

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ERICA CAMILA ZIELINSKI

ALTERAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI* A  
FUNGICIDAS E REDUÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DO MOFO BRANCO COM  
HERBICIDA

CURITIBA

2022

ERICA CAMILA ZIELINSKI

ALTERAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI* A  
FUNGICIDAS E REDUÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DO MOFO BRANCO COM  
HERBICIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, no Setor de Ciências Agrárias, na Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Louise Larissa May De Mio

Coorientador: Prof Dr Walmes Zeviani

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Zielinski, Erica Camila

Alteração da sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e redução no desenvolvimento do mofo branco com herbicida./ Erica Camila Zielinski. – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientadora: Profª Drª Louise Larissa May De Mio

Coorientador: Prof. Dr. Walmes Zeviani

1. Ferrugem asiática. 2. Herbicidas. 3. Soja transgênica. 4. Fungicidas. I. May De Mio, Louise Larissa. II. Zeviani, Walmes. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal). IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA  
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de ERICA CAMILA ZIELINSKI intitulada: ALTERAÇÃO DE SENSIBILIDADE DE *Phakopsora pachyrhizi* A FUNGICIDAS E REDUÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DO MOFO BRANCO COM HERBICIDA, sob orientação da Profa. Dra. LOUISE LARISSA MAY-DE-MIO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 05 de Agosto de 2022.

Assinatura Eletrônica  
05/08/2022 13:50:30.0  
LOUISE LARISSA MAY-DE-MIO  
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica  
12/08/2022 16:28:59.0  
MÔNICA ANGHINONI MÜLLER  
Avaliador Externo (FUNDAÇÃO MATO GROSSO)

Assinatura Eletrônica  
07/08/2022 16:50:31.0  
ARTHUR ARROBAS MARTINS BARROSO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica  
10/08/2022 18:26:17.0  
MARCELO PEDROSA GOMES  
Avaliador Externo (DEPARTAMENTO BOTÂNICA -UFPR)

**Dedico essa dissertação aos meus pais  
Casemiro e Catarina, por sempre me  
apoiarem em todas as minhas escolhas.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela saúde, por ser minha força nos momentos de dificuldade e por sempre colocar pessoas boas no meu caminho.

À minha família, meu pai Casemiro, minha mãe Catarina e meus irmãos Ernani e Evandro, que sempre foram minha base e apoio em todos os momentos, estando presentes, dando suporte e auxiliando nos experimentos de campo sempre que podiam.

Ao meu namorado, Wellington pelo suporte, carinho e compreensão durante os períodos de ausência.

À minha orientadora Dr. Louise Larissa May De Mio, que é meu exemplo de profissional, que me acompanhou desde a graduação e acreditou no meu potencial, me incentivou a dar sempre o meu melhor, com correções, orientações e apoio.

Ao meu coorientador, professor Dr. Walmes Zeviane por todo apoio na análise dos dados.

À fundação Mato Grosso, em especial a pesquisadora Dr. Mônica Anghinoni Müller pelo suporte e fornecimento de material vegetal que possibilitou a execução desse trabalho.

Aos colegas de trabalho do LEMID, ao Alexandre, pelo auxílio no início dos trabalhos, com materiais e técnicas; Thiago, Camilla, Débora, Jhulia, Juliana, Giovana, Marlon, Dani, Gabriel, Mayara e Elizeu, por toda conversa, troca de ideias e apoio durante o curso, aos estagiários Camila e Caroline pelo auxílio nas atividades, Julyara, Juliana, Isabela, Nicolly e Vinicius pelas conversas e descontração e a todos que de alguma forma contribuíram.

Aos meus estagiários Franciele e Alexandre, por toda a ajuda durante o mestrado, pelas horas a fio no laboratório, por todo empenho, responsabilidade e dedicação.

Ao meu amigo Fernando, por todo o suporte desde a graduação, por essa amizade de anos e pelo apoio, por estar sempre pronto a me atender e tirar minhas dúvidas.

Aos técnicos do laboratório, Tiago, Simone e em especial a Izabel, pelo auxílio nas atividades, estando sempre prontamente disponível e auxiliando em tudo quanto necessário.

À todos os professores que contribuíram com a minha formação, em especial, Dr. Arthur Arrobas Martins Barroso e Dr. Marcelo Pedrosa Gomes, por todo suporte, com ideias, disponibilização do laboratório e equipamentos sempre que necessário e pela disponibilidade em ajudar. Ao doutorando Rafael pelo imenso auxílio durante as avaliações.

À equipe da secretaria, Lucimara e Tatiane por estarem sempre prontamente disponíveis a ajudar e tirar dúvidas sempre que necessário.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado que possibilitou a elaboração desse trabalho.

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção-Vegetal, pela possibilidade de realização do mestrado.

*“O sucesso é a soma de pequenos  
esforços repetidos dia após dia.”*  
(Robert Collier)

## RESUMO

A cultura da soja possui importância no cenário mundial sendo o grão mais cultivado no mundo. No Brasil, a ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) é a doença de maior importância devido a perdas que podem chegar a 90%. A aplicação de fungicidas é a principal forma de controle e a utilização de sítio-específicos isolados resultou em redução da sensibilidade à fungicidas, com redução na eficiência de controle a campo. Devido a isso a mistura de ingredientes ativos e utilização de multissítio foi preconizada. Nas safras 19/20 e 20/21 aumento da eficiência de tebuconazol (IDM) foi verificado. Diante disso, levantou-se a hipótese de que aplicações de outros grupos químicos associados a multissítios dentro de uma mesma safra de cultivo, poderiam alterar a sensibilidade de uma população, justificando o aumento da sensibilidade a tebuconazol. Diante do exposto, os objetivos desse estudo foram: avaliar a eficiência de fungicidas sítio-específico dos grupos dos IDMs, IQes e multissítio aplicados de forma isolada a campo em uma safra de cultivo e relacionar com as características fenotípicas de populações de *P. pachyrhizi* à tebuconazol. O ingrediente ativo tebuconazol apresentou o maior controle (29,5%) entre os sítio-específicos nos locais avaliados. Aplicações sucessivas em uma safra de cultivo dos ingredientes ativos tebuconazol e azoxistrobina de maneira isolada a campo reduziram a sensibilidade de populações a tebuconazol. Dessa forma, uma safra de cultivo com pressão de tebuconazol e azoxistrobina é capaz de alterar as características fenotípicas de isolados de *P. pachyrhizi*. Outra doença que causa perdas na cultura da soja é o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). A doença é considerada de difícil controle devido a presença de escleródios que podem permanecer viáveis no solo por anos. O uso de herbicidas na cultura da soja é uma prática para controle de plantas daninhas e dessecação da cultura e a interação desses produtos com doenças não é bem elucidada. Diante do exposto, neste patossistema objetivou-se estudar efeito de herbicidas sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* *in vitro* e a campo em plantas submetidas a dessecação com herbicidas e a influência da aplicação de glufosinato de amônio no desenvolvimento de mofo branco em soja com tecnologia Conkesta e Enlist E3®. A utilização do herbicida glufosinato de amônio reduziu a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* em 97% após aplicação *in vitro*. No entanto, a utilização do glufosinato de amônio em dessecação de plantas de soja com escleródios a campo, não reduziu a germinação carpogênica de escleródios nas condições avaliadas. Plantas de soja tolerantes ao herbicida glufosinato de amônio (Enlist e Conkesta), apresentaram menor lesão de mofo branco em hastes com aplicações realizadas no estágio fenológico R1 e menor severidade em folhas com aplicações realizadas no estágio fenológico V4, no terço inferior. Portanto, o herbicida glufosinato de amônio possui ação sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* e sobre mofo branco em plantas de soja.

Palavras-chave: *Glycine max*, Ferrugem asiática, Herbicidas, Soja-transgênica, Mofo branco, Fungicidas.

## ABSTRACT

The soybean crop is important on the world market, being the most cultivated grain in the world. In Brazil, the Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) is the most important disease due to losses that can reach 90%. The use of fungicides is the main form of control and the use of single site-specific reduced sensitivity to fungicides, with reduced control efficiency in the field. Because of this, the adoption of mixture of active ingredients and use of multisite was recommended. In seasons 19/20 and 20/21 increased efficiency of tebuconazole (DMI) was verified. Therefore, it was suggested that applications of other chemical groups associated with multisite within the same crop season could alter the population sensitivity, justifying the increased sensitivity to tebuconazole. In this perspective, the aims of this study were: to evaluate the efficiency of site-specific fungicides of the groups of DMIs, Qois and multisite applied singly to the field in one crop season and correlate with the phenotypic characteristics of *P. pachyrhizi* populations to tebuconazole. The active ingredient tebuconazole showed the highest control (29.5%) among the site-specific ones in the evaluated locations. Successive applications in one crop season of the active ingredient tebuconazole and azoxystrobin isolated in the field reduced the sensitivity of populations to tebuconazole. Thus, a cropping season with tebuconazole and azoxystrobin pressure can alter the phenotypic characteristics of *P. pachyrhizi* isolates. Another disease that causes losses in the soybean crop is white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*). The disease is considered difficult to control due to the presence of sclerotia that can remain viable in the soil for years. The use of herbicides in soybean cultivation is a practice for weed control and crop desiccation and the interaction of these products with diseases is not well elucidated. In this pathosystem, the aim was to study the effect of herbicides on the carpogenic germination of *S. sclerotiorum* sclerotia *in vitro* and in the field in plants submitted to desiccation with herbicides and the influence of the application of ammonium glufosinate on the development of white mold in soybean with Conkesta and Enlist E3® technology. The use of the herbicide ammonium glufosinate reduced the carpogenic germination of *S. sclerotiorum* sclerotia by 97% after *in vitro* application. However, the use of ammonium glufosinate in desiccation of soybean plants with sclerotia in the field, did not reduce the carpogenic germination of sclerotia under the evaluated conditions. The soybean plants tolerant to the herbicide glufosinate ammonium (Enlist and Conkesta), showed less white mold lesion on stems with applications made in the phenological stage R1 and less severity on leaves with applications made in the phenological stage V4, in the lower third. Thus, the herbicide glufosinate ammonium has an action on the carpogenic germination of *S. sclerotiorum* sclerotia and on white mold in soybean plants.

Keywords: *Glycine max*, Asian rust, Herbicides, Transgenic soybean, White mold, Fungicides

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 - Organograma da evolução de utilização de fungicidas na cultura da soja desde o primeiro relato da ferrugem asiática da soja no Brasil. ....                                                                                                                                                                     | 27 |
| FIGURA 2 – Mapa do Brasil com destaque para o estado de Mato Grosso e para os locais de coleta das populações.....                                                                                                                                                                                                         | 39 |
| FIGURA 3 - Metodologia de repique de populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> coletadas de parcelas com aplicações sucessivas de fungicidas a campo.....                                                                                                                                                                 | 41 |
| FIGURA 4 - Metodologia de caracterização fenotípica das populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> através da concentração efetiva (CE <sub>50</sub> ).....                                                                                                                                                                | 43 |
| FIGURA 5 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) média de ferrugem asiática da soja de parcelas em sete tratamentos a campo (sem fungicida, tebuconazol, ciproconazol, tetraconazol, protioconazol, azoxistrobina e picoxistrobina), em três cidades distintas no estado de Mato Grosso na safra 20/21 ..... | 47 |
| FIGURA 6 – Sensibilidade ao ingrediente ativo tebuconazol (CE <sub>50</sub> ), de populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , coletadas de áreas tratadas com diferentes ingredientes ativos a campo na safra 20/21 .....                                                                                                 | 48 |
| FIGURA 7 – Sensibilidade ao ingrediente ativo tebuconazol (CE <sub>50</sub> ) de populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , coletadas de três cidades distintas no estado de Mato Grosso submetidas a aplicações com sítio específicos a campo .....                                                                     | 49 |
| FIGURA 8– Seleção de modelos estatísticos para cálculo da CE <sub>50</sub> de cada tratamento baseado nos critérios de AIC associado as respostas biológicas obtidas nos ensaios .....                                                                                                                                     | 58 |
| FIGURA 9 – Metodologia de avaliação da germinação carpogênica de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> submetidos a tratamentos <i>in vitro</i> .....                                                                                                                                                             | 64 |
| FIGURA 10 - Metodologia de avaliação da germinação carpogênica de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> obtidos de plantas de soja com infecção natural dessecadas a campo.....                                                                                                                                   | 66 |

|                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 11 - Metodologia de aplicação de glufosinato de amônio em plantas de soja tolerantes a glufosinato, realizado em diferentes estádios fenológicos e locais da planta.....                                                            | 67 |
| Figura 12 - Metodologia de inoculação de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em plantas de soja tolerantes a glufosinato pelo método da ponteira .....                                                                                         | 68 |
| FIGURA 13 - Metodologia de inoculação de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas de soja tolerantes a glufosinato pelo método do disco de micélio .....                                                                                  | 69 |
| FIGURA 14 – Escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> após 65 dias de incubação. (A) Má formação de apotécios, ausência de disco após aplicação do herbicida glufosinato de amônio, (B) Formação de apotécios na testemunha .....     | 71 |
| FIGURA 15 – Número de apotécios por escleródios submetidos a diferentes tratamentos com herbicidas e fungicida <i>in vitro</i> 65 dias após a aplicação dos produtos e incubação dos escleródios .....                                     | 72 |
| FIGURA 16 – Número médio de apotécios germinados, em escleródios coletados de hastes de soja submetidas a aplicação a campo dos dessecantes paraquate, glufosinato e sem aplicação de dessecante (controle), incubados em laboratório .... | 73 |
| FIGURA 17 – Porcentagem de escleródios germinados, coletados de plantas de soja previamente submetidas a aplicação a campo dos dessecantes paraquate, glufosinato e controle, sem aplicação de herbicida, incubados em laboratório .....   | 74 |
| FIGURA 18 – Má formação do disco e ausência da presença de disco em escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> obtidos de plantas de soja dessecadas a campo com os herbicidas paraquate (A) e glufosinato de amônio (B) .....         | 74 |
| FIGURA 19 – Mofo branco causado por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 7 dias após a inoculação em haste na cultivar B5560CE .....                                                                                                            | 76 |
| FIGURA 20 – Mofo branco causado por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 7 dias após a inoculação em folhas na cultivar B5560CE .....                                                                                                           | 77 |
| FIGURA 21 – Plantas de soja da cultivar TMG7363, 6 dias após aplicação dos dessecantes a campo.....                                                                                                                                        | 88 |

FIGURA 22 – Papel hidro sensível preso a plantas de soja em três diferentes posições

.....88

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1 – Locais de coleta das populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> na safra 20/21 .....                                                                                                                                                                                            | 40 |
| TABELA 2 – Tratamentos com aplicações sequenciais dos fungicidas em parcelas de soja da cultivar Monsoy 8372 IPRO nas cidades de Primavera do Leste, Campo Verde e Pedra Preta no estado de Mato Grosso na safra 20/21 .....                                                               | 40 |
| TABELA 3 – Severidade no momento da coleta (%), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e controle da AACPD (%) de ferrugem asiática da soja na cultivar Monsoy 8372, avaliada em três cidades distintas no estado de Mato Grosso .....                                        | 46 |
| TABELA 4 – Populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> utilizados para avaliação das características fenotípicas, obtidos de diferentes tratamentos a campo, em três cidades distintas no estado de Mato Grosso.....                                                                        | 57 |
| TABELA 5 – Tratamentos realizados em plantas de soja das cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®) em casa de vegetação em diferentes estádios de desenvolvimento das plantas e aplicação em planta inteira ou no terço inferior das plantas.....                            | 67 |
| TABELA 6 – Tamanho de lesão na haste da planta aos 7 dias após a inoculação (DAI), e severidade em folhas de soja nas cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®), tratadas e inoculadas com discos de micélio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> pelo método da ponteira..... | 75 |
| TABELA 7 – Tamanho de lesão na haste aos 7 dias após a inoculação (DAI), e severidade em folhas de cultivares de soja com tecnologia Conkesta E3® e Enlist E3®, tolerantes a glufosinato de amônio, tratadas e inoculadas com <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                        | 76 |
| TABELA 8 – Concentração de peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) em folhas de soja das cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®) submetidas aos tratamentos e inoculadas na haste com <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                                | 77 |

## LISTA DE SÍMBOLOS

- ® Marca registrada
- $\Sigma$  Somatório de números

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>                                                                                                                                                                                            | <b>17</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                                                                                                                                                                                      | <b>20</b> |
| 2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA .....                                                                                                                                                                                   | 20        |
| 2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA.....                                                                                                                                                                                       | 20        |
| 2.2.1 Ferrugem asiática da soja .....                                                                                                                                                                                     | 21        |
| 2.2.1.1 Controle.....                                                                                                                                                                                                     | 22        |
| 2.2.1.2 Resistência a fungicidas.....                                                                                                                                                                                     | 23        |
| 2.2.1.3 Inibidores da desmetilação (IDMs) .....                                                                                                                                                                           | 25        |
| 2.2.1.4 Inibidores da quinona externa (IQes) .....                                                                                                                                                                        | 26        |
| 2.2.2 Mofo branco .....                                                                                                                                                                                                   | 28        |
| 2.2.2.1 Epidemiologia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                                                                                                                                                            | 28        |
| 2.2.2.2 Controle de mofo branco .....                                                                                                                                                                                     | 30        |
| 2.3 HERBICIDAS .....                                                                                                                                                                                                      | 32        |
| 2.3.1 Cultivares de soja tolerantes a herbicida.....                                                                                                                                                                      | 33        |
| 2.3.2 Herbicidas <i>versus</i> doenças .....                                                                                                                                                                              | 34        |
| <b>CAPÍTULO 1 – APLICAÇÕES CONSECUTIVAS A CAMPO DE FUNGICIDAS<br/>ISOLADOS DOS GRUPOS IDM, IQE E MULTISSÍLIO, INTERFEREM NA<br/>SENSIBILIDADE DE <i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> A TEBUCONAZOL <i>IN VITRO</i><br/>.....</b> | <b>36</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                                                                                 | <b>37</b> |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                                                                                                                         | <b>39</b> |
| 2.1 CONDUÇÃO DOS ENSAIOS A CAMPO E OBTENÇÃO DAS POPULAÇÕES DE<br><i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> .....                                                                                                                       | 39        |
| 2.2 AVALIAÇÃO DO PROGRESSO DA DOENÇA A CAMPO .....                                                                                                                                                                        | 41        |
| 2.3 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE POPULAÇÕES DE <i>PHAKOPSORA<br/>PACHYRHIZI</i> POR MEIO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA (CE <sub>50</sub> ) DO FUNGICIDA<br>TEBUCONAZOL .....                                                    | 42        |
| 2.3.1 Análise estatística dos dados .....                                                                                                                                                                                 | 43        |
| <b>3 RESULTADOS.....</b>                                                                                                                                                                                                  | <b>45</b> |
| 3.1 PROGRESSO DA DOENÇA EM PARCELAS TRATADAS COM APLICAÇÕES<br>SEQUENCIAIS DE FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICO .....                                                                                                           | 45        |
| 3.2 CONCENTRAÇÃO EFETIVA (CE <sub>50</sub> ) DO TEBUCONAZOL PARA POPULAÇÕES<br>DE <i>P. PACHYRHIZI</i> OBTIDOS APÓS APLICAÇÕES SEQUENCIAIS DE                                                                             |           |

|                                                                                                                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICOS OU MULTISSÍTIO EM DIFERENTES LOCALIDADES .....                                                                                                                      | 48        |
| <b>4 DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                                                                         | <b>49</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES .....</b>                                                                                                                                                                        | <b>53</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                                                                        | <b>54</b> |
| <b>7 ANEXO – TABELAS E FIGURAS .....</b>                                                                                                                                                         | <b>57</b> |
| <b>CAPÍTULO 2 – GLUFOSINATO <i>IN VITRO</i>, A CAMPO E SOBRE EXPRESSÃO DE SINTOMAS DE MOFO BRANCO (<i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i>) EM CULTIVARES DE SOJA COM RESISTÊNCIA AO HERBICIDA .....</b> | <b>59</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                                                        | <b>60</b> |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                                                                                                | <b>62</b> |
| 2.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE <i>S. SCLEROTIORUM</i> SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE HERBICIDAS – <i>IN VITRO</i> .....                                                                 | 62        |
| 2.1.1 Produção de escleródios .....                                                                                                                                                              | 62        |
| 2.1.2 Tratamento e incubação dos escleródios .....                                                                                                                                               | 63        |
| 2.1.3 Avaliações e análises estatísticas .....                                                                                                                                                   | 64        |
| 2.2 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE <i>S. SCLEROTIORUM</i> OBTIDOS DE PLANTAS COM INFECÇÃO NATURAL E TRATADOS COM HERBICIDAS A CAMPO .....                                              | 64        |
| 2.2.1 Área experimental e tratamentos.....                                                                                                                                                       | 64        |
| 2.2.2 Avaliações e análises estatísticas .....                                                                                                                                                   | 65        |
| 2.3 DESENVOLVIMENTO DE MOFO BRANCO EM CULTIVARES DE SOJA COM TECNOLOGIA ENLIST E CONKESTA .....                                                                                                  | 66        |
| 2.3.1 Plantio e condução do experimento .....                                                                                                                                                    | 66        |
| 2.3.2 Inoculação em plantas.....                                                                                                                                                                 | 68        |
| 2.3.3 Inoculação em folhas.....                                                                                                                                                                  | 69        |
| 2.3.4 Avaliação bioquímica: peróxido de hidrogênio .....                                                                                                                                         | 69        |
| <b>3 RESULTADOS.....</b>                                                                                                                                                                         | <b>70</b> |
| 3.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE <i>S. SCLEROTIORUM</i> SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE HERBICIDAS – <i>IN VITRO</i> .....                                                                 | 70        |
| 3.2 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE <i>S. SCLEROTIORUM</i> OBTIDOS DE PLANTAS COM INFECÇÃO NATURAL E TRATADOS COM HERBICIDAS A CAMPO .....                                              | 72        |
| 3.3 DESENVOLVIMENTO DE MOFO BRANCO EM CULTIVARES DE SOJA COM TECNOLOGIA ENLIST E CONKESTA .....                                                                                                  | 75        |

|                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4 CONCENTRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM CULTIVARES DE SOJA ..... | 77        |
| <b>4 DISCUSSÃO .....</b>                                               | <b>78</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES .....</b>                                              | <b>83</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS.....</b>                                              | <b>85</b> |
| <b>3 CONCLUSÃO GERAL.....</b>                                          | <b>90</b> |
| <b>4 REFERÊNCIAS GERAIS .....</b>                                      | <b>91</b> |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A área agricultável no mundo representa cerca de 38% da área terrestre. Aproximadamente um terço dessa área é utilizada para cultivo, e o Brasil é o quarto país com maior área agrícola no mundo (FAO, 2022).

No Brasil, a maior parte da área é cultivada com cereais, leguminosas e oleaginosas, sendo a soja (*Glycine max* (L.) Merr) a cultura com maior importância, com cerca de 57% da área cultivada no país e 40,8 milhões de hectares na safra 21/22 (IBGE, 2022). No cenário mundial, o Brasil foi o maior produtor de soja na safra 21/22, com 125 milhões de toneladas (USDA, 2022). Vários fatores podem afetar a produtividade, entre eles, a ocorrência de pragas e doenças.

Na cultura da soja, a ocorrência de doenças é responsável por perdas consideráveis na produtividade e a importância de cada doença varia em função do local de cultivo e do ano (BANDARA *et al.*, 2020). No Brasil, a ferrugem asiática da soja (FAS) causada pelo patógeno *Phakopsora pachyrhizi* Syd & P. Syd., é uma das doenças com maior importância devido ao potencial de perda de produtividade, que pode chegar a 90%. Além disso, a distribuição da doença no país e a presença de resistência do patógeno à vários fungicidas dificultam o controle e transformam a doença em uma das mais desafiadoras para a cultura (GODOY *et al.*, 2016).

A FAS apresenta vários ciclos reprodutivos durante o ciclo de cultivo (RUPE; SCONYERS, 2008). Estima-se que este fungo complete de 8-10 ciclos reprodutivos por safra em contato com fungicidas. Devido a isso, uma pressão de seleção positiva é exercida sobre populações a campo (GODOY *et al.*, 2016).

Após o primeiro relato da doença no país, foi preconizada a utilização de fungicidas disponíveis no mercado, recomendados para outras doenças na cultura, com intensa utilização dos inibidores da desmetilação (IDMs) de maneira isolada devido a boa eficiência que apresentavam e algumas misturas de IDMs e inibidores da quinona externa (lqes) (GODOY *et al.*, 2016). Com o passar dos anos, na safra 07/08, foram relatados os primeiros casos de redução de eficiência dos IDMs a campo (GODOY, 2012). A ocorrência de redução na sensibilidade do fungo foi associada à presença de mutação no gene *Cyp51* que confere resistência a esse grupo químico (SCHMITZ *et al.*, 2014).

Estudos posteriores identificaram que as mutações no gene *Cyp51* possuem penalidades adaptativas (KLOSOWSKI *et al.*, 2016a), o que poderia contribuir para o

manejo da resistência, devido a capacidade reduzida de competição com organismos sensíveis. O fungicida tebuconazol amplamente utilizado no controle da doença, passou a apresentar redução na sua eficiência a campo ao longo das safras, passando de 78% na safra 04/05, para 18% na safra 13/14 (LANA *et al.*, 2015). Nas safras 19/20 e 20/21 o retorno da eficiência do produto a campo vem sendo relatado, com 44% de eficiência de controle na safra 20/21 (GODOY *et al.*, 2021).

Outra doença de importância na cultura da soja é o mofo branco, causado pelo fungo patogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.). No Brasil, a doença ocorre de forma mais expressiva nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e nas planícies do cerrado (WRATHER *et al.*, 2001), regiões de temperatura amena e elevada umidade, que favorece a ocorrência e desenvolvimento da doença.

A dificuldade de controle do patógeno se dá pela ampla gama de hospedeiros, cerca de 408 espécies (BOLAND; HALL, 1994), e a presença de estruturas de resistência do patógeno (escleródios) que podem permanecer no solo, viável por várias safras. Os escleródios são a fonte de inóculo primário, sendo responsáveis pela produção de apótecios e liberação dos ascósporos que são depositados nas flores, principal ponto de infecção na planta (GRAU; HARTMAN, 2008).

O controle da doença mofo branco é realizado com a utilização de manejo integrado, visando proteção da planta com fungicidas, rotação de culturas, utilização de controle biológico para redução do inóculo, e escolha de cultivares com tolerância ao patógeno (PELTIER *et al.*, 2012). Além disso é relatado ação de herbicidas na redução da germinação carpogênica de escleródios (CASALE; HART, 1986) e ação do glufosinato de amônio no controle de doenças em culturas tolerantes ao glufosinato como, mancha parda (*Cochliobolus miyabeanus*) na cultura do arroz (AHN, 2008), de podridão radicular (*Rhizoctonia solani*) e mancha foliar (*Sclerotinia homoeocarpa*) em grama rasteira (WANG *et al.*, 2003).

Cultivares de soja com resistência a glufosinato de amônio estão disponíveis no mercado, e o uso dessas cultivares tende a aumentar devido a adoção do herbicida no manejo da resistência de plantas daninhas. As hipóteses desse estudo são: fungicidas sítio específico e multissítio aplicados de forma sequencial em uma safra de cultivo alteram as características fenotípicas de populações de *P. pachyrhizi* a tebuconazol; o herbicida glufosinato de amônio possui ação em escleródios de *S. sclerotiorum* e no desenvolvimento de mofo branco na cultura de soja tolerante ao herbicida.

Diante do exposto, essa dissertação busca otimizar a utilização de recursos, visando a sustentabilidade da cultura da soja e possui como objetivo geral analisar os efeitos da utilização de fungicidas sítio específico e multissítio na sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* e avaliar a ação do herbicida glufosinato de amônio sobre o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*. Objetivos específicos: Capítulo 1 – Correlacionar a eficiência de fungicidas sítio-específico dos grupos dos IDMs, IQEs e multissítio aplicados a campo dentro de uma safra de cultivo, com as características fenotípicas de populações de *P. pachyrhizi* a tebuconazol; e Capítulo 2 – Estudar efeito de herbicidas sobre *S. sclerotiorum* *in vitro* e a campo em plantas submetidas a dessecação com herbicidas; avaliar o desenvolvimento de mofo branco em plantas de soja com tecnologia Conkesta e Enlist E3®, submetidas a aplicações de glufosinato de amônia.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

A soja - *Glycine max* é uma cultura de importância mundial, pois é o quarto grão mais produzido no mundo, com 367,76 milhões de toneladas na safra 20/21, atrás apenas do milho, trigo e arroz (USDA, 2022). O aumento na produção de soja ao longo dos anos se deu devido a vários fatores, entre eles características intrínsecas da cultura, como alto teor de proteínas e o elevado teor de óleo, que possibilitou diversos usos e aumento da demanda do grão. Além disso, melhorias nas características de cultivo, como mecanização e aumento na oferta de tecnologias, permitiram ampliar a área e a produtividade (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2014).

No Brasil, seguindo a tendência mundial, ocorreu aumento da produtividade ao longo dos anos, fato que está relacionado com a eficiência em desenvolvimento de pesquisas e transferência de tecnologia (BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017). Com isso, o Brasil se transformou no maior produtor mundial do grão, a frente dos Estados Unidos, com uma produção de 125 milhões de toneladas na safra 21/22 (USDA, 2022).

Esse cenário é resultado de uma construção de anos de pesquisa e desenvolvimento. Apesar disso, a cultura apresenta vários entraves que surgem, como o controle de doenças e plantas daninhas e o manejo da resistência que vêm emergindo ano após ano, fazendo com que novas alternativas sejam buscadas para solucionar essas questões.

### 2.2 DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

As doenças que acometem a cultura da soja são responsáveis por perdas de produtividade e podem variar de acordo com anos e regiões (BANDARA *et al.*, 2020). A importância das doenças está associada a redução de produtividade e qualidade de grãos, resultando em perdas econômicas na produção de alimentos (ALLEN *et al.*, 2017).

Várias doenças acometem a cultura da soja, e são causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Dados obtidos durante as safras de 2010 a 2014, estimam que em todas as regiões produtoras dos Estados Unidos, cerca de 58,8 mil

toneladas foram perdidas durante esse período em decorrência de fitopatógenos, sendo que 10-16% dessas perdas estão associadas a doenças foliares (ALLEN *et al.*, 2017). Essas estimativas demonstram a importância das doenças na redução de produtividade, porém são perdas difíceis de serem mensuradas, visto que estudos envolvendo perdas são complexos, necessitam de metodologias que se ajustem a cada tipo de doença e cultura, e podem variar com relação a características intrínsecas ao ambiente e ao patógeno (JAMES, 1974).

Algumas doenças possuem maior importância que outras nesse cenário. No Brasil, a ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo patógeno fúngico *P. pachyrhizi*, é considerada a doença com maior importância na atualidade, responsável por prejuízos que motivaram mudanças no cultivo da soja no país (GODOY *et al.*, 2016). Outra doença importante na cultura é o mofo branco, causado pelo patógeno fúngico *S. sclerotiorum*, que acomete importantes regiões produtoras. Estima-se que atualmente 27% da área cultivada apresenta problemas com a doença (MEYER *et al.*, 2020).

### 2.2.1 Ferrugem asiática da soja

O patógeno *P. pachyrhizi*, agente causal da FAS, é amplamente distribuído em todas as regiões produtoras de soja do mundo, sendo presente em quase todos os continentes (EPPO, 2017).

O primeiro relato de ocorrência da *P. pachyrhizi* foi no Japão em 1902, ficando o patógeno restrito a esse continente até 1997, quando foi relatado na Uganda, e no ano seguinte no Zimbabwe (RUPE; SCONYERS, 2008). Em 2001, a doença foi relatada na África do sul (PRETORIUS; KLOPPERS; FREDERICK, 2001) e, no mesmo ano, no Paraguai; e, posteriormente, no Brasil, quando já na safra 2001/2002 causou perdas de produtividade (YORINORI *et al.*, 2005). No ano de 2002, a doença foi relatada também na Argentina (ROSSI, 2003) e, no ano seguinte, na Bolívia (YORINORI *et al.*, 2005).

A FAS é uma doença de curto período de incubação, em torno de 13 dias (PRIMIANO; AMORIM, 2020) policíclica, com ocorrência de vários ciclos reprodutivos ao longo do ciclo de cultivo (RUPE; SCONYERS, 2008). Sua disseminação ocorre pelo vento (KOCH; HOPPE, 1988), podendo ser disseminada a longas distâncias, o que a torna uma doença com grande potencial de dispersão. Além disso, o patógeno

apresenta uma ampla variabilidade genética (BONDE *et al.*, 2006), essas características tornam uma doença de difícil controle.

#### 2.2.1.1 Controle

Desde o primeiro relato da doença no Brasil e devido a sua importância no cenário nacional, estratégias de controle têm sido estudadas ao longo dos anos. Atualmente o controle da doença está baseado na redução do inóculo por meio do controle de soja voluntária (vazio sanitário), escape do período ideal de ocorrência da doença, controle genético e manejo químico com utilização de fungicidas (GODOY *et al.*, 2020).

O controle de soja voluntária foi uma medida inicialmente implantada no estado de Mato Grosso e posteriormente estendida para 13 estados do Brasil e Paraguai. A medida consiste num período de 60 a 90 dias sem a presença de plantas de soja no campo na entressafra, com intuito de reduzir o inóculo de uma safra para outra. Outra medida é a utilização de calendário de semeadura, visando reduzir a janela de cultivo, associado a cultivares mais precoces, reduzindo assim a pressão da doença. O plantio no início da janela é outra medida bastante utilizada, possibilitando o escape do período ideal de desenvolvimento da doença (GODOY *et al.*, 2020).

A utilização de resistência genética é um tema muito estudado. Diferentes genes de resistência já foram mapeados em sete loci distintos, *Rpp1* a *Rpp7*, e são uma aposta na possibilidade de controle genético eficiente, porém possuem a limitação de serem suplantados pela variabilidade genética do fungo. No Brasil, estão disponíveis cultivares que utilizam o gene de resistência *Rpp5*, conhecidas como cultivares Inox. Mesmo com a utilização de cultivares com resistência genética, a utilização de fungicidas é preconizada (CHILDS; BUCK; LI, 2018).

O controle químico através da aplicação de fungicidas é uma das principais formas de manejo da doença. Aplicações são recomendadas no início do aparecimento dos sintomas ou preventivamente (GODOY *et al.*, 2020). Com relação ao modo de ação, os fungicidas podem ser classificados como multissítios ou sítio específicos (MUELLER, 2006). Os fungicidas sítio específicos atuam em apenas uma via metabólica, contra uma enzima ou proteína específica, tendem a ser menos tóxicos para plantas e ter propriedades sistêmicas (MUELLER, 2006). Os fungicidas utilizados para o controle da FAS, na sua grande maioria, são sítio específicos, pertencentes

aos grupos dos inibidores da desmetilação (IDMs), inibidores da quinona externa (IQes) e os inibidores da succinato desidrogenase (ISDHs) (GODOY *et al.*, 2020).

Os multissítios por sua vez, atuam em diferentes sítios metabólicos do fungo, são produtos que possuem ação protetora, permanecendo na superfície da folha e prevenindo a ocorrência de infecção (MUELLER, 2006). Nos últimos anos, os multissítios vem sendo utilizados no manejo da FAS (GODOY *et al.*, 2015), com intuito de auxiliar no controle da doença após a redução da eficiência a outros grupos químicos.

#### 2.2.1.2 Resistência a fungicidas

A resistência do fungo a fungicidas pode ser definida como uma característica estável e herdável, que resulta numa considerável redução de sensibilidade e eficiência (KOLLER E SCHEINPFLUG, 1987).

A redução de eficiência de controle a campo pode no entanto estar associada a inúmeros fatores como ineficiência de aplicação, pressão de infecção muito alta e outros fatores não relacionados a resistência (KOLLER; SCHEINPFLUG, 1987). Sendo assim, podemos afirmar que está ocorrendo uma resistência prática apenas associando as informações de redução de sensibilidade observadas em laboratório com falhas de controle observadas a campo (HOLLOMON, 2015). A estimativa da sensibilidade pode ser realizada por meio da concentração efetiva de um produto capaz de inibir 50% do desenvolvimento do patógeno ( $CE_{50}$ ) (KOLLER; SCHEINPFLUG, 1987).

A resistência a fungicidas pode ocorrer de diferentes formas. Uma população de fungos naturalmente possui uma ampla diversidade genética, células com menor sensibilidade surgem em decorrência de mutações ou outros mecanismos de resistência. O fungicida pode agir também selecionando indivíduos resistentes dentro da população, reduzindo a capacidade competitiva dos organismos sensíveis na presença do fungicida (GHINI; KIMATI, 2000).

A resistência de um fungo pode estar associada a uma menor adaptabilidade (*fitness*) do indivíduo. Pode-se definir *fitness* como a habilidade de desenvolvimento, reprodução e sobrevivência entre isolados comparados nas mesmas condições (ANONYMOUS, 1988). As mutações geram alterações nos processos fisiológicos e bioquímicos do indivíduo, resultando em custos adaptativos (*fitness*) com redução na

capacidade de competição entre um indivíduo com presença de resistência e um indivíduo sensível na ausência de fungicida, sendo essa mensuração realizada por meio das características do ciclo de vida do patógeno, como produção e dispersão de esporos, eficiência de infecção e crescimento micelial (MIKABERIDZE; McDONALD, 2015).

Inicialmente, acreditava-se que indivíduos com perda de fitness não apresentariam a evolução da resistência a campo, porém esse conceito foi refutado ao longo dos anos, com ocorrência de resistência para grupos que apresentavam essa característica (BRENT; HOLLOMON, 2007).

Outro conceito importante é a ocorrência de resistência cruzada entre ingredientes ativos, o que pode ser definida como a resistência a dois ou mais princípios ativos mediadas pelo mesmo fator genético, ocorrendo entre ingredientes ativos do mesmo grupo químico (DELP; DEKKER, 1985).

A intensa utilização de fungicidas para controle da FAS, resultou na redução de eficiência de produtos do grupo dos IDMs para controle de *P. pachyrhizi* em algumas regiões do cerrado na safra 2007/2008. Em decorrência da dificuldade de controle e buscando mitigar os prejuízos, recomendações técnicas foram realizadas para utilização de produtos em mistura, com produtos do grupo dos IDMs e IQes, evitando aplicações a campo de moléculas isoladas (GODOY *et al.*, 2016).

O controle da doença passou então a ser realizado com associação de produtos dos dois grupos de forma satisfatória até a safra 2013/2014, quando novamente redução na eficiência de produtos, dessa vez de moléculas pertencentes ao grupo dos IQes foi observada (GODOY *et al.*, 2015).

A partir de 2012 um novo grupo químico foi introduzido para o controle da ferrugem, os ISDHs. Misturas comerciais de IQe e ISDH foram lançadas em 2014 e posteriormente misturas triplas com IDMs, IQes e ISDHs. A eficiência desse grupo culminou em intensa utilização dos fungicidas (GODOY *et al.*, 2016). Na safra 2015/2016 o primeiro caso de falha de controle foi observado em campo experimental, com identificação de mutação no gene *SdhC* que causa substituição de aminoácido na posição C-I86F (SIMÕES *et al.*, 2018), sendo posteriormente identificado a presença de fitness, com maior sensibilidade ao estresse osmótico e oxidativo em populações com presença da mutação (CLAUS, SIMÕES, MAY DE MIO, 2022)

### 2.2.1.3 Inibidores da desmetilação (IDMs)

Os fungicidas do grupo dos IDMs - inibidores da biossíntese de esteróis, também conhecidos como azóis, atuam na integridade celular da membrana, inibindo a demetilação do C-14, proporcionando deficiência na formação de ergosterol, essencial para manutenção da permeabilidade e fluidez da membrana fúngica, e acúmulo de  $14\alpha$  - esteróis demetilados, dificultando assim, o transporte ativo da membrana, causando a morte da célula por fungistase (PRICE *et al.*, 2015).

Os IDMs foram os primeiros produtos a serem utilizados para o controle da FAS no país, devido a boa eficiência que eles apresentavam. No grupo dos IDMs, os primeiros ingredientes ativos utilizados pertenciam ao grupo dos triazóis, como flutriafol e tebuconazol, sendo posteriormente introduzida a triazolintiona protioconazol. Após seis anos de utilização dos produtos a campo, os primeiros casos de redução da eficiência começaram a surgir (GODOY *et al.*, 2016).

Essa ineficiência no controle foi associada à intensa utilização dos produtos e seleção de indivíduos com sensibilidade reduzida, o que causou problemas de controle a campo. Recomendações para utilização dos produtos apenas em misturas, sem aplicações sequenciais foram preconizadas (GODOY, 2012).

Estudos posteriores demonstraram que estava ocorrendo redução na sensibilidade do fungo a fungicidas do grupo dos IDMs, em especial tebuconazol (BLUM; REIS, 2013; REIS; DEUNER; ZANATTA, 2015; XAVIER *et al.*, 2015), podendo associar as falhas de controle que estavam ocorrendo a campo com redução de sensibilidade *in vitro* e inferir que uma resistência prática estava ocorrendo.

A ocorrência de mecanismos de resistência resulta em redução da sensibilidade desses organismos culminando em falha de controle a campo (GHINI; KIMATI, 2000). Entre os mecanismos de resistência mais comuns para o grupo dos triazóis estão: I) mutações pontuais em sequências de aminoácidos na *Cyp51*, II) superexpressão de enzimas da *Cyp51*, III) superexpressão de genes que codificam as proteínas das bombas de efluxo (PRICE *et al.*, 2015).

O mecanismo de resistência mais reportado em patógenos de plantas é a presença de mutações na região *Cyp51* (PRICE *et al.*, 2015). No caso da *P. pachyrhizi*, analisando a região *Cyp51*, foi possível identificar as mutações pontuais Y131F/H, K142R, F120L, I145F e I475T e superexpressão de genes (SCHMITZ *et al.*,

2014), o que possibilitou associar a redução na sensibilidade a falhas de controle observadas a campo e presença de mutações.

Associado a isso, a presença de *fitness* para o grupo dos triazóis era relatada para alguns patógenos (BRENT; HOLLOMON, 2007), porém não havia conhecimento se isso estava ocorrendo para *P. pachyrhizi*. Um estudo realizado com isolados de *P. pachyrhizi* com presença de mutações na região *Cyp51* e isolados sensíveis identificaram a presença de penalidades adaptativas associadas a mutação (KLOSOWSKI *et al.*, 2016b), característica que pode contribuir para o manejo da resistência (MIKABERIDZE; McDONALD, 2015).

#### 2.2.1.4 Inibidores da quinona externa (IQes)

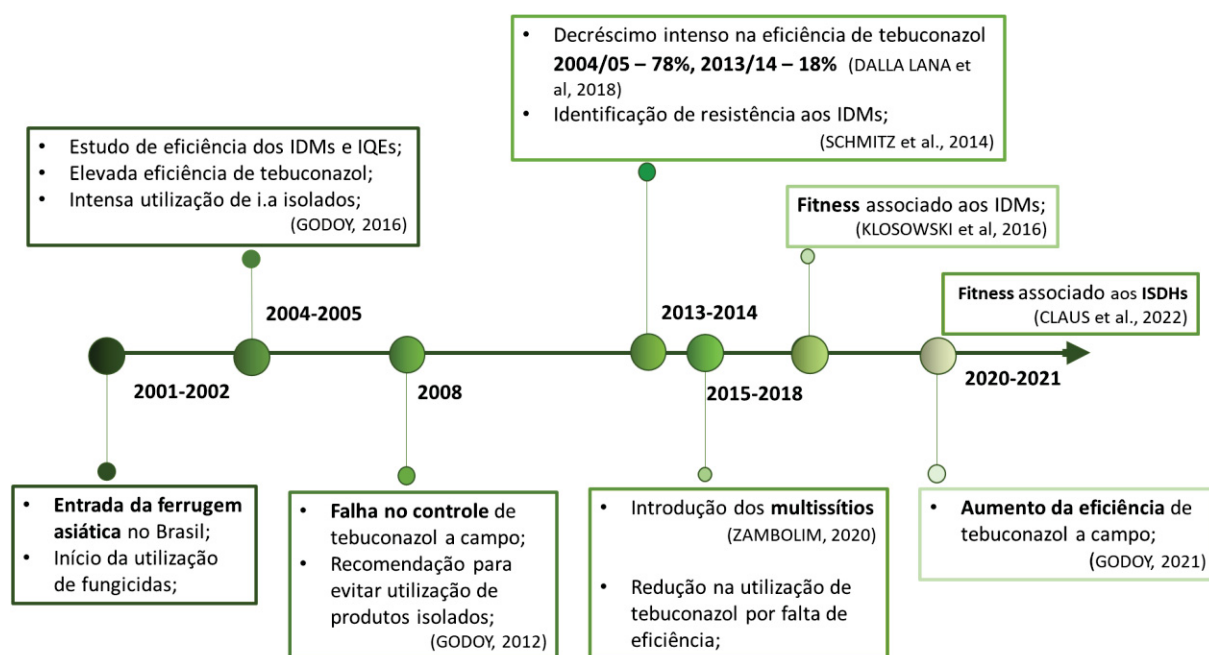
Os fungicidas do grupo dos IQes, também conhecidos como estrobilurinas, atuam na respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons no complexo III do citocromo b-c1, através da inibição de óxido redutase de ubihidroquinona-citocromo c (GHINI; KIMATI, 2000). Essa ação faz com que ocorra o bloqueio da transferência de elétrons na via respiratória, causando a morte da célula por falta de energia (GISI *et al.*, 2002).

No controle da FAS, a recomendação para os IQes era de utilização em mistura com os IDMs, ou no início da safra, devido sua eficiência inferior aos IDMs para controle da doença (GODOY *et al.*, 2016). Mesmo assim os fungicidas deste grupo se tornaram importantes no manejo e vem sendo utilizados em mistura em várias formulações. A redução na eficiência de controle dos produtos foi observada na safra 2013/2014 (GODOY *et al.*, 2020), o que causou alerta para as empresas detentoras dos produtos e a comunidade científica (FIGURA 1).

Casos de resistência a esse grupo são relatados na literatura para vários patógenos e a perda de sensibilidade geralmente está associada a mutações, sendo comum a ocorrência de mutações pontuais pela substituição de aminoácidos nas posições 143, 129 e 137 (GODOY *et al.*, 2020). A mutação G143A é uma das mutações mais frequentemente associadas a perda de sensibilidade no grupo dos IQes para a maioria dos patógenos. A mutação F129L é relatada para alguns patógenos, porém geralmente associada a um nível moderado de resistência (ISHII, 2012).

Estudos desenvolvidos por Grasso *et al.* (2006) identificaram a presença de um íntron após o códon 143 para *P. pachyrhizi* e outros patógenos, essa característica seria letal e indivíduos com a mutação não seriam capazes de sobreviver. Considerando que a mutação no códon 143 é a mais importante, por um tempo acreditou-se que a resistência do patógeno aos IQes não seria um problema. Com redução de eficiência sendo observadas a campo, outros estudos foram conduzidos com intuito de entender o que estava ocorrendo e a presença de mutação na região F129L foi encontrada pela primeira vez em um patógeno causador de ferrugem (KLOSOWSKI *et al.*, 2016a).

FIGURA 1 - Organograma da evolução de utilização de fungicidas na cultura da soja desde o primeiro relato da ferrugem asiática da soja no Brasil.



Como característica, essa mutação não apresenta penalidades adaptativas, ou seja, indivíduos mutados possuem a mesma capacidade de competição com organismos sensíveis na ausência de fungicida. A retirada do fungicida por quatro ciclos consecutivos do fungo não foi capaz de reduzir a proporção de indivíduos resistentes (KLOSOWSKI *et al.*, 2016b), característica que faz com que a resistência a esses fungicidas venha emergindo ao longo das safras. Na avaliação realizada com populações das safras 12/13 e 13/14, aproximadamente 28% dos isolados apresentavam a mutação F129L (KLOSOWSKI *et al.*, 2018). Já em estudos com isolados das safras 13/14 a 16/17, foi possível identificar a mutação na maior parte

dos indivíduos avaliados, com 90% de isolados mutados (MÜLLER; STAMMLER; MAY DE MIO, 2021). Além da presença de mutações pontuais para determinado grupo químico, mutações a vários fungicidas foram relatadas, com ocorrência de mutação para IDMs e IQEs relatada por Klosowski *et al.* (2018) e mutação tripla, conferindo resistência múltipla ao grupo dos IDMs, IQEs e ISDHs (MÜLLER; STAMMLER; MAY DE MIO, 2021).

### 2.2.2 Mofo branco

O mofo branco é causado pelo patógeno *S. sclerotiorum*. este apresenta uma ampla gama de plantas hospedeiras, com 408 espécies relatadas na literatura, como as espécies de plantas cultivadas soja, feijão, girassol e também plantas daninhas, sendo a maior parte pertencente ao grupo das dicotiledôneas, com relatos também para monocotiledôneas (BOLAND; HALL, 1994).

O patógeno é amplamente distribuído pelo mundo, com relatos de ocorrência da doença na Europa, Ásia, América do Norte e América do Sul, sendo as perdas associadas as condições climáticas de cada local (WRATHER *et al.*, 2001), sendo favoráveis em condições amenas de temperatura e elevada umidade (GRAU; HARTMAN, 2008). No Brasil a doença é distribuída nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e nas regiões de planície nos cerrados (WRATHER *et al.*, 2001). Estima-se que no país cerca de 27% da área de cultivo de soja esteja infestada pelo patógeno (MEYER *et al.*, 2021).

Além das condições ambientais, diferentes níveis de incidência podem ser observados dependendo da cultivar empregada. A incidência da doença possui correlação com germinação da semente, bem como redução no teor de óleo, sendo observadas reduções crescentes na produtividade conforme o aumento da incidência, variando de 147 a 263 kg/ha (HOFFMAN *et al.*, 1998) e 83.2 a 229.0 kg/ha (DANIELSON; NELSON; HELMS, 2004) para cada 10% de aumento na severidade, a depender da cultivar e ano (DANIELSON; NELSON; HELMS, 2004; HOFFMAN *et al.*, 1998)

#### 2.2.2.1 Epidemiologia de *Sclerotinia sclerotiorum*

A infecção de *S. sclerotiorum* em plantas ocorre geralmente no estágio fenológico R1, pois as flores são o principal ponto de infecção da *S. sclerotiorum*. Os sintomas iniciam-se nos estádios fenológicos R2-R3, com lesões na haste, iniciando pelos nós e aderência de folhas a haste. As lesões podem atingir toda a planta, interrompem a translocação de água e nutrientes e causa sintomas de murcha em hastes acima do ponto de infecção. Com a evolução da doença, micélio branco com aspecto cotonoso toma conta da planta e pode ser observada a presença de escleródios (GRAU; HARTMAN, 2008).

O patógeno sobrevive no solo de uma safra a outra na forma de escleródios, que são estruturas de resistência produzidas pelo fungo, e são disseminados durante a colheita ou através de material contaminado, como sementes para novas áreas e podem permanecer no solo viável por vários anos. Estima-se que 90% do ciclo do patógeno ocorre no solo na forma de escleródio (ADAMS; AYERS, 1979). Vários trabalhos relatam diferentes períodos de sobrevivência de escleródios a campo, com viabilidade de 6-8 anos em regiões dos Estados Unidos (ADAMS; AYERS, 1979), 10 meses de viabilidade com avaliação de escleródios deixados sob o solo em sistema de plantio direto (BRUSTOLIN; REIS; PEDRON, 2016) e variação entre 10 e 13 meses a depender do sistema de cultivo empregado (ROESE *et al.*, 2018), ambos na região sul do Brasil.

Em condição de baixa temperatura (18-25 °C) e elevada umidade, próximo a capacidade de campo, condição de microclima proporcionada pelo crescimento das plantas e fechamento das linhas, ocorre o desenvolvimento dos apotécios, fase sexuada do patógeno. No interior dos apotécios são produzidas ascas com ascósporos que são ejetadas para o ambiente e depositadas sobre as plantas colonizando as flores, visto que essas funcionam como fonte de nutriente para o desenvolvimento do patógeno, ramos e folhas são infectadas posteriormente através do contato com partes infectadas (GRAU; HARTMAN, 2008).

Além da germinação carpogênica, com formação dos apotécios, a germinação miceliogênica, com emissão de hifas diretamente dos escleródios, a infecção também pode ocorrer. A forma mais importante de germinação no entanto é a carpogênica, visto que a maior parte das infecções ocorre acima do nível do solo, na parte aérea da planta (ABAWI; GROGAN, 1975; GRAU; HARTMAN, 2008).

Sendo assim, em uma mesma área ou talhão de cultivo, a principal forma de disseminação da doença ocorre através dos ascósporos e a disseminação a longas

distâncias pode ocorrer através de semente contaminada por micélio do fungo ou por escleródios (GRAU; HARTMAN, 2008), sendo os ascósporos considerados a fonte primária de inóculo (BOLAND; HALL, 1994). As sementes, por sua vez, constituem uma importante fonte de inóculo, responsáveis pela disseminação a longas distâncias, sendo que sementes contaminadas podem produzir estruturas de resistência que permanecem no solo e são responsáveis pela produção de inóculo primário (MUELLER; HARTMAN, 1999).

#### 2.2.2.2 Controle de mofo branco

Devido às características desta doença, a eficiência no controle é obtida utilizando práticas integradas de manejo. É recomendado a utilização de cultivares com algum nível de tolerância, práticas culturais como a rotação de cultura com espécies não hospedeiras, como milho e trigo, utilização de plantas de cobertura e plantio direto. Medidas de controle químico são recomendadas, com aplicações de fungicidas foliares em áreas com histórico da doença. O controle biológico também pode ser utilizado como estratégia no manejo de escleródios a longo prazo (PELTIER *et al.*, 2012). No controle biológico os agentes de biocontrole *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. tem apresentado resultados promissores (MEYER *et al.*, 2021).

Com relação as cultivares, a escolha dos materiais desempenha papel importante na incidência da doença e produtividade. Em estudo realizado com cinco cultivares, a incidência máxima variou de 45% a 95% e redução na produtividade variou de 147 a 263 kg/ha a cada 10% de severidade da doença entre cultivares com diferentes níveis de tolerância. Nessa situação, apenas a escolha da cultivar foi capaz de proporcionar uma variação na produtividade de 116 kg/ha com a presença da doença (HOFFMAN *et al.*, 1998).

As práticas integradas de manejo estão associadas à redução da quantidade e viabilidade de estruturas de resistência. O manejo cultural possui papel no controle da doença, sendo a rotação de culturas associada ao plantio direto uma boa combinação para o manejo do mofo branco na cultura da soja, reduzindo o número de apotécios no cultivo da soja em áreas rotacionadas com milho ou trigo. Esse efeito pode estar associado a maior emissão de apotécios na entressafra, acarretando em menor ocorrência de estruturas no momento do cultivo (GRACIA-GARZA *et al.*, 2002).

Sistemas com maior complexidade de interações, como os sistemas agro-silvipastoris, também apresentam resultados positivos. Diferentes sistemas de cultivo podem alterar a viabilidade de escleródios a campo. A viabilidade variou entre 10, 12 e 13 meses para sistemas com integração lavoura-pecuária, lavoura-pecuária-floresta e lavoura no sistema de plantio direto (ROESE *et al.* 2018).

O controle químico através do tratamento de sementes é uma prática que auxilia na redução do inóculo proveniente de sementes contaminadas. Segundo Mueller e Hartman (1999), a utilização de fungicidas de elevada eficiência pode reduzir 98% da formação de escleródios em sementes com contaminação micelial do patógeno, considerando que os escleródios são responsáveis pela formação de inóculo primário, a medida é capaz de reduzir a disseminação da doença dentro do campo de cultivo.

Além do tratamento de sementes, o controle químico do mofo branco é recomendado na cultura da soja, sendo atualmente registrados no Agrofite para controle da doença 61 produtos com diferentes ingredientes ativos, desses 21 produtos possuem o ingrediente ativo fluazinam isolado ou em mistura (MAPA, 2022). O fluazinam atua no processo de produção de energia da célula pelo desacoplamento da fosforilação oxidativa. O fungicida pode atuar gerando várias alterações no microrganismo como afinamento de hifas, aumento da ramificação, redução na distância entre septos, aumento da permeabilidade da membrana e da atividade da peroxidase, com inibição da respiração. Além disso o fungicida apresenta atividade curativa e protetora, sendo a atividade protetora superior à curativa (HOU *et al.*, 2019).

Além disso, a utilização de herbicidas para controle de plantas daninhas e dessecação pode alterar a dinâmica populacional de patógenos.

A utilização do herbicida lactofen em plantas de soja tratadas no estágio fenológico V4 por exemplo, resultou em redução na lesão de *S. sclerotiorum* de folhas tratadas com o herbicida independente da dose utilizada (DANN, DIERS, HAMMERSCHMIDT, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos por Nelson, Renner e Hammerschmidt (2002) com redução de lesões em hastes causadas por *S. sclerotiorum* em parcelas com aplicação de lactofen, aumento na produção de fitoalexinas e redução da severidade da doença. Apesar de resultados consistentes de redução na severidade, não houve aumento expressivo de produtividade na maior parte das cultivares avaliadas. Sendo assim, associado a outros métodos como

escolha de cultivares (HOFFMAN *et al.*, 1998), a utilização de herbicidas pode auxiliar na redução de doenças a campo.

## 2.3 HERBICIDAS

Plantas daninhas ocorrem nos agroecossistemas ao redor do mundo, e sua presença em elevada densidade pode estar associada a redução do potencial de desenvolvimento de plantas cultivadas. O controle das plantas daninhas é necessário em casos de elevada população, e uma das formas de controle amplamente utilizada em função de sua praticidade é a aplicação de herbicidas (SARDROOD; GOLTAPPEH, 2018).

A utilização de herbicidas tornou-se um marco para a agricultura moderna, devido a seu baixo custo, elevada eficiência e redução de trabalho (DUKE; DAYAN, 2018). Os herbicidas são responsáveis por uma parcela considerável do mercado de agrotóxicos no mundo. Estima-se que 60% dos pesticidas comercializados no mundo no ano de 2015 era composto por herbicidas, desse montante, o glifosato representa 61% do total de produtos vendidos. A importância no uso desse ingrediente ativo ocorre pela presença de organismos geneticamente modificados com tolerância ao herbicida (CASIDA; BRYANT, 2017), especialmente em grandes culturas como soja e milho.

Essas facilidades culminaram em intensa utilização de herbicidas com o mesmo modo de ação, gerando pressão de seleção nas populações de plantas daninhas e problemas de resistência, dificultando o controle a campo (DUKE; DAYAN, 2018). O glufosinato de amônio tem ganhado mercado nos últimos anos como ferramenta alternativa ao glifosato, no manejo de plantas daninhas resistentes nas culturas (TAKANO *et al.*, 2020), além da sua importância como substituto ao paraquate após o banimento do produto em 2020 (ANVISA, 2017). O uso de glufosinato de amônio em cultivares de soja com tolerância ao herbicida tem demonstrado boa eficiência no controle de plantas daninhas e ausência de interferência na produtividade (FRANZONI, 2018).

O glufosinato de amônio, é um herbicida de amplo espectro de ação, não seletivo para mono e dicotiledôneas, pertencente ao grupo dos inibidores da glutamina sintetase (GS), porém seu modo de ação é controverso e vem sendo alvo de vários estudos (TAKANO *et al.*, 2020). O modo de ação inicialmente estava associado a

inibição da fotossíntese e elevado acúmulo de nitrato de amônio nas células, esse acúmulo apesar de potencialmente tóxico não explica todos os danos visíveis na planta, sendo apenas parte da ação do produto (WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990).

Um novo modelo para explicar a ação foi proposto. Inicialmente ocorre inibição da GS, que acarreta acúmulo de amônia e metabólitos na via fotorespiratória, ocorre desbalanço entre produção e consumo de energia, excesso de elétrons no sistema, que se liga ao oxigênio molecular, acarretando acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS). O acúmulo de ROS gera peroxidação lipídica e rápida ação do glufosinato (TAKANO; DAYAN, 2020). Plantas com resistência ao herbicida transformam a molécula L-phosphinothricin em metabólitos não fitotóxicos, sendo NAG o principal metabólito (RUHLAND; ENGELHARDT; PAWLIZKI, 2004).

### 2.3.1 Cultivares de soja tolerantes a herbicida

A introdução de cultivares de soja geneticamente modificadas (GM) no mercado ocorreu em 1996 e o aumento no uso da tecnologia vem ocorrendo ao longo dos anos. Essa crescente utilização está relacionada às características de maior custo benefício, facilidade e praticidade no controle de plantas daninhas e insetos, associado a incrementos de produtividade (BROOKES; BARFOOT, 2016).

Um dos grandes gargalos nos cultivos agrícolas é a utilização de herbicidas de amplo espectro e que apresentem seletividade a cultura alvo. As primeiras cultivares GM introduzidas no mercado foram cultivares com tolerância a herbicidas (GM HT), inicialmente com tolerância a glifosato, sendo posteriormente introduzidas cultivares com tolerância ao glufosinato, 2,4-D e dicamba, tecnologias que facilitam o cultivo pela praticidade de controle de plantas daninhas (BROOKES; BARFOOT, 2020).

A cultura da soja é responsável por 48% da área com organismos GM cultivada no mundo, considerando a área total de soja, 78% da área plantada é composta por cultivares GM. No Brasil, 94% da área de cultivo de grandes culturas (soja, milho, algodão e cana) é de organismos GM, e a soja representa 66% desse total (ISAA, 2019), valores que demonstram a importância dessas cultivares para a agricultura nacional.

No Brasil, a introdução de cultivares com tolerância a glufosinato de amônio se deu em 2010 pela liberação de cultivares com a tecnologia Liberty Link®, que apresentava tolerância ao herbicida, porém a tecnologia não teve muita aderência por parte dos produtores. Em 2017, outra tecnologia foi liberada no mercado, Enlist E3, que apresenta tolerância a 2,4-D sal colina, glifosato dimetilamina e glufosinato de amônio e, Conkesta Enlist E3™, que apresenta tolerância aos três herbicidas e as proteínas *Bt* (Cry 1F e Cry1Ac), que conferem tolerância a lagartas (ISAA, 2019).

### 2.3.2 Herbicidas *versus* doenças

A ação de herbicidas em plantas daninhas, foco para o qual os produtos foram desenvolvidos é bem conhecida, porém, ações indiretas desses compostos em outros organismos, não são bem elucidadas, sendo necessário um melhor entendimento a respeito do assunto. Além disso, é conhecida a associação de algumas plantas daninhas com doenças, sendo hospedeiros de determinados patógenos, bem como a formação de microclima que essas plantas podem proporcionar para a evolução da doença (SARDROOD; GOLTAPPEH, 2018).

Uma ampla gama de trabalhos está disponível na literatura demonstrando a ação de herbicidas de diferentes grupos em patógenos de plantas (BLACK *et al.*, 1996; PLINE *et al.*, 2001; LIU *et al.*, 1998; TOUBIA-RAHME *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 2003), entre eles, para o herbicida bialaphos análogo do glufosinato de amônio.

Em estudo realizado por Black *et al.* (1996), foi verificada redução no crescimento micelial e produção de escleródios de *R. solani* isolada de soja para diferentes herbicidas avaliados, sendo que, glufosinato de amônio e paraquate proporcionaram as menores taxas de produção de escleródios. Os resultados em plantas com tolerância a glufosinato (gene *bar*) e bialaphos demonstram controle de doenças em diferentes culturas como grama rasteira (WANG *et al.*, 2003; LIU *et al.*, 1998), arroz (UCHIMIYA *et al.*, 1993) e soja (PLINE *et al.*, 2001).

Foi observada redução no crescimento micelial *in vitro* para isolados de *R. solani* e *S. homoeocarpa*, submetidos a tratamento com os herbicidas glufosinato de amônio e bialaphos, sendo que o controle para cada produto variou em função das doses e do patógeno. Além dos efeitos observados *in vitro*, a utilização de bialaphos foi capaz de controlar patógenos em plantas de grama rasteira (*Agrostis palustris*) com tolerância ao herbicida (gene *bar*) (LIU *et al.*, 1998), o uso de glufosinato em grama

rasteira tolerante ao herbicida também proporcionou controle eficiente dos mesmos patógenos (WANG *et al.*, 2003).

Em cultivar de arroz com tolerância ao herbicida bialaphos devido a expressão do gene *bar*, plantas tratadas com o herbicida não foram infectadas pelo patógeno *R. solani*, demonstrando ação preventiva do herbicida (UCHIMIYA *et al.*, 1993).

Ação bactericida foi relatada por glufosinato de amônio para *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea*, sendo que o herbicida apresentou dose resposta para o controle do patógeno *in vitro* e para a doença em plantas, o controle obtido nas maiores doses utilizadas seria suficiente para substituir a utilização de bactericidas para controle da doença na cultura da soja (PLINE *et al.*, 2001).

Além da ação direta já relatada para alguns patógenos, ação indireta e indução de resistência estão associadas. Cultivar de arroz com gene *bar* de resistência a glufosinato submetida a aplicações do herbicida desencadeou transcrição de genes relacionados a patogênese (PR) e acúmulo de peróxido de hidrogênio nas plantas, resultando em indução de defesa na planta, resultando em controle de *Magnaporthe grisea* e *Cochliobolus miyabeanus* em plantas de arroz transgênico (AHN, 2008).

## CAPÍTULO 1 – APLICAÇÕES CONSECUTIVAS A CAMPO DE FUNGICIDAS ISOLADOS DOS GRUPOS IDM, IQE E MULTISSÍTIO, INTERFEREM NA SENSIBILIDADE DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI* A TEBUCONAZOL *IN VITRO*

**Resumo:** A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo patógeno *Phakopsora pachyrhizi*, é a principal doença da cultura da soja no país. O controle da doença é realizado em sua maioria pela aplicação de fungicidas sítio-específico do grupo dos IDMs, IQes e ISDHs e multissítio em mistura. O tebuconazol foi um dos primeiros produtos registrados para a doença no país e, um dos primeiros a apresentar problemas de redução de sensibilidade, em decorrência do seu uso intensivo e indiscriminado, associado à presença de alterações no gene *Cyp51*. Porém alterações nesse gene confere penalidades adaptativas ao fungo. Após um período de redução de uso deste ingrediente ativo devido à baixa eficiência, a partir da safra 2018, este produto passou a apresentar retorno gradual de eficiência a campo. O objetivo do trabalho foi, i) correlacionar a eficiência dos fungicidas sítio-específico dos grupos dos IDMs, IQes e multissítio aplicados a campo em uma mesma safra de cultivo, com as características fenotípicas de populações de *P. pachyrhizi* à tebuconazol. A eficiência de controle dos produtos a campo foi avaliada por meio da avaliação da severidade da doença e estes dados foram utilizados para o cálculo da AACPD. A avaliação das características fenotípicas, foi realizada com populações de *P. pachyrhizi* coletadas das parcelas tratadas através de ensaios em folha destacada. Para o cálculo da  $CE_{50}$  foram utilizadas as concentrações 0; 0,05; 0,5; 1; 5; 15; 50 e 100  $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$  de tebuconazol. Houve diferença na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), com a eficiência do tebuconazol variando entre 29 e 30%, superior aos demais produtos testados. Populações provenientes de parcelas que receberam aplicações de clorotalonil e parcelas controle sem aplicação de fungicidas apresentaram  $CE_{50}$  de 2,30  $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$  e 3,60  $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ , respectivamente, em comparação com parcelas com aplicação de tebuconazol e azoxistrobina, 6,69 e 6,86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. A utilização de multissítio contribuiu para o aumento da sensibilidade de populações a campo com resistência prática ao tebuconazol.

**Palavras chave:** *Glycine max*, Ferrugem asiática, Controle químico, manejo da resistência.

**Abstract:** The soybean rust (ASR), caused by the pathogen *Phakopsora pachyrhizi*, is the main disease of the soybean crop in Brazil. Control of the disease is mostly accomplished by applying site-specific fungicides from the group of DMIs, Qois and SDHIs and multisite in mixtures. Tebuconazole was one of the first products registered for the disease in the country, and one of the first to present problems of reduced sensitivity, due to intensive and indiscriminate use, associated with the presence of changes in the *Cyp51* gene. However, alteration in this gene confers adaptive penalties to the fungus. After a period of reduced use of this active ingredient due to low efficiency, as of the 2018 season, this product started to present a gradual return of efficiency in the field. The aim of the work was, i) to correlate the efficiency of site-specific fungicides of the groups of DMIs, Qois and multisite applied in the field in the same crop season, with the phenotypic characteristics of *P. pachyrhizi* populations to tebuconazole. The control efficiency of the products in the field was evaluated by

assessing the disease severity and these data were used to calculate the AUDPC. The evaluation of phenotypic characteristics was performed with *P. pachyrhizi* populations collected from the treated plots through detached leaf assays. The concentrations 0; 0.05; 0.5; 1; 5; 15; 50 and 100  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  of tebuconazole were used to calculate the  $\text{EC}_{50}$ . There was a difference in the area under the disease progress curve (AUDPC), with the efficiency of tebuconazole ranging between 29 and 30%, higher than the other products tested. Populations from plots that received applications of chlorothalonil and control plots without fungicide application showed  $\text{EC}_{50}$  of 2.30  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and 3.60  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ , respectively, compared to plots with application of tebuconazole and azoxystrobin, 6.69 and 6.86  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Thus, the use of multisite contributed to the increased sensitivity of field populations with practical resistance to tebuconazole.

Keywords: *Glycine max*, Asian rust, Chemical control, resistance management.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja é a cultura oleaginosa mais semeada no mundo e o Brasil o maior produtor mundial do grão com 138 milhões de toneladas na safra 20/21, seguido pelos Estados Unidos (USDA, 2022). A cultura possui importância no cenário nacional, com área de 40,7 milhões de hectares, incremento de 1,6% em relação à safra 20/21. O estado de Mato Grosso, se destaca com a maior área plantada do país, com 10.909 milhões de hectares, seguido pelos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (CONAB, 2022).

Entre as doenças que acometem a cultura da soja, a ferrugem asiática da soja (FAS) causada pelo patógeno *Phakopsora pachyrhizi* H. Syd & P. Syd apresenta importância mundial, em especial na América do Sul, onde é considerada a mais severa da cultura (LANGENBACH *et al.*, 2016). A FAS pode causar perdas de 75% de produtividade ou mais em condições favoráveis à doença (DALLA LANA *et al.*, 2015), e está disseminada em todas as regiões produtoras do Brasil. O curto período latente (KLOSOWSKI *et al.*, 2018), e a contínua produção de esporos (PRIMIANO; AMORIM, 2020), resultam em múltiplos ciclos do patógeno ao longo de um único ciclo de cultivo da soja.

Com o primeiro relato da doença no país, foi preconizada a utilização de fungicidas disponíveis no mercado. As recomendações estavam relacionadas aos produtos registrados na época, com destaque para o grupo dos IDMs, em especial o ingrediente ativo tebuconazol devido a sua eficiência de controle (GODOY *et al.*, 2016). Nessa fase a utilização de moléculas isoladas para controle de *P. pachyrhizi* era uma medida muito utilizada.

Relatos de resistência do patógeno aos fungicidas dos grupos sítio específico (IDMs e IQes), alertaram produtores e técnicos sobre a importância da rotação de grupos químicos. Na safra 2007/2008, falhas de controle a campo foram observadas em regiões produtoras, em especial na região dos cerrados no Mato Grosso (GODOY, 2012). A redução da eficiência do tebuconazol foi relatada após seis safras. Na safra 2004/2005, a eficiência do produto era de 78% e, na safra 2013/2014 a eficiência reduziu para 18% (DALLA LANA *et al.*, 2015), o que alterou a recomendação de utilização de fungicidas, visando a mistura de grupos químicos e não utilização do tebuconazol de maneira isolada a partir de 2010 (GODOY, 2012).

Devido à baixa eficiência dos fungicidas a campo, a partir da safra 2014/2015 foram iniciados estudos com multissítio no manejo da doença, produtos que já estavam a muito tempo no mercado, porém, precisavam ser validados e registrados para o patógeno (GODOY *et al.*, 2015). Vários trabalhos foram sendo realizados buscando avaliar a eficiência dos produtos e traçar recomendações de utilização a campo (SILVA *et al.*, 2015; PONCE *et al.*, 2019; REIS; ZANATTA; REIS, 2021). Dessa forma, os multissítios foram incorporados a misturas em tanque e comerciais para o manejo da doença.

A resistência de fungos a fungicidas pode ter mais ou menos importância a depender da adaptabilidade e ou competitividade das populações resistentes em relação as populações sensíveis (MIKABERIDZE; McDONALD, 2015). A sensibilidade a fungicidas do grupo dos IDMs, como exemplo do ingrediente ativo tebuconazol, estão associadas a menor adaptabilidade (KLOSOWSKI *et al.*, 2016a). Diante desse fato, a redução de uso de um determinado ingrediente ativo, por algumas safras, ou sua mistura com fungicidas de baixo risco de resistência poderia reestabelecer a sensibilidade das populações (MIKABERIDZE; McDONALD, 2015). Um exemplo para isso foi o reestabelecimento da sensibilidade a tebuconazol com o patógeno *Monilinia fructicola*, com experimentos realizados em campo (PEREIRA *et al.*, 2020).

O aumento da eficiência a tebuconazol vem sendo observado nas safras 20/21 e 21/22 (GODOY *et al.*, 2021), entretanto não se sabe se essa redução está associada ao uso de outros grupos químicos ou fungicidas multissítio. Além disso, não se conhece se em um mesmo ciclo da cultura, uma pressão de seleção sucessiva com o mesmo ingrediente ativo poderia alterar o comportamento do genótipo/fenótipo de uma população e possibilitar o retorno da sensibilidade para tebuconazol. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi correlacionar a eficiência de fungicidas sítio-

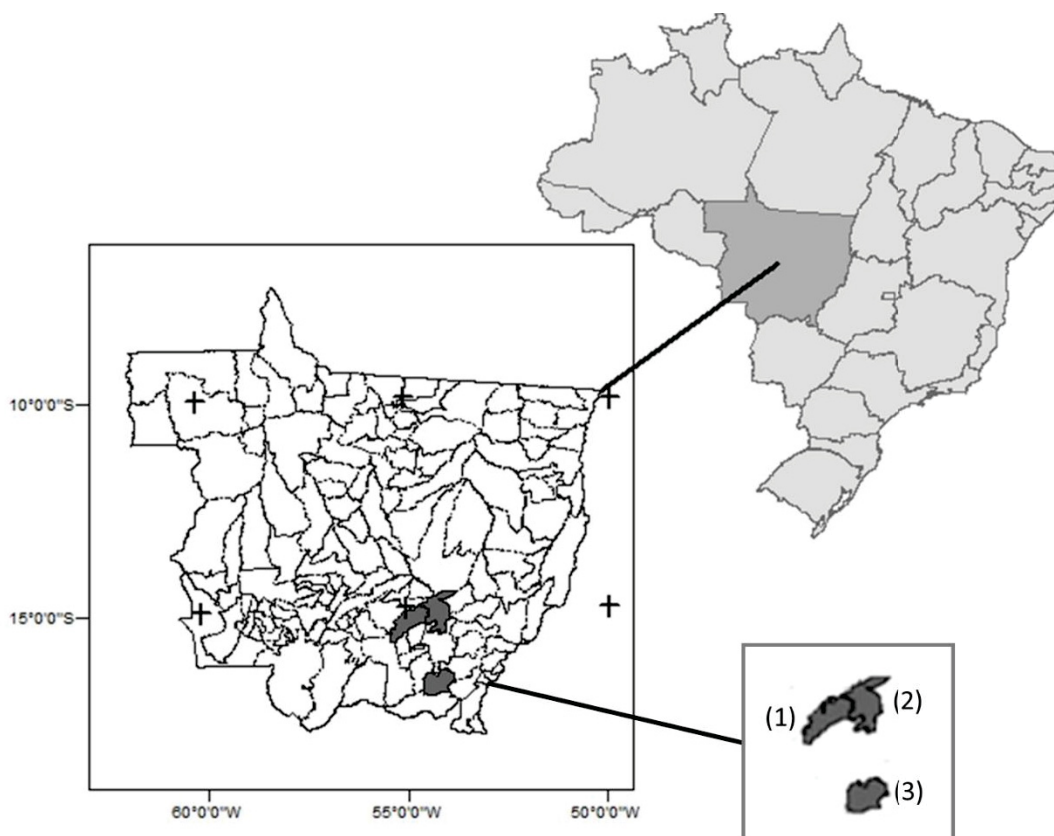
específico dos grupos dos IDMs, IQes e multissítios aplicados a campo em uma safra de cultivo, com as características fenotípicas de populações de *P. pachyrhizi* a tebuconazol.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 CONDUÇÃO DOS ENSAIOS A CAMPO E OBTENÇÃO DAS POPULAÇÕES DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI*

No ano de 2020, três ensaios que receberam aplicações sequenciais de fungicidas sítio específico e multissítio foram avaliados e 14 populações foram obtidas de áreas experimentais da Fundação Mato Grosso, localizadas em três cidades no estado de Mato Grosso, locais que representam uma das mais importantes regiões produtoras no estado (Figura 2 e Tabela 1).

FIGURA 2 – Mapa do Brasil com destaque para o estado de Mato Grosso e para os locais de coleta das populações



FONTE: Autora (2022)

LEGENDA: (1) Campo Verde, (2) Primavera do Leste e (3) Pedra Preta.

TABELA 1 – Locais de coleta das populações de *Phakopsora pachyrhizi* na safra 20/21

| Local              | Semeadura  | Coleta     | Fase fenológica da coleta | Avaliações |
|--------------------|------------|------------|---------------------------|------------|
| Pedra Preta        | 12/12/2020 | 12/03/2021 | R 5.5                     | 11/03/2021 |
| Campo Verde        | 10/12/2020 | 12/03/2021 | R 6                       | 10/03/2021 |
| Primavera do Leste | 08/12/2020 | 11/03/2021 | R 6                       | 11/03/2021 |

FONTE: Autora (2022)

As áreas de coleta foram constituídas de parcelas contendo 3,6 metros de largura por 6 metros de comprimento, cultivadas com a soja Monsoy 8372 IPRO. As parcelas foram submetidas a três aplicações sequenciais de moléculas isoladas de fungicidas comerciais descritos na tabela 2, com intuito de realizar avaliação de eficiência desses produtos a campo. As aplicações foram realizadas aos 48, 62 e 76 dias após a semeadura (DAS), com pulverizador do tipo CO<sub>2</sub>, calibrado para o volume de calda de 120 L ha<sup>-1</sup>. As coletas das populações foram realizadas 14, 16 e 17 dias após a terceira aplicação dos tratamentos nos municípios de Pedra Preta, Campo Verde e Primavera do Leste respectivamente.

TABELA 2 – Tratamentos com aplicações sequenciais dos fungicidas em parcelas de soja da cultivar Monsoy 8372 IPRO nas cidades de Primavera do Leste, Campo Verde e Pedra Preta no estado de Mato Grosso na safra 20/21

| Tratamento              | Ingrediente ativo     | Dose      |                 |
|-------------------------|-----------------------|-----------|-----------------|
|                         |                       | g i.a./ha | L ou kg p.c./ha |
| Testemunha              | -                     | -         | -               |
| Folicur (Bayer)         | Tebuconazol           | 100       | 0,50            |
| Alto 100 (Syngenta)     | Ciproconazol          | 30        | 0,30            |
| Domark (Sipcam Nichino) | Tetraconazole         | 80        | 0,80            |
| NKF 57 (Sipcam Nichino) | Prothioconazole 250EC | 70        | 0,28            |
| Priori (Syngenta)       | Azoxistrobina         | 60        | 0,24            |
| Oranis (Corteva)        | Picoxistrobina        | 60        | 0,24            |
| Previnil (Helm)         | Clorotalonil          | 1.080     | 1,50            |

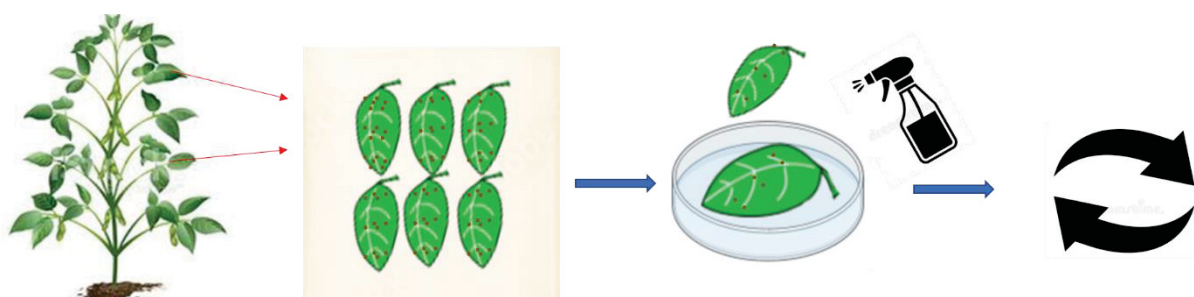
FONTE: Autora (2022)

Para a coleta das populações foram selecionadas 10 plantas de soja com sintomas visíveis da doença presentes nas duas linhas centrais das parcelas tratadas. Foram coletadas 30 folhas da parte do terço médio e superior da planta. Após a coleta,

as folhas foram depositadas sobre papel toalha seco para posterior transporte e coleta das populações (Figura 3).

As populações foram obtidas por meio da fricção de cinco folhas contendo os esporos sobre folhas de soja da cultivar BMX Apolo, cultivadas em casa de vegetação. Após inoculadas, as folhas foram borrifadas com 0,5 mL de água destilada esterilizada, depositadas em placas de Petri contendo meio ágar (2%) acrescido de sulfato de estreptomicina (0,03 g/L) e incubadas a 22°C no escuro por 24 horas e posteriormente sob fotoperíodo de 12 horas por 14 dias. Após a obtenção das populações essas foram multiplicadas para obtenção de inóculo suficiente para realização dos ensaios de sensibilidade.

FIGURA 3 - Metodologia de repique de populações de *Phakopsora pachyrhizi* coletadas de parcelas com aplicações sucessivas de fungicidas a campo



Fonte: AUTORA (2022)

## 2.2 AVALIAÇÃO DO PROGRESSO DA DOENÇA A CAMPO

As avaliações de severidade foram conduzidas pela Fundação de apoio de pesquisa agropecuária de Mato Grosso (Fundação Mato Grosso). Foram realizadas quatro avaliações de severidade, aos 7 e 14 dias após a segunda aplicação e 7 e 14 dias após a terceira aplicação de fungicida em cada um dos locais. A severidade foi estimada por meio de escala diagramática desenvolvida por Godoy et al. (2006), sendo avaliado o terço superior e inferior das plantas das duas linhas centrais de cada parcela. Esses dados foram utilizados para mensurar a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e posterior cálculo do controle obtido por cada parcela conforme descrito no item 2.4.2.

### 2.3 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE POPULAÇÕES DE *PHAKOPSORA PACHYRHIZI* POR MEIO DA CONCENTRAÇÃO EFETIVA (CE<sub>50</sub>) DO FUNGICIDA TEBUCONAZOL

Foram selecionadas cinco populações de acordo com o grupo químico aplicado a campo em cada um dos locais avaliados, conforme descrito na tabela 2. A caracterização fenotípica foi realizada para populações provenientes das áreas de estações de pesquisa nos municípios de Campo verde, Primavera do Leste e Pedra Preta no estado de Mato Grosso. Foram selecionadas populações coletadas de parcelas: Testemunha – sem aplicação de fungicida e parcelas que receberam três aplicações sequenciais das seguintes moléculas: tebuconazol, protioconazol, azoxistrobina e clorotalonil.

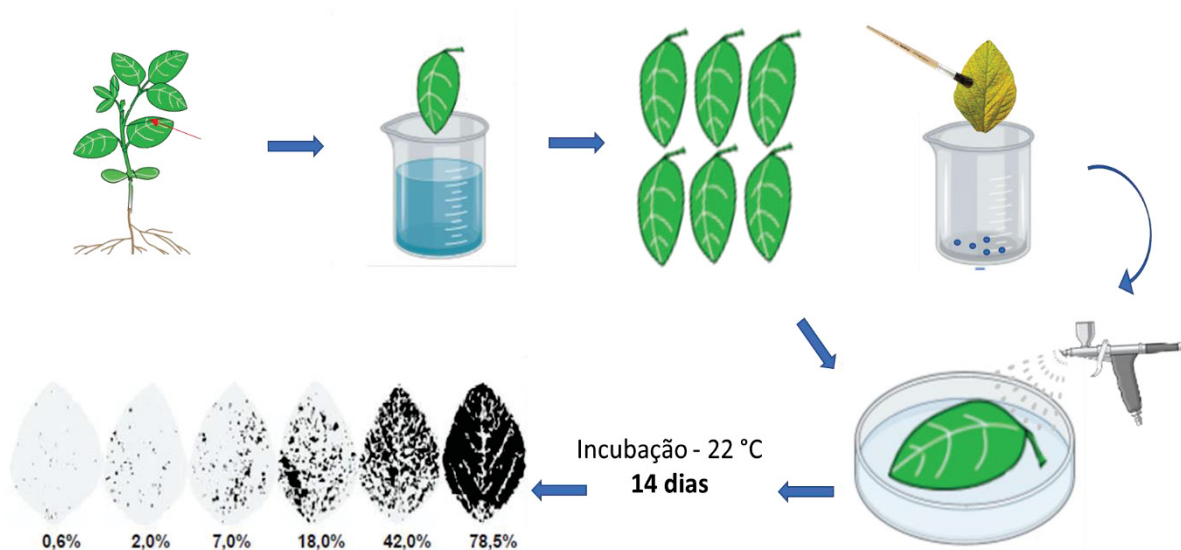
Os testes para avaliação da concentração efetiva foram conduzidos utilizando a metodologia de folhas destacadas proposta por Scherb e Mehl (2006), descrita pelo Comitê de Ação à Resistência a Fungicidas (FRAC). Para a montagem dos ensaios, foram utilizadas folhas unifolioladas com 21 DAS, da variedade BMX Apolo cultivada em estufa em vasos de 10 litros preenchidos com solo. Para a padronização da idade do inóculo, foram utilizados urediniósporos de lesões ativas provenientes de populações propagados em folhas sadias dentro de placas de Petri, coletados aos 14 dias após a inoculação.

Os ensaios foram realizados com fungicida comercial à base de tebuconazol. Foram utilizadas as concentrações 0; 0,05; 0,5; 1; 5; 15; 50; 100 mg L<sup>-1</sup> de ativo, utilizando fungicida comercial a base de tebuconazol (Folicur 200 EC, Bayer), obtidas através da realização de solução estoque 300 mg L<sup>-1</sup> por meio da diluição do fungicida comercial em água destilada, e posterior diluição da solução estoque para obtenção de cada uma das concentrações desejadas. As folhas foram mergulhadas em calda contendo as concentrações desejadas do fungicida por três segundos, depositadas em papel toalha por 30-40 minutos e posteriormente foram alocadas dentro de placas de Petri contendo meio ágar (2%) acrescido de sulfato de estreptomicina (0,03 g/l). As placas foram deixadas a temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas.

Após 24 horas, as folhas foram inoculadas com suspensão de esporos na concentração de 10<sup>5</sup> esporos por mL<sup>-1</sup>, obtidas por meio da raspagem de esporos de folhas com sintomas com auxílio de alças de poliestireno em água destilada esterilizada acrescida de Tween 20%. Posterior a inoculação as folhas foram mantidas

por um período de 24 horas no escuro a 22°C, sendo posteriormente incubadas em câmara de crescimento a 22°C e fotoperíodo de 12 horas por 14 dias, após esse período as folhas foram avaliadas quanto a severidade com auxílio de escala diagramática desenvolvida por Godoy *et al.*, 2006 (Figura 4). Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por uma folha

FIGURA 4 - Metodologia de caracterização fenotípica das populações de *Phakopsora pachyrhizi* através da concentração efetiva (CE<sub>50</sub>).



Fonte: AUTORA (2022)

### 2.3.1 Análise estatística dos dados

O progresso da doença foi quantificado pela estimativa da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) realizada no programa Excel usando a equação (1):

$$AACPD = \sum_{i=1}^n \frac{(X_{i+1} + X_i)(t_{i+1} - t_i)}{2} \quad (1)$$

onde:

$t$  = tempo em dias de avaliações;

$y$  = severidade em cada avaliação;

$n$  = número de avaliações.

Os valores de AACPD foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias quando significativas pelo teste F foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), usando o software R.

O cálculo da  $CE_{50}$  foi realizado utilizando o pacote DRC (versão 3.0-1), por meio de modelos não lineares escolhidos com base em valores do critério de informação de Akaike (AIC), sendo quanto menor o AIC, melhor o ajuste. Foram selecionados quatro modelos que melhor se adequaram aos dados da Figura 5, com melhores estimativas para as respostas biológicas obtidas, sendo eles LL3, LL4, LL5 e W2.3:

- LL3 – Modelo log logístico de 3 parâmetros com limite inferior 0, sendo representado pela equação (2):

$$f(x) = 0 + \frac{d-0}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))} \quad (2)$$

- LL4 – Modelo log logístico de 4 parâmetros, sendo representado pela equação (3):

$$f(x) = c + \frac{d-c}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))} \quad (3)$$

- LL5 – Modelo log logístico de 5 parâmetros, sendo representado pela equação (4):

$$f(x) = c + \frac{d-c}{\left(1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))\right)^f} \quad (4)$$

- W2.3 – Modelo Weibull de três parâmetros, sendo representado pela equação (5):

$$f(x) = 0 + (d - 0) \exp\left(-\exp(b(\log(x) - e))\right) \quad (5)$$

onde:

$c$  = limite inferior;

$d$  = limite superior;

$b$  = inclinação da curva em torno da  $CE_{50}$ , que é representada pelo parâmetro

$e$ ;

$f$  = assimetria da curva.

Os valores estimados de  $CE_{50}$  foram submetidos a análise de variância e as médias, quando significativas pelo teste F, foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) por meio do software R. Para análise dos pressupostos da análise de variância foram considerados métodos gráficos.

### **3 RESULTADOS**

#### **3.1 PROGRESSO DA DOENÇA EM PARCELAS TRATADAS COM APLICAÇÕES SEQUENCIAIS DE FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICO**

A AACPD diferiu em relação aos tratamentos e locais avaliados. Parcelas controle, que não receberam aplicação de fungicida, apresentaram as maiores severidades em todos os locais (Tabela 3). As localidades de Campo Verde e Primavera do Leste foram as que apresentaram a maior severidade da doença, com área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), de 1.352,5 e 1.353,1, respectivamente, diferindo significativamente ( $p < 0.05$ ) da cidade de Pedra Preta, com AACPD de 744,8 (Figura 5).

TABELA 3 – Severidade no momento da coleta (%), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e controle da AACPD (%) de ferrugem asiática da soja na cultivar Monsoy 8372, avaliada em três cidades distintas no estado de Mato Grosso

| Manejo campo   | Campo Verde     |             |              | Pedra Preta     |            |              | Primavera do Leste |             |              |
|----------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|------------|--------------|--------------------|-------------|--------------|
|                | Sev. coleta (%) | AACPD       | Controle (%) | Sev. coleta (%) | AACPD      | Controle (%) | Sev. coleta (%)    | AACPD       | Controle (%) |
| Sem fungicida  | 99,8            | 1636,6 a    | -            | 58,8            | 951,5 a    | -            | 95,0               | 1639,7 a    | -            |
| Tebuconazol    | 94,8            | 1158,6 d    | 29,2         | 42,5            | 665,9 d    | 30,0         | 93,8               | 1155,3 d    | 29,5         |
| Ciproconazol   | 98,8            | 1413,1 b    | 13,7         | 50,0            | 742,4 bc   | 22,0         | 95,0               | 1538,6 ab   | 6,2          |
| Tetraconazol   | 99,0            | 1390,3 b    | 15,1         | 48,8            | 733,3 bc   | 22,9         | 95,0               | 1510,6 ab   | 7,9          |
| Protiocanazol  | 97,8            | 1244,4 c    | 24,0         | 44,3            | 679,8 cd   | 28,5         | 93,8               | 1268,2 d    | 22,7         |
| Azoxistrobina  | 99,0            | 1358,3 b    | 17,0         | 48,8            | 759,7 b    | 20,2         | 95,0               | 1430,1 bc   | 12,8         |
| Picoxistrobina | 96,8            | 1266,6 c    | 22,6         | 46,8            | 680,5 cd   | 28,5         | 93,8               | 1294,5 cd   | 21,1         |
| <b>CV (%)</b>  |                 | <b>2,46</b> |              |                 | <b>3,8</b> |              |                    | <b>4,49</b> |              |

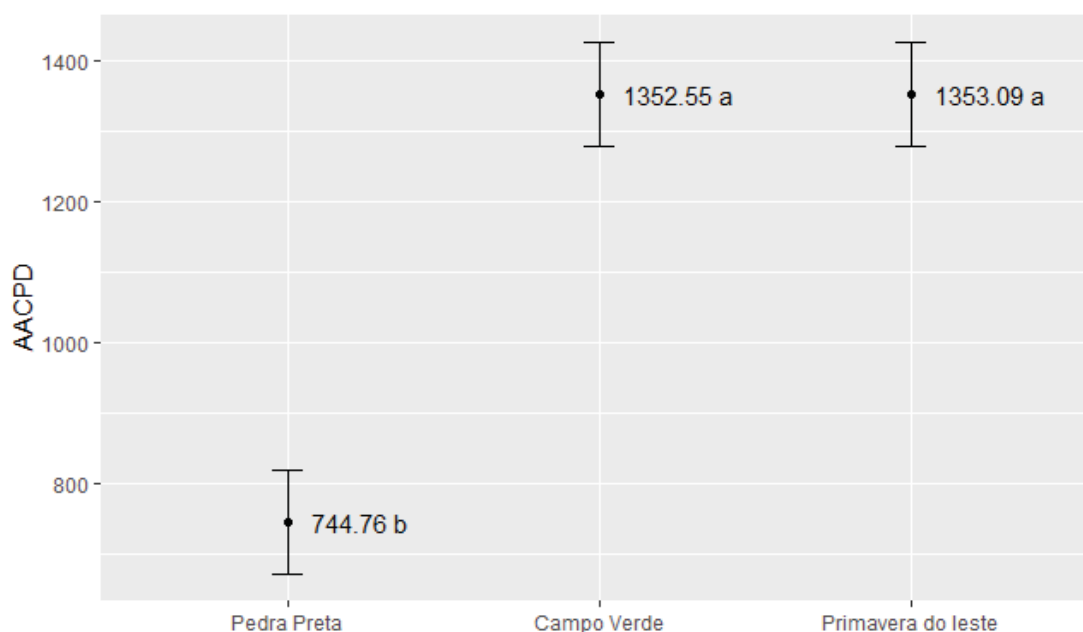
\* AACPD (área abaixo da curva de progresso da doença).

\* % de controle calculado com os dados da área abaixo da curva do progresso da doença.

\* Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

FONTE: Autora (2022)

FIGURA 5 – Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) média de ferrugem asiática da soja de parcelas em sete tratamentos a campo (sem fungicida, tebuconazol, ciproconazol, tetraconazol, protioconazol, azoxistrobina e picoxistrobina), em três cidades distintas no estado de Mato Grosso na safra 20/21



\* Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

FONTE: Autora (2022)

Entre os tratamentos, o fungicida tebuconazol obteve os melhores resultados, sendo o tratamento com maior controle em todas as localidades avaliadas, 29,2, 29,5 e 30,0% em Campo Verde, Primavera do Leste e Pedra Preta, respectivamente; não diferindo, porém, de outro fungicida do grupo dos triazóis, o protioconazol e nem da picoxistrobina pertencente ao grupo das estrobilurinas, nos locais Pedra Preta e Primavera do Leste. Os ingredientes ativos azoxistrobina, tetraconazol e ciproconazol apresentaram controle inferior ao tebuconazol em todos os locais avaliados, com o menor controle observado em Primavera do Leste, com 12,8, 7,9 e 6,2% de controle, respectivamente (Tabela 3).

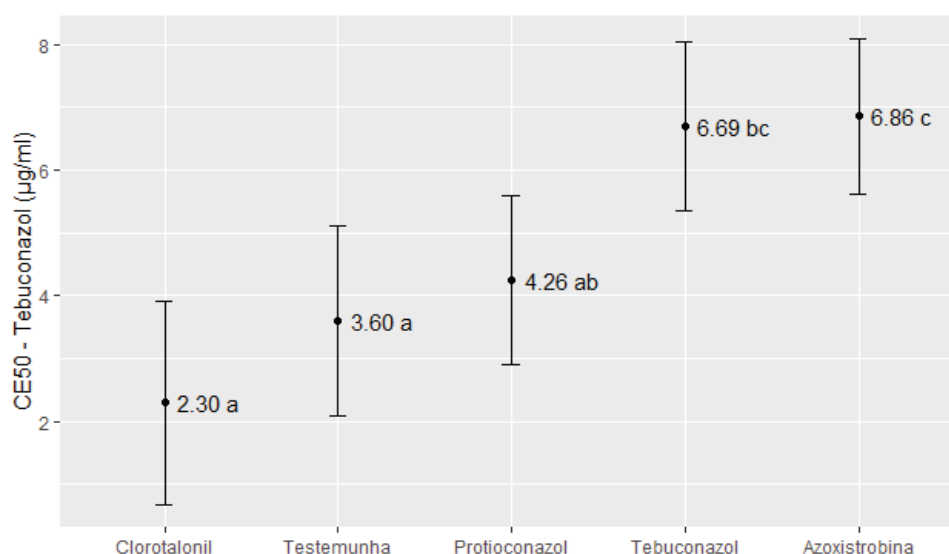
Apesar do tebuconazol apresentar o melhor desempenho entre os produtos avaliados, o controle para FAS ainda é considerado baixo, sendo obtido máximo de 30%, inferior ao desejável para um fungicida em condição de campo, porém um resultado esperado considerando as condições de aplicações sequenciais do estudo.

### 3.2 CONCENTRAÇÃO EFETIVA (CE<sub>50</sub>) DO TEBUCONAZOL PARA POPULAÇÕES DE *P. pachyrhizi* OBTIDAS APÓS APLICAÇÕES SEQUENCIAIS DE FUNGICIDAS SÍTIO ESPECÍFICOS OU MULTISSÍTIO EM DIFERENTES LOCALIDADES

Populações que receberam diferentes tratamentos a campo apresentaram diferença com relação a concentração efetiva estimada para tebuconazol. Populações que receberam aplicações sequenciais do multissítio clorotalonil a campo (2 locais), apresentaram a menor CE<sub>50</sub> média estimada para tebuconazol entre as populações avaliadas (2,30 µg/ml), não diferindo, porém, das populações provenientes das parcelas testemunha (3 locais), sem aplicação de fungicidas (3,60 µg/ml), e de parcelas com aplicações sequenciais do sítio específico protioconazol (3 locais) (4,26 µg/ml).

Por sua vez, populações obtidas de três locais distintos, submetidas a aplicações sequenciais dos fungicidas sítio-específicos tebuconazol e azoxistrobina, resultaram nos maiores valores de CE<sub>50</sub> média para tebuconazol, 6,69 e 6,86 µg/ml respectivamente, diferindo significativamente da testemunha (Figura 3). Resultado esperado para o ingrediente ativo tebuconazol devido à pressão de seleção proporcionada pelo fungicida a campo.

FIGURA 6 – Sensibilidade ao ingrediente ativo tebuconazol (CE<sub>50</sub>), de populações de *Phakopsora pachyrhizi*, coletadas de áreas tratadas com diferentes ingredientes ativos a campo na safra 20/21

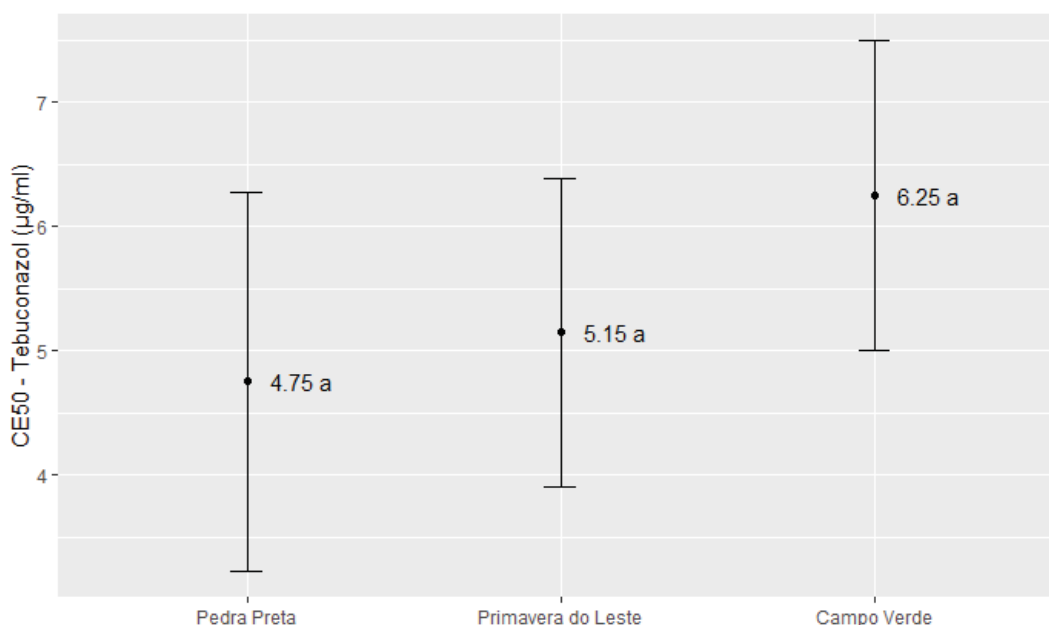


\* Total de 14 populações (2 populações – Clorotalonil; 3 populações – Testemunha, protioconazol, tebuconazol e azoxistrobina). \* CE<sub>50</sub> – Concentração efetiva capaz de inibir 50% do desenvolvimento do patógeno. \* Médias seguidas de letras distintas apresentam diferença significativa de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade. \* Eixo X corresponde aos tratamentos realizados nas parcelas a campo.

FONTE: Autora (2022)

Considerando o local de coleta das populações, não houve diferença na  $CE_{50}$  média entre locais. Populações provenientes de parcelas com aplicação de sítio específicos nas cidades de Campo Verde, Primavera do Leste e Pedra Preta apresentaram  $CE_{50}$  média de 6,25 e 5,15 e 4,75  $\mu\text{g mL}^{-1}$  respectivamente, não diferindo entre si (Figura 4). Sendo assim, a  $CE_{50}$  mais influenciada pela aplicação de fungicidas á campo, do que pelas características locais da população do patógeno.

FIGURA 7 – Sensibilidade ao ingrediente ativo tebuconazol ( $CE_{50}$ ) de populações de *Phakopsora pachyrhizi*, coletadas de três cidades distintas no estado de Mato Grosso submetidas a aplicações com sítios específicos a campo



\* Total de 12 populações (4 populações - Campo Verde; 4 populações - Primavera do Leste; 4 populações - Pedra Preta), eixo X corresponde à média de  $CE_{50}$  das populações avaliadas em diferentes locais. \*  $CE_{50}$  – Concentração efetiva capaz de inibir 50% do desenvolvimento do patógeno. \* As médias não podem ser consideradas diferentes de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

FONTE: Autora (2022)

## 4 DISCUSSÃO

Os resultados indicam que o ingrediente ativo tebuconazol apresentou maior eficiência entre os sítio-específicos avaliados a campo, e que uma safra de cultivo com aplicações sucessivas dos ingredientes ativos tebuconazol e azoxistrobina é capaz de alterar a sensibilidade de populações a tebuconazol.

O controle da doença, obtido para tebuconazol nos ensaios deste trabalho (29,5%), foi inferior à média de controle obtida nos ensaios em rede (44,0%) realizados pela Embrapa (GODOY *et al.*, 2021). Apesar de ainda ser considerado baixo, o

controle da doença pelo fungicida tebuconazol apresentou melhor resultado nessa safra, comparado com os resultados obtidos em safras anteriores, com 16% de controle na safra 2013/2014, 20% na safra 2016/2017, 27% na safra 2018/2019 e 40% de controle na safra 19/20 (GODOY *et al.*, 2021), sendo verificado a campo um retorno gradual da eficiência do fungicida nos últimos anos. Esse retorno pode estar associado à presença de fitness que confere penalidades e na ausência do fungicida a frequência de indivíduos com presença de mutação para o gene *Cyp51* em uma população pode diminuir.

A redução na frequência de mutações no gene *Cyp51* foi observada em mistura de isolados com presença de mutação e isolados sensíveis após quatro ciclos da doença, demonstrando a ocorrência de penalidades associadas a indivíduos de *P. pachyrhizi* com presença de mutação nesse gene, ou seja, indivíduos com a presença de mutação não competem em igualdade com organismos sensíveis, e na ausência do fungicida, a população de indivíduos resistentes poderá reduzir ao longo dos ciclos (KLOSOWSKI *et al.*, 2016b). A menor sensibilidade à tebuconazol em populações de *P. pachyrhizi* obtidas de cultivo convencional, comparado com áreas orgânicas, sem pressão de fungicidas foi observada (KLOSOWSKI *et al.*, 2018), demonstrando que na ausência de pressão de seleção a população de indivíduos resistentes tende a reduzir.

Alguns exemplos estão disponíveis na literatura, comprovando a eficiência desse manejo a campo. A retirada de fungicidas do grupo dos IDMs no manejo de podridão parda na cultura do pêssego por três anos, proporcionou retorno da sensibilidade de *Monilinia fructicola* à tebuconazol (PEREIRA *et al.*, 2020). Em outro patossistema, no manejo de *Cercospora beticola* em beterraba açucareira, a retirada de fungicidas do grupo dos IDMs reduziu a frequência de estipes resistentes dentro de uma safra de cultivo em dois dos três anos avaliados (KARAOGLANIDIS *et al.*, 2001). Apesar desses exemplos, onde foi possível o manejo completo do fungicida com retirada do grupo químico, nem sempre essa estratégia é fácil de ser utilizada em larga escala, ainda mais considerando uma cultura com extensa área cultivada como a soja e a presença desse grupo em misturas comerciais com IQes e ISDHs.

No entanto, a utilização de tebuconazol na cultura da soja foi reduzida ao longo dos anos por falta de eficiência do produto. Essa redução na eficiência culminou na retirada do ingrediente ativo da lista de produtos recomendados para ferrugem asiática em 2017 (GODOY *et al.*, 2020), e a associação desses fatores reduziu a

utilização do produto a campo, o que pode ter colaborado para a redução da pressão de seleção sobre o patógeno.

O uso de misturas de fungicidas de alto risco (sítio específico) e baixo risco (multissítios) são capazes de reduzir a população de organismos resistentes, sendo que para ser eficiente, a proporção de cada fungicida na mistura precisa ser ajustada em relação ao custo adaptativo do fungo. Mutações que conferem alto custo adaptativo, podem utilizar proporções maiores de fungicidas de alto risco que em situações de baixo custo adaptativo, sendo que para ser eficiente, é necessário que a proporção do fungicida de baixo risco seja capaz de limitar a evolução da resistência (MIKABERIDZE E MCDONALD, 2015).

Foi observado que para *P. pachyrhizi*, na presença das mutações Y131F + I475T e F120L + Y131H ocorreu maior redução da proporção de indivíduos mutados quando as folhas foram pré-tratadas com fungicida multissítio mancozebe, se comparado com folhas sem tratamento. Associado ao fato dessas mutações serem as de ocorrência mais frequente para o grupo dos IDMs no país, (SCHMITZ *et al.*, 2014; MÜLLER; STAMMLER; MAY DE MIO, 2021) pode-se inferir que fungicidas multissítio podem colaborar para a redução de indivíduos com presença de mutação no gene *Cyp51* (KLOSOWSKI *et al.*, 2016b).

Nos resultados obtidos nesse trabalho, populações tratadas a campo com o clorotalonil apresentaram uma tendência de redução da CE<sub>50</sub>, porém, não diferiram significativamente de populações sem aplicação de fungicidas. Nos dados obtidos por Klosowski *et al.* (2016b) apesar da observação de maior redução de indivíduos mutados em folhas pré-tratadas com mancozebe, essa redução era baixa em quatro ciclos da doença. Considerando que do início da aplicação de fungicidas na cultura da soja, até o final da safra estimasse que ocorram de 8 a 10 ciclos reprodutivos do patógeno (GODOY *et al.*, 2016), e que o padrão de retorno da sensibilidade para tebuconazol, com utilização de outros ingredientes ativos para controle da doença seria mantido semelhante ao observado em laboratório, a redução de indivíduos resistentes seria lenta e gradual. Vale ressaltar que as estimativas de fitness realizadas em laboratório são informativas, não podemos assumir que os resultados obtidos em laboratório vão se comportar da mesma forma a campo (MIKABERIDZE; McDONALD, 2015).

Levando em consideração que a ausência do fungicida reduz a proporção de indivíduos mutados para o gene *Cyp51* que é associado a presença de fitness

(KLOSOWSKI *et al.*, 2016b), pode-se associar resultados semelhantes obtidos entre populações com supressão de fungicida e uma população com utilização de multissítio (Figura 3), ao fato de que na ausência de fungicida, naturalmente ocorre redução da proporção de indivíduos resistentes ao longo dos ciclos, mesmo que isso ocorra com maior intensidade com a utilização de multissítio.

Considerando os resultados obtidos nesse trabalho, o aumento da utilização de multissítio na cultura da soja desde os primeiros estudos de introdução dos produtos em 2014, associado com as recomendações de utilização de multissítio como estratégia antirresistência (FRAC, 2018), é possível inferir que a associação desses produtos pode ter contribuído para a redução da seleção de indivíduos com resistência ao tebuconazol a campo.

Outro fungicida de grande importância para o controle da FAS no país, o protioconazol que pertence ao grupo dos IDMs apresenta bons resultados a campo, com média de controle nos ensaios em rede de 54%, sendo o ingrediente ativo com melhor eficiência no ano safra 20/21 (GODOY *et al.*, 2021). O seu uso vem sendo intenso, sendo utilizado em mistura desde a sua introdução no mercado em 2010 (GODOY *et al.*, 2016). Trabalhos demonstram a existência de resistência cruzada negativa entre tebuconazol e protioconazol, com populações apresentando maior sensibilidade ao fungicida protioconazol (XAVIER *et al.*, 2015). Em alguns casos, a resistência cruzada pode ser parcial, nesse caso a resistência a um produto não implica de maneira expressiva na sensibilidade de outro (GHINI; KIMATI, 2000), mesmo os dois pertencendo aos DMIs, o protioconazol é do grupo das triazolinonas e a ocorrência da resistência cruzada pode ser parcial.

Parcelas submetidas a aplicações de azoxistrobina a campo na safra 20/21 tiveram baixo controle no ensaio (16,6%), inferior aos ensaios em rede (28%) (GODOY *et al.*, 2021), sendo a baixa eficiência a campo explicada pela grande ocorrência de indivíduos com presença de mutação F129L que confere resistência para o grupo dos IQes (MÜLLER; STAMMLER; MAY DE MIO, 2021; CLAUS; SIMÕES; MAY DE MIO, 2022) com ocorrência de mutação em 100% dos isolados avaliados na safra 17/18 (CLAUS, SIMÕES, MAY DE MIO, 2022), o que resulta em redução de controle observada. O fato de as populações em estudo terem recebido aplicações sequenciais dos produtos, faz com que, em caso de baixo controle do fungicida, ocorra seleção cada vez maior de indivíduos resistentes.

A presença de mutações múltiplas que conferem resistência aos grupos químicos dos IDMs e IQes foi relatada em populações monouredinais (KLOSOWSKI *et al.*, 2018; MÜLLER; STAMMLER; MAY DE MIO, 2021). As populações em estudo receberam aplicações de um ingrediente ativo com baixa eficiência pertencente ao grupo dos IQes, considerando que as aplicações não foram capazes de controlar o patógeno de maneira eficiente, possivelmente a população estudada manteve uma elevada quantidade de indivíduos resistentes que carregam consigo a mutação para IDMs, fazendo com que populações que receberam aplicações de azoxistrobina a campo apresentassem baixa sensibilidade ao tebuconazol em laboratório.

No estudo desenvolvido por Müller (2019) foi identificada a presença das mutações F120L+Y131H que confere resistência aos IDMs, em isolados submetidos a aplicações consecutivas com os fungicidas dos grupos IQes e ISDHs em mistura a campo. Mais estudos são necessários para elucidar esses fenômenos e entender a relação entre a utilização de outros grupos químicos e a sensibilidade a IDMs, sendo sugeridas análises genotípicas para compreender quais as mutações presentes em cada população e correlacionar com os resultados obtidos.

## 5 CONCLUSÕES

Aplicações sequenciais do fungicida multissítio clorotalonil a campo são capazes de reduzir a seleção e aumentar a sensibilidade de populações de *P. pachyrhizi* e aplicações sequenciais dos fungicidas sítio-específico tebuconazol ou azoxistrobina reduzem a sensibilidade do patógeno à tebuconazol dentro de um ciclo de cultivo. Outros estudos são necessários para compreender qual a relação entre a utilização de azoxistrobina e a redução da sensibilidade a tebuconazol.

## 6 REFERÊNCIAS

CLAUS, A.; SIMÕES, K.; MAY DE MIO, L. L. *SdhC-I86F* mutation in *Phakopsora pachyrhizi* is stable and can be related to fitness penalties. **Phytopathology**, p. 1-48, 2022. doi:10.1094/PHYTO-10-21-0419-R

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Brasília: CONAB, 2022. (Boletim da Safra 2021, 9). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>. Acesso em: 26/05/2022.

DALLA LANA, F.; ZIEGELMANN, P. K.; MAIA, A. H. N.; GODOY, C. V.; Del Ponte, E. M. Meta-analysis of the relationship between crop yield and soybean rust severity. **Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 307-315, 2015.

FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. **Importance of multisite fungicides in managing pathogen resistance**. Basel, Switzerland: FRAC, 2018. Disponível em: <https://www.frac.info/>. Acesso em: 12/05/2022.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

GODOY, C. V. Risk and management of fungicide resistance in the Asian soybean rust fungus *Phakopsora pachyrhizi*. In: THIND, T. S. **Fungicide resistance in crop protection: risk and management**. New Delhi, India: CABI Book, 2012. p. 87-95.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 63-68, 2006.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B. *et al.* **Eficiência de fungicidas multissítios e fertilizantes no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 7 p. (Circular técnica, 113).

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016. doi:10.1590/S0100-204X2016000500002

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M. **Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 39 p. (Documentos, 428).

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. de O. N.; MUHL, A. *et al.* **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2020/2021: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2021. 25 p. (Circular técnica, 174).

KARAOGLANIDIS, G. S.; THANASSOULOPOULOS, C. C<sup>†</sup>; IOANNIDIS, P. M. Fitness of *Cercospora beticola* field isolates—resistant and—sensitive to demethylation inhibitor fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 3, p. 337-347, 2001.

KLOSOWSKI, A. C.; MAY DE MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1211-1215, 2016a. doi:10.1002/ps.4099

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

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

LANGENBACH, C.; CAMPE, R.; BEYER, S. F.; MUELLER, A. N.; CONRATH, U. Fighting Asian soybean rust. **Frontiers in Plant Science**, v. 7., 2016. doi:10.3389/fpls.2016.00797

MIKABERIDZE, A.; McDONALD, B. A. Fitness cost of resistance: impact on management. In: ISHII, H.; HOLOMON, D. (eds.). **Fungicide resistance in plant pathogens**. Tokyo: Springer, 2015. p. 77-89. doi:10.1007/978-4-431-55642-8\_1

MÜLLER, M. A. **Resistência múltipla, seleção a campo e estabilidade das mutações em isolados de *Phakopsora pachyrhizi* aos fungicidas IDM, IQe e ISDH**. 2019. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2019.

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

PEREIRA, W. V.; MORALES, R. G. F.; BAUER, A. I. G.; KUDLAWIEC, K.; MAY DE MIO, L. L. Discontinuance of tebuconazole in the field restores sensitivity of *Monilinia fructicola* in stone fruit orchards. **Plant Pathology**, v. 69, n. 1, p. 68-76, 2020. doi:10.1111/ppa.13101

PONCE, R. B. O.; ZAMBOLIM, L.; FORTUNATO, A. A.; QUEIROZ, L. F. de. High risk fungicides combined to low risk can be a new strategy for management of Asian soybean rust at the beginning of the epidemic. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 1, 2019. doi:10.5539/jas.v11n1p149

PRIMIÃO, I. V.; AMORIM, L. Comparative study on the monocycle of *Phakopsora meliosmae-myrianthae* and *Phakopsora pachyrhizi*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, p. 151-162, 2020. doi:10.1007/s10658-020-01995-x

REIS, E. M.; ZANATTA, M.; REIS, A. C. Addition of mancozeb to DMI + QoI, and SDHI + QoI co-formulations improving control of Asian soybean rust. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, n. 1, 2021. doi:10.5539/jas.v13n1p195

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378-388, 2014. doi:10.1002/ps.3562

SILVA, L. H. C. P. da; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 1, p. 64-67, 2015. doi:10.1590/0100-5405/1957

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural production**. Washington, DC: USDA, 2022. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production>. Acesso em: 25/05/2022.

XAVIER, S. A.; KOGA, L. J.; BARROS, D. C. M.; CANTERI, M. G.; LOPES, I. de O. N.; GODOY, C. V. Variação da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da desmetilação no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 191-196, 2015. doi:10.1590/0100-5405/2068

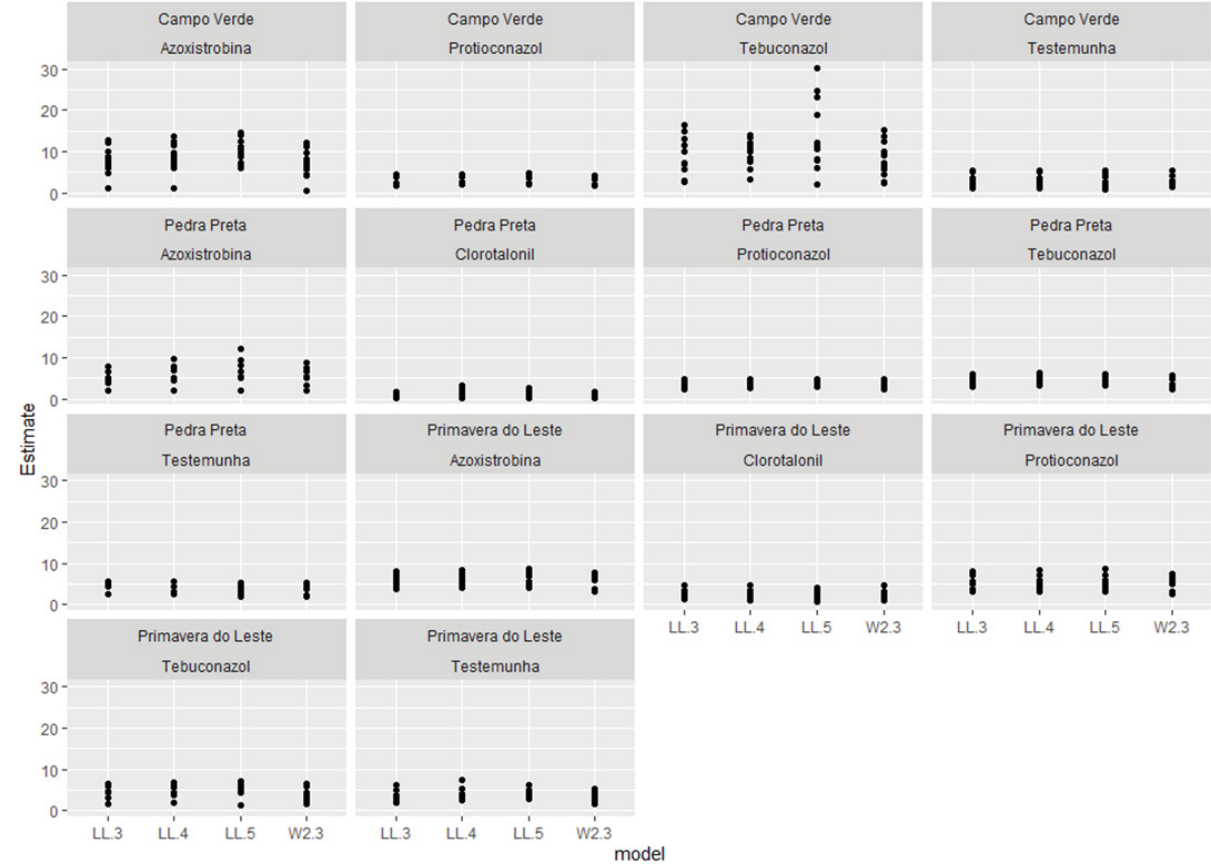
## 7 ANEXO – Tabelas e figuras

TABELA 4 – Populações de *Phakopsora pachyrhizi* utilizados para avaliação das características fenotípicas, obtidos de diferentes tratamentos a campo, em três cidades distintas no estado de Mato Grosso

| Isolado | Origem         | Manejo campo   | Sensibilidade tebuconazol |
|---------|----------------|----------------|---------------------------|
| 1       | Campo Verde    | Sem fungicida  | x                         |
| 2       | Campo Verde    | Tebuconazol    | x                         |
| 3       | Campo Verde    | Ciproconazol   |                           |
| 4       | Campo Verde    | Tetraconazol   |                           |
| 5       | Campo Verde    | Protioconazol  | x                         |
| 6       | Campo Verde    | Azoxistrobina  | x                         |
| 7       | Campo Verde    | Picoxistrobina |                           |
| 8       | Pedra Preta    | Sem fungicida  | x                         |
| 9       | Pedra Preta    | Tebuconazol    | x                         |
| 10      | Pedra Preta    | Ciproconazol   |                           |
| 11      | Pedra Preta    | Tetraconazol   |                           |
| 12      | Pedra Preta    | Protioconazol  | x                         |
| 13      | Pedra Preta    | Azoxistrobina  | x                         |
| 14      | Pedra Preta    | Picoxistrobina |                           |
| 15      | Pedra Preta    | Clorotalonil   | x                         |
| 16      | Prim. do Leste | Sem fungicida  | x                         |
| 17      | Prim. do Leste | Tebuconazol    | x                         |
| 18      | Prim. do Leste | Ciproconazol   |                           |
| 19      | Prim. do Leste | Tetraconazol   |                           |
| 20      | Prim. do Leste | Protioconazol  | x                         |
| 21      | Prim. do Leste | Azoxistrobina  | x                         |
| 22      | Prim. do Leste | Picoxistrobina |                           |
| 23      | Prim. do Leste | Clorotalonil   | x                         |

FONTE: Autora (2022)

FIGURA 8– Seleção de modelos estatísticos para cálculo da CE<sub>50</sub> de cada tratamento baseado nos critérios de AIC associado as respostas biológicas obtidas nos ensaios



FONTE: Autora (2022)

## CAPÍTULO 2 – GLUFOSINATO *IN VITRO*, A CAMPO E SOBRE EXPRESSÃO DE SINTOMAS DE MOFO BRANCO (*Sclerotinia sclerotiorum*) EM CULTIVARES DE SOJA COM RESISTÊNCIA AO HERBICIDA

**Resumo:** O mofo-branco, causado pelo fungo *S. sclerotiorum*, é uma doença agressiva que incide na cultura da soja e se destaca pela dificuldade de controle. A adoção de práticas culturais, o uso de fungicidas, e o manejo integrado com rotação de culturas e associação de produtos biológico são medidas de controle empregadas na redução do inóculo e dos prejuízos causados pela doença. Além de práticas para controle de doenças, outros manejos são realizados visando o bom desempenho da cultura, entre eles, o uso de herbicidas no controle de plantas daninhas. Algumas evidências apontam que essas moléculas possuem efeito direto e indireto em estruturas de sobrevivência e no desenvolvimento de doenças, que não são bem elucidados. Este trabalho teve como objetivos: avaliar o efeito de herbicidas sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum in vitro* e após dessecação de plantas com infecção natural a campo e, quantificar o desenvolvimento de mofo branco em plantas de soja tolerantes a glufosinato de amônio após aplicação do herbicida. Para avaliar a germinação carpogênica *in vitro*, escleródios foram submetidos a doses comerciais de diferentes herbicidas e fungicida pulverizadas sobre os escleródios com auxílio de borrifador e posterior incubação em areia saturada, mantida a 18°C e fotoperíodo de 12 horas. No ensaio à campo, plantas com ocorrência de mofo branco foram dessecadas com os herbicidas glufosinato de amônio e paraquate e, os escleródios coletados após a dessecação incubados. As avaliações foram realizadas através da contagem do número de apotécios por escleródio 65 dias após a incubação. O ensaio com cultivares glufosinato-tolerantes foi conduzido em casa de vegetação, as plantas foram submetidas à aplicação do herbicida glufosinato de amônio nos estádios fenológicos V3-V4 e R1. Após aplicação foliar do herbicida, no estágio R1, plantas foram inoculadas na haste do terceiro trifólio através do método da ponteira, utilizando disco de BDA contendo micélio do fungo; folhas do terceiro trifólio foram destacadas da planta, inoculadas com discos de micélio e incubadas em caixa do tipo Gerbox. As avaliações foram realizadas medindo-se o tamanho de lesão (mm) em hastes e severidade em folhas com auxílio de escala diagramática. O herbicida glufosinato de amônio apresentou potencial na redução da germinação carpogênica, com menor número de apotécios *in vitro*, 97% dos escleródios tratados não emitiram estipes. Os demais tratamentos não afetaram a germinação carpogênica. A campo, nenhum dos tratamentos apresentou potencial na redução da germinação carpogênica. Aplicações de glufosinato em plantas tolerantes ao herbicida reduziram a lesão em haste quando realizadas em R1 (planta inteira), com controle de 39% e reduziram a severidade de mofo branco em folhas ao serem realizadas no estágio V4 (terço inferior) com controle de 83%. Os resultados obtidos podem estar associados a ação direta do produto ou efeitos indiretos, outros estudos são necessários para aprofundar mecanismos de ação de acordo com os resultados obtidos neste trabalho.

Palavras-chave: Manejo, Sistema de produção, Conkesta E3, Glufosinato de amônio

**Abstract:** White mold, caused by the fungus *S. sclerotiorum*, is an aggressive disease that affects the soybean crop and stands out due to the difficulty of control. The adoption of cultural practices, the use of fungicides, and the integrated management with crop rotation and association of biological products are control measures used to reduce the inoculum and the damage caused by the disease. In addition to practices for disease control, other managements are performed aiming the good performance of the crop, among them, the use of herbicides to control weeds. Some evidence indicates that these molecules have direct and indirect effects on survival structures and disease development, which are not well elucidated. This work aimed to evaluate the effect of herbicides on the carpogenic germination of *S. sclerotiorum* sclerotia in vitro and after desiccation of plants with natural infection in the field, and to quantify the development of white mold in soybean plants tolerant to glufosinate ammonium after herbicide application. To evaluate in vitro carpogenic germination, sclerotia were submitted to commercial doses of different herbicides and fungicide sprayed on the sclerotia using a sprayer and subsequent incubation in saturated sand, maintained at 18°C and a 12-hour photoperiod. In the field trial, plants with white mold occurrence were desiccated with the herbicides glufosinate ammonium and paraquat, and the sclerotia collected after desiccation were incubated. Evaluations were performed by counting the number of apothecia per sclerotium 65 days after incubation. The trial with glufosinate-tolerant cultivars was conducted in a greenhouse, the plants were submitted to the application of the herbicide glufosinate ammonium in the phenological stages V3-V4 and R1. After foliar application of the herbicide, in the R1 stage, plants were inoculated in the stem of the third trefoil by the tip method, using PDA discs containing mycelium of the fungus; leaves of the third trefoil were detached from the plant, inoculated with mycelium discs, and incubated in a Gerbox box. Evaluations were made by measuring lesion size (mm) on stems and severity on leaves using a diagrammatic scale. The herbicide glufosinate ammonium showed potential in reducing carpogenic germination, with lower number of apothecia in vitro, 97% of treated sclerotia did not emit stipes. The other treatments did not affect carpogenic germination. In the field, none of the treatments showed potential in reducing carpogenic germination. Applications of glufosinate in herbicide tolerant plants reduced stem lesion when performed at R1 (whole plant), with 39% control and reduced white mold severity on leaves when performed at V4 stage (lower third) with 83% control. The results obtained may be associated with the direct action of the product or indirect effects. Further studies are necessary to investigate the mechanisms of action according to the results obtained in this work.

**Keywords:** Management, Production system, Conkesta E3, Ammonium glufosinate

## 1 INTRODUÇÃO

A soja possui relevância no cultivo mundial de grãos, sendo uma das culturas mais plantadas, com 130 milhões de hectares cultivados no mundo. O Brasil é atualmente o maior produtor mundial do grão, superando os Estados Unidos, com uma área cultivada de 40,8 milhões de hectares na safra 21/22 e uma produção de 125 milhões de toneladas (USDA, 2022). No Brasil, os estados do Mato Grosso, Rio

Grande do Sul e Paraná apresentam maior área cultivada e maior produção nacional, sendo a Bahia o estado com maior produtividade do país, com 4.020 kg/ha (CONAB, 2022).

A produtividade da cultura está associada a vários fatores, entre eles ao controle de pragas, doenças e plantas daninhas. Estima-se que a ausência de controle de plantas daninhas na cultura da soja seja responsável por 52% de perdas de produtividade (SOLTANI *et al.*, 2017), sendo as perdas por doenças estimadas para a cultura em 12,6% na safra 2014 (ALLEN *et al.*, 2017).

O controle de plantas daninhas pode ser realizado por vários métodos, sendo a utilização de herbicidas um método amplamente utilizado (DUKE; DAYAN, 2018). Entre os agrotóxicos comercializados no mundo, os herbicidas representam cerca de 60% desse mercado, sendo o glifosato o herbicida mais comercializado e utilizado (CASIDA; BRYANT, 2017). Com os casos emergentes de plantas daninhas resistentes nos últimos anos, o glufosinato tem surgido como alternativa de controle (TAKANO *et al.*, 2020). Além desse, outros herbicidas como diquat, flumioxazin e saflufenacil têm sido utilizados na dessecação da cultura da soja em substituição ao paraquat que foi banido recentemente do mercado brasileiro.

Para o controle de doenças, a utilização de fungicidas é um método amplamente adotado e práticas de manejo integrado são recomendadas. O mofo branco causado pelo patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, é responsável por perdas médias de 136 kg/ha de soja a cada 10% de severidade da doença (DANIELSON; NELSON; HELMS, 2004). Medidas integradas de controle como utilização de cultivares com tolerância a doença, rotação de cultura, controle químico e biológico são práticas preconizadas para o controle do mofo branco (PELTIER *et al.*, 2012), práticas que visam a redução de inóculo na área, bem como a proteção da planta. Além desses manejos, a utilização de herbicidas pode influenciar a dinâmica populacional de patógenos.

Além do controle de plantas daninhas e dessecação proporcionado pelos herbicidas, efeitos diretos e indiretos sobre microrganismos são relatados na literatura como, controle *in vitro* de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia homoeocarpa* proporcionado por glufosinato (LIU *et al.*, 1998), redução da infecção de *R. solani* e *S. homoeocarpa* em grama rasteira tolerante a glufosinato (WANG *et al.*, 2003), ação antibacteriana de glufosinato para controle de *Pseudomonas syringae* (pv.) *glycinea* em soja (PLINE *et*

*al.*, 2001) e má formação de apotécios em escleródios de *S. sclerotiorum* tratados com atrazina *in vitro* (HUANG; BLACKSHAW, 1995).

Escleródios são uma importante fonte de inóculo primário para a incidência de mofo branco no campo e seu controle tem sido alvo de muitas pesquisas. Na cultura da soja, são utilizados herbicidas para o controle de plantas daninhas e dessecação da cultura no final do ciclo. A exposição de escleródios de *S. sclerotiorum* à diferentes herbicidas, pode gerar alterações na germinação carpogênica e eventualmente, ter impacto no controle da doença. Recentemente, o herbicida glufosinato vem sendo incorporado ao manejo da soja em decorrência de cultivares com resistência a esse herbicida e, os efeitos diretos e indiretos sobre a doença mofo branco nessas cultivares tolerantes ainda não são conhecidos. A hipótese desse trabalho é de que o herbicida glufosinato de amônio possui ação na germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* e no desenvolvimento de mofo branco na cultura de soja tolerante ao herbicida.

Diante do exposto, os objetivos desse estudo são i) Verificar o efeito de herbicidas sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* submetidos a doses comerciais de herbicidas *in vitro*; ii) Avaliar a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* obtidos de plantas com infecção natural, previamente submetidas a dessecação com herbicidas a campo; iii) Quantificar o desenvolvimento de lesões causadas por *S. sclerotiorum* em plantas de soja com tecnologia Conkesta e Enlist E3®, sob o efeito de glufosinato.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *S. Sclerotiorum* SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE HERBICIDAS – *IN VITRO*

#### 2.1.1 Produção de escleródios

Os escleródios utilizados no ensaio foram produzidos *in vitro*. Para produção dos escleródios foi seguida a metodologia adaptada de Garcia e Juliatti (2012). Sementes de aveia e perlita foram colocadas em frascos de vidro do tipo Erlenmeyer, adicionado 100 ml de água, fechado com papel pardo e autoclavado duas vezes por 60 minutos a 120°C, com intervalo de 24 horas entre as autoclavagens. Após

autoclavados os frascos foram deixados descansar por 24 horas e então inoculados utilizando isolado de *S. sclerotiorum* obtido de planta de soja sintomática. O isolado foi depositado em meio Batata dextrose Agar (BDA) e deixado crescer por 5 dias, posteriormente o meio de cultura contendo micélio foi cortado em quadrados de 0,5 cm<sup>2</sup> e depositado em frascos de vidro contendo aveia e perlita.

Após inoculados, os frascos foram mantidos em temperatura ambiente e agitados manualmente em intervalos de dois dias, para homogeneização do crescimento micelial. Após 30 dias de incubação ocorreu o pleno desenvolvimento do fungo e formação das estruturas de resistência. O material foi espalhado em uma bandeja para secagem, e após seco, as estruturas foram coletadas e separadas, buscando padronizar o tamanho dos escleródios utilizados para montagem do ensaio, que variaram entre 3 e 6 mm de diâmetro.

#### 2.1.2 Tratamento e incubação dos escleródios

Foram montados dois ensaios: no primeiro ensaio foram utilizadas caixas do tipo Gerbox, as quais foram preenchidas de areia autoclavada até metade de seu volume. Os escleródios foram dispostos nas caixas de maneira equidistantes, sendo utilizados 40 escleródios por caixa e quatro repetições por tratamento, totalizando 160 escleródios. Nessas condições foi verificada dificuldade para emissão do disco nos estipes em decorrência da baixa luminosidade incidente. Para o segundo ensaio, foram utilizadas placas de vidro do tipo Pyrex preenchidas com areia autoclavada até metade do seu volume. Foram dispostos 15 escleródios de forma equidistante em placas de Petri, sendo 8 placas por tratamento, totalizando 120 escleródios.

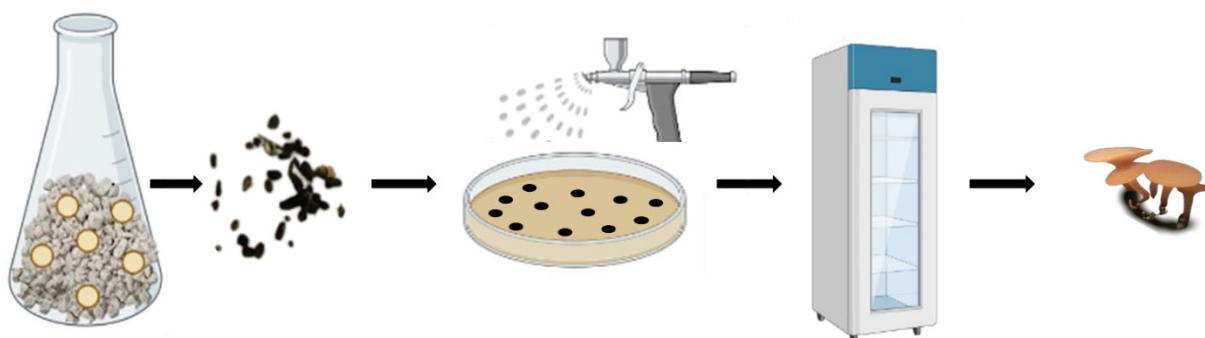
Os produtos utilizados no tratamento dos escleródios foram diluídos em água, simulando calda de pulverização, conforme sua dose comercial recomendada para a dessecação da cultura da soja no caso dos herbicidas e para controle de mofo branco no caso do fungicida, sendo: Glufosinato (Finale - 2,0 L/ha p.c); Flumioxazin (120 mL/ha p.c); Saflufenacil (Heat - 0,14 kg/ha p.c); Paraquat (Gramoxone - 2,0 L/ha p.c); Diquat (Reglone - 2,0 L/ha p.c); Glifosato (Roundup - 1,3 L/ha p.c) e Fluazinam (Signal - 1,0 L/ha p.c). Após a realização da calda, essa foi pulverizada sobre os escleródios com auxílio de um borrifador, buscando simular uma aplicação a campo. Após a secagem da calda (30 min após aplicação), a areia foi saturada com água destilada, a qual era repostada a cada 3 dias. As placas e Gerbox foram dispostos em incubadora

do tipo Conviron na temperatura de 18°C e fotoperíodo de 12 horas, visando condições adequadas para indução de germinação carpogênica e formação de apotécios (Figura 9).

### 2.1.3 Avaliações e análises estatísticas

Após 29 dias de incubação as avaliações foram realizadas a cada 10 dias até estabilização do número de apotécios que ocorreu aos 72 dias para o ensaio 1 e 69 dias para o ensaio 2. Sendo contado o número de apotécios formados por escleródio, onde, era considerado formado apotécios que apresentavam a lâmina. Para as análises foram utilizados dados de número médio de apotécios germinados na última avaliação, sendo os dados submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ), no programa estatístico R (versão 4.1.1). Para atender os pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, os dados foram somados a uma constante (0,5) e transformados utilizando  $\log_{10}(x)$ .

FIGURA 9 – Metodologia de avaliação da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* submetidos a tratamentos *in vitro*



Fonte: AUTORA (2022)

## 2.2 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *S. sclerotiorum* OBTIDOS DE PLANTAS COM INFECÇÃO NATURAL E TRATADOS COM HERBICIDAS A CAMPO

### 2.2.1 Área experimental e tratamentos

O ensaio foi implantado em área com ocorrência natural de *S. sclerotiorum* em plantas de soja na safra 20/21. Foi utilizada a cultivar TMG 7363, que recebeu o

manejo padrão produtor, com três aplicações de fungicida (1. clorotalonil + metominostrobin + tebuconazol; 2. metominostrobin + tebuconazol; 3. trifloxistrobin + ciproconazol). A área escolhida apresentava ocorrência homogênea de sintomas de mofo branco nas plantas de soja na fase do florescimento. O ensaio foi delineado com parcelas contendo 4 metros de comprimento e 2,7 metros de largura, com 6 linhas de 0,45 m de espaçamento, com área de parcela de 10,8 m<sup>2</sup>. Os ensaios foram demarcados próximo a fase final do ciclo da cultura.

O ensaio foi composto pelos tratamentos glufosinato - 2,0 L/ha p.c (Finale, Basf), paraquat - 2,0 L/ha p.c (Gramoxone, Syngenta) e testemunha (sem aplicação de dessecante), sendo os tratamentos realizados no estágio fenológico R7, início da maturação.

Para as aplicações foi utilizado pulverizador pressurizado com CO<sub>2</sub>, com barra de pulverização de um metro, contendo quatro bicos do tipo leque (11002-BD, Magnojet) distribuídos a 0,5 m e pressão 2,3 kgf/cm<sup>2</sup>, e volume de calda de 200 L/há, sendo as aplicações realizadas nas 4 linhas centrais de cada parcela. Após a aplicação dos tratamentos, as plantas permaneceram no campo por 6 dias, até queda completa das folhas e apresentarem condições de colheita. Foi realizada então a coleta dos escleródios. Para isso, foram selecionadas 10 plantas por parcela, sendo essas, retiradas na área interna da parcela, descartando 0,5 m de cada extremidade. Foram coletados de 15-20 escleródios presentes na parte externa da planta, aderidos a haste. O ensaio foi conduzido em duplicata dentro da mesma safra.

Os escleródios coletados foram levados para o laboratório e acondicionados em placas de Petri contendo areia autoclavada. Após acondicionados nas placas a areia foi saturada com água destilada esterilizada e os escleródios incubados em câmara de crescimento do tipo Conviron® a 18°C e fotoperíodo de 12 horas, visando condições adequadas para a indução da germinação carpogênica (Figura 10).

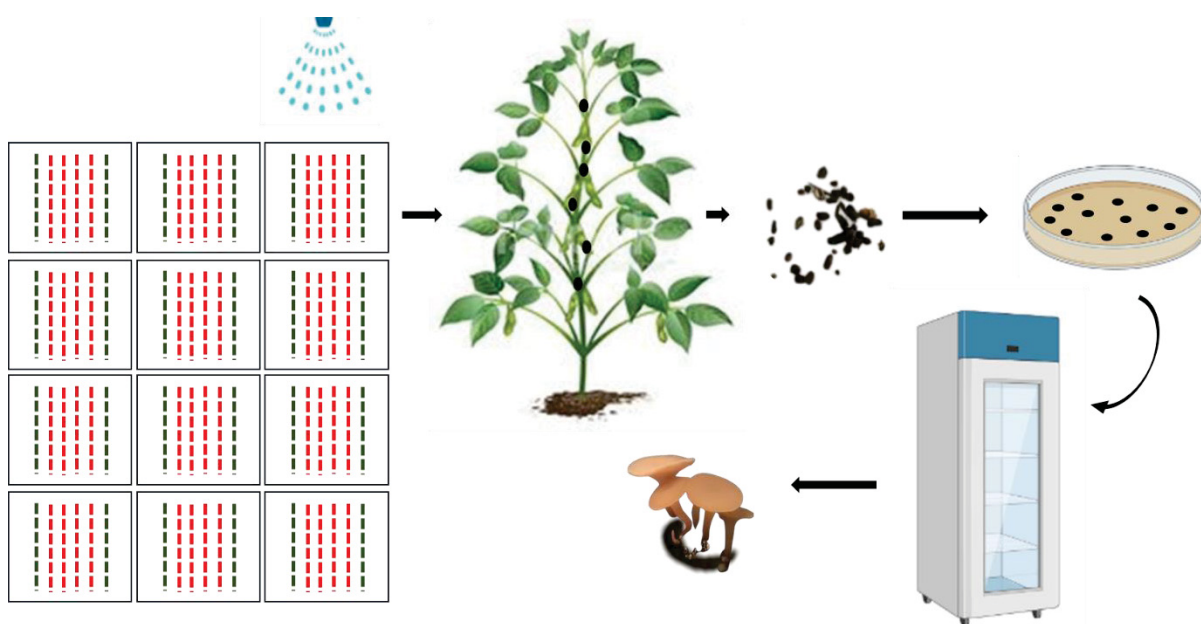
O ensaio de campo seguiu o delineamento de blocos casualizados, com 3 tratamentos e 4 repetições e a incubação dos escleródios foi realizada em delineamento inteiramente casualizado.

### 2.2.2 Avaliações e análises estatísticas

Após 30 dias de incubação as avaliações foram realizadas a cada 10 dias, até estabilização na emissão de apotécios que ocorreu aos 63 dias. Sendo contado o

número de apotécios formados por escleródio, onde, era considerado formado apotécios que apresentavam a lâmina. Para as análises foram utilizados dados de número de apotécios germinados na última avaliação dos dois ensaios, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ), no programa estatístico R (versão 4.1.1). Para atender os pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, os dados foram somados a uma constante (0,5) e transformados utilizando  $\log_{10}(x)$ .

FIGURA 10 - Metodologia de avaliação da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* obtidos de plantas de soja com infecção natural dessecadas a campo



Fonte: AUTORA (2022)

## 2.3 DESENVOLVIMENTO DE MOFO BRANCO EM CULTIVARES DE SOJA COM TECNOLOGIA ENLIST E CONKESTA

### 2.3.1 Plantio e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada (20 - 25°C) sob luminosidade natural, modelo Van der Hoeven®, situada no campus do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados vasos pretos de 10 litros cada, onde foi adicionado solo. Foram utilizadas duas cultivares de soja: B5560CE (soja Conkesta E3® da Brevant) e C2531E (soja Enlist E3® da Cordius). Os materiais foram semeados em vasos de 10 litros, mantendo duas plantas por vaso. As

plantas foram mantidas durante todo o ensaio dentro da estufa com irrigação por aspersão.

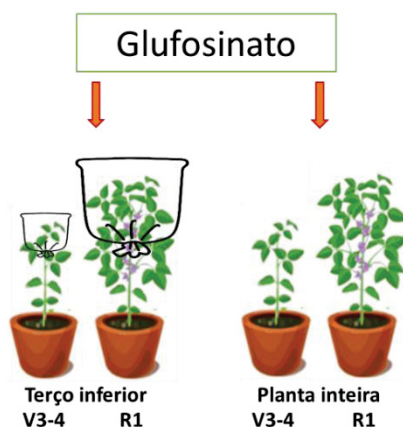
Os tratamentos foram constituídos de aplicações do herbicida glufosinato, realizadas nos estádios vegetativos V3/V4 (recomendação de bula) e reprodutivo R1 nas duas cultivares, sendo as aplicações realizadas em planta inteira ou apenas metade da planta (terço inferior) em cada uma das fases, seguindo a dose de campo recomendada para os produtos (Figura 11). Como tratamento controle, foi realizada aplicação do fungicida fluazinam no estágio fenológico R1. As aplicações foram realizadas utilizando pulverizador pressurizado com CO<sub>2</sub>, com volume de calda de 200 L/há, ponta do tipo leque (11002-BD, Magnojet) e pressão 2,3 kgf/cm<sup>2</sup>.

TABELA 5 – Tratamentos realizados em plantas de soja das cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®) em casa de vegetação em diferentes estádios de desenvolvimento das plantas e aplicação em planta inteira ou no terço inferior das plantas

| Tratamentos | Ingrediente ativo          | Estádio vegetativo | Aplicação      | Dose L p.c./há |
|-------------|----------------------------|--------------------|----------------|----------------|
| Glu V4      | Glufosinato (Finale, BASF) | V3/V4              | Planta inteira | 2,0            |
| Glu R1      | Glufosinato (Finale, BASF) | R1                 | Planta inteira | 2,0            |
| Glu V4*     | Glufosinato (Finale, BASF) | V3/V4              | Terço inferior | 2,0            |
| Glu R1*     | Glufosinato (Finale, BASF) | R1                 | Terço inferior | 2,0            |
| Fluazinam   | Fluazinam (Signal, FMC)    | R1                 | Planta inteira | 1,0            |
| Controle    | -                          | -                  | -              | -              |

Os tratamentos foram inoculados na fase R1, sendo os tratamentos Fluazinam, Glu R1 e Glu R1\* inoculados 24 horas após a aplicação, e os tratamentos Glu V4 e Glu V4\*, aproximadamente sete dias após a aplicação do produto, através do método da ponteira no pecíolo (GARCIA; JULIATTI, 2012).

FIGURA 11 - Metodologia de aplicação de glufosinato de amônio em plantas de soja tolerantes a glufosinato, realizado em diferentes estádios fenológicos e locais da planta



Fonte: AUTORA (2022)

### 2.3.2 Inoculação em plantas

Colônias do fungo foram obtidas através da deposição de discos de micélio provenientes do armazenamento em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). As placas contendo os discos foram incubadas em câmara de crescimento do tipo BOD a 22°C e fotoperíodo de 12 horas por 3 dias.

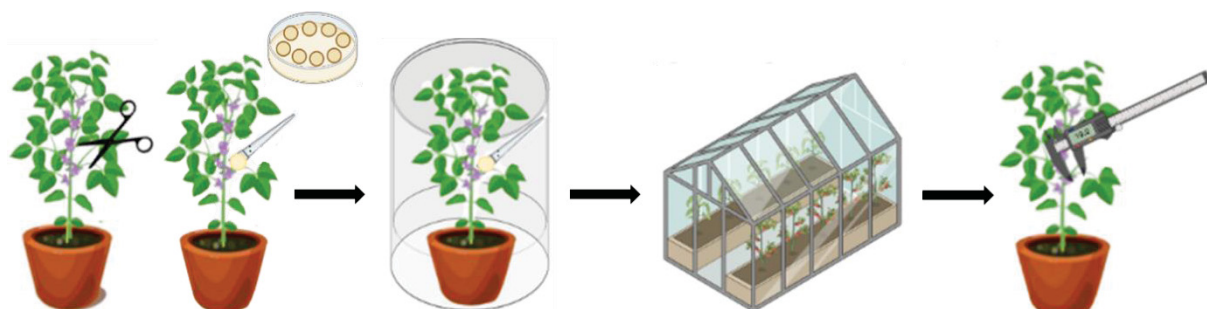
Para a inoculação, o pecíolo da terceira folha trifoliolada, foi cortado a aproximadamente 2 cm da haste principal, no estágio fenológico R1 das plantas, em seguida, foi realizada a deposição de um disco de BDA contendo micélio do fungo, de aproximadamente 6 mm de diâmetro sob a haste lesionada. Foram utilizadas ponteiros de micropipeta para corte do disco do micélio e auxílio na deposição deste no pecíolo da folha, de forma a manter a parte contendo o micélio em contato direto com o ferimento.

Após inoculação, as plantas foram acondicionadas em câmara úmida, dentro de sacos de polietileno, e mantidas por 24 horas em casa de vegetação.

As avaliações foram realizadas aos 3 e 7 dias após a inoculação (DAI), através da medida do comprimento da lesão realizado na haste e no pecíolo da planta com auxílio de um paquímetro digital. Para a análise foram utilizados os dados de lesão aos 7 DAI (Figura 12).

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um fatorial (6x2), com 6 tratamentos e 2 cultivares, onde cada tratamento era composto por 4 repetições, sendo cada repetição 2 plantas de soja por vaso, totalizando 8 unidades amostrais por tratamento e o ensaio foi conduzido em duplicata. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey

Figura 12 - Metodologia de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja tolerantes a glufosinato pelo método da ponteira



Fonte: AUTORA (2022)

( $\alpha=0,05$ ) de probabilidade no programa estatístico R (versão 4.1.1). Para atender os pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, os dados do ensaio 2 foram transformados, utilizando  $\text{Log}_{10}$  da lesão.

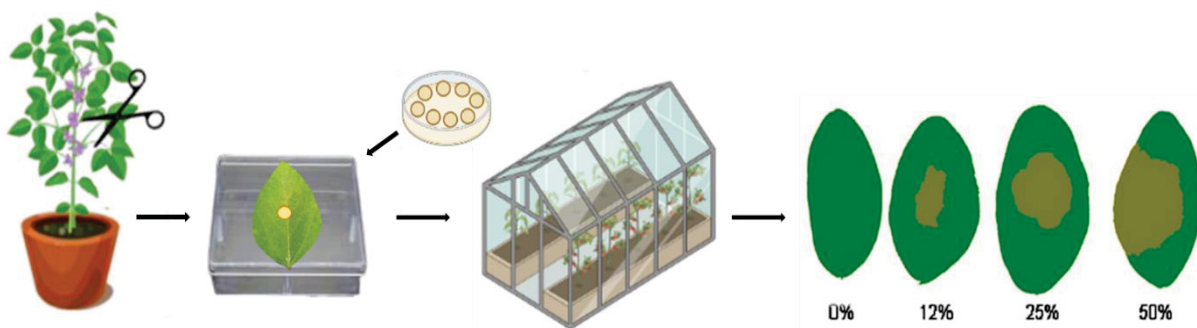
### 2.3.3 Inoculação em folhas

As folhas retiradas do terceiro trifólio foram separadas, cada uma das folhas foi então disposta em caixas do tipo Gerbox, sendo posteriormente inoculadas com a deposição de discos de micélio de colônias de *S. sclerotiorum* com 3 dias de idade no centro das folhas. As folhas foram aspergidas com água destilada esterilizada e incubadas em temperatura ambiente da casa de vegetação (Figura 13).

Aos 7 dias as folhas foram avaliadas quanto a presença de lesões e essas mensuradas por meio de escala diagramática desenvolvida por Garcia e Juliatti (2012).

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com um fatorial (6x2) sendo, 6 tratamentos e 2 cultivares com 4 repetições por tratamento, onde cada repetição era composta por uma folha e o ensaio foi conduzido em duplicata. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) de probabilidade no programa estatístico R (versão 4.1.1). Para atender os pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, os valores de severidade foram transformados utilizando  $\sqrt{x}$ .

FIGURA 13 - Metodologia de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas de soja tolerantes a glufosinato pelo método do disco de micélio



Fonte: AUTORA (2022)

### 2.3.4 Avaliação bioquímica: peróxido de hidrogênio

As plantas utilizadas nos ensaios foram quantificadas com relação a presença de peróxido de hidrogênio. O terceiro trifólio a partir da gema apical foi selecionado e deste, folhas foram coletadas em um momento no primeiro experimento: 72 horas após a inoculação e três momentos distintos no segundo experimento, sendo coletada uma folha em cada momento: 2 horas antes da inoculação, 14 horas após a aplicação dos produtos e 12 horas após a inoculação do patógeno. As folhas foram coletadas com auxílio de tesoura de poda, lavadas em água corrente, depositadas em folhas de papel alumínio e congeladas com auxílio de nitrogênio líquido. Logo após o congelamento, foram armazenadas a -20°C até o momento das análises.

Para as análises, 100 mg de folhas foram pesadas, em seguida maceradas em cadinho com auxílio de nitrogênio líquido e homogeneizadas com 1 ml de 0.1% TCA. O homogeneizado foi então centrifugado a 12.000 rpm por 15 min. Em microplacas, 75 µl do sobrenadante foi adicionado, juntamente com 75 µL de tampão de fosfato de potássio a 10 mM (pH 7,0). Posteriormente, no momento da leitura, 150 µl de Iodeto de potássio foi adicionado e a leitura realizada em espectrofotômetro a 390 nm.

Os valores obtidos foram comparados com a leitura da curva de peróxido de hidrogênio e a concentração calculada no tecido. Os dados de coleta de 72 horas após inoculação e 12 horas após a inoculação foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) de probabilidade no programa estatístico R (versão 4.1.1).

### 3 RESULTADOS

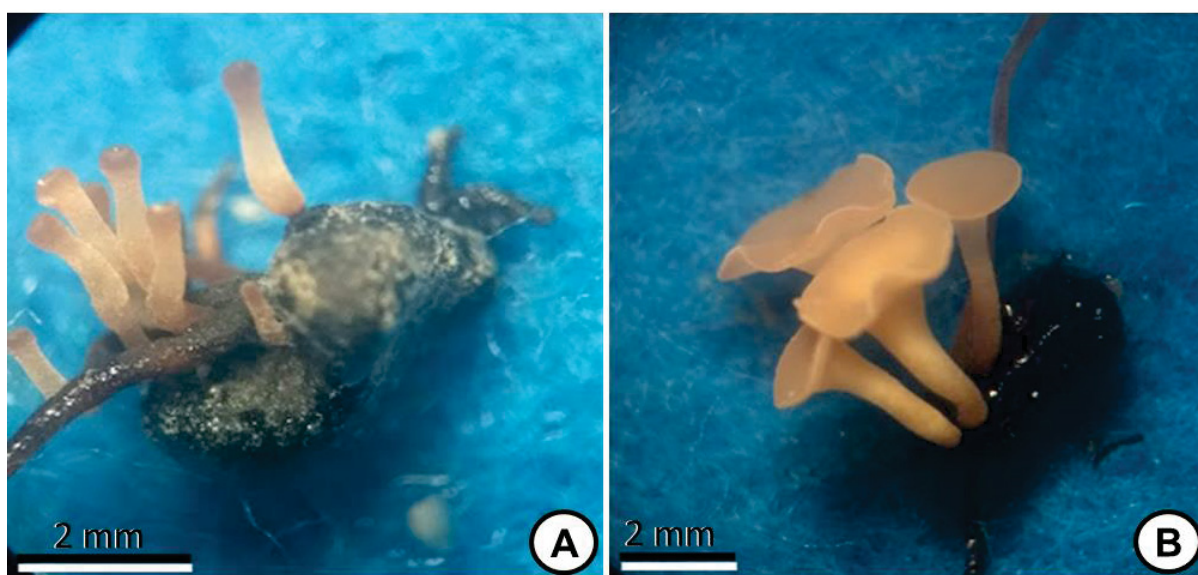
#### 3.1 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *S. sclerotiorum* SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE HERBICIDAS – *IN VITRO*

A germinação carpogênica em escleródios de *S. sclerotiorum* variou entre ensaios e tratamentos. Na média geral dos tratamentos, o primeiro ensaio apresentou 41% mais apotécios por escleródios que o segundo ensaio, sendo 2,24 e 1,31 apotécios por escleródios respectivamente.

O herbicida glufosinato foi o tratamento que proporcionou menor ocorrência de germinação carpogênica entre todos os herbicidas avaliados, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos nos dois ensaios. A aplicação do herbicida

proporcionou má formação devido ausência da emissão de discos e escurecimento dos estipes (Figura 6) ocasionando morte da estrutura, sendo que no primeiro ensaio apenas cinco escleródios apresentaram germinação carpogênica dentre os 160 escleródios avaliados e no segundo ensaio nenhum escleródio apresentou germinação carpogênica.

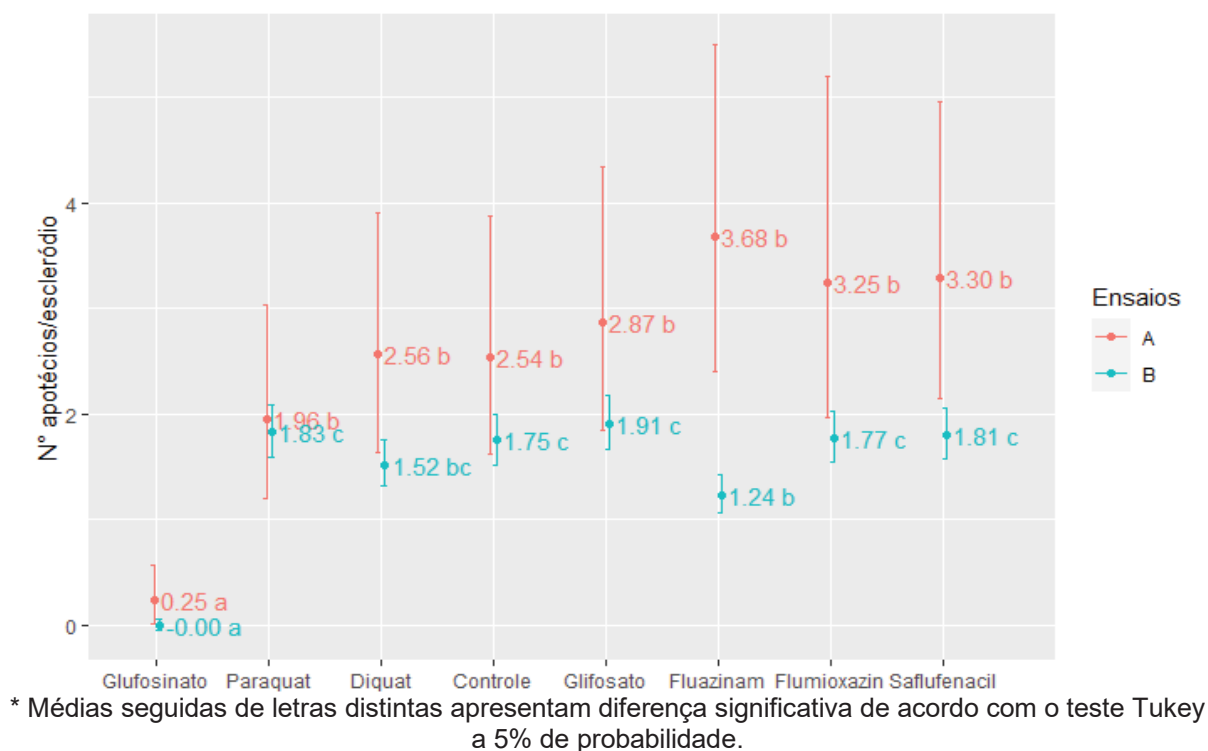
FIGURA 14 – Escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* após 65 dias de incubação. (A) Má formação de apotécios, ausência de disco após aplicação do herbicida glufosinato de amônio, (B) Formação de apotécios na testemunha



FONTE: Autora (2022)

Com relação aos outros herbicidas testados nenhum diferiu do tratamento controle, sendo que paraquate e diquate foram os herbicidas com menor número médio de estipes considerando os dois ensaios, sendo 1,83 e 1,96 estipes por escleródio respectivamente. O fungicida fluazinam teve desempenho superior ao controle no segundo ensaio, com 1,24 apotécios por escleródio, não diferindo do herbicida diquat ( $p < 0.05$ ) (Figura 7).

FIGURA 15 – Número de apotécios por escleródios submetidos a diferentes tratamentos com herbicidas e fungicida *in vitro* 65 dias após a aplicação dos produtos e incubação dos escleródios



FONTE: Autora (2022)

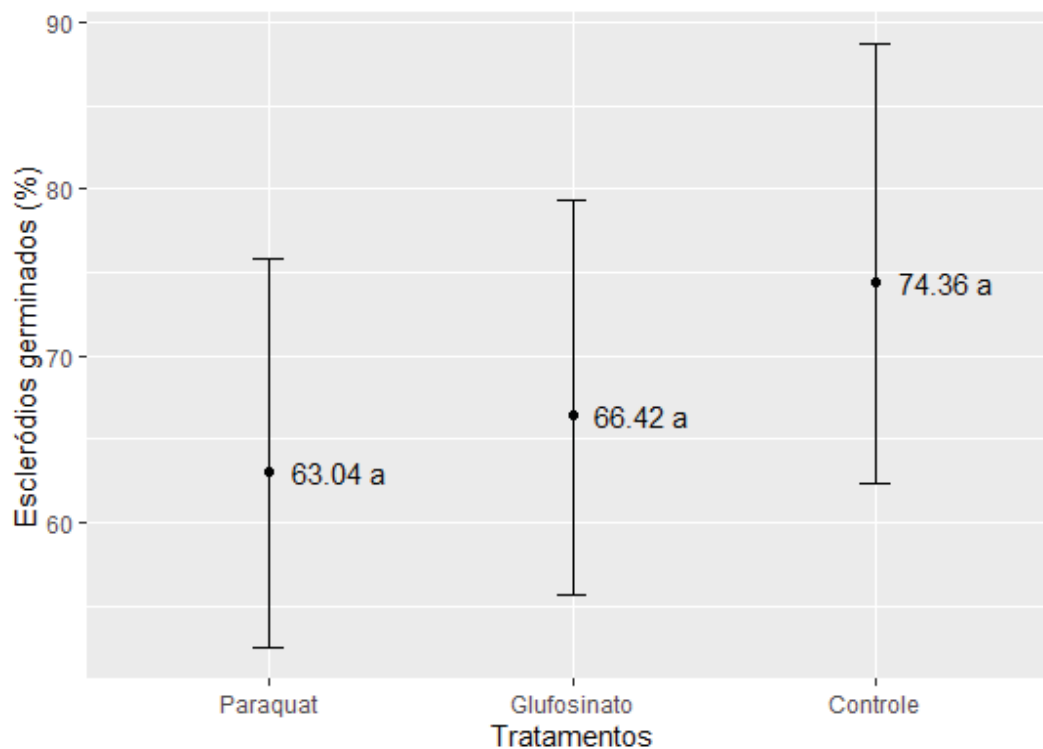
### 3.2 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA DE ESCLERÓDIOS DE *S. sclerotiorum* OBTIDOS DE PLANTAS COM INFECÇÃO NATURAL E TRATADOS COM HERBICIDAS A CAMPO

A aplicação dos herbicidas em plantas de soja resultou em rápida queda das folhas. No momento da aplicação a planta estava iniciando a fase de amarelecimento das folhas, 6 dias após a aplicação houve queda intensa de folhas das parcelas tratadas, momento que foi realizada a coleta dos escleródios (Figura 13). No momento da aplicação foi realizada avaliação visual da distribuição do produto na planta por meio de papel hidro sensível, sendo verificado boa distribuição na parte superior e inferior da planta (Figura 14).

Com relação aos tratamentos, não foi possível observar diferença no número médio de escleródios germinados e no número médio de apotécios por escleródio (Figuras 8 e 9), entre os produtos utilizados e o tratamento controle, sem aplicação de herbicida. Alguns escleródios de parcelas tratadas a campo apresentaram mal

desenvolvimento do disco com o produto paraquate e ausência de disco quando tratados com glufosinato (Figura 10).

FIGURA 16 – Número médio de apótecios germinados, em escleródios coletados de hastes de soja submetidas a aplicação a campo dos dessecantes paraquate, glufosinato e sem aplicação de dessecante (controle), incubados em laboratório

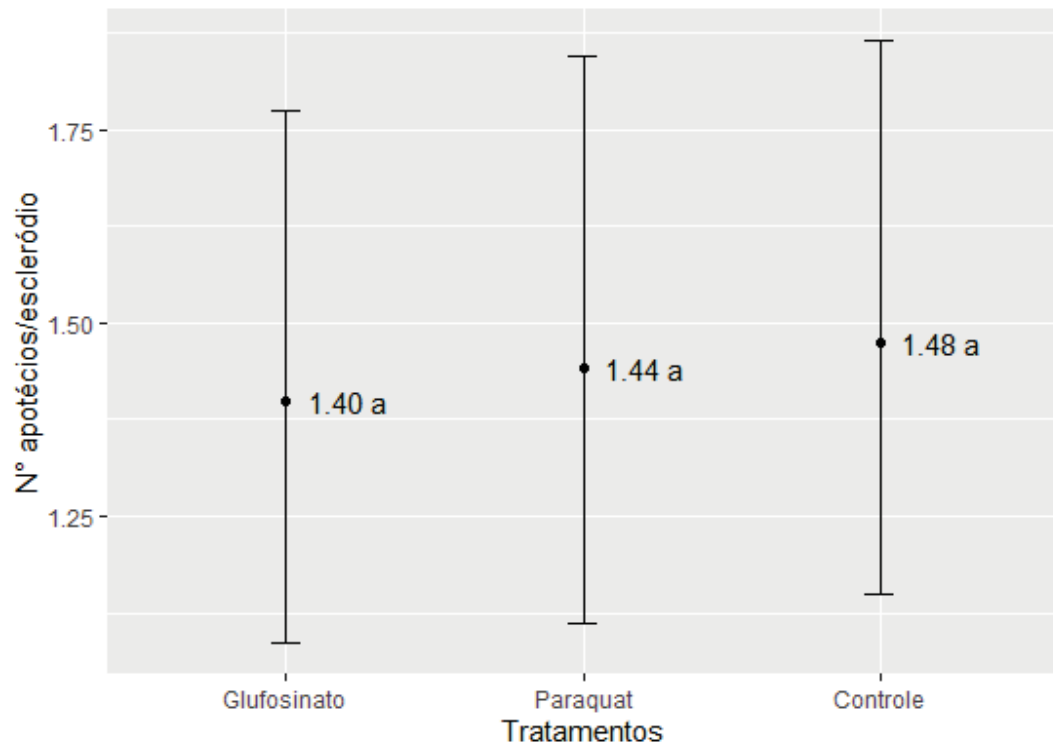


\* Médias não apresentam diferença significativa de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

\*O número total de escleródios avaliados variou entre 60 e 80 escleródios por tratamento

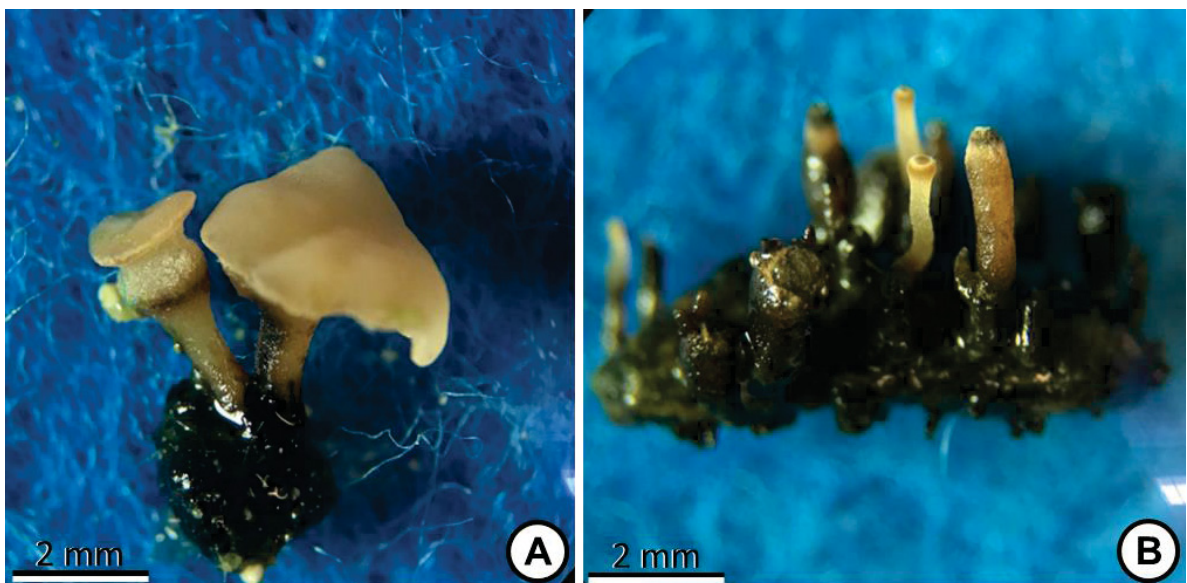
FONTE: Autora (2022)

FIGURA 17 – Porcentagem de escleródios germinados, coletados de plantas de soja previamente submetidas a aplicação a campo dos dessecantes paraquate, glufosinato e controle, sem aplicação de herbicida, incubados em laboratório



\* Médias não apresentam diferença significativa de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.  
FONTE: Autora (2022)

FIGURA 18 – Má formação do disco e ausência da presença de disco em escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* obtidos de plantas de soja dessecadas a campo com os herbicidas paraquate (A) e glufosinato de amônio (B)



FONTE: Autora (2022)

### 3.3 DESENVOLVIMENTO DE MOFO BRANCO EM CULTIVARES DE SOJA COM TECNOLOGIA ENLIST E CONKESTA

O desenvolvimento da doença variou em função das cultivares e tratamentos avaliados. A cultivar B5560CE apresentou o menor tamanho médio de lesão (52,3; 28,2 e 57,0 mm), aos 7 dias após a inoculação, em todos os ensaios avaliados, diferindo significativamente da cultivar C2531E no ensaio 1 e no ensaio 3. Com relação a severidade de mofo branco em folhas de soja inoculadas, não houve diferença significativa entre as cultivares avaliadas, não foi verificada interação entre cultivares e tratamentos em nenhum dos ensaios.

Os resultados variaram em função do local da planta avaliado. Considerando a lesão de mofo branco em haste de soja, o tratamento com glufosinato aplicado na fase R1 em planta inteira (Glufosinato R1), um dia antes da inoculação, apresentou a menor lesão média (43,9; 21,1 e 54,9 mm), diferindo significativamente do controle em todos os ensaios avaliados. O tamanho da lesão do tratamento Glufosinato R1, foi significativamente inferior ao tratamento com fungicida fluazinam no ensaio 1, e não diferiu nos ensaios 2 e 3.

TABELA 6 – Tamanho de lesão na haste da planta aos 7 dias após a inoculação (DAI), e severidade em folhas de soja nas cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®), tratadas e inoculadas com discos de micélio de *Sclerotinia sclerotiorum* pelo método da ponteira

| Cultivar | Haste            |          |          | Folha          |          |  |
|----------|------------------|----------|----------|----------------|----------|--|
|          | Lesão (mm) 7 DAI |          |          | Severidade (%) |          |  |
|          | Ensaio 1         | Ensaio 2 | Ensaio 3 | Ensaio 2       | Ensaio 3 |  |
| B5560CE  | 52,3 b           | 28,2 ns  | 57,0 b   | 33,0 ns        | 33,9 ns  |  |
| C2531E   | 63,7 a           | 33,7     | 87,6 a   | 31,8           | 28,5     |  |
| CV (%)   | 26,3             | 45,9     | 9,9      | 69,8           | 27,6     |  |

FONTE: Autora (2022)

No ensaio com folhas de soja, houve diferença na severidade de mofo branco entre tratamentos. O tratamento com glufosinato aplicado no terço inferior da planta no estágio fenológico V4 (Glufosinato V4\*) proporcionou menor severidade. As folhas inoculadas não receberam aplicação do produto e apresentaram redução da severidade da doença, com médias de 0,0 e 3,0% no primeiro e segundo ensaio respectivamente, sugerindo atividade sistêmica na planta, não diferindo do fungicida

fluazinam aplicado em R1 (Fluazinam), que apresentou severidade de 6,5 e 10,6%. Os demais tratamentos não diferiram do controle.

TABELA 7 – Tamanho de lesão na haste aos 7 dias após a inoculação (DAI), e severidade em folhas de cultivares de soja com tecnologia Conquista E3® e Enlist E3®, tolerantes a glufosinato de amônio, tratadas e inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*

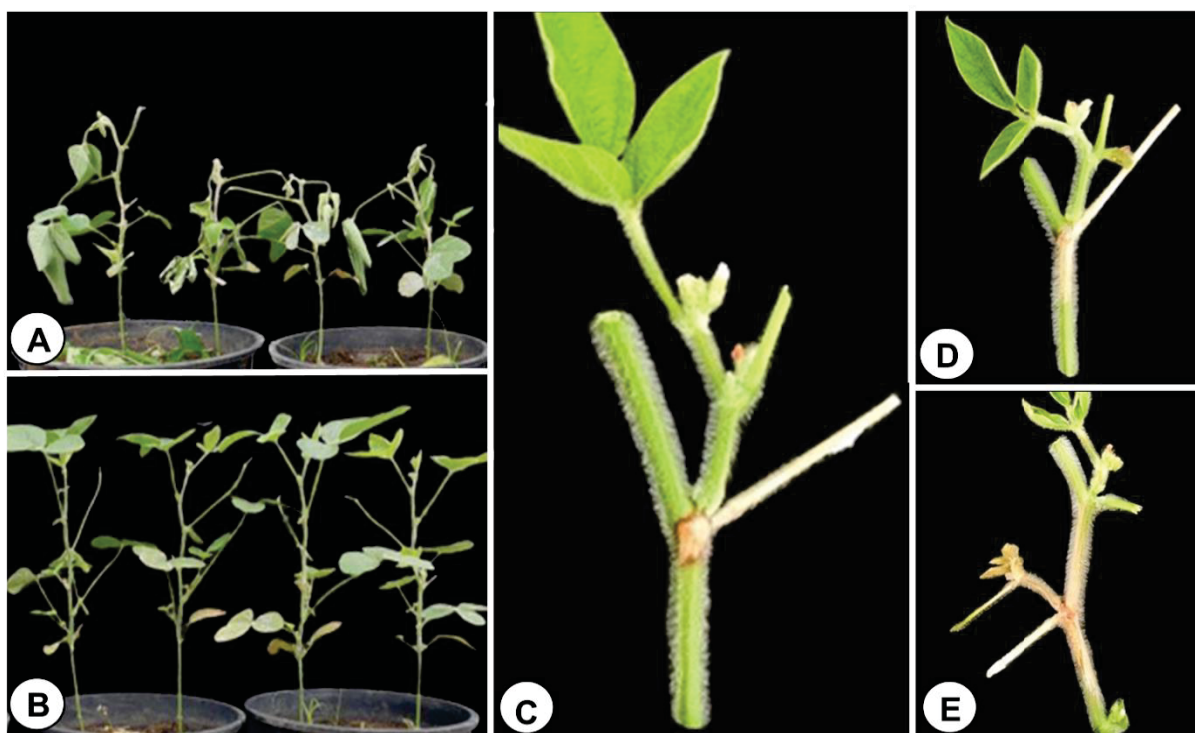
| Tratamento        | Haste            |             |            | Folha          |             |
|-------------------|------------------|-------------|------------|----------------|-------------|
|                   | Lesão (mm) 7 DAI |             |            | Severidade (%) |             |
|                   | Pré-ensaio       | Ensaio 1    | Ensaio 2   | Ensaio 1       | Ensaio 2    |
| Glufosinato (V4)  | - -              | 34,3 ab     | 78,9 a     | 47,8 a         | 41,9 a      |
| Glufosinato (V4*) | - -              | 34,0 ab     | 90,0 a     | 0,0 c          | 3,0 b       |
| Glufosinato (R1)  | 43,9 c           | 21,1 b      | 54,9 b     | 34,9 ab        | 45,6 a      |
| Glufosinato (R1*) | - -              | 34,0 ab     | 86,8 a     | 59,3 a         | 48,8 a      |
| Fluazinam         | 57,3 b           | 26,4 ab     | 38,6 b     | 6,5 bc         | 10,6 b      |
| Controle          | 73,0 a           | 35,9 a      | 86,7 a     | 53,4 a         | 37,5 a      |
| <b>CV (%)</b>     | <b>26,3</b>      | <b>45,9</b> | <b>9,9</b> | <b>69,8</b>    | <b>27,6</b> |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Glufosinato de amônio (Sal de amônio, Finale, BASF), Fluazinam (Zignal, FMC).

FONTE: Autora (2022)

FIGURA 19 – Mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* 7 dias após a inoculação em haste na cultivar B5560CE



Desenvolvimento de mofo branco em plantas e hastes de soja inoculadas, não tratadas (A, E), com aplicação de glufosinato de amônio (Sal de amônio, Finale, BASF) no estágio fenológico R1(B, C), plantas tratadas com fluazinam (Zignal, FMC) no estágio R1 (D).

FONTE: Autora (2022)

FIGURA 20 – Mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* 7 dias após a inoculação em folhas na cultivar B5560CE



Desenvolvimento de mofo branco em folhas de soja tratadas com glufosinato de amônio (Sal de amônio, Finale, BASF) nos estádios fenológicos V4 planta inteira (A) e V4 meia planta (B), R1 planta inteira (C) e R1 meia planta (D), com aplicação de fluazinam (Signal, FMC). (E) e plantas controle, sem aplicação (F).

FONTE: Autora (2022)

### 3.4 CONCENTRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM CULTIVARES DE SOJA

A concentração de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) foi avaliada em folhas de soja das cultivares B5560CE e C2531E. Houve diferença significativa entre cultivares, com concentração média de 44,7 e 30,1  $\mu g/g$  (ensaio 1) e 46,08 e 27,80  $\mu g/g$  (ensaio 2) de ( $H_2O_2$ ) nas cultivares B5560CE e C2531E respectivamente, sendo que a cultivar que apresentou maior lesão média de haste (Tabela 7) apresentou a menor concentração de ( $H_2O_2$ ) por grama de planta (C2531E), indicando menor tolerância a doença.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados para ambas as cultivares com avaliação 72 horas após inoculação (ensaio 1), nem para a cultivar B5560CE avaliado 12 horas após a inoculação (ensaio 2). Na cultivar C2531E, os tratamentos com glufosinato aplicados no estágio fenológico V4 diferiram do tratamento glufosinato aplicado em R1, com concentração de peróxido de hidrogênio inferior. Possivelmente a redução na severidade observada em folhas no tratamento com glufosinato aplicado no estágio fenológico V4 no terço inferior (Glufosinato V4\*-tabela 7) não esteja associada a concentração de peróxido de hidrogênio na planta.

TABELA 8 – Concentração de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em folhas de soja das cultivares B5560CE (Conkesta E3®) e C2531E (Enlist E3®) submetidas aos tratamentos e inoculadas na haste com *Sclerotinia sclerotiorum*

| Tratamento        | Concentração H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µg/g) |    |              |    |              |    |              |    |
|-------------------|---------------------------------------------------|----|--------------|----|--------------|----|--------------|----|
|                   | Ensaio 1**                                        |    |              |    | Ensaio 2***  |    |              |    |
|                   | B5560CE                                           |    | C2531E       |    | B5560CE      |    | C2531E       |    |
| Glufosinato (V4)  | 38,7                                              | ns | 28,8         | ns | 41,3         | ns | 18,66        | b  |
| Glufosinato (V4*) | 40,1                                              |    | 27,1         |    | 45,0         |    | 16,99        | b  |
| Glufosinato (R1)  | 43,8                                              |    | 37,1         |    | 49,5         |    | 37,72        | a  |
| Glufosinato (R1*) | 47,4                                              |    | 28,5         |    | 46,5         |    | 31,28        | ab |
| Fluazinam         | 54,4                                              |    | 28,5         |    | 44,1         |    | 30,81        | ab |
| Controle          | 43,7                                              |    | 30,3         |    | 47,9         |    | 29,19        | ab |
| <b>CV (%)</b>     | <b>12,02</b>                                      |    | <b>30,81</b> |    | <b>21,58</b> |    | <b>34,38</b> |    |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Aplicações realizadas no terço inferior, a haste inoculada não recebeu o tratamento.

\*\* Avaliação do ensaio 1 realizada 72 horas após a inoculação.

\*\*\* Avaliação do ensaio 2 realizada 12 horas após a inoculação

FONTE: Autora (2022)

## 4 DISCUSSÃO

O herbicida glufosinato inibiu a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*, reduziu a lesão de mofo branco em haste e a severidade em folhas de soja tolerante ao herbicida.

A aplicação de dose comercial de glufosinato em escleródios, proporcionou redução na germinação carpogênica de escleródios *in vitro*, porém, a utilização do herbicida em mesma dosagem, na dessecação de plantas de soja com presença de escleródios, não foi capaz de reduzir a germinação carpogênica nas condições avaliadas. As aplicações do herbicida glufosinato em plantas de soja tolerantes ao herbicida, com tecnologia Enlist e Conkesta, reduziram a lesão de mofo branco em hastes de soja, com aplicações realizadas em planta inteira no estágio fenológico R1, e reduziram a severidade de mofo branco em folhas, com aplicação em meia planta no estágio fenológico V4.

A ação de herbicidas sobre a germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* é descrita na literatura (CASALE; HART, 1986; HUANG; BLACKSHAW, 1995; VRISMAN *et al.*, 2014), porém estudos envolvendo glufosinato nessas condições são escassos. A utilização de glufosinato *in vitro* inibiu a formação de apotécios em escleródios nesse estudo, semelhante ao relatado para diuron, metribuzin e atrazina, com má formação de estipes e ausência de disco ou formação anormal do apotécio para escleródios tratados com atrazina (CASALE; HART, 1986; HUANG; BLACKSHAW, 1995).

Apesar de vários produtos terem sido estudados quanto a sua capacidade de inibição da germinação carpogênica, poucos produtos possuem eficiência para esse fim, sendo que a maior parte deles não possui ação na germinação carpogênica nem produção de ascósporos em doses comerciais (HUANG; BLACKSHAW, 1995), resultado semelhante ao obtido nesse ensaio, onde não foi identificada redução na germinação carpogênica para a maior parte dos herbicidas testados.

Em estudo desenvolvido por Vrisman *et al.* (2014), avaliando a germinação carpogênica de *S. sclerotiorum* para diferentes herbicidas e fungicidas, não foi identificado efeito no número de apotécios, nem na germinação carpogênica com a utilização de glifosato nem de fluazinam, corroborando com os dados obtidos nesse trabalho, sem eficiência para os dois produtos na redução da emissão de apotécios.

Relatos na literatura de ação do glufosinato em patógenos estão geralmente associados a estudos *in vitro*, como efeito sobre o crescimento micelial de colônias, como os de BLACK *et al.*, (1996) e Liu *et al.*, (1998) estudando de *R. solani* e *S. homoeocarpa*. Estes autores verificaram redução no crescimento micelial para os dois patógenos em diferentes concentrações do herbicida.

Apesar de o efeito de herbicidas sobre patógenos ser relatado na literatura, o modo de ação sob os organismos nem sempre é bem elucidado. O glufosinato atua em plantas daninhas através da inibição da glutamina sintetase, essa via está presente também em fungos, sendo responsável pela assimilação primária de amônia em alguns ascomicetos (MARTIN *et al.*, 1988). Na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, baixas concentrações do herbicida glufosinato inibem o desenvolvimento da levedura e a via TORC1 de detecção de nutrientes do fungo é afetada, associado a um aumento na produção de aminoácidos e deformações na célula (VALLEJO *et al.* 2017).

A rota da GS é a principal forma de assimilação de amônia em baixas quantidades em *S. sclerotiorum*, fato que foi comprovado pela utilização de inibidor da GS (L-methionine DL-sulfoximine) em células marcadas e que resultou em redução da atividade da transferase, e redução na incorporação de componentes marcados na célula, demonstrando que a via GS possui importância no processo de assimilação de componentes de amônio para o patógeno (RACHIM; NICHOLAS, 1985).

Considerando que os isômeros DL-Phosphinothricin, componentes do herbicida glufosinato, são responsáveis pela ação inibitória da glutamina sintetase em plantas (LEASON *et al.*, 1982), e que essa mesma via ocorre em *S. sclerotiorum*,

podemos inferir que a redução na emissão de apotécios observada em escleródios tratados com glufosinato pode estar associada a ação direta de inibição da via metabólica do fungo.

Essa redução na emissão de apotécios observada em laboratório trouxe questionamentos sobre qual seria a ação do glufosinato aplicado sob escleródios a campo. Apesar dos bons resultados obtidos em laboratório, nesse trabalho não foi possível observar diferença significativa na germinação de escleródios e emissão de estipes entre os tratamentos aplicados a campo após a incubação, fato que pode estar associado entre outros fatores à baixa cobertura na aplicação das estruturas.

Segundo Toubia-Rahme *et al.* (1995), o efeito de herbicidas sob condições controladas dificilmente serão os mesmos que observados a campo, onde várias interações entre herbicida, planta e patógeno estão ocorrendo, associado a degradação dos compostos pelos processos orgânicos e fotoquímicos.

Além disso, a exposição das plantas às condições ambientais faz com que o produto seja lavado pela chuva e ocorra degradação por parte dos microrganismos, estima-se que 90% do glufosinato aplicado é perdido ao longo do tempo em decorrência da chuva (RUHLAND; ENGELHARDT; PAWLIZKI, 2004), dessa forma, ao ser exposto as condições de campo, o herbicida não foi capaz de expressar todo o potencial observado em laboratório.

Associado a isso, não foi avaliado se o herbicida teve contato adequado com os escleródios no momento da aplicação. Apesar de ser observada uma boa cobertura de todas as partes da planta (Figura 14), o escleródio apresenta uma estrutura diminuta e está aderido a haste, o que dificulta a chegada do produto de forma eficiente na estrutura de resistência. Sintomas semelhantes aos observado *in vitro* com inibição na formação de discos nos estipes, foram observados em um pequeno número de escleródios tratados a campo com o herbicida glufosinato, (Figura 10), o que apoia a hipótese de problemas na distribuição do herbicida nas estruturas. Outros estudos com maior no período de avaliação podem ser realizados para verificar se existe alteração na germinação carpogênica de escleródios ao longo do tempo após aplicação.

Vários fatores podem afetar a incidência de *S. sclerotiorum* na área de cultivo, entre eles a escolha da cultivar pode ser um fator determinante. Segundo Hoffman *et al.* (1998), a incidência de *S. sclerotiorum* pode variar de forma expressiva entre cultivares, com incidência máxima da doença variando de 45% a 95% em função da

cultivar escolhida. Os dados obtidos nesse estudo com avaliação de lesão em haste de soja demonstram que a cultivar C2531E possui tamanho médio de lesão superior a cultivar B5560CE, sugerindo maior susceptibilidade dessa cultivar em relação a doença. Apesar da diferença entre cultivares, não foi observada interação entre cultivares e tratamentos. Considerando que estudos em casa de vegetação podem apresentar baixa correlação com os resultados de campo (MOELLERS *et al.*, 2017), novos estudos em campo são recomendados para embasar os resultados obtidos nesse ensaio.

A ação do glufosinato sobre doenças em plantas com tolerância ao herbicida é relatada na literatura para diferentes culturas e patógenos (AHN, 2008; CLAUS, 2022; PLINE *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2003). Neste trabalho, diferentes resultados foram obtidos para controle de mofo branco em plantas de soja tolerantes a glufosinato em função do tratamento e local inoculado.

Aplicações realizadas um dia antes da inoculação (R1), resultaram em controle na lesão em hastes. Resultados semelhantes foram obtidos por Wang *et al.* (2003), trabalhando com grama rasteira tolerante a glufosinato, com redução na incidência de *R. solani* e *S. homeocarpa* em plantas que receberam aplicações preventivas do herbicida, anterior a inoculação do patógeno, ou logo após a inoculação.

Outros estudos avaliando a sobrevivência de bactérias *P. syringae* pv. *Glycinea* em folhas de soja tolerante a glufosinato, com tecnologia Liberty link, e aplicação de herbicidas logo após a inoculação verificaram redução na sobrevivência de colônias em folhas tratadas com diferentes concentrações do produto (PLINE *et al.*, 2001). Redução na severidade de oídio também foi relatada em cultivares de soja com tecnologia Enlist, tolerantes a glufosinato (CLAUS, 2022), demonstrando potencial de controle para fungos biotróficos.

A luz possui papel fundamental na ação do glufosinato em plantas. A ação do herbicida ocorre pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), e esse acúmulo ocorre apenas na presença de luz, sendo classificado como um processo foto-dependente (TAKANO *et al.*, 2019).

A ação do produto sobre o patógeno pode ocorrer em diferentes fases do desenvolvimento. A redução na formação de apressório em *M. grisea* e *C. miyabeanus* em plantas de arroz resistentes a glufosinato tratadas com o herbicida foi

comprovada, sem redução no entanto da germinação de esporos, demonstrando que o produto pode atuar na fase de pré penetração para esses patógenos (AHN, 2008).

Aplicações realizadas no estágio fenológico V4, no terço inferior da planta, aproximadamente 7 dias antes da inoculação, resultaram em redução na severidade de mofo branco em folhas. Nesse tratamento a folha inoculada não recebeu aplicação direta do produto. Na planta, o glufosinato possui pequena translocação (TAKANO *et al.*, 2020a) e essa ocorre tanto via xilema quanto via floema, com predominância via xilema (SHELP; SWANTON; HALL, 1992) TAKANO *et al.*, 2020a). Além disso, o transporte de glufosinato é dependente da concentração de produto, sob baixas concentrações o transporte ocorre de maneira ativa e em altas concentrações ocorre de maneira passiva nas células. A translocação do produto é eficiente em toda a planta, porém ocorre acúmulo do herbicida em folhas mais velhas (TAKANO *et al.*, 2020a).

Outros estudos avaliando o acúmulo de glufosinato em plantas com tolerância ao herbicida identificaram que folhas não tratadas de canola apresentaram porcentagem de glufosinato semelhante a folhas tratadas, demonstrando que em plantas com tolerância ao herbicida ele também é translocado na planta (RUHLAND; ENGELHARDT; PAWLIZKI, 2004). Dessa forma, mesmo sem aplicação direta do produto na folha, a ação pela translocação do produto para as folhas mais jovens deve ser investigada.

Após aplicação do glufosinato em plantas resistentes, ocorre a formação de alguns compostos, com inativação do L-glufosinato pela acetilação, com formação do N-acetyl-L-glufosinato (NAG), sendo esse um dos compostos com maior expressão dentro da planta após aplicação, representando cerca de 85% dos resíduos encontrados na planta 3 dias após. Outros compostos como metabólitos de ácidos graxos de metilfosfinil (MPFs) são encontrados na planta em menor quantidade (RUHLAND; ENGELHARDT; PAWLIZKI, 2004). Os efeitos desse composto produzido não são bem elucidados para plantas e outros organismos.

A exemplo do ácido aminometilfosfônico (AMPA), principal composto produzido através da metabolização do glifosato que apresenta efeito tóxico semelhante ao próprio glifosato para plantas, com a interrupção da biossíntese de clorofila, atuando na redução das taxas fotossintéticas (GOMES *et al.*, 2016) e para organismos aquáticos não alvo como peixes (RODRIGUES *et al.*, 2019), o NAG pode ter efeitos ainda não conhecidos.

Assim como compostos produzidos pelos herbicidas, que podem afetar os organismos, efeitos indiretos de indução de defesa na planta são relatados. Plantas de arroz com tolerância a glufosinato, apresentaram acúmulo de peróxido de hidrogênio em folhas que receberam aplicação do herbicida e também em folhas não tratadas, demonstrando ação sistêmica na planta, sugerindo que a ação do glufosinato ocorre pelas vias de sinalização dependentes do peróxido de hidrogênio e do ácido salicílico (AHN, 2008). Além da sinalização, o acúmulo do peróxido de hidrogênio pode induzir a morte celular programada, gerando micro reações de hipersensibilidade e restrição no desenvolvimento da lesão (ALVAREZ et al., 1998).

Na cultura do arroz, o acúmulo de peróxido de hidrogênio possui importância para o controle de brusone (*M. grisea*), porém, não tem ação na expressão da resistência para mancha parda (*C. miyabeanus*), evidenciando que outros mecanismos de resistência estão envolvidos (AHN, 2008).

Além das espécies reativas de oxigênio, outra classe de compostos responsáveis por orquestrar eventos associados a defesa das plantas são as espécies reativas de nitrogênio (HANCOCK et al., 2002). Como a ação do glufosinato causa alteração no metabolismo de N, com acúmulo de nitrato de amônio na planta (WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990), pode haver produção de espécies reativas de nitrogênio e ativação de mecanismos de defesa.

A exemplo disso, redução na lesão em haste e severidade de mofo branco em folha observada nesse trabalho não tiveram relação direta com o acúmulo de peróxido de hidrogênio avaliado em folhas de soja, demonstrando que esse pode não ser o mecanismo responsável pelos resultados obtidos. A ação do glufosinato está ligada a vários mecanismos, como ação direta, atuando na pré penetração e ação indireta, relacionada a indução de resistência (AHN, 2008), redução no comprimento de hifas, redução do crescimento micelial e presença de ramos laterais curtos foram observados em fungos micorrízicos submetidos a glufosinato (NOVAIS *et al.*, 2019), vários podem ser os mecanismos envolvidos nos resultados obtidos e mais estudos são necessários para elucidar esses fenômenos.

## 5 CONCLUSÕES

O herbicida glufosinato tem potencial na redução da germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum in vitro*, entretanto ao ser aplicado a campo na dessecação de plantas de soja, o herbicida não proporciona redução na germinação

carpogênica de escleródios com infecção natural. Outros ensaios devem ser realizados para verificar a eficiência dos herbicidas a campo para manejo de inóculo inicial.

Aplicações de glufosinato em plantas de soja com tecnologia Conkesta e Enlist são capazes de reduzir o desenvolvimento de lesões de mofo branco em hastes, quando aplicados no estágio fenológico R1 (planta inteira) e em folhas quando aplicados no estágio fenológico V4 (terço inferior). São recomendados estudos ampliados para cultivares com outras tecnologias visando compreender a influência de outros herbicidas no desenvolvimento de mofo branco. Mecanismo de ação que comprovem o efeito do que foi observado neste estudo serão importantes para as próximas etapas de pesquisa.

## 6 REFERÊNCIAS

- AHN, I.-P. Glufosinate ammonium-induced pathogen inhibition and defense responses culminate in disease protection. **Plant Physiology**, v. 146, n. 1, p. 213-227, 2008. doi:10.1104/pp.107.105890
- ALLEN, T. W.; BRADLEY, C. A.; SISSON, A. J.; BYAMUKAMA, E.; CHILVERS, M. I.; COKER, C. M. *et al.* Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. **Plant Health Progress**, v. 18, n. 1, p. 19-27, 2017. doi:10.1094/PHP-RS-16-0066
- ALVAREZ, M. E., PENNELL, R. I., MEIJER, P. J., ISHIKAWA, A., DIXON, R. A., & LAMB, C. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. **Cell**, v.92 n.6, p.773-784, 1998. doi:10.1016/S0092-8674(00)81405-1
- BLACK, B. D.; RUSSIN, J. S.; GRIFFIN, J. L.; SNOW, J. P. Herbicide effects on *Rhizoctonia solani* in vitro and *Rhizoctonia foliar* Blight of soybean (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 44, n. 3, p. 711-716, 1996.
- CASALE, W. L.; HART, L. P. Influence of four herbicides on carpogenic germination and apothecium development of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiology and Biochemistry**, v. 76, n. 10, p. 980-983, 1986. doi:10.1094/Phyto-76-980
- CASIDA, J. E.; BRYANT, R. J. The ABCs of pesticide toxicology: amounts, biology, and chemistry. **Toxicology Research**, v. 6, n. 6, p. 755-763, 2017. doi:10.1039/c
- CLAUS, A. **Penalidades adaptativas associadas a mutação SdhC-I86F em *Phakopsora pachyrhizi* e controle da ferrugem asiática e do oídio com herbicidas em soja transgênica tolerante. 2022. 120F.** Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2022.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira.** Brasília: CONAB, 2022. (Boletim da Safra 2021, 9). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>. Acesso em: 26/05/2022.
- DANIELSON, G. A.; NELSON, B. D.; HELMS, T. C. Effect of *Sclerotinia stem* rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. **Plant Disease**, v. 88, n. 3, p. 297-300, 2004. doi:10.1094/PDIS.2004.88.3.297
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Herbicides. In: **ENCYCLOPEDIA of Life Sciences.** Chichester: John Wiley & Sons, 2018.
- GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência da soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 196-203, 2012. doi:10.1590/S1982-56762012000300006

GOMES, M. P.; LE MANAC'H, S. G.; MACCARIO, S.; LABRECQUE, M.; LUCOTTE, M.; JUNEAU, P. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 130, p. 65-70, 2016. doi:10.1016/j.pestbp.2015.11.010

HANCOCK, J. T., DESIKAN, R., CLARKE, A., HURST, R. D., & NEILL, S. J. (2002). Cell signalling following plant/pathogen interactions involves the generation of reactive oxygen and reactive nitrogen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40(6-8), p. 611-617. doi: 10.1016/S0981-9428(02)01403-1.

HOFFMAN, D. D.; HARTMAN, G. L.; MUELLER, D. S.; LEITZ, R. A.; NICKELL, C. D.; PEDERSEN, W. L. Yield and seed quality of soybean cultivars infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 82, n. 7, p. 826-829, 1998. doi:10.1094/PDIS.1998.82.7.826

HUANG, H. C.; BLACKSHAW, R. E. Influence of herbicides on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 36, n. 1, p. 59-64, 1995.

LEASON, M.; CUNLIFFE, D.; PARKIN, D.; LEA, P. J.; MIFLIN, B. J. Inhibition of pea leaf glutamine synthetase by methionine sulfoximine, phosphinothricin and other glutamate analogues. **Phytochemistry**, v. 21, n. 4, p. 855-857, 1982. doi.org/10.1016/0031-9422(82)80079-4

LIU, C-A.; ZHONG, H.; VARGAS, J.; PENNER, D.; STICKLEN, M. Prevention of fungal diseases in transgenic, bialaphos- and glufosinate-resistant creeping bentgrass (*Agrostis palustris*). **Weed Science**, v. 46, n. 1, p. 139-146, 1998. doi:10.1017/S0043174500090305

MARTIN, F. G.; STEWART, R.; GENETET, I.; MOUROT, B. The involvement of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in ammonia assimilation by the rapidly growing ectomycorrhizal ascomycete, *Cenococcum geophilum* Fr. **New Phytologist**, v. 110, n. 4, p. 541-550, 1988.

MOELLERS, T. C.; SINGH, A.; ZHANG, J.; BRUNGARDT, J.; KABBAGE, M.; MUELLER, D. S. *et al.* Main and epistatic loci studies in soybean for *Sclerotinia sclerotiorum* resistance reveal multiple modes of resistance in multi-environments. **Scientific Reports**, v. 7, 3554, 2017. doi:10.1038/s41598-017-03695-9

NOVAIS, C. B. de; AVIO, L.; GIOVANNETTI, M.; FARIA, S. M. de; SIQUEIRA, J. O.; SBRANA, C. Interconnectedness, length and viability of arbuscular mycorrhizal mycelium as affected by selected herbicides and fungicides. **Applied Soil Ecology**, v. 143, p. 144-152, 2019. doi:10.1016/j.apsoil.2019.06.013

PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia stem* rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012. doi:10.1603/IPM11033

PLINE, W. A.; LACY, G. H.; STROMBERG, V.; HATZIOS, K. K. Antibacterial activity of the herbicide glufosinate on pseudomonas syringae pathovar glycinea. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, n. 1, p. 48-55, 2001. doi:10.1006/pest.2001.2556

RACHIM, M. A.; NICHOLAS, D. J. D. Glutamine synthetase and glutamate synthase from *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 11, p. 2541-2548, 1985. doi:10.1016/S0031-9422(00)80664-0

RODRIGUES, L. de B.; COSTA, G. G.; THÁ, E. L.; SILVA, L. R. da; OLIVEIRA, R. de; LEME, D. M. *et al.* Impact of the glyphosate-based commercial herbicide, its components and its metabolite AMPA on non-target aquatic organisms. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 842, p. 94-101, 2019. doi:10.1016/j.mrgentox.2019.05.002

RUHLAND, M.; ENGELHARDT, G.; PAWLIZKI, K. Distribution and metabolism of D L- L- and D-glufosinate in transgenic. **Pest Management Science**, v. 60, n. 7, p. 691-696, 2004. doi:10.1002/ps.857

SHELP, B. J.; SWANTON, C. J.; HALL, J. C. Glufosinate (phosphinothricin) mobility in young soybean shoots. **Journal of Plant Physiology**, v. 139, n. 5, p. 626-628, 1992. doi:10.1016/S0176-1617(11)80382-2

SIMÕES, K., HAWLIK, A., REHFUS, A., GAVA, F., STAMMLER, G. 2017. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **J. Plant Dis.Protect.** v. 125, p. 21-26. doi.org/10.1007/s41348-017-0117-5.

SOLTANI, N.; DILLE, J. A.; BURKE, I. C.; EVERMAN, W. J.; VanGESSEL, M. J.; DAVIS, V. M.; SIKKEMA, P. H. Perspectives on potential soybean yield losses from weeds in North America. **Weed Science Society of America**, v. 31, n. 1, p. 148-154, 2017. doi:10.1017/wet.2016.2

TAKANO, H. K., BEFFA, R.; PRESTON, C., WESTRA, P., DAYAN, F. E. 2019. Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinate. **Planta**. 249, 1837-1849.

TAKANO, H. K.; BEFFA, R.; PRESTON, C.; WESTRA, P.; DAYAN, F. E. A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. **Photosynthesis Research**, v. 144, n. 3, p. 361-372, 2020. doi:10.1007/s11120-020-00749-4

TAKANO, H. K.; BEFFA, R.; PRESTON, C.; WESTRA, P.; DAYAN, F. E. 2020a. Physiological factors affecting uptake and translocation of glufosinate. **J. Ag. Food Chem.** 68(10), pp.3026-3032.

TOUBIA-RAHME, H.; ALI-HAIMOUD, D. E.; BARRAULT, G.; ALBERTINI, L. Inhibition of *Dreschlera teres* sclerotoid formation in barley straw by application of glyphosate of paraquat. **Plant Disease**, v. 79, n. 6, p. 595-598, 1995.

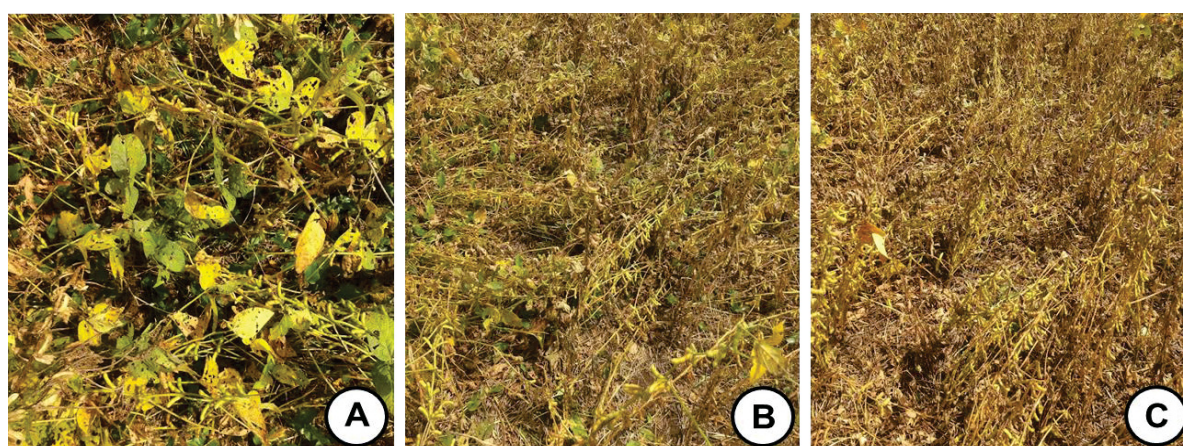
UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural production**. Washington, DC: USDA, 2022. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production>. Acesso em: 25/05/2022.

VRISMAN, C. M.; HÜLLER, G. C.; SARTORI, F. F.; HENNEBERG, L.; WUTZKI, C. R.; JULIATTI, F. C.; JACCOUD FILHO, D. de S. Influence of herbicides and fungicides in the carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p. 477-483, 2014.

WANG, Y.; BROWNING, M.; RUEMMELE, B. A.; CHANDLEE, J. M.; KAUSCH, A. P.; JACKSON, N. Glufosinate reduces fungal diseases in transgenic glufosinate-resistant bentgrasses (*Agrostis spp.*). **Weed Science**, v. 51, n. 1, p. 130-137, 2003. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0130:GRFDIT]2.0.CO

## 7 ANEXO – Figuras e tabelas

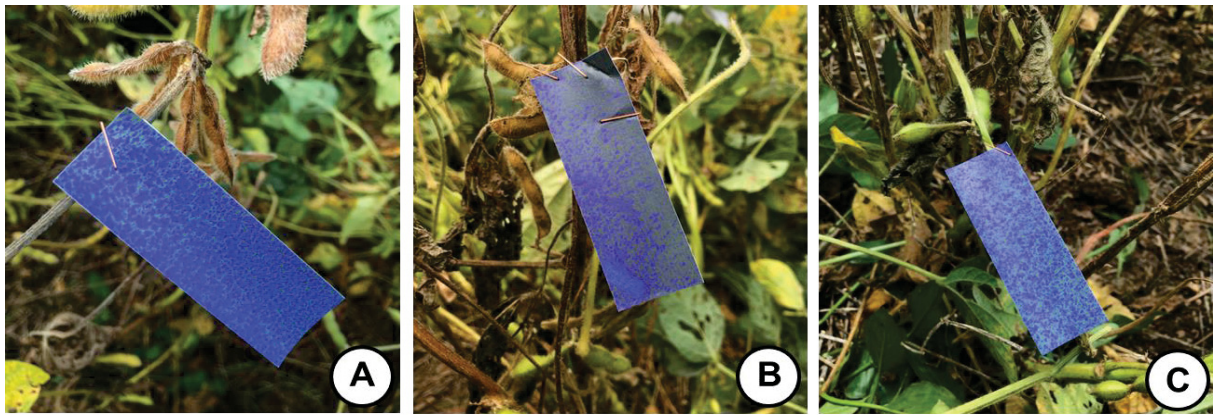
FIGURA 21 – Plantas de soja da cultivar TMG7363, 6 dias após aplicação dos dessecantes a campo



(A) Testemunha sem aplicação (B) Parcela tratada com glufosinato (2 L/há p.c.) (C) Parcela tratada com paraquate (2 L/ há p.c).

FONTE: Autora (2022)

FIGURA 22 – Papel hidro sensível preso a plantas de soja em três diferentes posições



(A) Posição superior; (B) Posição mediana; (C) Baixeiro da planta.  
FONTE: Autora (2022)

### 3 CONCLUSÃO GERAL

O fungicida tebuconazol demonstrou maior eficiência a campo entre os sítio-específicos avaliados, indicando possível retorno na eficiência do ingrediente ativo.

A utilização de aplicações sequenciais de multissítio clorotalonil a campo restaurou a sensibilidade de isolados populacionais de *P. pachyrhizi*, e aplicações sequenciais dos fungicidas sítio-específico tebuconazol ou azoxistrobina foram capazes de reduzir a sensibilidade do patógeno á tebuconazol dentro do ciclo de cultivo. Esses resultados dão suporte as observações em campo de retorno da eficiência do tebuconazol, e podem estar relacionados com a presença de penalidades no patógeno, aumento da utilização de multissítios e redução na utilização do tebuconazol que ocorreu nos últimos anos.

O herbicida glufosinato mostrou potencial na inibição da germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* tratados com doses comerciais do produto *in vitro*, resultado promissor considerando a dificuldade de controle relatada para essa estrutura de resistência.

Na dessecação de plantas de soja com infecção natural a campo, o herbicida glufosinato não demonstrou a mesma eficiência em escleródios aderidos a haste que a eficiência observada *in vitro*. Outros estudos com variação no volume de calda, bicos e época de aplicação seriam recomendados para verificar se em outras situações a utilização do produto poderia contribuir no controle da doença.

A utilização de glufosinato em plantas de soja com tolerância ao herbicida (Conkesta e Enlist) reduziram o desenvolvimento de lesões de mofo branco em hastes e em folhas, sendo a ação dependente do estágio fenológico da aplicação. Aplicações realizadas na fase em que comumente é realizado o controle de plantas daninhas a campo (V4) reduziram a severidade de mofo branco em folhas, resultados promissores, visto que o herbicida poderia ser utilizado com dupla função, controle de plantas daninhas e da doença na cultura.

Os resultados da ação do glufosinato no controle de mofo branco são promissores, porém, é necessário compreender como esse herbicida está atuando no controle da doença e se esses resultados se repetiriam a campo.

#### 4 REFERÊNCIAS GERAIS

ABAWI, G.; GROGAN, R. Source of primary inoculum and effects of temperature. **Phytopathology**, v. 65, p. 300-309, 1975. doi:10.1094/Phyto-65-300

ADAMS, P. B.; AYERS, W. A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 896-899, 1979. Disponível em: [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1979Abstracts/Phyto69\\_896.htm](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1979Abstracts/Phyto69_896.htm). Acesso em: 11/05/2022.

ANONYMOUS (1988) Fungicide resistance: definitions and use of terms. **EPPO Bulletin** 18: 569–574

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) no 177, de 21 de setembro de 2017. Brasília: DOU de 22/09/2017, 2017. Disponível em: <<https://tinyurl.com/y5xk4rvd>>. Acesso em: 10/04/2022.

AHN, I.-P. Glufosinate ammonium-induced pathogen inhibition and defense responses culminate in disease protection. **Plant Physiology**, v. 146, n. 1, p. 213-227, 2008. doi:10.1104/pp.107.105890

ALLEN, T. W.; BRADLEY, C. A.; Sisson, A. J.; BYAMUKAMA, E.; CHILVERS, M. I.; COKER, C. M. *et al.* Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. **Plant Health Progress**, v. 18, n. 1, p. 19-27, 2017. doi:10.1094/PHP-RS-16-0066

BALBINOT JUNIOR, A. A.; HIRAKURI, M. H.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; RIBEIRO, R. H. **Análise da área, produção e produtividade da soja no Brasil em duas décadas (1997-2016)**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

BANDARA, A. Y.; WEERASOORIYA, D. K.; ID, C. A. B.; ALLEN, T. W.; ESKERID, P. D. Dissecting the economic impact of soybean diseases in the United States over two decades. **PLoS ONE**, v. 15, n. 4, e0231141, 2020. doi:10.1371/journal.pone.0231141

BLACK, B. D.; RUSSIN, J. S.; GRIFFIN, J. L.; SNOW, J. P. Herbicide effects on *Rhizoctonia solani* in vitro and *Rhizoctonia foliar* Blight of soybean (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 44, n. 3, p. 711-716, 1996.

BLUM, M. M. C.; REIS, E. M. *Phakopsora pachyrhizi* in vitro sensitivity to fungicides. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 215-216, 2013. doi:10.1590/S0100-54052013000300015

BOLAND, G. J.; HALL, R. Epidemiology of *Sclerotinia stem* rot of soybean in Ontario. **Ecology and Epidemiology**, v. 78, p. 1241-1245, 1988. doi:10.1094/Phyto-78-1241

BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994. doi:10.1080/07060669409500766

BONDE, M. R.; NESTER, S. E.; AUSTIN, C. N.; STONE, C. L.; FREDERICK, R. D.; HARTMAN, G. L.; MILES, M. R. Evaluation of virulence of *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia* isolates. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 708-716, 2006. doi:10.1094/PD-90-0708

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance in crop pathogens**: how can it be managed? 2. rev. ed. Brussels, Belgium: Fungicide Resistance Action Committee, 2007. 56 p. (FRAC Monograph, 1).

BROOKES, G.; BARFOOT, P. Global income and production impacts of using GM crop technology 1996-2014. **GM Crops & Food**, v. 7, n. 1, p. 38-77, 2016. doi:10.1080/21645698.2016.1176817

BROOKES, G.; BARFOOT, P. GM crop technology use 1996-2018: farm income and production impacts. **GM Crops & Food**, v. 11, n. 4, p. 242-261, 2020. doi:10.1080/21645698.2020.1779574

BRUSTOLIN, R.; REIS, E. M.; PEDRON, L. Longevity of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia on the soil surface under field conditions. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 172-174, 2016. doi:10.1590/0100-5405/2131

CASALE, W. L.; HART, L. P. Influence of four herbicides on carpogenic germination and apothecium development of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiology and Biochemistry**, v. 76, n. 10, p. 980-983, 1986. doi:10.1094/Phyto-76-980

CASIDA, J. E.; BRYANT, R. J. The ABCs of pesticide toxicology: amounts, biology, and chemistry. **Toxicology Research**, v. 6, n. 6, p. 755-763, 2017. doi:10.1039/c

CHILDS, S. P.; BUCK, J. W.; LI, Z. Breeding soybeans with resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*). **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 250-261, 2018. doi:10.1111/pbr.12595

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Brasília: CONAB, 2022. (Boletim da Safra 2021, 9). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>. Acesso em: 26/05/2022.

DANIELSON, G. A.; NELSON, B. D.; HELMS, T. C. Effect of *Sclerotinia stem* rot on yield of soybean inoculated at different growth stages. **Plant Disease**, v. 88, n. 3, p. 297-300, 2004. doi:10.1094/PDIS.2004.88.3.297

DANN, E. K.; DIERS, B. W.; HAMMERSCHMIDT, R. Suppression of *Sclerotinia stem* rot of soybean by lactofen herbicide treatment. **Phytopathology**, v. 89, n. 7, p. 598-602, 1999. doi:10.1094/PHYTO.1999.89.7.598

DELP, C. J.; DEKKER, J. Fungicide resistance: definitions and use of terms. **EPPO Bulletin**, v. 15, n. 3, p. 333-335, 1985.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Herbicides. In: **ENCYCLOPEDIA of Life Sciences**. Chichester: John Wiley & Sons, 2018.

EPPO (2017) EPPO Global Database: *Phakopsora pachyrhizi* (PHAKPA). Disponível em: <https://gd.eppo.int/taxon/PHAKPA/distribution>. Acesso em 25/02/2022.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (2022) Land use in agriculture by the numbers *in* Sustainable Food and Agriculture. Disponível em: <https://www.fao.org/sustainability/news/detail/en/c/1274219/>. Acesso em: 06/05/2022.

FRANZONI, M. M. **Aspectos do glufosinato de amônio como principal ferramenta de controle no manejo de plantas daninhas na soja**. 2018. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2018.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

GISI, U.; SIEROTZKI, H.; COOK, A.; McCAFFERY, A. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, n. 9, p. 859-867, 2002. doi:10.1002/ps.565

GODOY, C. V. Risk and management of fungicide resistance in the Asian soybean rust fungus *Phakopsora pachyrhizi*. In: THIND, T. S. **Fungicide resistance in crop protection: risk and management**. New Delhi, India: CABI Book, 2012. p. 87-95.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B. *et al.* **Eficiência de fungicidas multissítios e fertilizantes no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 7 p. (Circular técnica, 113).

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016. doi:10.1590/S0100-204X2016000500002

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M. **Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 39 p. (Documentos, 428).

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; LOPES, I. de O. N.; MUHL, A. *et al.* **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2020/2021**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2021. 25 p. (Circular técnica, 174).

GRACIA-GARZA, J. A.; NEUMANN, S.; VYN, T. J.; BOLAND, G. J. Influence of crop rotation and tillage on production of apothecia by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 24, p. 137-143, 2002. doi:10.1080/07060660309506988

GRASSO, V.; PALERMO, S.; SIEROTZKI, H.; GARIBALDI, A.; GISI, U. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. **Pest Management Science**, v. 62, n. 6, p. 465-472, 2006. doi:10.1002/ps.1236

GRAU, C. R.; HARTMAN, G. L. *Sclerotinia stem rot*. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. St. Paul, MN: APS Press, 2008. p. 46-48.

HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. St. Paul, MN: APS Press, 2008.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 70 p. (Documentos, 349).

HOFFMAN, D. D.; HARTMAN, G. L.; MUELLER, D. S.; LEITZ, R. A.; NICKELL, C. D.; PEDERSEN, W. L. Yield and seed quality of soybean cultivars infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v. 82, n. 7, p. 826-829, 1998. doi:10.1094/PDIS.1998.82.7.826

HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance: 40 years on and still a major problem. In: ISHII, H.; HOLLOMON, D. (eds.). **Fungicide resistance in plant pathogens**. Tokyo: Springer, 2015. p. 3-11. doi:10.1007/978-4-431-55642-8\_1

HOU, Y-P.; MAO, X-W.; WU, L-Y.; WANG, J-X.; MI, B.; ZHOU, M-G. Impact of fluazinam on morphological and physiological characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 155, p. 81-89, 2019. doi:10.1016/j.pestbp.2019.01.009

HUANG, H. C.; BLACKSHAW, R. E. Influence of herbicides on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 36, n. 1, p. 59-64, 1995.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=destaques>. Acesso em: 20/05/2022.

ISAAA. ISAAA brief 55–2019: executive summary: biotech crops drive socio-economic development and sustainable environment in the new frontier. **International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications**, 2019. Disponível em: <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/executivesummary/default.asp>. Acesso em: 09/05/22.

ISHII, Hideo. Resistance to QoI. **Fungicide resistance in crop protection: risk and management**, p. 223, 2012.

JAMES, W. C. Assessment of plant diseases and losses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 12, p. 27-48, 1974. doi:10.1146/annurev.py.12.090174.000331

KLOSOWSKI, A. C.; MAY DE MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1211-1215, 2016a. doi:10.1002/ps.4099

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

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

KOCH, E.; HOPPE, H. H. Development of infection structures by the direct-penetrating soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) on artificial membranes. **Journal of Phytopathology**, v. 122, n. 3, p. 232-244, 1988. doi:10.1111/j.1439-0434.1988.tb01012.x

KOLLER, W.; SCHEINPFLUG, H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. **Plant Disease**, v. 71, n. 12, p. 1066-1070, 1987. doi:10.1094/PD-71-1066

LANA, F. D.; ZIEGELMANN, P. K.; MAIA, A. de H. N.; GODOY, C. V.; DEL PONTE, E. M. Meta-analysis of the relationship between crop yield and soybean rust severity. **Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 307-315, 2015. doi:10.1094/PHYTO-06-14-0157-R

LIU, C-A.; ZHONG, H.; VARGAS, J.; PENNER, D.; STICKLEN, M. Prevention of fungal diseases in transgenic, bialaphos- and glufosinate-resistant creeping bentgrass (*Agrostis palustris*). **Weed Science**, v. 46, n. 1, p. 139-146, 1998. doi:10.1017/S0043174500090305

MAPA. 2022. Agrofit - Banco de dados produtos agroquímicos. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

MEYER, M.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; OLIVEIRA, M. C. N. de; VENANCIO, W. S. *et al.* **Experimentos cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2020/2021**. Londrina: Embrapa Soja, 2021. 12 p. (Circular técnica, 177).

MIKABERIDZE, A.; McDONALD, B. A. Fitness cost of resistance: impact on management. In: ISHII, H.; HOLOMON, D. (eds.). **Fungicide resistance in plant pathogens**. Tokyo: Springer, 2015. p. 77-89. doi:10.1007/978-4-431-55642-8\_1

MUELLER, D. S. **Fungicides: terminology**. Ames, IA: Iowa State University, 2006. p. 122-123. (Series Integrated Crop Management News). Disponível em: <https://dr.lib.iastate.edu/entities/publication/df965d70-cdad-4049-bafb-4a2919627dcf>.

MUELLER, D. S.; HARTMAN, G. L.; PEDERSEN, W. L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**, v. 83, n. 12, p. 1113-1115, 1999. doi:10.1094/PDIS.1999.83.12.1113

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, 105618, 2021. doi:10.1016/j.cropro.2021.105618

NELSON, K. A.; RENNER, K. A.; HAMMERSCHMIDT, R.; Cultivar and herbicide selection affects soybean development and the incidence of sclerotinia stem rot. **Agronomy Journal**, v. 94, n. 6, p. 1270-1281, 2002. doi:10.2134/agronj2002.1270

PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia stem* rot of soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012. doi:10.1603/IPM11033

PLINE, W. A.; LACY, G. H.; STROMBERG, V.; HATZIOS, K. K. Antibacterial activity of the herbicide glufosinate on pseudomonas syringae pathovar glycinea. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, n. 1, p. 48-55, 2001. doi:10.1006/pest.2001.2556

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

PRICE, C. L.; PARKER, J. E.; WARRILOW, A. G. S.; KELLY, D. E.; KELLY, S. L. Azole fungicides - understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. **Pest Management Science**, v. 71, n. 8, p. 1054-1058, 2015. doi:10.1002/ps.4029

REIS, E. M.; DEUNER, E.; ZANATTA, M. In vivo sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* to DMI and QoI fungicides. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 1, p. 21-24, 2015. doi:10.1590/0100-5405/1975

ROESE, A. D.; VIDAL, G. S.; ZEVIANI, W. M.; MORAES, A. de; MAY DE MIO, L. L. Agricultural diversification reduces the survival period of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, p. 713-722, 2018. doi:10.1007/s10658-017-1405-4

ROSSI, R. L. First report of *Phakopsora pachyrhizi*, the causal organism of soybean rust in the province of Misiones, Argentina. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 102, 2003. doi:10.1094/PDIS.2003.87.1.102A

RUPE, J.; SCONYERS, L. Soybean rust. **The Plant Health Instructor**, 2008. doi:10.1094/PHI-I-2008-0401-01

SARDROOD, B. P.; GOLTAPPEH, E. M. Weeds, herbicides and plant disease management. **Sustainable Agriculture Reviews**, v. 31, p. 41-178, 2018. doi:10.1007/978-3-319-94232-2\_3

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidoreductase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378-388, 2014. doi:10.1002/ps.3562

TAKANO, H. K.; DAYAN, F. E. Glufosinate-ammonium a review of the current state of knowledge. **Pest Management Science**, v. 76, n. 12, p. 3911-3925, 2020. doi.org/10.1002/ps.5965

TAKANO, H. K.; BEFFA, R.; PRESTON, C.; WESTRA, P.; DAYAN, F. E. A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. **Photosynthesis Research**, v. 144, n. 3, p. 361-372, 2020. doi:10.1007/s11120-020-00749-4

TOUBIA-RAHME, H.; ALI-HAIMOUD, D. E.; BARRAULT, G.; ALBERTINI, L. Inhibition of *Dreschlera teres* sclerotoid formation in barley straw by application of glyphosate of paraquat. **Plant Disease**, v. 79, n. 6, p. 595-598, 1995.

UCHIMIYA, H.; IWATA, M.; NOJIRI, C.; SAMARAJEEWA, P. K.; TAKAMATSU, S.; Ooba, S. *et al.* Bialaphos treatment of transgenic rice plants expressing a bar gene prevents infection by the sheath blight pathogen (*Rhizoctonia solani*). **Biotechnology**, v. 11, p. 835-836, 1993. doi:10.1038/nbt0793-835

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural production**. Washington, DC: USDA, 2022. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production>. Acesso em: 22/05/2022.

WANG, Y.; BROWNING, M.; RUEMMELE, B. A.; CHANDLEE, J. M.; KAUSCH, A. P.; JACKSON, N. Glufosinate reduces fungal diseases in transgenic glufosinate-resistant bentgrasses (*Agrostis spp.*). **Weed Science**, v. 51, n. 1, p. 130-137, 2003. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0130:GRFDIT]2.0.CO;2

WENDLER, C.; BARNISKE, M.; WILD, A. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and photorespiration of C3 and C4 plants. **Photosynthesis Research**, v. 24, n. 1, p. 55-61, 1990. doi:10.1007/BF00032644

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; TAN, Y.; PLOPER, L. D.; PORTA-PUGLIA, A. *et al.* Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 23, n. 2, p. 115-121, 2001. doi:10.1080/07060660109506918

XAVIER, S. A.; KOGA, L. J.; BARROS, D. C. M.; CANTERI, M. G.; LOPES, I. de O. N.; GODOY, C. V. Variação da sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da desmetilação no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 191-196, 2015. doi:10.1590/0100-5405/2068

YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; FREDERICK, R. D.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; HARTMAN, G. E. *et al.* Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. **Plant Disease**, v. 89, n. 6, p. 675-677, 2005. doi:10.1094/PD-89-0675.