VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2011/12:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica 93), 8p, 2012b.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; ROESE, A.D.; FORCELINI, C.A.; PIMENTA, C.B.; JACCOUD FILHO, D.S.; BORGES, E.P.; SIQUERI, F.V.; JULIATTI, F.C.; FEKSA, H.R.; GRIGOLLI, J.F.J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L.C.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.F.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R.S.; FURLAN, S.H.; MONTECELLI, T.D.N.; CARLIN, V.J.; BARROS, V.L.P.; VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2012/13:** resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica 99), 8p, 2013.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; SILVA, L.H.C.P.; SIQUERI, F.V.; HENNING, A.A.; ROESE, A.D.; FORCELINI, C.A.; PIMENTA, C.B.; NUNES, C.D.M.; JACCOUD FILHO, D.S.; MIGUEL-WRUCK, D. S.; RAMOS JUNIOR, E.U.; BORGES, E.P.; DEL PONTE, E.M.; JULIATTI, F.C.; FEKSA, H.R.; CAMPOS, H.D.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, J.R.C.; CARNEIRO, L.C.; SATO, L.N.; PRADO, M.D.R.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.A.; CUNHA, M.G.; ITO, M.F.; MEYER, M.C.; MELO, R.A.C.; BALARDIN, R.S.; IGARASHI, S.; FURLAN, S.H.; DALLA NORA, T.; CARLIN, V.J. **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, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 80). 8p. 2010.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; SILVA, L.H.C.P.; SIQUERI, F.V.; HENNING, A.A. ROESE, A.D.; FORCELINI, C.A.; PIMENTA, C.B.; NUNES, C.D.M.; JACCOUD FILHO, D.S.; RAMOS JUNIOR, E.U.; BORGES, E.P.; DEL PONTE, E.M.; JULIATTI, F.C.; FEKSA, H.R.; CAMPOS, H.D.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, J.R.C.; COSTAMILAN, L.M.; NAVARINI, L.; CARNEIRO, L.C.; L.C.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.A.; CUNHA, M.G.; ITO, M.F.; MEYER, M.C.; MELO, R.A.C.; BALARDIN, R.S.; IGARASHI, S.; SILVA, S.A.; FURLAN, S.H.; DALLA NORA, T.; CARLIN, V.J. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2010/11**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Circular Técnica 87), 8p, 2011.

GODOY, C.V.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C.; DIAS, W.P.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A.; YORINORI, J.T.; FERREIRA, L.P.; SILVA, J.F.V. **Doenças da soja**. In: L. AMORIM, L.; REZENDE, J. A.M; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. F. A. Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas. Volume 2 - 5ª Edição. São Paulo: Ceres, v.2, 810p, 2016a.

GOELLNER, K.; LOEHRER, M.; LANGENBACH, C.; CONRATH, U.; KOCH, E.; SCHAFFRATH, U. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. **Molecular Plant Pathology**. v.11, p.169-177, 2010.

HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J. C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K.L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, p. 56-59, 2015.

HARTWIG, E. E. Identification of a 4th major gene conferring resistance to soybean rust. **Crop Science**, v.26, p.1135-1136, 1986.

HENNING, A. A. **Manejo de doenças da soja** (*Glycine max* L. Merrill). Informativo Abrates, Londrina, v. 19, n. 03, p. 9-12, 2009.

HENNING, A. A.; GODOY, C.V. Situação da ferrugem da soja no Brasil e no mundo. In.: ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado da ferrugem asiática da soja**. Viçosa, 140p, 2006.

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

JORGE, V. R. et al. The origin and genetic diversity of the causal agent of Asian soybean rust, *Phakopsora pachyrhizi*, in South America. **Plant Pathology**, Oxford, v.64, n.3, p.729-37, 2014.

JULIATTI, F. C.; POLLONI, L. C.; MORAIS, T. P.; ZACARIAS, N. R. S.; SILVAE, A.; JULIATTI, B. C. M. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* populations to dithiocarbamate, chloronitrile, triazole, strobilurin, and carboxamide fungicides. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 4, p. 933-943, 2017.

KATO, M. Effectiveness of Resistance Genes to the Soybean Rust Pathogen. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.51, n.3, p.199-207, 2017.

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

KOCHMAN, J. K. The effect of temperature on development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*). **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.30, p. 273-277, 1979.

KOGA, L. J. **Ferrugem asiática da soja: Resistência, Controle químico e Tolerância**. (Doutorado em Agronomia). 106p, 2008.

KOGA, L. J.; LOPES, I. O. N.; GODOY, C. V.; Resultado de monitoramento da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas. Resumos da Reunião do Consórcio Antiferrugem, p. 59-69, 2009.

- LI, S.; SMITH, J. R.; RAY, J. D.; FREDERICK, R. D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. **Theoretical and Applied Genetics**, v.125, p.133-142, 2012.
- MAGNANI ZAMBENEDETTI, E. B. Z.; ALVES, E.; ARAÚJO, D. V. Eventos dos processos de pré penetração, penetração e colonização de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n.32, v.2, p.156-160, 2007.
- MARCHETTI, M. A.; MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R. The effects of temperature and dew period on germination and infection by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**. v.66, p.461- 463, 1976.
- MCLEAN, R.J.; BYTH, D. E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.31, p.951–956, 1980.
- MEHL, A. *Phakopsora pachyrhizi*: sensitivity monitoring and resistance management strategies for DMI and QoI fungicides. In: Congresso Brasileiro de Soja, Anais. Londrina: Embrapa Soja, 2009.
- MELCHING, J. S, DOWLER, W. M, KOOGLER, 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.
- MELO, C. L. P. Nova cultivar de soja favorece manejo da ferrugem-asiática. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/31770982/nova-cultivar-de-soja-favorece-manejo-da-ferrugem-asiatica>. Acesso em: 21 de dezembro de 2018.
- MILES, M.R.; BONDE, M.R.; NESTER, S.E.; BERNER, D.K.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L. Characterizing resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in soybean. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, n. 5, p. 577-581, 2011.
- MINCHIO, C. A.; CANTERI, M. G.; FANTIN, L. H.; AGUIAR e SILVA, M. Epidemias de ferrugem asiática no Rio Grande do Sul explicadas pelo fenômeno ENOS e pela incidência da doença na entressafra. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.4, p.321-326, 2016.
- MINCHIO, C. A.; FANTIN, L. H.; CAVIGLIONE, J. H.; BRAGA, K.; AGUIAR e SILVA, M.; CANTERI, M. G. Predicting Asian Soybean Rust Epidemics Based on Off-Season Occurrence and El Niño Southern Oscillation Phenomenon in Paraná and Mato Grosso States, Brazil. **Journal of Agricultural Science**. vol. 10, n. 11, 2018.

MORALES, A. M. A. P.; BORÉM, A.; GRAHAM, M. A.; ABDELNOOR, R. V. Advances on molecular studies of the interaction soybean - Asian rust. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.12, p.1-7, 2012.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos de toxicologia. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

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

PARLEVLIT, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v.17, p.203-222, 1979.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. 2017. Disponível em <<https://www.R-project.org/>>.

RAY, J.D.; MOREL, W.; SMITH, J.R.; FREDERICK, R.D.; MILES, M.R. Genetics and mapping of adult plant rust resistance in soybean PI 587886 and PI 587880A. **Theoretical and Applied Genetics**, v.119, p.271-280, 2009.

REIS, E. M.; BRESOLIN, A. C. R.; E M. CARMONA, E M. **Doenças da soja I: Ferrugem asiática**. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo. 2006.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. E.; REIS, A. C. **Manual de fungicidas: guia para o controle de doenças de plantas**. 5. ed. Passo Fundo: 2007.

REIS, E. M; ZANATTA, T ; ZANATTA, M. Ação curativa e erradicativa de fungicidas à *Phakopsora pachyrhizi*, em soja. **Summa phytopathologica**. vol.42, n.4, pp.295-302, 2016.

RIBEIRO, T. D., SAVIAN, T. V., FERNANDES, T. J., and MUNIZ, J. A. The use of the nonlinear models in the growth of pears of ‘Shinseiki’ cultivar. **Ciência Rural**. vol.48, n.1, 2018.

RIOS, J. A.; DEBONA, D. Efeito epidemiológico da resistência de hospedeiro Em: MONTEIRO, A. L. R.; DANELLI, A. L. D.; PEREIRA, A. S.; CASTRO, C. M.; DEBONA, D.; DIANESE, E. C.; RODRIGUES, F. A.; FERRAZ, H. G. M.; ARAUJO FILHO, J. V.; MACIEL, J. L. M.; RIOS, J. A.; BADEL, J. L.; DALLAGNOL, L. J.; THUROW, L. B.;

GUIMARÃES, L. M. S.; EIRAS, M.; CERESINI, P. C.; MOLLER, P. A.; CARVALHO, R. C. P. **Resistência genética de plantas à patógenos**. Pelotas : Ed. UFPel, 2018.

RITZ, C.; ATY, F.; STREIBIG, J. C.; GERHARD, D. Dose-Response Analysis Using R. **Plos One**. v.10, p.12, 2015.

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.

SCHERB C. T.; MEHL A. **Detached leaf monitoring method**. 2006. FRAC online: [<http://www.frac.info/monitoring-methods>]. Accessed 21 January 2018.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; AND 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, 2014.

SCHNEIDER, R. W.; HOLIER, C. A.; WHITAM, H. K.; PALM, M. E.; MCKEMY, J. M.; HERNANDEZ, J. R.; LEVY, L.; DE VRIES-PATERSON, R. First report of soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* in the continental United States. **Plant Disease**. v.89, p.774, 2005.

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

SEIXAS, C. D. S.; HARGER, N.; OLIVEIRA, F. T. DE; SERATTO, C. D.; GHELLER, J. A.; OLIVEIRA, A. B. de. **Monitoramento de *Phakopsora pachyrhizi* na safra 2017/2018 para tomada de decisão do controle da ferrugem-asiática da soja**. Embrapa Soja. Circular técnica, 141, 19p, 2018.

SILVA JUNIOR, G. J.; BEHLAU, F. **Controle Químico**. Em: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. (3th Ed.) São Paulo: Agronômica Ceres, p. 254-255, 2018.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.125, p. 21-26, 2017.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean rust. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. Compendium of soybean diseases. **American Phytopathological Society**. 4^a ed, p.3-4, 1999.

TERAMOTO, A.; MEYER, M.C.; SUASSUNA, N.D.; CUNHA, M.G. In vitro sensitivity of *Corynespora cassiicola* isolated from soybean to fungicides and field chemical control of target spot. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.4, p.281-289, 2017.

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

VALLAVIELLE-POPE, C.; GIOSUE, S.; MUNK, L.; NEWTON, A. C.; NIKS, R. E.; OSTERGARD, H.; PONS-KUHNEMANN, J.; ROSSI, V.; SACHE, I. Assessment of epidemiological parameters and their use in epidemiological and forecasting models of cereal airborne diseases. **Agronomie**. v.20, p.715-727, 2000.

WIEBKE-STROHM, B.; RECHENMACHER, C.; OLIVEIRA, L. A.; GODOY, C. V.; ZANETTINI, M. H. *Phakopsora pachyrhizi* Infection Bioassay in Detached Soybean Transgenic Leaves for Candidate Gene Validation. **Bio-protocol** v.5, 2015.

XAVIER, S. A.; CANTERI, M. G.; BARROS, D. C. M.; GODOY, C.V. Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. **Tropical Plant Pathology**, v.38, n.5, p.431-435, 2013.

XAVIER, S. A.; KOGA, L. J.; BARROS, D. C. M.; CANTERI, M. G.; LOPES, I. de O. N.; GODOY, C. V. Variação da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da desmetilação no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.41, n.3, p.191-196, 2015.

YAMANAKA, N.; YAMAOKA, Y.; KATO, M.; LEMOS, N. G.; PASSIANOTTO, A. L. L.; SANTOS, J. V. M.; BENITEZ, E. R.; ABDELNOOR, R.V.; SOARES, R. M.; SUENAGA, K. Development of classification criteria for resistance to soybean rust and differences in virulence among Japanese and Brazilian rust populations. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p.153-162, 2010.

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

YORINORI, J. T. Soybean germplasms with resistance and tolerance to Asian soybean rust and screening methods. In Facing the challenge of soybean rust in South America. JIRCAS Working Report No. 58, eds. Kudo, H. et al., JIRCAS, Tsukuba, Japan, p. 70-87, 2008.

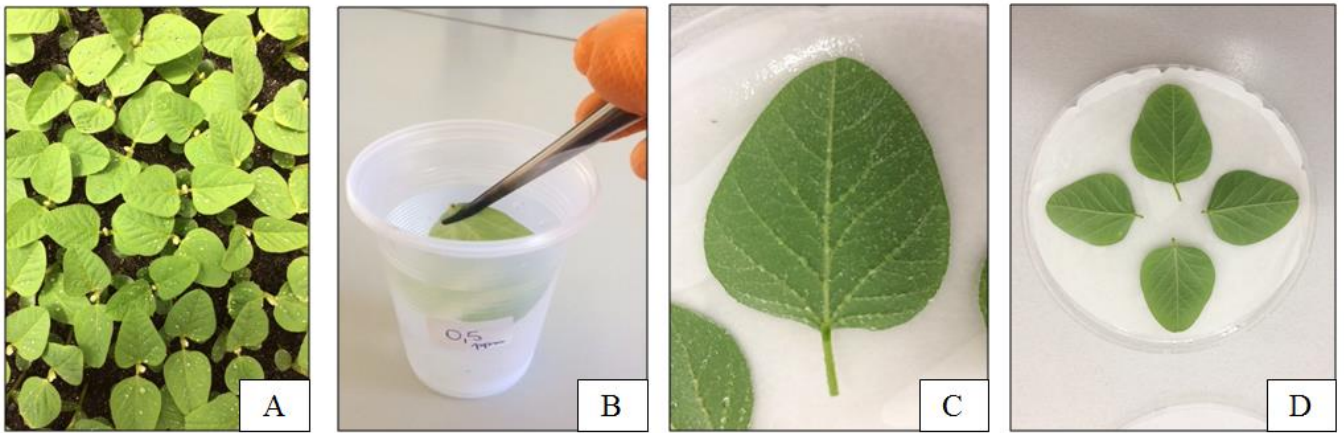
YORINORI, J.T.; LAZZAROTTO, J. J. **Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul**. Brasília: EMBRAPA, 30 p. 2004.

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

ZAMBENEDETTI, E. B.; ALVES, E.; POZZA, E. A.; ARAÚJO, D. V. de; GODOY, C. V. Avaliação de parâmetros monocíclicos e da intensidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em diferentes genótipos de soja e posição de copa. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, São Paulo, v.33, n.2, p.178-181, 2007.

ZAMBOLIM, L. Manejo integrado da ferrugem asiática da soja. Em: ZAMBOLIM, L. **Ferrugem Asiática da Soja**. p. 37-59, 2006.

ANEXOS



I. **Figura 4.** Ensaio de sensibilidade. A) Folhas de soja cultivadas em casa de vegetação. B) Tratamento das folhas com o fungicida em diferentes concentrações C) Folha após tratamento com fungicida D) Unidade amostral com folhas de soja destacadas previamente a inoculação com uredósporos do fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Foto: Próprio autor