

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**AMANDA REGINA ACERBI**

**DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA PARA DETERMINAÇÃO  
QUANTITATIVA POR qPCR DA MUTAÇÃO I86F NO GENE *sdhC*  
ASSOCIADA À RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS SDHI NO FUNGO DA  
FERRUGEM DA SOJA**

**AMANDA REGINA ACERBI**

**DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMA PARA DETERMINAÇÃO  
QUANTITATIVA POR qPCR DA MUTAÇÃO I86F NO GENE *sdhC*  
ASSOCIADA À RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS SDHI NO FUNGO DA  
FERRUGEM DA SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de  
Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira,  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de  
Mesquita Filho”, como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Cezar  
Ceresini

Ilha Solteira - SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

Acerbi, Amanda Regina.

A173d      Desenvolvimento de plataforma para determinação quantitativa por qPCR da mutação I86F no gene *sdhC* associada à resistência a fungicidas SDHI no fungo da ferrugem da soja / Amanda Regina Acerbi. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025  
34 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) -  
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2025

Orientador: Paulo Cezar Ceresini

Inclui bibliografia

1. Ferrugem asiática da soja. 2. Fungicida SDHI. 3. Mutação I86F.

Elaborada por Raiane da Silva Santos - CRB-8/9999

## ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

### **Desenvolvimento de plataforma para determinação quantitativa por qPCR da mutação I86F no gene sdhC associada à resistência a fungicidas SDHI no fungo da ferrugem da soja**

Amanda Regina Acerbi

#### REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

- ARTIGO 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máximo de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo, o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.
- ARTIGO 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO ou REPROVADO.

#### COMISSÃO EXAMINADORA

1º EXAMINADOR (Orientador-Presidente)

Nome: Paulo Cezar Ceresini

Documento assinado digitalmente  
**PAULO CEZAR CERESINI**  
Data: 18/12/2025 13:27:52-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

2º EXAMINADOR

Nome: Rita Luiza Peruquetti

Documento assinado digitalmente  
**RITA LUIZA PERUQUETTI**  
Data: 18/12/2025 13:13:35-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

3º EXAMINADOR

Nome: Karine Assis Costa

Documento assinado digitalmente  
**KARINE ASSIS COSTA**  
Data: 18/12/2025 12:25:57-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

#### CONCEITO

( X ) APROVADO

( ) REPROVADO

Ilha Solteira - SP, 16 de dezembro de 2025.

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Cursos: Ciências Biológicas, Eng. Agrônômica, Eng. Civil, Eng. Elétrica, Eng. Mecânica, Física, Matemática e Zootecnia.  
Avenida Brasil Centro, 56 CEP 15385-000 Ilha Solteira São Paulo

Dedico este trabalho à minha querida mãe, pelo amor, apoio e compreensão que sempre me ofereceu ao longo desta jornada. Sem você, esta conquista não teria sido possível.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia - Câmpus de Ilha Solteira, expresso minha profunda gratidão por ter sido o pilar essencial da minha formação acadêmica. Agradeço pela oportunidade de adquirir conhecimentos valiosos que enriqueceram meu entendimento e aprimoraram minhas habilidades ao longo do curso.

Manifesto minha sincera gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini, não apenas por seu notável exemplo de excelência profissional, mas também pela orientação dedicada e generosa. Sua atenção foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, bem como para minha formação pessoal e profissional.

Estendo meus agradecimentos à Dra. Loane Dantas Krug, com quem tive o privilégio de conviver, trabalhar e aprender ao longo deste estudo. Uma profissional talentosa, gentil e inspiradora. Sou imensamente grata por sua ajuda e pelas orientações recebidas.

À minha família, registro minha gratidão mais profunda, pelo apoio incondicional, incentivo constante e por sempre batalharem para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Aos meus amigos, colegas de curso e de laboratório, agradeço pela companhia, pela troca de experiências e pelos momentos compartilhados ao longo desta jornada acadêmica. Vocês tornaram essa caminhada mais significativa e memorável.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), agradeço pela concessão da bolsa de iniciação científica que viabilizou minha pesquisa e estudos. Esse apoio foi imprescindível para a realização deste projeto.

Agradeço também aos meus professores da graduação pela dedicação e por compartilharem conhecimentos fundamentais para minha formação. E por fim, ao grupo de teatro e ao grupo de teclado, meu muito obrigada por tornarem meus dias mais leves, alegres e enriquecedores.

“O homem é parte da natureza e a sua guerra contra a natureza é, inevitavelmente, uma guerra contra si mesmo” (Rachel Carson).

## RESUMO

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* (Pp), representa uma ameaça significativa para a cultura da soja no Brasil. Sob condições climáticas favoráveis, essa doença pode resultar em perdas de rendimento de até 90% em variedades suscetíveis, a menos que sejam tratadas com fungicidas. Por muitos anos, o manejo da FAS concentrou-se na aplicação extensiva e preventiva de fungicidas químicos sistêmicos que atuavam em um único local, o que aumentava o risco de resistência. Isso ocorreu principalmente devido à falta de variedades resistentes. Entretanto, a resistência a fungicidas sistêmicos, como inibidores da quinona oxidase (Qols) e inibidores da desmetilação (DMIs), tornou-se crescente. Essa resistência, inclusive às misturas desses fungicidas, reduziu drasticamente sua eficácia nas últimas décadas, levando a perdas significativas na produção de soja. A partir de 2013, foram introduzidos no mercado fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI), também sítio-específicos, como uma alternativa no controle da FAS. No entanto, foram identificados isolados de Pp com uma mutação genética no gene *sdhC* que conferia resistência aos fungicidas SDHI. Pesquisas subsequentes indicaram que a resistência aos SDHI se tornou comum em todo o país. O presente estudo teve como objetivo desenvolver uma plataforma de detecção da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi* por PCR quantitativo em tempo real (qPCR-TR). Essa abordagem permitirá avaliar a frequência e distribuição da resistência aos fungicidas SDHI em amostras do patógeno coletadas em diferentes regiões do Brasil, sem a necessidade de fenotipagem laboriosa in vivo. Este trabalho é crucial para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes da FAS e para a preservação da eficácia dos fungicidas na agricultura brasileira. Concluímos que o método de qPCR foi eficiente para detecção de mutações no gene *sdhC* em populações de *P. pachyrhizi*, e observamos a prevalência da mutação 86F para resistência a SDHIs em 12 das 18 amostragens populacionais no país.

**Palavras-chave:** Ferrugem Asiática da Soja, *Phakopsora pachyrhizi*, Resistência a Fungicidas, Mutação I86F, PCR Quantitativo em Tempo Real (qPCR-TR).

## ABSTRACT

Asian Soybean Rust (ASR), caused by the fungus *Phakopsora pachyrhizi* (Pp), represents a significant threat to soybean cultivation in Brazil. Under favorable climatic conditions, this disease can result in yield losses of up to 90% in susceptible varieties, unless treated with fungicides. For many years, ASR management focused on the extensive and preventive application of systemic chemical fungicides acting at a single site, which increased the risk of resistance. This was mainly due to the lack of resistant varieties. However, resistance to systemic fungicides, such as quinone outside inhibitors (QoIs) and demethylation inhibitors (DMIs), has been increasing. This resistance, including to mixtures of these fungicides, has drastically reduced their efficacy in recent decades, leading to significant soybean production losses. Since 2013, succinate dehydrogenase inhibitors (SDHIs), also site-specific fungicides, have been introduced as an alternative for ASR control. However, Pp isolates carrying a genetic mutation in the *sdhC* gene, conferring resistance to SDHI fungicides, have been identified. Subsequent research indicated that SDHI resistance has become widespread across the country. The present study aimed to develop a platform for detecting the I86F mutation in *Phakopsora pachyrhizi* populations using real-time quantitative PCR (qPCR-RT). This approach will allow the assessment of the frequency and distribution of SDHI fungicide resistance in pathogen samples collected from different regions of Brazil, without the need for labor-intensive *in vivo* phenotyping. This work is crucial for developing more effective ASR management strategies and for preserving the efficacy of fungicides in Brazilian agriculture. We concluded that the qPCR method was effective for detecting mutations in the *sdhC* gene in *P. pachyrhizi* populations, and we observed the prevalence of the 86F mutation conferring SDHI resistance in 12 out of 18 population samples in the country.

**Keywords:** Asian Soybean Rust, *Phakopsora pachyrhizi*, Fungicide Resistance, I86F Mutation, Quantitative Real-Time PCR (RT qPCR).

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Prevalência da substituição SdhC I86F associada à resistência a fungicidas SDHI em populações do patógeno <i>Phakopsora pachyrhizi</i> amostradas em 18 locais em seis estados brasileiros na safra 2019..... | 26 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Primers para amplificação por PCR do gene parcial <i>SdhC</i> de <i>Pp</i> utilizados para a curva padrão RT qPCR1 .....                                                         | 21 |
| Tabela 2 - Primers e sonda utilizados para detecção quantitativa por PCR em tempo real e quantificação da substituição I86F em amostras populacionais de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> ..... | 22 |

## SUMÁRIO

|          |                                                                    |           |
|----------|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                            | <b>13</b> |
| <b>2</b> | <b>DESENVOLVIMENTO .....</b>                                       | <b>17</b> |
| 2.1      | PROPOSIÇÃO.....                                                    | 17        |
| 2.2      | REFERENCIAL TEÓRICO .....                                          | 17        |
| 2.2.1    | Importância e impacto econômico da ferrugem asiática da soja ..... | 17        |
| 2.2.2    | Biologia e ciclo de vida do <i>Phakopsora pachyrhizi</i> .....     | 17        |
| 2.2.3    | Defesa da soja e mecanismos de resistência.....                    | 18        |
| 2.2.4    | Estratégias de manejo químico e biotecnológico .....               | 18        |
| 2.2.5    | Novas tecnologias e abordagens sustentáveis .....                  | 19        |
| 2.3      | MATERIAIS E MÉTODOS .....                                          | 19        |
| 2.4      | RESULTADO E DISCUSSÃO .....                                        | 23        |
| 2.4.1    | Contextualização dos dados e abordagem populacional .....          | 23        |
| 2.4.2    | Distribuição da mutação SdhC I86F por estado .....                 | 24        |
| 2.4.3    | Síntese espacial e interpretação .....                             | 25        |
| 2.4.4    | Discussão .....                                                    | 27        |
| <b>3</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                              | <b>29</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                           | <b>30</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo basidiomiceto *Phakopsora pachyrhizi*, é atualmente uma das principais doenças que afetam a cultura da soja, estando presente em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil (GODOY et al., 2016). Fungos basidiomicetos são microrganismos que produzem esporos em estruturas chamadas basídios, responsáveis pela reprodução do fungo, e estão associados a diversas doenças em plantas. O fungo foi originalmente identificado como *Uredo sojae* no Japão, em 1902, e foi detectado em toda a Ásia tropical e subtropical, além da Oceania, no início do século XX (BROMFIELD, 1984). A doença fez sua primeira aparição na África por volta de meados da década de 1990 (PRETORIUS et al., 2001) e, em 2001, foi registrada no Paraguai e no oeste do Paraná, Brasil, espalhando-se por toda a América do Sul em um período de três anos (ROSSI, 2003; YORINORI et al., 2005).

A soja (*Glycine max*) destaca-se como uma das culturas mais relevantes no agronegócio brasileiro, sendo líder na produção e exportação. O crescimento acelerado da soja no Brasil teve início significativo nos anos 1970 (CATTELAN; DALL'AGNOL, 2018). Atualmente, o país é o maior produtor mundial, com produção de 167,87 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2025). A adoção do Sistema de Plantio Direto, que consiste em cultivar sem revolver o solo, demonstrou benefícios significativos, aumentando a produtividade em 30% em comparação ao sistema convencional, além de reduzir a erosão e melhorar a qualidade do solo (EMBRAPA SOJA, 2019).

Os sintomas iniciais da FAS incluem pequenas lesões foliares com coloração castanha a marrom-escura, acompanhadas de urédias na face inferior das folhas. As urédias são estruturas que liberam uredósporos, os esporos responsáveis pela produção e disseminação do fungo (HARTMAN et al., 2015). Essas lesões podem causar desfolha precoce, resultando em grãos incompletos e, em casos graves, reduzir a produtividade em cerca de 80 a 90%, dependendo da suscetibilidade da variedade e das condições climáticas (GODOY et al., 2016). A umidade constante das folhas, causada por orvalho ou chuva, favorece o desenvolvimento da doença, sendo a precipitação um fator crucial na determinação dos níveis epidêmicos no campo (DEL PONTE et al., 2006).

A FAS não apenas ameaça a produtividade agrícola, como também impacta severamente a economia brasileira, fortemente dependente da exportação de soja (GODOY et al., 2016). Nos primeiros anos após a identificação da doença, as perdas ocorreram devido ao desconhecimento do fungo e à inexistência de fungicidas adequados, resultando em uma perda de 4,6 milhões de toneladas na safra 2003/2004 (YORINORI et al., 2021; EMBRAPA, 2015). Para enfrentar a FAS, foi criado em 2004 o Consórcio Anti-ferrugem, liderado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), com o objetivo de padronizar informações sobre a doença e apoiar a aplicação eficiente de fungicidas, contribuindo para a redução das perdas de produtividade (GODOY, 2015). A principal estratégia do consórcio é a implementação de uma rede de monitoramento digital, que acompanha a dispersão da doença em tempo real durante a safra, disponibilizando dados para pesquisadores, técnicos e produtores, permitindo tomadas de decisão rápidas e medidas preventivas eficazes. A plataforma do consórcio pode ser consultada publicamente em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/#!/main> (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2025).

Uma das estratégias de manejo da FAS é a utilização de variedades com genes de resistência, conhecidos como Rpp, sigla para Resistência a *Phakopsora pachyrhizi*. Esses genes funcionam como sistemas de defesa da planta, detectando a presença do fungo e ativando respostas que limitam a infecção, protegendo folhas e grãos. Existem diferentes tipos desses genes, chamados de Rpp1 a Rpp7, cada um conferindo resistência a certas variantes do fungo. Entretanto, devido à grande variabilidade genética do patógeno, essa resistência tende a perder eficácia ao longo do tempo. Complementarmente, o manejo da doença inclui o vazio sanitário anual, período obrigatório em que a soja não é cultivada em determinadas regiões, geralmente entre 60 e 90 dias, interrompendo o ciclo do fungo e reduzindo a quantidade de inóculo presente entre as safras. Mesmo com essas estratégias, o controle químico preventivo com fungicidas continua amplamente utilizado, especialmente em regiões onde a doença é mais severa (GODOY et al., 2016).

Entre os fungicidas utilizados no controle da FAS estão os triazóis, também chamados de inibidores de desmetilação (DMI, do inglês Demethylation Inhibitors), grupo FRAC 3, e as estrobilurinas, ou inibidores da quinona oxidase (QoI, do inglês Quinone Outside Inhibitors), grupo FRAC 11. O FRAC, sigla para Fungicide Resistance Action Committee, é uma classificação internacional que organiza

fungicidas de acordo com seu modo de ação e orienta o manejo adequado para reduzir o risco de desenvolvimento de resistência. Os triazóis atuam interrompendo a síntese de ergosterol, componente essencial da membrana celular do fungo, enquanto as estrobilurinas bloqueiam a produção de energia nas mitocôndrias, organelas responsáveis pela síntese de ATP, molécula fundamental para todas as atividades celulares (LI et al., 2012; GODOY et al., 2016). Pulverizações preventivas ou excessivas, sem monitoramento da doença e sem estratégias anti-resistência, como a mistura com fungicidas de baixo risco, levaram à perda da eficácia dos DMIs e Qols em cerca de 15 anos.

Foram incorporadas recentemente ao manejo da FAS novas moléculas de fungicidas chamadas inibidores da succinato desidrogenase (SDHIs, do inglês Succinate Dehydrogenase Inhibitors), grupo FRAC 7, como o fluxapiraxade (2013) e o benzovindiflupir (2014). Esses fungicidas atuam inibindo a enzima succinato desidrogenase (Sdh), essencial para a produção de energia do fungo. Presente nas mitocôndrias, a Sdh participa do ciclo de Krebs e da cadeia respiratória, transferindo elétrons para a ubiquinona e permitindo a síntese de ATP. A enzima é formada por quatro subunidades, SdhA, SdhB, SdhC e SdhD, cada uma com função específica na transferência de elétrons. Ao bloquear essa enzima, os SDHIs interrompem a respiração do fungo, limitando seu crescimento e reprodução (SIEROTZKI; SCALLIET, 2013).

Após a introdução dos SDHIs, estudos de monitoramento conduzidos pela Embrapa durante três safras indicaram redução da eficácia desses produtos em campo (MULLER et al., 2021), principalmente devido à co-formulação inadequada com fungicidas de alto risco, como estrobilurinas e triazóis, favorecendo o surgimento de resistência no patógeno (MAPA, 2021). Para contornar esse problema, apenas uma empresa química adotou a estratégia correta, registrando co-formulações de SDHIs com fungicidas cúpricos. Estes, à base de cobre, permanecem na superfície das folhas e impedem a fixação e germinação do fungo. Por serem de baixo risco de resistência, os cúpricos complementam a ação dos SDHIs, protegendo a planta de novas infecções e garantindo maior durabilidade do controle químico (GODOY et al., 2020).

Em consonância com a redução de eficácia observada, foi recentemente detectada no Brasil a mutação I86F no gene *sdhC*, que codifica a subunidade C da enzima Sdh do fungo *P. pachyrhizi*. Essa mutação substitui o aminoácido isoleucina

(I) pela fenilalanina (F) na posição 86 da proteína (SdhC-I86F), alterando o sítio de ligação do fungicida e dificultando que os SDHIs bloqueiem a respiração mitocondrial. Como consequência, o fungo continua transferindo elétrons para a ubiquinona, sintetizando ATP mesmo na presença do fungicida, sendo atualmente a principal mutação associada à resistência aos SDHIs em campo (MELLO et al., 2021). Estudos revelam que essa mutação se mantém estável na ausência de fungicidas e afeta a sensibilidade do fungo a diferentes produtos químicos, impactando diretamente as práticas de manejo da doença (BORBA, 2020).

Diante do cenário de resistência crescente aos SDHIs, torna-se fundamental o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico molecular que permitam a detecção precoce e a quantificação precisa da mutação I86F em populações do patógeno. O presente trabalho propõe uma plataforma baseada em PCR quantitativo (qPCR, do inglês Quantitative Polymerase Chain Reaction), capaz de determinar com exatidão a frequência da mutação em amostras de campo, oferecendo um método sensível e específico para monitoramento da resistência. Essa abordagem representa um avanço significativo para programas de manejo integrado da FAS, permitindo decisões mais informadas sobre seleção e rotação de fungicidas, além de contribuir para estratégias anti-resistência mais eficazes e sustentáveis para a proteção da soja no Brasil.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 PROPOSIÇÃO

Desenvolver plataforma de detecção da mutação I86F em populações de *Phakopsora pachyrhizi*, o patógeno da ferrugem asiática da soja, por PCR quantitativo em tempo real (qPCR - RT) que permita determinar, de forma rápida, a frequência de ocorrência e distribuição da resistência a fungicidas SDHI em amostras populacionais do patógeno coletadas em diferentes regiões do país, sem a necessidade laboriosa de fenotipagem in vivo.

### 2.2 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 2.2.1 Importância e impacto econômico da ferrugem asiática da soja

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo basidiomiceto *Phakopsora pachyrhizi*, é considerada a doença mais relevante para a cultura da soja em nível mundial (KRUG et al., 2025; HOSSAIN et al., 2024). Essa doença provoca perdas significativas na produtividade e na qualidade das sementes (SOTO et al., 2020), podendo levar à perda total da lavoura em condições ambientais favoráveis. No Brasil, a FAS está presente em praticamente todas as regiões produtoras, enquanto em outros países como México e algumas regiões da Ásia, representa também uma ameaça econômica importante (GARCÍA-RODRÍGUEZ et al., 2022; HOSSAIN et al., 2024; QI et al., 2024).

#### 2.2.2 Biologia e ciclo de vida do *Phakopsora pachyrhizi*

A infecção da ferrugem asiática da soja inicia-se quando os uredinósporos, esporos do fungo, pousam sobre a superfície das folhas. Esses esporos germinam formando filamentos chamados hifas, que crescem sobre a folha. Para penetrar nas células da planta, o fungo desenvolve uma estrutura especializada chamada apressório, que permite atravessar a cutícula e a parede celular da folha (CORKLEY et al., 2025). Após a penetração, o fungo se multiplica internamente, formando

pústulas, pequenas lesões visíveis na superfície da folha, que produzem novos esporos capazes de infectar outras folhas e plantas. Esse ciclo rápido facilita a disseminação do patógeno, especialmente em condições quentes e úmidas. A evolução e a distribuição do fungo são influenciadas por fatores climáticos, como invernos amenos e variações na umidade relativa, favorecendo surtos em diferentes regiões (CHICOWSKI et al., 2024).

### **2.2.3 Defesa da soja e mecanismos de resistência**

A soja possui mecanismos de defesa para impedir a penetração e o desenvolvimento do fungo. Entre eles, destaca-se a lignina, um polímero que fortalece a parede celular, criando barreiras físicas que dificultam a propagação do patógeno, especialmente nas células próximas à infecção (EINHARDT et al., 2020). Além da lignina, a soja produz flavonoides e isoflavonoides, que atuam como fitoalexinas, compostos antimicrobianos de baixo peso molecular que limitam o crescimento do fungo (SILVA et al., 2021). A combinação desses mecanismos físicos e químicos contribui para a resistência basal da planta.

### **2.2.4 Estratégias de manejo químico e biotecnológico**

O manejo da FAS tradicionalmente envolve a aplicação de fungicidas, eficazes quando aplicados no momento adequado (HU et al., 2020; SAITO et al., 2021). Entretanto, o uso contínuo aumenta a pressão seletiva, podendo gerar cepas resistentes, além de impactos ambientais e riscos à saúde (SILVA et al., 2021; KRUG et al., 2025). Estratégias de manejo integrado incluem a aplicação de fungicidas multissítio e o uso de modelos epidemiológicos para prever surtos e reduzir a quantidade de produto químico, bem como a utilização de variedades de soja resistentes ao patógeno (CORKLEY et al., 2025; GARCÍA-RODRÍGUEZ et al., 2022). Ferramentas biotecnológicas têm sido exploradas, como o silenciamento gênico induzido pelo hospedeiro (HIGS), no qual a planta produz pequenas moléculas de RNA que inibem genes essenciais do fungo; a seleção assistida por marcadores (MAS), que permite identificar plantas com genes de resistência e acelerar o desenvolvimento de variedades protegidas; e a edição genética via CRISPR/Cas9, técnica que possibilita alterar genes específicos para aumentar a resistência da planta

ou inibir características do fungo (CHICOWSKI et al., 2024; HU et al., 2020; HOSSAIN et al., 2024). Estudos recentes demonstram ainda que micronutrientes, como o Níquel (Ni), podem aumentar a resistência basal da planta ao estimular genes de defesa e a produção de lignina (EINHARDT et al., 2020).

### 2.2.5 Novas tecnologias e abordagens sustentáveis

Inovações recentes incluem o uso de nanomateriais, como as nanofibras de celulose, que, quando aplicadas nas folhas, alteram suas propriedades físicas, dificultando a formação de apressórios pelo fungo e reduzindo a severidade da doença (SAITO et al., 2021). Pesquisas destacam ainda o uso de *Trichoderma* e seus metabólitos secundários, fungos benéficos do solo que produzem compostos antifúngicos naturais, protegendo a soja de *P. pachyrhizi* e oferecendo uma alternativa biológica ao uso de fungicidas (EL-HASAN et al., 2022). Além disso, defensinas transgênicas, como NmDef02, são proteínas de defesa introduzidas via engenharia genética em plantas de soja, aumentando sua resistência à ferrugem asiática, diminuindo perdas de produtividade e reduzindo a necessidade de fungicidas químicos (SOTO et al., 2020). Essas estratégias químicas, biológicas e genéticas são essenciais para reduzir perdas na produção, minimizar impactos ambientais e retardar o surgimento de resistência em *P. pachyrhizi*.

## 2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo, foram utilizadas 18 amostras populacionais de *Phakopsora pachyrhizi* coletadas em áreas de produção de soja nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, durante os anos de 2019 e 2020. As folhas de soja infectadas pela ferrugem asiática foram amostradas aleatoriamente em cada área de cultivo. Os uredósporos presentes nas folhas foram coletados e armazenados em tubos de 1,5 mL contendo pérolas de vidro esterilizadas, facilitando a quebra mecânica dos esporos durante a extração de DNA. As amostras foram mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração.

Para obtenção de inóculos padrões sensíveis e resistentes a fungicidas SDHI (inibidores da succinato desidrogenase, neste estudo representados pelo fluxapiroxade), plantas de soja cv. ST 271 IPRO, cultivar comercial utilizada como padrão experimental, foram cultivadas em vasos de 3 L contendo substrato composto por casca de pinheiro, vermiculita e turfa enriquecida com superfosfato simples e  $\text{KNO}_3$ . As plantas foram mantidas em câmara de crescimento a 24 °C, com fotoperíodo de 12 h, irrigadas conforme necessidade hídrica e adubadas com solução nutritiva líquida contendo N (6%),  $\text{P}_2\text{O}_5$  (6%),  $\text{K}_2\text{O}$  (8%), Mg (1%), S (1,1%), Zn (0,1%), Mn (0,1%), Fe (0,1%) e B (0,03%).

Uredósporos coletados de folíolos de soja na safra 2021/22, provenientes de áreas com e sem relatos de resistência a fungicidas SDHI, foram utilizados para inoculação das plantas no estágio fenológico V3 (três nós, com o primeiro trifólio completamente desenvolvido), conforme descrito por Fehr et al. (1977). Para a inoculação, os folíolos infectados foram mantidos em câmara úmida por 24 h, cortados em fragmentos de aproximadamente 0,5 cm e misturados vigorosamente com 50 mL de água destilada esterilizada contendo 1% de Tween 20, um surfactante que favorece a distribuição homogênea dos uredósporos sobre a superfície foliar. As plantas foram inoculadas com uma suspensão final de  $10^5$  uredósporos  $\text{mL}^{-1}$  e incubadas por 24 h no escuro a 24 °C. Após a inoculação, as plantas permaneceram sob as mesmas condições de temperatura (24 °C) e fotoperíodo (12 h) por aproximadamente 30 dias, até a produção abundante de uredósporos. Essa etapa permitiu a multiplicação do inóculo e a obtenção de uredósporos viáveis de linhagens sensíveis e resistentes, utilizados como padrões experimentais.

O DNA total de *P. pachyrhizi* foi extraído a partir de uredósporos provenientes tanto de campos quanto de plantas experimentalmente inoculadas. Antes da extração, os uredósporos foram liofilizados por 24 h, processo que consiste na secagem a vácuo e baixa temperatura, permitindo a preservação do material biológico e facilitando sua manipulação. Em seguida, os esporos foram rompidos mecanicamente por fricção com pérolas de vidro, sob agitação rápida em equipamento FastPrep, à velocidade de  $4 \text{ m s}^{-1}$ , garantindo a liberação eficiente do DNA devido à elevada resistência da parede celular dos uredósporos.

A extração do DNA foi realizada utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, EUA), seguindo as instruções do fabricante. A concentração e a pureza do DNA extraído foram determinadas em

espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (Thermo Fisher Scientific, EUA), assegurando a obtenção de DNA de qualidade adequada para as análises moleculares subsequentes. As amostras de DNA foram armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até sua utilização.

Para o desenvolvimento da plataforma de determinação quantitativa por PCR em tempo real (qPCR, quantitative Polymerase Chain Reaction) da mutação I86F no gene *sdhC*, associada à resistência a fungicidas SDHI em *P. pachyrhizi*, foram sintetizados primers e sondas com base em Borba (2020), cujas sequências estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Primers para amplificação por PCR do gene parcial *SdhC* de *Pp* utilizados para a curva padrão RT qPCR1

| Primer      | Sequência (5' – 3')       |
|-------------|---------------------------|
| SdhC-5224 F | CGA AGG CTA CAT ACA CTT C |
| SdhC-5223 R | GCG TCT CAG AAT CCA TAG   |

Fonte: Produção do próprio autor.

<sup>1</sup> Esses primers amplificam um fragmento *SdhC* de 381 pb de comprimento, segundo Borba (2020).

Inicialmente, foi realizada a amplificação do fragmento parcial do gene *sdhC* (381 pb) por PCR convencional, etapa necessária para a obtenção de DNA modelo utilizado na calibração das curvas padrão do qPCR. O DNA de dois isolados de *P. pachyrhizi* (PP.SP6 e PP.MG9) foi selecionado para essa etapa.

As reações de PCR convencional foram preparadas em volume final de 30  $\mu\text{L}$ , contendo 50 ng de DNA total, 0,1  $\mu\text{M}$  de cada primer, 0,2 mM de cada dNTP, 2 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 3  $\mu\text{L}$  de tampão 10 $\times$ , 1 U de Taq DNA polimerase (Sigma-Aldrich, EUA) e água ultrapura para completar o volume final. As amplificações foram realizadas em termociclador Mastercycler® Nexus (Eppendorf®, Alemanha), utilizando as seguintes condições: desnaturação inicial a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 min, seguida de 35 ciclos de  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 s,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 min (anelamento) e  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 min (extensão), com extensão final a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 min. A amplificação positiva foi confirmada por eletroforese em gel de agarose a 1%, e os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, EUA).

Tabela 1 - Primers e sonda utilizados para detecção quantitativa por PCR em tempo real e quantificação da substituição I86F em amostras populacionais de *Phakopsora pachyrhizi*

| Primers e sondas <sup>2,3</sup> | Sequências (5' – 3')                                         | Combinação de primers para detecção específica de alelos |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Forward primers</b>          |                                                              |                                                          |
| KES_2156_86F (A)                | AAC AGC TAA CTT GGT ATT CCA GGT                              | SdhC 86F: A + C                                          |
| KES_2155_86I (B)                | AAC AGC TAA CTT GGT ATT CCA GGA                              | SdhC 86I: B + C                                          |
| <b>Reverse primer</b>           |                                                              |                                                          |
| qPCR-sdhC R (C)                 | AAA CCA CCG GAT CAC TGA TGT                                  |                                                          |
| Probe - sdhC <sup>4</sup>       | 6-FAM-<br>AACGGGTTGCGCTCTTACAGGAGGTATT<br>C-BHQ <sup>1</sup> |                                                          |

Fonte: Produção do próprio autor.

<sup>1</sup> Esses primers amplificam um fragmento SdhC de 103 pb de comprimento;

<sup>2</sup> Primers Forward segundo Simões et al. (2018).

<sup>3</sup> Primer reverso conforme Borba (2020); idêntico ao KES\_2153 de Simões et al. (2018);

<sup>4</sup> FAM = 6-carboxifluoresceína; BHQ1 = supressor de buraco negro 1.

Para a quantificação alélica, foram preparadas curvas padrão para o qPCR a partir de diluições seriadas do DNA modelo, obtendo-se as seguintes concentrações finais: 900; 450; 90; 9; 0,9 e 0,09 pg mL<sup>-1</sup>. As reações de qPCR foram realizadas em volume final de 20 µL, contendo 10 µL de iTaq Universal Probes Master Mix 1× (Bio-Rad, EUA), 1 µL de primer forward (300 nM), 1 µL de primer reverse (300 nM), 1 µL de sonda (150 nM), 3 µL de água ultrapura e 4 µL de DNA modelo ou DNA das amostras. As reações foram conduzidas no termociclador CFX96 (Bio-Rad, EUA), com o seguinte programa de amplificação: 2 min a 95 °C, seguidos de 40 ciclos de 2–5 s a 95 °C e 15–30 s a 60 °C.

As reações de qPCR foram realizadas em duplicata e incluíram controles negativos sem DNA molde, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os dados obtidos foram analisados utilizando o software CFX Maestro (Bio-Rad, EUA).

As 18 amostras populacionais de *P. pachyrhizi* foram analisadas por qPCR utilizando o ensaio desenvolvido, permitindo a quantificação relativa dos alelos SdhC 86I (tipo selvagem) e 86F (mutante) em cada população. Dessa forma, foi possível determinar as frequências relativas desses alelos, fornecendo informações sobre a disseminação da mutação I86F associada à resistência a fungicidas SDHI em populações do agente causal da ferrugem asiática da soja.

Para a quantificação alélica, foram preparadas curvas padrão para o qPCR a partir de diluições seriadas do DNA modelo, obtendo-se as seguintes concentrações finais: 900; 450; 90; 9; 0,9 e 0,09 pg mL<sup>-1</sup>. As reações de qPCR foram realizadas em volume final de 20 µL, contendo 10 µL de iTaq Universal Probes Master Mix 1× (Bio-Rad, EUA), 1 µL de primer forward (300 nM), 1 µL de primer reverse (300 nM), 1 µL de sonda (150 nM), 3 µL de água ultrapura e 4 µL de DNA modelo ou DNA das amostras. As reações foram conduzidas no termociclador CFX96 (Bio-Rad, EUA), com o seguinte programa de amplificação: 2 min a 95 °C, seguidos de 40 ciclos de 2–5 s a 95 °C e 15–30 s a 60 °C.

As reações de qPCR foram realizadas em duplicata e incluíram controles negativos sem DNA molde, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os dados obtidos foram analisados utilizando o software CFX Maestro (Bio-Rad, EUA).

As 18 amostras populacionais de *P. pachyrhizi* foram analisadas por qPCR utilizando o ensaio desenvolvido, permitindo a quantificação relativa dos alelos SdhC 86I (tipo selvagem) e 86F (mutante) em cada população. Dessa forma, foi possível determinar as frequências relativas desses alelos, fornecendo informações sobre a disseminação da mutação I86F associada à resistência a fungicidas SDHI em populações do agente causal da ferrugem asiática da soja.

## 2.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 2.4.1 Contextualização dos dados e abordagem populacional

As análises por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR) foram realizadas a partir de DNA extraído de amostras populacionais de *Phakopsora pachyrhizi*. Cada amostra analisada correspondeu a um pool de urediniósporos coletados em uma mesma região geográfica, não sendo constituída por isolados individuais obtidos a partir de culturas monospóricas. Dessa forma, cada população representa uma unidade experimental composta por múltiplos indivíduos do patógeno.

Os resultados obtidos refletem estimativas de frequência relativa dos alelos SdhC 86I (tipo selvagem) e SdhC 86F (mutante) no nível populacional, expressando a prevalência da mutação SdhC I86F em cada população analisada. A quantificação dos alelos foi realizada individualmente para cada população, comparando o sinal de

amplificação de cada alelo com curvas padrão previamente calibradas. Assim, as porcentagens apresentadas correspondem à razão entre a quantidade estimada de DNA de cada alelo e o total de DNA amplificado na reação.

#### **2.4.2 Distribuição da mutação SdhC I86F por estado**

##### **2.4.2.1 Minas Gerais**

Entre as quatro populações analisadas em Minas Gerais, uma apresentou elevada prevalência do alelo mutante SdhC 86F, enquanto nas demais populações o alelo mutante esteve ausente ou presente em frequência inferior a 50%. Esse padrão evidencia heterogeneidade intraestadual, ou seja, diferentes perfis genéticos coexistem dentro do mesmo estado.

##### **2.4.2.2 Mato Grosso do Sul**

Das três populações analisadas no Mato Grosso do Sul, duas apresentaram predominância do alelo mutante SdhC 86F, enquanto uma população apresentou exclusivamente o alelo SdhC 86I do tipo selvagem. Isso evidencia coexistência de perfis genéticos contrastantes dentro do mesmo estado, reforçando a variabilidade populacional.

##### **2.4.2.3 Mato Grosso**

Em Mato Grosso, quatro populações foram analisadas. Em duas delas, o alelo mutante SdhC 86F não foi detectado, enquanto nas outras duas a frequência da mutação variou de aproximadamente 17,5% até valores próximos à fixação (99,8%). Essa amplitude indica alta heterogeneidade na prevalência da mutação entre populações do estado.

#### 2.4.2.4 Paraná

Das quatro populações avaliadas no Paraná, três apresentaram presença do alelo mutante SdhC 86F, com frequência média aproximada de 40,9%, enquanto uma população apresentou apenas o alelo selvagem SdhC 86I. Isso evidencia variação intraestadual na distribuição da mutação associada à resistência.

#### 2.4.2.5 São Paulo

Em São Paulo, o alelo mutante SdhC 86F foi detectado em todas as populações analisadas, porém com frequência média inferior à do alelo do tipo selvagem (aproximadamente 36,9%). Isso indica que o alelo do tipo selvagem ainda predomina nas populações deste estado.

#### 2.4.2.6 Rio Grande do Sul

No Rio Grande do Sul, o alelo mutante SdhC 86F também foi detectado em todas as populações, com frequência média inferior à do alelo selvagem (aproximadamente 41,7%), evidenciando a predominância do alelo do tipo selvagem nas populações analisadas.

### 2.4.3 Síntese espacial e interpretação

De forma geral, os resultados demonstram que a substituição SdhC I86F está amplamente distribuída em populações de *P. pachyrhizi* no Brasil, porém com variação significativa entre estados e entre populações dentro de um mesmo estado. Essa heterogeneidade sugere diferenças regionais na pressão de seleção exercida pelos fungicidas SDHI e/ou na dinâmica populacional do patógeno, reforçando a importância do monitoramento contínuo da resistência em diferentes regiões produtoras de soja.

Esses resultados estão sintetizados espacialmente na Figura 1, que ilustra a distribuição das populações analisadas e a prevalência da mutação SdhC I86F nos diferentes estados brasileiros.

Figura 1 - Prevalência da substituição SdhC I86F associada à resistência a fungicidas SDHI em populações do patógeno ASR *Phakopsora pachyrhizi* amostradas em 18 locais em seis estados brasileiros na safra 2019



Fonte: Produção do próprio autor.

Conforme ilustrado na Figura 1, o alelo mutante SdhC 86F foi detectado em populações provenientes de todos os seis estados amostrados, embora com ampla variação na sua frequência entre populações e regiões.

#### 2.4.4 Discussão

Nosso estudo investigou populações geográficas recentes de *Phakopsora pachyrhizi* provenientes de diferentes estados brasileiros e determinou a prevalência da substituição SdhC-I86F por meio de PCR quantitativo em tempo real. Os resultados obtidos indicam que essa mutação associada à resistência a fungicidas do grupo dos SDHIs está amplamente distribuída nas regiões amostradas, porém com variação expressiva na sua frequência entre estados e entre populações dentro de um mesmo estado.

Esse padrão de distribuição heterogênea é consistente com o histórico recente da resistência de *P. pachyrhizi* aos principais grupos de fungicidas utilizados no manejo da ferrugem asiática da soja. A resistência aos fungicidas QoI e DMI já se encontra amplamente difundida no Brasil há mais de uma década, o que resultou em reduções significativas na eficácia desses grupos (DALLA LANA et al., 2018; GODOY et al., 2020; KLOSOWSKI et al., 2016a; 2016b; 2018). Mais recentemente, declínios consistentes na eficácia de misturas comerciais contendo SDHIs, como azoxistrobina + benzovindiflupir e picoxistrobina + benzovindiflupir, também foram relatados (BARRO et al., 2021), reforçando a relevância dos achados do presente estudo.

O primeiro relato da resistência aos fungicidas SDHI em populações brasileiras de *P. pachyrhizi* ocorreu na safra 2015/16 no Rio Grande do Sul e foi associado à substituição SdhC-I86F (SIMÕES et al., 2018). A partir da safra 2016/17, após a intensificação do uso de SDHIs no país, essa mutação passou a ser detectada com maior frequência em diferentes regiões produtoras de soja (SIMÕES et al., 2018), um comportamento que é compatível com a ampla distribuição da mutação observada neste estudo.

Dados de monitoramento nacional indicaram que a prevalência da substituição SdhC-I86F aumentou de aproximadamente 7% em 2015/16 para mais de 90% em 2018/19 (MELLO et al., 2021). Embora as frequências observadas no presente trabalho variem consideravelmente entre populações, a detecção do alelo mutante em todos os estados amostrados sugere que o processo de seleção e disseminação da resistência permanece ativo no país.

A associação entre a presença da mutação SdhC-I86F e a redução da sensibilidade a fungicidas SDHI também é sustentada por estudos de sensibilidade in vitro, nos quais populações com maior frequência dessa substituição apresentaram

valores de CE50 substancialmente superiores aos observados em populações do tipo selvagem (SIMÕES et al., 2018; MELLO et al., 2021). Assim, a elevada variabilidade observada nas frequências populacionais da mutação pode refletir diferenças regionais na pressão de seleção exercida pelo uso de fungicidas, bem como fatores relacionados à dinâmica populacional e ao fluxo gênico do patógeno.

Em conjunto, os resultados reforçam a importância do monitoramento contínuo da resistência a SDHIs em *P. pachyrhizi*, especialmente considerando que a substituição SdhC-I86F já se encontra amplamente distribuída, embora ainda não fixada de forma homogênea em todas as regiões produtoras de soja no Brasil.

### 3 CONCLUSÃO

Podemos concluir que o método de qPCR é eficiente para detecção de mutações no gene *sdhC* em populações de *P. pachyrhizi*. E observamos a prevalência da mutação 86F em 12 das 18 amostragens.

## REFERÊNCIAS

- BARRO, J. P. et al. Performance of dual and triple fungicide premixes for managing soybean rust across years and regions in Brazil: A meta-analysis. **Plant Pathology**, v. 70, n. 8, p. 1920–1935, 10 jul. 2021.
- BORBA, J.P. **Does the I86F Mutation of Succinate Dehydrogenase Subunit c Increase Fungicide Resistance and Have a Fitness Cost in Asian Soybean Rust (*Phakopsora pachyrhizi*)?** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2020.
- BROMFIELD, K. R. Soybean rust, monograph No. 11. **American Phytopathological Society, St. Paul, MN**, 1984.
- BUENO, T.V.; FONTES, P.P.; ABE, V.Y.; UTIYAMA, A.S.; SENRA, R.L.; OLIVEIRA, L.S.; SANTOS, A.B.; FERREIRA, E.G.C.; DARBEN, L.M.; OLIVEIRA, A.B.; ABDELNOOR, R.V.; WHITHAM, S.A.; FIETTO, L.G.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C. A *Phakopsora pachyrhizi* effector suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a soybean glucan endo-1, 3- $\beta$ -glucosidase to promote virulence. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 35, n.9, p. 779-790, 2022. Doi: 10.1094/MPMI-12-21-0301-R.
- CATTELAN, A. J.; DALL'AGNOL, A. The rapid soybean growth in Brazil. **OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids**, v. 25, n. 1, p. D102, 2018. Disponível em: [https://www.ocljournal.org/articles/ocl/full\\_html/2018/01/ocl170039/ocl170039.html](https://www.ocljournal.org/articles/ocl/full_html/2018/01/ocl170039/ocl170039.html). Acesso em: 08 jul. 2025.
- CHICOWSKI, A.S.; BREDOW, M.; UTIYAMA, A.S.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; WHITHAM, S.A. Soybean-*Phakopsora pachyrhizi* interactions: Towards the development of next-generation disease-resistant plants. **Plant Biotechnology Journal**, v. 22, n. 2, p. 296-315, 2024. Doi: 10.1111/pbi.14206.
- CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM**. Dispersion map. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/#!/main>. Acesso em: 20 mar. 2024.
- CORKLEY, I.; HELPS, J.; VAN DEN BOSCH, F.; PAVELEY, N.D.; MILNE, A.E.; MIKABERIDZE, A.; SIEROTZKI, H.; SKIRVIN, D.J. Delaying Infection Through Phytosanitary Soybean-Free Periods Contributes to Fungicide Resistance Management in *Phakopsora pachyrhizi*: A Modelling Analysis. **Plant Pathology**, v. 74, n. 4, p. 1078-1096, 2025. Doi: 10.1111/ppa.14074.
- DALLA LANA, F.; PAUL, P.A.; GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; DA SILVA, L.H.C.P.; SIQUERI, F.V.; FORCELLINI, C.A.; JACCOUD-FILHO, D. de S.; MIGUAL-WEUCK,

D.S.; BORGES, E.P.; JULIATTI, F.C.; CAMPOS, H.D.; NUNES, J.; CARNEIRO, J.L.C.; CANTERI, M.G.; ITO, M.F.; MEYER, M.C.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R.S.; FURLAN, S.H.; CARLIN, V.J.; DEL PONTE, E.M. Meta-Analytic Modeling of the Decline in Performance of Fungicides for Managing Soybean Rust after a Decade of Use in Brazil. **Plant Dis.**, v. 102, n.4, p. 807–817, 2018. Doi: 10.1094/PDIS-03-17-0408-RE.

Del Ponte, E.M.; Godoy, C.V.; Canteri, M.G.; Reis, E.M.; Yang, X.B. Models and Applications for Risk Assessment and Prediction of Asian Soybean Rust Epidemics. **Fitopatol. Bras.** 2006, 31, 533–544. Doi:10.1590/S0100-41582006000600001.

**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA SOJA).** Sistema Plantio Direto. Londrina: Embrapa Soja, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja>. Acesso em: 01 jul. 2025.

**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA).** Dados econômicos da soja. Brasília: Embrapa Soja, 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 01 jul. 2025.

EINHARDT, A.M.; FERREIRA, S.; HAWERROTH, C.; VALADARES, S.V.; RODRIGUES, F.A. Nickel potentiates soybean resistance against infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 849-859, 2020. Doi: 10.1111/ppa.13169.

EL-HASAN, A.; WALKER, F.; KLAIBER, I.; SCHONE, J.; PFANNSTIEL, J.; VOEGELE, R.T. New approaches to manage Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) using *Trichoderma* spp. or their antifungal secondary metabolites. **Metabolites**, v. 12, n. 6, p. 1-19, 2022. Doi: 10.3390/metabo12060507.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E.; BURMOOD, D.T.; PENNINGTON, J.S. Stage of Development Descriptions for Soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill. **Crop Sci.**, v. 11, n.6, p.929–931, 1971. Doi: 10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x.

FIALLOS, F.R.G; FORCELINI, C.A. Controle Comparativo Da Ferrugem Asiática Da Soja Com Fungicida Triazol Ou Mistura de Triazol + Estrobilurina. **Biosci. J.**, v. 29, n.4, p. 805–815, 2013.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, J.C.; VICENTE-HERNANDEZ, Z.; GRAJALES-SOLIS, M.; YAMANAKA, N. Virulence diversity of *Phakopsora pachyrhizi* in Mexico. **PhytoFrontiers™**, v.2, n.1, p. 52-59, 2022. Doi: 10.1094/PHYTOFR-06-21- 0044-R.

GODOY, C. V. et al. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Circular Técnica**, n. 111. Londrina: Embrapa Soja, 2015. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1021068/1/CT111online.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2025.

GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; MEYER, M.C.; COSTAMILAN, L.M. Asian Soybean Rust in Brazil: Past, Present, and Future. **Pesqui. Agropecuária Bras.**, v. 51, n.5, p. 407–421, 2016. Doi: 10.1590/S0100-204X2016000500002.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; LOPES, I. de O.N.; DIAS, A.R.; PIMENTA, C.B.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; de MORESCO, E.; SIQUERI, F.V.; JULIATI, F.C.; JULIATI, F.C.; FAVERO, F.; ARAUJO JUNIOR, I.P.; CHAVES, I.C.P.V.; ROY, J.M.T.; GRIGOLLI, J.F.J.; NUNES JUNIOR, J.; NAVARINI, L.; BELUFI, L.M. de R.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; SENGHER, M.; GOUSSAIN JUNIOR, M.M.; DEBORTOLI, M.P.; MARTINS, M.C.; TORMEN, N.R.; BALARDIN, R.S.; MADALOSSO, T.; VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2019/2020**. Circular Técnica, v.160, Embrapa Soja: Londrina, PR, Brasil, p.1-19, 2020.

HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J. C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (eds.). Compendium of soybean diseases and pests. 5. ed. St. Paul: **American Phytopathological Society**, 2015. p. 56–58.

HOSSAIN, M.M.; SULTANA, F.; YESMIN, L.; RUBAYET, M.T.; ABDULLAH, H.M.; SIDDIQUE, S.S.; BHUIYAN, M.A.B.; YAMANAKA, N. Understanding *Phakopsora pachyrhizi* in soybean: comprehensive insights, threats, and interventions from the Asian perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, n.1, p. 1-20, 2024. Doi: 10.3389/fmicb.2023.1304205.

HU, D.; CHEN, Z.Y.; ZHANG, C.; GANIGER, M. Reduction of *Phakopsora pachyrhizi* infection on soybean through host-and spray-induced gene silencing. **Molecular Plant Pathology**, v. 21, n.6, p. 794-807, 2020. Doi: 10.1111/mpp.12931.

KLOSOWSKI, A.C.; BRAHM, L.; STAMMLER, G.; MAY DE MIO, L.L.M.; Competitive fitness of *Phakopsora pachyrhizi* isolates with mutations in the CYP51 and CYTB genes. **Phytopathology**® 2016a, v. 106, n. 11, p. 1278-1284, 2016. Doi: 10.1094/PHYTO-01-16-0008-R.

KLOSOWSKI, A.C.; CASTELLAR, C.; STAMMLER, G.; MAY DE MIO, L.L. Fungicide sensitivity and monocyclic parameters related to the *Phakopsora pachyrhizi*–soybean pathosystem from organic and conventional soybean production systems. **Plant Pathology**, v. 67, n. 8, p. 1697-1705, 2018. Doi: 10.1111/ppa.12883.

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** 2016b, v. 72, n. 6, p. 1211-1215, 2016. Doi: 10.1002/ps.4099.

KRUG, L.D.; CERESINI, P.C.; MOREIRA, S.I.; PEREIRA, D.J.; GONÇALVES, L.M.D.P.; ACERBI, A.R.; MONTAN, R.R.L.; LEARDINE, G.V.; MOURA, S.S.; PORTALANZA, D.; GARCES-FIALLOS, F.R. Prevalence of the SdhC I86F substitution associated with resistance to SDHI fungicides in populations of the Asian soybean rust

pathogen in Brazil in recent cropping seasons. **Tropical Plant Pathology**, v. 50, n. 26, p. 1-12, 2025. Doi: 10.1007/s40858-025-00719-y.

LI, S.; SMITH, J.R.; RAY, J.D.; FREDERICK, R.D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 125, n.1, p. 133-142, 2012. Doi: 10.1007/s00122-012-1821-y.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários, Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins**. Brasil Agrofit, 2021. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 abr. 2025.

MELLO, F.E.; MATHIONI, S.M.; FANTIN, L.H.; ROSA, D.D.; ANTUNES, R.F.D.; CHAGAS FILHO, N.R.; DUVARESCH, D.L.; 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**, v. 77, n. 10, p. 4331-4339, 2021. Doi: 10.1002/ps.6466.

MULLER, M.A.; STAMMLER, G.; MAY DE MIO, L.L. Multiple resistance to DMI, Qol and SDHI fungicides in field isolates of *Phakopsora pachyrhizi*. **Crop Protection**, v. 145, n.1, p. 105618, 2021. Doi: 10.1016/j.cropro.2021.105618.

PRETORIUS, Z. A.; KLOPPERS, F. J.; FREDERICK, R. D. First report of soybean rust in South Africa. **Plant Disease**, v. 85, n. 12, p. 1288-1288, 2001. Doi: 10.1094/PDIS.2001.85.12.1288C.

QI, M.; YU, H.; BREDOW, M.; CHICOWSKI, A.S.; FIELDS, L.D.; WHITHAM, S.A. Insights into *Phakopsora pachyrhizi* effector–effector interactions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 37, n.3, p. 227-231, 2024. Doi: 10.1094/MPMI-08-23-0120-FI.

ROSSI, R.L. **First Report of *Phakopsora pachyrhizi*, the Causal Organism of Soybean Rust in the Province of Misiones, Argentina**. Plant Dis. 2003 Jan; 87(1):102. Doi: 10.1094/PDIS.2003.87.1.102A.

SAITO, H.; YAMASHITA, Y.; SAKATA, N.; ISHIGA, T.; SHIRAISHI, N.; USUKI, G.; NGUYEN, V.T.; YAMAMURA, E.; ISHIGA, Y. Covering soybean leaves with cellulose nanofiber changes leaf surface hydrophobicity and confers resistance against *Phakopsora pachyrhizi*. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n.1, p. 1-12, 2021. Doi: 10.3389/fpls.2021.726565.

SIEROTZKI, H.; SCALLIET, G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. **Phytopathology**. 2013 Sep;103(9):880-7. Doi: 10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW.

SILVA, E.; PEREZ DA GRAÇA, J.; PORTO, C.; MARTIN DO PRADO, R.; NUNES, E.; CORREA MARCELINO-GUIMARÃES, F.; CONRADO MEYER, M.; JORGE PILAU, E. Untargeted metabolomics analysis by UHPLC-MS/MS of soybean plant in a

compatible response to *Phakopsora pachyrhizi* infection. **Metabolites**, v. 11, n. 3, p.1-15, 2021. Doi: 10.3390/metabo11030179.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n.1, p. 21-26, 2018. Doi: 10.1007/s41348-017-0117-5.

SOTO, N.; HERNANDEZ, Y.; DELGADO, C.; ROSABAL, Y.; ORTIZ, R.; VALENCIA, L.; BORRAS-HIDALGO, O.; PUJOL, M.; ENRIQUEZ, G.A. Field resistance to *Phakopsora pachyrhizi* and *Colletotrichum truncatum* of transgenic soybean expressing the NmDef02 plant defensin gene. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 562, p.1-15, 2020. Doi: 10.3389/fpls.2020.00562.

TWIZEYIMANA, M.; OJIMBO, P.S.; HAUDENSHIELD, J.S.; CAETANO-ANOLLES, G.; PEDLEY, K.F.; BANDYOPADHYAY, R.; HARTMAN, G.L. Genetic structure and diversity of *Phakopsora pachyrhizi* isolates from soyabean. **Plant Pathology**, v. 60, n. 4, p. 719-729, 2011. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2011.02428.x.

YORINORI, J.T. Development and Economic Importance. In: YORINORI, J.T.; HARTMAN, G.L. **Soybean Rust: Lessons Learned from the Pandemic in Brazil**. Amer Phytopathological Society, p. 15–48, 2021. ISBN 978-0-89054-664-2.