

DANILO FRANCISCO PAULIN FERZIN

**INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO DOS FUNGICIDAS SÍTIO-
ESPECÍFICO E MULTISSÍTIOS NO CONTROLE E MANEJO DE
RESISTÊNCIA DA *Phakopsora pachyrhizi***

Botucatu

2021

DANILO FRANCISCO PAULIN FERZIN

**INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO DOS FUNGICIDAS SÍTIO-
ESPECÍFICO E MULTISSÍTIOS NO CONTROLE E MANEJO DE
RESISTÊNCIA DA *Phakopsora pachyrhizi***

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano

Botucatu

2021

F349i

Ferezin, Danilo Francisco Paulin

Influência da taxa de aplicação dos fungicidas
sítio-específico e multissítios no controle e manejo de
resistência da "Phakopsora pachyrhizi" / Danilo Francisco
Paulin Ferezin. -- Botucatu, 2021

77 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Carlos Gilberto Raetano

1. Soja. 2. Taxa de aplicação. 3. Fungicidas. 4. Controle e
manejo de resistência. 5. Ferrugem da soja. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

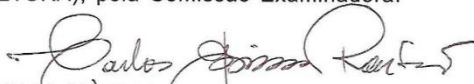
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO DOS FUNGICIDAS SÍTIO-ESPECÍFICO E MULTISSÍTIOS NO CONTROLE E MANEJO DE RESISTÊNCIA DA *Phakopsora pachyrhizi*


AUTOR: DANILO FRANCISCO PAULIN FEREZIN

ORIENTADOR: CARLOS GILBERTO RAETANO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Prof.ª Dr.ª ADRIANA ZANIN KRONKA (Participação Virtual) p/ 
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Pesquisador Dr. JOÃO BATISTA CASON (Participação Virtual) p/ 
Crop Protection / Corteva Agrisciences

Botucatu, 30 de abril de 2021

*A Deus e as pessoas que mais amo e admiro,
João, Daniela, Ana Laura, Ana Carolina, Ana
Luisa, Camila e família,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus queridos pais e familiares pelo apoio incondicional.

À Camila T. Simões por todo o seu suporte perante este trabalho, além do amor e carinho.

À Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu – FCA/UNESP, aos docentes do Programa de Pós Graduação em Agronomia (Agricultura) pela oportunidade e ensinamentos, aos discentes, pela amizade, à Seção Técnica de Pós Graduação pelo suporte e ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano, pela exemplar orientação.

À Protec – Estudos em Tecnologia de Aplicação, especialmente ao Matheus Mereb Negrisoli e Flávio Nunes da Silva pela grande parceria, ajuda e ensinamentos.

À Corteva Agriscience do Brasil S.A., por ter apoiado e fornecido tudo que foi necessário para este trabalho, especialmente Alvemar Ferreira, Lucimara Koga, João B. Cason e Augusto Kalsing que acreditaram e permitiram a condução deste trabalho na estação de pesquisa de Mogi Mirim, a Jaqueline B. de Campos, Fabrício Bavieira, Nelson Alvarenga, Vanbasther F. Almeida, Alexandre D. Barbosa e Jander F. Almeida por toda a ajuda na implantação, condução e avaliações realizadas.

E, aos demais colegas, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) é, atualmente, a principal doença que acomete a cultura da soja no mundo. Devido às tecnologias de aplicação deficientes, ao conhecimento escasso da epidemiologia da doença e à quebra dos genes de resistência das cultivares de forma rápida, há maior dificuldade para o controle da doença. Assim, este trabalho buscou comparar a eficácia e manejo de resistência dos fungicidas sítio-específico e multissítios, isolados ou em mistura, além do efeito de diferentes taxas de aplicação no controle da ferrugem asiática e na produtividade da soja, sendo conduzido em três safras agrícolas (2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020). Para isso, avaliou-se a influência da taxa de aplicação sobre: severidade da doença e à frequência de mutação gênica (capítulo 1); controle da doença e na produtividade da cultura (capítulo 2) e níveis de depósito e cobertura da pulverização em plantas de soja nos estádios de desenvolvimento R1 e R1 mais 14 dias (capítulo 3). Os resultados permitiram constatar que a utilização dos fungicidas multissítios e a mistura dos ingredientes ativos são importantes para maior eficácia no controle da doença e para mitigar riscos de seleção de indivíduos resistentes aos fungicidas disponíveis no mercado. A mistura fungicida picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao fungicida mancozebe proporcionou menor AACPD e maior produtividade em todas as safras agrícolas. A aplicação somente de mancozebe proporcionou os piores resultados, refletindo de forma direta no rendimento de produção. A taxa de aplicação de 160 L ha⁻¹ possibilitou, em geral, maior deposição e cobertura da pulverização, enquanto a menor taxa de aplicação (80 L ha⁻¹) prejudicou a deposição e cobertura da pulverização especialmente nos estratos médio e inferior das plantas de soja.

Palavras-chave: *Glycine max*. Volume de pulverização. Controle químico. Ferrugem asiática.

ABSTRACT

Soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) is currently the main disease affecting soybean crops in the world. Due to deficient application technologies, scarce knowledge of the epidemiology of the disease and the rapid breakdown of resistance genes in cultivars, there is a greater difficulty to controlling the disease. Thus, this research sought to compare the efficacy and resistance management of site-specific and multisite fungicides, alone or in mixture, in addition to the effect of different rates of application on the control of Asian soybean rust and on soybean productivity, being conducted in three season crops (2017/2018, 2018/2019 and 2019/2020). For this, the effect of different application rates on disease severity and frequency of gene mutation was evaluated (chapter 1); also on control of disease and crop yield (chapter 2) and the spray deposit levels and spray coverage on soybean plants in R1 growth stage and 14 days after R1 (chapter 3). By the results it was possible to verify that the use of multisite fungicides and the mixture of active ingredients are important for greater effectiveness in disease controlling and to mitigate the risks of selecting individuals resistant to fungicides available on the market. The fungicide mixture with picoxystrobin plus benzovindiflupir associated to mancozeb promoted lower AUDPC and higher productivity in all crop seasons, while mancozeb spray alone obtained the worst results, directly reflecting on soybean crop yield. The application rate of 160 L ha⁻¹ enabled, in general, greater spray deposition and spray coverage, while the lower application rate (80 L ha⁻¹) impaired those spray variables especially in the middle and lower parts of the soybean plants.

Keywords: *Glycine max.* Spray volume. Chemical control. Asian rust.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO NO CONTROLE DA FERRUGEM DA SOJA E NA FREQUÊNCIA DE MUTAÇÕES GÊNICAS	19
1.1 INTRODUÇÃO	19
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	22
1.2.1 Avaliação de severidade da doença.....	23
1.2.2 Análise molecular – Detecção e quantificação das mutações F129L e I86F.....	24
1.2.2.1 Coleta de Amostras.....	24
1.2.2.2 Extração de DNA.....	25
1.2.2.3 Detecção e frequência das mutações F129L e I86F, utilizando <i>NGS-Sequencing</i>	25
1.2.3 Análise estatística dos dados.....	27
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
1.4 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO NA SEVERIDADE DA FERRUGEM E NA PRODUTIVIDADE DA SOJA	38
2.1 INTRODUÇÃO	38
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	40
2.2.1 Avaliação de severidade da doença.....	41
2.2.2 Avaliação de produção e produtividade.....	42
2.2.3 Análise estatística dos dados.....	42

2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
2.4	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
	CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO SOBRE O DEPÓSITO E COBERTURA DA PULVERIZAÇÃO EM PLANTAS DE SOJA	54
3.1	INTRODUÇÃO	54
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	57
3.2.1	Análises da pulverização.....	58
3.2.1.1	Análise quantitativa da pulverização.....	58
3.2.1.2	Processamento e preparo das amostras para avaliação dos depósitos.....	58
3.2.2	Análise qualitativa da pulverização.....	59
3.2.3	Análise estatística dos dados.....	60
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
3.3.1	Análise quantitativa da pulverização.....	61
3.3.1.1	Safra 2018/2019.....	61
3.3.1.2	Safra 2019/2020.....	63
3.3.2	Análise qualitativa da pulverização.....	65
3.3.2.1	Safra 2018/2019.....	65
3.3.2.2	Safra 2019/2020.....	67
3.4	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	72
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
	REFERÊNCIAS GERAIS	75

INTRODUÇÃO GERAL

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma leguminosa anual da família *Fabaceae*, sendo considerada de maior importância econômica no mundo, devido ao seu potencial produtivo e valor nutritivo. Apresenta diversas aplicações na alimentação humana e animal e um relevante papel socioeconômico, além de ser matéria-prima indispensável para diversos complexos agroindustriais (MAPA, 2014; LACERDA, 2016).

A cultura é atualmente a principal oleaginosa cultivada no Brasil, e na safra agrícola de 2019/2020, o Brasil voltou a ser o maior produtor mundial do grão, superando seu principal concorrente, os Estados Unidos da América (EUA), com 36.949,7 milhões de hectares de área plantada e produção estimada em 120,3 milhões de toneladas, 4,6% a mais em relação à safra 2018/19. A estimativa para safra 2020/21 é de 38.175,8 milhões de hectares e 133 milhões de toneladas produzidas (CONAB, 2020).

No entanto, apesar dessa estimativa de produção e das tecnologias disponíveis no Brasil, a ocorrência de diversos fatores limitantes como condições climáticas, fertilidade do solo, escolha de cultivares, qualidade de sementes, manejo de insetos, plantas daninhas e doenças tem dificultado cada vez mais a produção sustentável da soja no país, com a necessidade de investimentos em tecnologia e práticas de manejo adequadas (YORINORI, 2006; EMBRAPA, 2008; REUNIÃO, 2008; LACERDA 2016).

Dentre os fatores limitantes que acercam a cultura da soja, as doenças são consideradas como um dos mais importantes (EMBRAPA, 2013). Em torno de 40 doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides já foram identificadas no Brasil. Danos anuais de produção podem ficar entre 15 e 20%, enquanto para algumas doenças podem atingir até quase 100%, como, por exemplo, a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), que é a principal doença da soja atualmente (HENNING et al., 2014; EMBRAPA, 2016).

O fungo *Phakopsora pachyrhizi* é encontrado em quase todos os países que cultivam soja. Em 2000/2001 foi detectado no Brasil (no estado do Paraná) e Paraguai (YORINORI, 2006), e se espalhou rapidamente por todas as regiões produtoras do Brasil, Paraguai, Bolívia e alguns lugares da Argentina, tornando-se assim, uma ameaça em função dos danos e perdas causados. Nos EUA, a doença foi reportada em novembro de 2004 (NUNES, 2016). No entanto, a doença não é tão impactante

na produção dos EUA como no Brasil, mas o estabelecimento do fungo nesse país favorece a evolução de populações mais virulentas e adaptadas. Assim, os EUA tornaram-se o principal ponto de interesse das indústrias produtoras de soja, visando minimizar os impactos no custo de produção (FANG et al., 2010).

Devido às tecnologias de aplicação deficientes, conhecimento escasso da epidemiologia da doença e à quebra dos genes de resistência das cultivares de forma rápida, há aumento nos custos de produção e maior dificuldade para o controle da doença (YORINORI et al., 2004; EMBRAPA, 2008).

Altas temperaturas e longo período de molhamento foliar são as variáveis que mais influenciam o rápido desenvolvimento da ferrugem, que não está atrelada ao estágio fenológico, uma vez que a doença pode ocorrer nos primeiros estádios vegetativos em algumas regiões, como do Centro-Oeste (LACERDA, 2016). Nestas regiões que apresentam condições favoráveis ao desenvolvimento da ferrugem asiática da soja (FAS), os custos por safra podem chegar a US\$ 2 bilhões, incluindo as perdas de produção e custo com fungicidas para controle (CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2011; EMBRAPA, 2013).

Os sintomas causados pela FAS são visíveis e formam lesões amareladas e em forma de pústulas marrons ou bronzeadas nas folhas, principalmente na região abaxial. Conforme a doença evolui, os sintomas vão agravando e surgem mais pústulas, redução da área fotossintética, uma vez que destrói o tecido foliar, evoluindo para uma intensa desfolha e perda de produtividade, pois afeta o enchimento de grãos, que pode variar entre 30 a 80% (JULIATTI, 2005; AZEVEDO et al., 2007; RUPE; SCONYERS, 2008).

A disseminação da FAS acompanhou a expansão da cultura do Oriente para o Ocidente. Alguns aspectos são agravantes, como a monocultura, que dificulta o controle da doença, o aparecimento de diferentes raças do patógeno, atraso na semeadura, uso de alta população de plantas, falhas nas aplicações de fungicidas e sobrevivência do patógeno em plantas voluntárias e/ou hospedeiras (YORINORI, 2006).

Mesmo sendo uma doença de grande importância na cultura da soja, poucas são as alternativas para seu controle. Dentre elas, tem-se o vazio sanitário, que visa reduzir o inóculo, algumas cultivares tolerantes e o uso de fungicidas (JULIATTI et al., 2005). Por ser uma doença altamente destrutiva e devido à característica das ferrugens em desenvolverem resistência rapidamente (YAMAOKA et al., 2002) fazem

com que o uso de fungicidas seja indispensável e o principal método de controle. Uma vez que o patógeno tem alto potencial para desenvolver mutações e produzir uma grande variação dentro da população, estudar a diversidade e estrutura populacional da doença é muito importante para suportar os projetos de manejo (CAMPOS, 2018).

Devido ao frequente uso de fungicidas na cultura, a resistência do patógeno às moléculas químicas está sendo cada vez mais preocupante. Como exemplo tem-se o relato de seleção de populações de *P. pachyrhizi* resistentes aos triazóis na safra 2007/08 (GODOY, 2012), às estrobilurinas na safra de 2013/14 (KLOSOWSKI et al; 2016) e às carboxamidas na safra 2016/17 (SIMÕES et al; 2018) que são os três grupos químicos de sítio-específico mais usados na cultura da soja para controle da doença.

A Embrapa Soja estuda, desde a safra 2003/04, o desempenho dos fungicidas no controle da FAS. A princípio, fungicidas dos grupos químicos dos triazóis e as estrobilurinas eram recomendados, porém, com a mudança genética da população do patógeno e a resistência que foi desenvolvida pelo fungo a estes fungicidas, a recomendação de controle foi alterada. Assim, atualmente tem-se recomendado a aplicação de misturas dos triazóis, estrobilurinas e carboxamidas, com adição dos fungicidas multissítios, visando assim, a recuperação da eficácia dos produtos e preservação dos ingredientes ativos utilizados (ALVES; JULIATTI, 2018).

No entanto, mesmo com a eficiência dos produtos usados no controle da FAS, ainda existem alguns pontos críticos relacionados à tecnologia de aplicação, cruciais para o melhor manejo da doença. Apesar de ter recomendações das aplicações dos fungicidas de forma correta, e com a opção de multissítios, alguns trabalhos mostram falhas na tecnologia de aplicação dos fungicidas, tendo pouca eficácia no alcance do alvo e redução da perda de produto, tamanho das gotas de pulverização e taxa de aplicação ideal (MIORINI, 2015; GODOY et al., 2015).

A taxa de aplicação tem grande influência na deposição de forma uniforme das gotas nas folhas, uma vez que tem efeito direto no total de gotas produzidas. Atualmente, busca-se diminuir a taxa de aplicação (BOLLER; MACHRY, 2007), visando aumento da capacidade operacional dos pulverizadores e mitigação dos custos de produção. No entanto, é necessária uma otimização da tecnologia de aplicação para garantir que a eficiência das aplicações será mantida (CUNHA et al., 2010).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo comparar a eficácia e manejo de resistência dos fungicidas sítio-específico e multissítios, isolados ou em mistura, bem como o efeito de diferentes taxas de aplicação no controle da ferrugem asiática da soja e na produtividade da cultura.

CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO NO CONTROLE DA FERRUGEM DA SOJA E NA FREQUÊNCIA DE MUTAÇÕES GÊNICAS

1.1 INTRODUÇÃO

Os fungicidas começaram a ser utilizados para o controle de doenças na soja devido ao surto epidêmico de oídio, causado por *Microsphaera diffusa*, durante a safra agrícola 1996/97. No decorrer dos anos, foi aumentando a incidência de algumas doenças de final de ciclo, principalmente causadas por *Septoria glycines* e *Cercospora kikuchii*, o que aumentou a utilização dos fungicidas e o registro de novas moléculas. Posteriormente, com o surgimento da ferrugem asiática no país, novos produtos foram registrados (TECNOLOGIAS, 2014; CIRCULAR TÉCNICA, 2016).

De acordo com McGrath (2004), os fungicidas sistêmicos ou sítio-específico atuam em um único ponto da via metabólica do patógeno ou contra uma única enzima/proteína essencial para este (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016; CIRCULAR TÉCNICA, 2016; CIRCULAR TÉCNICA, 2018). Devido a esta ação específica, os fungos tendem a se tornarem resistentes ou menos sensíveis a estas moléculas fungicidas, uma vez que, uma única mutação no patógeno é capaz de reduzir a sensibilidade ao produto. Exemplo disto, populações do fungo *Corynespora cassicola* resistentes a metil benzimidazol carbamato (XAVIER et al., 2013) e *P. pachyrhizi* menos sensíveis aos inibidores da desmetilação e aos inibidores de quinona oxidase já foram relatadas (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016; CIRCULAR TÉCNICA, 2018).

Enquanto os fungicidas sistêmicos agem em sítios de ação específicos do fungo, os protetores atuam em multissítios, reduzindo as chances de seleção de indivíduos resistentes (GODOY et al., 2015). Menor sensibilidade do patógeno causador da ferrugem da soja aos fungicidas vem sendo observada, resultando em falhas de controle e redução de produtividade (GODOY et al., 2014). Em razão das particularidades dos fungicidas protetores, existe uma demanda crescente pela sua utilização na cultura da soja, seja de forma intercalada ou em mistura com fungicidas sítio-específico.

Um dos principais grupos de fungicidas sítio-específico para controle da ferrugem asiática da soja (FAS) são os Inibidores da Quinona externa (QoI, "estrobilurinas") e os Inibidores da Succinato Desidrogenase (SDHI, "carboxamidas")

que já apresentam resistência (SCHMITZ et al., 2014; SIMÕES et al., 2018). A resistência aos fungicidas QoI ocorre a partir de mutações no gene do citocromo b (BRASSEUR et al., 1996) na posição F129L, que seleciona isolados moderadamente resistentes (LEADBEATER, 2012). A resistência ao QoI foi primeiramente relatada na Europa após dois anos da introdução da molécula (DEISING et al., 2008; FERNANDEZ-ORTUÑO et al., 2008). No entanto, a mutação na posição 129 foi relatada na safra 2013/14 em populações do patógeno em diversas regiões produtoras de soja no Brasil (KLOSOWSKI et al., 2016).

No Brasil, a performance dos fungicidas SDHI vem sendo monitorada desde 2007 (FRAC, 2017). Na safra 2015/16 e, em especial na safra 2016/17, foram relatados casos de resistência à SDHI, principalmente em locais com alta pressão de doença. A resistência aos fungicidas SDHI pode ocorrer devido a diferentes mutações em 3 subunidades diferentes no gene: SDHb, SDHc e SDHd. No caso da ferrugem asiática, já foi relatada a mutação na posição I86F, que ocorre na subunidade C (FRAC, 2017; SIMÕES et al., 2018).

A durabilidade da resistência não é ainda avaliada seguramente, uma vez que as informações sobre a variabilidade do patógeno nas lavouras de soja são escassas (FREIRE et al., 2008). A diversidade genética dos organismos, como os fungos, é estudada por ferramentas moleculares que estão sendo cada vez mais difundidas. Tais ferramentas baseiam-se na hibridização do DNA, na análise de sequências de marcas gênicas, na amplificação de sequências repetitivas, e na digestão por restrição de produtos da amplificação de PCR (KOLLIKER et al., 2006). Marcadores moleculares de genes específicos, como é o caso do gene Citocromo B (CytB), vêm sendo muito utilizados em estudos com identificação de resistência e variabilidade em vários patógenos (BOLTON et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; KLOSOWSKI et al., 2016; CAMPOS, 2018).

O material genético da biodiversidade é essencial para os estudos da diversidade, uma vez que é a variação que concede o material para a seleção natural, e, assim, para a evolução de todas as espécies (ALLCOK et al., 1995). Vale ressaltar o papel das forças evolutivas no processo de coevolução de populações de plantas e fungos. Por meio das mutações, novos alelos irão surgir nas populações, que passam por seleção e são rearranjados pela recombinação genética, e estes alelos são dispersos quando ocorrem migrações de indivíduos de um local a outro (BARBIERI; CARVALHO, 2001).

O perigo em perder a eficiência dos fungicidas que estão disponíveis atualmente é que não há ainda nenhum mecanismo de ação novo para ser introduzido no mercado nos próximos anos. Por ser um processo natural, é altamente provável que a resistência aos fungicidas sítio-específico ocorrerá num curto espaço de tempo (FRAC, 2017).

Frente a este cenário e ao número reduzido de mecanismos de ação de fungicidas que estão disponíveis, bem como a baixa eficiência dos ingredientes ativos isolados, há grande dificuldade em rotacionar mecanismos de ação como método de manejo de resistência. Com isso, fungicidas com diferentes mecanismos de ação são necessários para controle das doenças, sendo o uso de fungicidas multissítios considerados para aumentar as opções de controle das doenças na cultura (CIRCULAR TÉCNICA, 2016). Os fungicidas multissítios agem em diferentes vias metabólicas do patógeno e têm baixo risco de resistência (McGRATH, 2004).

Mesmo com a opção do uso de multissítios, diversos trabalhos vêm apontando grandes falhas na tecnologia de aplicação dos fungicidas, não havendo boa eficiência no alcance do alvo e redução da perda de produto, entraves quanto às pontas de pulverização adequadas, à taxa de aplicação, horário de aplicação e tamanho das gotas de pulverização (MIORINI, 2015; GODOY et al., 2015; BERGER-NETO et al., 2017). A pulverização é o alicerce da tecnologia de aplicação e o sucesso dessa técnica é dependente da capacidade de deriva, da perda por escorrimento e da eficiência de cobertura do alvo. É influenciada por diversos fatores como o tipo de equipamento de pulverização, tipo de ponta de pulverização e propriedades físico-químicas da calda (CUNHA et al., 2003; BRONIARZ-PRESS et al., 2009), além da regulagem e calibração do pulverizador para uma taxa de aplicação estabelecida.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da taxa de aplicação sobre o controle da doença ferrugem asiática da soja e frequência de mutação gênica com fungicidas sítio-específico e multissítios, isolados ou em mistura.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida a campo, no Centro de Pesquisa da Corteva Agriscience™, no município de Mogi Mirim, SP, a 694 metros de altitude com as coordenadas geográficas: 22°26'54,52" S e 47°04'19,87" O. Para a condução dos experimentos, foi adotado o sistema de semeadura direta. Os experimentos foram conduzidos durante as safras agrícolas de 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020.

A cultura foi semeada sempre na primeira semana de janeiro nos anos de 2018, 2019 e 2020. Para o experimento, foi utilizada a cultivar de soja BMX Potência RR, com ciclo de desenvolvimento médio e hábito de crescimento indeterminado. O espaçamento entre linhas de plantio foi de 0,50 m e uma população de 300.000 plantas por hectare.

Os tratos culturais foram feitos de acordo com a necessidade, a partir da semeadura, visando uma melhor condução e homogeneidade da cultura e entre os blocos e parcelas. A adubação foi realizada com base na análise de solo local. As sementes foram tratadas com inseticida sistêmico clorantraniliprole (Dermacor®) na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹, fungicida sistêmico metalaxil-m + tiabendazol associado ao fludioxonil (Maxim Advanced) na dose de 500 mL 100 kg sementes⁻¹ e inoculante Biomax® na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com 11 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram distribuídos no esquema fatorial 2 x 5 + 1, sendo: 2 taxas de aplicação (80 e 160 L ha⁻¹); 5 fungicidas: picoxistrobina + benzovindiflupir (Vessarya); picoxistrobina + benzovindiflupir (Vessarya) associado ao mancozebe (Dithane NT); piraclostrobina + fluxapiroxade (Orkestra SC); piraclostrobina + fluxapiroxade (Orkestra SC) associado ao mancozebe (Dithane NT); somente mancozebe (Dithane NT) e mais um tratamento sem aplicação (Quadro 1). As taxas de aplicação selecionadas de 80 e 160 L ha⁻¹ variam entre a taxa reduzida média empregada na região Centro Oeste do Brasil (KASSIS *et al.*, 2017) e a taxa recomendada nas bulas dos fabricantes dos fungicidas em teste (DUPONT s.d.; DOW AGROSCIENCE s.d.; BASF, s.d.).

Quadro 1 - Relação dos tratamentos utilizados nos experimentos.

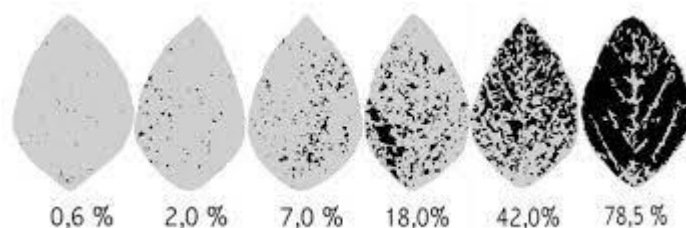
Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	Ingrediente(s) ativo(s)	Dose (g de i.a. ha ⁻¹)	Dose (g ou mL de p.c. ha ⁻¹)
80	picoxistrobina + benzovindiflupir	60 + 30	600
160	picoxistrobina + benzovindiflupir	60 + 30	600
80	picoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe	60 + 30 + 1200	600 + 1500
160	picoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe	60 + 30 + 1200	600 + 1500
80	piraclostrobina + fluxapiroxade	117 + 59	350
160	piraclostrobina + fluxapiroxade	117 + 59	350
80	piraclostrobina + fluxapiroxade + mancozebe	117 + 59 + 1200	350 + 1500
160	piraclostrobina + fluxapiroxade + mancozebe	117 + 59 + 1200	350 + 1500
80	Mancozebe	1200	1500
160	Mancozebe	1200	1500
-	Testemunha	-	-

Os fungicidas foram aplicados em três épocas, a primeira realizada no estágio fenológico R1, a segunda em R1 mais 14 dias e, a terceira, em R1 mais 28 dias. Para as taxas de aplicação de 80 e 160 L ha⁻¹ foi utilizado um pulverizador pressurizado por CO₂ e uma barra lateral equipada com 4 pontas de pulverização de jato plano, modelo XR110015, na pressão de 276 kPa, alterando apenas a velocidade de deslocamento, de 6,7 e 3,4 km h⁻¹ para as respectivas taxas de aplicação.

1.2.1 Avaliação da doença

A avaliação da FAS foi realizada a partir da primeira aplicação, no estágio fenológico R1. Para isso, semanalmente foram coletados ao acaso 3 trifólios da região inferior, e na mesma quantidade das regiões média e superior das plantas nas duas linhas centrais das parcelas. Posteriormente, foram atribuídas notas visuais aos sintomas nas amostras, utilizando escala diagramática da doença (GODOY et al., 2006) (Figura 1).

Figura 1 - Escala Diagramática para ferrugem da soja (GODOY et al., 2006).



Para a determinação da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), proposta por Campbell e Madden (1990), foram utilizados os valores médios da severidade da doença obtidos nas parcelas e nas respectivas datas de avaliação. A AACPD foi determinada conforme a Equação (E2).

$$\text{AACPD} = \sum [(x_{i+1} + x_i)/2] \times (t_{i+1} - t_i) \quad \text{(E2)}$$

Em que:

x = severidade média da doença ferrugem asiática na parcela experimental;

x_i = severidade média da doença na parcela experimental no tempo t_i ;

n = número de avaliações;

t = data da avaliação;

$(t_{i+1} - t_i)$ = intervalo de tempo (dias) entre duas avaliações consecutivas.

Os dados de AACPD obtidos nos experimentos foram transformados em % de controle através da fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925) para análises posteriores.

1.2.2 Análise molecular – Detecção e quantificação das mutações F129L e I86F

1.2.2.1 Coleta de Amostras

Dez trifólios com severidade acentuada da doença (lesões esporulando) foram coletados separadamente das parcelas com aplicação de diferentes fungicidas e taxas de aplicação. No total, foram coletadas 11 amostras em cada safra agrícola. As coletas foram feitas 14 dias após a última aplicação de fungicida, em horários sem umidade de orvalho ou chuva, sendo acondicionados em sacos de papel. As amostras foram encaminhadas para o laboratório de Fitopatologia do Centro de Pesquisa da Corteva

Agriscience™ em Mogi Mirim, SP. Os uredósporos presentes nas folhas foram coletados por bomba de vácuo e acondicionados em tubos criogênicos, que ficaram armazenados em freezer a -80°C para posterior extração do DNA.

1.2.2.2 Extração de DNA

A partir dos esporos coletados fizeram-se as extrações do DNA genômico, utilizando o kit DNeasy Plant Mini Kit – Qiagen, seguindo as instruções do fabricante. A quantificação do DNA extraído foi feita por NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific). Para detecção no nanodrop, foram utilizados 2 µL de cada amostra extraída.

A integridade das amostras de DNA também foi visualizada em eletroforese com gel de agarose 1,0%. A partir da quantificação das amostras, foi feita diluição para padronização das amostras. A concentração final de cada amostra de DNA foi de 10 ng/ µL.

1.2.2.3 Detecção e frequência das mutações F129L e I86F, utilizando NGS-*Sequencing*

Foram analisadas duas mutações responsáveis pela resistência de *P. pachyrhizi* aos fungicidas dos grupos das estrobilurinas e carboxamidas. Para identificação e quantificação das mutações F129L e I86F que conferem resistência do fungo, respectivamente, ao grupo das estrobilurinas e carboxamidas, os DNAs extraídos de cada amostra foram amplificados utilizando *primers* específicos para os genes CytB e SDHc. Para amplificação do gene CytB, utilizaram-se os iniciadores PpCytB (5'-ATCCCTAGTGTGGATATAGC-3') e PpCytBR (5'TCGCTTGGCTATCATATCTG-3') desenvolvidos a partir da sequência já depositada no GenBank: DQ209281.1 (GRASSO et al., 2006). Para o gene SdHc, os primers ainda foram desenhados também utilizando sequências já depositadas no Genbank.

O protocolo de amplificação e preparação para sequenciamento utilizado foi uma adaptação do 16S Metagenomic Sequencing Library – Illumina (Illumina Inc., San Diego, CA). Para isso foram adicionados aos primers os adaptadores Forward

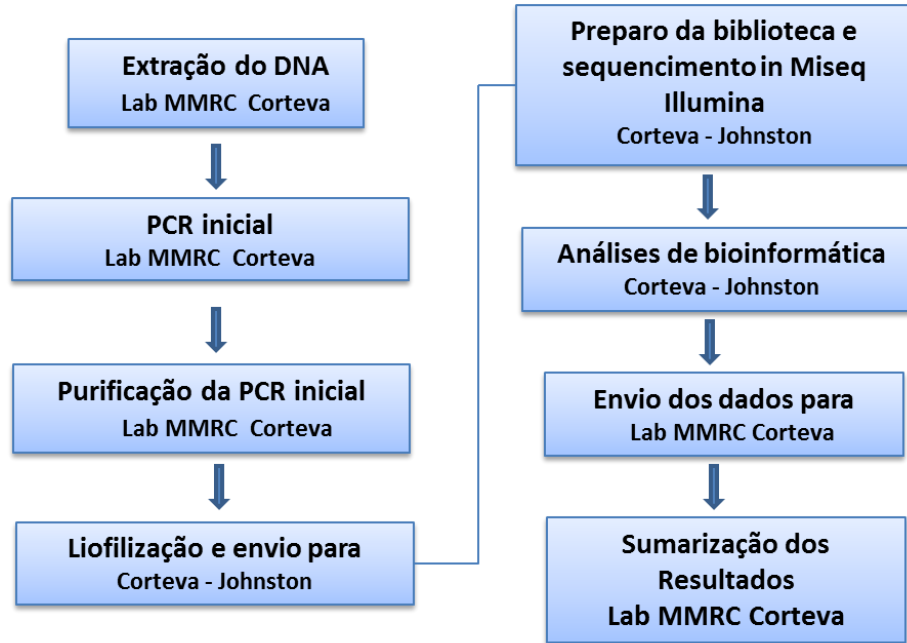
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG e Reverse
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG. Esses adaptadores são
específicos para os sequenciadores Illumina. A metodologia de detecção e
quantificação utilizada foi a de *NGS-Sequencing* ou sequenciamento de nova geração,
utilizando a plataforma Miseq-illumina (Illumina Inc., San Diego, CA) (ILLUMINA
protocol, 2013).

As onze amostras foram analisadas tanto para presença (qualitativo) quanto
para a frequência (quantitativo) das mutações F129L e I86F. O resultado foi expresso
em porcentagem de Mutantes (sequências com presença da mutação) e Wild-type
(sequências sem mutação) para cada uma das amostras em análise.

As reações em cadeia da polimerase foram realizadas em volume final de 25
 μ L. A concentração final dos iniciadores foi de 0,2 μ M. Os reagentes utilizados foram
os do kit KAPA HiFi HotStart ReadyMix (2X) – Roche, segundo protocolo do fabricante.
A quantidade de DNA utilizada para cada reação foi testada, variando de 10 a 20 ng.
A Proteína – C Reativa (PCR) foi conduzida em termociclador Applied Biosystems®
Veriti® Thermal Cycler. As amplificações foram otimizadas fazendo-se um gradiente
com ciclo inicial de 95°C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos,
com temperatura de reassociação de 55 a 60 °C por 30 segundos e 72 °C por 30
segundos, com fase final de extensão a 72 °C, por 5 minutos.

As amplificações foram visualizadas em gel de agarose 1,5% pela intensidade
de fluorescência emitida por Sybr Safe® sob luz UV. Os produtos de PCR foram
purificados utilizando o Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-up System - Promega, e
quantificados em NanoDrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer - Thermo Scientific.
Após a quantificação, foi feita a diluição, padronização e liofilização das amostras para
o envio à biblioteca, *NGS-sequencing* e análises de bioinformática na Unidade
Corteva – Johnston em Iowa, Estados Unidos da América (EUA). Na **Figura 1**
apresenta-se um fluxograma das etapas desde a extração até as análises de
bioinformática.

Figura 2 – Fluxograma do trabalho molecular realizado para as amostras de ferrugem asiática, da extração até a sumarização dos dados.



1.2.3 Análise estatística dos dados

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de homogeneidade, normalidade. Assim, os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) por meio do teste F a 5% de probabilidade e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na safra 2017/2018, a taxa de aplicação não interferiu significativamente no controle da ferrugem da soja na cultivar BMX potência, demonstrando que a taxa de 80 L ha⁻¹ tem controle satisfatório da doença quando comparada à maior taxa de 160 L ha⁻¹. Na comparação entre os produtos, o que apresentou melhor média de controle da ferrugem da soja foi o que continha os ingredientes ativos (i.a.) picoxistrobina mais benzovindiflupir (63,25%), seguido do mesmo produto, porém em mistura com mancozebe (60,37%) e piraclostrobina mais fluxapiróxade (48,87%). O tratamento que apresentou menor média de porcentagem de controle foi o fungicida mancozebe com 29,0% (Tabela 1).

Tabela 1 – Controle (%) da ferrugem da soja utilizando diferentes ingredientes ativos em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência na safra 2017/18.

Taxa (T) * Produto (P)	Controle (%)		
	160 L ha ⁻¹	80 L ha ⁻¹	Média
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	64,25	62,25	63,25 a
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	63,00	57,75	60,37 ab
Piraclostrobina + Fluxapiróxade	49,25	48,50	48,87 ab
Piraclostrobina + Fluxapiróxade + Mancozebe	50,00	45,75	47,87 b
Mancozebe	29,50	28,50	29,00 c
Média	51,20	48,55	
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	0,66 ^{NS}	0,4241	
Produto (P)	13,65 ^{**}	<0,0001	
T * P	0,08 ^{NS}	0,9892	

^{NS}: Não significativo; ^{**} significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Para a mesma safra, a maior porcentagem de mutação (7,0%) do gene SdhC, causando a substituição do aminoácido I86F, foi encontrada nos tratamentos que continham o i.a. pertencente ao grupo das carboxamidas. A taxa de aplicação não demonstrou grande relevância na porcentagem de mutação do gene em questão, apenas para o tratamento que continha o produto com os ingredientes ativos piraclostrobina mais fluxapiróxade, apresentando 3,0 % de frequência de ocorrência da mutação na taxa de 80 L ha⁻¹ e 7,0 % na taxa de 160 L ha⁻¹ (Tabela 2).

Em relação à mutação no citocromo b, mais especificamente na substituição do aminoácido F129L, a frequência de indivíduos com a mutação teve a maior porcentagem no tratamento com os ingredientes ativos picoxistrobina mais

benzovindiflupir associados ao mancozebe (25,0%). Não é possível definir um padrão claro em relação à interferência da taxa de aplicação na frequência de mutação F129L, contudo para o tratamento com os ingredientes ativos picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao mancozebe, na taxa de 80 L ha⁻¹ foram observados 12,0% a mais de indivíduos com a mutação em comparação à taxa de 160 L ha⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2 – Mutação (%) dos genes I86F e F129L em população de *Phakopsora pachyrhizi*, na cultivar BMX Potência na safra 2017/18.

Produto	Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	Mutações	
		I86F	F129L
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	7%	18%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	6%	15%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	7%	25%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	7%	13%
Piraclostrobina + Fluxapiraxade	80	3%	13%
Piraclostrobina + Fluxapiraxade	160	7%	19%
Piraclostrobina + Fluxapiraxade + Mancozebe	80	0%	4%
Piraclostrobina + Fluxapiraxade + Mancozebe	160	2%	9%
Mancozebe	80	0%	2%
Mancozebe	160	0%	0%
Testemunha	-	0%	0%

Na safra 2018/19, assim como na safra anterior, a taxa de aplicação não foi fator determinante no controle da doença, pois para ambas as taxas de aplicação não houve diferença significativa no controle da ferrugem da soja. Em média, dentre os produtos utilizados, os que apresentaram melhor controle foram os produtos associados ao fungicida mancozebe com 47,75% e 43,12% de controle. O fungicida Mancozebe aplicado isoladamente, sem mistura de outros ingredientes ativos, apresentou menor média de controle (27,87%), juntamente com a mistura fungicida picoxistrobina + fluxapiraxade (27,25%), evidenciando melhor controle da doença quando há a associação de fungicidas sítio-específico e fungicida multissítios (Tabela 3).

Tabela 3 – Controle (%) da ferrugem da soja utilizando diferentes ingredientes ativos em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência na safra 2018/19.

Taxa (T) * Produto (P)	Controle (%)		
	160 L ha ⁻¹	80 L ha ⁻¹	Média
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	33,75	40,25	37,00 b
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	48,50	47,00	47,75 a
Piraclostrobina + Fluxaproxade	29,50	25,00	27,25 c
Piraclostrobina + Fluxaproxade + Mancozebe	43,75	42,5	43,12 a
Mancozebe	27,75	28,00	27,87 c
Média	36,65	36,55	
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	0,01 ^{NS}	0,9396	
Produto (P)	38,63 ^{**}	<0,0001	
T * P	1,94 ^{NS}	0,1299	

^{NS}: Não significativo; ^{**} significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Na safra 2018/19, a frequência de indivíduos com as mutações I86F e F129L aumentou de maneira expressiva em comparação à safra anterior, chegando a 100% da mutação F129L na maioria dos tratamentos que continham i.a. do grupo das estrobilurinas. A frequência de mutações I86F, em relação a F129L, foram relativamente menores, chegando ao máximo de 44% no tratamentos que continham os ingredientes ativos picoxistrobina mais benzovindiflupir (Tabela 4).

Tabela 4 – Mutação (%) dos genes I86F e F129L em população de *Phakopsora pachyrhizi*, na cultivar BMX Potência na safra 2018/19.

Produto	Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	Mutações	
		I86F	F129L
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	44%	100%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	32%	89%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	43%	100%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	44%	100%
Piraclostrobina + Fluxaproxade	80	38%	100%
Piraclostrobina + Fluxaproxade	160	38%	100%
Piraclostrobina + Fluxaproxade + Mancozebe	80	42%	100%
Piraclostrobina + Fluxaproxade + Mancozebe	160	42%	100%
Mancozebe	80	27%	81%
Mancozebe	160	27%	82%
Testemunha	-	29%	83%

Para a safra de 2019/20, a taxa de aplicação mostrou-se fator contribuinte para o controle da doença apenas no tratamento com o fungicida mancozebe quando aplicado sem estar em mistura com outros i.a., sendo a maior média de controle

quando realizada a aplicação com a taxa de 160 L ha⁻¹. O tratamento picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao mancozebe obteve maior média de controle (72,25%), seguido por piraclostrobina mais fluxapiroxade associados ao mancozebe.

Novamente fica evidenciado melhor controle na associação entre fungicida multissítios e fungicidas de sítio-específico. O tratamento com menor valor médio de controle foi aquele apenas com o fungicida mancozebe (20,0%), na menor taxa de aplicação (Tabela 5).

Tabela 5 – Controle (%) da ferrugem da soja utilizando diferentes ingredientes ativos em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência na safra 2019/20.

Taxa (T) * Produto (P)	Controle (%)			
	160 L ha ⁻¹		80 L ha ⁻¹	
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	52,25	aB	58,00	aB
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	72,75	aA	72,75	aA
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	53,00	aB	50,00	aB
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	65,00	aB	63,00	aAB
Mancozebe	36,75	aC	20,00	bC
Média				
Causas de variação	Teste F		Probabilidade	
Taxa (T)	2,33 ^{NS}		0,137	
Produto (P)	50,85 ^{**}		<0,0001	
T * P	3,14 [*]		0,0286	

^{NS}: Não significativo; * significativo a $p \leq 0,05$; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os valores de controle (%) entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam valores de controle (%) entre os fungicidas (linhas).

De modo geral, para a safra de 2019/20, as frequências das mutações I86F e F129L mantiveram-se com pouca variação, com exceção dos tratamentos que continham o fungicida mancozebe. Nos tratamentos contendo o fungicida mancozebe, em comparação à safra anterior, pode-se destacar redução na frequência da mutação de 26,0% de I86F e 56,0% de F129L para a mistura picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao mancozebe, na taxa de aplicação de 80 L ha⁻¹.

Para a mistura piraclostrobina mais fluxapiroxade associados ao mancozebe, em ambas as taxas de aplicação houve redução considerável na frequência da mutação dos indivíduos em relação à safra 2018/19. Na taxa de 160 L ha⁻¹, redução de 13,0% para a mutação I86F e 29,0% para a F129L. Na taxa de aplicação de 80 L ha⁻¹, houve redução de 16,0% para a mutação I86F e 25,0% para a F129L. Para o tratamento contendo apenas o fungicida mancozebe houve também expressiva redução na frequência de indivíduos com as mutações (Tabela 6).

Tabela 6 – Mutação (%) dos genes I86F e F129L em população de *Phakopsora pachyrhizi*, na cultivar BMX Potência na safra 2019/20.

Produto	Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	Mutações	
		I86F	F129L
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	46%	95%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	37%	80%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	17%	44%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	39%	81%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	80	39%	92%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	160	39%	96%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	80	26%	71%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	160	29%	75%
Mancozebe	80	5%	18%
Mancozebe	160	4%	16%
Testemunha	-	7%	21%

Para as três safras agrícolas (17/18; 18/19; 19/20), não é possível definir um padrão que correlacione a taxa de aplicação com o aumento ou diminuição da frequência da ocorrência de indivíduos com as mutações dos genes I86F e F129L, dessa forma pode-se inferir que a taxa de aplicação, nesse caso, não interfere na frequência de indivíduos *P. pachyrhizi* mutantes.

Mutações no sítio alvo de ação citocromo b (CYTB) podem resultar em menor sensibilidade do patógeno a fungicidas do grupo dos inibidores da quinona externa ou estrobilurinas devido à menor afinidade de ligação relacionada às mutações na sequência de aminoácidos (FERNÁNDEZ-ORTUÑO et al., 2008). Durante as três safras, e com o uso contínuo dos mesmos ingredientes ativos, foi possível notar o aumento na porcentagem de indivíduos com a mutação F129L, responsável por conferir menor sensibilidade as estrobilurinas.

Em relação à mutação I86F, responsável pela menor sensibilidade aos fungicidas inibidores da succinato desidrogenase ou carboxamidas (SIMÕES et al., 2018), a partir da segunda safra, o aumento dos indivíduos com a mutação também foi expressivo, seguindo padrões similares à mutação F129L. Contudo, a porcentagem de mutação foi diferente entre a mutação F129L, que foi muito mais expressiva quando comparada à I86F. Dois fatores podem contribuir para este fato, o primeiro diz respeito ao tempo de uso de cada produto no Brasil, em que nos primeiros anos, a maioria dos fungicidas utilizados para controle da ferrugem da soja pertencia ao grupo dos inibidores da desmetilação (DMI) e a uma mistura com inibidores externos de quinona

(Qols). As carboxamidas foram introduzidas no mercado brasileiro somente em 2013 (GODOY et al., 2016).

Além disso, o custo adaptativo ou "*fitness cost*" de cada mutação é diferente. Para a mutação I86F, o desenvolvimento inicial e virulência dos indivíduos com a mutação é mais rápido quando comparado ao indivíduo suscetível, contudo, quando misturados os indivíduos resistentes apresentam desvantagem competitiva em relação aos suscetíveis (BORBA, 2019).

Para a mutação F129L, isolados com o gene de mutação não apresentaram desvantagem competitiva em comparação aos isolados selvagens (suscetíveis). Além disso, mutações ligadas à perda de sensibilidade aos fungicidas inibidores da quinona externa já foram relatadas nas posições 129, 137 e 143 no gene CYTB, sendo a mais comum a G143A, porém, é também a mutação que apresenta maior custo adaptativo ao fungo, já a mutação F129L, apesar de ser uma maneira menos eficiente de adaptação, se mostrou com menor *fitness cost* e estável (GISI et al., 2002; KLOSOWSKI et al., 2016).

A mistura entre fungicidas de sítio específico e multissítios além da melhora no controle da doença, também proporcionou, na maioria dos casos, diminuição na frequência de indivíduos com menor sensibilidade aos fungicidas da classe das estrobilurinas. Segundo Van Den Bosch et al. (2014), em revisão, num total de 27 misturas fungicidas, utilizando fungicidas multissítios em comparação com fungicidas de sítio-específico aplicados sozinhos, 24 misturas demonstraram redução na seleção de indivíduos resistentes.

1.4 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais em que o estudo foi realizado conclui-se que no geral a redução da taxa de aplicação de 160 L ha⁻¹ para 80 L ha⁻¹ não teve influência significativa tanto no controle da ferrugem da soja quanto na porcentagem de indivíduos (*P. pachyrhizi*) com as mutações I86F e/ou F129L.

REFERÊNCIAS

- ALLCOCK, A. L., *et al.* Genetic diversity as a component of biodiversity. In: HEYWOOD, V. H.; WATSON, R. T. (eds.), **Global Biodiversity Assessment**. Cambridge University Press: Cambridge, p. 57-88, 1995.
- BARBIERI, R.L., CARVALHO, F.I.F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 7, p. 79-161, 2001.
- BERGER-NETO, A. *et al.* Effect of spray droplet size, spray volume and fungicide on the control of white mold in soybeans. **Crop Protection**, v. 92, p. 190-197, 2017.
- BOLTON, M. D., RIVERA, V, SECOR, G. Identification of the G143A mutation associated with Qol resistance in *Cercospora beticola* field isolates from Michigan, United States. **Pest management science**, v. 69, n. 1, p. 35-39, 2013.
- BORBA, J. P. **Does the I86F mutation of succinate dehydrogenase subunit c increase fungicide resistance and have a fitness in Asian Soybean Rust (Phakopsora pachyrhizi)?** 2019. 73 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Usp - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2019.
- BRASSEUR, G., SARIBAS, A.S., DALDAL, F. A compilation of mutations located in the cytochrome b subunit of the bacterial and mitochondrial bc1 complex. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1275:61-69, 1996.
- BRONIARZ-PRESS, L. *et al.* The atomization of wateroil emulsions. **Exper. Thermal Fluid Sci.**, v. 33, n. 6, p. 955-962, 2009.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley e Sons, 532p., 1990.
- CAMPOS, J.B. de. **Diversidade, estrutura populacional e análise da variabilidade do gene CytB em populações de Phakopsora pachyrhizi**. 2018. 76 f. Dissertação (Mestrado)- Curso de Genética e Biologia Molecular, Genética Vegetal e Melhoramento, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.
- CANTERI, M.G.; GODOY, C.V. Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem da soja. In: XXVI Congresso Paulista de Fitopatologia, 2003, Araras. **Summa Phytopathologica**. Botucatu: Grupo Paulista de Fitopatologia. v.29. p 89-89, 2003.
- CORRÊA, H. G. Redução da evaporação de gotículas contendo herbicida, com emprego de deoxitilenodocosanol. **Bragantia, Campinas**, v. 44, p. 159-171, 1985.
- CUNHA, J.P.A.R. *et al.* Avaliação de estratégias para a redução da deriva de agrotóxicos em pulverizações hidráulicas. **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.325-32, 2003.
- DEISING, H.B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S.F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, 39:286-295, 2008.
- FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D. *et al.* Mechanisms of resistance to Qol fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2008.

FRAC- **Comitê de ação a resistência a fungicidas**. 2017. Disponível em <<http://www.frac-br.org/soja>> Acesso em: 10 jan.2021.

FREIRE, M.C.M. *et al.* Evolutionary history of *Phakopsora pachyrhizi* (the Asian soybean rust) in Brazil based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of the nuclear ribosomal DNA. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.920-931, 2008.

GISI, U. *et al.* Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, n. 9, p. 859–867, 2002.

GODOY, C. V. *et al.* **Eficiência de fungicidas multissítios no controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: EMBRAPA, p. 8, 2018. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 144).

GODOY, C.V. Risk and management of fungicide resistance in the asian soybeanrust fungus *Phakopsora pachyrhizi*. In: THIND, S.T. (ed.) **Fungicide Resistance in Crop Protection**. Punjab Agricultural University, India. pp.87-95, 2012.

GODOY, C.V. *et al.* **Eficiência de fungicidas multissítios no controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: EMBRAPA, p. 7. 2016 . (Embrapa Soja. Circular Técnica, 121).

GLASS, C. R. *et al.* Recent advances in computational fluid dynamics relevant to the modelling of pesticide flow on leaf surfaces. **Pest Manag. Sci.**, v. 66, n. 1, p. 2-9, 2010.

ILLUMINA PROTOCOL, **16S Metagenomic Sequencing Library**, 2013. Disponível em: <https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf>.

KOLLIKER, R. *et al.* Genetic diversity and pathogenicity of the grass pathogen *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*. **Systematics and Applied Microbiology**. v. 29, p.109-119, 2006.

KLOSOWSKI, A.C. *et al.* Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, v. 72, p. 1211– 1215, 2016 a.

KLOSOWSKI, A. C. *et al.* Competitive fitness of *Phakopsora pachyrhizi* isolates with mutations in the CYP51 and CYTB genes. **Phytopathology**, v. 106, n. 11, p. 1278–1284, 2016 b.

LEADBEATER, A. Resistance risk to Qoi fungicides and anti-resistance strategies. In: THIND, S.T. (ed.) **Fungicide Resistance in Crop Protection**. Punjab Agricultural University, India. Pp.141- 154, 2012.

MATTHEWS, G. A. (Org). Pesticides Application Methods. England: **Longman Scientific & Technical**, p. 405., 1992.

MCGRATH, M. T. What are fungicides? **The Plant Health Instructor**. 2004. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0825-01.

MIORINI, T.J.J. **Métodos de aplicação e de avaliação do residual de fungicidas no controle de mofo-branco em soja e feijão**. 2015. 140 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

OLIVEIRA, S.C. *et al.* Cross-resistance to QoI fungicides azoxystrobin and pyraclostrobin in the wheat blast pathogen *Pyricularia oryzae* in Brazil. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.4, p.298-304, 2015.

SIMÕES, K. *et al.* 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.

SOUZA, D. M. *et al.* Impacto do volume de calda com fungicidas no controle da ferrugem asiática e produção da soja. In: VIII Sintag – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO., 2017, Campinas. **Anais do VIII SINTAG**. Botucatu: FEPAF, 2017. v. 1. p. 87-90.

SCHMITZ, H. K. *et al.* Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidoreductase inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, p. 378-388, 2014.

TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: **Embrapa Soja**, 265 p., 2013.

VAN DEN BOSCH, F. *et al.* Mixtures as a fungicide resistance management tactic. **Phytopathology**, v. 104, n. 12, p. 1264–1273, 2014.

XU, L. *et al.* Adjuvant effects on evaporation time and wetted area of droplets on waxyleaves. **Transactions of the ASABE**, 53 (1), p. 13-20, 2010.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO NA SEVERIDADE DA FERRUGEM E NA PRODUTIVIDADE DA SOJA

2.1 INTRODUÇÃO

A soja é uma cultura economicamente importante para os produtores de todo o mundo (MURITHI et al., 2016). A ferrugem da soja (FAS) é, no entanto, a doença mais desafiadora dessa cultura no Brasil (GODOY et al., 2016), não apenas porque a doença tem uma rápida disseminação, mas também por causar reduções significativas de produtividade (PRADO et al., 2015). Apesar de muitos estudos sobre o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes ao fungo *P. pachyrhizi*, o controle tem sido difícil devido à variabilidade e plasticidade da população do patógeno (LANGENBACH et al., 2016; VUONG et al., 2016; CHILDS et al., 2018).

Assim, a estratégia de manejo mais eficaz para suprimir a severidade da FAS e mitigar as perdas de produtividade é a aplicação sequencial de fungicidas (SCHERM et al., 2009; COSTA et al., 2015; PRADO et al., 2015). O controle é alcançado com a escolha correta dos fungicidas, sendo os três principais grupos de fungicidas sítio-específico utilizados no Brasil: Inibidores da Desmetilação (IDM, “triazóis”), Inibidores da Quinona externa (IQe, “estrobilurinas”) e Inibidores da Succinato Desidrogenase (ISDH, “carboxamidas”) (GODOY et al., 2016b; GODOY et al., 2019).

Para o manejo de qualquer doença se utilizam diversas ferramentas para se obter controle eficiente e sem contaminação de outras áreas. Assim, a tecnologia de aplicação é de extrema importância, e visa determinar a taxa de aplicação adequada, o tamanho de gotas para um depósito uniforme, melhor distribuição da calda e menor perda do produto por deriva (CONSTANTIN et al., 2012).

Nos últimos anos, a redução das taxas de aplicação tem sido praticada por produtores visando aumentar a capacidade operacional do pulverizador, reduzindo custos de produção (BAYER et al., 2011), o que torna a seleção das pontas de pulverização e a manutenção dos equipamentos bastante criteriosas e importante na tomada de decisão (SOUZA et al., 2012).

Apesar dos benefícios da aplicação de fungicidas com taxas de aplicação reduzidas, é importante conhecer até que ponto estas taxas podem ser reduzidas sem afetar a eficácia das aplicações dos fungicidas (GARCERA et al., 2011). Em estudos

anteriores, as taxas de aplicação de 60 a 187 L ha⁻¹ não impactaram a quantidade de depósitos em todo o dossel da soja (DERKSEN et al., 2008; PRADO et al., 2015). Reduções excessivas das taxas de aplicação devem ser consideradas para evitar controle inadequado de FAS e maiores perdas de rendimento.

Cunha et al. (2006), visando avaliar o controle químico de FAS e a deposição da calda fungicida aplicada na cultura da soja, em função de diferentes taxas de aplicação (115 e 160 L ha⁻¹) e tipos de ponta de pulverização, constataram que a aplicação de fungicida promoveu aumento médio de produtividade da soja de 41% em relação à testemunha, evidenciando que o controle da ferrugem foi viável, independentemente do tipo de ponta de pulverização ou da taxa de aplicação.

Souza et al. (2017), objetivando avaliar o impacto da taxa de aplicação (50, 80, 110 e 150 L ha⁻¹) dos fungicidas mancozebe (Unizeb Gold®), trifloxistrobina + protioconazol (Fox®) e a mistura (trifloxistrobina + protioconazol e mancozebe) no controle da FAS, bem como na produção da cultura, relataram uma relação inversa entre taxa de aplicação e a AACPD e relação direta entre taxa de aplicação e a produtividade média da cultura. No tratamentos com o fungicida Fox® e na mistura do fungicida com mancozebe, obtiveram-se valores menores de AACPD em maiores taxas de aplicação. Já para o fungicida Unizeb Gold®, não houve diferença significativa da AACPD, independente da taxa de aplicação. A adição do fungicida protetor Unizeb Gold® à calda proporcionou redução significativa da AACPD quando usada a menor taxa de aplicação.

Mesmo sabendo que proporcionar uma cobertura adequada do produto no dossel da soja seja importante para minimizar os danos causados por *P. pachyrhizi*, a literatura ainda é precária em estudos detalhando as taxas de aplicação mais adequadas, o que pode variar com o modo de ação do fungicida, nível de cobertura desejado, estágio de desenvolvimento da cultura, tamanho das gotas, tecnologia de aplicação e condição meteorológica.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi comparar a eficácia dos fungicidas sítio-específico e multissítios, isolados ou em mistura, em diferentes taxas de aplicação na severidade da ferrugem asiática da soja, bem como na produtividade da cultura.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida a campo, no Centro de Pesquisa da Corteva Agriscience™, no município de Mogi Mirim, SP, a 694 metros de altitude com as coordenadas geográficas: 22°26'54,52" S e 47°04'19,87" O. Para a condução dos experimentos foi adotado o sistema de semeadura direta. Os experimentos foram conduzidos durante as safras agrícolas de 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020.

A cultura foi semeada sempre na primeira semana de janeiro, nos anos de 2018, 2019 e 2020. Foi utilizada a cultivar de soja BMX Potência RR, com ciclo de desenvolvimento médio e hábito de crescimento indeterminado. O espaçamento entre linhas de plantio foi de 0,50 m e uma população de 300.000 plantas por hectare.

Os tratos culturais foram feitos de acordo com a necessidade a partir da semeadura, visando melhor condução e homogeneidade da cultura e entre os blocos e parcelas. A adubação foi realizada com base na análise de solo local. As sementes foram tratadas com inseticida sistêmico clorantraniliprole (Dermacor®) na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹, fungicida sistêmico metalaxil-m + tiabendazol associado ao fludioxonil (Maxim Advanced) na dose de 500 mL 100 kg sementes⁻¹ e inoculante Biomax® na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com 11 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram distribuídos no esquema fatorial 2 x 5 + 1, sendo: 2 taxas de aplicação (80 e 160 L ha⁻¹); 5 fungicidas: picoxistrobina + benzovindiflupir (Vessarya); picoxistrobina + benzovindiflupir (Vessarya) associado ao mancozebe (Dithane NT); piraclostrobina + fluxapiroxade (Orkestra SC); piraclostrobina + fluxapiroxade (Orkestra SC) associado ao mancozebe (Dithane NT); somente mancozebe (Dithane NT) e mais um tratamento sem aplicação (Quadro 2). As taxas de aplicação selecionadas de 80 e 160 L ha⁻¹ variam entre a taxa reduzida média empregada na região Centro Oeste do Brasil (KASSIS *et al.*, 2017) e a taxa recomendada nas bulas do fabricantes dos fungicidas em teste (DUPONT s.d.; DOW AGROSCIENCE s.d.; BASF, s.d.).

Os fungicidas foram aplicados em três épocas, a primeira realizada no estágio fenológico R1, a segunda em R1 mais 14 dias e, a terceira, em R1 mais 28 dias. Para as taxas de aplicação de 80 e 160 L ha⁻¹ foi utilizado um pulverizador pressurizado por CO₂ e uma barra lateral equipada com 4 pontas de pulverização de jato plano, modelo XR110015, na pressão de 276 kPa, alterando apenas a velocidade de deslocamento,

de 6,7 e 3,4 km h⁻¹ para as respectivas taxas de aplicação.

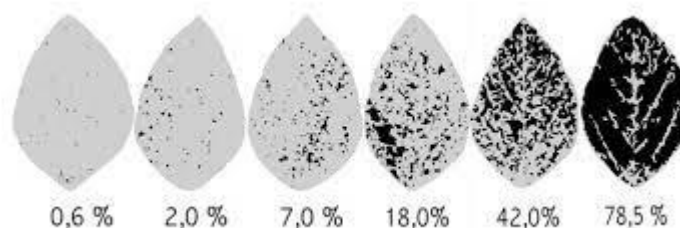
Quadro 1: Relação dos tratamentos utilizados nos experimentos.

Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	Ingrediente(s) ativo(s)	Dose (g de i.a. ha ⁻¹)	Dose (g ou mL de p.c. ha ⁻¹)
80	picoxistrobina + benzovindiflupir	60 + 30	600
160	picoxistrobina + benzovindiflupir	60 + 30	600
80	picoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe	60 + 30 + 1200	600 + 1500
160	picoxistrobina + benzovindiflupir + mancozebe	60 + 30 + 1200	600 + 1500
80	piraclostrobina + fluxapiroxade	117 + 59	350
160	piraclostrobina + fluxapiroxade	117 + 59	350
80	piraclostrobina + fluxapiroxade + mancozebe	117 + 59 + 1200	350 + 1500
160	piraclostrobina + fluxapiroxade + mancozebe	117 + 59 + 1200	350 + 1500
80	mancozebe	1200	1500
160	mancozebe	1200	1500
-	testemunha	-	-

2.2.1 Avaliação de severidade da doença

A avaliação da doença foi realizada a partir da primeira aplicação, no estágio fenológico R1. Para isso, semanalmente foram coletados ao acaso 3 trifólios da região inferior, e na mesma quantidade das regiões média e superior das plantas nas duas linhas centrais das parcelas. Posteriormente, foram atribuídas notas visuais aos sintomas nas amostras, utilizando escala diagramática da doença (CANTERI; GODOY, 2003).

Figura 1 - Escala Diagramática para ferrugem da soja (CANTERI; GODOY, 2003).



Para a determinação da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), proposta por Campbell e Madden (1990), foram utilizados os valores médios da severidade da doença obtidos nas parcelas e nas respectivas datas de avaliação. A AACPD foi determinada conforme a Equação (E1).

$$\text{AACPD} = \sum [(x_{i+1} + x_i)/2] \times (t_{i+1} - t_i) \text{ (E1)}$$

Em que:

x = severidade média da doença ferrugem asiática na parcela experimental;

x_i = severidade média da doença na parcela experimental no tempo t_i ;

n = número de avaliações;

t = data da avaliação;

$(t_{i+1} - t_i)$ = intervalo de tempo (dias) entre duas avaliações consecutivas.

2.2.2 Avaliação da produção e produtividade

Foi realizada a colheita para comparação entre os tratamentos. Foram colhidas todas as linhas das parcelas com uma colhedora de parcelas, totalizando 16 metros lineares colhidos da cultura. O peso e a umidade das amostras foram medidos pelo próprio equipamento simultaneamente à colheita. Após isso, foi realizado o cálculo da produtividade (kg ha^{-1}) de cada tratamento com umidade corrigida a 13% (BRASIL, 2009).

2.2.3 Análise estatística dos dados

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de homogeneidade e normalidade. Assim, os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) por meio do teste F a 5% de probabilidade e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na safra 2017/2018, a taxa de aplicação não influenciou significativamente a AACPD em nenhum dos tratamentos ($p=0,4084$). O tratamento com apenas o fungicida mancozebe resultou na AACPD média mais alta (686,51000), seguido pelo tratamento com piraclostrobina + fluxapirroxade associados ao mancozebe (505,63000), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - AACPD da ferrugem da soja utilizando diferentes ingredientes ativos em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência na safra 2017/18.

Taxa (T) * Produto (P)	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M	Média
	AACPD					
160 L.ha ⁻¹	346,69500	355,44500	489,46750	485,14000	682,74250	471,89800
80 L.ha ⁻¹	365,41000	410,76250	498,55250	526,12000	690,27750	498,22450
Média	356,05250C	383,10375BC	494,01000BC	505,63000B	686,51000A	
Causas de variação	Teste F		Probabilidade			
Taxa (T)	0,70NS		0,4084			
Produto (P)	13,82**		<0,0001			
T * P	0,09NS		0,9851			
Adic. vs. Fatorial	86,03**		<0,0001			

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapirroxade.

O tratamento com a mistura fungicida picoxistrobina + benzovindiflupir apresentou significativamente a menor AACPD (356,05250) quando comparado com os tratamentos piraclostrobina + fluxapirroxade associados ao mancozebe (505,63000) e mancozebe (686,51000) conforme Tabela 1.

Em relação à produtividade, a taxa de aplicação e os diferentes ingredientes ativos não influenciaram significativamente em nenhum dos tratamentos ($p=0,3371$ e $p=0,3940$, respectivamente) (Tabela 2).

Tabela 2 - Produtividade da soja sob diferentes ingredientes ativos em duas taxas de aplicação no controle da ferrugem da soja, na cultivar BMX Potência na safra 2017/18.

Taxa (T) * Produto (P)	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M	Média
	kg.ha ⁻¹					
160 L.ha ⁻¹	2629,4975	2665,2525	2795,8075	2727,2450	2327,9575	2609,1520
80 L.ha ⁻¹	2442,5150	2569,8225	2647,3950	2490,4950	2013,8750	2432,8205
Média	2536,0063	2567,5375	2721,6012	2608,8700	2170,9163	
Causas de variação	Teste F		Probabilidade			
Taxa (T)	0,95NS		0,3371			
Produto (P)	1,06NS		0,3940			
T * P	0,09NS		0,9861			
Adic. vs. Fatorial	7,57**		0,0100			

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapiróxade.

Apesar de não haver diferença significativa entre tratamentos em relação à produtividade, numericamente, ao observar o rendimento de produção quando comparados à testemunha sem controle, o tratamento que se destacou positivamente foi com os fungicidas piraclostrobina + fluxapiróxade quando aplicados na taxa de 160 L ha⁻¹. O fungicida mancozebe, na menor taxa de aplicação, proporcionou o menor rendimento da produção. Nota-se também que, com exceção dos tratamentos picoxistrobina + benzovindiflupir associados ao mancozebe nas diferentes taxas de aplicação, os demais demonstraram maior rendimento de produção na taxa de 160 L ha⁻¹ quando comparado a de 80 L ha⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios de produtividade (kg ha⁻¹), severidade da doença (AACPD) e rendimento de produção (RP) em função das taxas de aplicação na safra 2017/2018.

Produto	Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	AACPD	Produtividade (kg ha ⁻¹)	RP (%)
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	365,41	2442,52	44%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	346,69	2629,50	55%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	410,76	2569,82	51%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	355,44	2565,25	51%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	80	498,56	2647,39	56%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	160	489,47	2795,80	65%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	80	526,12	2490,50	47%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	160	485,14	2727,25	61%
Mancozebe	80	690,28	2013,87	19%
Mancozebe	160	682,74	2327,96	37%
Testemunha	-	968,04	1696,32	-

Para a safra 2018/2019 (Tabela 4), denota-se padrão semelhante à safra anterior, demonstrando que a taxa de aplicação não influenciou significativamente a AACPD ($p=0,9268$).

Tabela 4 - AACPD da ferrugem da soja utilizando diferentes fungicidas em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência. Safra agrícola 2018/19.

Taxa (T) * Produto (P)	AACPD					Média
	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M	
160 L.ha ⁻¹	695,625	541,125	741,987	592,087	760,415	666,248
80 L.ha ⁻¹	628,025	557,992	790,350	603,352	758,225	667,589
Média	661,825B	549,558C	766,168A	597,720BC	759,320A	
Causas de variação	Teste F		Probabilidade			
Taxa (T)	0,01NS		0,9268			
Produto (P)	35,29**		<0,0001			
T * P	1,75NS		0,1661			
Adic. vs. Fatorial	258,51**		<0,0001			

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapiroxade.

Os tratamentos que apresentaram maior AACPD foram com o fungicida mancozebe (759,32000) e com a mistura fungicida piraclostrobina + fluxapiroxade

(766,16875). O tratamento que obteve menor AACPD foi o tratamento em mistura dos fungicidas picoxistrobina + benzovindiflupir associado ao mancozebe (549,55875).

Em relação à produtividade, a taxa de aplicação não influenciou significativamente os tratamentos ($p=0,8870$). Porém, em relação aos diferentes ingredientes ativos, observou-se diferença significativa entre a produtividade com a mistura fungicida picoxistrobina + benzovindiflupir associados ao mancozebe ($3182,02 \text{ kg ha}^{-1}$) e mancozebe ($2790,49 \text{ kg ha}^{-1}$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Produtividade (kg ha^{-1}) da soja com diferentes fungicidas em duas taxas de aplicação no controle da ferrugem da soja, na cultivar BMX Potência. Safra agrícola 2018/19.

Taxa (T) * Produto (P)	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M	Média
	kg. ha^{-1}					
160 L. ha^{-1}	2745,27	3239,25	3108,25	3098,90	2742,17	2986,77
80 L. ha^{-1}	2953,27	3124,80	3072,97	2999,07	2838,80	2997,78
Média	2849,27AB	3182,02A	3090,61AB	3048,99AB	2790,49B	
Causas de variação	Teste F		Probabilidade			
Taxa (T)	0,02NS		0,8870			
Produto (P)	3,73*		0,0141			
T * P	0,65NS		0,6342			
Adic. vs. Fatorial	0,88NS		0,3565			

NS: Não significativo; * significativo a $p \leq 0,05$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapiroxade.

Na safra 2018/19, o rendimento de produção e a produtividade (kg ha^{-1}) acompanharam os resultados expressados na AACPD, em que o tratamento apenas com o fungicida mancozebe apresentou maior AACPD, resultando em menor produtividade (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores médios de produtividade (kg ha⁻¹), severidade da doença (AACPD) e rendimento de produção (RP) em função das taxas de aplicação na safra 2018/2019.

Produto	Taxa de aplicação (L ha ⁻¹)	AACPD	Produtividade (kg ha ⁻¹)	RP (%)
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	628,02	2953,28	3%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	695,63	2745,28	-4%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	557,99	3124,80	9%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	541,12	3239,25	13%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	80	790,35	3072,98	7%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	160	741,99	3108,25	8%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	80	603,35	2999,08	4%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	160	592,09	3098,90	8%
Mancozebe	80	758,22	2838,80	-1%
Mancozebe	160	760,42	2742,18	-5%
Testemunha	-	1052,89	2872,90	-

Para a safra de 2019/20, a taxa de aplicação mostrou-se fator contribuinte para o controle da doença apenas no tratamento somente com o fungicida mancozebe, tendo a menor AACPD quando realizada a aplicação na taxa de 160 L ha⁻¹ (Tabela 7).

Tabela 7 - AACPD da ferrugem da soja utilizando diferentes fungicidas em duas taxas de aplicação, na cultivar BMX Potência. Safra agrícola 2019/20.

Taxa (T) * Produto (P)	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M
	AACPD				
160 L.ha ⁻¹	633,692aB	365,072aC	623,585aB	465,407aBC	836,692bA
80 L.ha ⁻¹	560,677aB	363,315aC	664,790aB	495,647aBC	1062,827aA
Causas de variação	Teste F		Probabilidade		
Taxa (T)	2,62NS		0,1159		
Produto (P)	51,20**		<0,0001		
T * P	3,24*		0,0252		
Adic. vs. Fatorial	251,03**		<0,0001		

NS: Não significativo; * significativo a $p \leq 0,05$; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os valores de % CONTROLE entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam valores de % CONTROLE entre os fungicidas (linhas).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapiroxade.

O tratamento picoxistrobina + benzovindiflupir associados ao mancozebe proporcionou menor AACPD em ambas as taxas de aplicação, sem diferir de piraclostrobina mais fluxapiroxade também associados ao mancozebe. Novamente

fica evidenciada menor AACPD na associação entre fungicida multissítios e fungicidas de sítio específico. O tratamento que apresentou maior AACPD foi o que utilizou apenas o fungicida mancozebe, na menor taxa de aplicação (Tabela 7).

Em relação à produtividade, a taxa de aplicação não influenciou significativamente os tratamentos ($p=0,7907$). Porém, em relação aos diferentes fungicidas, observou-se diferença significativa entre a produtividade obtida com o tratamento picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao mancozebe (2787,12 kg ha⁻¹) e somente com o mancozebe (2437,48 kg ha⁻¹) (Tabela 8).

Tabela 8 - Produtividade da soja utilizando diferentes fungicidas em duas taxas de aplicação no controle da ferrugem da soja, na cultivar BMX Potência. Safra agrícola 2019/20.

Taxa (T) * Produto (P)	Pc+B	Pc+B+M	Pr+F	Pr+F+M	M	Média
	Kg.ha ⁻¹					
160 L.ha ⁻¹	2479,55	2815,66	2657,23	2693,23	2431,17	2615,37
80 L.ha ⁻¹	2652,21	2758,59	2650,34	2645,83	2443,80	2630,15
Média	2565,88AB	2787,12A	2653,79AB	2669,53AB	2437,48B	
Causas de variação		Teste F		Probabilidade		
Taxa (T)		0,07NS		0,7907		
Produto (P)		4,44**		0,0061		
T * P		0,56NS		0,6901		
Adic. vs. Fatorial		47,07**		<0,0001		

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Pc = picoxistrobina; B = benzovindiflupir; M = mancozebe; Pr = piraclostrobina; F = fluxapiraxade.

Na comparação da AACPD, os maiores valores foram obtidos somente com o fungicida mancozebe, o que impactou negativamente na produtividade e, assim, numericamente no rendimento de produção, sendo apenas 22% a mais que o tratamento testemunha (sem aplicação). Em contraponto, o tratamento que apresentou menor AACPD foi o com os fungicidas picoxistrobina + benzovindiflupir associados ao mancozebe, resultando em maior produtividade e numericamente 41% a mais no rendimento de produção em relação à testemunha (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores médios de produtividade (kg ha⁻¹), severidade da doença (AACPD) e rendimento de produção (RP) em função das taxas de aplicação de diferentes fungicidas. Safra agrícola 2019/2020.

Produto	Taxa de aplicação (L ha⁻¹)	AACPD	Produtividade (kg ha⁻¹)	RP (%)
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	80	560,68	2652,21	33%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir	160	633,69	2479,56	24%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	80	363,32	2758,59	38%
Picoxistrobina + Benzovindiflupir + Mancozebe	160	365,07	2815,66	41%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	80	664,79	2650,35	33%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade	160	623,58	2657,23	33%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	80	495,65	2645,83	33%
Piraclostrobina + Fluxapiroxade + Mancozebe	160	465,41	2693,24	35%
Mancozebe	80	1062,83	2443,80	23%
Mancozebe	160	836,69	2431,17	22%
Testemunha	-	1330,30	1994,60	-

Souza (2019) relatou que o incremento na taxa de aplicação sem a adição de outras tecnologias, como pontas de pulverização, não foi suficiente para melhorar o nível de deposição nos estratos inferiores das plantas de soja. Cunha et al. (2006) relataram apenas diferença significativa entre a deposição no estrato inferior promovida por diferentes pontas de jato plano com gotas finas, que possuem melhor capacidade de penetração no dossel, independente da taxa de aplicação. Do ponto de vista epidemiológico, em que a doença se inicia nos estratos inferiores, essa pode ser uma possível explicação para o fato do aumento da taxa de aplicação não impactar diretamente a AACPD.

Negrisola et al. (2019), também relataram que, apesar do incremento na cobertura e no depósito da pulverização com maiores taxas de aplicação, não houve reflexo na produtividade da cultura. Em outro estudo realizado com compilação de diversas pesquisas, observou-se que a produtividade da soja está associada à severidade da ferrugem e o coeficiente de correlação variou de um estudo para outro, contudo as correlações foram, em sua maioria, negativas, com seus coeficientes variando de -0,95 a 0,23. Na maioria dos estudos, uma forte correlação negativa foi encontrada (LANA et al., 2015).

Ao analisar a doença do ponto de vista fisiológico, as plantas que apresentam ferrugem têm seu processo fotossintético afetado tanto pela retirada de nutrientes promovida pelo fungo como pela destruição da área foliar decorrente da formação de pústulas e da queda de folhas provocada pelo patógeno (BEDENDO, 2018).

2.4 CONCLUSÃO

No geral, a taxa de aplicação não influenciou o controle da doença ferrugem da soja na cultivar BMX Potência RR, tampouco na produtividade da cultura. Menor severidade da ferrugem da soja foi obtida com a mistura fungicida picoxistrobina mais benzovindiflupir associados ao mancozebe nas três safras agrícolas (2017/18; 2018/19 e 2019/20). Isso refletiu positivamente no rendimento da produção com incrementos que variaram de 9,0 a 51,0% para ambas as taxas de aplicação. Somente a aplicação do fungicida mancozebe não foi suficiente para conter a severidade da doença quando comparado às demais misturas fungicidas, com reflexos negativos no rendimento da produção da soja. Denota-se que o mancozebe é uma ferramenta útil para o manejo fitossanitário na cultura e, quando associado aos fungicidas de sítio de ação específico, dos grupos estrobilurina e carboxamida pode otimizar o controle da ferrugem da soja.

REFERÊNCIAS

- BALARDIN, R., et al. Factors affecting fungicide efficacy in the Tropics. In: Odile Carisse. (Ed). **Fungicides**, In Tech, p 23-38., 2010.
- BAYER, T., et al. Equipamentos de pulverização aérea e taxas de aplicação de fungicida na cultura do arroz irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 2, p.192–198, 2011.
- BEDENDO, I. P. Ferrugens. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.. **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos. 5. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda. Cap. 28. p. 335-360., 2018.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley e Sons., 532p. 1990.
- CONSTANTIN, J.; SALES, J.G.C.; MACIEL, C.D.G. Característica da deposição e distribuição da calda de pulverização na cultura da soja em estágio fenológico V6. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.32, n.3, p.530-541, 2012.
- COSTA L.L., et al. The mixture volume sprayed by hydraulic and centrifugal energy nozzles for the control of Asian soybean rust. **Acta Sci Agron**. 37:425-433., 2015.
- CUNHA, J. A. R.; REIS, E. F; SANTOS, R. O. Controle químico da ferrugem asiática da soja em função de ponta de pulverização e de volume de calda. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 1360-1366, 2006.
- CHILDS, S.P. et al. Discovery of a seventh rpp soybean rust resistance locus in soybean accession PI 605823. **Theor Appl Genet**. 131:27-41., 2018.
- DERKSEN, R. C., et al. Coverage and drift produced by air induction and conventional hydraulic nozzles used for orchards applications. **Transaction of the ASABE**, v.50, p.1493-1501, 2007.
- GARCERA, M. et al. Fragmentation of Contaminant and Endogenous DNA in Ancient Samples Determined by Shotgun Sequencing; Prospects for Human Palaeogenomics. **PLoS ONE**., 2011.
- GODOY, C.V. et al. **Eficiência de fungicidas multissítios no controle da ferrugem asiática da soja, Phakopsora pachyrhizi, na safra 2015/16: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: EMBRAPA, p. 7. 2016. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 121).
- GODOY, C. V. et al. **Eficiência de fungicidas multissítios no controle da ferrugem asiática da soja, Phakopsora pachyrhizi, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: EMBRAPA, p. 8, 2018. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 144).
- GODOY, C.V, KOGA, L.J, CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**. 31:63-68., 2006.
- LANA, F. D., et al. Meta-Analysis of the Relationship Between Crop Yield and Soybean Rust Severity. **Phytopathology**, [S.L.], v. 105, n. 3, p. 307-315, 2015.

LANGENBACH, C. et al. Interspecies gene transfer provides soybean resistance to a fungal pathogen. **Plant Biotechnol J.** 14:699-708., 2016.

MURITHI, H.M. et al. Soybean production in eastern and southern Africa and threat of yield loss due to soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Pathol.** 65:176- 188., 2016.

NEGRISOLI, M. M., et al. Performance of new flat fan nozzle design in spray deposition, penetration and control of soybean rust. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, n. 3, p.755-767, 2019.

PRADO, E.P. et al. Effects of silicone surfactant and application rates on spray deposition and soybean rust control. **Engenharia Agrícola.** 35:514-527, 2015 a.

PRADO, E.P., et al. Taxa de aplicação e uso de surfactante siliconado na deposição da pulverização e controle da ferrugem da soja. **Engenharia Agrícola**, v.35, n.3, p. 514-527, 2015 b.

PRADO, E.P. et al. Spray volume deposits and fungicide efficacy on soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*). **Australian Journal of Crop Science**, [S.L.], n. 13102019, p. 1698-1705, 2019.

SOUZA, L.A.; CUNHA, J.P.A.R.; PAVANIN, L.A. Deposição do herbicida 2,4-D Amina com diferentes volumes e pontas de pulverização em plantas infestantes. **Revista Ciência Agrônômica**, v.43, n.1, p.78-85, 2012.

SOUZA, D. M. et al. Impacto do volume de calda com fungicidas no controle da ferrugem Asiática e produção da soja. In: VIII Sintag – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO., 2017, Campinas. **Anais do VIII SINTAG**. Botucatu: FEPAF, 2017. v. 1. p. 87-90.

SOUZA, D.M. **Impactos do volume de aplicação sobre o controle da ferrugem asiática e oídio da soja: a inclusão do mancozebe no manejo**. 2019. 111 p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2019.

SCHERM H. et al. Quantitative review of fungicide efficacy trials for managing soybean rust in Brazil. **Crop Protection.** 28:774-782., 2009.

VUONG T.D. et al. Molecular characterization of resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & Syd.) in soybean cultivar DT 2000. **PloS One**, 11., 2016.

CAPÍTULO 3

INFLUÊNCIA DA TAXA DE APLICAÇÃO SOBRE O DEPÓSITO E COBERTURA DA PULVERIZAÇÃO EM PLANTAS DE SOJA

3.1 INTRODUÇÃO

A tecnologia de aplicação em pulverização visa produzir um tamanho de gotas que possa atingir um equilíbrio entre cobertura, deposição das gotas nas folhas e penetração no dossel, e essa eficiência é obtida pela distribuição adequada do produto no alvo (PAULSRUD; MONTGOMERY, 2005).

Para que seja feito o manejo correto da doença ferrugem da soja (FAS) e para se obter qualidade da aplicação, deve-se fazer monitoramento constante na lavoura, aplicar no momento ideal, fazer uso de fungicidas com maior residual, proporcionar boa cobertura do alvo, frequência de aplicações suficientes e recomendadas, taxa de aplicação adequada e considerar a tecnologia de aplicação específica para cada alvo e cultura (BUTZEN et al., 2005a; CUNHA et al., 2010). Assim, a tecnologia de aplicação apresenta papel essencial para o alcance da eficácia na aplicação de fungicidas no manejo da FAS (BUTZEN et al., 2005b).

A deposição adequada do produto depende das condições de trabalho dos pulverizadores, tamanho das gotas, arquitetura da planta, densidade de tricomas e cerosidade na superfície foliar, velocidade do vento no momento da aplicação, bem como, condições meteorológicas, estágio de desenvolvimento da cultura e taxa de aplicação (SOUZA et al., 2003). A penetração das gotas no dossel da planta é essencial para o controle químico eficiente das doenças, principalmente daquelas que iniciam o processo infeccioso no baixeiro, como é o caso da FAS (RAETANO, 2007). Por isso, é fundamental, na escolha da cultivar de soja, considerar a arquitetura da planta, o que pode influenciar na eficiência da penetração das gotas no dossel da cultura.

Assim, a tecnologia de aplicação pode ser avaliada de forma quantitativa e qualitativa. A análise quantitativa da pulverização, através do depósito, é feita com o uso de corantes ou marcadores, os quais permitem avaliar a quantidade de produto depositado no alvo, desde que mantenha a estabilidade após a aplicação e seja de fácil remoção (PALLADINI et al., 2005; CUNHA et al., 2014). Já na avaliação qualitativa da pulverização, comumente são utilizados alvos artificiais como os papeis

hidrossensíveis nas áreas de interesse para avaliação da cobertura (MINGUELA; CUNHA, 2010), ou alvos naturais, como o dossel da planta, adicionando à calda de pulverização pigmentos fluorescentes e sensíveis à luz ultravioleta. Dessa maneira, torna-se possível avaliar a distribuição espacial e estimar a porcentagem de cobertura, com escalas diagramáticas (ANTUNIASSI et al., 2004) ou softwares específicos (FIRVEDA et al., 2002).

Cunha et al. (2014) concluíram que o uso do corante Azul Brilhante nas avaliações de depósito da pulverização apresenta alta variabilidade, devido às características intrínsecas da pulverização, como inclinação e posição do alvo. Além de matérias presentes nas plantas que apresentem comprimentos de ondas próximas ao do corante podem interferir nas leituras do espectrofotômetro. Os autores também relataram interferências causadas pelas técnicas da pulverização na avaliação qualitativa em papel hidrossensível, relatando que os tratamentos que possuem taxa de aplicação alta podem influenciar na marcação do papel hidrossensível, causando “falsa impressão de superioridade” na porcentagem de cobertura e número de gotas no cartão. Contudo, a diferença na concentração do produto fitossanitário na calda também deve ser considerada, visto que deveria ser homogênea em toda a área.

Palladini et al. (2005) demonstraram que os marcadores Azul Brilhante e *Saturn Yellow* (fluorescente) possuem estabilidade na luz solar e sem absorção pelas folhas, possibilitando a avaliação quali-quantitativa da pulverização. Além disso, são técnicas viáveis e de fácil manuseio, além de serem consideravelmente mais baratos em comparação com análises cromatográficas.

Poucos trabalhos sobre quantificação do depósito da pulverização no dossel das plantas de soja consideram as barreiras devido às diferentes arquiteturas das cultivares, o que prejudica a distribuição das gotas ao longo da planta, visto que as folhas do estrato superior do dossel retêm parte considerável das gotas pulverizadas, impedindo que as folhas do estrato inferior recebam a quantidade necessária do ingrediente ativo. Com isso, diferentes cultivares possuem características específicas que compõem sua arquitetura, variando com a época de semeadura, as condições ambientais e as de cultivo, influenciando na deposição do produto. Além disso, as características das cultivares alteram as condições de microclima no interior do dossel, favorecendo ou não a ocorrência e/ou rápido estabelecimento da doença (WILSON et al., 1999).

Face ao exposto, a cobertura e deposição da pulverização são variáveis

importantes na tecnologia de aplicação pelo fato de os principais fungicidas usados no controle da FAS serem sistêmicos e mesostêmicos, porém com sistematicidade limitada, dependendo então, de uma boa cobertura do alvo (ANTUNIASSI, 2006).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o depósito e a cobertura da pulverização na cultura da soja nas taxas de aplicação de 80 e 160 L ha⁻¹ nos estádios fenológicos R1 e R1 mais 14 dias.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida a campo, no Centro de Pesquisa da Corteva Agriscience™, no município de Mogi Mirim, SP, a 694 metros de altitude com as coordenadas geográficas: 22°26'54,52" S e 47°04'19,87" O. Para a condução dos experimentos foi adotado o sistema de semeadura direta. Os experimentos foram conduzidos durante as safras agrícolas de 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020.

A cultura foi semeada sempre na primeira semana de janeiro, nos anos de 2018, 2019 e 2020. Foi utilizada a cultivar de soja BMX Potência RR, com ciclo de desenvolvimento médio e hábito de crescimento indeterminado. O espaçamento entre linhas de plantio foi de 0,50 m e uma população de 300.000 plantas por hectare.

Os tratos culturais foram feitos de acordo com a necessidade a partir da semeadura, visando melhor condução e homogeneidade da cultura e entre os blocos e parcelas. A adubação foi realizada com base na análise de solo local. As sementes foram tratadas com inseticida sistêmico clorantraniliprole (Dermacor®) na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹, fungicida sistêmico metalaxil-m + tiabendazol associado ao fludioxonil (Maxim Advanced) na dose de 500 mL 100 kg sementes⁻¹ e inoculante Biomax® na dose de 100 mL 100 kg sementes⁻¹.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com 2 tratamentos, quatro blocos e cinco repetições dentro de cada bloco. Os tratamentos foram compostos por duas taxas de aplicação, 80 e 160 L ha⁻¹. Estas taxas variam entre a taxa reduzida média empregada no Centro Oeste do Brasil (KASSIS *et al.*, 2017) e a taxa recomendada nas bulas dos fabricantes dos fungicidas em teste nos experimentos anteriores (DUPONT s.d.; DOW AGROSCIENCE s.d.; BASF, s.d.).

Os tratamentos foram aplicados em duas épocas, a primeira realizada no estágio fenológico R1 e a segunda em R1 mais 14 dias. Para as taxas de aplicação de 80 e 160 L ha⁻¹ foi utilizado um pulverizador pressurizado por CO₂ e uma barra lateral equipada com 4 pontas de pulverização de jato plano, modelo XR110015, na pressão de 276 kPa, alterando apenas a velocidade de deslocamento, de 6,7 e 3,4 km h⁻¹ para as respectivas taxas de aplicação.

3.2.1 Análises da pulverização

3.2.1.1 Análise quantitativa da pulverização

A análise quantitativa das pulverizações foi feita com o uso do corante marcador Azul Brilhante em solução aquosa (0,30%*m/v*). O Azul Brilhante (FD&C n.1) é um corante atóxico e é facilmente removido das folhas, mantendo o marcador estável após a pulverização (PALLADINI et al., 2005).

Após a aplicação do marcador Azul Brilhante, a avaliação da deposição da pulverização foi feita imediatamente antes da pulverização dos fungicidas nos diferentes estádios de desenvolvimento da soja, sendo uma avaliação no estágio fenológico R1 e outra no estágio R1 mais 14 dias. Este procedimento foi adotado para evitar a influência da formulação fungicida na leitura óptica do corante marcador por espectrofotometria. O corante marcador Azul Brilhante foi solubilizado em garrafas PET, na concentração de 3000 mg.L⁻¹ d'água para a taxa de 160 L ha⁻¹ e 6000 mg.L⁻¹ d'água para a taxa de 80 L ha⁻¹.

Após 20 minutos da pulverização, tempo necessário para a secagem da calda pulverizada nas plantas, 30 folíolos foram coletados aleatoriamente, sendo 10 folíolos provenientes da parte superior das plantas e, igual número de folíolos das partes média e inferior das plantas, das duas linhas centrais de cada parcela, de modo a avaliar a deposição da pulverização e a capacidade de penetração da calda no dossel (PRADO, 2012). As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas para o Laboratório do Centro de Pesquisa de Mogi Mirim da Corteva Agriscience™ (Divisão Agrícola DowDupont™) para posterior processamento e análise.

3.2.1.2 Processamento e preparo das amostras para avaliação dos depósitos

A cada amostra, foram adicionados 20 mL de água destilada, agitando-a manualmente por 15 segundos, e a solução transferida para recipientes plásticos. Nessa solução, foram quantificados os depósitos em espectrofotômetro (Shimadzu VIS 1601 PC) pela leitura da absorbância da amostra no comprimento de onda de 630 nm (PALLADINI et al., 2005).

Posteriormente à remoção do marcador das folhas, foi medida a área foliar de cada amostra com o auxílio de um medidor de área foliar de bancada LICOR, modelo LI-3100 – Area Meter. Para melhor apresentação dos dados, o volume retido em cada folha em mL foi transformado para μL , o qual foi dividido pela área foliar correspondente, obtendo os dados em $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Uma curva de calibração foi construída a partir da correlação das leituras de concentrações conhecidas do corante com os valores de absorvância obtidos no espectrofotômetro. Dessa forma, a concentração do corante no alvo após a pulverização foi obtida em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (SCUDELER et al., 2004). Por fim, por meio de equação (E1), foi estabelecido o volume captado pelo alvo, correlacionando a concentração do corante na solução de lavagem das amostras com a concentração do corante na calda de pulverização (3.000 ou 6.000 mg L^{-1}).

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f \quad (\text{E1})$$

Sendo:

C_i = concentração do corante na calda (3.000 ou 6.000 mg L^{-1});

V_i = volume captado pelo alvo (mL);

C_f = concentração do corante detectada no espectrofotômetro em absorvância (mg L^{-1});

V_f = volume de diluição da amostra (20 mL).

3.2.2 Análise qualitativa da pulverização

A análise qualitativa da pulverização foi feita através da avaliação da cobertura da pulverização nos tratamentos com o uso de papéis hidrossensíveis ($26 \times 76 \text{ mm}$) distribuídos nas parcelas. Dois papéis hidrossensíveis foram utilizados por estrato (inferior, médio e superior), totalizando 6 cartões por parcela, que foram fixados através de um suporte de metal nas duas linhas centrais de cada parcela.

A cobertura da pulverização foi avaliada nos mesmos períodos das análises de deposição da pulverização, no estágio fenológico R1 e no estágio R1 mais 14 dias.

Após a pulverização, os papéis hidrossensíveis foram individualizados em papel toalha para evitar a absorção de umidade e levados ao laboratório para análise.

Realizou-se a digitalização dos papéis com o auxílio de um scanner de mesa com resolução de 600 dpi. As imagens digitalizadas foram analisadas pelo software Gotas[®] desenvolvido pela Embrapa, de modo a obter a porcentagem de cobertura em cada estrato do dossel.

3.2.3 Análise estatística dos dados

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de homogeneidade e normalidade. Assim, as médias foram analisadas pela análise de variância (ANOVA) por meio do teste F a 5% de probabilidade e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Análise quantitativa da pulverização

3.3.1.1 Safra 2018/2019

Pode-se constatar que não houve diferença significativa na interação entre a taxa de aplicação e os estratos do dossel e na taxa de aplicação, sendo observada diferença apenas entre valores médios de depósito nos diferentes estratos da planta na primeira aplicação da safra 2018/19 (Tabela 1). Observou-se diferença significativa na deposição de calda em todos os estratos. Houve maior deposição da pulverização na região superior da planta, com depósito médio de 0,5430 $\mu\text{L cm}^{-2}$ no estrato superior, seguida pelo maior depósito no estrato médio (0,4108 $\mu\text{L cm}^{-2}$) e, por fim, no estrato inferior da planta (0,2431 $\mu\text{L cm}^{-2}$).

Tabela 1 - Valores médios dos depósitos da pulverização ($\mu\text{L cm}^{-2}$ foliar) na primeira aplicação da safra 2018/19 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	$\mu\text{L cm}^{-2}$			
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)	Média
160 L ha ⁻¹	0,5230	0,4263	0,2790	0,4094
80 L ha ⁻¹	0,5630	0,3953	0,2072	0,3885
Média	0,5430 A	0,4108 B	0,2431 C	
Causas de variação	Teste F		Probabilidade	
Taxa (T)	1,48NS		0,2432	
Estrato (E)	101,60**		<0,0001	
T * E	3,60NS		0,0530	

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Na segunda aplicação, não houve diferença significativa na interação entre os fatores e no fator taxa de aplicação, sendo observada diferença apenas entre valores médios de depósito nos diferentes estratos da planta (Tabela 2). Houve maior deposição da pulverização na região superior da planta, com depósito médio de 0,1719 $\mu\text{L cm}^{-2}$ no estrato superior, seguida pelo maior depósito no estrato médio (0,0979 $\mu\text{L cm}^{-2}$) e, por fim, no estrato inferior da planta (0,0458 $\mu\text{L cm}^{-2}$).

Tabela 2 - Valores médios dos depósitos da pulverização ($\mu\text{L cm}^{-2}$ foliar) na segunda aplicação da safra 2018/19 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	$\mu\text{L cm}^{-2}$			
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)	Média
160 L ha ⁻¹	0,1748	0,1093	0,0473	0,1104
80 L ha ⁻¹	0,1690	0,0865	0,0443	0,0999
Média	0,1719 A	0,0979 B	0,0458 C	
Causas de variação		Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)		1,58NS	0,2282	
Estrato (E)		76,66**	<0,0001	
T * E		0,55NS	0,5903	

NS: Não significativo; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Independente da taxa de aplicação, foram observados valores semelhantes de deposição das caldas dentro dos estratos do dossel das plantas em ambas as épocas de aplicação. Provavelmente, isso se deve há menor concentração do produto na taxa de aplicação de 160 L ha⁻¹, justificando a semelhança nos valores encontrados nos diferentes estratos.

Souza (2019) relatou que o incremento na taxa de aplicação sem a adição de outras tecnologias, como pontas de pulverização, não foi suficiente para melhorar o nível de deposição nos estratos inferiores da soja, apresentando baixos níveis de depósito de 40 a 160 L ha⁻¹.

Apesar das duas aplicações terem sido realizadas no estágio de desenvolvimento reprodutivo (R1 e R1+14 dias), foi possível observar uma grande redução nos níveis de deposição de calda na segunda aplicação em todos os estratos do dossel das plantas. Portanto, é possível que devido ao estágio de desenvolvimento mais avançado da cultura no momento da segunda aplicação, tenha havido maior barreira do dossel da cultura à penetração da calda nos estratos.

A influência do dossel da cultura em diferentes estágios de desenvolvimento da soja sob os valores de depósito e penetração da pulverização também foram observados por Negrisoni et al. (2019). Nesse trabalho, os autores identificaram alta redução na deposição da calda da pulverização no estágio reprodutivo R2 em comparação com a aplicação realizada no estágio vegetativo V9, momento em que a cultura apresentava maior fechamento do dossel e, portanto, maior barreira à penetração da pulverização. Foram registrados até 92% de redução na penetração

para a região inferior do dossel, valor significativo se considerar a importância de se atingir a maior uniformidade possível na distribuição da calda.

3.3.1.2 Safra 2019/2020

A primeira aplicação da segunda safra (2019/20) apresentou diferença significativa na interação entre volumes de calda e estratos do dossel da cultura (Tabela 3). A maior taxa de aplicação (160 L ha⁻¹) promoveu maior deposição da calda nos terços médio e inferior em comparação à menor taxa de aplicação, com resultado semelhante no terço superior. Na comparação entre os estratos do dossel da cultura, observou-se diferença significativa na deposição de calda em ambos os estratos e taxas de aplicação.

Tabela 3 - Valores médios dos depósitos da pulverização ($\mu\text{L cm}^{-2}$ foliar) na primeira aplicação da safra 2019/20 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	$\mu\text{L cm}^{-2}$		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	0,2968 aA	0,2215 aB	0,1295 aC
80 L ha ⁻¹	0,2848 aA	0,1773 bB	0,0898 bC
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	6,79*	0,0199	
Estrato (E)	128,92**	<0,0001	
T * E	3,84**	0,0450	

* significativo a $p \leq 0,05$; ** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os valores de depósito entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam valores de depósito entre os estratos da planta (linhas).

A utilização da maior taxa de aplicação, em termos de deposição de calda, atua especialmente na melhor distribuição da pulverização no dossel, permitindo maior chance de penetração. Dessa forma, era esperada a maior deposição com a maior taxa de aplicação, principalmente nos estratos médio e inferior das plantas. No estrato superior, local sem barreiras físicas que interfiram na distribuição da calda, foram observados valores semelhantes de deposição entre as taxas de aplicação.

Cunha et al. (2006) também relataram mesmo nível de deposição no estrato superior para diferentes taxas de aplicação (115 e 160 L ha⁻¹), sendo observada diferença significativa apenas entre a deposição no estrato inferior promovida por

diferentes pontas de jato plano com gotas finas, que possuem melhor capacidade de penetração no dossel.

Já na segunda aplicação, diferença significativa foi constatada na interação dos fatores (Tabela 4). Na comparação entre as taxas de aplicação, maior deposição de calda foi constatada a 160 L ha⁻¹ nos estratos superior e médio, evidenciando baixo nível de depósito da pulverização na região inferior do dossel, mesmo com o dobro do volume. Além disso, com a menor taxa de aplicação (80 L ha⁻¹) houve diferença significativa nos valores de depósito entre os estratos superior e inferior da planta. Na taxa de aplicação de 160 L ha⁻¹ houve incremento significativo de depósito em todos estratos. Novamente fica evidenciada menor penetração da calda no dossel da cultura em função da redução na taxa de aplicação.

Tabela 4 - Valores médios dos depósitos da pulverização ($\mu\text{L cm}^{-2}$ foliar) na segunda aplicação da safra 2019/20 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	$\mu\text{L cm}^{-2}$		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	0,4028 aA	0,2288 aB	0,0855 aC
80 L ha ⁻¹	0,1475 bA	0,1020 bAB	0,0523 aB
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	84,96**	<0,0001	
Estrato (E)	62,97**	<0,0001	
T * E	18,36**	<0,0001	

** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os valores de depósito entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam valores de depósito entre os estratos da planta (linhas).

Portanto, a avaliação da deposição de calda na cultura é de grande importância para caracterização da tecnologia empregada e definição dos melhores parâmetros para cada situação. No geral, observa-se que maior taxa de aplicação promoveu melhor deposição, especialmente no estrato mediano e inferior.

Ademais, o período de aplicação também demonstrou influenciar grandemente na deposição da calda. Assim, principalmente para aplicações preventivas e com necessidade de boa uniformidade de distribuição da pulverização, a aplicação em momentos antecipados com menor índice de área foliar (IAF) mostrou ser favorável à distribuição da pulverização no dossel da cultura da soja.

3.3.2 Análise qualitativa da pulverização

3.3.2.1 Safra 2018/2019

Na avaliação da porcentagem de cobertura da primeira aplicação na safra de 2018/19, diferença significativa foi constatada na interação entre os fatores estrato da planta e taxas de aplicação (Tabela 5). A maior taxa de aplicação (160 L ha⁻¹) proporcionou porcentagem de cobertura significativamente maior em todos os estratos da planta. Portanto, percebe-se redução acentuada na cobertura da pulverização com menor taxa de aplicação, com valor aproximadamente três vezes menor. Na comparação dentro da mesma taxa de aplicação, observa-se que, aplicando 80 L ha⁻¹ houve redução acentuada na porcentagem de cobertura nos respectivos estratos, com valores significativamente maiores no estrato superior, quando comparado com os valores nos estratos médio e inferior. Já na taxa de 160 L ha⁻¹, significativamente, maior valor de cobertura no estrato superior seguido pelos estratos médio e inferior foram encontrados. Observa-se que mesmo utilizando o dobro da taxa de aplicação, foram encontrados baixos valores (8,66%) no estrato inferior.

Tabela 5 - Cobertura da pulverização (%) em papel hidrossensível na primeira aplicação da safra 2018/19 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	% Cobertura		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	56,89 aA	26,91 aB	8,66 aC
80 L ha ⁻¹	26,82 bA	8,16 bB	2,79 bB
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	136,22**	<0,0001	
Estrato (E)	185,54**	<0,0001	
T * E	20,05**	<0,0001	

** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre os estratos da planta (linhas).

Na segunda aplicação, mesma tendência foi constatada para os valores da porcentagem de cobertura da pulverização (Tabela 6). Novamente foi observada diferença significativa na interação dos fatores ($p < 0,01$), com maior cobertura nos estratos superior, seguido pelo médio e depois pelo inferior em ambas as taxas de

aplicação. Houve cobertura significativamente menor à 80 L ha⁻¹ em todos os estratos, com valores inferiores a 24,77%. Nessa situação, apenas 2,72% de cobertura foi detectada no estrato inferior, significativamente menor à obtida nos demais estratos da planta. Em contrapartida, mesmo em estágio de desenvolvimento mais avançado, a taxa de 160 L ha⁻¹ foi capaz de proporcionar bons valores de cobertura, apresentando valores superiores a 20,0% nos estratos médio e superior.

Tabela 6 - Cobertura da pulverização (%) em papel hidrossensível na segunda aplicação da safra 2018/19 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	% Cobertura		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	55,69 aA	22,47 aB	8,78 aC
80 L ha ⁻¹	24,77 bA	9,77 bB	2,72 bC
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	188,27**	<0,0001	
Estrato (E)	286,41**	<0,0001	
T * E	37,89**	<0,0001	

** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre os estratos da planta (linhas).

Berger-Neto et al. (2017), também relataram notável diferença na porcentagem de cobertura da pulverização com a redução da taxa de aplicação. Nesse estudo, a redução da taxa de 200 para 100 L ha⁻¹ proporcionou cobertura significativamente menor em todos os estratos avaliados (superior, médio e inferior), com destaque para a região inferior. Entretanto, mesmo com o maior taxa de aplicação e diferentes pontas de pulverização analisadas, não foi possível obter grandes porcentagens de cobertura na região inferior do dossel, variando entre 1,0 e 3,0% de cobertura. As aplicações também foram conduzidas durante o estágio de desenvolvimento reprodutivo (R1), no qual há maior fechamento do dossel para a entrada da calda pulverizada e, assim, menor uniformidade de distribuição.

Bretthauer et al. (2008) também relataram menor porcentagem de cobertura com a redução da taxa de aplicação. Os autores relataram redução significativa na porcentagem de cobertura com a redução de 140 para 47 L ha⁻¹, principalmente no estrato inferior do dossel. Além disso, resposta semelhante foi constatada nas pulverizações com gotas de tamanho médio e muito grossas. Por outro lado, constatou-se que a aplicação com gotas muito grossas e na maior taxa de aplicação

(140 L ha⁻¹) proporcionou melhor taxa de cobertura. Esse resultado é interessante, uma vez que a utilização de pontas com menor risco de deriva, como as que produzem gotas grossas e muito grossas, é comumente necessária, tendo o aumento da taxa de aplicação como uma opção viável para incrementar a qualidade da aplicação. No entanto, a penetração das gotas grossas nas regiões do baixeiro pode ficar deficiente, situação que pode influenciar negativamente o controle da ferrugem na cultura da soja.

3.3.2.2 Safra 2019/2020

Na safra 2019/20, mesma tendência foi observada nos resultados da porcentagem de cobertura da safra anterior, sendo encontrada diferença significativa na interação dos fatores em ambas as aplicações (Tabelas 7 e 8). Na primeira aplicação, novamente foi observada maior porcentagem de cobertura aplicando 160 L ha⁻¹ em nos estratos superior e médio da planta. Nessa taxa, maior cobertura foi constatada no estrato superior, seguido pelo médio e depois pelo inferior. Já na menor taxa de aplicação, houve diferença significativa na cobertura entre os estratos superior e inferior. Houve novamente valores de cobertura superiores a 20,0% no terço superior da planta.

Tabela 7 - Cobertura da pulverização (%) em papel hidrossensível na primeira aplicação da safra 2019/20 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	% Cobertura		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	58,48 aA	27,86 aB	15,36 aC
80 L ha ⁻¹	20,64 bA	10,85 bAB	7,33 aB
Causas de variação	Teste F		Probabilidade
Taxa (T)	60,67**		<0,0001
Estrato (E)	38,94**		<0,0001
T * E	10,77**		0,0013

** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre os estratos da planta (linhas).

Na segunda aplicação, momento em que existe maior desenvolvimento vegetativo da cultura e maior barreira à entrada da pulverização no dossel foi

encontrada, em geral, menor porcentagem de cobertura da pulverização em comparação à primeira aplicação (Tabela 8).

Tabela 8 - Cobertura da pulverização (%) em papel hidrossensível na segunda aplicação da safra 2019/20 em função de diferentes taxas de aplicação e estratos das plantas de soja, cultivar BMX Potência RR.

Taxa (T) * Estrato (E)	% Cobertura		
	Superior (S)	Médio (M)	Inferior (I)
160 L ha ⁻¹	33,28 aA	19,43 aB	10,37 aB
80 L ha ⁻¹	7,99 bA	7,06 bA	2,34 aA
Causas de variação	Teste F	Probabilidade	
Taxa (T)	37,24**	<0,0001	
Estrato (E)	10,92**	0,0012	
T * E	4,31**	0,0332	

** significativo a $p \leq 0,01$, pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra em cada comparação não diferiram pelo teste de Tukey 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre as taxas de aplicação (colunas). Letras maiúsculas comparam a porcentagem de cobertura entre os estratos da planta (linhas).

Houve maior porcentagem de cobertura da pulverização a 160 L ha⁻¹ nos estratos superior e médio da planta, em comparação com os valores obtidos a 80 L ha⁻¹. Entretanto, mesmo com a maior taxa de aplicação ocorreu redução na porcentagem de cobertura no estrato médio e inferior, caindo de aproximadamente 33,28% para 19,43% e 10,37% respectivamente, diferindo dos valores obtidos no estrato superior. Com a menor taxa de aplicação, mesmo no estrato superior, foi encontrada baixa porcentagem de cobertura, com redução ainda mais acentuada no estrato inferior.

Hanna et al. (2008) também reportaram redução significativa no alcance da pulverização nos estratos inferiores da cultura da soja. No estágio reprodutivo R1 e R3, momentos de alto índice de área foliar (IAF), foi observada cobertura da pulverização 60 cm abaixo do topo do dossel com valores próximo a 15%, enquanto que, em R5, com menor IAF e início de desfolha na cultura, foram obtidos 41% de cobertura (aos 60 cm) e alcance em até 120 cm abaixo do topo do dossel da cultura.

Além do maior desenvolvimento foliar (IAF), a estrutura ou arquitetura de cada cultivar da soja e até mesmo o heliotropismo podem afetar a cobertura e distribuição da pulverização na soja (MÜLLER et al., 2018). Segundo os autores, aplicações em horários mais quentes, como às 14 horas, apresentaram maior porcentagem de cobertura devido à posição das folhas, que acabam facilitando a penetração da pulverização. Por outro lado, apesar de constatada diferença na distribuição de calda

entre diferentes cultivares, baixos valores de cobertura foram demonstrados nas regiões inferiores do dossel em todos eles, especialmente nos horários de temperatura mais amena e com alta umidade (início da manhã e final da tarde). Foi reportada maior deposição de calda e cobertura nas regiões média e inferior nos cultivares de soja com menor altura, número de ramos e IAF.

Independente do período de aplicação, baixa cobertura de pulverização foi observada nos estratos inferiores do dossel da cultura e com diferença acentuada para a menor taxa. Legleiter e Johnson (2016) também relataram baixa capacidade de penetração da pulverização no interior do dossel da cultura da soja de diferentes pontas de pulverização (jato plano padrão com e sem indução de ar e jato plano com câmara de turbilhamento com e sem indução de ar) em duas taxas de aplicação (94 e 140 L ha⁻¹). No entanto, nesse estudo também foi relatada maior cobertura com maior taxa de aplicação na região inferior do dossel, sem diferença para as pontas avaliadas nesse estudo. Constatou-se que a taxa de aplicação tem maior capacidade de influenciar na distribuição da calda que as próprias pontas de pulverização.

O emprego da tecnologia de aplicação adequada deve levar em consideração todas as ferramentas disponíveis para auxiliar no melhor distribuição da calda de pulverização, de modo uniforme e com menor perda de produto. Portanto, apesar da taxa de aplicação exercer grande impacto na deposição e cobertura de calda, a escolha da ponta de pulverização também pode ser um grande aliado, especialmente nos casos em que é necessário o maior alcance da pulverização no dossel.

Negrisola et al. (2019) observaram maior uniformidade na distribuição de calda entre os estratos inferior e superior utilizando taxa de aplicação maior (250 L ha⁻¹), enquanto que volume mais reduzido (125 L ha⁻¹) apresentaram diferenças significativas entre os níveis de depósitos em cada região da planta avaliado. Ressalta-se, entretanto, que essa diferença se acentua em função do aumento do fechamento do dossel, sendo importante evitar aplicações em períodos mais tardios.

É possível que pontas de pulverização com tecnologias específicas para auxiliar na penetração da calda no dossel permitam a redução do volume de calda, compensando a redução no volume pela maior uniformidade de distribuição. As pontas de jato plano inclinado e jato plano duplo são bons exemplos, na qual possuem configuração desenvolvida para auxiliar na penetração da calda através da angulação do jato de pulverização (DURÃO; BOLLER, 2017; NEGRISOLI et al., 2019). Em ambos os trabalhos desenvolvidos por Durão e Boller (2017) e Negrisola et al. (2019)

foi possível observar até mesmo redução no nível da severidade de doenças em função da inclinação das pontas de pulverização.

Além da importância da maior uniformidade na distribuição de calda, promovendo melhor alocação dos produtos fitossanitários, evitando perdas e aumentando a chance de eficácia de controle (CUNHA et al., 2014), deve-se levar em consideração a necessidade de alguns produtos de atingirem a região inferior do dossel. Como exemplo, o controle de *Phakopsora pachyrhizi* requer boa uniformidade de distribuição da pulverização e uma boa cobertura na região inferior do dossel, local onde iniciam-se a infecção e desenvolvimento da doença na planta (JULIATTI et al., 2017). Entretanto, não há informação na literatura que correlacione qual a cobertura e deposição necessária para um bom controle da doença, priorizando a utilização da tecnologia que melhor desempenhe essa função.

Porém, deve-se também levar em consideração a tendência de se reduzir cada vez mais a taxa de aplicação a fim de se obter redução dos custos e incremento na capacidade operacional dos pulverizadores (CHECHETTO et al., 2014). Nesse cenário, deve-se atentar ao nível de deposição necessária na cultura, produto fitossanitário e tecnologia disponível. Caso seja direcionado para produtos sistêmicos e com translocação na planta, possivelmente a redução seria uma excelente opção e, ainda assim, poderia fornecer bons resultados na qualidade da pulverização. Já nos casos em que são necessários uma boa cobertura e níveis de depósitos, como no controle da FAS onde é necessária a pulverização do interior do dossel, a maior taxa de aplicação pode se tornar uma excelente ferramenta.

No geral, percebe-se a influência da taxa de aplicação na qualidade final da aplicação e uniformidade de distribuição nos estratos da planta, podendo afetar de modo positivo ou negativo a eficácia do controle. Portanto, o estudo da qualidade da aplicação aliada à eficácia de um alvo biológico traz informações relevantes que podem complementar o entendimento da tecnologia e definir a melhor estratégia de aplicação para cada situação.

3.4 CONCLUSÃO

A taxa de aplicação de 160 L ha⁻¹ possibilitou, em geral, maior deposição e cobertura da pulverização em plantas de soja da cultivar BMX Potência RR nos estádios fenológicos R1 e R1 mais 14 dias. A menor taxa de aplicação (80 L ha⁻¹) prejudicou a deposição e cobertura da pulverização, especialmente nos estratos médio e inferior do dossel. O estágio de desenvolvimento da planta interfere sobre os níveis de depósito e cobertura da pulverização na cultura da soja.

É necessário que sejam conduzidos estudos para definição do efeito da redução nos níveis de depósito e cobertura da pulverização sobre o controle de alvos biológicos. Além disso, aplicações mais precoces podem otimizar a uniformidade de distribuição da calda e possibilitar aplicações melhores em termos quali-quantitativos.

REFERÊNCIAS

ANTUNIASSI, U.R. et al. Avaliação da cobertura de folhas de soja em aplicações terrestres com diferentes tipos de pontas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS, 3., Botucatu, 2004.

Resumos... Botucatu: FEPAF, 2004. p. 48-51.

ANTUNIASSI, U.R. Tecnologia de aplicação de defensivos na cultura da soja. In: SUZUKI, S.; YUYAMA, M.M.; CAMACHO, S.A. **Boletim Técnico de Pesquisa Soja** 2006. Rondonópolis, MT: Fundação Mato Grosso, p. 173-212, 2006.

BERGER-NETO, A., et al. Effect of spray droplet size, spray volume and fungicide on the control of white mold in soybeans. **Crop Protection**, v. 92, p. 190-197, 2017.

BUTZEN, S.; BEUDOT, F.; MCINNES, B. Asian soybean rust: fungicides. **Crop Insights**, v.15, p.1-5, 2005a.

BUTZEN, S., et al. Asian soybean rust: fungicide application technology. **Crop Insights**, v.15, p.1-6, 2005b.

BRETTTHAUER, S. M., et al. The effects of spray application rate and droplet size on applications to control soybean rust. In: American Society of Agricultural and Biological Engineers, Providence, **Rhode Island**, p. 1-12, 2008.

CUNHA, J.P.A.R.; RUAS, R.A.A. Uniformidade de distribuição volumétrica de pontas de pulverização de jato plano duplo com indução de ar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, n. 36, v.1, p. 61-66, 2006.

CUNHA, J.P.A.R.; JULIATTI, F.C.; REIS, E.F. Tecnologia de aplicação de fungicida no controle da ferrugem asiática da soja: resultados de oito anos de estudos em Minas Gerais e Goiás. **Bioscience Journal**, v.30, n.4, p. 950-957, 2014.

CHECHETTO, R. G., et al. Caracterização da taxa de aplicação e pontas de pulverização utilizadas no estado do Mato Grosso. **Magistra**, v. 26, n. 1, p. 89-97, 2014.

DEBORTOLI, M. P. et al. Espectro de gotas de pulverização e controle da ferrugem-asiática-da-soja em cultivares com diferentes arquiteturas de planta. **Pesquisa Agropecuária**, [s. l], v. 47, p. 920-927, 2012.

DURÃO, C.F.; BOLLER, W. Spray nozzles performance in fungicides applications for Asian soybean rust control. **Engenharia Agrícola**, v.37, n.4, p. 709-716, 2017.

FIRVEDA, M.C. et al. Uso de software para análise de imagem em avaliação da cobertura da pulverização. **Bragantia**, Campinas, v.61, n.3, 305-310, 2002.

HANNA, S. O., et al. Fungicide application timing and row spacing effect on soybean canopy penetration and grain yield. **Agronomy Journal**, v. 100, n. 1, p. 1488-1492, 2008.

JULIATTI, F.C., et al. Ferrugem da soja – Epidemiologia e manejo para uma doença reemergente. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 13, p. 351- 395, 2005.

LEGLEITER, T. R.; JOHNSON, W. G. Herbicide coverage in narrow row soybean as influenced by spray nozzle design and carrier volume. **Crop Protection**, v. 83, p. 1-8., 2016.

MÜLLER, M., et al. Architectural characteristics and heliotropism may improve spray droplet deposition in the middle and low canopy layers in soybean. **Crop Science**, v. 58, n. 5, p. 2029- 2041, 2018.

MINGUELA, J.V.; CUNHA, J.P.A.R. **Manual de aplicação de produtos fitossanitários**. Viçosa: Aprenda Fácil, p. 588, 2010.

NEGRISOLI, M. M., et al. Performance of new flat fan nozzle design in spray deposition, penetration and control of soybean rust. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, n. 3, p.755- 767, 2019.

PALLADINI, L.A.; RAETANO, C.G.; VELINI, E.D. Choice of tracers for the evaluation of spray deposits. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 440-445, 2005.

PAULSRUD, B.E.; MONTGOMERY, M. Characteristics of fungicides used in field crops. **Report on Plant Disease**. n.1002, p.38, 2005.

PRADO, E.P. **Canopy opener e assistência de ar no controle da ferrugem asiática e produtividade da cultura da soja**. 2012. 98f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2012.

RAETANO, C.G. Assistência de ar e outros métodos de aplicação a baixo volume em culturas de baixo fuste: a soja como modelo. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.105-106, 2007.

SCUDELER, F.; RAETANO, C.G.; ARAÚJO, D.; BAUER, F.C. Cobertura da pulverização e maturação de frutos do cafeeiro com ethephon em diferentes condições operacionais. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.1, p.129-139, 2004.

SOUZA, R.T. et al. Pulverização eletrostática. **Cultivar**, n. 21, p.1-10, 2003.

SOUZA, D.M. **Impactos do volume de aplicação sobre o controle da ferrugem asiática e oídio da soja: a inclusão do mancozebe no manejo**. 2019. 111 p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2019.

WILSON, P.A. et al. Using Lindenmayer systems to model morphogenesis in a tropical pasture legume *Stylosanthes scabra*. **Canadian Journal of Botany**, v.77, p.394-403, 1999.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve como princípio comparar a eficácia e manejo de resistência dos fungicidas sítio-específico e multissítios, isolados ou em mistura, bem como o efeito de diferentes taxas de aplicação sobre os depósitos e cobertura da pulverização, bem como no controle da ferrugem asiática da soja e na produtividade da cultura. Devido ao aumento de casos de resistência da ferrugem asiática da soja a cada safra, e com a escassez de novas moléculas no mercado, é importante fazer uma correta aplicação, seguindo as recomendações de bula de cada fungicida, além de uma adequada tecnologia de aplicação, proporcionando melhor controle da doença na cultura da soja. Além disso, outro aliado essencial para mitigar os problemas com novos casos de resistência às moléculas fungicidas comerciais e aumentar a eficácia no controle da ferrugem asiática é o uso de fungicidas multissítios e a mistura dos ingredientes ativos. Com isso, esse trabalho vem contribuir com entendimento da interação entre um fungicida multissítio como o mancozebe, associado a fungicidas sítios-específicos em diferentes taxas de aplicação, no controle da ferrugem e produtividade da soja. Também fica evidente que a variação da taxa de aplicação na cultura da soja visando o controle da ferrugem nem sempre responde positivamente no controle da doença ou sobre a produtividade. Entretanto, taxas de aplicação reduzidas podem interferir negativamente no controle da doença em estádios de desenvolvimento da planta com maiores índices de área foliar (IAF).

REFERÊNCIAS GERAIS

- ALVES, V. M.; JULIATTI, F. C. Fungicidas no manejo da ferrugem da soja, processos fisiológicos e produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 44, n. 3, p.245-251., 2018.
- AZEVEDO, L.A.S. de; JULIATTI, F.C.; BARRETO, M. Resistência de genótipos de soja à *Phakopsora pachyrhizi*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.252-257, 2007.
- BARBIERI, R.L., CARVALHO, F.I.F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 7, p. 79-161, 2001.
- BOLLER, W.; MACHRY, M. Efeito da pressão de trabalho e de modelos de pontas de pulverização sobre a eficiência de herbicida de contato em soja. **Engenharia Agrícola**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 722-727, dez. 2007.
- BRONIARZ-PRESS, L. et al. The atomization of wateroil emulsions. **Exper. Thermal Fluid Sci.**, v. 33, n. 6, p. 955-962, 2009.
- CAMPOS, J.B. de. **Diversidade, estrutura populacional e análise da variabilidade do gene CytB em populações de *Phakopsora pachyrhizi***. 2018. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética e Biologia Molecular, Genética Vegetal e Melhoramento, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.
- CONAB – **Compania Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira – Grãos, Safra 2019/2020**. Estado de São Paulo. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 15 dez 2020.
- CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM**. Conheça a ferrugem: Custo Ferrugem Asiática da Soja - 2011. Disponível em: < <http://www.consorcioantiferrugem.net/#/conteudos/view/5> > Acesso em: 15 dez 2020.
- CUNHA, J. P. A. R. *et al.* Avaliação de estratégias para redução da deriva de agrotóxico em pulverizações hidráulicas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 325-332, 2003.
- DEISING, H.B., REIMANN, S., PASCHOLATI, S.F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, 39:286-295., 2008.
- EMBRAPA. (2008). **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Tecnologias de Produção de Soja: região central do Brasil 2008. Londrina, PR: Embrapa Soja, Embrapa Cerrados, Embrapa Agropecuária Oeste, 280 p.
- EMBRAPA (2013). **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja.
- EMBRAPA (2016). **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Disponível em<<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil200>> Acesso em: 19 dez 2018.
- FANG, Z.D. *et al.* Combinatorially selected peptides for protection of soybean against *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**, 100:1111-1117., 2010.
- FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D., *et al.* Mechanisms of resistance to qoi fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, v.11:1-9., 2008.
- 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**. Embrapa Soja, 2015. 8 p. (Embrapa Soja, Circular Técnica, 111).

GRASSO, V. *et al.* Relatedness among agronomically important rusts based on mitochondrial cytochrome b gene and ribosomal ITS sequences. **Journal Phytopathology**.V154, p.110-118., 2006.

HENNING, A. A. *et al.* **Manual de identificação de doenças de soja**. 5. Ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014

JULIATTI, F. C. Perdas causadas por doenças na cultura da soja, com ênfase na ferrugem asiática. In: Workshop de epidemiologia de doenças de plantas, quantificação de doenças de plantas, quantificação de perdas no manejo de doenças de planta. **Anais**. 1. 2005, Viçosa. UFV p 81-94, 2005.

KASSIS, Fernando *et al.* **Taxa de aplicação e caracterização de pulverizadores utilizados no Mato Grosso em 2016**. 2017.

KÖLLIKER, R. *et al.* Genetic diversity and pathogenicity of the grass pathogen *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*. **Systematics and Applied Microbiology**.V.29, p.109-119., 2006.

LACERDA, V. S. **Estimativa do índice de severidade de ferrugem asiática na cultura da soja por meio de imagens obtidas com aeronave remotamente pilotada**. 2016. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Computação Aplicada, Computação Aplicada, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **SOJA**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. 2014. Acesso em: 13 dez. 2020.

MIORINI, T.J.J. **Métodos de aplicação e de avaliação do residual de fungicidas no controle de mofo-branco em soja e feijão**. 2015. 140 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NAVARINI, L. *et al.* Controle químico da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow) na cultura da soja. **Summa phytopathologica**, botucatu, v. 33, n. 2, p.182-186., 2007.

NUNES, J. L. S. (2016) **Ferrugem Asiática**. Disponível em <https://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/ferrugem-asiatica_361544.html> Acesso em 02 de dez. 2020.

REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA DA REGIÃO SUL, 36. (2008). Porto Alegre. Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina 2008/2009. Porto Alegre: Fepagro, 2008. 144 p.

RUPE, J.; SCONYERS, L. Soybean Rust. **The Plant Health Instructor**, 2008. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/SoybeanRust.aspx>>. Acesso em 20 dez 2020.

SIMÕES, K. *et al.* First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 125(1), 21-26., 2018.

SINCLAIR, J. B., HARTMAN, G. L. Soybean rust. In: HARTMAN, G. L., SINCLAIR, J. B., RUPE, J. C. (1999). (Eds.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. Saint Paul: APS Press, p. 25- 26.

TSCHANZ, A.T., WANG, T.C. (1985). Interrelationship between soybean development, resistance, and *Phakopsora pachyrhizi*. **Anais**, Fifth International Congress of the Society for the Advanced of Breeding Research in Asia and Oceania, Bangkok, Thailand. pp.14-20.

USDA. (2018). **United States Department of Agriculture** - World Agricultural Production. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> > Acesso em 01 de dez. 2018.

YAMAOKA, Y. *et al.* Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of Genetic Plant Pathology** 68: 52-56., 2002.

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

YORINORI T.J. Soybean ‘asian’ rust in the american continente: evolution, economic importance and control strategies, **Soybean Asian Rust: etology, epidemiology and management**. 1º edição. Uberlândia: Edefu. p 23-42, 2006.

XAVIER, S.A. *et al.* Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 431-435, 2013.