

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

Rafael Rístor de Lima Montan

Avaliação da resistência do fungo da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) aos fungicidas dos grupos DMI, Qol e SDHI na safra 2020/21

**Ilha Solteira
2023**

Rafael Ristori de Lima Montan

Avaliação da resistência do fungo da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) aos fungicidas dos grupos DMI, QoI e SDHI na safra 2020/21

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Avaliação da resistência do fungo da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) aos fungicidas dos grupos DMI, QoI e SDHI na safra 2020/21

Nome do orientador

Paulo César Ceresini

Co-orientadora

Loane Dantas Krug

Ilha Solteira
2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

M764a Montan, Rafael Rístori de Lima.
Avaliação da resistência do fungo da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) aos fungicidas dos grupos DMI, QoI e SDHI na safra 2020/21 / Rafael Rístori de Lima Montan. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
25 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientador: Paulo César Ceresini
Coorientador: Loane Dantas Krug
Inclui bibliografia

1. Soja. 2. Ferrugem. 3. Resistência.


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Saque
Serviço Técnico de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRA/S - 9999

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA
ATA DA DEFESA – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO


TÍTULO: Avaliação da resistência do fungo da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) aos fungicidas dos grupos DMI, QoI e SDHI na safra 2020/21

ALUNO: *Rafael Rístori de Lima Montan* RA: 172054801

ORIENTADOR: Paulo Cezar Ceresini

Aprovado (X) - Reprovado () pela Comissão Examinadora com Nota: **9,0**
(nove)

Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 PAULO CEZAR CERESINI
Data: 05/12/2023 12:57:25-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini
Presidente (Orientador)

FELIPE RAFAEL
GARCES
FIALLOS
Firmado digitalmente por FELIPE RAFAEL GARCES FIALLOS
Fecha: 2023.12.11
11:19:12 -0500

Prof. Dr. Felipe Rafael Garcés Fiallos

Documento assinado digitalmente
 TATIANE CARLA SILVA
Data: 05/12/2023 13:10:37-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dra. Tatiane Carla Silva

Rafael Rístori De Lima Montan

Rafael Rístori de Lima Montan

Ilha Solteira, 24 de novembro de 2023.

DEDICATÓRIA

A Deus, que me abençoou com sabedoria e motivação para sempre seguir em frente independente dos males.

Aos meus pais, Patrícia Rístori de Lima e Iran Freire Montan, que sempre me incentivaram e me deram o apoio para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder o direito à vida, sempre olhando e zelando por meu bem.

A minha mãe Patrícia Rístor de Lima Montan, por toda a paciência e conselhos ao longo desses anos longe, que, apesar da distância, nunca se distanciou espiritualmente, sempre estando comigo em todos os momentos difíceis e bons. Ao meu pai, Iran Freire Montan, por sempre me mostrar o caminho correto e nunca me deixar desviar do meu objetivo, por toda paciência, pelos momentos ruins e por todas as risadas nos momentos bons. Ao meu irmão, Gabriel Rístor Bessa, que sempre torce pelo meu melhor e me motiva a dar o melhor exemplo.

Aos meus familiares por todo o apoio e motivação para chegar até aqui.

Ao meu orientador Paulo César Ceresini pela oportunidade de estágio durante a pandemia, por todos os ensinamentos e por toda a paciência durante esses anos de convívio.

Aos meus colegas de estágio do grupo da Ferrugem Asiática da Soja, em especial a Loane Dantas Krug, por todos os ensinamentos, por todas as risadas e por todos os momentos bons.

Ao Salsicha/Victor Stek (in memoriam), que durante sua curta passagem em minha vida se tornou um irmão para o resto da vida, obrigado por todas as risadas, memórias e perrengues, pelos momentos de brigas, discussões e mal entendidos, todos eles foram de aprendizados e não serão esquecidos nunca.

Aos meus amigos e irmãos da República Abatedouro, que durante esses 5 anos foram de grande importância para eu me tornar quem eu sou hoje, sempre me corrigindo nos momentos errados e me motivando nos momentos difíceis, obrigado por fazerem parte do meu amadurecimento e da minha história.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus de Ilha Solteira), por todos os ensinamentos, confiança e momentos que presenciei aqui.

À todas as amigas que fiz em Ilha Solteira, sem vocês todos esses anos não seriam inesquecíveis.

E agradeço a mim, por sempre manter o “pé no chão” e me esforçar ao máximo, por todas as noites mal dormidas e todos os momentos difíceis que tive que suportar, mostrando-me ser capaz de superar esse desafio.

RESUMO

O Brasil em 2021 liderou na produção mundial de grãos, sendo atualmente produzidos 362,9 milhões de toneladas de soja no mundo, sendo que o XX% são produzidos no Brasil. A Ferrugem Asiática da Soja (FAS) é causada pelo fungo biotrófico *Phakopsora pachyrhizi*. A doença pode gerar uma redução de 100% da produtividade, preocupando os produtores de soja do Brasil e desde 2001 se tornou a doença de maior importância da cultura. Como estratégias para o controle da doença, pode-se adotar algumas técnicas como vazios sanitários e controle da época de semeadura. Entretanto, o método de manejo mais utilizado é o químico, como os fungicidas sistêmicos. No entanto, com o passar dos ciclos produtivos da soja a diminuição na eficácia das moléculas é consentida para apenas 20% de eficácia, sendo de consequência provável a resistência a fungicidas inibidores extracelulares de quinona ou Qols e fungicidas inibidores da desmetilação ou DMIs. Mais recentemente, os SDHI, inibidores da succinato desidrogenase (registrados em 2013), apresentaram redução na sensibilidade e resistência em isolados de *P.pachyrhizi*, devido a sua natureza de média a alto risco para a seleção de resistência e mistura destes e a mistura deste com os Qol e DMI já ineficientes ao controle da FAS. Foram avaliadas populações brasileiras de *P. pachyrhizi* obtidas nos estados do Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS), para determinar os níveis fenotípicos atuais de resistência aos fungicidas Qol, DMI e SDHI. A população de *P. pachyrhizi* do Rio Grande do Sul é altamente resistente à tebuconazol, resistente à piraclostrobina e possui redução de sensibilidade à fluxapiraxade. Já a população de *P. pachyrhizi* do estado do Paraná possui resistência a tebuconazol e piraclostrobina, e sensibilidade a fluxapiraxade.

Palavras-chave: Soja, Ferrugem, Fungicidas, Resistência

ABSTRACT

In 2021 Brazil reached leadership in grain production worldwide, currently, 362.9 million tons of soybeans are produced worldwide, of which 135.4 million tons are produced in Brazil. Asian Soybean Rust (ASR) is caused by the biotrophic fungus *Phakopsora pachyrhizi*. The disease can lead to a 100% reduction in productivity, worrying Brazilian soybean producers. Since 2001 it has become the most important disease of the crop. As strategies to control the disease, some techniques can be adopted, such as sanitary void and sowing season control. However, the most used method is chemical control. The currently prescribed management is based on systemic fungicides and over the production cycles the decrease in effectiveness is allowed to only 20% of effectiveness, with a probable consequence being resistance to extracellular quinone inhibitor fungicides or QoIs and demethylation inhibitor fungicides or DMIs. More recently, SDHI, succinate dehydrogenase inhibitors (labeled in 2013), showed a reduction in sensitivity and resistance in *P. pachyrhizi* isolates, due to their medium to high risk nature for the selection of resistance and mixture of these and the mixture of this with QoI and DMI already inefficient in controlling ASR. Brazilian populations of *P. pachyrhizi* obtained from the states of Paraná (PR) and Rio Grande do Sul (RS) were sampled to determine the current phenotypic levels of resistance to QoI, DMI and SDHI fungicides. The population of *P. pachyrhizi* from Rio Grande do Sul is highly resistant to tebuconazole, resistant to pyraclostrobin and has reduced sensitivity to fluxapyroxad. The population of *P. pachyrhizi* from the state of Paraná has resistance to tebuconazole and pyraclostrobin and sensitivity to fluxapyroxad.

Keywords: Soybean, Rust, Resistance

Lista de Tabelas

Figura 1 - A. Etapa de secagem por 24 h durante processo de preservação de esporos antes do armazenamento a - 20 °C. B. Coleta de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* com auxílio de pincel. C. Tubo contendo urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* colhidos a partir de amostras compostas de folhas de soja infectadas com a FAS. D. Planta de soja crescendo e sala de plantas sadias. E. Suspensão de urediniósporos reativados em estado de germinação. F. As plantas de soja mantidas em gaiolas metálicas envolvidas por plástico transparente, após a inoculação, para multiplicação e manutenção de inóculo do patógeno. G. Urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* viáveis para inoculação. H. Aplicação de fungicida pelo método de imersão. I. Aplicação de suspensão de isolado com o auxílio de aerógrafo, folíolos inoculados mantidos em placas de Petri contendo papel de filtro esterilizado umedecido usado em ensaios de sensibilidade a fungicidas. J. Sala de inoculação e manutenção de isolados de *Phakopsora pachyrhizi*, onde os folíolos de soja ficam por 15 dias após a inoculação e incubação a 24°C / 12 h de fotoperíodo para avaliação da severidade da FAS em experimentos de sensibilidade a fungicidas.....15

Figura 2 - A. Delimitação da área de avaliação, realizada com o auxílio de um furador. B. Uso de microscópio estereoscópico para visualização de lesões e urédias. C. Monopé e caixa de fotos para avaliação da severidade da doença. D. Pústulas de ferrugem da soja desenvolvidas em folíolos inoculadas observadas em estereomicroscópio.....17

Figura 3 - Sensibilidade in vivo da amostra populacional composta de *Phakopsora pachyrhizi* PP.RS2.21 do Rio Grande do Sul aos fungicidas tebuconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade, e os respectivos EC₅₀ com base na severidade da doença em soja cv. ST 271 IPRO, no número de lesões.cm² e de urédias.cm².....19

Figura 4 - Sensibilidade in vivo da amostra populacional composta de *Phakopsora pachyrhizi* PP.PR21.21 do Paraná ao tebuconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade e os respectivos EC₅₀ com base na severidade da doença em soja cv. ST 271 IPRO, no número de lesões.cm⁻² e de urédias.cm⁻².....20

Figura 5 - Severidade da doença causada pela amostra populacional composta de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* PP.RS2.21 em soja cv. ST 271 IPRO tratada com tebuconazol, piraclostrobina ou fluxapiroxade em concentrações crescentes. Testemunha: Folhas mergulhadas apenas em água.....21

Lista de Abreviaturas

FAS	Ferrugem Asiática da Soja
DMI	Inibidor da Desmetilação
Qol	Inibidor da Quinona Oxidase
SDHI	Inibidor da Succinato Desidrogenase
EC ₅₀	Concentração efetiva para inibir 50% da atividade do patógeno

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4. CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma espécie originária da Ásia, onde vem sendo cultivada há centenas de anos. Seu cultivo se expandiu pelo mundo graças às suas características nutritiva e industriais, além da sua capacidade de adaptabilidade a diferentes latitudes, solos e condições climáticas. Alguns fatores têm limitado o rendimento, lucratividade e o sucesso da produção de soja, sendo as doenças uma das mais importantes (HARTMAN, et al., 1999). Devido ao seu alto potencial destrutivo, a ferrugem sempre foi considerada uma das mais importantes, podendo gerar uma perda de até 100% da produtividade final (ANDRADE & ARARIPE-ANDRADE, 2002). No Brasil, a doença foi identificada pela primeira vez no Paraná em 2001 (JACCOUD FILHO et al., 2001; YORINORI et al., 2001). Após duas safras, já podia ser encontrada na maioria dos estados produtores de soja, isso ocorreu pela facilidade que o fungo é disseminado pelo vento e pela presença da soja na maior parte do ano, considerando todas as regiões produtoras de soja (HARTMANN et al., 2015; GODOY et al., 2016).

Cultivares de soja com resistência a ferrugem asiática da soja (FAS) já foram desenvolvidas, porém esta resistência não tem sido durável e estável devido ao rápido surgimento de novos genótipos fúngicos virulentos compatíveis (YORINORI, et al., 2005). Para o controle da doença, alguns fatores estratégicos devem ser considerados, como por exemplo a época de semeadura, evitar o prolongamento do período de semeadura, utilização de cultivares precoces e monitoramento constante das lavouras. (YORINORI & Wilfrido, 2002). Com a utilização de cultivares precoces, o fungo possui um menor período de tempo para prejudicar a produtividade final, isso por conta que a cultura fica por um menor tempo no campo.

Apesar da utilização de outros métodos de controle como por exemplo o vazio sanitário, o manejo da doença tem se baseado principalmente no controle químico com fungicidas sistêmicos, mas a eficácia desses fungicidas vem

diminuindo constantemente durante os últimos 17 anos no Brasil, para cerca de 20% de eficácia apenas (GODOY et al., 2016), provavelmente devido à emergência de resistência a fungicidas inibidores extracelulares de quinona ou Qols e aos fungicidas inibidores da desmetilação ou DMIs, as duas principais classes de fungicidas utilizados no Brasil (SCHMITZ et al., 2013). A origem da resistência aos fungicidas é atribuída à alta pressão de seleção exercida sobre as populações de patógenos da FAS pelo uso intensivo de fungicidas sistêmicos de alto risco, em larga escala, e em pulverizações profiláticas baseadas em calendários (GODOY et al., 2016).

A redução da sensibilidade para todos os fungicidas vem sendo um assunto importante quando se fala no manejo da FAS. Essa resistência é fruto de uma baixa variedade de fungicidas que são utilizados em campo para o combate da doença, e também devido ao tempo de descoberta, desenvolvimento e de registro de novos fungicidas, tornando o manejo da resistência a fungicida crítico para a produção da soja. (BORBA, 2019). Logo em 2014, foi registrado em campo a resistência do fungo ao fungicida do grupo dos inibidores da desmetilação (DMIs) (Schmitz et al., 2014), e no ano seguinte os inibidores extracelulares de quinona (Klosowski, 2015). Em 2016/2017, foi observada a resistência aos inibidores de succinato desidrogenase (SDHI) (Simões et al., 2017).

A fim de aumentar a vida útil das poucas moléculas novas ainda eficazes são necessárias estratégias modernas de manejo integrado para a ferrugem da soja que abandonem, definitivamente, a prática comprovadamente prejudicial de pulverizações profiláticas baseadas em calendário. Por sua vez, as companhias transnacionais que registram e comercializam formulações de fungicidas no país insistem em não adotar medidas simples anti resistência (como a co-formulação de ativos fungicidas de alto risco apenas com fungicidas protetores de amplo espectro) e continuam a co-formular novos ingredientes ativos com outros sem eficácia (MAPA, 2021)

Os objetivos deste estudo foram determinar a sensibilidade de populações brasileiras atuais de *P. pachyrhizi* aos fungicidas DMI tebuconazol, Qol piraclostrobina e SDHI fluxaproxade. Foram coletadas populações brasileiras de *P.*

pachyrhizi nos estados do Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS) para determinar os níveis fenotípicos atuais de resistência aos fungicidas QoI, DMI e SDHI.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 *Phakopsora pachyrhizi* isolamento

Os isolados foram obtidos nas safras 2019-2020 e 2020-2021 e em diferentes localidades dos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, sendo compostos por esporos coletados dentro de microtubos Eppendorf diretamente de folíolos de soja de campos infectados com Ferrugem da Soja Asiática, com o auxílio de um pincel (figura 1. A, B). Em seguida, esses isolados foram identificados, desidratados (em sílica gel por 24h), e mantidos a -20°C até a sua utilização para os experimentos de genotipagem dos genes-alvos e detecção de EC₅₀ (figura 1. C).

2.2 Condições Experimentais

Plantas de soja cv. ST 271 IPRO foram cultivadas em vasos plásticos de 2L contendo casca de pinheiro, vermiculita e turfa (enriquecida com superfosfato simples e KNO₃) como substrato, e mantidos em uma câmara de crescimento (23°C e fotoperíodo de 12 h) (figura 1. D). As plantas foram irrigadas de acordo com suas necessidades hídricas e fertilizadas com solução sintética líquida composta por N (6%), P₂O₅ (6%), K₂O (8%), Mg (1%), S (1,1%), Zn (0,1%), Mn (0,1%), Fe (0,1%) e B (0,03%), em V1 (folhas totalmente desenvolvidas em nós unifoliolados) e V3 (três nós com folhas unifolioladas totalmente desenvolvidas) estágios fenológicos (Fehr e Caviness 1977). Essas plantas foram utilizadas para a manutenção de isolados e detecção de EC₅₀.

2.3 Obtenção de inóculo

Os uredósporos foram expostos a um choque térmico de 40°C por 5 minutos, seguido de hidratação em câmara úmida por 24 horas (Furtado et al., 2008). Água

destilada estéril (1 mL) com tween (1%) foi colocada dentro do microtubo e misturada vigorosamente com o patógeno (figura 1. E). A concentração final foi ajustada para 1×10^6 uredosporos mL^{-1} .

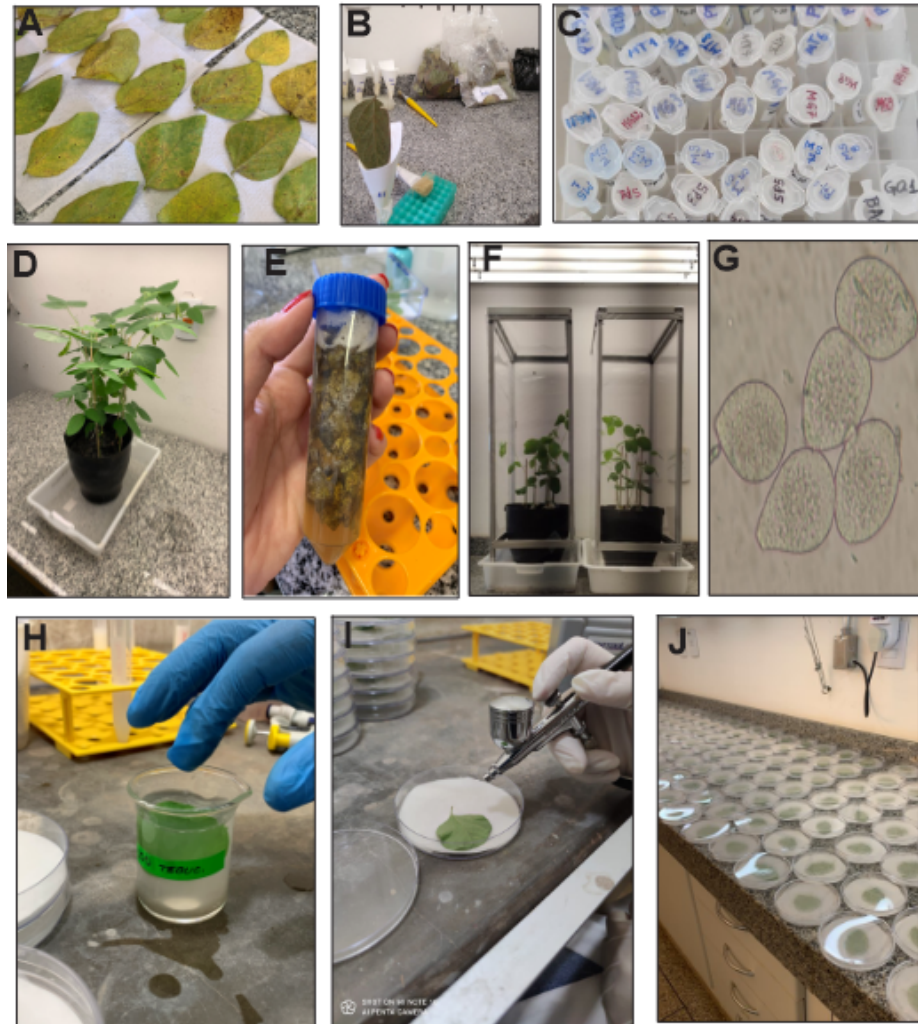


Figura 1. A. Etapa de secagem por 24 h durante processo de preservação de esporos antes do armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. B. Coleta de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* com auxílio de pincel. C. Tubo contendo urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* colhidos a partir de amostras compostas de folhas de soja infectadas com a FAS. D. Planta de soja crescendo e sala de plantas saudias. E. Suspensão de urediniósporos reativados em estado de germinação. F. As plantas de soja mantidas em gaiolas metálicas envolvidas por plástico transparente, após a inoculação, para multiplicação e manutenção de inóculo do patógeno. G. Urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* viáveis para inoculação. H. Aplicação de fungicida pelo método de imersão. I. Aplicação de suspensão de isolado com o auxílio de aerógrafo, folíolos inoculados mantidos em placas de Petri contendo papel de filtro esterilizado umedecido usado em ensaios de sensibilidade a fungicidas. J. Sala de inoculação e manutenção de isolados de *Phakopsora pachyrhizi*, onde os folíolos de soja

ficam por 15 dias após a inoculação e incubação a 24°C / 12 h de fotoperíodo para avaliação da severidade da FAS em experimentos de sensibilidade a fungicidas.

2.4 Manutenção de isolados

Plantas de soja no estágio fenológico V3 foram inoculadas com uma suspensão de uredosporos de *P. pachyrhizi*, foram incubadas por 24h no escuro a 23°C e posteriormente foram mantidas nessa mesma temperatura e fotoperíodo de 12 horas até a doença estar em alto nível de desenvolvimento para realização dos experimentos (figura 1. F).

2.5 Ensaio de sensibilidade a fungicidas DMI, QoI e SDHI

Folhas de soja foram utilizadas para calcular a concentração efetiva para inibir 50% da atividade do patógeno (EC_{50}) para cada fungicida. Os folíolos de plantas no estágio fenológico V1 foram emergidos com fungicidas DMI tebuconazol (0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), QoI piraclostrobina (0, 0,05, 0,10, 0,50, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e SDHI fluxapiróxade (0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), de acordo com Klosowski et al (2018) e Muller et al (2021) (figura 1. H). Esses folíolos foram inoculados 24 horas após, utilizando-se concentração final ajustada da 1×10^5 uredosporos. mL^{-1} até o ponto de escoamento, com o auxílio de um Aerógrafo Profissional Dual Action (Modelo ON 10) (figura 1. G, I). Em seguida, seus folíolos foram cuidadosamente colocados em placas de Petri de plástico contendo papel filtro umedecido com solução nutritiva (MS Basal Medium - Sigma). Todas as amostras foram mantidas por 24 horas no escuro a 23°C. Após esse período, as folhas foram mantidas por 14 dias a 23°C e fotoperíodo 12h (figura 1. J). Para cada concentração do fungicida foram utilizadas quatro placas de Petri contendo folha unifoliolada representando uma repetição.

2.5 Avaliação da doença

A intensidade da FAS foi avaliada na folha unifoliolada, no décimo quinto dia após a inoculação das plantas. A severidade da doença (%) foi estimada por meio da escala diagramática de Franceschi et al (2020) (figura 2. C). Já o número de lesões cm^2 e urédias cm^2 foram quantificadas em uma área pré determinada das

folhas, por meio de microscópio estereoscópico (marca ZEISS, modelo Stemi 2000) (figura A, B), segundo Garcés-Fiallos e Forcelini (2013).

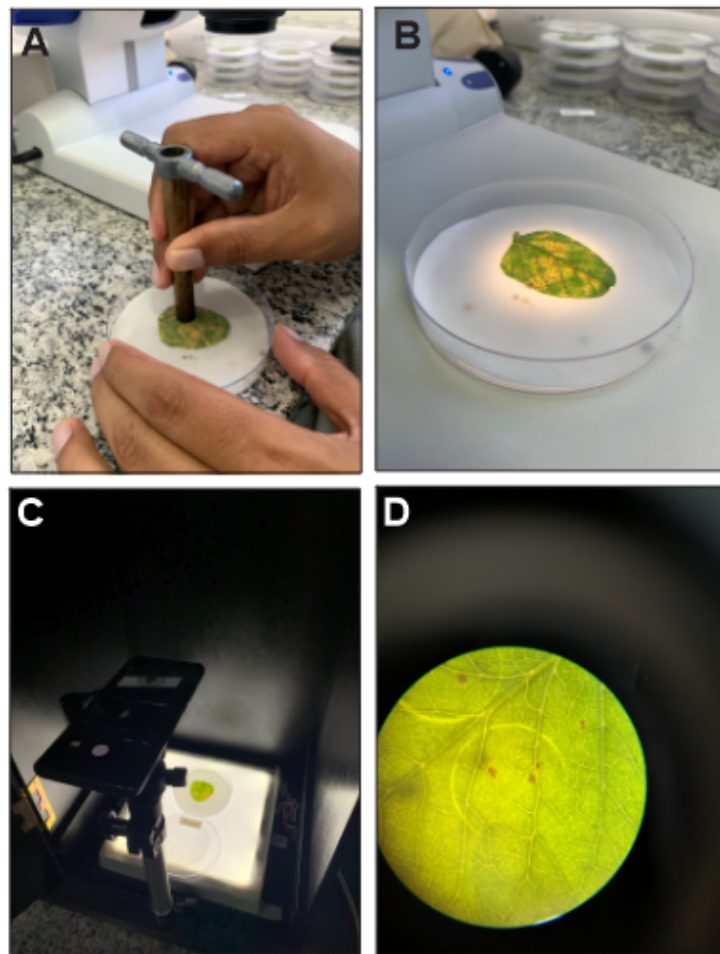


Figura 2. A. Delimitação da área de avaliação, realizada com o auxílio de um furador. B. Uso de microscópio estereoscópico para visualização de lesões e urédias. C. Monopé e caixa de fotos para avaliação da severidade da doença. D. Pústulas de ferrugem da soja desenvolvidas em folíolos inoculadas observadas em estereomicroscópio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um resultado importante deste estudo preliminar foi a detecção de resistência múltipla aos três grupos mais importantes de fungicidas (Fig. 3 e 4), incluindo o fungicida SDHI fluxapiróxade relativamente novo no mercado brasileiro, para o qual já houve relatos de resistência no país, em 2020/21 (Müller et al, 2021; Franceschi et al., 2020).

Ambas as nossas amostras populacionais compostas de *P. pachyrhizi* mostraram sensibilidade reduzida, mas responderam de forma diferente a cada um dos três grupos de fungicidas testados (Fig. 3 e 4). Em relação à população PP.RS2.21, foi observada diminuição na severidade da ferrugem em função do incremento das concentrações dos fungicidas tebuconazol (Fig. 3 A, B e C) e fluxapiróxade (Fig. 3 G, H e I). No entanto, as concentrações de tebuconazol testadas não foram suficientes para reduzir o número de lesões (Fig. 3 B) e de urédias.cm⁻² (Fig. 3 C) resultando em um EC₅₀ > 10 µg L⁻¹. Em contraste, uma EC₅₀ mais baixa (3,3 ± 1,2 µg L⁻¹) foi associada ao tebuconazol quando baseada na severidade da doença (Fig. 3 A). A piraclostrobina foi o único fungicida que falhou completamente no controle da FAS em quaisquer das doses testadas, não permitindo determinação da EC₅₀ (Fig. 3 D e F). Enquanto isso, para o fluxapiróxade foi detectado EC₅₀ entre 3,2 ± 1,3 e 5,7 ± 2,2 µg L⁻¹ (Fig. 3 G e I), o que demonstra redução de sensibilidade ao fungicida.

Quanto à amostra populacional composta PP.PR21.21 avaliada para sensibilidade aos fungicidas tebuconazol, piraclostrobina e fluxapiróxade (Fig. 4), embora a severidade da ferrugem tenha diminuído em função do incremento das concentrações dos fungicidas, detectou-se EC₅₀ > 10 µg L⁻¹ para o tebuconazol, considerando-se o número de lesões cm⁻² (Fig. 4 B), e para a piraclostrobina, considerando-se o número de urédias.cm⁻² (Fig. 4 F). Em contraste, EC₅₀ mais baixa (entre 0,4 ± 0,1 e 0,8 ± 0,4 µg L⁻¹) para severidade da doença e número de lesões cm⁻², respectivamente, (Fig. 4 D e E) foi detectada para o fungicida piraclostrobina, em comparação com o tebuconazol. Para o fungicida fluxapiróxade observou-se diminuição na severidade da ferrugem em função das concentrações do fungicida, e

detectou-se EC_{50} entre $3,2 \pm 1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 4 G). Essa resposta se manteve para o número de lesões e urédias.

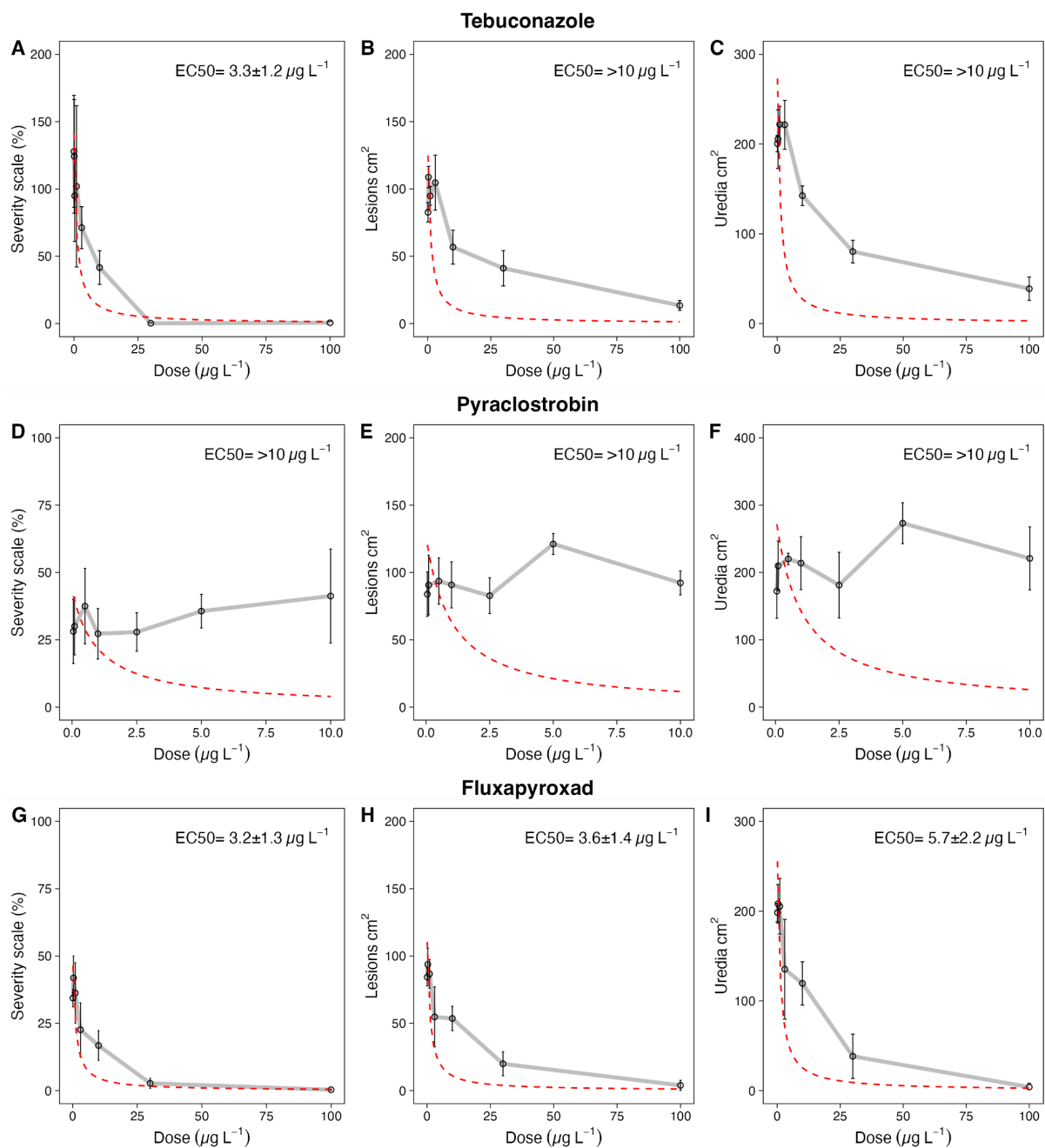


Figura 3. Sensibilidade in vivo da amostra populacional composta de *Phakopsora pachyrhizi* PPRS2.21 do Rio Grande do Sul aos fungicidas tebuconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade, e os respectivos EC_{50} com base na severidade da doença em soja cv. ST 271 IPRO, no número de lesões.cm² e de urédias.cm².

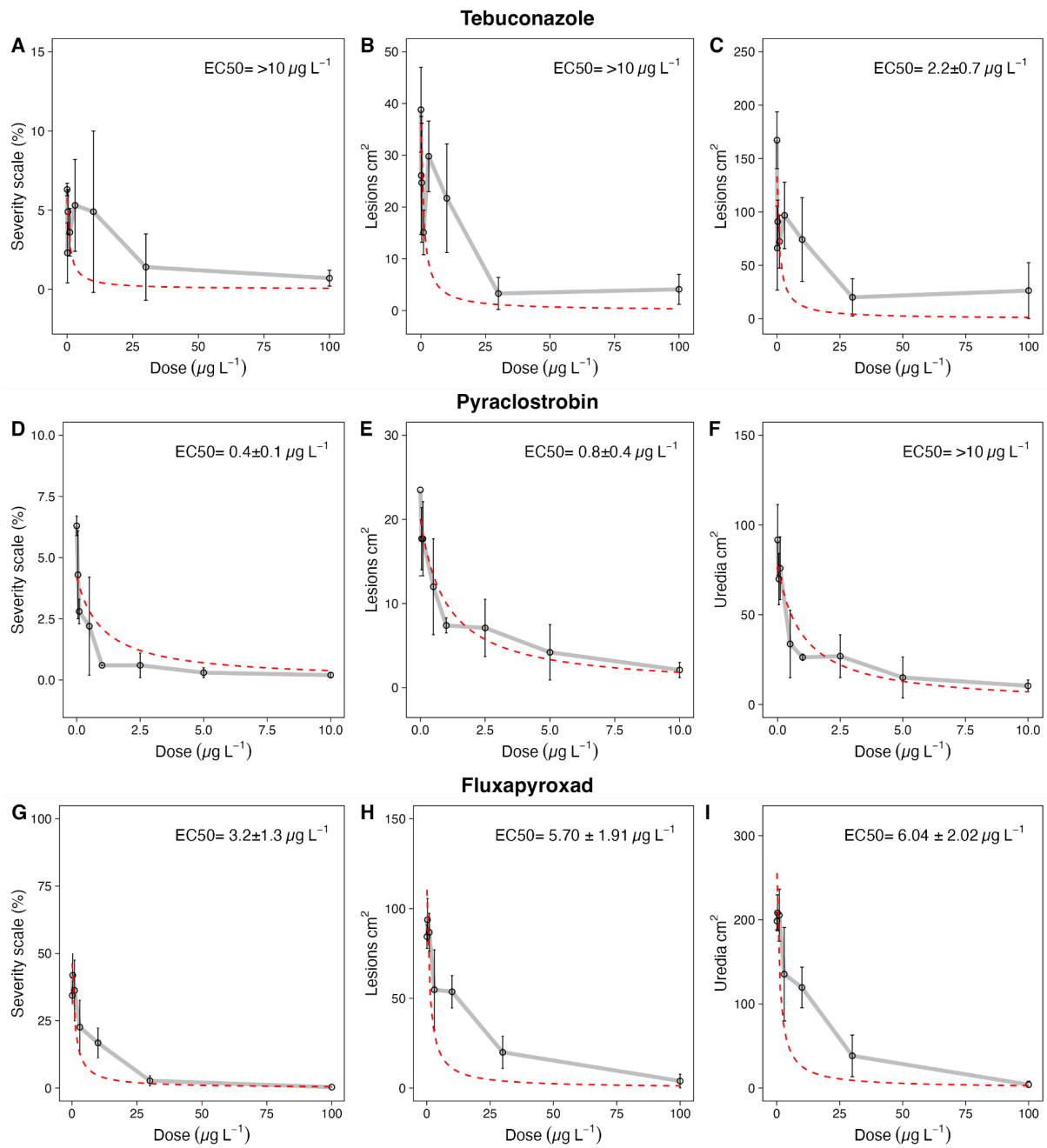


Figura 4. Sensibilidade in vivo da amostra populacional composta de *Phakopsora pachyrhizi* PP.PR21.21 do Paraná ao tebuconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade e os respectivos EC_{50} com base na severidade da doença em soja cv. ST 271 IPRO, no número de lesões. cm^2 e de urédias. cm^2 .

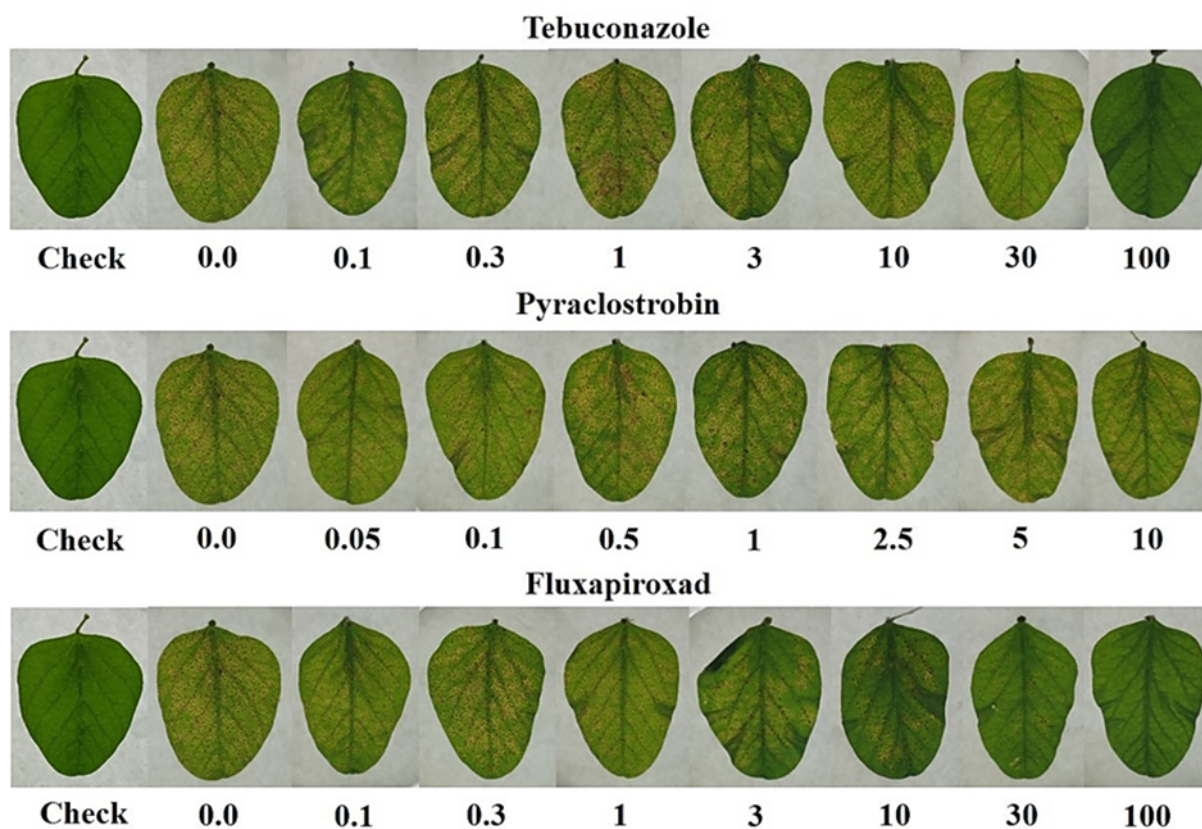


Figura 5. Severidade da doença causada pela amostra populacional composta de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* PP.RS2.21 em soja cv. ST 271 IPRO tratada com tebuconazol, piraclostrobina ou fluxapiraxade em concentrações crescentes. Testemunha: Folhas mergulhadas apenas em água.

Foram identificados diferentes níveis resistência com a fenotipagem dos isolados coletados nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná para os fungicidas QoI, DMI e SDHI, resultado semelhante ao de Müller em 2021, o qual também realizou estudos sobre o patógeno e como resultado observou múltiplas resistências de isolados coletados nos estados de Mato Grosso do Sul, Paraná, São Paulo e Rondônia. Após a coleta dos isolados e a realização da avaliação do experimento, foi observado uma série de mutações genéticas que indicavam genes de resistência aos principais grupos de fungicidas utilizados no manejo da doença, os QoIs, DMIs e SDHIs. Segundo Müller, essa disseminação de isolados mutantes é o resultado do longo tempo e uso contínuo de diferentes fungicidas DMI para controle de *P. pachyrhizi* desde a safra 2002/03 (Reis et al., 2018).

Recentemente, Müller (2021) verificou a sensibilidade e resistência de populações coletadas na região norte do Brasil, encontrando múltiplas resistências genéticas do fungo aos fungicidas dos grupos SDHI, DMI e QoI. Além disso, os

genótipos continham mutação, principalmente nas populações que foram aplicados por QoI e SDHI. Apesar da descoberta, os autores afirmam que ainda assim é raro encontrar uma população que seja resistente aos três fungicidas, entretanto, alerta que, caso o uso abusivo dos fungicidas continuem, futuramente poderá não ser tão raro assim.

Todos os grupos de fungicidas testados, o fluxapiroxade teve o mesmo comportamento para as duas regiões do país, que foi uma redução na sensibilidade, valores de EC_{50} que não ultrapassaram o valor limite de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. Borba em 2019 também testou o fungicida fluxapiroxade e benzovindiflupir e obteve resultados resistentes aos fungicidas, segundo ela o fluxapiroxade teve um valor de EC_{50} menor do que para benzovindiflupir, onde seus índices variaram de 0,036 a $3,531 \mu\text{g L}^{-1}$. (Borba et al., 2019).

Amostras coletadas de Passo Fundo, Rio Grande do Sul na safra 2015 - 2016 também relataram o mesmo comportamento de resistência. As cepas coletadas mostraram uma alta correlação de redução de sensibilidade aos SDHIs benzovindiflupyr e fluxapiroxade. Segundo Simões, concentrações mais altas de SDHI foram geralmente associadas a frequências mais altas de resistência genética. (Simões et al., 2019).

A identificação de redução de sensibilidade á carboxamida fluxapiroxade têm semelhança com os resultados identificados por Mello em 2020, que realizou um estudo utilizando 770 populações de *P. pachyrhizi* de 4 safras (2015/2016 a 2018/2019) constatando que a concentração média efetiva (EC_{50}) vem aumentando ao longo do tempo. Quatorze populações apresentaram o valor de EC_{50} acima de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ para as carboxamidas benzovindiflupyr e fluxapiroxade (Mello et al., 2020).

4. CONCLUSÃO

A população de *P. pachyrhizi* do Rio Grande do Sul possui sensibilidade aos fungicidas tebuconazol e fluxapiroxade. No entanto, a mesma população apresentou resistência para a piraclostrobina. Já a população de *P. pachyrhizi* do estado do Paraná possui redução de sensibilidade para fluxapiroxade e piraclostrobina, e resistência à tebuconazol.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, P. J. M., ARARIPE-ANDRADE, D. F. A. Ferrugem asiática: uma ameaça à sojicultura brasileira. Brasília, DF: **Embrapa Agropecuária Oeste**, 11 p. (Circular técnica, 11), 2002.

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*)? . **University of São Paulo “Luiz de Queiroz” College of Agriculture**.

GODOY, C., SEIXAS C., MEYER, M., SOARES, R., Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistências, **EMBRAPA**, 2018.

GODOY, Cláudia Vieira et al. Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência, **EMBRAPA**, 2020.

GODOY, C. V.; MEYER, M. C. Ensaio cooperativo para avaliação da eficiência de fungicidas no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2015/16, **Londrina**, PR. 2016.

GOELLNER, K., LOEHRER, M., LANGENBACH, C., CONRATH UKOCH ESCHAFFRATH, U. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. **Molecular plant pathology**, p. 169 – 177, 2010.

KLOSOWSKI, A. C., CASTELLAR, C., STAMMLER, G., MAY DE MIO. L. L. Fungicide sensitivity and monocyclic parameters related to the *Phakopsora pachyrhizi*–soybean pathosystem from organic and conventional soybean production systems. **Plant Pathol** 67(8): 1697–1705. 2018

KLOSOWSKI, A. C., CASTELLAR, C., STAMMLER, G., MAY DE MIO, L. L. 2018. Fungicide sensitivity and monocyclic parameters related to the *Phakopsora pachyrhizi*–soybean pathosystem from organic and conventional soybean production systems. **Plant Pathol**, 67: 1697-1705.

MELLO, Flávia Elis de et al. Sensitivity assessment and SDHC-I86F mutation frequency of *Phakopsora pachyrhizi* populations to benzovindiflupyr and fluxapyroxad fungicides from 2015 to 2019 in Brazil. **Pest Management Science**, v. 77, n. 10, p. 4331-4339, 2021.

MÜLLER M. A., STAMMLER G., MAY DE MIO, L. L., Multiple resistance to DMI, QoI and SDHI fungicides in field isolates of *Phakopsora pachyrhizi*, **Crop Protection**, V. 145, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105618>.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; ZANATTA, M.; SILVA, L. H. C. P.; SIQUERI, F. V.; SILVA, J. R. Evolução da redução de sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e estratégias para recuperar a eficiência de controle. **Passo Fundo**: Berthier, 2018. 104 p.

SCHERB, C.T. & MEHL, A. 2006. Detached leaf-monitoring method.

SCHMITZ, H. K., MEDEIROS, C. -A., CRAIG, I. R., STAMMLER, G. 2014. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest. Manag. Sci**, 70: 378-388. <https://doi.org/10.1002/ps.3562>.

SILVA, Valdirene Aparecida Stabile et al. Resistência parcial e fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja, **Universidade Federal de Uberlândia**, 2007.

SIMÕES, K., HAWLIK, A., REHFUS, A., GAVA, F., STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **J. Plant Dis. Prot.** 125, 21–26, 2018.

YORINORI, José Tadashi et al. Ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*): identificação e controle. **Informações agronômicas**, v. 104, p. 4, 2003.

FIALLOS, Felipe Rafael Garcés; FORCELINI, Carlos Alberto. Controle comparativo da ferrugem asiática da soja com fungicida triazol ou mistura de triazol + estrobilurina. **Biosci. j.(Online)**, p. 805-815, 2013.