



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LUCAS HENRIQUE FANTIN

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO COMO FERRAMENTAS
PARA AVALIAR ESTRATÉGIAS DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS NO PATOSSISTEMA
SOJA- *Phakopsora pachyrhizi***

Londrina
2021

LUCAS HENRIQUE FANTIN

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO COMO FERRAMENTAS
PARA AVALIAR ESTRATÉGIAS DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS NO PATOSSISTEMA
SOJA- *Phakopsora pachyrhizi***

Tese apresentada ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri.

Londrina
2021

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

Fantin, Lucas Henrique.

Modelagem e simulação como ferramentas para avaliar estratégias de manejo de resistência a fungicidas no patossistema soja-*Phakopsora pachyrhizi* / Lucas Henrique Fantin. - Londrina, 2021.
120 f. : il.

Orientador: Marcelo Giovanetti Canteri.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Epidemiologia - Tese. 2. Ferrugem asiática da soja - Tese. 3. Resistência - Tese. 4. Software R - Tese. I. Canteri, Marcelo Giovanetti . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

LUCAS HENRIQUE FANTIN

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO COMO FERRAMENTAS
PARA AVALIAR ESTRATÉGIAS DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS NO PATOSSISTEMA SOJA-
*Phakopsora pachyrhizi***

Tese apresentada ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Armando Bergamin Filho
Universidade de São Paulo - USP

Prof. Dra. Maria Isabel Balbi Peña
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Paulo Laerte Natti
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 19 de fevereiro de 2021.

“Dedico aos meus pais, João Antonio Fantin e Simone Zacchi, que me apoiaram de todas as formas desde o início dos meus estudos.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar o melhor caminho sempre.

A meus pais Joao Antônio Fantin e Simone Zacchi, irmã Karina Fantin e principalmente a minha namorada Karla Braga por todo companheirismo, apoio, puxões de orelha, conselhos e discussões fitopatológicas que tanto motivaram e guiaram minha trajetória.

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

Ao Dr. Frank Van den Bosch, Dra. Alice Milne, Dr. Neil Paveley e Dr. Joe Helps pelos ensinamentos e parceria no período Sanduíche em Rothamsted Research, Reino Unido.

Aos professores do departamento de Agronomia, especialmente Profa. Maria Isabel Balbi Peña, Ciro Hideki Sumida e Claudemir Zucarelli. Ao técnico do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, José Aparecido Rocha, pelos 10 anos de trabalho e amizade.

A minha banca examinadora, Prof. Dr. Armando Bergamin Filho, Profa. Dra. Maria Isabel Balbi Peña, Prof. Dr. Paulo Laerte Natti e Profa. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca, pelas considerações realizadas e por participarem deste momento.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

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

FANTIN, Lucas Henrique. **Modelagem e simulação como ferramentas para avaliar estratégias de manejo de resistência a fungicidas no patossistema soja-*Phakopsora pachyrhizi***. 2021. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Reduções de sensibilidade do fungo *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática da soja (FAS), aos principais grupos químicos de fungicidas utilizados para controle no Brasil tem sido relatadas desde 2010. Sem previsão de lançamento de ingredientes ativos com novos mecanismos de ação nos próximos anos, os esforços da pesquisa têm sido voltados para uso de misturas de dois e três ingredientes ativos, além de alterações no momento, dose e número de aplicações dos fungicidas registrados atualmente. Pouco se sabe sobre os impactos dessas medidas na dinâmica e seleção de indivíduos resistentes de *P. pachyrhizi*. O objetivo do presente estudo foi desenvolver modelos matemáticos para avaliar o controle de FAS através de aplicações de fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) e sua influência na seleção de indivíduos resistentes de *P. pachyrhizi*. Para isso, programas solo e misturas com fungicidas mutlissítios e inibidores da demetilase (DMI) foram adotados. Cenários foram criados para (i) avaliar o efeito da frequência inicial de resistentes; (ii) nível de sensibilidade dos resistentes (*shift*); (iii) custo biológico da resistência e (iv) número de aplicações e dose dos produtos na seleção de indivíduos resistentes a SDHI. As rotinas foram desenvolvidas com auxílio do software R. Foi adotado o modelo SLIR (Suscetível-Latente-Infecioso-Removido) composto por um sistema de equações diferenciais ordinais (EDO) e modificado para simular o efeito dos fungicidas na população do patógeno. Os parâmetros relacionados ao hospedeiro, patógeno e fungicida foram ajustados através de resultados de ensaios de campo e laboratório. A variável resposta foi o tempo (safras) para que a frequência de resistentes a SDHI na população alcance 50% foi utilizada (T50). **Artigo A** - Os resultados apresentaram relação inversa entre frequência inicial de resistentes e T50, da mesma forma, o nível de sensibilidade dos resistentes (*shift*). Houve acréscimo de 14, 8 e 5 safras quando o *shift* passou de 50 para 90% em programas solo com uma, duas e três aplicações, respectivamente. A pressão de seleção imposta pelo aumento do número de aplicações de um para três reduziu o T50. Da mesma forma, o aumento da dose de SDHI favoreceu a seleção de resistentes. A penalidade biológica de um dia no período latente de resistentes prolongou o T50 em duas safras. Penalidades de três e cinco dias prolongaram o T50 em 16 safras. **Artigo B** – A associação de DMI ou mutlissítio ao SDHI prolongou T50. O aumento da dose do fungicida parceiro reduziu a seleção de resistentes. Cenário com 200% da dose de multissítio prolongou sete safras até T50 em relação a dose de 50%. O mesmo comportamento foi observado para aumento da dose de DMI. Houve acréscimo de três safras com o dobro da dose de DMI em programa com uma aplicação de SDHI. A presença de penalidade biológica prolongou o T50. Nos cenários simulados, o limiar de *shift* para seleção de indivíduos resistentes foi de 70%, ou seja, a seleção de indivíduos resistentes não ocorreu quando os indivíduos apresentaram sensibilidade de 70% ao fungicida SDHI. Os resultados mostram que a combinação de multissítios reduz a seleção de resistentes a SDHI, tendo a dose do fungicida na mistura um efeito determinante no manejo anti-resistência. O tempo entre introdução do fungicida e resistência está relacionada com a sensibilidade dos indivíduos resistentes, número de aplicações e o momento em que as medidas são adotadas. A penalidade biológica de indivíduos resistentes prolongou a vida útil dos fungicidas SDHI e indicou ser limitante na seleção de indivíduos. Os resultados sugerem que a adoção de medidas anti-resistência deve ser planejada antes do lançamento do ingrediente ativo

e a vida útil do produto varia de acordo com o grau de resistência. Os modelos podem auxiliar pesquisadores a entender como diferentes modos de ação podem afetar a seleção de indivíduos.

Palavras-chave: epidemiologia; equação diferencial; ferrugem asiática da soja; resistência; software r.

FANTIN, Lucas Henrique. **Modeling and simulation as tools to evaluate fungicide resistance management strategies in the soybean-*Phakopsora pachyrhizi* pathosystem.** 2021. 120 p. Thesis (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

ABSTRACT

Sensitivity losses of the fungus *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust (ASR), to the main chemical groups used in Brazil have been reported since 2010. With no forecast of launching active ingredients with new mechanisms of action in the coming years, research efforts have been focused on the use of mixtures of two and three active ingredients, in addition to changes in the moment, dose and number of applications of the currently registered fungicides. Little is known about the impacts of these measures on the dynamics and selection of resistant *P. pachyrhizi* individuals. The aim of the present study was to develop mathematical models to evaluate the control of FAS through applications of succinate inhibitors of succinate dehydrogenase (SDHI) and its influence on the selection of resistant individuals of *P. pachyrhizi*. For that, soil programs and mixtures with multi-site fungicides and demethylase inhibitors (DMI) were adopted. Scenarios were created to (i) evaluate the effect of the initial frequency of resistance; (ii) the sensitivity level of the resistance (*shift*); (iii) biological cost of resistance and (iv) number of applications and dose of products in the selection of individuals resistant to SDHI. The routines were developed with the aid of R software. The SLIR model (Susceptible-Latent-Infectious-Removed) composed by a system of ordinal differential equations (ODE) was adopted and modified to simulate the effect of fungicides on the pathogen population. The parameters related to the host, pathogen and fungicide were adjusted through results of field and laboratory tests. The response variable was the time (harvests) for the frequency of resistant to SDHI in the population to reach 50% (T50). Article A - The results showed an inverse relationship between the initial frequency of resistors and T50, in the same way, the resistance level (*shift*). There was an increase of 14, 8, and 5 seasons when the *shift* went from 50 to 90% in solo programs with one, two, and three applications, respectively. The selection pressure imposed by increasing the number of applications from one to three reduced T50. Likewise, the increase in the dose of SDHI increased the selection of resistant individuals. The one-day biological penalty in the latent resistant period prolonged T50 in two seasons. Penalties of three and five prolonged T50 in 16 seasons. Article B - The addition of a DMI and Multisite partner extended T50. Increasing the partner's dose reduced the selection of resistance. Scenario with the 200% dose of Multisite prolonged seven seasons until T50 in relation to the dose of 50%. The same was observed for increasing the dose of DMI. Three seasons were added with double the dose of DMI in a program with an application of SDHI. The presence of a biological penalty prolonged T50. In the simulated scenarios, the *shift* threshold for the selection of resistant individuals was 70%, that is, the selection of resistant individuals did not occur when the individuals presented 70% sensitivity to the SDHI fungicide. The results demonstrate that the combination of multisite reduces the selection of resistance to SDHI, being the dose of the fungicide in the mixture determinant to present effect in the anti-resistance management. The time between introduction and resistance is related to the sensitivity of resistant individuals, the number of applications, and the moment when the measures are adopted. The biological penalty of resistant individuals prolonged the life of the SDHI and indicated to be limited in the selection of individuals. The results suggest that the adoption of anti-resistance measures should be planned before the launch of the active ingredient and the

product's life varies according to the degree of resistance. Models results can help researchers understand how different modes of action can affect the selection of individuals.

Key words: asian soybean rust; differential equations; epidemiology; r software; resistance.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|--------------------|--|----|
| Figura 1 - | Fases do ciclo de vida de fungos da ordem Pucciniales..... | 17 |
| Figura 2 - | Diagrama do modelo de simulação de epidemia de ferrugem asiática | 33 |
| Figura 3 - | Organograma do modelo de simulação que descreve o desenvolvimento dos indivíduos sensíveis e resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em folhas de soja durante a safra..... | 44 |
| Figura 4 - | Curva de introdução de urediniósporos no sistema durante o desenvolvimento do hospedeiro..... | 46 |
| Figura 5 - | Modelo de simulação do crescimento do hospedeiro ajustado através dos dados de Moreira et al. (2015)..... | 50 |
| Figura 6 - | Seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI em programas de aplicações solo de SDHI | 55 |
| Figura 7 - | Seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI em programas de aplicações solo de SDHI, combinados a - 1 a 200 % dose recomendada e níveis de sensibilidade dos resistentes | 60 |
| Figura 8 - | Seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI em programas de aplicações de SDHI + multissítio | 77 |
| Figura 9 - | Ganho em safras com associação de fungicidas multissítios em relação a programas de aplicação solo | 79 |
| Figura 10 - | Seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI em programas de aplicações de SDHI + DMI..... | 81 |
| Figura 11 - | Ganho em safras com associação de fungicida DMI em relação a programas de aplicação solo..... | 82 |
| Figura 12 - | Programas de controle com adição de fungicida multissítio na seleção de indivíduos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> resistentes a fungicidas SDHI..... | 84 |
| Figura 13 - | Programas de controle com adição de fungicida DMI na seleção de indivíduos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> resistentes a fungicidas SDHI..... | 86 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabela 1 - | Descrição de parâmetros e valores adotados (<i>Assumptions</i>) nos modelos de simulação de resistência de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI..... | 51 |
| Tabela 2 - | Programas e cenários simulados para estudar o efeito de aplicações de fungicidas na seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI..... | 53 |
| Tabela 3 - | Descrição de parâmetros e assumptions adotados nos modelos de simulação de resistência de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas SDHI | 72 |
| Tabela 4 - | Programas de manejo de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> simulados | 74 |
| Tabela 5 - | Programas e cenários simulados para estudar o efeito de aplicações de misturas de modos de ação na seleção de indivíduos resistentes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a SDHI | 76 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| AACPD | Área abaixo da curva de progresso da doença |
| ASR | <i>Asian soybean rust</i> |
| DAE | Dias após emergência |
| DMI | <i>Demethylation Inhibitor</i> |
| EDO | Equação diferencial ordinal |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária |
| FAS | Ferrugem asiática da soja |
| FRAC | <i>Fungicide Resistance Action Committee</i> |
| IAF | Índice de área foliar |
| QoI | <i>Quinone outside inhibitor</i> |
| SDHI | <i>Succinate dehydrogenase inhibitor</i> |
| SIR | Modelos “ <i>Susceptible-Infection-Removed</i> ” |
| SLIR | Modelos “ <i>Susceptible-Latent-Infection-Removed</i> ” |
| USDA | <i>United States Department of Agriculture</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 14 |
| 2.1 | IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA | 14 |
| 2.2 | FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA | 15 |
| 2.2.1 | Histórico | 15 |
| 2.2.2 | Etiologia..... | 15 |
| 2.2.3 | Ciclo de Vida | 16 |
| 2.2.3.1 | Sobrevivência e disseminação | 17 |
| 2.2.3.2 | Infecção | 20 |
| 2.2.3.3 | Colonização e reprodução | 20 |
| 2.2.4 | Sintomatologia | 21 |
| 2.2.5 | Estratégias de Manejo | 22 |
| 2.2.5.1 | Controle cultural e genético..... | 22 |
| 2.2.5.2 | Controle químico..... | 23 |
| 2.2.5.2.1 | <i>Estrobilurinas</i> | 24 |
| 2.2.5.2.2 | <i>Triazóis</i> | 24 |
| 2.2.5.2.3 | <i>Carboxamidas</i> | 26 |
| 2.2.5.2.4 | <i>Ditiocarbamatos</i> | 27 |
| 2.2.6 | Tecnologia de Aplicação de Produtos Fitossanitários..... | 28 |
| 2.2.7 | Resistência de fungos à fungicidas e Custos biológicos | 30 |
| 2.3 | SIMULAÇÃO DE DOENÇAS DE PLANTAS..... | 32 |
| 2.3.1 | Histórico | 32 |
| 2.3.2 | Definições e Conceitos | 34 |
| 2.3.4 | Modelos SIR e SLIR | 35 |
| 2.3.3 | Modelos de Simulação Resistência | 37 |
| 3 | ARTIGO A: MODELOS DE SIMULAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE <i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> A FUNGICIDAS SDHI | 40 |
| 3.1 | RESUMO | 40 |
| 3.2 | ABSTRACT | 41 |
| 3.3 | INTRODUÇÃO | 42 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.4 | MATERIAL E MÉTODOS | 44 |
| 3.5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 54 |
| 3.7 | CONCLUSÕES | 63 |
| 4 | ARTIGO B: MISTURA DE FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICOS E MULTISSÍTIOS NO MANEJO DE RESISTÊNCIA DE <i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> A SDHIS | 64 |
| 4.1 | RESUMO | 64 |
| 4.2 | ABSTRACT | 65 |
| 4.3 | INTRODUÇÃO | 66 |
| 4.4 | MATERIAL E MÉTODOS | 68 |
| 4.5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 77 |
| 4.7 | CONCLUSÕES | 88 |
| | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 89 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 90 |
| | APÊNDICES | 109 |

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros casos epidêmicos de ferrugem asiática da soja (FAS) no Brasil ocorreram na safra 2001/02, e até a safra 2019/20 estimam-se custos anuais médios de aproximadamente US\$ 2,5 bilhões (GODOY et al., 2016). Apesar das recomendações de manejo do patógeno indicarem outras alternativas, tais como o uso de cultivares resistentes (tolerantes), semeadura no início do período recomendado, eliminação de plantas guaxas durante o vazio sanitário, entre outras, o uso de fungicidas é a principal estratégia de controle efetivamente utilizada, podendo ser adotado via tratamento de sementes e parte aérea (FANTIN et al., 2016).

Os principais fungicidas registrados para controle pertencem às classes químicas dos triazóis, estrobilurinas, ditiocarbamatos e carboxamidas, que foram registrados e comercializados a partir da safra 2013/14 (LANGENBACH et al., 2016). Indivíduos com alterações genéticas que conferem menor sensibilidade aos grupos dos triazóis e estrobilurinas foram confirmados, ocasionando redução de eficiência e falhas no controle da doença no campo (KLOSOWSKI; MAY DE MIO; et al., 2016; SCHMITZ et al., 2014; XAVIER et al., 2015). Na safra 2016/17, cerca de três anos após a introdução do primeiro fungicida composto por ingrediente ativo do grupo das carboxamidas (SDHI) no mercado, falhas de controle no Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso foram observadas (FRAC, 2017) e confirmadas pela alteração I86F da subunidade C do citocromo (SIMÕES et al., 2018), podendo ainda estar ligados a outras alterações segundo Mello et al. (2021).

A emergência de resistência de fungos, bactérias, plantas daninhas e insetos aos ingredientes ativos usados no controle químico é um problema global que ameaça à segurança alimentar (FISHER et al., 2018). Não há previsão de introdução ou lançamento de ingredientes ativos que apresentem novos mecanismos de ação para os próximos anos. Esforços da pesquisa têm sido voltados para testes com misturas de dois ou três ingredientes ativos, e alterações de época, dose e número de aplicações (KOGA et al., 2014). Contudo, pouco se sabe sobre os impactos das novas estratégias na dinâmica populacional do fungo *P. pachyrhizi* e na seleção de indivíduos resistentes.

O uso de modelos de simulação computacional pode auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias, permitindo a elaboração de programas de manejo de controle e resistência. Na modelagem computacional, o objetivo é desenvolver a representação simplificada ou genérica de um sistema real, através de equação ou conjunto de equações, conhecido como modelo matemático (MAANEN; XU, 2003). Ao representar o sistema real em um modelo numérico, sempre existem perdas de informação, visto que sistemas agrícolas são compostos

por complexas combinações de vários componentes e não é possível a descrição completa de todas as variáveis e suas dinâmicas (FANTIN; CANTERI, 2018). Assim, no modelo são utilizadas apenas as partes essenciais para explicar o comportamento do processo, sendo que o grau de erro envolvido na modelagem depende da quantidade de informações essenciais do sistema que são ignoradas e a qualidade da informação.

A presente tese tem como objetivo desenvolver modelos matemáticos para avaliar programas de manejo de FAS compostos por programas com aplicações de fungicidas do grupo dos *Succinate dehydrogenase inhibition* (SDHI) e sua influência na seleção de indivíduos resistentes de *P. pachyrhizi*. Na primeira parte, programas com aplicação apenas de fungicidas SDHI foram simulados. Na segunda parte, misturas de fungicidas SDHI e DMI ou multissítio foram adotadas. Cada programa foi simulado em cenários com objetivo de (i) avaliar o efeito da frequência inicial de indivíduos resistentes; (ii) nível de sensibilidade dos indivíduos resistentes (*shift*), (iii) custo biológico da resistência, (iv) número e (v) dose do fungicida solo e em mistura na seleção de indivíduos resistentes a SDHI.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

A soja (*Glycine max* L. Merrill) possui centro de origem na Ásia. Os primeiros relatos de cultivo da soja no continente americano datam do início do século XIX, como promissora forrageira e produtora de grãos nos Estados Unidos. No Brasil o primeiro registro foi em 1882, no estado da Bahia, chegando a São Paulo em meados de 1890. O início da soja como grande cultura no Brasil, se deu a partir da década de 40, no Rio Grande do Sul, e foi impulsionada na década de 50 em função das geadas que dizimaram as áreas cafeeiras do estado do Paraná. Na década de 60 e 70 a cultura chegou ao Centro-Oeste e na década de 90, avançou para a região do Mato Grosso, tornando-se a maior cultura em área cultivada no país (EMBRAPA, 2013).

Entre os motivos de expansão e destaque da cultura no Brasil e em todo mundo, Hirakuri e Lazzarotto (2014) citam três parâmetros principais: elevado teor de proteína nos grãos (cerca de 40%), conferindo importante papel nutricional na alimentação de animais, considerável teor de óleo (aproximadamente 20%), podendo ser utilizado na produção de biocombustível e alimentação humana, e a fácil absorção das tecnologias para a produção da cultura.

Reflexo dos avanços tecnológicos, o Brasil consagrou-se como maior produtor mundial de soja na safra 2019/20, com produção recorde estimada em 124,8 milhões de toneladas, ganho de 4,3% em relação à temporada 2018/19. A área plantada também cresceu 3% em relação à safra passada, saindo de 35,8 mil hectares para os atuais 36,9 mil hectares e apesar do impacto negativo causado pelo desempenho da safra do Rio Grande do Sul, o país obteve a terceira maior produtividade média registrada, com 3379 kg/ha⁻¹ (CONAB, 2020).

Além de maior produtor, o Brasil é o maior exportador do grão de acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), correspondendo a 42,5 % do total de soja exportada no mundo (63,5 milhões de toneladas). O principal importador é a China. A cultura desempenha papel fundamental nas relações econômicas do Brasil, estima-se que direta e indiretamente, a cadeia produtiva da oleaginosa é responsável por mais de 10 milhões de empregos em todo o país, correspondendo a cerca de 31% do valor das exportações de todo o agronegócio e 12,8% de todas as exportações brasileiras (USDA, 2020).

De acordo com boletim da Companhia Nacional de Abastecimento publicado em novembro, para a safra 2020/21, as expectativas são de crescimento contínuo da área plantada e produção da oleaginosa, com incremento de 3,5%, em comparação à safra anterior, atingindo

38,2 milhões de hectares semeados e volume estimado de 134,95 milhões de toneladas, aumento de 8,1% em relação à safra 2019/20. As oscilações climáticas têm impactado no ritmo das operações, no entanto, as expectativas são otimistas, respaldada pela forte demanda chinesa, câmbio favorável e preços da soja em um bom patamar, criando um cenário onde os produtores poderão investir mais no pacote tecnológico e cuidados na condução e manejo dos cultivos (CONAB, 2020).

2.2 FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA

2.2.1 Histórico

O primeiro relato de ocorrência da FAS, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. 1914, em plantas de soja, data de 1902 no Japão (WRATHER et al., 1997). Posteriormente o fungo foi disseminado para regiões do sudeste da China e Índia e em 1990 foi relatado pela primeira vez na África (PRETORIUS et al. 2001; MURITHI et al. 2016).

Nos dias atuais o fungo encontra-se disseminado em todas as regiões produtoras de soja do mundo. Na América do Sul, a primeira ocorrência data de março de 2001, na cidade de Pitapó, Paraguai. Em seguida, no mês de maio, a doença foi observada em plantas voluntárias no Brasil, na região noroeste do Paraná, e na safra 2003 na Bolívia (YORINORI et al., 2005). Os autores citaram que testes moleculares confirmaram a ocorrência da espécie *P. pachyrhizi* nos dois países. Nos primeiros anos de surtos epidêmicos, as perdas de rendimento foram altas, devido à ausência de fungicidas eficazes e falta de informação dos agricultores sobre a presença de novas doenças (GODOY et al., 2016).

Na safra 2002/03, a doença estava presente em quase todas as áreas produtoras de soja do Brasil (YORINORI et al., 2005). No ano seguinte, houve o primeiro relato nos Estados Unidos. De acordo com Isard et al. (2011) a disseminação do patógeno para os Estados Unidos ocorreu através da movimentação de massas de ar associadas ao furacão “Ivan”.

2.2.2 Etiologia

O gênero *Phakopsora* pertence ao reino Fungi, filo Basidiomycota, Família *Phakopsoraceae* (ONO, 2000). A doença conhecida como ferrugem da soja pode ser causada por duas espécies do gênero *Phakopsora*, *P. meibomiae* Arthur (Arthur), causadora da ferrugem americana e a espécie *P. pachyrhizi* Syd. & P. Syd. causadora da ferrugem asiática.

A diferenciação da ferrugem americana e asiática ocorreu em 1992, quando Ono et al. (1992) estudando a morfologia de teliósporos de isolados do gênero *Phakopsora*, observaram que a doença poderia ser causada também pela espécie *P. meibomiae*. Segundo os autores, a principal diferença entre as duas espécies é o tipo de organização dos teliósporos. Os teliósporos de *P. pachyrhizi* são organizados em duas e sete camadas, com esporo de coloração marrom amarelo pálido (*Pale yellowish brown*) e espessura no ápice variando de 1 a 3 μm . Já *P. meibomiae* possui teliósporos organizados em uma e quatro camadas e esporos com coloração canela a castanho claro (*Cinnamon to light chestnut-brown*) com espessura variando 1,5 a 6 μm no ápice.

2.2.3 Ciclo de vida

As ferrugens pertencem ao filo Basidiomycota, que abriga diversos fungos de importância fitopatológica, como ferrugens da cana, trigo, milho, soja, e também fungos de importância alimentícia, como cogumelos. Organismos presentes nesse filo podem apresentar reprodução sexuada e assexuada. Esses indivíduos, do ponto de vista evolutivo, são considerados os mais evoluídos dentre os fungos verdadeiros e falsos fungos (oomicetos). A estrutura característica da classe dos basidiomicetos é o basídio e os basidiósporos. Outra característica importante são os grampos de conexão.

O fungo *P. pachyrhizi* pertence a ordem *Pucciniales*. Indivíduos dessa ordem podem apresentar basicamente cinco fases, segundo a nucleação (HIRATSUKA, 1973):

Estágio 0 – Estádio espermogonial, produz espermásias (n) e hifas receptivas (n);

Estágio I – fase aecial que produz aeciósporos (n+n);

Estágio II - compreende o estágio uredial que produz urediniósporos (n+n);

Estágio III – fase telial, produz teliósporos (2n);

Estágio IV – Referente a fase basidial, formação de basidiósporos (n);

A figura 1 apresenta de forma esquemática as fases do ciclo de vida de fungos da ordem *Pucciniales*. A ordem *Pucciniales* é recente. No trabalho original, Hiratsuka (1973) utilizou a ordem *Uredinales*.

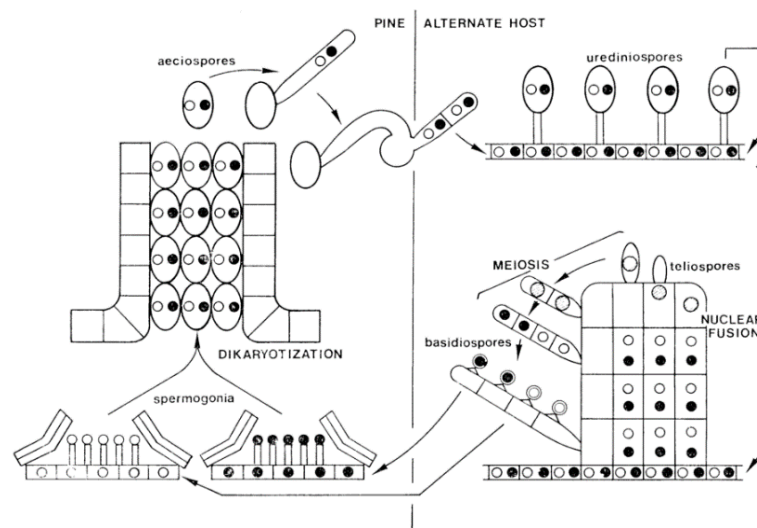


Figura 1 – Fases do ciclo de vida de fungos da ordem *Pucciniales*.
Fonte: Hiratsuka (1973).

No caso do fungo *P. pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática da soja, são conhecidos apenas as fases uredial e telial (YEH; SINCLAIR; TSCHANZ, 1981). Em condições de campo no Brasil, a fase telial não é observada ou conhecida (FERREIRA et al., 2006). Dessa forma, a variabilidade genética nas populações eventualmente é dada por outros mecanismos, como mutações e ciclo parasexual. A fase uredial é caracterizada pela formação de urediniosporos ou uredosporos (FERREIRA et al., 2006).

Os processos que compõem o ciclo da FAS compreendem: sobrevivência, disseminação, infecção, colonização e reprodução. O patógeno é considerado biotrófico, por isso, necessita do hospedeiro para sobreviver e completar seu ciclo. O ciclo de doenças de plantas para Wolf e Isard (2007) representa uma série de eventos biológicos interligados, afetados por patógeno, hospedeiro e ambiente.

2.2.3.1 Sobrevivência e Disseminação

Em condições de campo, o fungo *P. pachyrhizi* produz esporos conhecidos como urediniosporos. Os urediniosporos possuem formato ovoide e tamanho médio de 17 a 45 µm de largura e 15 a 27 µm de comprimento (ONO; BURITICÁ; HENNEN, 1992). A disseminação ocorre principalmente através do vento, possuindo capacidade de dispersão alongas distâncias (ISARD et al., 2011; KELLY et al., 2015; MARCHETTI; UECKER; BROMFIELD, 1975). Acredita-se que a chegada do fungo a América do Sul tenha ocorrido através do transporte de formações de agregados de esporos, provenientes da África, via correntes de ar de alta altitude. Na América do Norte, a disseminação do fungo ocorreu através

de massas de ar oriundas da América do Sul, disseminadas pelo furacão “Ivan” (ISARD et al., 2011). Na América do Sul, modelos numéricos apresentaram a disseminação de urediniósporos de *P. pachyrhizi* do Paraguai para o estado do Paraná através de frentes frias (FANTIN et al., 2020).

Os esporos disseminados através do vento têm a capacidade de atingir altas altitudes. A deposição na superfície do hospedeiro pode ocorrer através do vento ou via precipitação pluviométrica. Li et al. (2009) através de modelos de dispersão de partículas estudaram a disseminação e deposição de esporos de *P. pachyrhizi* em condições de precipitação e não precipitação. Os autores concluíram que uma precipitação de 0,5 mm por 1 hora é capaz de remover 50% dos esporos presentes na atmosfera. Para precipitação de 5 mm o tempo necessário é de apenas 10 minutos. Avaliando o cenário sem precipitação, o tempo necessário para deposição de 50% dos esporos presentes no ar é de 24 horas. Os resultados enfatizam a eficiência da chuva na deposição de esporos.

O processo de cálculo de deposição de esporos e partículas é expresso pelo coeficiente de eliminação (“*Scavenging coefficient*”) que é influenciado pelo tamanho da partícula, densidade, taxa de precipitação e tamanho da gota da chuva (MIRCEA; STEFAN; FUZZI, 2000). Assim, a velocidade, taxa de disseminação e deposição podem variar de acordo com o tamanho do agregado de urediniósporos de *P. pachyrhizi* (MELCHING; BROMFIELD; KINGSOLVER, 1979). Nesse sentido, Monteil, Bardin e Morris (2014) estudaram o efeito da precipitação e neve na deposição dos patógenos *Pseudomonas syringae* e *Botrytis cinerea* Pers. e observaram diferenças na trajetória de disseminação em função das diferenças entre eles. Os autores citam a importância em se conhecer a disseminação de patógenos na atmosfera para a elucidar processos envolvendo a ocorrência de doenças em plantas.

Na atmosfera os patógenos estão expostos à diversos fatores abióticos, como temperaturas extremas e radiação ultravioleta (UV). Isard et al. (2006a) avaliaram a relação entre viabilidade de urediniósporos e exposição ao solar e a radiação UV em Capitán Miranda, Paraguai, e observaram que não houve germinação de esporos quando expostos ao intervalo de $\geq 1.2 \text{ MJ/m}^2$ e $< 27.3 \text{ MJ/m}^2$ e de radiação UV. O efeito de temperaturas extremas no desenvolvimento da doença foi avaliado por Bonde, Nester e Berner (2013). Os autores concluíram que a temperatura de 35°C por uma hora, durante três dias, reduziu em 50% a produção de urediniósporos, não apresentando a formação de novas pústulas com temperatura acima de 37°C. Em função disso, os autores atribuem às altas temperaturas o atraso no desenvolvimento da ferrugem asiática da soja no sudeste dos Estados Unidos. Em condições de baixas temperaturas, Jurick et al. (2008) observaram que urediniósporos de *P. pachyrhizi* em

folhas destacadas de Kudzu no estado da Florida, submetidos a temperatura de 4°C, produziram esporos viáveis. Quando as folhas foram submetidas às temperaturas de -4 e -20°C houve redução drástica na viabilidade dos esporos germinados em ágar-água, contudo, quando a umidade foi inferior a 35% houve maior viabilidade, demonstrando que as folhas de Kudzu podem ser potenciais fontes de inóculo. Os autores citam que a sobrevivência dos esporos está relacionada a condições de temperatura e umidade. Isard et al. (2006b) argumentam que a capacidade do fungo em sobreviver a diversas condições ambientais, garantiram a disseminação da Índia para África Central, da África para América do Sul e América do Norte e ainda sugerem que o fungo possa sobreviver por dias e até semanas.

No Brasil não existem relatos de formação de teliósporos em condições de campo. A formação de télia e teliósporo foi relatada por Carmona; Fortugno e Achával (2005) em condições de campo na Argentina em plantas de *Lab-lab purpureus* e *Carnavalis villosa*. Apesar dos fungos *P. pachyrhizi* e *P. meibomiae* serem parasitas altamente especializados, os fungos apresentam grande gama de hospedeiros, podendo esporular em 31 espécies de 17 gêneros e 42 espécies de 19 gêneros de oleaginosas, respectivamente (ONO; BURITICÁ; HENNEN, 1992). Apesar disso, a soja é o principal hospedeiro do fungo, sendo também a principal cultura econômica em diversos países da América do sul, favorecendo a incidência do patógeno.

Li et al. (2010) citam que as condições ambientais do Brasil, Paraguai e Bolívia permitem a sobrevivência do patógeno de ano após ano, devido à presença de hospedeiros vivos. Em função disso implantou-se no Brasil o vazio sanitário, período em que não é permitido o cultivo de soja no país (GODOY et al., 2016). No entanto, a manutenção do fungo vivo nesse período ocorre através pela presença de plantas de soja voluntárias ou “guaxas” e presença de outros hospedeiros. Minchio et al. (2016, 2018) estudando a ocorrência de epidemias de ferrugem asiática a partir de relatos de ocorrência em “plantas guaxas” na entressafra, observaram correlação positiva entre o número de casos na entressafra e casos na safra. Os autores sugerem que a presença de plantas hospedeiras na própria área ou em áreas próximas durante o período de entressafra é uma das principais fontes de inóculo. Outra forma de identificar a “chegada” de urediniósporos é através de coletores de esporos e da análise da água da chuva via técnicas de espectrometria (FANTIN et al., 2019).

No caso de regiões produtoras dos Estados Unidos, a principal fonte de inóculo depende de dispersão de esporos por longas distâncias, já que períodos de neve eliminam os hospedeiros do fungo (PIVONIA; YANG; PAN, 2005). Apesar disso, Twizeyimana e Hartman (2010) verificaram a capacidade do fungo de sobreviver em folhas destacadas de Kudzu

submetidos a baixas temperaturas.

2.2.3.2 Infecção

Diferente de outros fungos causadores de ferrugem, como *Puccinia sorghi* Schwein, o fungo *P.pachyrhizi* possui a capacidade de penetrar diretamente no interior do hospedeiro, não necessitando de aberturas naturais como estômatos. Urediniósporos depositados na superfície das folhas com a presença de umidade e temperatura favoráveis já começam o processo de germinação dos esporos através da emissão do tubo germinativo. O fungo apresenta capacidade de infectar o hospedeiro em temperatura variando 10 a 27.5°C (MELCHING, 1989). A temperatura ótima para germinação de urediniósporos varia entre 21 e 25°C com tempo de 3 a 6 horas para germinação total dos urediniósporos segundo Bonde et al. (2007) e de 20 a 23°C com tempo de 6 horas para Marchetti (1976) e Melching (1989). O molhamento foliar contínuo também é um importante fator na ocorrência da doença a níveis epidêmicos (DEL PONTE et al., 2006). De acordo com Xavier et al. (2017) a idade dos trifólios também pode interferir na taxa de infecção.

Após o período de germinação, ocorre o processo de penetração através da pressão mecânica exercida pela hifa com auxílio de enzimas digestivas (EDWARDS; BONDE, 2011). Os autores enfatizam que o conhecimento sobre como o fungo infecta o hospedeiro pode ser útil para orientar pesquisa de resistência a doenças. A presença de genes de resistência pode afetar o processo de penetração. No estudo de Braga et al. (2020), a severidade da doença causada por diferentes isolados foi inferior quando inoculadas em cultivar resistente. Os autores observaram variação na resposta da cultivar resistente aos dezessete isolados testados. Magnani; Alves e Araújo (2007) acompanharam o processo de infecção e colonização de diferentes cultivares apresentando genes de resistência *Rpp2* e *Rpp4* e cultivares sensíveis através do uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os autores observaram que o tempo necessário para a formação do apressório foi superior para as cultivares com gene de resistência. Além disso, houve diferença na taxa de germinação e formação de apressório entre as demais cultivares. Os resultados corroboram com o estudo de Bonde; Melching e Bromfield (1976) avaliando diferentes genótipos de soja. Após a infecção o fungo começa o processo de colonização.

2.2.3.3 Colonização e reprodução

A colonização das hifas do patógeno ocorre nos espaços intercelulares do tecido

infectado e a formação das urédias se dá por uma agregação de hifas, formando o primórdio uredial. Em trabalho desenvolvido no Brasil, o período de incubação da doença foi de seis dias e o período de latência, de 6 a 12 dias, quando ocorre a produção de urediniosporos (MAGNANI; ALVES; ARAÚJO, 2007). A produção máxima de urediniosporos ocorreu nas temperaturas de 22 e 25 °C, com 7.348 e 8.456 urediniosporos.cm⁻². Quando submetidos as temperaturas de 10 e 30 °C não houve infecção do patógeno (DANELLI; REIS, 2016).

Após a formação de urédias, ocorre a formação de télia e teliósporos (fase sexuada), sendo formadas ao redor ou nas margens das lesões (YEH; SINCLAIR; TSCHANZ, 1981). Os autores citam que a formação de télia e teliósporos ocorreu cerca de 30 dias após a inoculação em folhas de soja, mantidos em câmaras de crescimento com temperatura mínima de 15°C. Não houve formação de télia em ensaios de campo que apresentaram temperaturas superiores a 25°C. Ferreira et al. (2006) avaliaram a influência da temperatura na formação de télia e teliósporos em duas cultivares, Pintado e Uirapuru e a morfologia de télia e teliósporos através da microscopia eletrônica de varredura. Após a ocorrência dos sintomas (sete dias após inoculação), os autores submeteram as plantas às temperaturas de 10, 15 e 20°C, fotoperíodo de 12 horas e umidade de 65%. A cultivar “Pintado” apresentou a formação de télia após 25 dias sob temperatura de 15°C e a cultivar Uirapuru apresentou aos 30 dias. Xu e Ridout (1998), através de modelos estocásticos para simulação das condições ambientais do início da epidemia observaram que o comportamento da curva é principalmente afetado pelas condições climáticas de temperatura e umidade.

2.2.4 Sintomatologia

Os sintomas da ferrugem asiática da soja podem se manifestar em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura. Geralmente nas folhas, surgem como pequenos pontos de aproximadamente 1 mm de diâmetro, com coloração esverdeada a cinza esverdeada. Ao redor das lesões são observados halos cloróticos de 2 a 5 mm² (SINCLAIR; BACKMAN, 1993). Com o desenvolvimento do fungo no interior do tecido, ocorre a formação de pequenas protuberâncias na face abaxial da folha, conhecidas como urédias.

As urédias adquirem cor castanho-claro a escuro e liberam os urediniosporos que se depositam ao redor da lesão. A medida que a infecção evolui o tecido ao redor da lesão assume coloração de palha TAN (*tanish* ou lesão suscetível) a castanho-avermelhada RB (*redish-brown* ou lesão resistente) (BONDE et al., 2006). Ao final da esporulação, o tecido lesionado escurece em ambas as faces da folha.

Os sintomas podem ser facilmente confundidos com sintomas característicos de outras doenças, como pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodes* pv. *glycines*), crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*) e mancha parda (*Septoria glycines* Hemmi) (EMBRAPA, 2013). A infecção por *P. pachyrhizi* causa rápido amarelecimento e queda prematura das folhas. Quanto mais precocemente ocorrer a desfolha, maior a perda do rendimento e da qualidade (grãos verdes e pequenos). Em casos severos, quando a doença atinge a soja na fase de formação das vagens ou no início da granação, observa-se o aborto e queda das vagens, resultando em perdas totais de rendimento.

Em função do microclima formado no dossel da cultura no início do estágio reprodutivo, os primeiros sintomas geralmente são encontrados nos trifólios do terço inferior. Xavier et al. (2017), estudando a influência da idade do trifólio e do estágio da planta na suscetibilidade de ferrugem asiática da soja, concluíram que as folhas velhas em plantas jovens são mais suscetíveis à infecção de *P. pachyrhizi*. Os resultados podem estar associados aos relatos de Furtado et al. (2009).

2.2.5 Estratégias de Manejo

2.2.5.1 Controle cultural e genético

O fungo *P. pachyrhizi* é biotrófico, ou seja, sobrevive apenas em hospedeiro vivo, não apresentando estruturas de resistência. O manejo da fonte de inóculo, através da eliminação de hospedeiros, pode ser considerado uma das principais medidas de controle. Em função disso, em 2007 no Brasil, foi instalado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o vazio sanitário (GODOY et al., 2016). A medida consiste na erradicação de plantas vivas de soja no período pré-estabelecido, que varia de 60 a 90 dias dependendo do estado. Apesar da normativa, o número de casos de ferrugem asiática da soja no Brasil tem aumentado ao longo dos anos. Alguns estudos indicam que o número de casos pode estar associado à presença de plantas guaxas em estados como Rio Grande do Sul, que não adotaram o vazio sanitário até a safra 2018/19 (MINCHIO et al., 2016, 2018).

As principais recomendações de manejo abordam medidas que visam à “fuga” da época mais favorável ao desenvolvimento da doença, com o uso de cultivares de ciclo precoce e a semeadura antecipada, no início do período recomendado (EMBRAPA, 2013). Outra importante ferramenta de manejo da doença é o uso de cultivares resistentes. Um dos primeiros trabalhos com genótipos resistentes foi realizado por (BONDE; MELCHING; BROMFIELD,

1976), que também introduziram a classificação de genótipos quanto à resistência a ferrugem asiática da soja. Os autores avaliaram as características de germinação do patógeno inoculado em diferentes genótipos de soja e observaram diferenças quanto ao surgimento de lesões e número de urédias por lesão.

Entre os genes que promovem resistência a *P. pachyrhizi* (*Rpp*), estão *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). Apesar disso, por serem genes dominantes e específicos, a resistência de alguns deles já foram suplantadas rapidamente pelo patógeno (CALVO et al., 2008).

2.2.5.2 Controle químico

O controle químico com fungicidas tem se destacado como o principal método utilizado por agricultores no Brasil por apresentar níveis consideráveis de eficiência de controle e praticidade de uso (FANTIN et al., 2016). Os fungicidas registrados junto ao Ministério da Agricultura para controle de ferrugem asiática da soja compreendem basicamente compostos das classes químicas dos triazóis, estrobilurinas, carboxamidas e ditiocarbamatos.

Em função do risco para seleção de indivíduos resistentes e principalmente, redução da eficiência de controle, foram retirados do mercado brasileiro produtos com ingrediente ativos isolados, ou seja, um único ingrediente ativo na composição do fungicida. Nesse sentido, formulações comerciais passaram a combinar ingredientes ativos de classes ou mecanismos de ação diferentes, compostos por dois e até três ingredientes ativos (GODOY et al., 2016). Scherm et al. (2009), avaliando a eficiência média de fungicidas utilizados em ensaios em rede de 2003/04 a 2006/2007 concluíram que a combinação de triazóis e estrobilurinas resultou em menor severidade de ferrugem e redução de produtividade da soja. Já em 2015, Dalla Lana et al. (2015), trabalhando com dados da mesma rede de ensaios entre as safras de 2004/05 a 2012/13, observaram que as misturas de triazóis e estrobilurinas apresentaram reduções lineares de eficiência de controle.

Recomendações de uso de fungicidas no controle de ferrugem asiática preconizam aplicações preventivas, ou seja, antes do início dos sintomas da doença, utilizando-se fungicidas que apresentam mecanismos de ação diferentes entre as aplicações e safras (BRENT; HOLLOWON, 2007). O número limitado de mecanismos de ação compromete o planejamento

do manejo de controle. Assim, é importante o uso integrado de ferramentas como a utilização de cultivares de ciclo precoce com o objetivo de reduzir o tempo de exposição ao patógeno (KOGA et al., 2014), monitoramento e uso de armadilhas de esporos (IGARASHI et al., 2016; MINCHIO et al., 2016, 2018), monitoramento de esporos na água da chuva (FANTIN et al., 2019), uso de cultivares que apresentem resistência (LANGENBACH et al., 2016) e também balanço nutricional da soja (GASPAR et al., 2015).

2.2.5.2.1 *Estrobilurinas*

Fungicidas que pertencem à classe das estrobilurinas atuam indiretamente na interferência de diferentes processos da respiração mitocondrial, inibindo a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, no sítio Qo, afetando a produção de ATP (FERNÁNDEZ-ORTUÑO et al., 2008). As moléculas desta classe apresentam ação protetora, ou seja, atuam antes que ocorra a infecção, impossibilitando a germinação dos esporos e a penetração do fungo na cutícula da folha (BARTLETT et al., 2002). Em geral, apresentam baixa ação penetrante, persistindo na superfície e primeiras camadas da folha, podendo ainda ocorrer difusão translaminar para algumas moléculas da classe.

O principal mecanismo de resistência de patógenos a estrobilurinas consiste na substituição de uma glicina por uma alanina na posição 143 de genes do *cyt b* (SCHMITZ et al., 2014). Reduções de sensibilidade foram confirmadas para diversos patógenos, como *Plasmopara viticola* Berk. & M.A. Curtis, causador do míldio da videira na Europa (TOFFOLATTI et al., 2011), *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch em regiões produtoras de trigo no Brasil (CASTROAGUDÍN et al., 2015), *Cercospora sojina* Hara. em áreas de produção de soja no Estados Unidos (STANDISH et al., 2015), além de *P. pachyrhizi* no Brasil (KLOSOWSKI et al., 2016; SCHMITZ et al., 2014).

2.2.5.2.2 *Triazóis*

Os fungos apresentam na composição da membrana celular lipídios e proteínas. No caso de mamíferos, o lipídio é o colesterol e para fungos verdadeiros, o lipídio é o ergosterol. O ergosterol é produzido através da ação catalítica de Acetil-CoA que utiliza como precursor o lanosterol. De forma simples, fungicidas do grupo químico dos triazóis atuam inibindo a biossíntese de ergosterol. O resultado é o rompimento e extravasamento de solutos iônicos.

Os triazóis podem ser classificados como inibidores da desmetilação do C14 e os inibidores de $\Delta^{8,7}$ isomerase e Δ^{14} redutase. Os mecanismos que conferem redução de eficiência dos fungicidas DMI são complexos, e podem estar associados à (i) mutações nos genes CYP51, que conferem superexpressão de genes e metabolização do fungicida para *P. pachyrhizi* (SCHMITZ et al., 2014) e outros fungos (COOLS et al., 2012; ESQUIVEL; WHITE, 2017; LEROUX et al., 2007; NIKOU et al., 2009; STAMMLER et al., 2009), (ii) pontos de mutação como F120L, I145F e I475T que inibem a ação do fungicida no lanosterol e (iii) através da melhora da atividade de transporte que reduz a concentração intracelular do fungicida (COOLS; HAWKINS; FRAAIJE, 2013; COOLS; FRAAIJE, 2013). As mutações que conferem menor sensibilidade aos DMI podem ocorrer inúmeras vezes no gene CYP51 conferindo complexas interações.

Segundo Parker et al. (2014) as mutações encontradas em fungos fitopatogênicos são semelhantes as identificadas em fungos causadores de doenças em seres humanos, como *Candida albicans* Berkhout e *Aspergillus fumigatus* Fresen. Os autores citam que a seleção de indivíduos resistentes desses fungos pode ter sido favorecida ou acelerada pelos produtos utilizados na agricultura. Apesar dos fungicidas DMI serem as moléculas mais usadas na medicina e agricultura, Fisher et al. (2018) e Hollomon (2017) citam que essa associação é improvável.

Em função destas características, a resistência a triazóis é conhecida como quantitativa ou contínua (BRENT; HOLLOMON, 2007; COOLS et al., 2011; COOLS; FRAAIJE, 2013), ou seja, a eficiência de controle vai reduzindo gradualmente. O exposto foi observado em resultados de ensaios de campo no Brasil, quando a eficiência de controle de triazóis no controle de ferrugem asiática apresentou redução na safra 2007/08 e com reduções sucessivas ao longo das safras (GODOY et al., 2016). Concomitante, Xavier et al. (2015) observaram variações na concentração efetiva 50 (CE₅₀) de fungicidas triazóis entre isolados de *P. pachyrhizi* de diferentes regiões do Brasil. O mesmo comportamento foi observado em estudo de monitoramento desenvolvido por Braga et al. (2020) entre populações do fungo *P. pachyrhizi* do Brasil e Paraguai submetidas ao fungicida prothioconazol, com valores de CE₅₀ variando de 0,05 mg L⁻¹ a 1,04 mg L⁻¹. De acordo com os autores houve alteração da sensibilidade ao ativo prothioconazol.

Seguindo a mesma abordagem, a sensibilidade de *P. pachyrhizi* aos DMIs de primeira geração como o tebuconazol, ciproconazol, epoxiconazol, metconazol e outros triazóis, também apresentaram redução ao longo das safras (SCHMITZ et al., 2014; XAVIER et al., 2015; JULIATTI et al., 2017). A pressão de seleção resultante de vários anos de extensas e frequentes

aplicações de triazóis no controle de doenças podem ter desencadeado o surgimento de patógenos resistentes/menos sensíveis. 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.

Para o fungo *Corynespora cassiicola* Berk. & M.A. Curtis em soja, em pesquisas realizadas em 2011 e 2017, isolados de *C. cassiicola* foram considerados moderadamente resistente ao fungicida ciproconazol. A maioria dos isolados (94%) não foi sensível ($EC_{50} > 1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) ao ciproconazol (AVOZANI; REIS; TONIN, 2014; TERAMOTO et al., 2017) Em gramíneas, estudos com patógenos vegetais associados a culturas de cereais, como *Erysiphe graminis* DC na cevada e trigo (BUCHENAUER; HELLWALD, 1985) e *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt (BRUNNER; STEFANATO; MCDONALD, 2008) e *Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvl., Verkley & Crous (PEREIRA; MCDONALD; BRUNNER, 2017) e *Pyricularia* sp. em trigo (DORIGAN et al., 2019) apresentaram redução de sensibilidade e baixa eficiência de controle. Grimmer et al. (2015) expõem em seu levantamento, que a ocorrência de resistência a triazóis no controle do fungo *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* em cevada ocorreu três anos após a introdução do produto no mercado.

No cenário atual, nota-se que para controle de ferrugem asiática, todos os grupos de fungicidas sítios-específicos registrados até julho de 2019 já têm redução de eficiência no controle da doença, com exceção das morfolinas, que atuam em múltiplos sítios na biossíntese do ergosterol.

2.2.5.2.3 Carboxamidas

Introduzido comercialmente no Brasil em 2013, ingredientes ativos da classe das carboxamidas tem uma história recente no controle de *P. pachyrhizi* (FRAC, 2017). Fungicidas desta classe são conhecidos como inibidores da succinato desidrogenase (*Succinate dehydrogenase inhibitor*- SDHI). Atuam na inibição da respiração fúngica bloqueando os locais de ligação à ubiquinona no complexo mitocondrial II, interferindo no trânsito de elétrons que atuam na fosforilação oxidativa (AVENOT; MICHAILIDES, 2010a). Os autores citam que o uso contínuo de SDHIs podem resultar na rápida seleção de indivíduos resistentes, além da redução de performance dos fungicidas.

Apesar da introdução recente, populações de *P. pachyrhizi* com sensibilidade reduzida aos compostos SDHI foram relatadas na safra 2016/17 (FRAC, 2017; GODOY et al., 2017; SIMÕES et al., 2018). A succinato desidrogenase é composta por quatro subunidades proteicas

codificadas nucleares (A, B, C, D) (AVENOT; MICHAILIDES, 2010b; HORSEFIELD et al., 2006; HUANG; MILLAR, 2013). As unidades A e B estão imersas na matriz mitocondrial e são hidrofílicas. Já as subunidades C e D são hidrofóbicas e estão ancoradas na membrana das cristas mitocondriais (SIEROTZKI; SCALLIET, 2013). Até o momento, mutações que conferem menor sensibilidade a SDHIs foram encontradas nas subunidades B, C e D (DOOLEY et al., 2016; STAMMLER et al., 2015).

Populações de *P. pachyrhizi* coletadas no Brasil durante as safras de 2015 e 2016 com menor sensibilidade aos grupos de fungicidas SDHI apresentaram alteração na subunidade C. Foi observada a substituição do aminoácido isoleucina por fenilalanina na posição 86 (C-I86F) (SIMÕES et al., 2018). De acordo com os resultados apresentados por Mello et al. (2021), é possível haver outras mutações em *P. pachyrhizi* que conferem menor sensibilidade a carboxamidas.

O mesmo ocorreu para populações de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *A. solani* Ellis & G. Martin, *Botrytis cinerea* Pers, *C. cassicola*, *Didymella tanacetii* Pethybr. & F.S. Hay, *M. graminicola*, *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff, *Ramularia collo-cygni* B. Sutton & J.M. Waller, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, em que mutações que conferem resistência a carboxamidas foram encontradas nas subunidades B, C e D da succinato desidrogenase (AVENOT; LUNA; MICHAILIDES, 2019; AVENOT; MICHAILIDES, 2007; AVENOT; MICHAILIDES, 2010b, 2020; GUTIÉRREZ-ALONSO et al., 2017; ISHII et al., 2011; LI et al., 2019; METZ et al., 2019; MIYAMOTO; ISHII; TOMITA, 2010; NOTTENSTEINER; ABSMEIER; ZELLNER, 2019; PEARCE et al., 2019; REHFUS et al., 2019; SCALLIET et al., 2012; SHIMA et al., 2009; TOFFOLATTI, et al., 2020; VELOUKAS; MARKOGLOU; KARAOGLANIDIS, 2013; WANG et al., 2015; WANG; DUAN; ZHOU, 2015; ZHAO et al., 2019; ZHU et al., 2019).

A ocorrência de uma mutação específica pode conferir diferentes respostas a ingredientes ativos do mesmo grupo químico (ISHII, Hideo *et al.*, 2016). Isolados de *A. alternata* com mutação *sdhB-H277Y* foram sensíveis ao fluopiram e altamente resistentes ao boscalid e isopirazam (MALANDRAKIS et al., 2018). Para *M. graminicola* em trigo, Scalliet et al. (2012) identificaram de 27 substituições de aminoácidos distribuídas nas subunidades B, C e D. As alterações apresentaram diferentes respostas a cinco SDHIs. Essas alterações conferiram alterações na virulência do fungo em testes em plantas, mas não apresentaram variação nos testes com crescimento micelial e produção de conídios.

2.2.5.2.4 Ditiocarbamatos

Até a década de 60, os fungicidas usados para o controle de doença de plantas eram compostos por multissítios como sulfurados, cobreados e ditiocarbamatos, que atuam em diversos sítios e interferem em vários processos metabólicos. Por apresentar essas características, casos de resistência são raros. Os ditiocarbamatos são utilizados desde 1930 para o controle das doenças na agricultura. Mancozebe é o principal representante desse grupo, utilizado tanto para o tratamento de sementes quanto para controle de mais de 400 doenças em aproximadamente 100 gêneros de plantas.

Em decorrência dos diversos eventos de redução da eficiência e resistência ao fungo *P. pachyrhizi* a grupos químicos que apresentam ação específica, a introdução de fungicidas multissítios no manejo da FAS tornou-se uma opção no manejo de resistência (GODOY et al., 2015). Além disso, a associação de fungicidas multissítios como mancozebe e clorotalonil podem auxiliar na eficiência de controle e evitar reduções de produtividade (FANTIN et al., 2015). Reis et al. (2019) citam que a adição de multissítios a misturas de sítio específico aumentaram a eficiência de controle de manchas foliares em trigo de 44% para 80%. Da mesma forma, a eficiência de controle respondeu ao aumento das doses e redução do intervalo entre aplicações (REIS; ZANATTA; FORCELINI, 2019).

Apesar dos benefícios do uso de multissítios no manejo anti-resistência (HOLLOMON, 2012), características do produto como preparo da calda são desafios para o uso dos ditiocarbamatos. Em geral, os multissítios apresentam ação de contato ou protetiva, não sendo absorvido pela planta. Em função disso, o produto deve ser distribuído no hospedeiro para garantir a proteção. Para assegurar a cobertura de toda a área saudável que requer proteção, características relacionadas à tecnologia de aplicação devem ser avaliadas.

2.2.6 Tecnologia de Aplicação de Produtos Fitossanitários

De forma geral, Berger, (1977) cita que, do ponto de vista epidemiológico do manejo de doenças, três estratégias podem ser utilizadas: eliminar o inóculo, reduzir a taxa de progresso da doença e alterar o período e tempo de exposição do hospedeiro ao patógeno. Dentre as estratégias citadas, o controle químico tem o objetivo de reduzir ou eliminar fontes de inóculos, prevenir infecção e paralisar processos de infecção e colonização (REIS; REIS; CARMONA, 2010). Para que isso ocorra é necessário que a deposição (área em que o produto é depositado na planta) e cobertura (área efetiva de ação após redistribuição) do produto atinjam todos os sítios de infecção e órgãos suscetíveis.

No geral, a qualidade de uma aplicação pode ser aferida através de diferentes variáveis ligadas à avaliação da aplicação (cobertura, deposição, penetração, absorção) e à avaliação de controle (nível de controle de um determinado agente nocivo). Entre os principais fatores que alteram a qualidade da aplicação estão o número e tamanho de gotas, porcentagem de cobertura e Índice de área foliar (IAF).

O número e tamanho de gotas são comumente avaliados através da contagem e avaliação do tamanho médio de gotas depositadas em papel sensível distribuído em diferentes alturas do dossel ou medidos na própria planta. A avaliação pode ser realizada por softwares específicos de processamento de imagens como Conta-Gotas® e Assess 2.0 (American Phytopathological Society, Saint Paul, USA). A porcentagem (%) de área coberta representa a proporção da folha ou alvo que foi coberta pelo produto aplicado. A porcentagem de cobertura ideal varia de acordo com o produto utilizado e ao avaliar a porcentagem de cobertura, características como penetração e mobilidade do produto devem ser consideradas.

A eficiência em atingir o alvo pode ser influenciada por fatores que abrangem desde as características químicas do produto utilizado como modo e mecanismo de ação, tipo de formulação, pH da água utilizada, misturas de tanque com outros produtos fitossanitários, adjuvantes e fertilizantes, até condições edafoclimáticas como velocidade de operação, desgaste do sistema de pulverização, entre outras. Esses fatores comprometem principalmente a distribuição da solução aplicada no dossel.

Avaliando cobertura e deposição na porção superior, média e inferior do dossel de soja, Graziano et al. (2017) observaram que bicos de pulverização com tamanhos finos de gotículas proporcionavam maior cobertura e deposição na porção média e superior do dossel, para as pulverizações realizadas pela manhã. Quando comparadas às gotículas grosseiras, as gotículas finas aumentaram a cobertura foliar e não interferiram nas perdas para o solo. O mesmo foi observado por Debortoli et al. (2012) avaliando espectro de gotas de pulverização ideal para o controle da ferrugem asiática em cultivares com diferentes arquiteturas de planta. O espectro de gotas fino proporcionou boa deposição, controle da doença e produtividade, independentemente da cultivar avaliada. Comparando diferentes configurações de bico de pulverização para o controle da ferrugem asiática, Wolf et al. (2008) encontrou diferenças significativas entre os tratamentos na quantidade de cobertura obtida no fundo do dossel de soja. Resultado semelhante foi observado por Durão et al. (2017) onde o bico de pulverização plano de pré-orifício simples, que gera gotículas de tamanho médio forneceu o menor área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) comparado aos demais bicos, bem como o uso de fungicida refletido no rendimento de grãos, que foi em média 288% maior que o obtido

pelo controle sem aplicação de fungicida.

Aplicações de fungicidas devem vencer a barreira imposta pela massa de folhas, objetivando promover melhor cobertura nessa parte da planta. Trabalhos indicam maior eficiência de fungicidas pulverizados com assistência de ar, principalmente quanto à penetração da calda no dossel das partes inferiores das plantas de soja (PRADO et al., 2010). Além disso, a assistência de ar proporcionou maior produtividade da soja, diferindo da pulverização convencional (sem assistência de ar) e testemunha (plantas não tratadas) (CHRISTOVAM et al., 2010; AGUIAR JUNIOR et al., 2011). Em contrapartida, na parte superior das plantas os maiores níveis de depósitos foram encontrados em pulverizações sem assistência de ar.

2.2.7 Resistência de fungos à fungicidas e Custos biológicos

A resistência de fungos a fungicidas, em questões práticas, pode ser dividida em dois conceitos: molecular, que diz respeito às alterações no DNA que conferem menor sensibilidade do patógeno a um ou mais ingrediente ativos; e resistência no sentido da dinâmica populacional, que representa as mudanças na frequência da população e conseqüentemente falhas no controle através da aplicação de fungicidas e prejuízos econômicos.

Segundo Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), resistência é uma alteração herdável e estável de um fungo em resposta a aplicação de um fungicida, que resulta na redução da sensibilidade ao produto. Termos como redução de sensibilidade ou tolerância são utilizados quando há redução da eficiência do fungicida, não apresentando conseqüências significativas em relação a sua utilização. Já o termo “resistência” é aplicado quando há significativa perda de eficácia da molécula, e comprometimento comercial (BRENT; HOLLomon, 2007). Na presente tese, o termo “indivíduos resistentes” foi adotado para expressão da redução de sensibilidade.

Os fungicidas penetrantes-móveis, sítio-específicos, têm apresentado vida efetiva curta, isto é, o número de safras consecutivas em que o tratamento com fungicida manteve controle efetivo da doença (ISHI; HOLLomon, 2015). Pode ser um tanto quanto sensato dizer que para todos os ingredientes ativos disponíveis no mercado para controle de fungos, já existam indivíduos resistentes, ou seja, indivíduos que apresentam alterações moleculares que os tornam insensíveis ou menos sensíveis. Os questionamentos são: Esses indivíduos apresentam capacidade de sobreviver às condições de campo (temperatura, umidade, radiação, etc.)? São capazes de competir por recursos com indivíduos sensíveis e outros indivíduos (outros gêneros e espécies)? A frequência desses indivíduos os permite prosperar/manter ou

correm risco de serem extintos? Em caso de sucesso, a frequência de indivíduos resistentes na população é passível de identificação?

Todas essas questões estão ligadas à dinâmica da população. O sucesso ou fracasso de uma população, seja ela qual for, está relacionado a sua capacidade de obter recursos. Hawkins e Fraaije (2018) citam que a emergência e posterior seleção desses indivíduos está na capacidade de competição deles com outros indivíduos na presença ou não de fungicidas. Uma população pode emergir e ser selecionada e não persistir (GILLIGAN; VAN DEN BOSCH, 2008)

Em geral, a comparação entre as características que definem o sucesso de uma população é realizada através da análise de componentes biológicos como crescimento micelial, período de incubação e latência, severidade, taxa de infecção, número de esporos produzidos, entre uma população sensível e resistente. A diferença entre as populações pode ser chamada de custo adaptativo, custo biológico, “*fitness penalty*” ou “*fitness cost*”. No presente trabalho utilizaremos o termo penalidade biológica ou “*fitness cost*”.

Grimmer et al. (2015) desenvolveram um sistema de avaliação de risco, adotada pela FRAC, que considera as características biológicas dos patógenos como período latente, taxa aparente, produção de esporos sexuais e assexuais, mono ou policíclico entre outras para atribuir notas de risco de resistências a ingredientes ativos. No trabalho de Klosowski et al. (2016a) a frequência de isolados com alteração em CYP51 reduziu ao longo de cinco ciclos, quando combinados a isolados selvagens. Os resultados sugerem alterações biológicas conferidas pelas mutações.

As moléculas oriundas do Phenylpyrroles (metabólito secundário produzido por *Pseudomonas pyrocinia*), como o fungicida fludioxonil registrado para o controle de diversos fungos, estão no mercado há mais de duas décadas e raros casos de resistência no campo foram relatados até então (KILANI; FILLINGER, 2016). Segundo os autores, isso pode ser resultado dos custos biológicos necessários para que haja sucesso em uma população, visto que os fungicidas dessa classe provocam sérios distúrbios fisiológicos como hiperpolarização da membrana, alterações no metabolismo do carbono e acúmulo de metabólitos, levando ao inchaço e explosão da célula.

Pouco se sabe sobre o custo biológico de populações mutantes do fungo *P. pachyrhizi*. Caso exista, a alteração de quaisquer parâmetros relacionados ao ciclo do patógeno pode afetar completamente o progresso da doença. Como exemplo, para a ferrugem asiática da soja, Melching; Bromfield e Kingsolver (1979) avaliaram em condições de casa de vegetação o número de esporos produzidos por lesão de isolados de Taiwan, Índia, Austrália e Indonésia.

Os autores estimaram a produção de 2028, 3769, 6268 e 6600 urediniósporos por lesão⁻¹. dia⁻¹, para isolados da Austrália, Índia, Indonésia e Taiwan, respectivamente. Houve redução na produção de urediniósporos com o passar dos dias após a inoculação. Em estádios avançados de desenvolvimento, o número de conídios de *Cladosporium fulvum* Cooke por centímetro quadrado de folha de tomate infectada pode ultrapassar 17 mil (VELOUKAS et al., 2007). Cerca de sete dias após a infecção o fungo *Pseudoperonospora cubensis* Berk. & M.A. Curtis pode produzir até 195 mil esporângios por centímetro quadrado de folha de pepino infectada (WANG et al., 2009). A sarna da batata, causada pelo oomiceto *Phytophthora infestans* pode produzir de 50 a 117 mil esporângios por centímetro de haste infectada de uma planta de batata (JOHNSON; CUMMINGS; GEARY, 2000).

2.3 SIMULAÇÃO DE DOENÇAS DE PLANTAS

2.3.1 Histórico

O uso de modelos de simulação de doenças tem início na década de 60 com os estudos de Van der Plank (CASTLE; GILLIGAN, 2012; CUNNIFFE et al., 2015; GUSTAFSSON; STERNAD, 2016; MAANEN; XU, 2003). Os conceitos propostos pelo autor serviram de base para diversos outros modelos subsequentes. Teng (1985) cita que um dos primeiros esforços para desenvolvimento de simulações computacionais de epidemias de doenças em plantas foi realizado pelos grupos da Connecticut Agriculture Experiment Station, liderados por P.E. Waggoner e J.G. Horsfall, e da Agricultural University, Wageningen, liderados por J.C. Zadocks, na década de 1960. Um dos primeiros programas de simulação de doenças foi desenvolvido em 1969 por Waggoner e Horsfall e nomeado de EPIDEM (WAGGONER; HORSFALL, 1969). A programação utilizada no modelo foi a “Fortran IV”. O modelo simula o ciclo do fungo *A. solani*, causador da pinta preta do tomate e batata, e considera condições ambientais de temperatura e orvalho para o cálculo do desenvolvimento/progresso da doença. Para elaboração e validação do modelo, os autores utilizaram dados de ocorrência de epidemias de *A. solani* de cinco anos em uma fazenda próxima da cidade de New Haven, Estados Unidos. Nos anos seguintes foram criados modelos de simulação de epidemia de *Cercospora* “blight of celery” (CERCOS), helmintosporiose do milho causada pelo fungo *Helminthosporium maydis* Brond. (EPICORN), e sarna da maçã causada por *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter (EPIVEN) (AGRIOS, 2005).

O primeiro modelo de simulação desenvolvido para simular a epidemia de ferrugem asiática da soja foi criado por Yang; Dowler e Tschanz (1991). Os autores utilizaram dados de

72 ensaios, conduzidos entre os anos de 1980 e 1981 em Taiwan. O modelo foi denominado SOYRUST (Figura 3). O objetivo que moveu o desenvolvimento do modelo foi avaliar o possível potencial impacto da ferrugem asiática na produção de soja dos Estados Unidos.

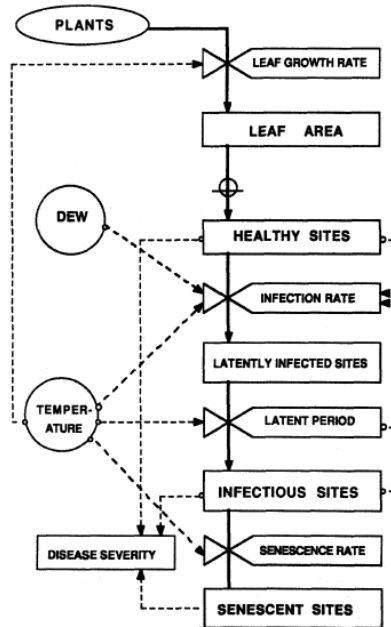


Figura 2 – Diagrama do modelo de simulação de epidemia de ferrugem asiática. As caixas retangulares representam os componentes relacionados ao patógeno e hospedeiro, e os círculos representam as condições ambientais.

Fonte: Yang; Dowler; Tschanz (1991).

No modelo os autores utilizaram a idade fisiológica da planta *cumulative physiological day* (X) como a unidade de tempo ou *driving variable*. O desenvolvimento do hospedeiro e do patógeno são influenciados ou regulados pela temperatura máxima, mínima e ótima, e os valores adotados foram obtidos da literatura. Para definir o crescimento de plantas, os autores utilizaram resultados de 13 ensaios ajustados à uma função de regressão. Nesse caso, foram adotadas apenas duas cultivares (TK5 e G8587) e assim os valores e a equação podem sofrer alterações caso sejam consideradas outras cultivares, de acordo com o ciclo de maturação entre outros. A equação da taxa de infecção foi desenvolvida com base nos dados de Marchetti (1976). O número de sítios latentes (R_2) e o número de sítios senescentes (R_3) por dia foi desenvolvido por Yeh et al. (1982), citado por Yang; Dowler e Tschanz (1991).

No mesmo sentido, um modelo mais recente, criado por Rodrigues et al. (2012) e denominado CROPGRO, simula o crescimento e produtividade de diferentes genótipos da soja influenciados pela incidência de ferrugem asiática. Nos últimos anos houve um processo de intenso estudo de processos algébricos para a modelagem e análise de sistemas biológicos (BARTOCCI; LIÓ, 2016). Os autores comentam que o motivo é que sistemas biológicos podem

ser considerados como sistemas reativos simultâneos ou sistemas de concorrência simultânea (*concurrent reactive systems*), em que as espécies podem ser modeladas através de processos interativos entre elas. A premissa permite a tradução em modelos computacionais e a criação de novas linguagens e domínios de programação. Entre eles o uso de redes neurais, lógica fuzzy, sistemas bayesianos, sistemas network, entre outros (ALVES et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2019; KIM; WANG; YANG, 2005; SANATKAR et al., 2015; YANG; GUO, 2017).

2.3.2 Definições e Conceitos

A epidemiologia é a ciência que estuda o desenvolvimento de doenças e avalia numericamente o progresso da doença ao longo do tempo e espaço. A doença é resultado da interação de um grande número de fatores relacionados ao ambiente, patógeno e hospedeiro (WOLF; ISARD, 2007; WAGGONER; HORSFALL, 1969). Uma forma de prever a influência dessas interações é através de modelos de simulação.

Basicamente, os modelos de simulação consistem em uma representação simplificada de um sistema real. (WALLACH et al., 2019b) definem/caracterizam a simulação como uma solução numérica do modelo de um sistema para produzir números que representam o sistema real no tempo e que os resultados são simplificações da realidade e não exatamente o comportamento do sistema real. Nesse contexto, Gustafsson e Sternad (2016) citam que o intuito de qualquer modelo é permitir a descrição/representação simplificada de aspectos importantes do sistema estudado. Dessa forma, o objetivo é entender como as características influenciam o desenvolvimento da doença e permitir a criação de estratégias de controle (CASTLE; GILLIGAN, 2012; GILLIGAN, 2002; MAANEN; XU, 2003).

Os modelos de simulação são definidos de acordo com o seu objetivo e podem ser divididos em três categorias, descritivos, preditivos e conceituais. Porém, podem ser vistos ou classificados de outras formas, como HAU (1990) que classifica modelos em analíticos, que são usados para avaliar a epidemia em termos teóricos, e modelos de simulação, usados para representar a realidade através da influência de fatores ambientais. Já Wallach et al. (2019a) compreende modelos em duas formas, um sistema de equações diferenciais que descrevem a dinâmica do sistema e outra como conjunto de equações que descrevem como as respostas de interesse são alteradas pelas variáveis explanatórias em um tempo específico.

Modelos descritivos são criados para o entendimento e auxílio na criação de novas estratégias. Já os modelos conceituais são construídos como representações dos sistemas biológicos e raramente utilizam sistemas complexos de simulação (MAANEN; XU, 2003).

Modelos preditivos são formados por componentes e subcomponentes. Cada subcomponente é formada por diferentes estágios em diferentes situações ou condições. Apesar de modelos serem uma representação genérica da realidade, sempre existem perdas de informação quando um sistema real é representado em um modelo de simulação. De fato, o modelo não fornece uma descrição completa do sistema, e sim, apenas as partes essenciais para explicar o comportamento e finalidade (TENG, 1985).

O grau de erro envolvido na modelagem depende da quantidade de informação perdida, ou quantas partes essenciais do sistema são ignoradas no modelo. Em geral, os modelos são muito complexos, e por isso é necessário o desenvolvimento de hipóteses para simplificá-los e facilitar o entendimento. Yang; Dowler e Tschanz (1991) citam que o desenvolvimento de modelos é baseado na compreensão completa da doença e requer o uso de informações abrangentes sobre o hospedeiro, patógeno e meio ambiente. Por conta disso é recomendado a incorporação de informações práticas e observações de campo (GILLIGAN, 2002). Nesse contexto, é necessário que sejam feitas *assumptions*, que são condições ou variáveis que o desenvolvedor considerou ou não nos modelos.

Wallach et al. (2019a) citam o desenvolvimento de um modelo para crescimento da planta que considera consideram que a temperatura e umidade no dossel da planta é a mesma que a do ambiente. Os autores comentam que esse *assumption* foi tomado por acreditar que a influência de outros fatores é relativamente pequena quando comparada a outros e que isso pode não ser aplicado em outros modelos. Como exemplo, segundo Asseng et al. (2013), diferentes equações e *assumptions* foram utilizados em 27 modelos para simular o desenvolvimento de trigo, sendo que a diferença está em quais fatores explicam o crescimento da cultura.

Os modelos são compostos por sistemas formados por diversos componentes e que devem ser delimitados. De acordo com o objetivo do modelo, os limites e características dos sistemas serão determinados. Hau (1990) explica que a base para o desenvolvimento da maioria dos modelos é a cadeia de infecção do patógeno, em que cada fase do ciclo de vida do patógeno, como infecção, incubação etc., são modelados separadamente e depois combinados. Os autores enfatizam que o objetivo nesse tipo de modelagem é estudar/identificar a influência de variáveis como temperatura, umidade, molhamento e traduzi-las matematicamente. Um exemplo disso são os modelos desenvolvidos por (CAROLAN et al., 2017; CUNNIFFE et al., 2012; CUNNIFFE et al., 2015; ELDERFIELD et al., 2018; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2020; HOBBELEN et al., 2011; HOBBELEN et al., 2013; SEGARRA; JEGER; VAN DEN BOSCH, 2001).

2.3.4 Modelos SIR e SLIR

Os primeiros modelos de simulação de doenças foram desenvolvidos na área da medicina para estudar a transmissão de varíola e foi idealizado por Daniel Bernoulli, em 1790. Contudo, a formalização das equações básicas iniciou muitos anos depois com os trabalhos de Hammer, em 1906, que descreveram que a epidemia depende de fatores como número de indivíduos suscetíveis e infectados além da taxa de contato entre infectados e suscetíveis. As informações influenciaram o desenvolvimento de modelos matemáticos SIR (Suscetível - Infectado - Recuperado) por Kermack e McKendrick, em 1927. Os autores concluíram que um número pequeno de indivíduos infectados, mesmo em contato com indivíduos suscetíveis, não é capaz de gerar uma epidemia. Esses modelos são conhecidos como modelos compartimentais (classes). As classes variam de acordo com o estado do indivíduo. No modelo básico o indivíduo pode estar suscetível (S) e quando entra em contato com o patógeno, ele se torna infectado (I). Após o tratamento, o indivíduo se torna recuperado ou removido (R). O modelo pode ser esquematizado através do diagrama comportamental:

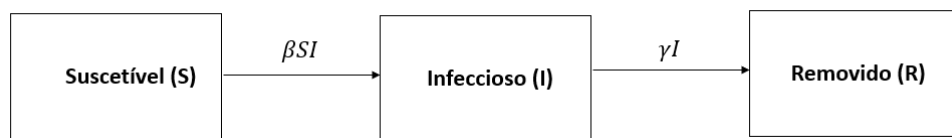


Figura x – Modelo esquemático de relações em modelos SLIR

A dinâmica é descrita pelo sistema de equações diferenciais ordinais:

$$\begin{aligned}\frac{dS}{dt} &= -\beta SI \\ \frac{dI}{dt} &= \beta SI - \gamma I \\ \frac{dR}{dt} &= \gamma I\end{aligned}$$

Em que S é o número de indivíduos suscetíveis, I é o número de indivíduos infecciosos e R é o número de removidos. β corresponde a taxa de infecção, ou seja, a taxa de passagem do estado suscetível para infeccioso, e γ é a taxa de remoção, passagem de infeccioso para removido. A taxa de infecção β representa a transmissão de indivíduos para estágio latente. O valor da taxa considera a probabilidade de contato dos indivíduos a um sítio saudável.

No modelo acima considera-se que o período latente ou de incubação do hospedeiro após ser exposto é muito pequeno e assim desprezível. No caso de doenças de plantas causadas por fungos, o período latente deve ser considerado. Assim, Kermack e Mckendrick (1927)

propuseram o modelo SLIR, que apresenta o estado de latência ou incubação.

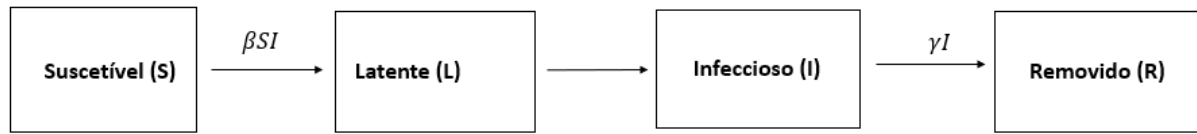


Figura x – Modelo esquemático de relações em modelos SLIR

A dinâmica é descrita pelo sistema de equações diferenciais:

$$\begin{aligned}\frac{dS}{dt} &= -\beta SI \\ \frac{dL}{dt} &= \beta SI - \beta SI/L \\ \frac{dI}{dt} &= \beta SI/L - \gamma I \\ \frac{dR}{dt} &= \gamma I\end{aligned}$$

Os conceitos foram incorporados para os modelos de simulação de doenças de plantas. Na revisão publicada por Hau (1990), o autor cita que Jeger (1982) utilizou/defendeu um sistema de equações diferenciais conectadas para diferentes categorias de tecido doente. No trabalho o autor considera que o tecido (y) pode apresentar três estados distintos. O autor usou os parâmetros K1, K2 e K3 para descrever a taxa de infecção, latência e remoção. K1 é análoga a taxa aparente de infecção R de Vanderplank (JEGER, 1982). Posteriormente, Berger e Jones incorporaram o crescimento do hospedeiro no modelo. O modelo apresenta parâmetro para expansão da lesão (g) (BERGER; JONES, 1985)

2.3.3 Modelos de simulação resistência

A modelagem matemática pode ser considerada uma alternativa para estudos com o manejo de resistência de fungos, sendo que o sucesso é o resultado do conhecimento nos modelos biológicos e estimativa de seus parâmetros adequados (VAN DEN BOSCH; GILLIGAN, 2008).

O uso de fungicidas é a principal ferramenta efetivamente utilizada no manejo de doenças de plantas por apresentar alta eficiência e praticidade. Apesar disso, o limitado número de moléculas disponíveis e a velocidade de lançamento de novos grupos de fungicidas, forçam

a utilização de ingrediente ativos com o mesmo modo de ação, favorecendo a seleção de populações de patógenos resistentes (VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016a; VAN DEN BOSCH et al., 2014b, 2014a).

As estratégias que envolvem o manejo de resistência abordam questões relacionadas ao número de aplicações, combinação de diferentes tipos de ingrediente ativos e alteração da dose (HOBBELEN; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2014; LUCAS; HAWKINS; FRAAIJE, 2015; MIKABERIDZE et al., 2017; VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016a; VAN DEN BOSCH, F. et al., 2011). Apesar disso, questões como o aumento da dose e redução da vida útil de ingrediente ativo (VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016a), combinação de ingrediente ativos com diferentes modos de ação em misturas (VAN DEN BOSCH et al., 2014b) e número de aplicações apresentam resultados contrastantes.

O processo de seleção segundo Hobbelen et al. (2011) ocorre em duas fases. A primeira é a fase de Emergência, caracterizada pela introdução do modo de ação (fungicida) à uma população, ainda sensível, que passa a sofrer mutações/seleções. A fase seguinte inicia-se quando a população de indivíduos resistentes atinge nível em que conseguem ter sucesso e proliferar. Em seguida a fase de Seleção ocorre quando a população já possui genótipos resistentes e a aplicação de fungicidas apenas seleciona os indivíduos.

A consolidação de uma população resistente está relacionada, entre outras, aos parâmetros da epidemia. Dessa forma, a alteração de características biológicas do patógeno, hospedeiro e ambiente podem determinar o sucesso ou fracasso da população. Contudo, estudos relacionados a parâmetros de populações resistentes são de difícil condução (MAVROEIDI; SHAW, 2006) e os resultados obtidos podem não estar associados ou ser consequência dos tratamentos. Nesse sentido, Hobbelen et al. (2011) citam que os modelos de resistência até 2010 não testavam formalmente seus resultados com resultados de estudos de campo e laboratório para avaliar o poder preditivo dos modelos. Mikaberidze et al. (2017) através de modelos de simulação estudaram o efeito de diferentes níveis de resistência do patógeno e desvantagens biológicas, como, por exemplo, menor taxa de infecção. Os autores concluíram que estes fatores podem ser cruciais para a ocorrência de uma população resistente ou não.

As estratégias de manejo de resistência de fungicidas visam retardar a evolução da população resistente, garantindo simultaneamente um controle eficaz da doença no campo. Em função da variação na dinâmica populacional entre a fase de emergência e a fase de seleção, a estratégia de manejo pode diferir entre as duas fases. A taxa de frequência de resistência na população do patógeno aumenta em função do aumento da dose do fungicida. Já na fase de emergência, o aumento nas doses pode atrasar o surgimento de populações resistentes (VAN

DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016a; VAN DEN BOSCH et al., 2011).

Em uma ampla revisão sobre os princípios que governam o manejo anti-resistência, (VAN DEN BOSCH et al., 2014a) citam que a redução do coeficiente de seleção (definido como a diferença entre a taxa per capita de aumento dos indivíduos sensíveis e resistentes) e o tempo de exposição do agente patogênico ao fungicida reduz a seleção de resistentes. Hobbelen; Paveley e Van den Bosch (2014) estudando a dinâmica de resistência de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt observaram que a taxa de seleção reduziu com o aumento da dose do fungicida, contudo, a resistência ocorreu em um menor período.

Hobbelen et al. (2011) estudaram o efeito da aplicação de produto sítio específico aplicado sozinho ou em mistura com multissítios. Os autores concluíram que a vida útil do produto (tempo entre o lançamento no mercado e ocorrência de resistência) de ação sítio específico foi maior quando aplicado em mistura com o fungicida multissítios, mesmo utilizando o multissítios em baixas doses. A vida útil do sítio específico, quando utilizado em mistura com multissítios, foi prevista em 12 anos, e 3 a 4 anos para o mesmo sítio específico aplicado sem mistura. Posteriormente, Van den Bosch et al. (2014a) avaliaram o efeito de um fungicida sítio específico com multissítios aplicados em mistura ou separados na fase de emergência da resistência. Os resultados indicaram que a utilização de misturas aumentou a vida útil do produto sítio específico, quando comparado com a aplicação separada (quando cada campo recebe um único fungicida alternadamente).

Apesar das evidências, não está clara a relação entre a aplicação de produtos em misturas ou alternadamente sobre a taxa de seleção de resistentes. No caso de misturas de fungicidas de sítio específico e multissítios, o tempo para ocorrência de resistência foi maior quando utilizados altas doses dos fungicidas multissítios combinadas a menores doses dos fungicidas sítio específicos (HOBBELEN et al., 2011; MIKABERIDZE; MCDONALD; BONHOEFFER, 2014; VAN DEN BOSCH et al., 2011). Mikaberidze, McDonald e Bonhoeffer (2014) citam que se não houve custo biológico da mutação ("*Fitness penalty*"), o uso de fungicidas de alto risco (sítio específico) em misturas é justificado apenas pelo ganho em eficiência de controle.

3 ARTIGO A: MODELOS DE SIMULAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE *Phakopsora pachyrhizi* A FUNGICIDAS SDHI

3.1 RESUMO

Modo de ação, dose e tempo de exposição aos fungicidas são fatores que podem ter acelerado a taxa de seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* e reduzido a eficiência de controle da ferrugem asiática da soja (FAS). Entre as estratégias para atrasar a seleção de indivíduos resistentes e prolongar a vida útil dos ingredientes ativos, misturas entre fungicidas sítio específicos e multissítios, além de ajustes de dose, momento, número e época de aplicação foram adotadas. O efeito dessas medidas na seleção de indivíduos resistentes na população de *P. pachyrhizi* é incerto. Modelos matemáticos simulam a efetividade de medidas de controle na seleção de indivíduos resistentes fornecendo informações para a tomada de decisões estratégicas no manejo de doenças de plantas. O objetivo do presente estudo foi desenvolver modelos matemáticos para avaliar aplicações de fungicidas do grupo dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) na seleção de resistentes de *P. pachyrhizi*. Cenários foram desenvolvidos para (i) avaliar o efeito da frequência inicial de resistentes; (ii) nível de sensibilidade dos resistentes (*shift*); (iii) custo biológico da resistência e (iv) dose e número de aplicações na seleção de indivíduos resistentes a fungicidas SDHI. Modelos “Susceptible-Latent-Infective-Removed” (SLIR) foram adotados. A variável resposta adotada foi o tempo necessário para que a frequência de indivíduos resistentes atingisse 50% (T50). Para cada cenário foram simuladas 20 safras. O desenvolvimento dos modelos, ajuste de parâmetros, e gráficos foram realizados com auxílio do software R. Os resultados apresentaram relação inversa entre frequência inicial de resistentes e T50, da mesma forma o nível de sensibilidade dos resistentes (*shift*) governou a seleção. Houve acréscimo de 14, 8 e 5 safras quando o *shift* passou de 50 para 90% em programas solo com uma, duas e três aplicações de fungicida SDHI, respectivamente. A pressão de seleção imposta pelo aumento de um para três do número de aplicações reduziu o T50. Da mesma forma, o aumento da dose de SDHI favoreceu a seleção de resistentes. A penalidade biológica de um dia no período latente de indivíduos resistentes prolongou o T50 em duas safras. Penalidades de três e cinco dias prolongaram o T50 em 16 safras. O tempo entre introdução e resistência está relacionado com a sensibilidade dos indivíduos resistentes e o momento em que as medidas de manejo são adotadas. A penalidade biológica de indivíduos resistentes prolongou a vida útil do SDHI e mostrou ser limitante. Os resultados sugerem que a adoção de medidas anti-resistência deve ser planejada antes do lançamento do ingrediente ativo e a vida útil do produto varia de acordo com o grau de resistência. Os modelos podem auxiliar pesquisadores a entender a seleção de indivíduos resistentes através da aplicação de SDHIs.

Palavras-chave: Carboxamidas. Epidemiologia. Equação diferencial. Ferrugem asiática da soja. Resistência.

ARTICLE A: RESISTANCE SIMULATION MODELS OF *Phakopsora pachyrhizi* TO FUNGICIDES

3.2 ABSTRACT

Mode of action, dose, and exposure time to fungicides are factors that may have accelerated the resistance selection rate of *Phakopsora pachyrhizi*, and, consequently, reduced efficiency of products in the field. Mixtures of specific and multisite fungicides, dose, timing, and the number of applications were strategies adopted to delay the selection and prolong the useful life of the active ingredients. The effect of these measures on the selection of resistant individuals in the population is uncertain. Mathematical simulation models can predict the effectiveness of control measures in the selection of resistant individuals providing information for making strategic decisions in the management of plant diseases. The objective of the present study was to develop mathematical models to evaluate applications of fungicides from the group of succinate dehydrogenase inhibitors (SDHI) in the selection of *P. pachyrhizi* resistance. Scenarios were developed to (i) assess the effect of the initial frequency of resistance; (ii) the sensitivity level of the resistors (*shift*); (iii) biological cost of resistance and (iv) dose and the number of applications in the selection of individuals resistant to SDHI. Susceptible-Latent-Infective-Removed (SLIR) models were adopted. The response variable adopted was the time/period required for the frequency of resistance to reach 50% (T50). For each scenario, 20 harvests were simulated. The development of models, adjustment of parameters, and graphs were performed with the aid of software R. The results showed an inverse relationship between the initial frequency of resistors and T50, in the same way, the level of sensitivity of the resistors (*shift*) governed the selection. There was an increase of 14, 8, and 5 seasons when the *shift* went from 50 to 90% in solo programs with one, two, and three applications, respectively. The selection pressure imposed by increasing the number of applications from one to three reduced T50. Likewise, the increase in the dose of SDHI increase the selection of resistant individuals. The one-day biological penalty in the latent period prolonged T50 in two seasons. Penalties of three and five prolonged T50 in 16 seasons. The time between introduction and resistance is related to the sensitivity of resistant individuals and the moment when the measures are adopted. The biological penalty of resistant individuals prolonged the life of the SDHI and proved to be limiting. The results suggest that the adoption of anti-resistance measures should be planned before the launch of the active ingredient and the product's life varies according to the degree of resistance. The models can help researchers understand the selection of resistant individuals through the application of SDHIs.

Palavras-chave: Asian Soybean Rust. Carboxamide. Epidemiology. Differential equations. Resistance.

3.3 INTRODUÇÃO

O uso de fungicidas para controle de doenças de soja no Brasil sofreu grandes mudanças com a presença da ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. Até então, recomendações de manejo de doenças na cultura raramente apresentavam mais de uma aplicação de fungicidas. A partir de 2003, com a doença constatada em mais de 90% das áreas produtoras (YORINORI et al., 2005), aplicações regulares de triazóis e triazolinonas e posteriormente estrobilurinas foram adotadas.

Em função da eficiência de controle e escassez de informações sobre outras medidas efetivas, o uso desenfreado de fungicidas resultou na seleção de populações resistentes do fungo e falhas de controle da doença. Alterações no gene CYP51, como substituições Y131F e I475T conferiram menor sensibilidade a fungicidas inibidores da desmetilação (DMIs) (SCHMITZ et al., 2014), seis anos após os primeiros casos da doença no país (GODOY et al., 2016). Da mesma forma, a insensibilidade a fungicidas inibidores de quinona (QoIs) ocorreu em função das alterações G143A e F129L, localizadas no citocromo b (KLOSOWSKI et al., 2016; SCHMITZ et al., 2014).

Introduzido na safra 2013/14, os fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) apresentaram redução de eficiência de controle já nas safras subsequentes ao seu lançamento, causada pela alteração na posição I86F da subunidade C (FRAC, 2017; GODOY et al., 2017; SIMÕES et al., 2018). Medidas de manejo que prolonguem a vida útil de ingredientes ativos no controle de *P. pachyrhizi* só foram efetivamente adotadas após a ocorrência de falhas de controle no Brasil, ou seja, após o aumento da frequência de resistentes na população.

Entre os fatores que podem acelerar a seleção de populações resistentes estão as aplicações curativas (após infecção), aplicações repetidas do mesmo ingrediente ativo (GODOY et al., 2016; LANGENBACH et al., 2016; VAN DEN BOSCH et al., 2014a). Para mitigar essa seleção e prolongar a vida útil destas moléculas, novas estratégias vêm sendo recomendadas, como alterações de dose, número e época de aplicações, alternância e mistura de modos de ação e intervalo entre aplicações (FRAC, 2017). Contudo, o real efeito dessas medidas na seleção de indivíduos resistentes na população é incerto.

Modelos matemáticos de simulação são ferramentas que podem prever o impacto das estratégias de resistência na taxa de seleção de indivíduos resistentes e nas falhas de controle. Apesar de contestados no passado por sua complexidade e aplicabilidade, o uso de modelos matemáticos para criação de estratégias tem crescido na última década (FANTIN;

CANTERI, 2018). O sucesso na capacidade do modelo em prever é resultado do conhecimento de modelos biológicos e estimativa adequada de seus parâmetros (VAN DEN BOSCH; GILLIGAN, 2008).

Dessa forma, o objetivo principal do presente estudo foi desenvolver modelos matemáticos para avaliar aplicações de fungicidas do grupo dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) na seleção de resistentes de *P. pachyrhizi*. Além disso, (i) avaliar o efeito da frequência inicial de indivíduos resistentes; (ii) nível de sensibilidade dos resistentes; (iii) custo biológico da resistência e (iv) número de aplicações na seleção de indivíduos resistentes a fungicidas SDHI.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Modelos do tipo Suscetível-latente-infeccioso-removido, conhecidos como SLIR, foram adotados para simular a dinâmica de *P. pachyrhizi*. Os modelos foram modificados para considerar o desenvolvimento do hospedeiro, o ciclo de indivíduos resistentes e sensíveis e aplicação de fungicidas. O mesmo foi realizado em outros trabalhos para simular outros patógenos (HOBBELEN et al., 2011; HOBBELEN; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2011; KITCHEN et al., 2016; VAN DEN BOSCH et al., 2014b). Os modelos SLIR são compostos por equações diferenciais ordinais (EDO). No presente estudo, o modelo considera um sistema de 1 m² de área e compreende hospedeiro e patógeno. Indivíduos sensíveis e resistentes foram simulados independentemente. O crescimento do hospedeiro foi dado através do índice de área foliar (IAF), ajustado a partir das informações em Moreira et al. (2015). A área foliar do hospedeiro é representada por “sítios”. Os sítios são unidades assimétricas que podem apresentar quatro fases/estados: saudável ou suscetível, latente, infeccioso e removido (“Susceptible, latente, infective and removed”). Cada fase é ordenada de acordo com o ciclo de relações patógeno hospedeiro ou cadeia de infecção. A figura abaixo representa esquematicamente a organização hierárquica do modelo (Figura 3).

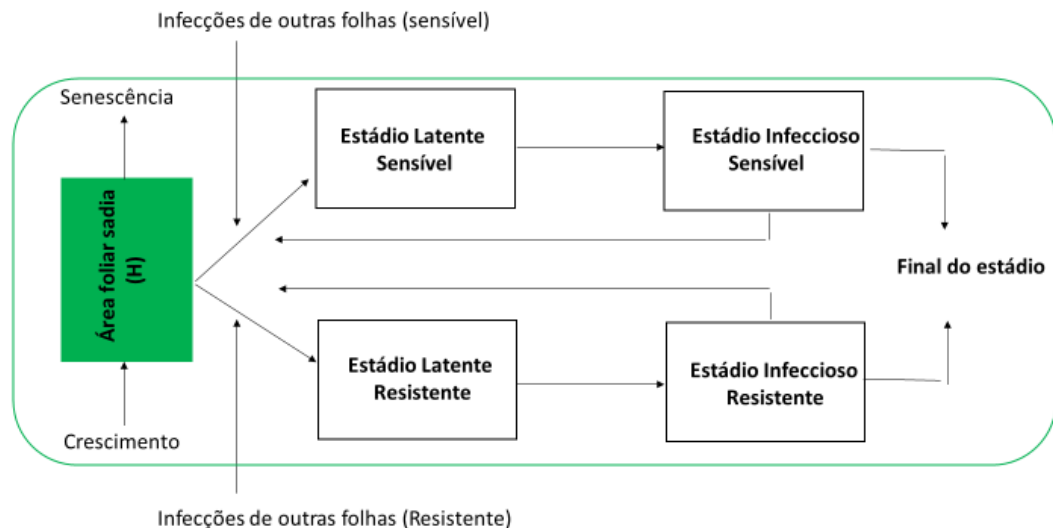


Figura 3 – Organograma do modelo de simulação que descreve o desenvolvimento dos indivíduos sensíveis e resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja durante a safra.
Fonte: O próprio autor.

Hospedeiro

O crescimento do hospedeiro é dado pelo índice de área foliar (IAF), que representa a área foliar total em 1m^2 . De acordo com os resultados apresentados por Moreira et al. (2015), o hospedeiro cresce logisticamente e senesce exponencialmente, e foi representado conforme:

$$\frac{dA}{dt} = \begin{bmatrix} 0 \\ RRCG * A * \left(1 - \left(\frac{A}{A_{max}}\right)\right) \\ dA - A * e^{R_{sen} * t - t_{sen}} \end{bmatrix} \quad \left\{ \begin{array}{l} t < t_{init} \\ t_{init} > t > t_{sen} \\ t > t_{sen} \end{array} \right.$$

Em que dA é a derivada de A em função de dt, A representa o IAF no tempo t, RRCG é a taxa de crescimento, A_{max} representa o IAF máximo e R_{sen} é a taxa de senescência. Na equação t_{init} corresponde ao tempo em que o hospedeiro inicia o crescimento e t_{sen} representa o início da senescência.

Patógeno

O inóculo inicial no sistema apresenta variação sazonal, ou seja, varia de acordo com o período da safra. No presente modelo, assumiu-se menor introdução de uredinísporos no início do desenvolvimento da cultura e pico de inserção de inóculo próximo ao meio da safra e redução no final da safra quando as plantas entram em senescência e há redução da área foliar com produção de uredinísporos. A equação que descreve o inóculo inicial é descrita como:

$$\begin{aligned} ino_c_s &= ino_{max} [1 * (t^2) * e^{(-f*t)}] \\ ino_c_r &= ino_{max} [1 * (t^2) * e^{(-f*t)}] \end{aligned}$$

Em que $inoc_s$ e $inoc_r$ representam o número de urediniósporos suscetíveis e resistentes que são inseridos no sistema, ino_{max} é o máximo de urediniósporos e f diz respeito ao shape da curva.

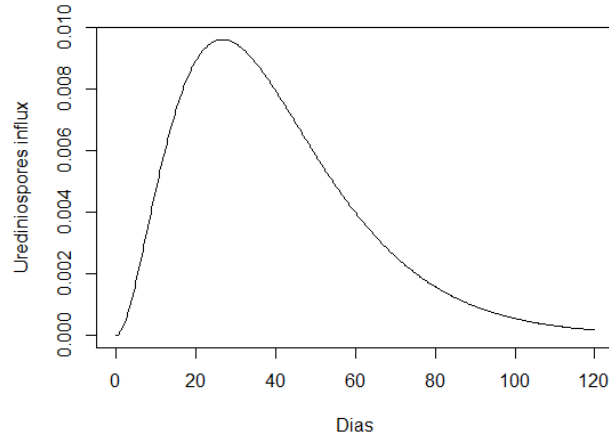


Figura 4 – Curva de introdução de urediniósporos no sistema durante o desenvolvimento do hospedeiro.

Fonte: O próprio autor.

O presente estudo não considerou diretamente o efeito de temperatura e molhamento foliar na eficiência de infecção. Nesse sentido, foi assumido que a taxa aparente de infecção ajustada através da bibliografia incorpora os efeitos de temperatura e molhamento. Assim, para que os urediniósporos inseridos (disseminados) iniciem a infecção é necessário que existam sítios saudáveis. A taxa de variação da área foliar sadia (H) ou suscetível (disponível para novas infecções) é dada por:

Área Saudável/suscetível

$$\frac{dH}{dt} = RRCG * A * \left(1 - \left(\frac{A}{A_{imax}} \right) \right) - \left[\frac{H}{A} * (\varphi_s * (InfS_s + inoc_s)) \right] - \left[\frac{H}{A} * (\varphi_r * (InfS_r + inoc_r)) \right] - senescence$$

Em que φ_s e φ_r representam a taxa aparente de infecção de indivíduos suscetíveis e resistentes, respectivamente, H/A representa a correção de sítios saudáveis disponíveis para novas infecções no tempo t ; e $InfS_s$ e $InfS_r$ são os inóculos produzidos por sítios infecciosos suscetíveis e resistentes, respectivamente, ou seja, ciclo secundário da doença. A taxa aparente

de infecção (φ_s e φ_r) é dada pela taxa aparente inicial de cada isolado (resistente ou sensível) e efeito da concentração do ingrediente ativo aplicado. De acordo com o ingrediente ativo e modo de ação, os fungicidas podem atuar em diferentes fases da cadeia de infecção (CAFFI; ROSSI, 2018). No presente estudo, fungicidas SDHI atuam no período latente e infecção. A equação que descreve o efeito na taxa de infecção é dada como:

Taxa Aparente de Infecção

$$\varphi_s = bi * \varepsilon_s$$

$$\varphi_r = bi * \varepsilon_r$$

Onde bi é a taxa aparente de infecção inicial e ε_s e ε_r representam o efeito do fungicida nos indivíduos sensíveis e resistentes, respectivamente. Nos modelos simulados a taxa aparente de infecção inicial foi similar entre indivíduos sensíveis e resistentes. De acordo com Mello et al. (2021) e Simões et al. (2018) até o momento não há evidências de penalidade biológica em indivíduos que apresentam a mutação/alteração I86F e conferem menor sensibilidade a SDHIs. Contudo, segundo Mello et al. (2021), indivíduos com a alteração I86F apresentam diferentes níveis de sensibilidade aos ingredientes ativos que atuam na inibição da succinato desidrogenase. No modelo, não foi considerado a variação na taxa aparente de infecção em função da idade do hospedeiro, assim como observado por Xavier et al. (2017) e Furtado et al. (2009).

O efeito do fungicida na taxa aparente de infecção varia em função de t , dada como:

$$\varepsilon_i(t) = \varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape * Dose})$$

$\varepsilon_{\max(i)}$ representa o máximo de redução dada pelo fungicida i , $shape$ corresponde ao valor ajustado da curva de ação e $dose$ é a quantidade de ingrediente ativo no tempo t após aplicação. Após aplicação, a dose/concentração do ingrediente ativo cai de acordo com a equação exponencial.

Dose

$$Dose(t) = D_{apL} * e^{(-v*t)}$$

Em que D_{apl} é a dose aplicada, v representa a meia-vida do produto aplicado dada por $v = -\log(0.5)/dias$. O período de ação varia de acordo com o ingrediente ativo. No modelo não foram considerados efeitos da precipitação (chuva) após aplicação, bem como, a qualidade da aplicação na distribuição do produto no dossel. É necessário o desenvolvimento de modelos para avaliar essas características.

Os indivíduos não afetados pela aplicação de fungicidas, infectarão os sítios saudáveis transformando-os em latentes. O período de latência considerado foi de nove dias, de acordo com estudo de Danelli; Reis (2016). Apesar disso, Braga et al. (2020) observaram variação de 9 a 12 dias em isolados do Paraná e Paraguai. Até o presente momento não há estudos publicados com alteração do período latente de indivíduos que apresentam alterações que conferem menor sensibilidade a SDHIs. Nos modelos, o efeito dos fungicidas SDHI foram assumidos no período latente, assim como adotados por Hobbelen et al. (2011) e Elderfielf et al. (2018) trabalhando com fungicidas DMI. O período latente foi expresso como:

Período Latente

$$\frac{dLat_s}{dt} = \left[\frac{H}{A} * (\varphi_s * (InfS_s + inoc_s)) \right] - \left(Lat_s * \frac{1}{Lp_s * (\varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape * Dose}))} \right) - senescence$$

$$\frac{dLat_r}{dt} = \left[\frac{H}{A} * (\varphi_r * (InfS_r + inoc_r)) \right] - \left(Lat_r * \frac{1}{Lp_r * (\varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape * Dose}))} \right) - senescence$$

Em que Lat_s e Lat_r representam os sítios latentes por infecção de sensíveis e resistentes, respectivamente, e Lp_s e Lp_r representam o período latente. Após o período latente os sítios tornam-se infecciosos e passam a produzir urediniosporos que serão disseminados dentro do sistema (ciclo secundário da doença).

Período Infeccioso

Ao final do período latente os sítios passam a ser infecciosos. A equação que descreve é dada por:

$$\frac{dInfS_i}{dt} = \left(Lat * \frac{1}{Lp * \varepsilon(t)} \right) - \left(InfS * \frac{1}{Ip} \right) - senescence$$

Em que $InfS$ e $InfR$ representam os sítios infecciosos de sensíveis e resistentes, respectivamente, e Ip corresponde o período infeccioso, ou seja, período em que o sítio permanece produzindo uredinósporos. No final do período infeccioso os sítios infecciosos são removidos.

Removidos

$$\frac{dRem_i}{dt} = InfS * \frac{1}{Ip}$$

Ao final de cada safra simulada, a frequência final de sítios infectados por indivíduos resistentes e sensíveis é calculada. A frequência de indivíduos resistentes no início da safra é dada por $inoc_{res} = 1 - inoc_{sens}$.

Ajuste dos parâmetros

Os parâmetros referentes ao desempenho de fungicidas foram ajustados a partir de estudos publicados e trabalhos conduzidos a campo. Os estudos apresentaram aplicações dos modos de ação SDHI aplicados uma, duas, ou três vezes e em doses diferentes de cada ingrediente.

Os parâmetros foram ajustados através de estudos que apresentaram aplicações de ingredientes ativos compostos por solatenol + azoxystrobin (30 + 60 g.i.a. ha⁻¹) e fluxapiraxade + piraclostrobina (50.1 + 99.9 g.i.a. ha⁻¹). No estudo, a dose dos ingredientes ativos foi considerada como 100% em função da recomendação dos fabricantes.

O progresso da doença com e sem aplicação dos ingredientes ativos foi ajustado através do modelo não-linear logístico (Apêndice A) com auxílio do software R. Inóculo inicial e taxa de progresso foram adotados a partir dos parâmetros do modelo logístico. A eficiência máxima e período de ação foi estimada através da diferença entre a curva de progresso na testemunha e tratamento com aplicação. A mediana dos parâmetros estimados foi adotada como “assumption” dos modelos.

Os valores de SDHI ajustados através dos estudos levantados foram considerados como aplicações em populações selvagens. De acordo com a parametrização, o nível inicial de área

afetada foi 0.0005, com inóculo inicial aos 40 dias após emergência (DAE). A taxa aparente de infecção foi de 2.7, período latente nove dias e período infeccioso de 28 dias. O crescimento diário do hospedeiro dado por RRCG foi de 0.13 e senescência de 0.15. O crescimento do hospedeiro ajustado pelos modelos foi apresentado na figura 5. O índice de área foliar foi convertido em porcentagem.

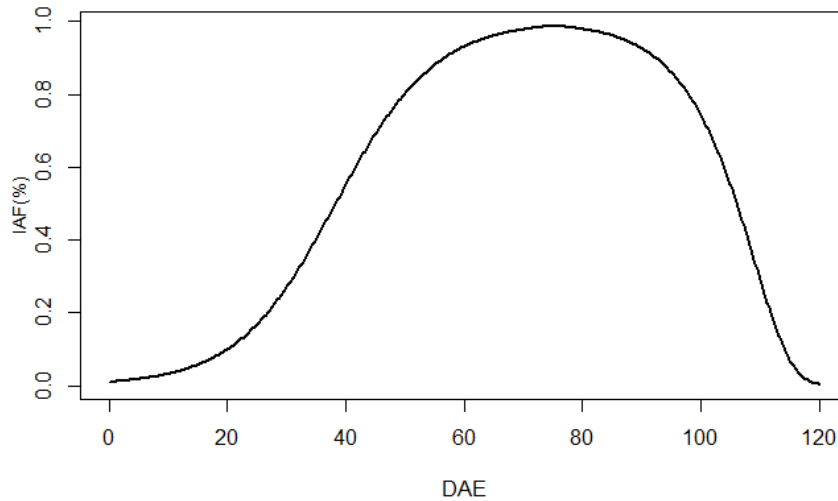


Figura 5. Modelo de simulação do crescimento do hospedeiro ajustado através dos dados de Moreira et al. (2015).

Fonte: O próprio autor.

Os parâmetros ajustados a partir de dados experimentais e pressupostos (*assumptions*) adotados no presente estudo estão apresentados na tabela abaixo. Os ajustes forma apresentados em ANEXO A.

Tabela 1. Descrição de parâmetros e valores adotados (*Assumptions*) nos modelos de simulação de resistência de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI.

| | Acronym | Significado do acrônimo | Valor | Referência |
|-------------------|-------------|---|--------------------|-------------------------------|
| Rate of growth | RRCG | Relative rate of growth | 0.15 2 | fit from Moreira et al.(2015) |
| | Amax | Maximum number of sites at time t | 3.9 | |
| | A0 | Initial sites at time t_0 | 0.01 | |
| | Rsen | Senescence rate | 1.12 | |
| Rate of infection | incoci | initial inoculum | 1×10^{-5} | Fit from review |
| | φ_s | Infection rate of sensitive strain at time t | 2.5 | |
| | φ_r | Infection rate of resistance strain at time t | | |

| | | | |
|-----------|----------------------|---|--|
| | bi | Basic infection rate | |
| | Lp | Latent period | 9 d |
| | | | Danelli e Reis (2016); Fantin et al. (2020) |
| | Ip | Infection period | 28 d |
| Fungicide | ϵ_r | Fungicide reduction rate at time t | |
| | ϵ_s | Fungicide reduction rate at time t | |
| | $\epsilon_{\max}(i)$ | Maximum fungicide reduction of fungicide | 0.65 |
| | shape | Fungicide curve shape | 0.63 |
| | Dose | Ingredient active g.ia.ha ⁻¹ at time t | |
| | Dapl | Ingredient active g.ia.ha ⁻¹ applied | |
| | v | half-life of applied product | 3 |

*Representação gráfica está disponível no anexo A.

Cenários e programas de controle

O presente estudo foi composto por programas de aplicações compostos por uma (40DAE), duas (40 e 55 DAE) e três (40, 55 e 70 DAE) aplicações de apenas um modo de ação ou aplicação solo (SDHI). Cada programa foi testado em diferentes cenários de (i) frequência inicial de indivíduos resistentes, (ii) nível de sensibilidade dos indivíduos resistentes (*shift*), (iii) penalidade biológica e (iv) dose de fungicidas SDHI. O intervalo entre aplicações foi de 15 dias e o início das aplicações aos 40 DAE (Tabela 1).

Frequência inicial de resistentes

Cada programa com aplicação solo (1, 2 e 3 aplicações) foi simulado em cenários/assumptions que consideram diferentes frequências iniciais de resistentes na população. As frequências iniciais de resistentes foram 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 e 0.5. O objetivo foi estudar o efeito da frequência inicial no tempo para T50, bem como ajustar frequência inicial para as demais simulações.

Os cenários foram mitigados por Van den Bosch et al. (2011), que citam haver três fases no processo de resistência, “emergence”, “selection” e “adjustment”. Na fase de seleção os indivíduos (ou strains) resistentes já estão presentes na população. O presente trabalho atua na fase de emergência da resistência, podendo combinar a fase de “adjustment”, dependendo da frequência de resistentes.

Nesse caso, os cenários consideram o efeito da adoção de medidas e/ou uso de modelos de simulação em diferentes momentos após a introdução do modo de ação no mercado, ao

considerar diferentes frequências iniciais de resistentes e a frequência inicial de resistentes necessária para ser selecionada.

Sensibilidade de indivíduos resistentes (*shift*)

De acordo com os trabalhos de Mello et al. (2021) e Simões et al. (2018) indivíduos resistentes possuem respostas diferentes aos ingredientes ativos benzovindiflupir e fluxapiroxade. Os diferentes níveis de efeito do fungicida nos indivíduos resistentes foram nomeados como *shift*. Os níveis de sensibilidade de indivíduos resistentes a SDHI, ou seja, nível de ação de SDHI nos indivíduos resistentes a SDHI simulados foram 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 99%. Por exemplo, em um cenário com *shift* de 50%, a aplicação de SDHI que apresenta eficiência máxima de 0.60 vai apresentar 0.60 de eficiência nos indivíduos sensíveis e 0.30 nos indivíduos resistentes a SDHI. No caso de *shift* de 10%, a mesma aplicação apresentará eficiência de 0.06 nos indivíduos resistentes e 0.60 nos indivíduos sensíveis.

Os cenários têm como objetivo simular o efeito do nível de sensibilidade de resistentes, assumindo que a sensibilidade de indivíduos com a alteração I86F varia de acordo com o ingrediente ativo (exemplo, benzovindiflupyr e fluxapiroxade). Em *Mycosphaerella graminicola* em trigo cerca de 27 substituições de aminoácidos distribuídas em 18 posições diferentes das subunidades SDHB, SDHC e SDHD apresentaram diferentes respostas a cinco SDHIs (SCALLIET et al., 2012).

Da mesma forma, os cenários simulados podem ser adotados para outros ingredientes ativos do grupo dos SDHI, que podem ser inseridos no mercado nos próximos anos.

Penalidade Biológica

Apesar de não haver relatos na literatura de penalidades biológicas causadas pela alteração I86F (SIMÕES et al., 2018; MELLO et al., 2021). As simulações estudaram situações em que os indivíduos resistentes apresentam penalidade biológica de acréscimo de 1, 3 e 5 dias no período latente. O objetivo foi simular o efeito de programas de controle com SDHI em possíveis novos indivíduos que possam apresentar novas mutações/alterações que conferem menor sensibilidade a SDHIs. Ainda, fornece evidências do porquê mutações que conferem resistência a SDHI e outros modos de ação são encontradas apenas em laboratórios e não no campo.

Dose

A seleção de resistentes ou tempo até T50 de programas de aplicação foram testados em relação a variação da dose de SDHI. Foram simuladas doses de 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 1% da dose recomendada pelo fabricante. Os valores de eficiência máxima para cada dose foram estimados através da regressão linear dos parâmetros estimados de estudos publicados. O objetivo foi avaliar o comportamento de T50 em função da variação da dose e *shift*. Os programas e cenários estão apresentados na tabela 2. Ao todo 4060 cenários foram simulados. Cada cenário contém 20 safras, compostas por 120 dias cada. Ao todo, 9.744.000 dias foram simulados.

Tabela 2. Programas e cenários simulados para estudar o efeito aplicações de fungicidas SDHI na seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi*.

| | Grupo | Nº. apl. | Intervalo | Freq. inicial | Dose (%) | Shift (%) | Fitness (dias) | Total |
|-------|-------|----------|-----------|---------------|----------|-----------|----------------|-------|
| Solo | SDHI | 1 | 15 | 0.00001 a 0.5 | 100% | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 1200 |
| Solo | SDHI | 2 | 15 | 0.00001 a 0.5 | 100% | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 1200 |
| Solo | SDHI | 3 | 15 | 0.00001 a 0.5 | 100% | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 1200 |
| Solo | SDHI | 1 | 15 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Solo | SDHI | 2 | 15 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Solo | SDHI | 3 | 15 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| total | | | | | | | | 4060 |

Variável resposta

Os resultados da simulação foram apresentados na forma de **T50**, que representa o número de safras antes que a frequência de resistentes a SDHI na população ultrapasse 50%, e a **Effective life (E35)**, dada pelo número de safras em que o programa pode ser repetido antes que a eficiência de controle calculada através da AACPD entre 48 e 90 DAE seja menor que 35% em relação a eficiência inicial.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os modelos desenvolvidos apresentaram capacidade de simular o progresso de ferrugem asiática da soja bem como o efeito da aplicação de fungicidas no controle da doença. De acordo com os parâmetros estimados e *assumptions* adotados no presente estudo, os resultados demonstram que a aplicação de fungicidas e modo de ação SDHI selecionam indivíduos resistentes ao longo das safras.

Número de aplicações, frequência inicial de resistentes e sensibilidade a fungicida

Os resultados demonstraram que o aumento no número de aplicações de SDHI reduziu o T50. Em programas com aplicação de SDHI aos 40 DAE e *shift* de 50%, T50 variou de seis a duas safras nos cenários com frequência inicial de resistentes até 5% (Figura 6A). Considerando o mesmo cenário, em programas com duas (40 + 55 DAE) e três (40+55+70 DAE) aplicações, o número de safras até T50 variou de três a uma e dois a uma safras, respectivamente (Figura 6B e 6C). Apesar disso, nas condições e pressupostos (*assumptions*) adotados, indivíduos que apresentaram *shift*, ou seja, indivíduos resistentes afetados de 70 a 99% pela aplicação de SDHI, maior tempo até T50.

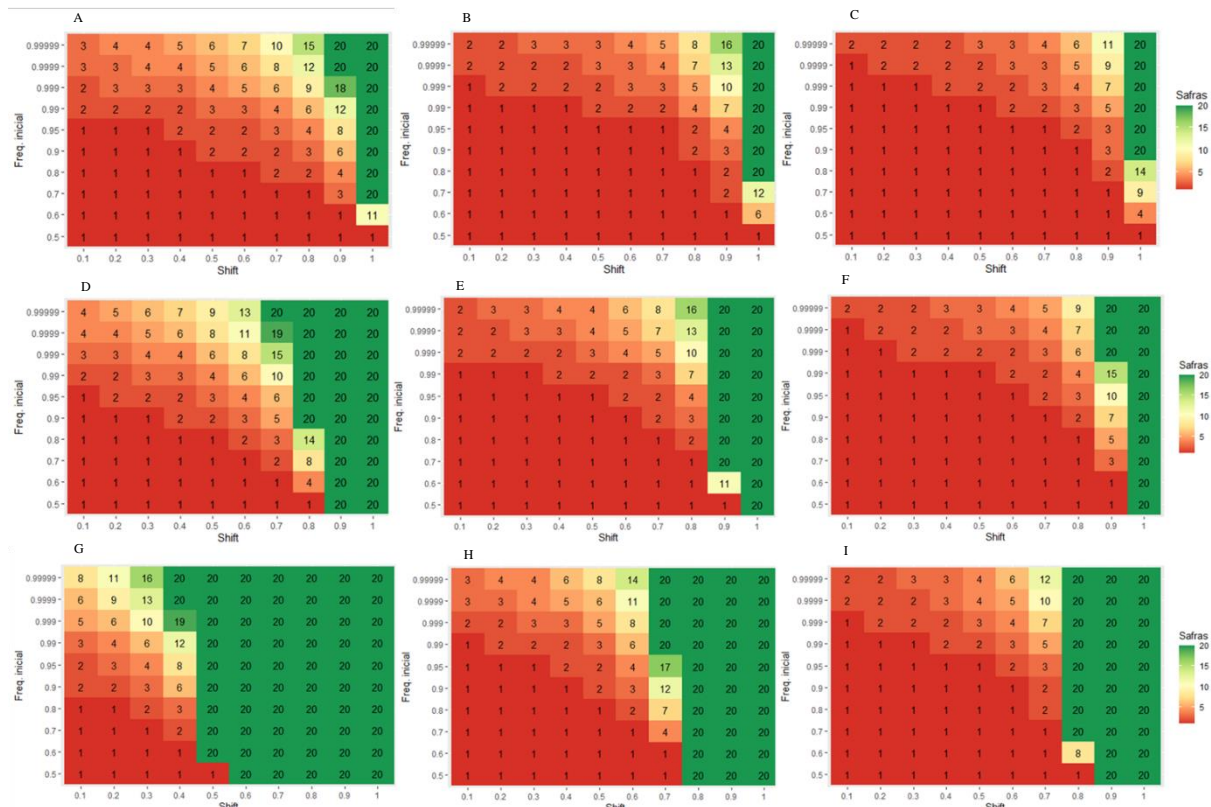


Figura 6. (1) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI em programas de aplicações solo de SDHI aos (a) 40 DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, e cenários com diferentes frequências iniciais de indivíduos sensíveis e níveis de sensibilidade. (2) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade de 1 dia em programas de aplicações solo de SDHI aos (d) 40 DAE, (e) 40 e 55 DAE e (f) 40, 55 e 70 DAE, e cenários com diferentes frequências iniciais de indivíduos sensíveis e níveis de sensibilidade dos resistentes. (3) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade de 3 dias em programas de aplicações solo de SDHI aos (g) 40 DAE, (h) 40 e 55 DAE e (i) 40, 55 e 70 DAE, e cenários com diferentes frequências iniciais de indivíduos sensíveis e níveis de sensibilidade.

O resultado sugere que a seleção de uma população de indivíduos “resistentes” varia de acordo com o nível de sensibilidade dos indivíduos (*shift*) ao fungicida que está exercendo a pressão de seleção. Ainda, o resultado pode indicar limiar (*Threshold*) para emergência de uma população de resistentes e corrobora os resultados apresentados por Skylakakis (1981).

Em geral, a frequência inicial de resistentes foi inversamente proporcional a T50. Nos cenários com frequência inicial foi de 0.00001 e *shift* de 50%, o número de safras até T50 foi de seis para três quando o número de aplicações aumentou de uma para três. Em cenários em que a frequência inicial simulada foi de 0.01 e *shift* 50% o número de safras até T50 foi de quatro, dois e dois em programas com uma, duas e três aplicações respectivamente. O número de aplicações favoreceu a seleção de indivíduos resistentes que apresentaram maior sensibilidade a SDHI (Maior *shift*). Exemplo disso são os cenários com *shift* de 80 e 90% (80% da população resistentes é afetada pelo SDHI). Em programa com uma aplicação T50 foi de nove e 18 safras, em compensação, quando houve três aplicações, T50 foi de quatro e sete.

FRAC (2012) alerta que quanto maior o número de aplicações maior a pressão de seleção direcional. Isso ocorre em função do aumento do controle de indivíduos sensíveis (ou que não apresentam mutações que conferem menor sensibilidade) com o maior número de aplicações do ingrediente ativo em questão, favorecendo o aumento da frequência de indivíduos resistentes. Nos cenários em que o *shift* da população resistente é maior, as aplicações de SDHI apresentam maior efetividade na população resistente.

Coincidentemente, no Brasil, os SDHI foram registrados para controle da ferrugem asiática da soja no ano de 2013. Em 2015, Simões et al. (2018) identificaram redução de sensibilidade de *P. pachyrhizi* a SDHIs em isolados coletados no estado do Rio Grande do Sul, que apresentavam aplicação intensa de SDHI. Posteriormente, em 2017, falhas de controle no campo foram observados por Godoy et al. (2017) em áreas de produção de soja com programas intensivos de aplicação de fungicida SDHI.

Mello et al. (2021) ressaltam que o aumento na frequência da alteração SdhC-I86F pode ser explicado pela pressão imposta pelo lançamento comercial de SDHI e uso intensivo com pouca ou nenhuma rotação com diferentes modos de ação. Os mesmos autores citam que os indivíduos apresentam respostas diferentes aos ingredientes ativos. Os resultados apresentados no presente estudo corroboram o trabalho de Mello et al. (2021) e sugerem que o nível de sensibilidade dos indivíduos resistentes governa o tempo para T50.

A presença de níveis de sensibilidade pode ser explicada por diferentes mutações/alterações. A resistência de *S. sclerotiorum* ao SDHI boscalide foi atribuída pela primeira vez a uma mutação de ponto único A11V (GCA para GTA) no SDH-B31 e, posteriormente, considerada resistente devido à mutação H132R no SDH-D32. Em *M. graminicola*, foram encontradas 27 alterações de aminoácidos em 18 posições distribuídos em três subunidades, e que conferiram diferentes níveis de resistência a cinco SDHIs (SCALLIET et al., 2012). Da mesma forma, mutações nas subunidades B, C e D do SDH foram encontradas em amostras de *Zymoseptoria tritici* expostas a doses superiores de SDHI fluxapiraxade (GUTIEREZ-ALONSO et al., 2017). Pearce et al. (2019) observaram múltiplas mutações pontuais espalhadas nas mesmas três subunidades, o que conferiu diferentes níveis de sensibilidade em *Didymella tanacetii* a boscalide, assim como Miyamoto et al. (2020) em *Podospaera xanthii* em pepino. Para *P. pachyrhizi*, os resultados apresentados por Mello et al. (2021) sugerem haver outras alterações que podem estar distribuídas nas sub-unidades B, C e D, que podem conferir menor sensibilidade do fungo a diferentes SDHIs.

Dessa forma, os cenários de *shift* simulados contemplam situações que podem já estar ocorrendo no ambiente para indivíduos que apresentam mutação I86F e indivíduos que contenham outras mutações que ainda não foram identificadas a nível de campo e que devem ser exaustivamente monitoradas e estudadas. Singh et al. (2015) citam a ameaça de emergência e disseminação de novas raças de ferrugem do trigo. A identificação precoce de indivíduos que apresentem resistência é essencial na manutenção de programas de controle eficientes.

Além disso, a presença de resistência cruzada entre ingredientes ativos pode favorecer a seleção de resistentes/menor sensibilidade a SDHI. Por exemplo, indivíduos de *Zymoseptoria tritici* com a mutação I381V são altamente selecionados com aplicações de tebuconazol e metconazol, mas não por prochloraz. No entanto, a mutação V136A, torna *Z. tritici* mais sensível a tebuconazol e menos sensível a prochloraz (FRAAIJE et al., 2007). Os DMIs tebuconazol e myclobutanil apresentam resistência cruzada em *Venturia inaequalis* (CORDERO-LIMON et al., 2021).

Nesse sentido, a introdução de novos ingredientes ativos ou reintrodução de ingredientes que já apresentaram redução de eficiência, como o tebuconazol, podem exercer pressão de seleção em indivíduos menos sensíveis a outros ingredientes ativos. Chen et al. (2021) observaram diferentes mutações/alterações e níveis de sensibilidade de *Fusarium asiaticum* ao SDHI pydiflumetofe introduzido em 2019 na China, e presença de resistência cruzada com outros SDHIs há mais tempo no mercado, como boscalide e thifluzamide.

Nesse sentido, cenários com diferentes frequências iniciais de resistentes, assumida como frequência antes da população ser exposta ao produto alvo, podem indicar resultados de novos ingredientes. No caso de frequência inicial de resistentes de 1%, o número de safras até T50 variou de uma a três safras com três e uma aplicação, respectivamente (Figura 6 - A, C). O início do uso de estratégias anti-resistência após a detecção de indivíduos resistentes apresentou menor T50 em todos os cenários. Ao reduzir a pressão de seleção, há redução da seleção de resistentes. Pereira et al. (2019) observaram redução da frequência de indivíduos de *Monilinia fructicola* com a mutação G461S no gene *MfCYP51* após o não uso do DMI tebuconazol. Gisi e Sietotzki (2008) e Toffolatti et al (2010) observaram redução na frequência de resistentes de *Plasmopara viticola* após suspender a aplicação de QoI.

Penalidade biológica

A capacidade de uma população emergir e ser selecionada está sujeita à adaptação às condições do ambiente, como temperatura e radiação, e fatores como aplicações de fungicidas. O comprometimento de suas características biológicas, pode determinar o sucesso ou fracasso dessa população. O atraso em um dia no período latente de indivíduos resistentes prolongou T50 em cenários com uma, duas e três aplicações de SDHI (Figura 6- D, E, F). No cenário com uma aplicação (40 DAE) e *shift* de 50%, houve acréscimo de duas safras até T50. Para o mesmo cenário, duas aplicações apresentaram acréscimo de uma safra e para três aplicações não houve acréscimo do número de safras até T50. A pressão de seleção imposta pelo aumento do número de aplicações favoreceu a seleção de indivíduos com maior *shift* (mais sensíveis ao SDHI), mesmo com penalidade biológica.

Em cenários com penalidade de três dias (período latente de 12 dias), o número de safras até T50 foi superior do que em cenários equivalentes sem penalidade e penalidade de um dia. Indivíduos resistentes com *shift* superior a 80% levaram >20 safras (Figura 6- H, I). Mesmo com a frequência inicial de resistentes de 50%, a penalidade biológica de três dias impediu que a frequência de indivíduos resistentes alcançasse T50 no período simulado para uma aplicação.

O resultado indica que a penalidade de três dias no período latente e a redução do número de aplicações (pressão de seleção) são limitantes para seleção da população resistente. Em uma ampla revisão, Gilligan e Van den Bosch (2008) apresentam conceitos de invasão e persistência. Os autores citam que uma população pode invadir/inserir e aumentar em um ambiente, mas necessariamente essa população pode não persistir em função das características do sistema. Na presença de penalidade, apesar de indivíduos resistentes estarem presentes, a sua frequência não aumenta. Apesar de não estar inserido ou considerado nos modelos, a redução de uma determinada frequência a níveis “muito baixos” pode culminar na extinção. Nesse caso, a presença de forças evolutivas de seleção (mutação, deriva genética entre outras) não permite que haja o equilíbrio gênico (Equilíbrio de Hardy-Weinberg), ou seja, as frequências dos alelos (genes que conferem resistência) não permanecem constantes ao longo das gerações (EDWARDS, 2008).

A taxa de seleção é o produto da vantagem seletiva dos indivíduos resistentes e o número de gerações (GRIMMER et al., 2015). O sucesso ou fracasso de uma população, seja ela qual for, está relacionado a sua capacidade de obter recursos. Hawkins e Fraaije (2018) citam que a emergência, e posterior seleção desses indivíduos, está na capacidade de competição com outros indivíduos na presença ou não de fungicidas. Com o aumento do período latente de indivíduos resistentes, o número de gerações em uma mesma safra diminui, reduzindo a competitividade por recursos e a sobrevivência na entressafra. Nesse sentido, indivíduos com menor sensibilidade a fungicidas SDHI podem já existir na população, contudo, o *shift* e o nível de penalidade biológica impossibilitam ou dificultam o aumento da frequência desses indivíduos nas populações, sendo favorecidas com o aumento da pressão de seleção com aumento do número ou dose. Os resultados apresentados corroboram alguns casos de mutações que conferem menor sensibilidade a fungicidas serem encontradas em laboratórios e não identificadas no ambiente.

Scalliet et al. (2012) encontraram 27 substituições de aminoácidos distribuídas nas subunidades SDHB, SDHC e SDHD em *M. graminicola* em trigo que conferem diferentes níveis de sensibilidade a cinco fungicidas SDHIs. Os autores observaram alteração de virulência de indivíduos com as mutações em ensaios em plantas, mas não constataram alterações em ensaios *in vitro*. No trabalho de Klosowski et al. (2016b) a frequência de isolados com alteração em CYP51 reduziu ao longo de cinco ciclos quando combinados a isolados selvagens. Os resultados sugerem alterações biológicas conferidas pelas mutações. Pereira et al. (2019) observaram que a mutação G461S no gene *MfCYP51* de *M. fructicola* confere penalidade

biológica aos indivíduos. Na ausência da pressão de seleção imposta pelo DMI tebuconazol, o fungo não consegue competir com os indivíduos selvagens.

Moléculas oriundas do Phenylpyrroles (metabólito secundário produzido por *Pseudomonas pyrocinia*), como o fungicida fludioxonil, registrado para o controle de diversos fungos, estão no mercado há mais de duas décadas e raros casos de resistência no campo foram relatados até agora. Isso pode ser resultado do custo biológico necessário para que um indivíduo não seja morto pelo fungicida, visto que os fungicidas dessa classe provocam sérios distúrbios fisiológicos como hiperpolarização da membrana, alterações no metabolismo do carbono e acúmulo de metabólitos, levando ao inchaço e explosão da célula (KILANI; FILLINGER, 2016). Pouco se sabe sobre o custo biológico de indivíduos do fungo *P. pachyrhizi* com a alteração I86F. Tampouco, sobre a presença de outras alterações que conferem menor sensibilidade. Em outros patossistemas, a presença de inúmeras alterações já foi relatada como em Pearce et al. (2019), Miyamoto et al. (2020) e Chen et al. (2021). Em *Fusarium asiaticum* Chen et al. (2021) apesar de não observar penalidade no crescimento micelial, houve resistência cruzada entre pydiflumetofen (SDHI introduzido em 2019), boscalida ou thifluzamide.

Ainda, os parâmetros da epidemia bem como os efeitos das medidas de controle na seleção de resistentes podem variar de acordo com a região. Melching; Bromfield e Kingsolver (1979) avaliaram em condições de casa de vegetação o número de uredinósporos de *P. pachyrhizi* produzidos por lesão de isolados de Taiwan, Índia, Austrália e Indonésia. Os autores estimaram a produção de 2028, 3769, 6268 e 6600 uredinósporos por lesão⁻¹. dia⁻¹, para Austrália, Índia, Indonésia e Taiwan, respectivamente. Braga et al. (2020) observaram variação no período latente de populações do fungo *P. pachyrhizi* coletadas no Brasil e Paraguay. Os mesmos autores ainda observaram variação do período latente dessas populações entre cultivares.

Número, dose e *shift*

Os resultados para cenários com uma aplicação de fungicidas SDHI aos 40 DAE demonstraram que a redução da dose prolongou T50 (Figura 7). Em cenários com *shift* de 50%, programas com o dobro da dose (200%) apresentam três, duas e uma safras até T50 (Figura 7-A, B, C). Com 50% da dose, houve acréscimo de duas safras até T50 no cenário com três aplicações. O aumento do número de aplicações e doses favoreceu a seleção mesmo de indivíduos com *shift* de 90%.

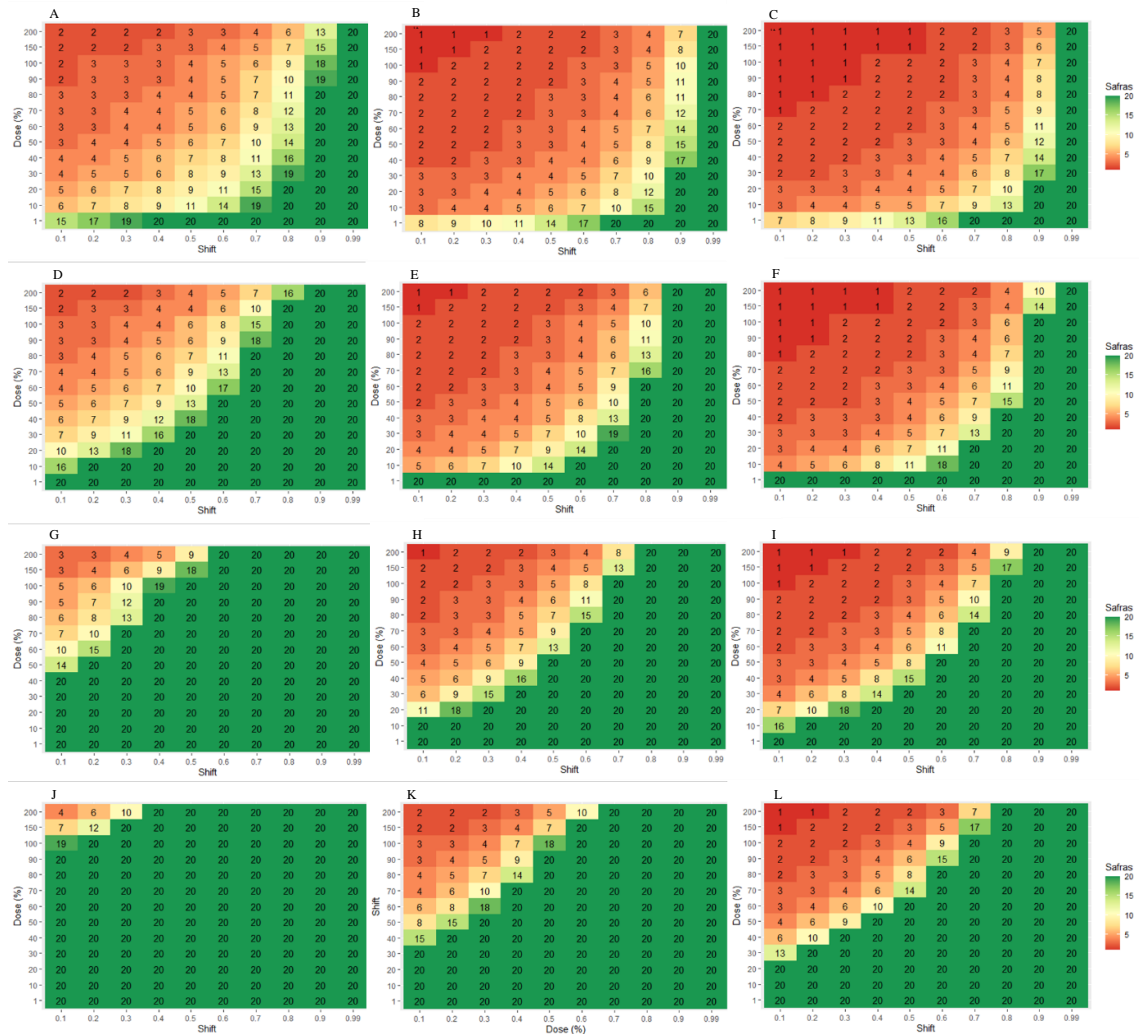


Figura 7. (1) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI em programas de aplicações solo de SDHI aos (a) 40 dias após a emergência DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % dose recomendada e níveis de sensibilidade dos indivíduos resistentes. (2) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade biológica de 1 dia em programas de aplicações solo de SDHI aos (d) 40 DAE, (e) 40 e 55 DAE e (f) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % dose recomendada e níveis de sensibilidade dos indivíduos resistentes. (3) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade biológica de 3 dias em programas de aplicações solo de SDHI aos (g) 40 DAE, (h) 40 e 55 DAE e (i) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % dose recomendada e níveis de sensibilidade dos indivíduos resistentes. (4) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade biológica de 5 dias em programas de aplicações solo de SDHI aos (j) 40 DAE, (k) 40 e 55 DAE e (l) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % dose recomendada e níveis de sensibilidade dos indivíduos resistentes.

Fonte: O próprio autor.

Os resultados demonstram que a resposta dos indivíduos resistentes (*shift*) ao fungicida alvo governa o tempo para a seleção. Em geral, para cenários com *shift* entre 50 e 99%, o número de T50 foi inferior a oito safras, exceto para 1% da dose. Para indivíduos com *shift*

menor que 20%, o aumento da dose de produto isolado pouco influenciou T50. O aumento de duas para três no número de aplicações reduziu o tempo para seleção (Figura 7- B,C).

Assim, a redução da dose do ingrediente ativo reduziu a taxa de seleção. Em ensaios de campo, Mavroeidit e Shaw (2006) observaram aumento da seleção de indivíduos resistentes de *Mycosphaerella graminicola* ao fungicida fluquinconazol em trigo em função do aumento da dose. Os autores citam que a adição do fungicida azoxistrobina reduziu a seleção. Os resultados podem ser explicados através do aumento da eficiência de controle de indivíduos sensíveis em função da dose, favorecendo a população de resistentes. Conseqüentemente, a adição de outro ingrediente ativo aplicado na mesma safra deve ser considerado para tomada de decisão. No trabalho de Van den Bosch et al. (2017) o efeito do aumento da dose do fungicida está relacionado com o tipo de resistência desenvolvido. Quando a resistência é quantitativa, e o controle efetivo ainda pode ser obtido com doses próximas à dose máxima permitida, a dose ideal aumenta com o aumento da frequência de resistência na população do patógeno.

O efeito do aumento da dose pode variar entre as fases de emergência e seleção. Na fase de emergência, o aumento nas doses pode atrasar o surgimento de populações resistentes. Já na fase de seleção, a taxa de seleção aumenta em função do aumento da dose do fungicida (VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016a; VAN DEN BOSCH et al., 2011). Nesse sentido, a intensificação do controle pode favorecer a emergência ou invasão de novos strains, por reduzirem a população endêmica e competição entre os indivíduos (SHARP et al., 2020). Contudo, o uso de menores doses também compromete a eficiência de controle e normalmente, o ganho econômico. Jørgensen et al. (2017) citam que baixas doses são economicamente melhores em condições de baixa e moderada epidemia. Agricultores normalmente aplicam menores doses, mesmo essas sendo maiores do que o necessário. Os autores citam que o desafio é melhorar a previsão de danos, combinado a medidas de controle integradas, para estimar o número de aplicações e doses necessárias para minimizar os custos econômicos.

Em cenários com penalidade biológica de indivíduos resistentes, o atraso em um dia no período latente e *shift* de 50%, prolongou o período até T50 em uma safra para dose de 200%. No mesmo cenário, o atraso de três dias conferiu acréscimo de cinco, duas e uma safras até T50 em relação ao cenário sem penalidade com uma, duas e três aplicações respectivamente. No caso de indivíduos resistentes com penalidade de cinco dias no período latente, houve acréscimo de 13, três e uma safras até T50, com uma, duas e três aplicações respectivamente.

O atraso no período latente reduz o número de ciclos de um patógeno ao longo da safra. Em condições de competição, a redução no número de ciclos, sem qualquer compensação

na produção de esporos ou taxa aparente de infecção, confere menor competitividade a respeito de outros indivíduos que não possuem penalidade. Nesse caso, quanto maior a pressão de seleção imposta (aplicação de fungicidas) maior foi o impacto da penalidade na seleção de resistentes e na manutenção ou perpetuação dos indivíduos resistentes a SDHI. Mikaberidze et al. (2017) através de modelos de simulação estudaram o efeito de diferentes níveis de resistência do patógeno e desvantagens biológicas, como por exemplo menor taxa de infecção. Os autores concluíram que estes fatores podem ser cruciais para a ocorrência de uma população resistente ou não.

O presente estudo demonstrou que o aumento da dose e número de aplicações de fungicidas SDHI reduziram o tempo até T50. Assim, a redução do número de aplicações do sítio específico, bem como a identificação de indivíduos que apresentam menor sensibilidade são estratégias que podem reduzir a seleção de resistentes.

3.7 CONCLUSÕES

A seleção de indivíduos resistentes de *P. pachyrhizi* a fungicidas SDHIs está relacionada com a sensibilidade dos indivíduos resistentes (*shift*), dose e número de aplicações do fungicida. A frequência inicial de resistentes, o momento em que as simulações ou medidas são adotadas, determinou o tempo até T50. A velocidade de seleção de indivíduos resistentes varia de acordo como grau de resistência e indica que a vida útil de ingredientes ativos com mesmo modo de ação pode variar. O aumento da dose de fungicidas SDHI reduziu o tempo até seleção.

A penalidade biológica conferiu desvantagem aos indivíduos resistentes e reduziu a seleção de resistentes. A adoção de medidas anti-resistência deve ser planejada antes do lançamento ou introdução do ingrediente ativo no mercado. Os modelos podem auxiliar pesquisadores a entender como aplicações podem afetar a seleção de indivíduos resistentes aos princípios ativos usados no controle químico.

4 ARTIGO B: MISTURA DE FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICOS E MULTISSÍTIOS NO MANEJO DE RESISTÊNCIA DE *Phakopsora Pachyrhizi* A SDHIs

4.1 RESUMO

Entre as estratégias adotadas para atrasar a seleção resistentes e prolongar a vida útil dos ingredientes ativos, misturas entre sítio-específicos e multissítios, dose, número e época de aplicação foram adotadas. Apesar disso, o efeito dessas medidas na seleção de indivíduos resistentes na população é incerto. Modelos matemáticos de simulação podem auxiliar a prever a efetividade de medidas de controle na seleção de indivíduos resistentes fornecendo informações para a tomada de decisões estratégicas no manejo de doenças de plantas. O objetivo do presente estudo foi desenvolver modelos matemáticos para avaliar aplicações de fungicidas do grupo dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) combinados a inibidores da demetilase (DMI) e multissítios na seleção de resistentes de *P. pachyrhizi*. Para isso, cenários com número e dose, nível de sensibilidade de indivíduos resistentes e penalidade biológica foram testados. Modelos SLIR foram adotados. A variável resposta foi o tempo necessário para frequência de resistentes atingir 50% (T50). Os modelos foram desenvolvidos com auxílio do software R. Os resultados apresentaram menor T50 para programas com aplicação solo de fungicidas SDHI. A associação de fungicida DMI e/ou multissítio prolongou T50. O acréscimo em safras até T50 com associação foi inversamente proporcional ao número de aplicações de fungicidas SDHI. O aumento da dose do fungicida combinado a SDHI, reduziu a seleção de indivíduos resistentes. Cenário com 200% da dose de multissítio prolongou número de safras até T50 em sete, em relação a dose de 50%. O mesmo comportamento foi observado para aumento da dose de fungicida DMI. Houve acréscimo de três safras com o dobro da dose de DMI em programa com uma aplicação de fungicida SDHI. A presença de penalidade biológica prolongou o T50. Nos cenários simulados, o limiar de *shift* para seleção de indivíduos resistentes foi de 70%. Os resultados demonstraram que a combinação com fungicidas multissítios reduz a seleção de resistentes a fungicidas SDHI, sendo a dose do fungicida na mistura determinante para apresentar efeito no manejo anti-resistência. A presença de fitness biológico somada a adição de fungicida multissítio ou DMI atrasou a seleção de indivíduos resistentes. Os modelos podem auxiliar pesquisadores a entender como combinações de modos de ação e doses podem afetar a seleção de indivíduos resistentes.

Palavras-chave: Ferrugem asiática. Epidemiologia. Software R. Resistência. Triazóis.

ARTICLE B: MIXTURE OF FUNGICIDE SPECIFIC SITE AND MULTI-SITES IN THE MANEGEMENT OF RESISTANCE OF *Phakopsora pachyrhizi* SDHIS

4.2 ABSTRACT

Among the strategies adopted to delay the selection of resistance and to prolong the useful life of the active ingredients, mixtures between specific and multisite sites, dose, number, and application time were adopted. Despite this, the effect of these measures on the selection of resistant individuals in the population is uncertain. Mathematical simulation models can help to predict the effectiveness of control measures in the selection of resistant individuals providing information for making strategic decisions in the management of plant diseases. The aim of the present study was to develop mathematical models to evaluate applications of succinate dehydrogenase inhibitors (SDHI) fungicides combined with demethylase inhibitors (DMI) and multisite in the selection of *Phakopsora pachyrhizi* resistance. Scenarios with number and dose, the sensitivity level of resistant individuals, and biological penalty were tested. SLIR models were adopted. The response variables were the time required for the frequency of resistance to reach 50% (T50). The models were developed with the aid of software R. The results showed a lower T50 for programs with solo application of SDHI. The association of DMI and/or multisite prolonged T50. The increase in seasons up to T50 with the association was inversely proportional to the number of applications of SDHI. Increasing the partner's dose reduced the selection of resistance. Scenario with the 200% dose of Multisite extended the number of seasons up to T50 in seven in relation to the dose of 50%. The same was observed for increasing the dose of AMD. There was an addition of three crops with double the dose of DMI in a program with an application of SDHI. The presence of a biological penalty prolonged T50. In the simulated scenarios, the *shift* threshold for selecting resistant individuals was 70%. The results showed that the combination of multisite reduces the selection of resistance to SDHI, with the dose of the fungicide in the mixture determining to have an effect on anti-resistance management. The presence of biological fitness and the addition of a multisite partner or DMI delayed the selection of resistance. The models can help researchers understand how combinations of modes of action and doses can affect the selection of resistant individuals.

Palavras-chave: Asian rust. Epidemiology. R software. Resistance, Triazoles.

4.3 INTRODUÇÃO

Nas Américas, a ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* representa uma ameaça à sojicultura nas principais regiões produtoras, onde perdas significativas são relatadas na ausência de medidas de controle (GODOY et al., 2020). De acordo com o Consórcio Anti-Ferrugem, só no Brasil, cerca de \$ 2 bilhões de dólares são gastos todo ano com aplicações de fungicidas para controle da doença (CAF, 2020). Falhas de controle dos principais grupos químicos de fungicidas registrados para a cultura podem aumentar ainda mais os gastos em função do aumento do número de aplicações, dose, por exemplo.

Introduzidos na safra 2013/14, fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) apresentaram redução de eficiência de controle já nas safras subsequentes ao seu lançamento, atribuídas a mutação na posição I86F da subunidade C (FRAC, 2017; GODOY et al., 2017; SIMÕES et al., 2018). Para a manutenção da eficiência dos ingredientes ativos SDHI no controle da FAS, foram adotadas medidas anti-resistência como a mistura de fungicidas com diferentes modos de ação e fungicidas multissítios. Contudo, no Brasil, essas medidas foram efetivamente adotadas após a ocorrência de falhas de controle, ou seja, após o aumento da frequência de indivíduos resistentes a fungicidas SDHI na população de *P. pachyrhizi*.

A seleção de indivíduos resistentes é influenciada por fatores relacionados ao tempo de exposição do patógeno ao produto e concentração à qual é submetida (VAN DEN BOSCH et al., 2014). Simulações demonstraram que o aumento na taxa de seleção de resistentes e a redução da vida útil de ingredientes ativos para o controle de *Zymoseptoria tritici* em trigo ocorreu em função do aumento da dose/concentração e número de aplicações do ingrediente ativo (VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH, 2016b). Nesse sentido, a associação ou mistura de fungicidas com diferentes modos de ação tem como objetivo reduzir o processo de seleção de indivíduos resistentes. Entre as estratégias estão a adição de outro fungicida sítio específico com modo de ação diferente e/ou fungicidas multissítios.

A escolha do fungicida parceiro, ocorre em função da eficiência de controle do programa, favorecendo o uso de outro sítio específico. Contudo, em alguns casos, há ocorrência de resistência cruzada entre os fungicidas sítios específicos. Cordero-Limon et al. (2021) confirmaram a presença de resistência cruzada entre fungicidas sítio-específico usados no controle de *Venturia inaequalis*. O desenvolvimento de estratégias eficazes para garantir o controle econômico da doença e mitigar os efeitos da seleção de indivíduos resistentes são importantes. O impacto dessas estratégias na taxa de seleção de indivíduos resistentes e falhas de controle da doença podem ser preditos através de modelos de simulação. A simulação

permite entender como as características relacionadas ao ciclo patógeno-hospedeiro influenciam o desenvolvimento da doença e auxiliam a criação e avaliação de estratégias de controle.

O objetivo do presente estudo foi desenvolver modelos matemáticos para avaliar aplicações de fungicidas do grupo dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) combinados a inibidores da demetilase (DMI) e mutlissítios na seleção de resistentes de *P. pachyrhizi*. Para isso, cenários com diferentes doses e número de aplicações, nível de sensibilidade de indivíduos resistentes e penalidade biológica foram testados.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O modelo foi desenvolvido para simular a dinâmica da população de *P. pachyrhizi* em resposta a aplicações de fungicidas SDHI. Os modelos consideraram duas populações: sensíveis e resistentes a SDHIs. A parametrização das equações de aplicação de fungicidas seguiu os modelos desenvolvidos por Hobbelen et al. (2011), Hobbelen; Paveley e Van den Bosch (2011) e os apresentados no artigo A.

Hospedeiro

O crescimento do hospedeiro é dado pelo índice de área foliar (IAF), que representa a área foliar total em 1m^2 . De acordo com os resultados apresentados por Moreira et al. (2015), o hospedeiro cresce logisticamente e senesce exponencialmente, e foi representado conforme:

$$\frac{dA_i}{dt} = \begin{bmatrix} 0 \\ RRCG * A_i * \left(1 - \left(\frac{A_i}{A_{imax}}\right)\right) \\ dA_i - A_i * e^{Rsen*t-tsen} \end{bmatrix} \quad \left\{ \begin{array}{l} t < t_{init} \\ t_{init} > t < t_{sen} \\ t > t_{sen} \end{array} \right.$$

Em que dA_i é a derivada de A_i em função de dt , A_i representa o IAF no tempo t , $RRCG$ é a taxa de crescimento, A_{max} representa o IAF máximo e R_{sen} é a taxa de senescência. Na equação t_{init} corresponde ao tempo em que o hospedeiro inicia o crescimento e t_{sen} representa o início da senescência.

Patógeno

O inóculo inicial no sistema apresenta variação sazonal, ou seja, varia de acordo com o período da safra. No presente modelo, assumiu-se que essa variação segue curva sigmoideal, com menor introdução de urediniosporos no início do desenvolvimento da cultura e pico de inserção de inóculo próximo ao meio da safra e redução no final da safra quando as plantas entram em senescência e há redução da área foliar com produção de urediniosporos. A equação que descreve o inóculo inicial é descrita como:

$$inoc_s = ino_{max} [1 * (t^2) * e^{(-f*t)}]$$

$$inoc_r = ino_{max} [1 * (t^2) * e^{(-f*t)}]$$

Em que $inoc_s$ e $inoc_r$ representam o número de urediniósporos suscetíveis e resistentes que são inseridos no sistema, ino_{max} é o máximo de urediniósporos e f diz respeito ao shape da curva.

O presente estudo não considerou diretamente o efeito de temperatura e molhamento foliar na eficiência de infecção. Nesse sentido, foi assumido que a taxa aparente de infecção ajustada através da bibliografia incorpora os efeitos de temperatura e molhamento. Assim, para que os urediniósporos inseridos (disseminados) iniciem a infecção é necessário que existam sítios saudáveis. A área foliar sadia ou suscetível (disponível para novas infecções) é dada por:

Área Saudável/suscetível

$$\frac{dH_i}{dt} = RRCG * A_i * \left(1 - \left(\frac{A_i}{A_{imax}} \right) \right) - \left[\frac{H}{A} * (\varphi_s * (InfS_s + inoc_s)) \right]$$

$$- \left[\frac{H}{A} * (\varphi_r * (InfS_r + inoc_r)) \right] - senescence$$

Em que φ_s e φ_r representam a taxa aparente de infecção de indivíduos suscetíveis e resistentes, respectivamente, H/A representa a correção de sítios saudáveis disponíveis para novas infecções no tempo t ; e $InfS_s$ e $InfS_r$ são os inóculos produzidos por sítios infecciosos suscetíveis e resistentes, respectivamente, ou seja, ciclo secundário da doença. A taxa aparente de infecção (φ_s e φ_r) é dada pela taxa aparente inicial de cada isolado (resistente ou sensível) e efeito da concentração do ingrediente ativo aplicado. De acordo com o ingrediente ativo e modo de ação, os fungicidas podem atuar em diferentes fases da cadeia de infecção (CAFFI; ROSSI, 2018). No presente estudo, multissítios atuam apenas na infecção, enquanto DMI e SDHIs atuam no período latente e infecção, assim como adotados por Hobbelen et al. (2011) e Elderfiel et al. (2018). Fantin et al. (dados não publicados) observaram maior período latente em folhas tratadas com DMI. A equação que descreve o efeito na taxa de infecção é dada como:

Taxa Aparente de Infecção

$$\varphi_s = bi * \varepsilon_s$$

$$\varphi_r = bi * \varepsilon_r$$

Onde b_i é a taxa aparente de infecção inicial e ε_s e ε_r representam o efeito do fungicida nos indivíduos sensíveis e resistentes, respectivamente. Nos modelos simulados a taxa aparente de infecção inicial foi similar entre indivíduos sensíveis e resistentes. De acordo com Mello et al. (2021) e Simões et al. (2018) não há evidências de penalidade biológica em indivíduos que apresentam a mutação I86F. Contudo, os indivíduos com a mutação apresentam diferentes respostas aos ingredientes ativos do grupo dos SDHIs. No modelo, não foi considerado a variação na eficiência de controle em função da idade do hospedeiro, assim como observado por Xavier et al. (2017). O efeito do fungicida na taxa aparente de infecção varia em função de t , dada como:

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape*Dose}) * \varepsilon_{\max(2)} * (1 - e^{-shape*Dose})$$

$\varepsilon_{\max(i)}$ representa o máximo de redução dada pelo fungicida i , *shape* corresponde ao valor ajustado da curva de ação e *dose* é a quantidade de ingrediente ativo no tempo t após aplicação. Os termos são multiplicados quando há mistura entre ingredientes ativos diferentes. Após ser aplicado, a dose do ingrediente ativo reduz de acordo com o grupo químico e equação exponencial:

Dose

$$Dose(t) = D_{apL} + e^{(-v*t)}$$

Em que D_{apL} é a dose aplicada, v representa a meia-vida do produto aplicado dada por $v = -\log(0.5)/dias$. Na literatura, diversos estudos apresentam a perda ou “lixiviação” de fungicidas não sistêmicos (protetores ou multissítios) após a precipitação. No modelo não foram considerados os efeitos da precipitação (chuva) no período de ação dos fungicidas. Novas simulações devem ser realizadas para estudar o efeito da chuva na lixiviação desses produtos e seu efeito na seleção de resistentes.

Os indivíduos que não forem afetados pela aplicação de fungicidas, infectarão os sítios saudáveis transformando-os em latentes. O período de latência considerado foi de nove dias, de acordo com estudo de Danelli e Reis (2016). Contudo, Braga et al. (2020) observaram variação de 9 a 12 dias em isolados do Paraná e Paraguai. Não há estudos publicados que apresentam alteração do período latente de indivíduos com alterações que conferem menor sensibilidade a SDHIs.

Período Latente

$$\frac{dLat_s}{dt} = \left[\frac{H}{A} * (\varphi_s * (InfS_s + inoc_s)) \right] - \left(Lat_s * \frac{1}{Lp_s * (\varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape * Dose}))} \right) - senescence$$

$$\frac{dLat_r}{dt} = \left[\frac{H}{A} * (\varphi_r * (InfS_r + inoc_r)) \right] - \left(Lat_r * \frac{1}{Lp_r * (\varepsilon_{\max(i)} * (1 - e^{-shape * Dose}))} \right) - senescence$$

Em que Lat_s e Lat_r representam os sítios latentes por infecção de sensíveis e resistentes, respectivamente, e Lp_s e Lp_r representam o período latente. Após o período latente os sítios tornam-se infecciosos e passam a produzir urediniósporos que serão disseminados dentro do sistema (ciclo secundário da doença).

Período Infeccioso

$$\frac{dInfS_i}{dt} = \left(Lat * \frac{1}{Lp * \varepsilon(t)} \right) - \left(InfS * \frac{1}{Ip} \right) - senescence$$

Em que $InfS$ e $InfR$ representam os sítios infecciosos de sensíveis e resistentes, respectivamente, e Ip corresponde o período infeccioso, ou seja, período em que o sítio permanece produzindo urediniósporos. No final do período infeccioso os sítios infecciosos são removidos.

Removidos

$$\frac{dRem_i}{dt} = InfS * \frac{1}{Ip}$$

Ao final de cada safra simulada e frequência final de sítios infectados por indivíduos resistentes e sensíveis é calculada por $inoc_{sens} = InfS_{season-1} / (InfS_{season-1} + InfR_{season-1})$. A frequência de indivíduos resistentes no início da safra segundo é dada por $inoc_{res} = 1 - inoc_{sens}$.

Ajuste dos parâmetros

Os parâmetros referentes ao desempenho de fungicidas foram ajustados a partir de estudos publicados e trabalhos conduzidos a campo. Os estudos apresentaram aplicações dos fungicidas com modos de ação SDHI, DMI e multissítio, aplicados uma, duas, ou três vezes e em doses diferentes de cada ingrediente ativo. O progresso da doença com e sem aplicação dos ingredientes ativos foi ajustado através do modelo não-linear logístico (ANEXO A) com auxílio do software R.

Os parâmetros foram ajustados através de estudos que apresentaram aplicações de SDHI com a mistura solatenol + azoxystrobin (30 + 60 g.i.a. ha⁻¹) e fluxapirroxade + piraclostrobina (50.1 + 99.9 g.i.a. ha⁻¹), DMI com a mistura ciproconazol + difenoconazole (45 + 75 g.i.a. ha⁻¹) e multissítio mancozebe (2250 g.i.a. ha⁻¹). As concentrações de ingrediente ativo recomendadas pelo fabricante foram consideradas como 100%. Para SDHIs assumiu-se que os resultados dos estudos foram obtidos com aplicações em população sem a presença de indivíduos resistentes. A eficiência máxima de DMI e multissítios foi considerada a situação atual, ou seja, existem indivíduos com níveis de resistência a DMI na população.

A eficiência máxima de cada fungicida foi estimada através da diferença entre o tratamento testemunha e o tratamento com aplicação. Assumindo a diferença como função derivada, a eficiência máxima e período de ação foram ajustados.

Os parâmetros ajustados a partir de dados experimentais e *assumptions* adotados no presente estudo estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Descrição de parâmetros e *assumptions* adotados nos modelos de simulação de resistência de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI.

| | Acronym | | Value | Reference |
|-------------------|-------------|---|--------------------|--|
| Rate of growth | RRCG | Relative rate of growth | 0.152 | |
| | Amax | Maximum number of sites at time t | 3.9 | fit from Moreira et al. (2015) |
| | A0 | Initial sites at time t | 0.01 | |
| | Rsen | Senescence rate | 1.12 | |
| Rate of infection | incoci | initial inoculum | 1x10 ⁻⁵ | |
| | φ_s | Infection rate of resistance strain at time t | | Fit from review |
| | φ_r | Infection rate of resistance strain at time t | 2.5 | |
| | bi | Basic infection rate | | |
| | Lp | Latent period | 9 days | Danelli e Reis (2016); Fantin et al. (2020) |
| | | | 28 | |
| | Ip | Infection period | days | |

| | | | | |
|-----------------------------|----------------------|--------------|--|-------|
| Fungicide | ϵ_r | ϵ_s | Fungicide reduction rate at time t | |
| | $\epsilon_{\max(i)}$ | | Fungicide reduction rate at time t | |
| | | | Maximum fungicide reduction of fungicide i | |
| | shape | | Fungicide curve shape | |
| | Dose | | Ingredient active g.ia.ha-1 at time t | |
| | Dapl | | Ingredient active g.ia.ha-1 applied | |
| | v | | half-life of applied product | |
| Decay | v | | SDHI | 0.316 |
| | | | DMI | 0.379 |
| | | | Multissítio | 0.632 |
| Maximum fungicide reduction | $\epsilon_{\max(i)}$ | | SDHI | 0.65 |
| | | | DMI | 0.55 |
| | | | Multissítio | 0.83 |

*Representação gráfica está disponível em anexo A.

Cenários e programas de controle

O presente estudo foi composto por programas de aplicações de fungicidas compostos por uma, duas e três aplicações de modo de ação solo (SDHI) e misturas entre SDHI e DMI ou multissítio. Cada programa foi testado em diferentes cenários de: (i) nível de sensibilidade dos indivíduos resistentes (*shift*); (ii) doses de fungicidas DMI e multissítio; e (iii) penalidade biológica dos indivíduos resistentes aos fungicidas SDHI. O intervalo entre aplicações foi de 15 dias e não foi assumida a existência de taxa de mutação da população sensível (Tabela 3).

Programas de controle

Os programas de controle de *P. pachyrhizi* foram compostos por uma, duas e três aplicações de fungicidas. Foi assumido a dose de SDHI de 100% e frequência inicial de resistentes de 0.001. Em cada programa, SDHI foi associado a DMI ou multissítio em doses de 1 A 200%. Os programas foram simulados em cenários com *shift* de 10 a 99% e penalidade biológica de indivíduos resistentes de 0, 1, 3 e 5 dias. Momento, número e combinações de aplicações de fungicidas foram simulados conforme apresentado na tabela 4.

Tabela 4. Programas de manejo de *Phakopsora pachyrhizi* simulados.

Aplicações (DAE)

| Código | Nome | 40 | 55 | 70 | Dose | % |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|----------|
| 1 | SDHI + DMI | SDHI + DMI | `- | `- | DMI | |
| 2 | SDHI + DMI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | `- | DMI | 1 a 200 |
| 3 | SDHI + DMI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | DMI | |
| 4 | SDHI + Multi | SDHI + Multi | `- | `- | Multi | |
| 5 | SDHI + Multi | SDHI + Multi | SDHI + Multi | `- | Multi | 1 a 200 |
| 6 | SDHI + Multi | SDHI + Multi | SDHI + Multi | SDHI + Multi | Multi | |
| 1 | SDHI + DMI | SDHI + DMI | DMI | DMI | DMI | |
| 2 | SDHI + DMI | DMI | SDHI + DMI | DMI | DMI | |
| 3 | SDHI + DMI | DMI | DMI | SDHI + DMI | DMI | |
| 4 | SDHI + DMI | SDHI | DMI | DMI | DMI | 1 a 200 |
| 5 | SDHI + DMI | SDHI | SDHI | DMI | DMI | |
| 6 | SDHI + DMI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | DMI | |
| 7 | SDHI + DMI | SDHI | SDHI + DMI | SDHI + DMI | DMI | |
| 8 | SDHI + DMI | SDHI | SDHI | SDHI + DMI | DMI | |
| 1 | SDHI + Multissitio | SDHI + Multi | Multi | Multi | Multi | |
| 2 | SDHI + Multissitio | Multi | SDHI + Multi | Multi | Multi | |
| 3 | SDHI + Multissitio | Multi | Multi | SDHI + Multi | Multi | |
| 4 | SDHI + Multissitio | SDHI | Multi | Multi | Multi | 1 a 200 |
| 5 | SDHI + Multissitio | SDHI | SDHI | Multi | Multi | |
| 6 | SDHI + Multissitio | SDHI + Multi | SDHI + Multi | SDHI + Multi | Multi | |
| 7 | SDHI + Multissitio | SDHI | SDHI + Multi | SDHI + Multi | Multi | |
| 8 | SDHI + Multissitio | SDHI | SDHI | SDHI + Multi | Multi | |
| A-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI + DMI + Multi | DMI + Multi | DMI + Multi | DMI | |
| B-M | SDHI+DMI+Multi | DMI + Multi | SDHI + DMI + Multi | DMI + Multi | DMI | |
| C-M | SDHI+DMI+Multi | DMI + Multi | DMI + Multi | SDHI + DMI + Multi | DMI | |
| D-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI | DMI + Multi | DMI + Multi | DMI | 1 a 200 |
| E-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI | SDHI | DMI + Multi | DMI | |
| F-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI + DMI + Multi | SDHI + DMI + Multi | SDHI + DMI + Multi | DMI | |
| G-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI | SDHI + DMI + Multi | SDHI + DMI + Multi | DMI | |
| H-M | SDHI+DMI+Multi | SDHI | SDHI | SDHI + DMI + Multi | DMI | |
| A-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI + Multi + DMI | Multi + DMI | Multi + DMI | Multi | |
| B-D | SDHI+Multi+DMI | Multi + DMI | SDHI + Multi + DMI | Multi + DMI | Multi | |
| C-D | SDHI+Multi+DMI | Multi + DMI | Multi + DMI | SDHI + Multi + DMI | Multi | |
| D-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI | Multi + DMI | Multi + DMI | Multi | 1 a 200 |
| E-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI | SDHI | Multi + DMI | Multi | |
| F-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI + Multi + DMI | SDHI + Multi + DMI | SDHI + Multi + DMI | Multi | |
| G-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI | SDHI + Multi + DMI | SDHI + Multi + DMI | Multi | |
| H-D | SDHI+Multi+DMI | SDHI | SDHI | SDHI + Multi + DMI | Multi | |

Nos programas “SDHI+DMI+Multi”, cenários com aplicação de fungicidas com três modos de ação foram simulados. Doses de 1 a 200% de DMI e SDHI (100%) e Multi (50%) foram simulados. Nos programas “SDHI+Multi+DMI”, doses de 1 a 200% de Multi e SDHI (100%) e DMI (50%) foram simulados.

Segundo Van den Bosch et al. (2011), no processo de resistência ocorrem três fases, *emergence*, *selection* e *adjustment*. Na fase de seleção os indivíduos (ou strains) resistentes já estão presentes na população. O presente trabalho atua na fase de *adjustment*, assim como trabalho de Van den Bosch et al. (2017).

No presente trabalho, os cenários consideram o efeito da adoção de medidas e/ou uso de modelos de simulação em diferentes momentos após a introdução do modo de ação no mercado ao considerar a frequência inicial de 0.001.

Sensibilidade de indivíduos resistentes (*shift*)

Foram simulados diferentes níveis de sensibilidade dos indivíduos resistentes a SDHI, ou seja, nível de ação de SDHI nos indivíduos resistentes a SDHI (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 99%). De acordo com os trabalhos de Mello et al. (2021) e Simões et al. (2018) os indivíduos resistentes de *P. pachyrhizi* possuem respostas diferentes a ingredientes ativos benzovindiflupir e fluxapiraxade. Os diferentes níveis de efeitos do fungicida nos indivíduos resistentes foram chamados de “*shift*”. Os cenários têm como objetivo simular o efeito do nível de sensibilidade de indivíduos resistentes na seleção bem como outros ingredientes ativos do grupo dos fungicidas SDHI, que podem ser inseridos no mercado.

Penalidade Biológica

As simulações abordaram situações em que os indivíduos resistentes apresentavam penalidade biológica de um, dois e três dias no período latente. O objetivo foi simular o efeito de programas de controle com fungicidas SDHI em possíveis novos indivíduos que apresentam novas mutações ou alterações que conferem menor sensibilidade a SDHIs. O total de simulações realizadas estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Programas e cenários simulados para estudar o efeito de aplicações de misturas de modos de ação na seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI.

| | Grupo | N. apl. | Freq. Inicial | Dose(%) | Shift (%) | Fitness (dias) | Total |
|-----------|--------------------|----------------|----------------------|-----------------|------------------|-----------------------|--------------|
| Mistura | SDHI + DMI | 1 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Mistura | SDHI + DMI | 2 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Mistura | SDHI + DMI | 3 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Mistura | SDHI + Multissitio | 1 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Mistura | SDHI + Multissitio | 2 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Mistura | SDHI + Multissitio | 3 | 0.001 | 1 a 200 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 520 |
| Programas | SDHI + DMI | 1 a 3 | 0.001 | 200,100,75 e 50 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 1280 |
| Programas | SDHI + Multissitio | 1 a 3 | 0.001 | 200,100,75 e 50 | 90 a 1 | 0,1,3 e 5 | 1280 |
| total | | | | | | | 5680 |

Variável resposta

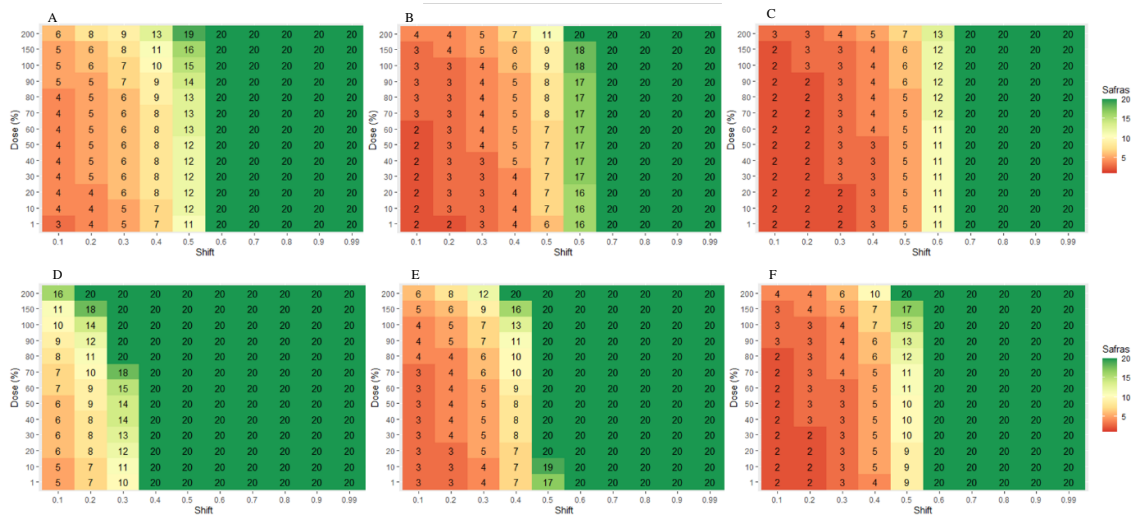
Os resultados da simulação foram apresentados na forma de *T50* e *Effective life* (E35). *T50* representa o número de safras antes que a frequência de indivíduos resistentes a fungicidas SDHI na população de *P. pachyrhizi* ultrapasse 50%. *Effective life* (E35) que é o número de safras em que o programa pode ser repetido antes que a eficiência de controle calculada através da AACPD entre 48 e 90 dias após emergência (DAE) seja menor que 35% em relação à eficiência inicial.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do artigo A apresentaram número de safras até T50 em cenário com *shift* de 50%, variando de cinco a duas safras com o aumento do número de aplicações de SDHI de um para três. A associação ou combinação de ingredientes ativos com modos de ação diferente, como fungicidas do grupo DMI e multissítios, foi adotada.

Cenários com associação de diferentes doses de multissítio

A combinação de SDHI+multissítio prolongou T50 em todos os cenários simulados. Em geral, em programas com três aplicações de SDHI, a contribuição da adição de multissítio apresentou acréscimo no número de safas (dentro das 20 safras) em relação aos cenários com uma e duas aplicações (Figura 8-A,B,C). A dose de multissítio adotada na combinação influenciou o ganho em número de safras em relação aos respectivos cenários sem adição de multissítio. Para programas com dose de 200% e *shift* 50%, o número de safras foi de 19, 11 e 7 (uma, duas e três aplicações, respectivamente). Quando houve redução da dose para 50%, foram necessárias 12, 7 e 5 safras até T50.



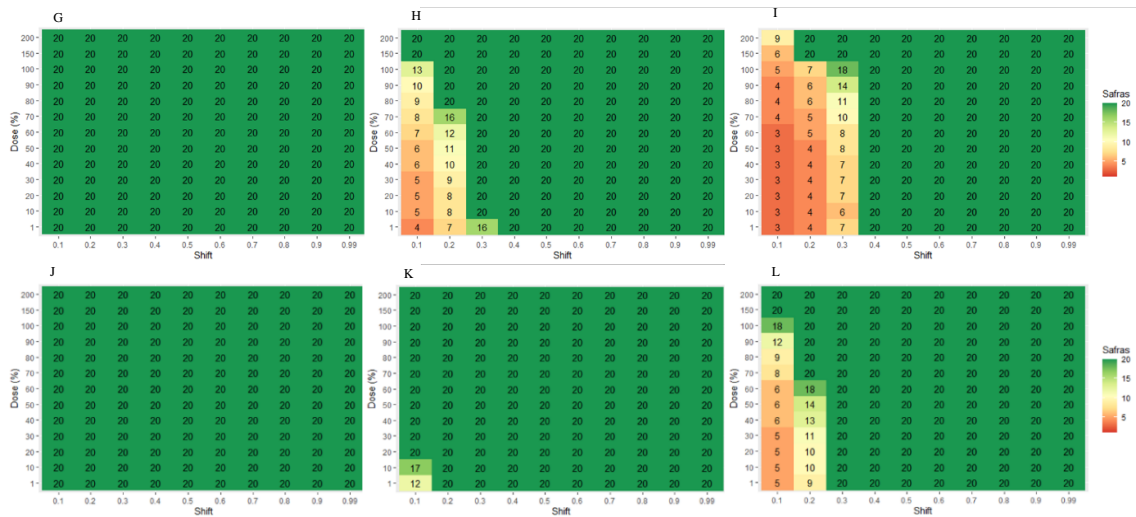


Figura 8. (1) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a SDHI em programas de aplicações de fungicidas SDHI + Multissítio aos (a) 40 DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade dos resistentes. (2) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a SDHI com penalidade biológica de 1 dia em programas de aplicações de fungicidas SDHI + Multissítio aos (d) 40 DAE, (e) 40 e 55 DAE e (f) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade dos resistentes. (3) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a SDHI com penalidade biológica de 3 dias em programas de aplicações de fungicidas SDHI + Multissítio aos (g) 40 DAE, (h) 40 e 55 DAE e (i) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade. (4) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a SDHI com penalidade biológica de 5 dias em programas de aplicações de fungicidas SDHI + Multissítio aos (j) 40 DAE, (k) 40 e 55 DAE e (l) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade. Fonte: O próprio autor.

Os resultados demonstram que a associação de multissítio ao SDHI atrasou o tempo para atingir frequência de indivíduos resistentes de 50%. Em geral, o tempo para resistência foi proporcional ao aumento da dose do parceiro multissítio. O número de aplicações de SDHI também determinou T50. A relação entre T50 e número de aplicações foi inversamente proporcional. Os resultados corroboram as informações do FRAC (2017), que alerta sobre o aumento do número de aplicações. Segundo Reis et al (2019) o uso de fungicidas multissítios como clorotalonil, oxicloreto de cobre e mancozebe, é a principal estratégia anti-resistência para fungicidas sítios específicos. Os mesmos autores citam que a adoção de fungicidas multissítios junto a sítios específicos deve ocorrer nos primeiros anos de exposição do ingrediente ativo.

O aumento da eficiência e controle obtido com a adição de fungicidas multissítio a fungicidas sítio específicos foi demonstrada em diversos trabalhos (REIS et al., 2020; FANTIN et al., 2015). Resultados de campo sugerem que fungicidas multissítios não têm potencial para

recuperar o controle de fungicidas sítio-específicos que apresentem eficácia inferior a 50% (REIS et al., 2017).

A penalidade biológica de um dia de período latente em indivíduos resistentes prolongou o T50 em 20 safras nos cenários com *shift* > 50% e uma e duas aplicações (Figura 8 – D,E,F). Programas com três aplicações, *shift* 50% e dose 100%, a penalidade de um dia nos resistentes conferiu acréscimo de nove safras até o T50. Nos cenários com penalidade de três (Figura 8 – G,H,I) e cinco dias (Figura 8 – J,K,L), o número de safras foi superior a 20 (Figura 9). Nesses casos, a penalidade biológica somada à presença de ingrediente com modo de ação diferente reduziu a capacidade da população resistente de aumentar a sua frequência.

Em indivíduos resistentes a SDHI com penalidade de cinco dias, a adoção de fungicidas multissítios prolongou T50 em comparação ao cenário equivalente com penalidade de um e três dias. Os resultados sugerem que a capacidade de aumentar a frequência de resistentes de uma população está relacionada à pressão de seleção exercida pela aplicação de fungicidas somado às vantagens ou desvantagens biológicas dos indivíduos resistentes.

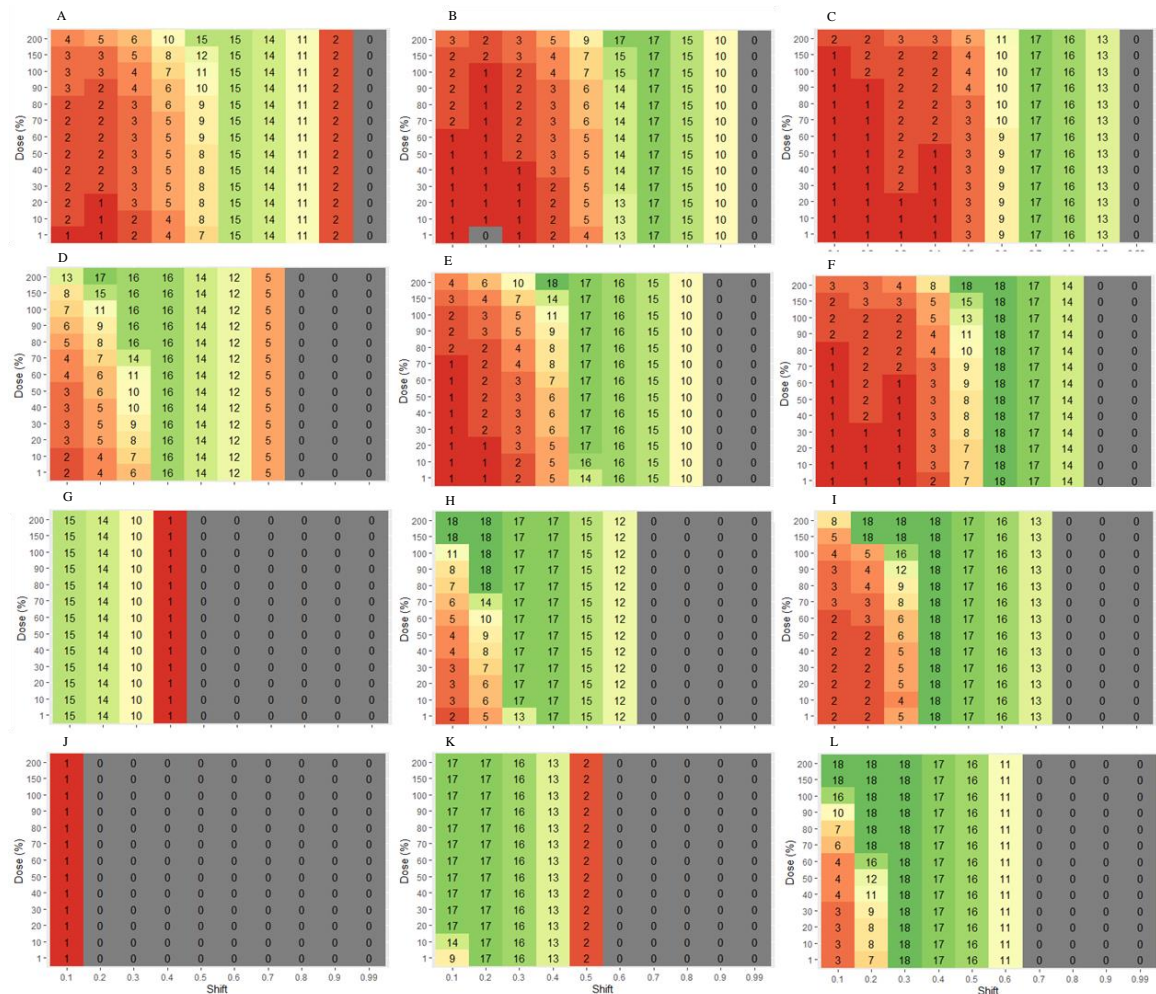


Figura 9. Ganho em safras com associação de fungicidas multissítios em relação a programas solo. (1) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI em programas de aplicações (a) 40 DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade dos resistentes. (2) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI com penalidade biológica de 1 dia em programas de aplicações aos (d) 40 DAE, (e) 40 e 55 DAE e (f) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade dos resistentes. (3) Penalidade biológica de 3 dias em programas de aplicações (g) 40 DAE, (h) 40 e 55 DAE e (i) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade. (4) Penalidade biológica de 5 dias em programas de aplicações aos (j) 40 DAE, (k) 40 e 55 DAE e (l) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de multissítio e níveis de sensibilidade. Fonte: O próprio autor.

De acordo com Van den Bosch et al. (2014) a aplicação de uma mistura de fungicidas de alto e baixo risco, reduz a seleção, uma vez que o parceiro de mistura de baixo risco suprime as taxas de crescimento de indivíduos sensíveis e resistentes. Relatos de indivíduos resistentes a multissítios como mancozebe ou clorotalonil são raros. Em função das rotas de ação, indivíduos resistentes a esses fungicidas possivelmente apresentarão penalidade biológicas que impedem que a frequência da população progrida. Apesar disso, problemas com a aplicação e período de ação desses fungicidas são realidade.

O presente modelo não considerou a qualidade de aplicação dos fungicidas. Fungicidas protetores ou não penetrantes ficam na superfície das folhas e precisam ser distribuídos para proteger as folhas. Segundo Henrique et al. (2021) falhas da tecnologia de aplicação são responsáveis por reduções de 34%. Godoy et al. (2020) citam que há variação na eficiência de controle de multissítios em ensaios em rede conduzidos entre 2013 e 2020 em função das condições ambientais. Fatores como degradação química, física ou biológica do ingrediente ativo (NEELY, 1970; SCHEPERS, 1996) podem influenciar. Além disso, a precipitação é considerada o principal fator negativo no uso de multissítios.

Em relação à aplicação, questionamentos sobre o volume de produto a ser aplicado em função do índice de área foliar são levantados. Para *Cercospora beticola*, agente causal da mancha foliar de cercospora em beterraba, González-Domínguez et al. (2020), através do desenvolvimento de modelos genéricos de simulação demonstraram relação entre aumento da área foliar e progresso da doença, que pode estar relacionado a interceptação de esporos e dispersão dentro do dossel. Os resultados podem estar ligados a características relacionadas a arquitetura da planta como distância entre as folhas, e desenvolvimento do hospedeiro como densidade de folhas, idade, microclima, também influenciaram na epidemia (CALONNEC et al., 2013). Assim como Moreira et al. (2015), em trabalho com diferentes épocas de semeadura e ciclos de cultivares.

O uso de fungicidas penetrantes (sistêmicos ou mesosistêmicos) pode apresentar melhor cobertura e proteção, visto que são translocados nas folhas. Apesar disso, fungicidas sítio-específicos, têm apresentado vida efetiva curta, isto é, o número de safras consecutivas em que o tratamento com fungicida manteve controle efetivo da doença.

Cenários com associação de diferentes doses de DMI

O retorno econômico é o principal objetivo da aplicação de fungicidas, o que depende do número de aplicações e da eficiência dos fungicidas (REIS et al., 2018). Foram simulados programas com diferentes doses de fungicida DMI associados a SDHI. A associação de DMI a SDHI prolongou o T50 em duas, uma e uma safras nos programas com uma, duas e três aplicações (Figura 9).

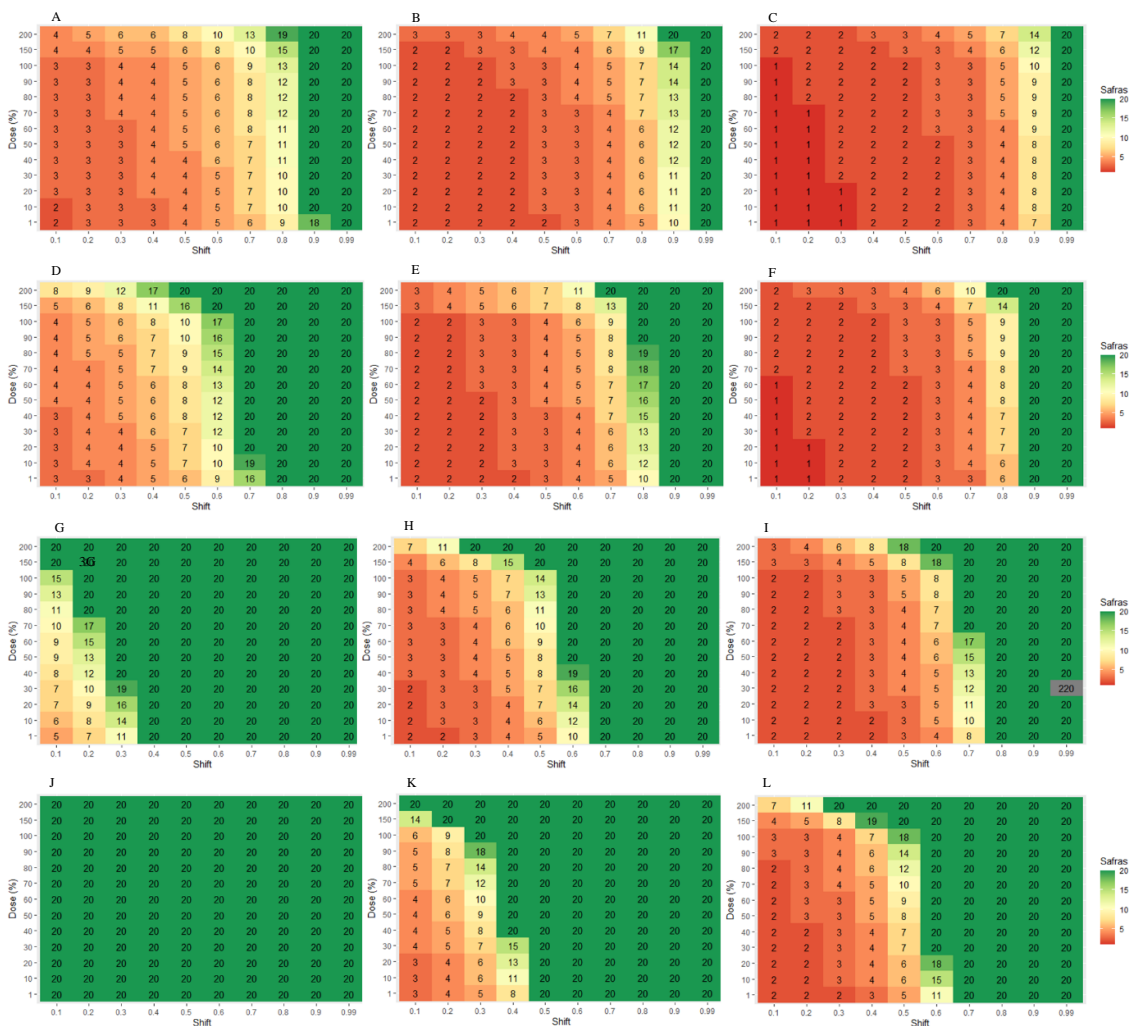


Figura 10. (1) Seleção de indivíduos resistentes de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas SDHI em programas de aplicações de SDHI + DMI aos (a) 40 DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de DMI e níveis de sensibilidade. (2) Seleção de

Figura 11. Ganho em safras com associação de fungicida DMI em relação a programas solo. Programas de aplicações de fungicida SDHI + DMI aos (a) 40 DAE, (b) 40 e 55 DAE e (c) 40, 55 e 70 DAE, combinados a - 1 a 200 % doses de DMI e níveis de sensibilidade. (2) Penalidade de 1 dia em programas de aplicações de fungicidas SDHI + DMI aos (d) 40 DAE, (e) 40 e 55 DAE e (f) 40, 55 e 70 (3) Penalidade de 3 dias em programas de aplicações de fungicida SDHI + DMI aos (g) 40 DAE, (h) 40 e 55 DAE e (i) 40, 55 e 70 DAE, e (4) Penalidade de 5 dias em programas de aplicações de fungicida SDHI + DMI aos (j) 40 DAE, (k) 40 e 55 DAE e (l) 40, 55 e 70 DAE.

Fonte: O próprio autor.

A mistura de fungicidas com diferentes modos de ação pode reduzir a taxa de seleção de indivíduos resistentes. No trabalho de Hobbelen et al. (2013) o uso de misturas de fungicidas reduziu/atrasou o desenvolvimento de resistência. Em outro trabalho, Hobbelen et al. (2011) estudaram o efeito da aplicação de um fungicida sítio-específico aplicado sozinho ou em mistura com multissítios. A vida útil do produto (tempo entre o lançamento no mercado e ocorrência de resistência) de ação sítio específico foi maior quando aplicado em mistura com o fungicida multissítios, mesmo utilizando o multissítios em baixas doses. A vida útil do sítio-específico quando utilizado em mistura com multissítios foi prevista em 12 anos, e 3 a 4 anos para o mesmo cenário com sítio específico aplicado sem mistura. Os resultados apresentados no presente trabalho corroboram os trabalhos supracitados, em que a associação de multissítios conferiu maior tempo (safras) em relação a DMI. Nesse sentido, o intervalo entre as aplicações também pode influenciar pois a exposição da população sensível ao fungicida favorece a seleção de resistentes (VAN DEN BERG; PAVELEY; VAN DEN BOSCH., 2016a). Dooley et al. (2016b) observaram maior seleção de indivíduos resistentes na segunda aplicação de DMI.

Na revisão de Van den Bosch et al. (2014b), a seleção de resistentes apresenta maior redução com menores doses do fungicida alvo (SDHI por exemplo) do que com o aumento da dose do fungicida parceiro. Na revisão, os autores não abordam a ocorrência de resistência cruzada. Diversos estudos indicam resistência cruzada entre SDHIs para os fungos *Fusarium asiaticum* (CHEN et al., 2021), *Podosphaera xanthii* (MIYAMOTO et al., 2020) e *Mycosphaerella graminicola* (SCALLIET et al., 2012). O presente estudo não considerou a presença de resistência cruzada entre fungicidas SDHI e DMI. Apesar de ainda não ser conhecida ou publicada a emergência e seleção de indivíduos com menor sensibilidade aos fungicidas dos dois modos de ação em *P. pachyrhizi*, são possíveis. Indivíduos resistentes a DMIs apresentam diferentes níveis de sensibilidade e mecanismos complexos, que podem estar associados à mutações nos genes CYP51, e assim superexpressão de genes e metabolização do fungicida no caso de *P. pachyrhizi* (SCHMITZ et al., 2014).

Casos de redução de eficiência de controle usando combinações de fungicidas com diferentes modos de ação foram relatados no Brasil. Scherm et al. (2009), avaliando a eficiência média de fungicidas utilizados em soja em ensaios em rede de 2003/04 a 2006/2007, concluíram que a combinação de triazóis e estrobilurinas resultaram em menor severidade de ferrugem. Já em 2015, Dalla Lana et al. (2015) trabalhando com dados da mesma rede de ensaios entre as safras de 2004/05 a 2012/13, observaram que as misturas de triazóis e estrobilurinas apresentaram reduções lineares de eficiência. Mavroeiditit e Shaw (2006) observaram redução da seleção de indivíduos resistentes do fungo *Mycosphaerella graminicola* em combinações de fluquinconazol e azoxistrobina em altas doses.

Em programas com diferentes combinações e momentos de aplicação de fungicidas, os resultados mostram que o número de aplicações de SDHIs na safra aumentou a seleção de indivíduos resistentes. Nos programas com adição de multissítios, programas com três aplicações de SDHI apresentaram menor T50 (Figura 11). Os programas com uma aplicação de SDHI no início da doença (40 DAE) apresentou menor seleção de indivíduos resistentes em relação à aplicação aos 55 DAE (Figura 11 – A,B). Curiosamente, a aplicação de SDHI aos 70 DAE, apresentou número de safras até T50 igual ou superior a 20.

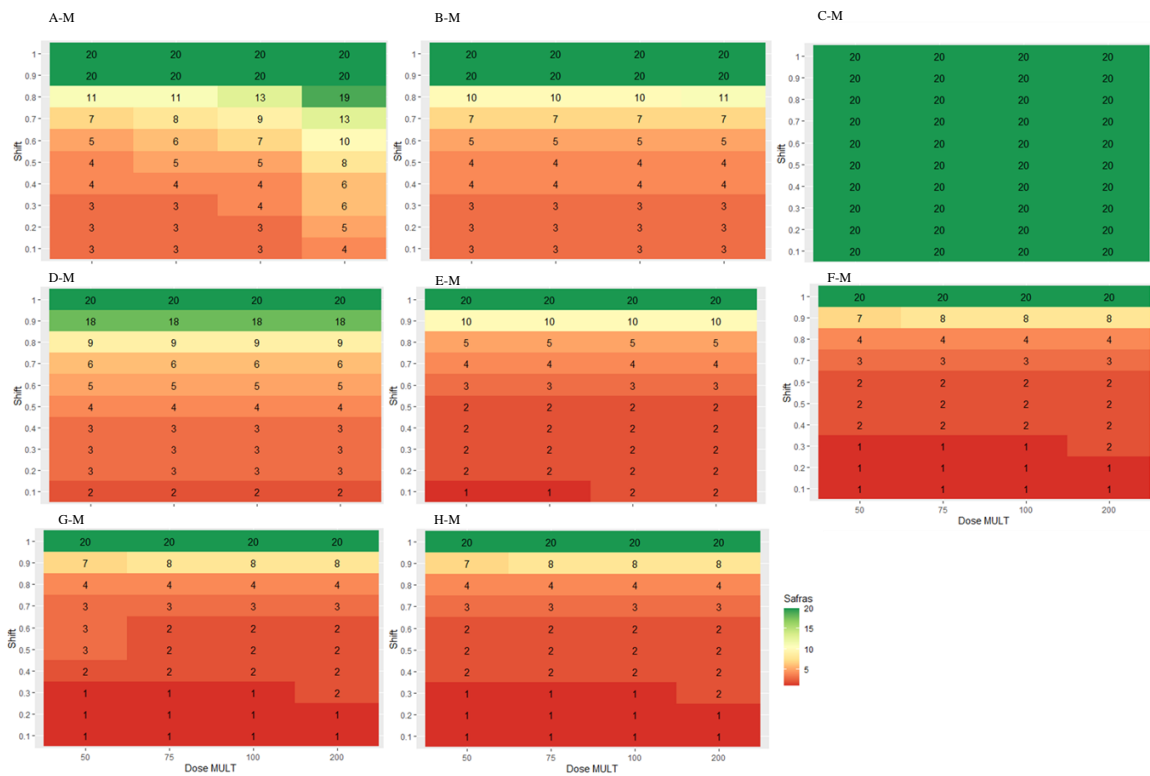


Figura 12. Programas de controle compostos por combinações de fungicidas SDHI e multissítios na seleção de indivíduos de *Phakopsora pachyrhizi* resistentes a SDHI. Descrição dos programas em tabela 4.

Fonte: O próprio autor.

O resultado pode ser explicado pela ação do fungicida multissítios reduzindo os indivíduos sensíveis e resistentes nas aplicações aos 40 e 55 DAE. Em outro contexto, a frequência inicial de resistentes ou fase da resistência (emergência, seleção) podem influenciar as estratégias anti-resistência em relação ao momento de aplicação, combinações e alternância de ingredientes ativos. Van den Bosch et al. (2014a) avaliaram o efeito da aplicação de um fungicida sítio-específico com multissítios aplicados em mistura ou separados na fase de emergência da resistência. Os resultados indicaram que a utilização de misturas aumentou a vida útil do produto sítio específico, quando comparado com a aplicação separada (quando cada campo recebe um único fungicida alternadamente).

No caso de misturas de fungicidas de sítio-específico e multissítios, o tempo para ocorrência de resistência foi maior quando utilizadas altas doses dos fungicidas multissítios combinadas a menores doses dos fungicidas sítio-específicos (HOBBELEN et al., 2011; MIKABERIDZE; MCDONALD; BONHOEFFER, 2014; VAN DEN BOSCH et al., 2011). Mikaberidze; Mcdonald e Bonhoeffer (2014) citam que se não houve custo biológico da mutação (“*Fitness penalty*”), o uso de fungicidas sítio específico (“alto risco”) em misturas é justificado apenas pelo ganho em eficiência de controle.

Combinações e momentos de aplicação, mostraram que o número de aplicações de fungicidas SDHIs na safra aumentou a seleção de indivíduos resistentes. Nos programas com adição de fungicida DMI, programas com três aplicações de SDHI apresentaram menor T50 (Figura 12). Nos programas com uma aplicação de SDHI no início da doença (40 DAE) apresentou menor seleção de resistentes em relação à aplicação em 55 DAE (Figura 11 – A,B). Em geral, os programas com DMI apresentaram resposta semelhantes aos programas equivalentes com adição de multissítio.

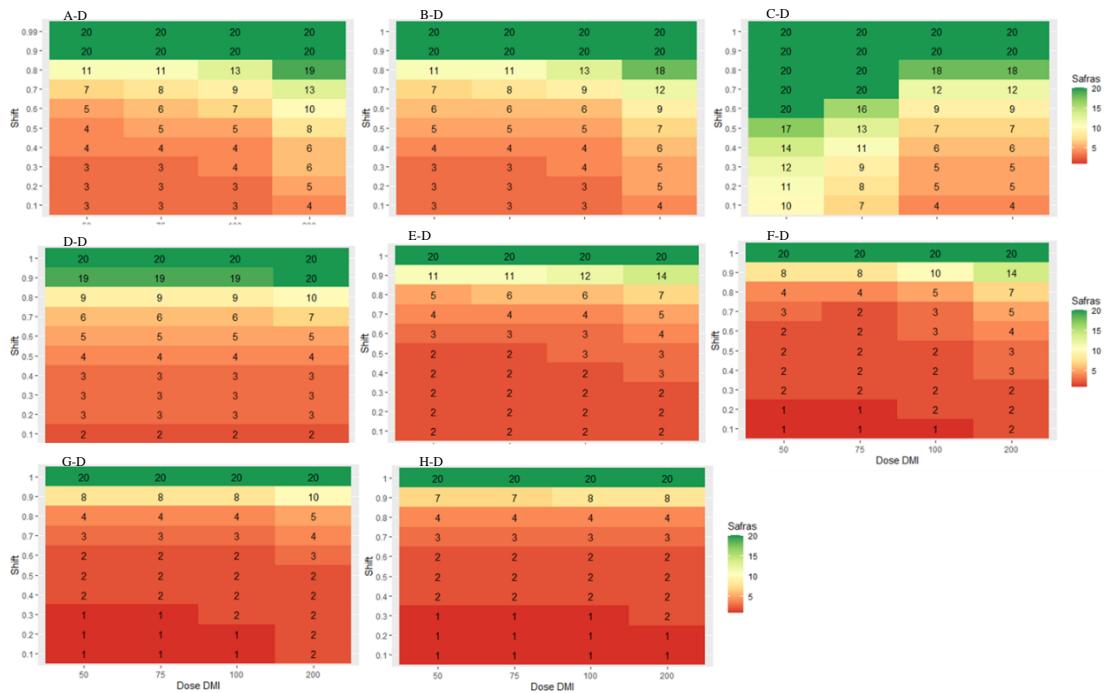


Figura 13. Programas de controle com a combinação de fungicida SDHI e DMI na seleção de indivíduos de *Phakopsora pachyrhizi* resistentes a SDHI. Descrição dos programas em tabela 4.

Fonte: O próprio autor.

Os cenários simulados foram desenvolvidos com informações de uma pequena gama de DMIs. Novos estudos e simulações com outros DMIs são necessárias para estudar o efeito de outros grupos como triazolinonas. O efeito do fungicida nos indivíduos resistentes e sensíveis está relacionado a características intrínsecas do ingrediente ativo e as alterações genéticas nos resistentes. Em função da variação na resposta de *Z. tritici* a diferentes DMIs Dooley et al. (2016) testaram dois ingredientes ativos diferentes mas com o mesmo modo de ação aplicados em diferentes configurações. A aplicação de apenas um ingrediente ativo resultou em menor seleção em comparação a mistura e reforçam à recomendação de combinação de diferentes modos de ação. Skylakakis (1981) enfatizam que as misturas reduzem a seleção, exceto em casos em que o período latente do patógeno é curto. Os autores também mostraram que quanto maior a eficiência do fungicida e o grau de resistência, mais rápido é a seleção de resistentes. Dessa forma, os modelos e premissas/regras variam de acordo com o patógeno e situação.

O uso de misturas de fungicidas com modos de ação diferentes demonstrou menor seleção de indivíduos resistentes nos cenários simulados. O uso de multissítio apresentou maior período até T50 em relação a DMIs. O uso de fungicidas e misturas pode ser uma estratégia

para prolongar a durabilidade de cultivares (CAROLAN, et al., 2017). Da mesma forma, a adoção de cultivares tolerantes e seleção de resistente dever ser estudada.

4.7 CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que a combinação de fungicidas multissítio ou DMI com SDHI reduzem a seleção de indivíduos resistentes aos SDHI, sendo a dose do fungicida parceiro determinante para o manejo anti-resistência. O acréscimo em safras foi superior com uso de multissítio como parceiro, sendo o ganho influenciado pelo *shift*.

A presença de fitness biológico somada à adição de parceiro multissítio ou DMI atrasou a seleção de resistentes. Os modelos podem auxiliar pesquisadores a entender como programas de manejo podem afetar a seleção de indivíduos, bem como elaborar estratégias para inserção de novos ingredientes ativos e recomendações.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modelos desenvolvidos/adaptados mostraram ser capazes de simular o tempo até que a frequência de indivíduos resistentes de uma população atinja 50%. O uso de apenas um modo de ação no controle da doença, em nenhum dos cenários simulados, mostrou-se sustentável. Os resultados apresentados e cenários simulados podem ser utilizados para outros ingredientes ativos do mesmo grupo, como bixafen, inpyrfluxam e fluindapyr, recentemente introduzidos no mercado, visto que os cenários contemplam diversas situações. Nesse caso, indivíduos que apresentam alterações que conferem menor sensibilidade podem estar sendo selecionados, embora não tenham frequência suficiente para determinar reduções de eficiência de controle.

Nesses casos, o *shift* ou sensibilidade dos resistentes testados no presente trabalho podem fornecer informações de que uma população de resistentes, mesmo com a pressão de seleção exercida pelos fungicidas, pode não ser selecionada (aumentar a frequência).

Os resultados mostraram que a redução do número de aplicações foi a principal medida para redução da seleção. Somada à redução das aplicações, a combinação de multissítios foi a medida mais eficaz para prolongar T50. Nesse sentido, é importante destacar o efeito da dose do fungicida parceiro no manejo anti-resistência. Cada vez mais o uso de medidas integradas de manejo como época de semeadura, vazão sanitário, uso de cultivares tolerantes, rotação de modos de ação e outros tornam-se mais importantes.

A penalidade biológica de indivíduos resistentes demonstrou ser limitante na seleção de indivíduos. Novos trabalhos devem ser realizados para estudar a ocorrência de penalidades biológicas em indivíduos resistentes, assim como o efeito do intervalo entre aplicações, descontinuidade e retorno de programas de manejo e ingredientes ativos, bem como, a presença de indivíduos com níveis de sensibilidade aos fungicidas parceiros adotados. Ainda, cenários com penalidades biológicas relacionadas à agressividade e virulência (através de alterações na taxa aparente de infecção, por exemplo) dos indivíduos resistentes devem ser desenvolvidos.

Os resultados apresentados podem auxiliar pesquisadores a entender como programas de manejo e a adoção de estratégias anti-resistência devem ser planejadas antes mesmo do lançamento do produto no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. **Plant pathology**. 5th ed. Gainesville, U.S.A.: Academic Press, 2005. Available at: <https://www.elsevier.com/books/plant-pathology/agrios/978-0-08-047378-9>.
- ALVES, M. de C.; POZZA, E. A.; COSTA, J. de C. do B.; GONSAGA DE CARVALHO, L.; ALVES, L. S. Adaptive neuro-fuzzy inference systems for epidemiological analysis of soybean rust. **Environmental Modelling & Software**, vol. 26, no. 9, p. 1089–1096, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2011.03.008>.
- ASSENS, S.; EWERT, F.; ROSENZWEIG, C.; JONES, J. W.; HATFIELD, J. L.; RUANE, A. C.; BOOTE, K. J.; THORBURN, P. J.; RÖTTER, R. P.; CAMMARANO, D.; BRISSON, N.; BASSO, B.; MARTRE, P.; AGGARWAL, P. K.; ANGULO, C.; BERTUZZI, P.; BIERNATH, C.; CHALLINOR, A. J.; DOLTRA, J.; ... WOLF, J. Uncertainty in simulating wheat yields under climate change. **Nature Climate Change**, vol. 3, no. 9, p. 827–832, 9 Sep. 2013. DOI 10.1038/nclimate1916. Available at: <https://www.nature.com/articles/nclimate1916>. Accessed on: 6 Aug. 2020.
- AVENOT, H. F.; LUNA, M.; MICHAILIDES, T. J. Phenotypic and molecular characterization of resistance to the SDHI fungicide fluopyram in populations of *Alternaria alternata* from pistachio orchards in California. **Crop Protection**, vol. 124, no. March 2018, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.05.032>.
- AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from Pistachio in California. **Plant Disease**, vol. 91, no. 10, p. 1345–1350, Oct. 2007. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-10-1345>.
- AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Occurrence and Extent of Boscalid Resistance in Populations of *Alternaria alternata* from California Pistachio Orchards. **Plant Disease**, vol. 104, no. 2, p. 306–314, 4 Feb. 2020. DOI 10.1094/PDIS-04-19-0699-SR. Available at: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-04-19-0699-SR>. Accessed on: 11 Feb. 2020.
- AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, vol. 29, no. 7, p. 643–651, 2010a. DOI 10.1016/j.cropro.2010.02.019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019>.
- AVOZANI, A.; REIS, E. M.; TONIN, R. B. Sensitivity loss by *Corynespora cassiicola*, isolated from soybean, to the fungicide carbendazim. **Summa Phytopathologica**, vol. 40, no. 3, p. 273–276, Sep. 2014. DOI 10.1590/0100-5405/1928. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052014000300010&lng=en&tlng=en.
- BARTLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBZANSKI, B. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, vol. 58, no. 7, p. 649–662, 2002. <https://doi.org/10.1002/ps.520>.
- BARTOCCI, E.; LIÓ, P. Computational Modeling, Formal Analysis, and Tools for Systems Biology. **PLoS Computational Biology**, vol. 12, no. 1, p. 1–22, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004591>.

BERGER, R. D. Application of Epidemiological Principles to Achieve Plant Disease Control. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 15, no. 1, p. 165–181, 28 Sep. 1977. DOI 10.1146/annurev.py.15.090177.001121. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.py.15.090177.001121>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

BERGER, R. D.; JONES, J. W. A general model for disease progress with functions for variable latency and lesion expansion on growing host plants. **Phytopathology**, vol. 75, no. 7, p. 792–795, 1985. .

BONDE, M. R.; NESTER, S. E.; AUSTIN, C N; STONE, C L; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G. L.; MILES, M.R. Evaluation of Virulence of *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia* Isolates. **Plant Disease**, vol. 90, no. 6, p. 708–716, 2006. DOI 10.1094/PD-90-0708. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PD-90-0708>.

BONDE, M. R.; BERNER, D. K.; NESTER, S. E.; FREDERICK, R. D. Effects of temperature on urediniospore germination, germ tube growth, and initiation of infection in soybean by *phakopsora* isolates. **Phytopathology**, vol. 97, no. 8, p. 997–1003, 2007. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-8-0997>.

BONDE, M. R.; NESTER, S. E.; BERNER, D K. Effects of frequency of “extreme” temperature highs on development of soybean rust. **Phytopathology**, vol. 103, no. 7, p. 708–16, 2013. DOI 10.1094/PHYTO-09-12-0250-R. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23425238>.

BONDE, M. R.; MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R. Histology of the Suscept-Pathogen Relationship Between Glycine max and *Phakopsora pachyrhizi*, the Cause of Soybean Rust. **Phytopathology**, vol. 66, p. 1290–1293, 1976. DOI 10.1094/Phyto-66-1290. Available at: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1976Articles/Phyto66n11_1290.PDF.

BOSCH, F.; GILLIGAN, C. A. Models of fungicide resistance dynamics. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 46, p. 123–147, 2008. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.011108.135838>.

BRAGA, K.; FANTIN, L. H.; MINCHIO, C. A.; SCOLIN, L. B.; PADUAN, F. N.; CANTERI, M. G. Sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* ao fungicida protioconazol. **Summa Phytopathologica**, vol. 46, no. 2, p. 150–154, Jun. 2020. DOI 10.1590/0100-5405/223207. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052020000200150&tlng=pt.

BRENT, Keith J; HOLLOMON, Derek W. **Fungicide Resistance in Plant Management: How can it be managed?** . 320p, 2007. Available at: www.frac.info.

BROMFIELD, K. R; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, vol. 20, no. 2, p. 254–255, Mar. 1980. <https://doi.org/10.2135/cropsci1980.0011183x002000020026x>.

BROMFIELD, K.R.; MELCHING, J.S. Sources of specific resistance to soybean rust. **Phytopathology**, vol. 72, no. 6, p. 706, 1982. Available at: <https://worldveg.tind.io/record/1116>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

BRUNNER, P. C.; STEFANATO, F. L.; MCDONALD, B. A. Evolution of the CYP51 gene in *Mycosphaerella graminicola*: Evidence for intragenic recombination and selective replacement. **Molecular Plant Pathology**, vol. 9, no. 3, p. 305–316, May 2008. DOI 10.1111/j.1364-3703.2007.00464.x. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18705872/>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

BUCHENAUER, H.; HELLWALD, K. H. Resistance of *Erysiphe graminis* on barley and wheat to sterol C-14-demethylation inhibitors. **EPPO Bulletin**, vol. 15, no. 4, p. 459–466, 1 Dec. 1985. DOI 10.1111/j.1365-2338.1985.tb00255.x. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2338.1985.tb00255.x>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

CAFFI, T.; ROSSI, V. Fungicide models are key components of multiple modelling approaches for decision-making in crop protection. **Phytopathologia Mediterranea**, vol. 57, no. 1, p. 153–169, 2018. DOI 10.14601/Phytopathol_Mediterr-22471. Available at: www.fupress.com/pm. Accessed on: 1 Apr. 2020.

CALONNEC, A.; BURIE, J.-B.; LANGLAIS, M.; GUYADER, S.; SAINT-JEAN, S.; SACHE, I.; TIVOLI, B. Impacts of plant growth and architecture on pathogen processes and their consequences for epidemic behaviour. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 135, no. 3, p. 479–497, 18 Mar. 2013. DOI 10.1007/s10658-012-0111-5. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10658-012-0111-5>.

CALVO, É. S.; KIIHL, R. A. S.; GARCIA, A.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M. Two major recessive soybean genes conferring soybean rust resistance. **Crop Science**, vol. 48, no. 4, p. 1350–1354, 2008. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.10.0589>.

CARMONA, M. A.; FORTUGNO, C.; ACHÁVAL, P. L. Morphologic and Pathometric Characterization of the Asian Soybean Rust (*Phakopsora pachyrhizi*) on Kudzu (*Pueraria lobata*) in Argentina. **Plant Disease**, vol. 89, no. 10, p. 1132–1132, 7 Oct. 2005. DOI 10.1094/PD-89-1132B. Available at: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PD-89-1132B>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

CAROLAN, K.; HELPS, J.; VAN DEN BERG, F.; BAIN, R.; PAVELEY, N.; VAN DEN BOSCH, F. Extending the durability of cultivar resistance by limiting epidemic growth rates. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, vol. 284, no. 1863, p. 20170828, 2017. DOI 10.1098/rspb.2017.0828. Available at: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/lookup/doi/10.1098/rspb.2017.0828>.

CASTLE, M. D.; GILLIGAN, C. A. An Epidemiological Framework for Modelling Fungicide Dynamics and Control. **PLoS ONE**, vol. 7, no. 8, p. e40941, 10 Aug. 2012. DOI 10.1371/journal.pone.0040941. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0040941>.

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; DE OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T. A.; MACIEL, J. L. N.; BONATO, A. L. V.; DORIGAN, A. F.; MCDONALD, B. A. Resistance to QoI Fungicides Is Widespread in Brazilian Populations of the Wheat Blast Pathogen *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, vol. 105, no. 3, p. 284–94, 2015. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-14-0184-R>.

COOLS, H. J.; HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. Constraints on the evolution of azole resistance in plant pathogenic fungi. **Plant Pathology**, vol. 62, no. S1, p. 36–42, 2013.

<https://doi.org/10.1111/ppa.12128>.

COOLS, H. J.; BAYON, C.; ATKINS, S.; LUCAS, J. A.; FRAAIJE, B. A. Overexpression of the sterol 14-demethylase gene (MgCYP51) in *Mycosphaerella graminicola* isolates confers a novel azole fungicide sensitivity phenotype. **Pest Management Science**, vol. 68, no. 7, p. 1034–1040, 2012. <https://doi.org/10.1002/ps.3263>.

COOLS, H. J.; FRAAIJE, B. A. Update on mechanisms of azole resistance in *Mycosphaerella graminicola* and implications for future control. **Pest Management Science**, vol. 69, no. 2, p. 150–155, Feb. 2013. DOI 10.1002/ps.3348. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.3348>.

COOLS, H. J.; MULLINS, J. G. L.; FRAAIJE, Bart A.; PARKER, Josie E.; KELLY, Diane E.; LUCAS, John A.; KELLY, Steven L. Impact of recently emerged sterol 14-demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 77, no. 11, p. 3830–3837, 2011. <https://doi.org/10.1128/AEM.00027-11>.

CUNNIFFE, N. J.; STUTT, R. O. J. H.; VAN DEN BOSCH, F.; GILLIGAN, C. a. Time-Dependent Infectivity and Flexible Latent and Infectious Periods in Compartmental Models of Plant Disease. **Phytopathology**, vol. 102, no. 4, p. 365–380, 2012. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-10-0338>.

CUNNIFFE, N. J.; KOSKELLA, B.; E. METCALF, C. J.; PARNELL, S.; GOTTWALD, T. R.; GILLIGAN, C. A. Thirteen challenges in modelling plant diseases. **Epidemics**, vol. 10, no. July, p. 6–10, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2014.06.002>.

DALLA LANA, F.; ZIEGELMANN, P. K.; MAIA, A. De H. N.; GODOY, C. V.; DEL PONTE, E.M. Meta-Analysis of the Relationship Between Crop Yield and Soybean Rust Severity. **Phytopathology**, vol. 105, no. 3, p. 307–315, Mar. 2015. DOI 10.1094/PHYTO-06-14-0157-R. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-06-14-0157-R>.

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**, vol. 42, no. 1, p. 11–17, Mar. 2016. DOI 10.1590/0100-5405/1920. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052016000100011&lng=en&tlng=en.

DE WOLF, E D; ISARD, S A. Disease cycle approach to plant disease prediction. **Annu Rev Phytopathol**, vol. 45, p. 203–220, 2007. DOI 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143329. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17408356.

DEL PONTE, E. M.; GODOY, C. V.; LI, X.; YANG, X. B. Predicting Severity of Asian Soybean Rust Epidemics with Empirical Rainfall Models. **Phytopathology**, vol. 96, no. 7, p. 797–803, Jul. 2006. DOI 10.1094/PHYTO-96-0797. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-96-0797%5Cnhttp://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-96-0797>.

DOOLEY, H.; SHAW, M. W.; SPINK, J.; KILDEA, S. Effect of azole fungicide mixtures,

alternations and dose on azole sensitivity in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. **Plant Pathology**, vol. 65, no. 1, p. 124–136, 1 Jan. 2016. DOI 10.1111/ppa.12395. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ppa.12395>. Accessed on: 7 Apr. 2020.

DOOLEY, H.; SHAW, M.W.; SPINK, J.; KILDEA, S. The effect of succinate dehydrogenase inhibitor/azole mixtures on selection of *Zymoseptoria tritici* isolates with reduced sensitivity. **Pest Management Science**, vol. 72, no. 6, p. 1150–1159, 2016. <https://doi.org/10.1002/ps.4093>.

DORIGAN, A. F.; DE CARVALHO, G.; POLONI, N. M.; NEGRISOLI, M. M.; LEODATO, J.; MACIEL, N.; CERESINI, P. C. Resistance to triazole fungicides in *Pyricularia* species is associated with invasive plants from wheat fields in Brazil. **Acta Scientiarum Agronomy**, vol. 41, no. 1, p. 1–10, 2019. DOI 10.4025/actasciagron.v41i1.39332. Available at: <http://periodicos.uem.br/ojs/acta>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

EDWARDS, H H; BONDE, M R. Penetration and establishment of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean leaves as observed by transmission electron microscopy. **Phytopathology**, vol. 101, no. 7, p. 894–900, 2011. DOI 10.1094/PHYTO-09-10-0248. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21405996>.

ELDERFIELD, J. A. D.; LOPEZ-RUIZ, F. J.; VAN DEN BOSCH, F.; CUNNIFFE, N. J. Using Epidemiological Principles to Explain Fungicide Resistance Management Tactics: Why do Mixtures Outperform Alternations? **Phytopathology**, vol. 108, no. 7, p. 803–817, Jul. 2018. DOI 10.1094/PHYTO-08-17-0277-R. Available at: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-17-0277-R>. Accessed on: 7 Apr. 2020.

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. DOI 10.1017/CBO9781107415324.004. Available at: http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/central_2005.pdf.

ESQUIVEL, B. D.; WHITE, T. C. Accumulation of Azole Drugs in the Fungal Plant Pathogen *Magnaporthe oryzae* Is the Result of Facilitated Diffusion Influx. **Frontiers in Microbiology**, vol. 8, no. July, p. 1–12, 13 Jul. 2017. DOI 10.3389/fmicb.2017.01320. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01320/full>.

FANTIN, H. L.; CANTERI, G. M.; ANDRÉ, L. da S.; Tupich, F.L.; MADDEN, L. V. Contribution of soybean seed treatment with Fluquinconazole to manage yield losses caused by *Phakospora pachyrhizi* using meta-analysis. **African Journal of Agricultural Research**, vol. 11, no. 39, p. 3880–3888, 2016. DOI 10.5897/AJAR2016.11395. Available at: <http://www.academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/34D1F2E60869>.

FANTIN, L. H.; ANDRADE, J. V.; CANTERI, M. G.; BORGES, E. P.; DIAS, A. Intervalo e efeito. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, vol. 199, p. 18–20, 2015. .

FANTIN, L. H.; BELINELLI, E. O.; BRAGA, K.; NATTI, P. L.; CANTERI, M. G. Modelos numéricos para simular a disseminação de esporos de *Phakospora pachyrhizi* através de frentes frias. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, vol. 249, no. 2, p. 21–23, 2020. .

FANTIN, L. H.; CANTERI, M. G.. Computational Simulation as a Tool for Fungicide Resistance Management. **Fungicides: Perspectives, Resistance Management and Risk Assessment**. 1st ed. New York, NY: Nova Science Publishers, 2018. p. 1–18. <https://doi.org/10.11113/jt.v77.6781>.

FANTIN, L. H.; MADUREIRA FELÍCIO, A. L.; BRAGA, K.; GAETA, G. M.; DE FRANÇA, J. A.; CANTERI, M. G. Spectral characterization and quantification of *Phakopsora pachyrhizi* urediniospores by Fourier transformed infrared with attenuated total reflectance. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 154, no. 4, p. 1149–1157, 9 Aug. 2019. DOI 10.1007/s10658-019-01735-w. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10658-019-01735-w>.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; TORES, J. A.; DE VICENTE, A.; PÉREZ-GARCIA, A. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, vol. 11, no. 1, p. 1–9, 2008. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.38>.

FERREIRA, P.; SOUSA, C.; ALVES, E.; CASTRO, H. A. De. Influência da temperatura no desenvolvimento de teliósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja. , p. 227–231, 2006. .

FIGUEIREDO, G. V. C.; FANTIN, L. H.; CANTERI, M. G.; DA ROCHA, J. C. F.; JACCOUD FILHO, D. de S.. A Bayesian Probability Model Can Simulate the Knowledge of Soybean Rust Researchers to Optimize the Application of Fungicides. **International Journal of Agricultural and Environmental Information Systems**, vol. 10, no. 4, p. 37–51, Oct. 2019. DOI 10.4018/IJAEIS.2019100103. Available at: <http://services.igi-global.com/resolvedoi/resolve.aspx?doi=10.4018/IJAEIS.2019100103>.

FISHER, M. C.; HAWKINS, N. J.; SANGLARD, D.; GURR, S. J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. **Science**, vol. 360, no. 6390, p. 739–742, 18 May 2018. DOI 10.1126/science.aap7999. Available at: <http://science.sciencemag.org/>. Accessed on: 11 Jan. 2021.

FRAC. **Informação sobre carboxamidas em Ferrugem da soja**. [S. l.: s. n.], 2017. Available at: https://3f2c8573-584c-4b16-985f-14dc48f9ab81.filesusr.com/ugd/85b1d3_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf. Accessed on: 20 Aug. 2020.

FURTADO, G. Q.; ALVES, S. A.M.; CARNEIRO, L. C.; GODOY, C.V.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. Influence of soybean phenological stage and leaflets age on infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 34, no. 2, p. 118–122, 2009. DOI 10.1590/s1982-56762009000200007. Available at: www.sbfito.com.br. Accessed on: 14 Mar. 2021.

GARCIA, A.; CALVO, É. S.; DE SOUZA KIIHL, R. A.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M.; VIEIRA, L. G. E. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: Discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, vol. 117, no. 4, p. 545–553, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0798-z>.

GASPAR, G. G.; TAKAHASHI, H. W.; CANTERI, M. G.; VIEIRA DE ALMEIDA, J. C.; FIORETTO, R. A.; LUIZ, B.; ANDRADE, G.; FANTIN, L. H. Balance among calcium, magnesium and potassium levels affecting Asian Soybean Rust severity. **Agronomy Science and Biotechnology**, vol. 1, no. 1, p. 39–44, 2015. Available at: www.asbjournal.com.

GILLIGAN, C.A. **An epidemiological framework for disease management**. [S. l.: s. n.], 2002. vol. Volume 38, . DOI 10.1016/s0065-2296(02)38027-3. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065229602380273>.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, Maurício Conrado; COSTAMILAN, Leila Maria. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 51, no. 5, p. 407–421, May 2016. DOI 10.1590/S0100-204X2016000500002. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2016000500407&lng=en&tlng=en.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D; LOPES, I. de, O.N; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C.B; JACCOUD FILHO, D.S; MOREIRA, E. N.; BORGES, E.P; SIQUEIRA, F.V; JULIATTI, F. C.; FAVERO, F.; FEKSA, H.R.; JUNIOR, I.P.A; GRIGOLLI, J.F.J; NUNES JUNIOR, J; BELUFI, L.M.R; CARNEIRO, Luciana.C; ... VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, Phakopsora pachyrhizi, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. 129th ed. Londrina/PR: Embrapa Soja, 2017.

GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, E.; FEDELE, G.; SALINARI, F.; ROSSI, V. A General Model for the Effect of Crop Management on Plant Disease Epidemics at Different Scales of Complexity. **Agronomy**, vol. 10, no. 4, p. 462, 26 Mar. 2020. DOI 10.3390/agronomy10040462. Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/4/462>. Accessed on: 31 Mar. 2020.

GRIMMER, M. K.; VAN DEN BOSCH, F.; POWERS, S. J.; PAVELEY, N. D. Fungicide resistance risk assessment based on traits associated with the rate of pathogen evolution. **Pest Management Science**, vol. 71, no. 2, p. 207–215, Feb. 2015. DOI 10.1002/ps.3781. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.3781>.

GUSTAFSSON, L.; STERNAD, M. A Guide to Population Modelling for Simulation. **Open Journal of Modelling and Simulation**, vol. 04, no. 02, p. 55–92, 2016. DOI 10.4236/ojmsi.2016.42007. Available at: <http://dx.doi.org/10.4236/ojmsi.2016.42007>.

GUTIÉRREZ-ALONSO, O.; HAWKINS, N. J.; COOLS, H. J.; SHAW, M. W.; FRAAIJE, B. A. Dose-dependent selection drives lineage replacement during the experimental evolution of SDHI fungicide resistance in *Zymoseptoria tritici*. **Evolutionary Applications**, vol. 10, no. 10, p. 1055–1066, Dec. 2017. DOI 10.1111/eva.12511. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/eva.12511>.

HARTWIG, E. E. Identification of a Fourth Major Gene Conferring Resistance to Soybean Rust. **Crop Science**, vol. 26, no. 6, p. 1135–1136, 1 Nov. 1986. DOI 10.2135/cropsci1986.0011183X002600060010x. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2135/cropsci1986.0011183X002600060010x>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

HAU, B. Analytic Models of Plant Disease in a Changing Environment. **Annu. Rev. Phytopathol**, vol. 28, p. 221–245, 1990. Available at: www.annualreviews.org. Accessed on: 26 Mar. 2020.

HAWKINS, N.J.; FRAAIJE, B.A. Fitness Penalties in the Evolution of Fungicide Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 56, no. 1, p. 339–360, 25 Aug. 2018. DOI 10.1146/annurev-phyto-080417-050012. Available at: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-phyto-080417-050012>.

HENRIQUE, A.; MELO, A.; FANTIN, L.H.; CANTERI, M.G. 2021 Evaluation of pesticide application efficacy in soybean crop through meta-analysis. **Pest Management Science**, 2021. (*In press*)

HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J. J.. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. 349th ed. Londrina, 2014. DOI 10.1017/CBO9781107415324.004. Available at: http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/central_2005.pdf.

HIRATSUKA, Y. The Nuclear Cycle and the Terminology of Spore States in Uredinales. **Mycologia**, vol. 65, no. 2, p. 432–443, 1973. Available at: <http://www.jstor.org/stable/3758114><http://www.jstor.org/stable/3758114>.

HOBBELEN, P. H. F.; PAVELEY, N. D.; FRAAIJE, B. A.; LUCAS, J. A.; VAN DEN BOSCH, F. Derivation and testing of a model to predict selection for fungicide resistance. **Plant Pathology**, vol. 60, no. 2, p. 304–313, Apr. 2011. DOI 10.1111/j.1365-3059.2010.02380.x. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3059.2010.02380.x>.

HOBBELEN, P. H. F.; PAVELEY, N. D.; VAN DEN BOSCH, F. Delaying Selection for Fungicide Insensitivity by Mixing Fungicides at a Low and High Risk of Resistance Development: A Modeling Analysis. **Phytopathology**, vol. 101, no. 10, p. 1224–1233, Oct. 2011. DOI 10.1094/PHYTO-10-10-0290. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-10-10-0290>.

HOBBELEN, P H F; PAVELEY, N D; OLIVER, R P; VAN DEN BOSCH, F. The Usefulness of Fungicide Mixtures and Alternation for Delaying the Selection for Resistance in Populations of *Mycosphaerella graminicola* on Winter Wheat: A Modeling Analysis. **Phytopathology**, vol. 103, no. 7, p. 690–707, Jul. 2013. DOI 10.1094/PHYTO-06-12-0142-R. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23384858>.

HOBBELEN, P. H. F.; PAVELEY, N. D.; VAN DEN BOSCH, F. The Emergence of Resistance to Fungicides. **PLoS ONE**, vol. 9, no. 3, p. e91910, 21 Mar. 2014. DOI 10.1371/journal.pone.0091910. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0091910>.

HOLLOMON, D. Does agricultural use of azole fungicides contribute to resistance in the human pathogen *Aspergillus fumigatus*? **Pest Management Science**, vol. 73, no. 10, p. 1987–1993, Oct. 2017. DOI 10.1002/ps.4607. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4607>.

HOLLOMON, D. W. Do we have the tools to manage resistance in the future? **Pest Management Science**, vol. 68, no. 2, p. 149–154, 2012. <https://doi.org/10.1002/ps.2291>.

HORSEFIELD, R.; YANKOVSKAYA, V.; SEXTON, G.; WHITTINGHAM, W.; SHIOMI, K.; OMURA, S.; BYRNE, B.; CECCHINI, G.; IWATA, S. Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): A mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 281, no. 11, p. 7309–7316, 2006. <https://doi.org/10.1074/jbc.M508173200>.

HUANG, S.; MILLAR, A. H. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. **Current Opinion in Plant Biology**, vol. 16, no. 3, p. 344–349, Jun. 2013. DOI

10.1016/j.pbi.2013.02.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.007>.

IGARASHI, W. T.; FRANÇA, J. A. de; SILVA, M. A. de A.; IGARASHI, S.; ABI SAAB, O.J. G.. Application of prediction models of asian soybean rust in two crop seasons, in Londrina, Pr. **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 37, no. 5, p. 2881, 2016. DOI 10.5433/1679-0359.2016v37n5p2881. Available at: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/21626>.

ISARD, S. A.; BARNES, C. W.; HAMBLETON, S.; ARIATTI, A.; RUSSO, J. M.; TENUTA, A.; GAY, D. A.; SZABO, L. J. Predicting soybean rust incursions into the North American continental interior using crop monitoring, spore trapping, and aerobiological modeling. **Plant Disease**, vol. 95, no. 11, p. 1346–1357, 2011. DOI 10.1094/PDIS-01-11-0034. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-01-11-0034>.

ISARD, S a; DUFAULT, N S; MILES, M R; HARTMAN, G L; RUSSO, J M; DE WOLF, E D; MOREL, W. The effect of solar irradiance on the mortality of *Phakopsora pachyrhizi* urediniospores. **Plant Disease**, vol. 90, no. 7, p. 941–945, 2006a. <https://doi.org/10.1094/pd-90-0941>.

ISARD, S a; DUFAULT, N S; MILES, M R; HARTMAN, G L; RUSSO, J M; DE WOLF, E D; MOREL, W. The Effect of Solar Irradiance on the Mortality of *Phakopsora pachyrhizi* Urediniospores. **Plant Disease**, vol. 90, no. 7, p. 941–945, 2006b. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0941>.

ISHI, Hideo; HOLLomon, Derek Willian. **Fungicide Resistance in Plant Pathogens**. Springer Japan, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-4-431-55642-8>.

ISHII, H.; MIYAMOTO, T.; USHIO, S.; KAKISHIMA, M. Lack of cross-resistance to a novel succinate dehydrogenase inhibitor, fluopyram, in highly boscalid-resistant isolates of *Corynespora cassiicola* and *Podospaera xanthii*. **Pest Management Science**, vol. 67, no. 4, p. 474–482, Apr. 2011. DOI 10.1002/ps.2092. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.2092>.

ISHII, H.; ZHEN, Fan; HU, Mengjun; LI, Xingpeng; SCHNABEL, Guido. Efficacy of SDHI fungicides, including benzovindiflupyr, against *Colletotrichum* species. **Pest Management Science**, vol. 72, no. 10, p. 1844–1853, Oct. 2016. DOI 10.1002/ps.4216. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4216>.

JEGER, M. J. The Relation Between Total, Infectious, and Postinfectious Diseased Plant Tissue. **Phytopathology**, vol. 72, no. 9, p. 1185–1189, 1982. DOI 10.1094/Phyto-72-1185. Available at: http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Abstracts/Phyto72_1185.htm. Accessed on: 7 Aug. 2020.

JOHNSON, Dennis a.; CUMMINGS, Tom F.; GEARY, Brad. Postinfection Activity of Selected Late Blight Fungicides. **Plant Disease**, vol. 84, no. 10, p. 1116–1120, 2000. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.10.1116>.

JØRGENSEN, Lise N; VAN DEN BOSCH, F; OLIVER, R P; HEICK, T M; PAVELEY, N. Targeting Fungicide Inputs According to Need. **Annual review of phytopathology**, vol. 55, no. May 19, p. 8.1-8.23, 2017. DOI 10.1146/annurev-phyto-080516. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035357>.

JULIATTI, Fernando Cezar; POLLONI, Lorraine Cristina; PRADO, Tâmara Morais; ZACARIAS, Nadia Romina Shneider; SILVA, Erick Araújo; JULIATTI, Breno Cezar Marinho. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* to dithiocarmamate, chloronitril, triazoles, strobilurins, and carboxamide fungicides. **Bioscience Journal**, vol. 33, no. 4, p. 933–943, 2017. DOI 10.14393/BJ-v33n4a2017-38357. Available at:

<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/38357/20683>.

JURICK, Wayne M; NARVAEZ, Dario F; BRENNAN, Meghan M; HARMON, Carrie L; MAROIS, James J; WRIGHT, David L; HARMON, Philip F. Winter Survival of the Soybean Rust Pathogen, *Phakopsora pachyrhizi*, in Florida. **Plant Disease**, vol. 92, no. 11, p. 1551–1558, 2008. DOI 10.1094/pdis-92-11-1551. Available at: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-92-11-1551>.

KELLY, Heather Y; DUFAULT, Nicholas S; WALKER, David R; ISARD, Scott A; SCHNEIDER, Raymond W; GIESLER, Loren J; WRIGHT, David L; MAROIS, James J; HARTMAN, Glen L. From select agent to an established pathogen: the response to *Phakopsora pachyrhizi* (soybean rust) in North America. **Phytopathology**, vol. 105, no. 7, p. 905–916, 2015. DOI 10.1094/PHYTO-02-15-0054-FI. Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25775102>.

KERMACK, W. O.; MCKENDRICK, A. G. **A Contribution to the Mathematical Theory of Epidemics**. London: [s. n.], 1927.

KILANI, Jaafar; FILLINGER, Sabine. Phenylpyrroles: 30 Years, Two Molecules and (Nearly) No Resistance. **Frontiers in Microbiology**, vol. 7, no. DEC, 16 Dec. 2016. DOI 10.3389/fmicb.2016.02014. Available at:

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.02014/full>.

KIM, K S; WANG, T C; YANG, X B. Simulation of apparent infection rate to predict severity of soybean rust using a fuzzy logic system. **Phytopathology**, vol. 95, no. 10, p. 1122–1131, 2005. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1122>.

KITCHEN, J. L.; VAN DEN BOSCH, F.; PAVELEY, N. D.; HELPS, J.; VAN DEN BERG, F. The evolution of fungicide resistance resulting from combinations of foliar-acting systemic seed treatments and foliar-applied fungicides: A modeling analysis. **PLoS ONE**, vol. 11, no. 8, p. 1–21, 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0161887. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0161887>.

KLOSOWSKI, A. C.; BRAHM, L.; STAMMLER, G.; MAY DE MIO, L. L. Competitive Fitness of *Phakopsora pachyrhizi* Isolates with Mutations in the CYP51 and CYTB Genes. **Phytopathology**, vol. 106, no. 11, p. 1278–1284, Nov. 2016. DOI 10.1094/PHYTO-01-16-0008-R. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-01-16-0008-R>.

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**, vol. 72, no. 6, p. 1211–1215, Jun. 2016. DOI 10.1002/ps.4099. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4099/abstract>.

KOGA, L. J.; CANTERI, M. G.; CALVO, E. S.; MARTINS, D. C.; XAVIER, S. A.; HARADA, A.; KIIHL, R. A. S. Managing soybean rust with fungicides and varieties of the early/semi-early and intermediate maturity groups. **Tropical Plant Pathology**, vol. 39, no. 2,

p. 129–133, 2014. DOI 10.1590/S1982-56762014000200003. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84898809313&partnerID=tZOtx3y1>.

LANGENBACH, C.; CAMPE, R.; BEYER, S. F.; MÜLLER, A. N. Fighting Asian soybean rust. **Frontiers in Plant Science**, vol. 7, p. 1–24, 2016. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00797>.

LEROUX, P.; ALBERTINI, C.; GAUTIER, A.; GREDET, M.; WALKER, A. S. Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. **Pest Management Science**, vol. 63, no. 7, p. 688–698, 2007. <https://doi.org/10.1002/ps.1390>.

LI, Hao-Xi; NUCKOLS, T. A.; HARRIS, D.; STEVENSON, K. L.; BREWER, M. T. Differences in fungicide resistance profiles and multiple resistance to a quinone-outside inhibitor (QoI), two succinate dehydrogenase inhibitors (SDHI), and a demethylation inhibitor (DMI) for two *Stagonosporopsis* species causing gummy stem blight of cuc. **Pest Management Science**, vol. 75, no. 11, p. 3093–3101, 17 Nov. 2019. DOI 10.1002/ps.5426. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.5426>.

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**, vol. 125, no. 1, p. 133–142, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1821-y>.

LI, X; DIAS, a P; XUE, L; PAN, Z; YANG, X B. Uniqueness of the SBR pathosystem and its scientific value, global distribution, economic importance, and epidemiology of SBR. **Plant Disease**, vol. 94, no. 7, p. 796–806, 2010. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-7-0796>.

LI, X.; YANG, X.; MO, J.; GUO, T. Estimation of soybean rust uredospore terminal velocity, dry deposition, and the wet deposition associated with rainfall. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 123, no. 4, p. 377–386, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9374-2>.

LUCAS, J. A.; HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. The Evolution of Fungicide Resistance. **Advances in Applied Microbiology**: Elsevier, 2015. vol. 90, p. 29–92. DOI 10.1016/bs.aambs.2014.09.001. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>.

MAANEN, A van; XU, X.-M. Modelling plant disease epidemics. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 109, p. 669–682, 2003. <https://doi.org/10.1023/A>.

MAGNANI, 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**, vol. 32, no. 2, p. 156–160, 2007. DOI 10.1590/S0100-41582007000200011. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582007000200011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt.

MALANDRAKIS, A. A.; APOSTOLIDOU, Z. A.; LOUKA, D.; MARKOGLOU, A.; FLOURI, F. Biological and molecular characterization of field isolates of *Alternaria alternata* with single or double resistance to respiratory complex II and III inhibitors. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 152, no. 1, p. 199–211, 10 Sep. 2018. DOI 10.1007/s10658-018-1463-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10658-018-1463-2>.

MARCHETTI, M. A. The Effects of Temperature and Dew Period on Germination and

Infection by Uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**, vol. 66, no. 4, p. 461, 1976. <https://doi.org/10.1094/Phyto-66-461>.

MARCHETTI, M. A.; UECKER, F. A.; BROMFIELD, K. R. Uredial Development of *Phakopsora pachyrhizi* in Soybeans. **Phytopathology**, vol. 65, no. 7, p. 822, 1975. <https://doi.org/10.1094/Phyto-65-822>.

MAVROEIDI, V. I.; SHAW, M. W. Effects of fungicide dose and mixtures on selection for triazole resistance in *Mycosphaerella graminicola* under field conditions. **Plant Pathology**, vol. 55, no. 6, p. 715–725, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01441.x>.

MCLEAN, R. J.; BYTH, D. E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. **Australian Journal of Agricultural Research**, vol. 31, no. 5, p. 951–956, 1980. DOI 10.1071/AR9800951. Available at: <https://www.publish.csiro.au/ar/ar9800951>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

MELCHING, J. S. Effects of Duration, Frequency, and Temperature of Leaf Wetness Periods on Soybean Rust. **Plant Disease**, vol. 73, no. 2, p. 117, 1989. <https://doi.org/10.1094/PD-73-0117>.

MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K.R.; KINGSOLVER, C.H. Infection, Colonization and Uredospore Production on Wayne Soybean by Four Cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the Cause of Soybean Rust. **Phytopathology**, vol. 69, p. 1262–1265, 1979. <https://doi.org/10.1094/Phyto-69-1262>.

MELLO, F.E.; MATHIONI, S.; FANTIN, L.H.; ROSA, D.; DESJARDINS, R.A.; CHAGAS FILHO, N.; DUVARESCH, D.; CANTERI, M.G. Sensitivity assessment and SDHC-I86F mutation frequency of *Phakopsora pachyrhizi* populations to benzovindiflupyr and fluxapyroxad fungicides from 2015 to 2019 in Brazil **Pest management science**. 2021 (*In press*).

METZ, N.; ADOLF, B.; CHALUPPA, N.; HÜCKELHOVEN, R.; HAUSLADEN, H. Occurrence of sdh Mutations in German *Alternaria solani* Isolates and Potential Impact on Boscalid Sensitivity In Vitro, in the Greenhouse, and in the Field. **Plant disease**, vol. 103, no. 12, p. 3065–3071, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0617-RE>.

MIKABERIDZE, A.; MCDONALD, B. A.; BONHOEFFER, S. Can High-Risk Fungicides be Used in Mixtures Without Selecting for Fungicide Resistance ? **Phytopathology**, vol. 104, no. 1, p. 324–331, 2014. DOI <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0204-R>. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PHYTO-07-13-0204-R>.

MIKABERIDZE, A.; PAVELEY, N.; BONHOEFFER, S.; VAN DEN BOSCH, F. Emergence of Resistance to Fungicides: The Role of Fungicide Dose. **Phytopathology**, vol. 107, no. 5, p. 545–560, May 2017. Available at: http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PHYTO-08-16-0297-R?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&.

MILGROOM, M.G.; FRY, W. E. A Simulation Analysis of the Epidemiological Principles for Fungicide Resistance Management in Pathogen Populations. **Phytopathology**, vol. 78, p. 565–570, 1988. .

MINCHIO, C. A.; CANTERI, M. G.; FANTIN, L.H.; AGUIAR E SILVA, M. A. de.

Epidemias de ferrugem asiática no Rio Grande do Sul explicadas pelo fenômeno ENOS e pela incidência da doença na entressafra. **Summa Phytopathologica**, vol. 42, no. 4, p. 321–326, Dec. 2016. DOI 10.1590/0100-5405/2219. Available at:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0100-54052016000400321&lng=en&nrm=iso&tlng=pt.

MINCHIO, C. A.; FANTIN, L. H.; CAVIGLIONE, J. H.; BRAGA, K.; SILVA, M. A. A.; 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, no. 11, p. 562, 15 Oct. 2018. DOI 10.5539/jas.v10n11p562. Available at:

<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/0/37096>.

MIRCEA, M.; STEFAN, S.; FUZZI, S. Precipitation scavenging coefficient: Influence of measured aerosol and raindrop size distributions. **Atmospheric Environment**, vol. 34, no. 29–30, p. 5161–5167, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(00\)00349-6](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(00)00349-6).

MIYAMOTO, T.; ISHII, H.; TOMITA, Y. Occurrence of boscalid resistance in cucumber powdery mildew in Japan and molecular characterization of the iron–sulfur protein of succinate dehydrogenase of the causal fungus. **Journal of General Plant Pathology**, vol. 76, no. 4, p. 261–267, 6 Aug. 2010. DOI 10.1007/s10327-010-0248-z. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10327-010-0248-z>.

MONTEIL, C. L.; BARDIN, M.; MORRIS, C. E. Features of air masses associated with the deposition of *Pseudomonas syringae* and *Botrytis cinerea* by rain and snowfall. **The ISME Journal**, vol. 8, no. 10, p. 2290–2304, 2014. DOI 10.1038/ismej.2014.55. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2014.55>.

MOREIRA, E. N.; VALE, F. X. R.; PAUL, P. A.; RODRIGUES, F. A.; JESUS JÚNIOR, W. C. Temporal Dynamics of Soybean Rust Associated With Leaf Area Index in Soybean Cultivars of different Maturity Groups. **Plant Disease**, vol. 99, no. 9, p. 1216–1226, Sep. 2015. DOI 10.1094/PDIS-10-14-1029-RE. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-10-14-1029-RE>.

NIKOU, D.; MALANDRAKIS, A.; KONSTANTAKAKI, M.; VONTAS, J.; MARKOGLOU, A.; ZIOGAS, B. Molecular characterization and detection of overexpressed C-14 alpha-demethylase-based DMI resistance in *Cercospora beticola* field isolates. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, vol. 95, no. 1, p. 18–27, Sep. 2009. DOI 10.1016/j.pestbp.2009.04.014. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.04.014>.

NOTTENSTEINER, M.; ABSMEIER, C.; ZELLNER, M. QoI Fungicide Resistance Mutations in *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* are Fully Established in Potato Growing Areas in Bavaria and Dual Resistance against SDHI Fungicides is Upcoming. **Gesunde Pflanzen**, vol. 71, no. 3, p. 155–164, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10343-019-00475-5>.

ONO, Y. Mycological Society of America Taxonomy of the *Phakopsora ampelopsidis* Species Complex on Vitaceous Hosts in Asia Including a New Species, *P. euvitis* Author (s): Yoshitaka Ono Published by : Mycological Society of America Stable URL : <http://www.jstor>. vol. 92, no. 1, p. 154–173, 2000. .

ONO, Y.; BURITICÁ, P.; HENNEN, J. F. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. **Mycological Research**, vol. 96, no. 10, p. 825–850, 1992. DOI 10.1016/S0953-7562(09)81029-0. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953756209810290>.

PARKER, J. E.; WARRILOW, A. G. S.; PRICE, C. L.; MULLINS, J. G. L.; KELLY, D. E.; KELLY, Steven L. Resistance to antifungals that target CYP51. **Journal of Chemical Biology**, vol. 7, no. 4, p. 143–161, 27 Oct. 2014. DOI 10.1007/s12154-014-0121-1. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12154-014-0121-1>.

PEARCE, T. L.; WILSON, C. R.; GENT, D. H.; SCOTT, J. B. Multiple mutations across the succinate dehydrogenase gene complex are associated with boscalid resistance in *Didymella tanacetii* in pyrethrum. **PLOS ONE**, vol. 14, no. 6, p. e0218569, 20 Jun. 2019. DOI 10.1371/journal.pone.0218569. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0218569>.

PEREIRA, D. A.S.; MCDONALD, B. A.; BRUNNER, P. C. Mutations in the *CYP51* gene reduce DMI sensitivity in *Parastagonospora nodorum* populations in Europe and China. **Pest Management Science**, vol. 73, no. 7, p. 1503–1510, 1 Jul. 2017. DOI 10.1002/ps.4486. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4486>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

PIVONIA, S.; YANG, X. B.; PAN, Z. Assessment of Epidemic Potential of Soybean Rust in the United States. **Plant Disease**, vol. 89, no. 6, p. 678–682, 2005. DOI 10.1094/PD-89-0678. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PD-89-0678> <http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PD-89-0678>.

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**, vol. 119, no. 2, p. 271–280, 26 Jul. 2009. DOI 10.1007/s00122-009-1036-z. Available at: <http://soybase.org/resources/ssr.php>. Accessed on: 14 Mar. 2021.

REHFUS, A.; MATUSINSKY, P.; STROBEL, D.; BRYSON, R.; STAMMLER, G. Mutations in target genes of succinate dehydrogenase inhibitors and demethylation inhibitors in *Ramularia collo-cygni* in Europe. **Journal of Plant Diseases and Protection**, vol. 126, no. 5, p. 447–459, 11 Oct. 2019. DOI 10.1007/s41348-019-00246-4. Available at: <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00246-4>.

REIS, E. M.; ZANATTA, M.; FORCELINI, C. A. Addition of mancozeb to the fungicide mixtures DMI + QoI and SDHI + QoI on the control of wheat leaf blights. **Summa Phytopathologica**, vol. 45, no. 1, p. 23–27, Mar. 2019. DOI 10.1590/0100-5405/179192. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052019000100023&lng=en&tlng=en.

RODRIGUES, R.A.; PEDRINI, J.E.; FRAISSE, C.W.; FERNANDES, J.M.C.; JUSTINO, F.B.; HEINEMANN, A.B.; COSTA, L.C.; VALE, F.X.R. Utilization of the cropgro-soybean model to estimate yield loss caused by Asian rust in cultivars with different cycle. **Bragantia**, vol. 71, no. 2, p. 308–317, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012000200021>.

SANATKAR, M R; SCOGLIO, C; NATARAJAN, B; ISARD, S a; GARRETT, K a. History, Epidemic Evolution, and Model Burn-In for a Network of Annual Invasion: Soybean Rust. **Phytopathology**, vol. 105, no. 7, p. 947–55, 2015. DOI 10.1094/PHYTO-12-14-0353-FI.

Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26171986>.

SCALLIET, G.; BOWLER, J.; LUKSCH, T.; KIRCHHOFER-ALLAN, L.; STEINHAEUER, D.; WARD, K.; NIKLAUS, M.; VERRAS, A.; CSUKAI, M.; DAINA, A.; FONNÉ-PFISTER, R.. Mutagenesis and Functional Studies with Succinate Dehydrogenase Inhibitors in the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. **PLoS ONE**, vol. 7, no. 4, p. e35429, 19 Apr. 2012. DOI 10.1371/journal.pone.0035429. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035429>.

SCHERM, H.; CHRISTIANO, R. S C; ESKER, P. D.; DEL PONTE, E. M.; GODOY, C. V. Quantitative review of fungicide efficacy trials for managing soybean rust in Brazil. **Crop Protection**, vol. 28, no. 9, p. 774–782, 2009. DOI 10.1016/j.cropro.2009.05.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2009.05.006>.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C.A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G.. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidoreductase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, vol. 70, no. 3, p. 378–388, Mar. 2014. DOI 10.1002/ps.3562. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.3562>.

SEGARRA, J; JEGER, M J; VAN DEN BOSCH, F. Epidemic Dynamics and Patterns of Plant Diseases. **Phytopathology**, vol. 91, no. 10, p. 1001–1010, 2001. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.10.1001>.

SHIMA, Y.; ITO, Y.; KANEKO, S.; HATABAYASHI, H.; WATANABE, Y.; ADACHI, Y.; YABE, K. Identification of three mutant loci conferring carboxin-resistance and development of a novel transformation system in *Aspergillus oryzae*. **Fungal Genetics and Biology**, vol. 46, no. 1, p. 67–76, Jan. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2008.10.005>.

SIEROTZKI, H.; SCALLIET, G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. **Phytopathology**, vol. 103, no. 9, p. 880–887, 2013. DOI 10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23593940>.

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**, vol. 125, no. 1, p. 21–26, 18 Feb. 2018. DOI 10.1007/s41348-017-0117-5. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s41348-017-0117-5>.

STAMMLER, G.; CORDERO, J.; KOCH, A.; SEMAR, M.; SCHLEHUBER, S. Role of the Y134F mutation in *cyp51* and overexpression of *cyp51* in the sensitivity response of *Puccinia triticina* to epoxiconazole. **Crop Protection**, vol. 28, no. 10, p. 891–897, 2009. DOI 10.1016/j.cropro.2009.05.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2009.05.007>.

STAMMLER, G; WOLF, A; GLAETTLI, A; KLAPPACH, K. Respiration Inhibitors: Complex II. In: ISHII, H; HOLLOMON, D (eds.). **Fungicide Resistance in Plant Pathogens: Principles and a Guide to Practical Management**. Springer Japan, 2015. p. 105–117.

STANDISH, J; TOMASO-PETERSON, M; ALLEN, T; SABANADZOVIC, S; GHANEM-SABANADZOVIC, N A. Occurrence of QoI fungicide resistance in *Cercospora sojina* from Mississippi soybean. **Plant Disease**, no. November, p. doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0157-RE, 2015. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0157-RE>.

TENG, P S. A comparison of simulation approaches to epidemic modeling. **Annual review of phytopathology**, vol. 23, no. 14270, p. 351–379, 1985. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.002031>.

TERAMOTO, A.; MEYER, M. C.; SUASSUNA, N. D.; CUNHA, M. G. da. In vitro sensitivity of *Corynespora cassiicola* isolated from soybean to fungicides and field chemical control of target spot. **Summa Phytopathologica**, vol. 43, no. 4, p. 281–289, Dec. 2017. DOI 10.1590/0100-5405/2195. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052017000400281&lng=en&tlng=en.

TOFFOLATTI, S. L.; RUSSO, G.; BEZZA, D.; BIANCO, P. A.; MASSI, F.; MARCIANÒ, D.; MADDALENA, G. Characterization of fungicide sensitivity profiles of *Botrytis cinerea* populations sampled in Lombardy (Northern Italy) and implications for resistance management. **Pest Management Science**, vol. 17, no. 3, p. ps.5757, 21 Jan. 2020. DOI 10.1002/ps.5757. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/1744-1633.12020>.

TOFFOLATTI, S. L.; PRANDATO, M.; SERRATI, L.; SIEROTZKI, H.; GISI, U.; VERCESI, A. Evolution of QoI resistance in *Plasmopara viticola* oospores. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 129, no. 2, p. 331–338, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9677-y>.

TWIZEYIMANA, M.; HARTMAN, G. L. on Detached Leaves and Urediniospore Survival at Different Temperatures and Relative Humidities. **Plant Disease**, vol. 94, no. 12, p. 1453–1460, 2010. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-10-0131>.

VAN DEN BERG, F.; PAVELEY, N. D.; VAN DEN BOSCH, F. Dose and number of applications that maximize fungicide effective life exemplified by *Zymoseptoria tritici* on wheat? A model analysis. **Plant Pathology**, vol. 65, no. 8, p. 1380–1389, 2016a. <https://doi.org/10.1111/ppa.12558>.

VAN DEN BERG, F.; PAVELEY, N. D.; VAN DEN BOSCH, F. Dose and number of applications that maximize fungicide effective life exemplified by *Zymoseptoria tritici* on wheat - a model analysis. **Plant Pathology**, vol. 65, no. 8, p. 1380–1389, Oct. 2016b. DOI 10.1111/ppa.12558. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ppa.12558>.

VAN DEN BOSCH, F.; PAVELEY, N.; SHAW, M.; HOBBELEN, P.; OLIVER, R. The dose rate debate: Does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose? **Plant Pathology**, vol. 60, no. 4, p. 597–606, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02439.x>.

VAN DEN BOSCH, F.; OLIVER, R.; VAN DEN BERG, F.; PAVELEY, N. Governing Principles Can Guide Fungicide-Resistance Management Tactics. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 52, no. 1, p. 175–195, 4 Aug. 2014. DOI 10.1146/annurev-phyto-102313-050158. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-phyto-102313-050158>.

VAN DEN BOSCH, F.; PAVELEY, N.; VAN DEN BERG, F.; HOBBELEN, P.; OLIVER, R. Mixtures as a fungicide resistance management tactic. **Phytopathology**, vol. 104, no. 12, p. 1264–73, 2014. DOI 10.1094/PHYTO-04-14-0121-RVW. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25140387>.

VELOUKAS, T.; BARDAS, G. A.; KARAOGLANIDIS, G. S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Management of tomato leaf mould caused by *Cladosporium fulvum* with trifloxystrobin. **Crop Protection**, vol. 26, no. 6, p. 845–851, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.08.005>.

VELOUKAS, T.; MARKOGLU, A. N.; KARAOGLANIDIS, G. S. Differential Effect of Sdh B Gene Mutations on the Sensitivity to SDHI Fungicides in *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, vol. 97, no. 1, p. 118–122, Jan. 2013. DOI 10.1094/PDIS-03-12-0322-RE. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-03-12-0322-RE>.

WAGGONER, P.E; HORSFALL, James. G. **EPIDEM - A simulator of plant disease written for a computer**. New Haven: Bulletin of the connecticut agricultural experiment station, New Haven. N. 689. April 1969, 1969. Available at: <http://www.ct.gov/caes/lib/caes/documents/publications/bulletins/b698.pdf>.

WALLACH, D.; MAKOWSKI, D.; JONES, J. W.; BRUN, F. Basics of Agricultural System Models. **Working with Dynamic Crop Models**. Elsevier, 2019a. p. 3–43. DOI 10.1016/B978-0-12-811756-9.00001-0. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128117569000010>. Accessed on: 6 Aug. 2020.

WALLACH, D.; MAKOWSKI, D.; JONES, J. W.; BRUN, F. Simulation With Dynamic System Models. **Working with Dynamic Crop Models**. Elsevier, 2019b. p. 97–136. DOI 10.1016/B978-0-12-811756-9.00003-4. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128117569000034>. Accessed on: 7 Aug. 2020.

WANG, H. C; ZHOU, M.; WANG, J.; CHEN, C.; LI, H.; SUN, H. Biological Mode of Action of Dimethomorph on *Pseudoperonospora cubensis* and Its Systemic Activity in Cucumber. **Agricultural Sciences in China**, vol. 8, no. 2, p. 172–181, 2009. DOI 10.1016/S1671-2927(09)60025-0. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60025-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60025-0).

WANG, Y.; DUAN, Y.-B.; ZHOU, M.-G. Molecular and biochemical characterization of boscalid resistance in laboratory mutants of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Pathology**, vol. 64, no. 1, p. 101–108, Feb. 2015. DOI 10.1111/ppa.12246. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/ppa.12246>.

WANG, Y; DUAN, Y; WANG, J; ZHOU, M. A new point mutation in the iron-sulfur subunit of succinate dehydrogenase confers resistance to boscalid in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Molecular Plant Pathology**, vol. 16, no. 7, p. 653–661, Sep. 2015. DOI 10.1111/mpp.12222. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/mpp.12222>.

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; GAI, J.; PLOPER, L. D.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean Disease Loss Estimates for the Top 10 Soybean Producing Countries in 1994. **Plant Disease**, vol. 81, no. 1, p. 107–110, 1997. DOI 10.1094/PDIS.1997.81.1.107. Available at: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS.1997.81.1.107>.

XAVIER, S. A.; KOGA, L. J.; CRISTINA, D.; BARROS, M.; CANTERI, M. G.; LOPES, De O. N.; GODOY, C. V. Sensitivity variation of *Phakopsora pachyrhizi* populations to

demethylation inhibitor fungicides in Brazil. **Summa Phytopathologica**, vol. 41, no. 3, p. 191–196, 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2068>.

XAVIER, S. A.; MARTINS, D. C.; FANTIN, L. H.; CANTERI, M. G. Older leaf tissues in younger plants are more susceptible to soybean rust. **Acta Scientiarum. Agronomy**, vol. 39, no. 1, p. 17, 2017. DOI 10.4025/actasciagron.v39i1.30638. Available at: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/30638>.

XU, X M; RIDOUT, M S. Effects of initial epidemic conditions, sporulation rate, and spore dispersal gradient on the spatio-temporal dynamics of plant disease epidemics. **Phytopathology**, vol. 88, no. 10, p. 1000–1012, 1998. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.10.1000>.

YANG, X B; DOWLER, W M; TSCHANZ, A T. A simulation-model for assessing soybean rust epidemics. **J Phytopathol**, vol. 133, no. 3, p. 187–200, 1991. .

YANG, X.; GUO, T. Machine learning in plant disease research. **European Journal of BioMedical Research**, vol. 3, no. 8, p. 8–11, 2017. <https://doi.org/10.18088/ejbmr.3.1.2016.pp6-9>.

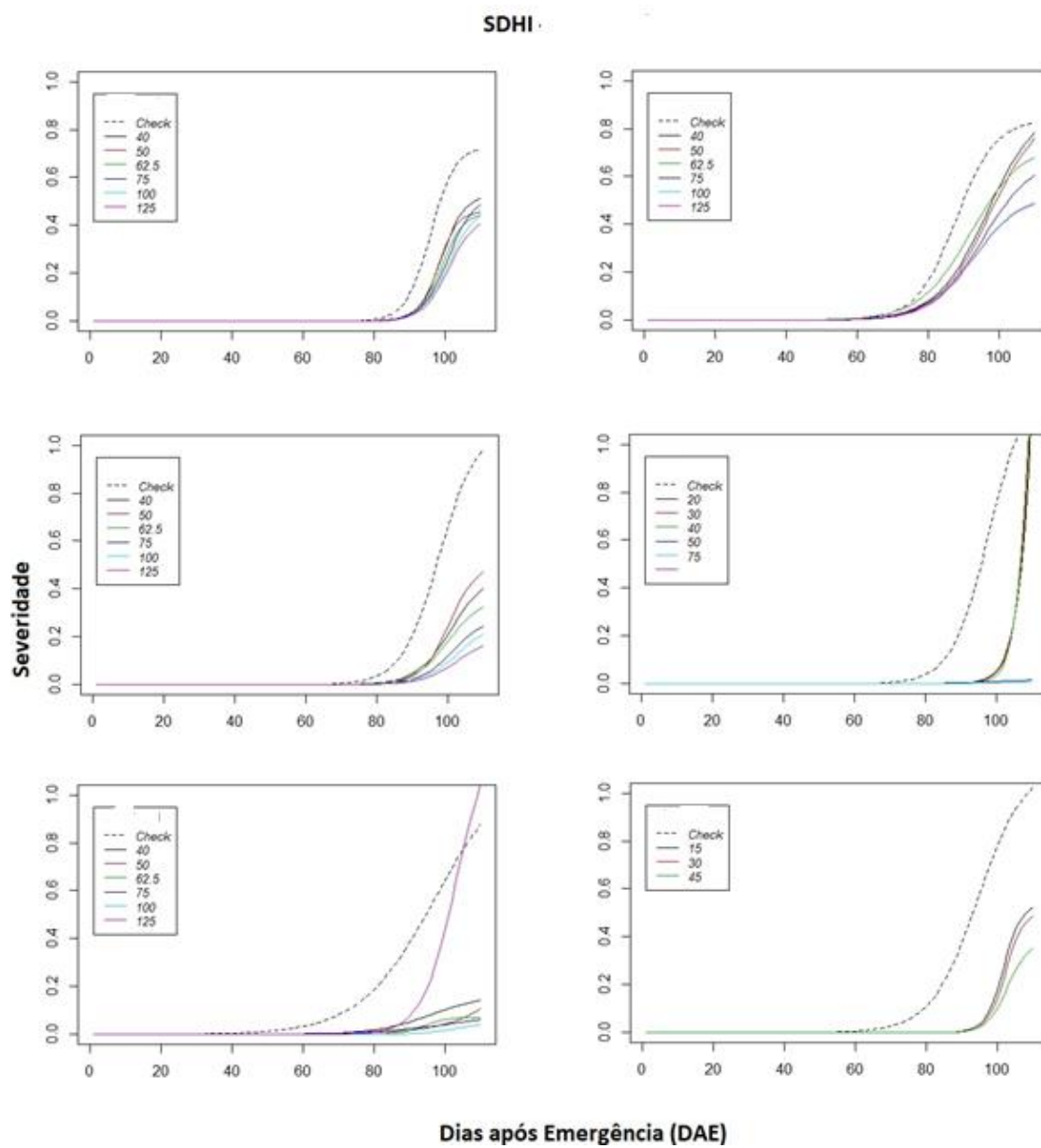
YEH, C C; SINCLAIR, J B; TSCHANZ, A T. Induced Teliospore Formation By *Phakopsora-Pachyrhizi* (Soybean, Rust) on 10 Hosts. **Phytopathology**, vol. 71, no. 8, p. 914, 1981. DOI 10.1094/Phyto-71-1111. Available at: https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1981Articles/Phyto71n10_1111.PDF.

YORINORI, J T; PAIVA, W M; FREDERICK, R D; COSTAMILAN, L M; BERTAGNOLLI, P F; HARTMAN, G E; GODOY, C. V.; NUNES, J. Epidemics of Soybean Rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. **Plant Disease**, vol. 89, no. 6, p. 675–677, 2005. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0675>.

ZHAO, C.; ZHANG, X.; HUA, H.; HAN, C.; WU, X. Sensitivity of *Rhizoctonia* spp. to flutolanil and characterization of the point mutation in succinate dehydrogenase conferring fungicide resistance. **European Journal of Plant Pathology**, vol. 155, no. 1, p. 13–23, 17 Sep. 2019. DOI 10.1007/s10658-019-01739-6. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10658-019-01739-6>.

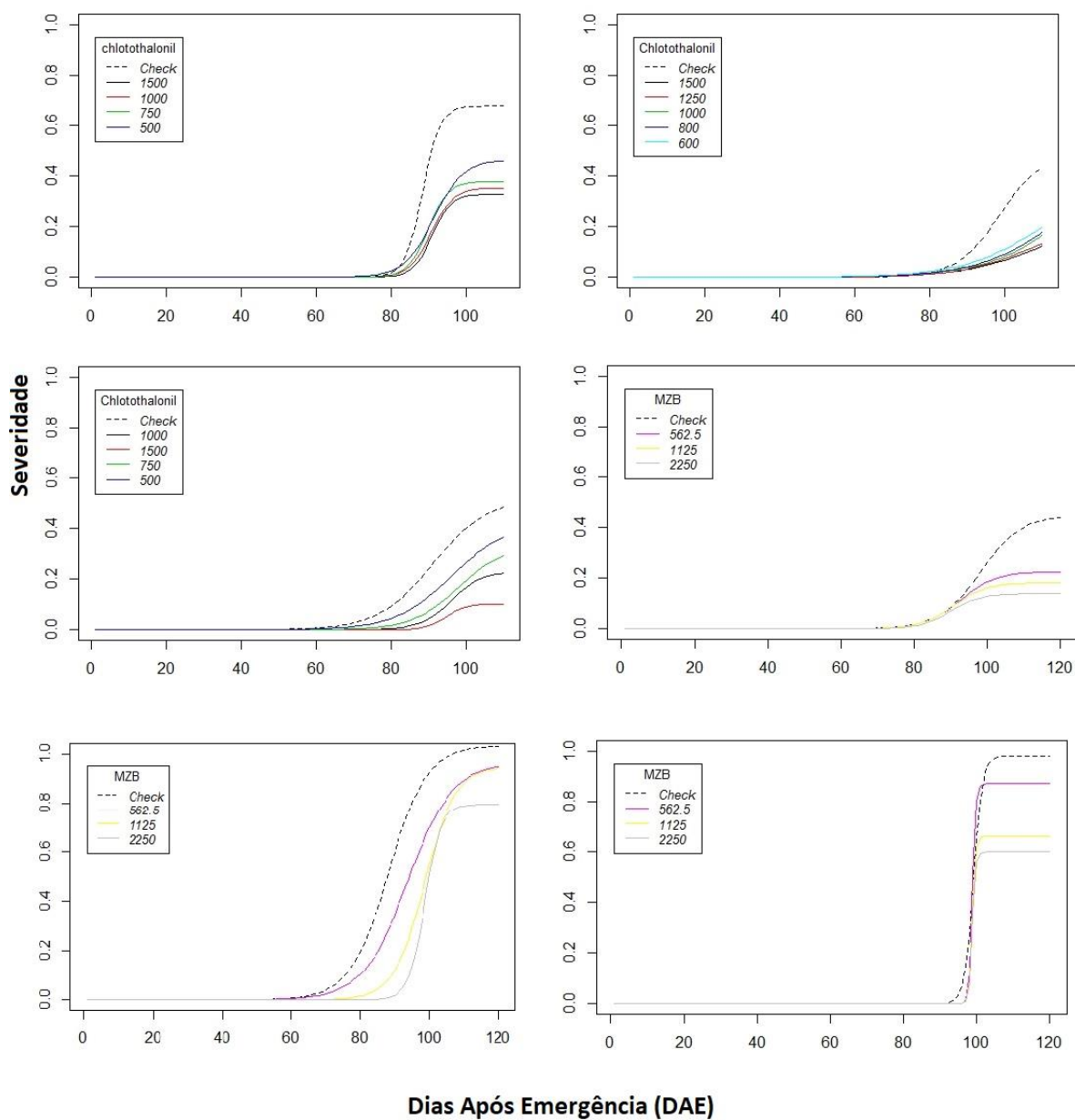
ZHU, F.; SHI, Y.; XIE, X.; CHAI, A.; LI, B. Occurrence, distribution, and characteristics of boscalid-resistant *Corynespora cassiicola* in China. **Plant Disease**, vol. 103, no. 1, p. 69–76, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-17-1760-RE>.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Ajuste das curvas de acordo com dados de campo (SDHI).

APÊNDICE B - Ajuste das curvas de acordo com dados de campo (multissítios).

MULTISSÍTIOS - Chlorothalonil e Mancozeb



APÊNDICE C – Dados preditos e observados.

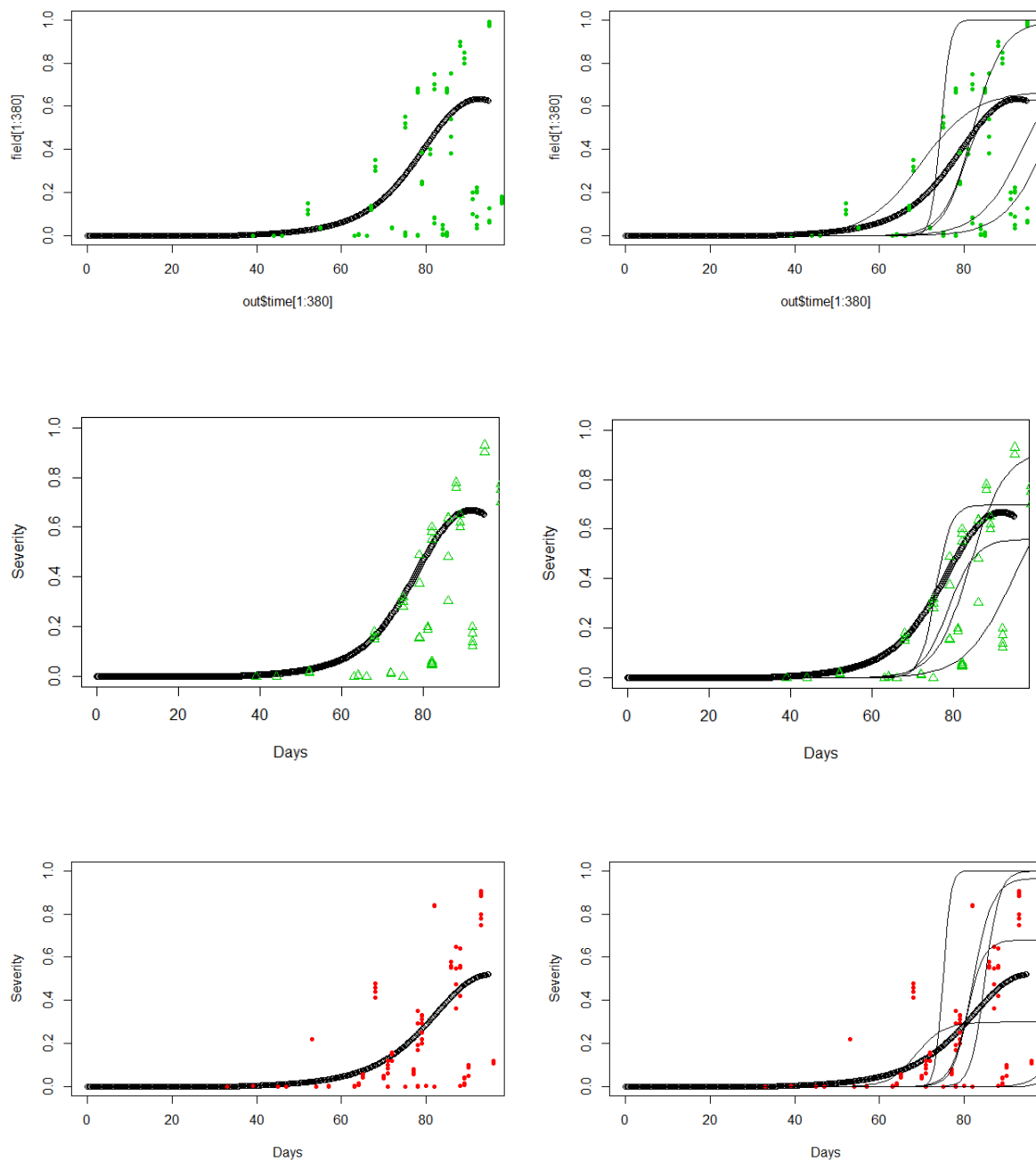


Figura 1. Severidade da doença (triângulos e pontos) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). A direita severidade estimada (triângulos e pontos), curvas ajustadas individualmente (linhas finas) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). O eixo Y é a proporção da área infectada e o eixo x é o tempo (dias).

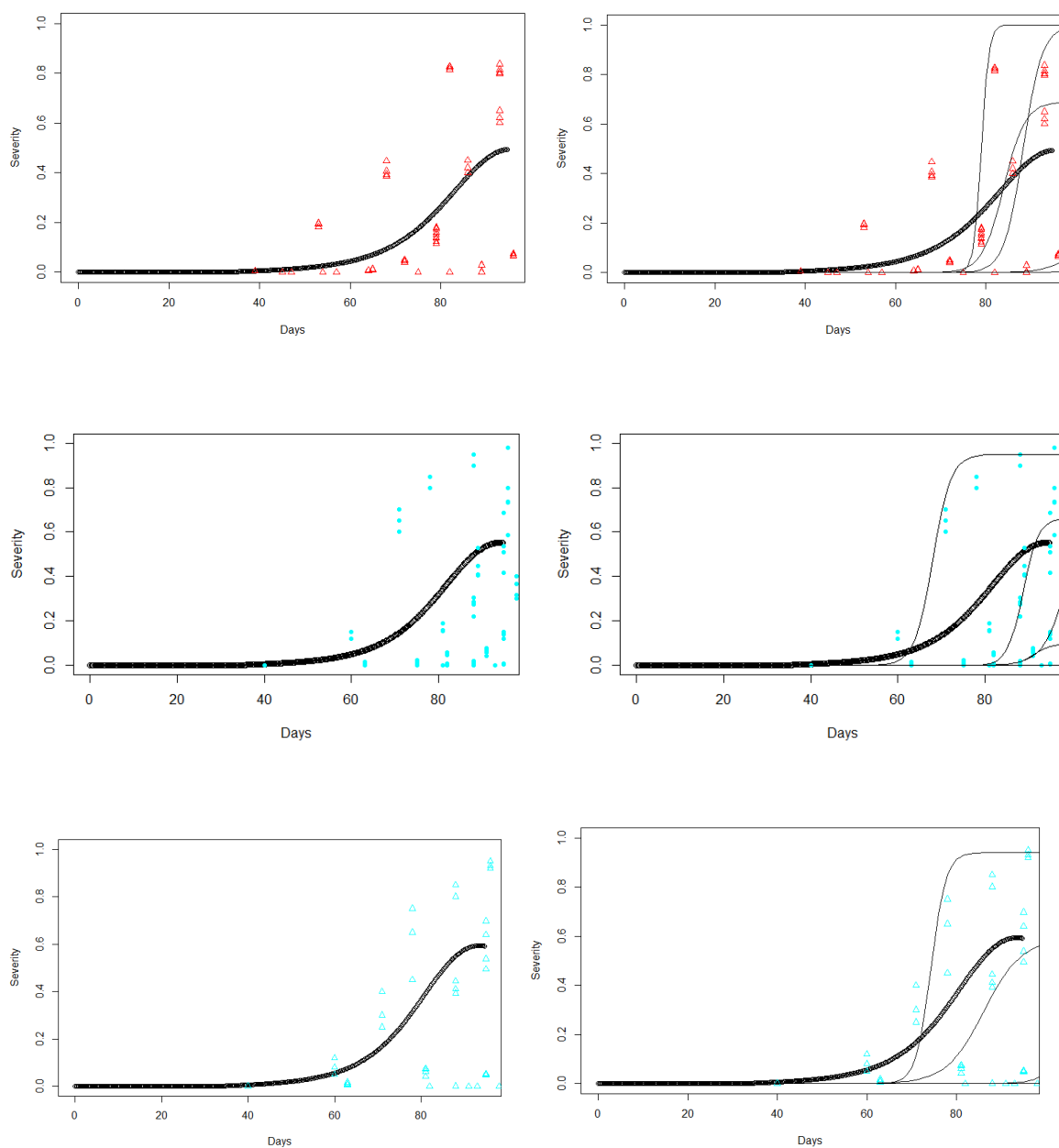


Figure 2. Severidade da doença (triângulos e pontos) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). A direita severidade estimada (triângulos e pontos), curvas ajustadas individualmente (linhas finas) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). O eixo Y é a proporção da área infectada e o eixo x é o tempo (dias).

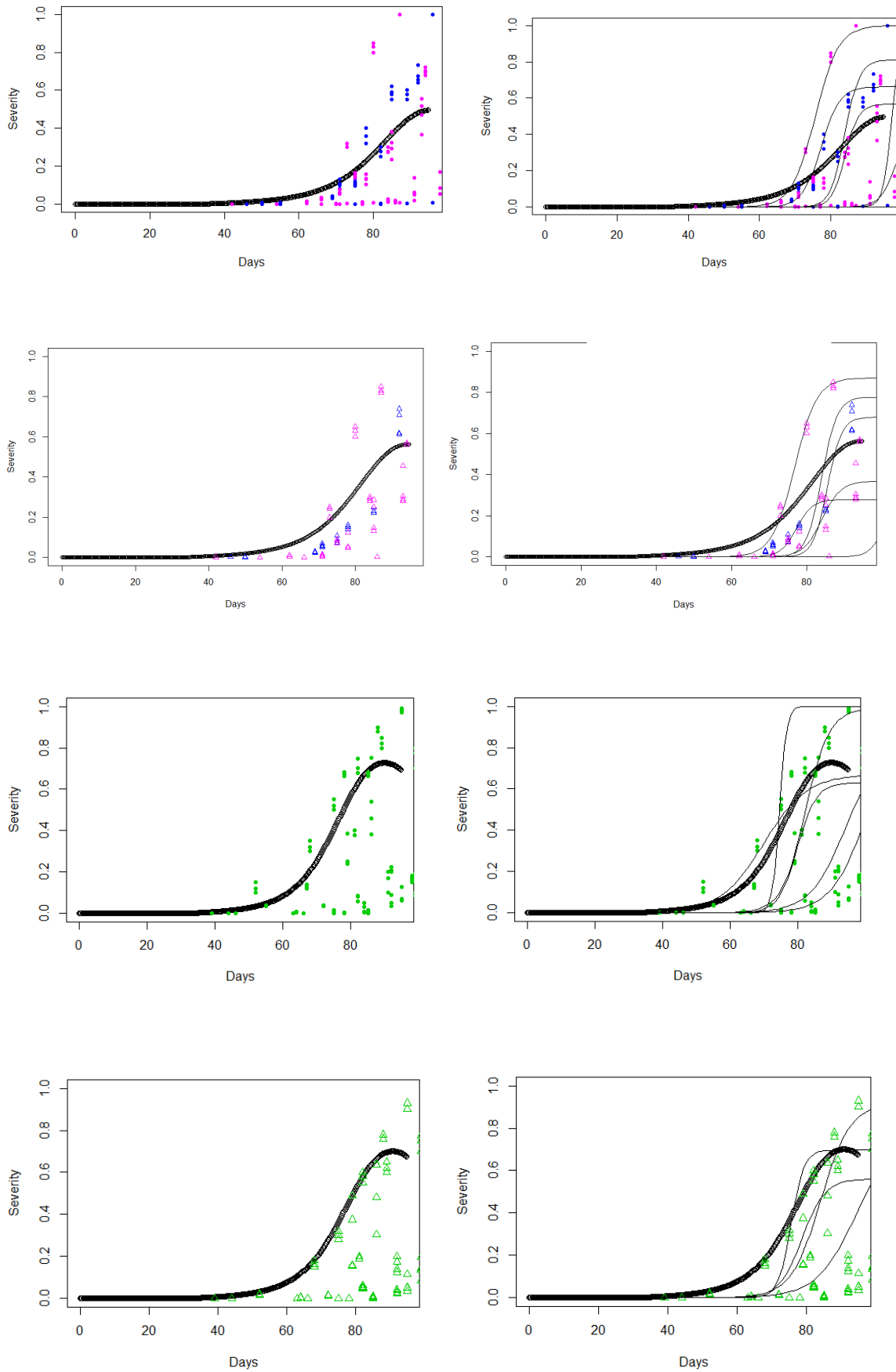
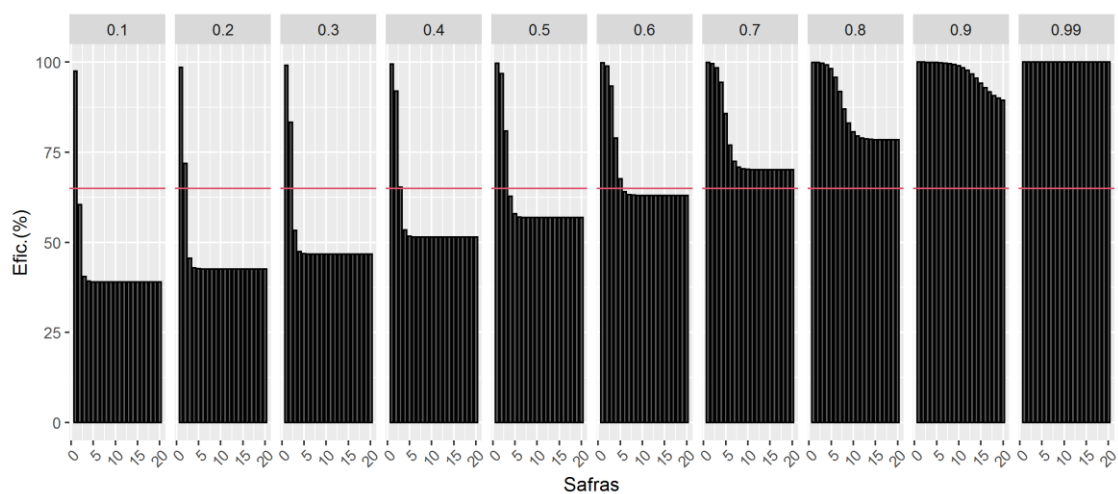
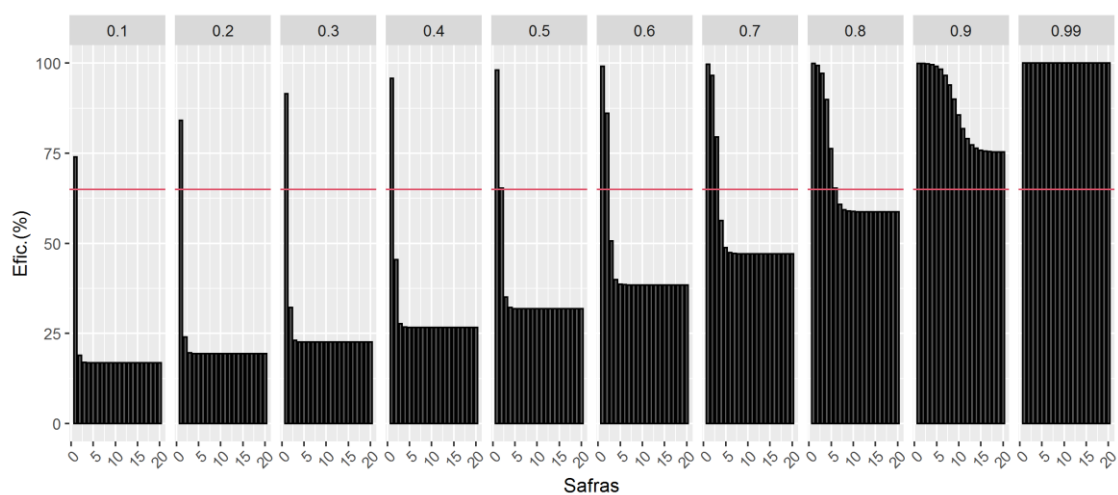
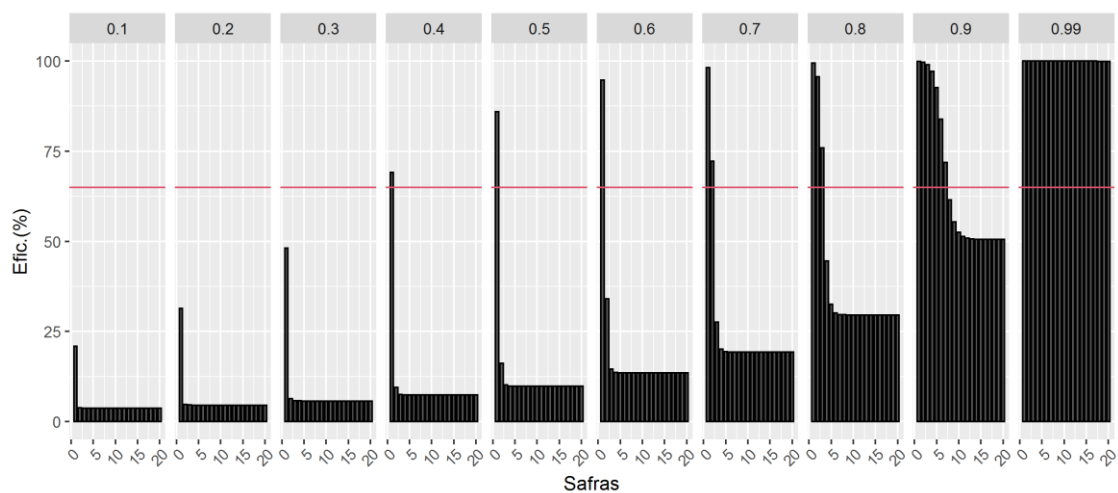


Figura 3. Severidade da doença (triângulos e pontos) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). A direta severidade estimada (triângulos e pontos), curvas ajustadas individualmente (linhas finas) e curva estimada pelo modelo (linha grossa). O eixo Y é a proporção da área infectada e o eixo x é o tempo (dias). Taxa aparente de infecção obtida através da mediana.

Eficiência de controle de programas com aplicações de SDHI aos 40 e 55 DAE em diferentes doses (200,100 e 50)



Eficiência de controle de programas com aplicacoes de SDHI aos 40, 55 e 70 DAE em diferentes doses (200,100 e 50)

