**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Efeito da limitação hídrica no patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja

Leonardo Gava Mataram

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2021**

Leonardo Gava Mataram
Engenheiro Agrônomo

Efeito da limitação hídrica no patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **ARMANDO BERGAMIN FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Mataram, Leonardo Gava

Efeito da limitação hídrica no patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja / Leonardo Gava Mataram. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

41 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Déficit hídrico 2. Estresses abióticos 3. Ferrugem-asiática da soja 4. Mudanças climáticas I. Título

Aos meus pais, Antonio Laércio Mataram e Claudia Eliane Gava Mataram

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

primeiramente a Deus, por minha vida, capacidade e oportunidade em estar realizando esse curso;

aos meus pais, pelo apoio e incentivo, à quem tenho amor, carinho e eterna gratidão;

à meu orientador Prof. Dr. Armando Bergamin Filho pelo: conhecimento, auxílio e apoio desde o início do presente trabalho;

à Prof^a. Dr^a. Lilian Amorim por todo acompanhamento e conhecimentos concedidos no decorrer do trabalho;

à Dr^a. Cláudia Vieira Godoy pela orientação e acolhimento durante o desenvolvimento dos ensaios na Embrapa – Soja;

à Natalia Caetano Vasques pelo companheirismo, apoio e auxílio constante;

à todos os funcionários e colaboradores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP;

à todos os funcionários e colaboradores do laboratório de Fitopatologia da Embrapa – Soja, em especial, Allan Misael Flausino, Helen Prudente, Ludiane Mariana de Araújo e Manoela Micheletti;

aos amigos Luís F. M. Vanzella, Manoel Penachio Gonçalves, Raquel Rosa Ribeiro e Jéssica Maria Israel de Jesus por todo apoio durante o curso;

à Universidade de São Paulo pela estrutura e oportunidade de realizar o curso e trabalho;

e a todos (as) que não tenha citado, que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

OBRIGADO !

"The highest that we can attain is not knowledge, but sympathy with intelligence"

Henry David Thoreau

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. Cultura da soja	11
2.2. Limitação hídrica e sua influência em soja	12
2.3. Ferrugem-asiática da soja.....	13
2.4. Fatores abióticos e ocorrência de doenças	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Origem e manutenção do isolado	17
3.2. Determinação do estado de limitação hídrica	17
3.3. Avaliação dos componentes monocíclicos	20
3.4. Interferência de <i>P. pachyrhizi</i> nas trocas gasosas de plantas de soja.....	21
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Determinação de f	23
4.2. Componentes monocíclicos	24
4.3. Trocas gasosas.....	28
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	37

RESUMO

Efeito da limitação hídrica no patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja

A ferrugem-asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* é a principal e mais agressiva doença da soja no Brasil. Entre as perturbações do ambiente abiótico que afetam pronunciadamente o desenvolvimento da cultura da soja, destaca-se o déficit hídrico. Com o avanço do aquecimento global e as mudanças climáticas decorrentes desse processo, a frequência de fatores bióticos e abióticos estressantes às culturas, bem como a presença conjunta de ambos, tende a mudar. É essencial ao entendimento do patossistema a realização de estudos que concatenem a interferência de fatores abióticos adversos, como o déficit hídrico, e seu efeito na infecção por *P. pachyrhizi*, bem como o valor fisiológico e epidemiológico dessa interação. O presente trabalho teve como objetivo descrever o efeito da limitação hídrica na dinâmica de desenvolvimento da ferrugem-asiática da soja e a interferência combinada de ambos sobre a planta no ambiente pós infecção. Para tal fim, plantas de soja inoculadas com o patógeno, bem como plantas controle sadias, foram cultivadas sob limitação hídrica e em regime normal de disponibilidade de água. Foram avaliados os componentes monocíclicos e a eficiência de trocas gasosas. Não houve variação dos períodos de latência e incubação, tampouco da taxa de progresso da frequência de infecção (uredínias/cm²) para as condições testadas. A severidade da doença foi significativamente superior para as plantas em estado de limitação hídrica. Os parâmetros assimilação líquida de CO₂, condutância estomática e taxa de transpiração foram reduzidos tanto pela limitação hídrica como por ação do patógeno, entretanto não houve efeito aditivo dos estresses. A taxa fotossintética relativa (P_x/P_o) apresentou tendência de decréscimo linear para ambas condições, ao passo que a severidade da doença evoluiu exponencialmente para as plantas em limitação hídrica. Assim, a alteração descrita para o padrão da dinâmica de desenvolvimento de *P. pachyrhizi* em condições de limitação hídrica lança uma luz à conjuntura à qual pesquisadores e produtores devem atentar-se para o manejo da doença em regiões que podem ter seu regime hídrico alterado em um futuro próximo, devido ao cenário de mudanças climáticas vigentes, evitando assim a ocorrência de danos financeiros e sociais decorrentes da atividade do patógeno.

Palavras-chave: Déficit hídrico, Estresses abióticos, Ferrugem-asiática da soja, Mudanças climáticas

ABSTRACT

Effect of water limitation in the pathosystem *Phakopsora pachyrhizi*-soybean

Soybean Asian rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* is the main and most aggressive disease affecting soybeans in Brazil. Amid all the abiotic perturbations that pronouncedly affect the development of soybeans, hydric deficit is the most important. With the progress of global warming and the climatic changes resulting from this process, the frequency of biotic and abiotic stresses affecting crops, as well as the joint presence of both, is bound to change. It is essential to the understanding of the pathosystem to carry out studies that collate the interference of adverse biotic factors, as the hydric deficit, and its effect on the infection by *P. pachyrhizi*, as well as the physiological and epidemiological value of this interaction. The present procedure had as main goal to describe the effects of water limitation on the dynamics of development of the soybean Asian rust and the joint interference of both over the plant in the post infection environment. For this purpose, soybeans plants inoculated with the pathogen, as well as healthy control plants, were cultivated under water limitation and normal regime of water. The monocyclic compounds and the efficiency of gas exchanges were evaluated. There was no variation on the latent and incubation periods, nor over the rate of progress of frequency of infection (uredine/cm²) for the tested conditions. The disease severity was significantly superior for the plants in state of water limitation. Both, water limitation and the pathogen reduced the parameters liquid assimilation of CO₂, stomatal conductance and tax of transpiration; however, there was no addictive relation of the stresses. The liquid assimilation of CO₂ showed tendency of linear decrease for both conditions, whereas the disease severity increased exponentially for the plants in water limitation. Therefore, the alteration of the pattern of development of *P. pachyrhizi* portrayed in water limitation conditions sheds a light on the scenario which researchers and farmers must pay attention for the correct management of the disease in regions that may have their hydric regime changed in a new future, due to climatic changes, then avoiding the occurrence of financial e social losses arising from the activity of the pathogen.

Keywords: Biotic stresses, Climatic changes, Hydric deficit, Soybean Asian rust

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma cultura agrícola bastante difundida na esfera nacional e internacional. Isso muito se deve à sua alta adaptabilidade aos mais variados tipos de solo, latitudes e condições climáticas. Além de ser uma espécie bastante resiliente, a soja é uma fonte de qualidade e baixo custo tanto de proteína como de óleo vegetal, cenário perfeito para concretizar o grão e seus derivados como substrato essencial para a alimentação humana, animal e vários processos industriais.

Estima-se que em 2019 a produção mundial foi de 336,59 milhões de toneladas. O Brasil ocupa a posição mais alta no ranking mundial referente a produção da oleaginosa, com volume estimado para a safra 2020/21 de 133 milhões de toneladas, seguido pelos EUA com 117,38 milhões de toneladas projetadas para a safra 2020 (USDA, 2020).

Vários são os fatores passíveis de restringir a produção e qualidade de grãos de soja, os quais são classificados em bióticos e abióticos. Entre os fatores abióticos destacam-se extremos em disponibilidade de nutrientes, temperatura e umidade. Já entre os fatores bióticos pode-se destacar a ocorrência de doenças, insetos e plantas daninhas (HARTMAN; WEST; HERMAN, 2011).

Dentre as flutuações do ambiente abiótico destaca-se o déficit hídrico. A ocorrência de déficits hídricos é um fator adverso ao desenvolvimento de plantas cultivadas em todo mundo. Sua ocorrência é capaz de alterar o comportamento das espécies vegetais de várias maneiras, podendo o resultado ser irreversível (SANTOS; CARLESSO, 1998). Apesar do alto nível tecnológico aplicado na maioria das áreas produtoras de soja no Brasil, a disponibilidade hídrica mantém-se o principal fator limitante à máxima expressão do potencial produtivo da cultura no país (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

A ferrugem-asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* Syd & P. Syd é a principal e mais severa doença da soja no Brasil (LANGENBACH et al., 2016; XAVIER et al., 2017). A ocorrência da doença é atrelada às condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno. As condições ótimas para a infecção de *P. pachyrhizi* e ocorrência da doença são temperaturas entre 22 e 23 °C e mais de 6 horas de molhamento foliar (LI et al., 2010).

Objetivando o aumento da produtividade das culturas, faz-se necessário o entendimento dos mecanismos relacionados às respostas da planta quando exposta a diferentes combinações de fatores estressantes bióticos e abióticos (ZHANG; SONNEWALD, 2017). No que diz respeito ao desenvolvimento de patógenos, sabe-se que a severidade da doença

resultante é favorecida mediante a exposição das plantas a déficit hídrico, salinidade, temperaturas muito elevadas ou muito baixas e deficiências nutricionais (SUZUKI et al., 2014).

É essencial ao entendimento do patossistema a realização de estudos que concatenem a interferência de fatores abióticos adversos e seu efeito sob a infecção por *P. pachyrhizi*, bem como o valor fisiológico e epidemiológico dessa interação. É verdade, porém, que muitos estudos relacionam fatores extremos e sua influência no desenvolvimento de doenças, entretanto, poucos delineamentos buscam evidenciar o efeito de condições estressantes mais brandas e prolongadas (GONÇALVES et al., 2017; COHEN et al., 2020). Tal relação tem grande aplicação prática no desenvolvimento de estratégias de manejo da doença.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo descrever o efeito da limitação hídrica na dinâmica de desenvolvimento da ferrugem-asiática da soja. Foram abordados nos experimentos condições estressantes menos severas e mais prolongadas em detrimento de condições extremas e agudas, as quais, segundo a literatura disponível, inibem de forma severa o desenvolvimento da doença e da planta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultura da soja

Estima-se que a soja tenha sua origem datada em 3000 a 5000 anos atrás na China antiga. A teoria mais aceita é de que agricultores chineses foram os primeiros a induzirem combinações da vasta diversidade genética de uma espécie selvagem (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) resultando na cultura que hoje denominamos soja domesticada (CARTER et al., 2004).

A cultura da soja ocupa atualmente uma área mundial estimada em 127,6 milhões de hectares. A maior parte desta área está localizada no Brasil, que possui 38,6 milhões de hectares da cultura, seguido pelos Estados Unidos da América, com 33,3 milhões de hectares. No tocante à produção, o Brasil se mantém na posição mais alta no ranking mundial, com volume projetado para a safra 2020/21 de 133 milhões de toneladas, seguido pelos EUA com 117,38 milhões de toneladas projetadas para a safra 2020. Ao comparar a produtividade de ambos países líderes em produção mundial, o Brasil continua a figurar o topo do ranking, com 3,45 ton/ha, ao passo que os EUA tem produtividade projetada de 2,9 ton/ha. Para a safra 2019/2020 a produção mundial do grão atingiu a marca de 336,59 milhões de toneladas (USDA, 2020). Segundo dados da EMBRAPA (2018), os maiores produtores de soja no Brasil são os estados de Mato Grosso (31,9 milhões de toneladas), Paraná (19,1 milhões de toneladas) e Rio Grande do Sul (17 milhões de toneladas).

A soja é um dos principais produtos de exportação do agronegócio brasileiro, e também a cultura que mais cresceu em território nacional nas últimas três décadas. O setor agro, por sua vez, é um dos mais influentes na balança comercial da economia brasileira (OLIVEIRA et al., 2018).

Do ponto de vista constitutivo, o grão da maioria das cultivares de soja possui na faixa de 30 a 45% de proteína e 15 a 25% de óleo (BORDINGNON; MANDARINO, 1994). Do montante total produzido do grão estima-se que 10% seja usado de forma direta, os restantes 90% são processados ou exportados para posterior processamento. Do volume total processado ao redor de 79% é convertido em farelo e 19% em óleo, considerando-se as perdas no processos industriais. No que diz respeito ao farelo, ao redor 98% é utilizado na alimentação animal, 1,5% em produtos para a alimentação humana e 0,5% é direcionado para a indústria. Já quanto ao óleo, ao redor de 85% é utilizado na alimentação humana e 15% na geração de energia e aplicação industrial (GOLDSMITH, 2008).

Os fatores que restringem a produção de soja mundialmente podem ser divididos em dois grupos, os abióticos, relacionados diretamente às condições edafoclimáticas da área cultivada, e bióticos, que dizem respeito a insetos, doenças e plantas daninhas (HARTMAN; WEST; HERMAN, 2011). Dado o clima tropical e a extensa área cultivada, o Brasil lida constantemente com desafios no controle de insetos e doenças que afetam a produtividade (CATTELAN; DALL'AGNOL, 2018). Todavia, a cultura da soja mantém-se como uma leguminosa de proeminente importância aos sistemas agrícolas mundiais, tanto do ponto de vista socioeconômico, quanto ambiental. Isso é muito devido ao caráter rústico e menos vulnerável aos fatores adversos acima citados, em comparação à outras culturas leguminosas (LAMICHHANE et al., 2020).

2.2. Limitação hídrica e sua influência em soja

A ocorrência de limitações ou déficits hídricos é um fator adverso ao desenvolvimento de plantas cultivadas em todo mundo, podendo ainda ser considerado bastante recorrente para muitas regiões e culturas. A ocorrência dessa flutuação no ambiente abiótico é capaz de alterar o comportamento das espécies vegetais de várias maneiras, podendo o resultado ser irreversível. O cômputo das alterações resultantes dependerá do genótipo da planta, de seu estágio de desenvolvimento e da duração e severidade do estresse (SANTOS; CARLESSO, 1998).

Segundo Taiz e Zeiger (2013), os principais efeitos primários do déficit hídrico são redução do potencial hídrico (ψ_w), desidratação celular e resistência hidráulica. Como consequência dessas perturbações fisiológicas vários efeitos secundários podem sobrevir, entre eles notadamente a redução na expansão celular, diminuição das atividades celulares e metabólicas, fechamento estomático, inibição fotossintética, produção de espécies reativas de oxigênio, citotoxicidade iônica, além de várias outras perturbações decorrentes das já citadas, o que resulta, em última instância, em morte celular e de tecidos.

Vários mecanismos são utilizados pelas plantas visando superar as condições adversas impostas pelo déficit hídrico. Entre estes, destacam-se a síntese de prolina (VENDRUSCOLO et al., 2007) e hormônios, entre eles notadamente o ácido abscísico (ABA) (TAIZ; ZEIGER, 2013). O acúmulo de prolina está provavelmente relacionado ao ajuste osmótico das células com o objetivo de reduzir os efeitos danosos acarretados em condições adversas ao seu desenvolvimento normal (KISHOR et al., 1995). A ação do ABA está relacionada ao aumento da produção de biomassa de raiz em detrimento de parte aérea, fator esse que garante um maior aproveitamento da água disponível no solo (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Apesar do alto nível tecnológico aplicado na maioria das áreas produtoras de soja no Brasil, a disponibilidade hídrica mantém-se o principal fator limitante à máxima expressão do potencial produtivo da cultura no país (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007). As principais alterações resultantes da exposição de plantas de soja ao déficit hídrico foram a redução no conteúdo relativo de água, no tamanho das plantas, no número de folhas, na massa seca da parte aérea e o aumento na massa seca de raiz (LOBATO et al., 2008).

2.3. Ferrugem-asiática da soja

O agente causal da ferrugem-asiática da soja é o fungo basidiomiceto *Phakopsora pachyrhizi*. (Domínio Eukaryota; Reino Fungi; Filo Basidiomycota; Ordem Uredinales; Classe Urediniomycetes; Família Phakopsoraceae (<http://www.indexfungorum.org>).

A origem de *P. pachyrhizi* acredita-se ter ocorrido na Ásia-Austrália. O primeiro relato do patógeno ocorreu no Japão em 1902, seguido de relatos em outros países da Ásia, sul da Austrália e no continente africano (BROOMFIELD; HARTWING, 1980; LEVY, 2005). No novo mundo o patógeno foi primeiramente identificado na década de 90 como infestante no Havaí. Na América do Sul o primeiro registro data de 2001 em algumas regiões do Brasil e do Paraguai, de onde o patógeno se alastrou rapidamente para outras áreas circundantes. Em 2004 o patógeno foi reportado no sul do domínio continental dos Estados Unidos da América, e algum tempo mais tarde infectando campos de soja no norte desse mesmo país (GOELLNER et al., 2010; YORINORI et al., 2005).

O fungo *P. pachyrhizi* é um parasita obrigatório capaz de produzir urediniósporos e teliósporos. Os urediniósporos têm importância na ocorrência de epidemias. A manutenção do inóculo do fungo em condições de campo ocorre por meio da multiplicação de urediniósporos em outros hospedeiros e em plantas espontâneas de soja. É conhecida a existência de mais de 90 hospedeiros de *P. pachyrhizi* além da soja (SLAMINKO et al., 2008). Em regiões de invernos intensos a manutenção do fungo em outros hospedeiros durante o período frio requer temperaturas maiores que 4°C (JURICK et al., 2008).

Os sintomas da doença são mais comuns e característicos em folhas. Inicialmente surgem pequenos pontos escurecidos que acompanham protuberâncias na face abaxial das folhas, denominadas uredínias. De forma progressiva as uredínias adquirem coloração castanha e são marcadas pela formação de um pequeno poro, à partir do qual emergem os urediniósporos (Figura 1). Esses, por sua vez, assumem coloração bege e acumulam-se ao redor dos poros ou são dispersos pelo vento. Com o avanço da esporulação, o tecido vegetal ao redor das uredínias

assume coloração castanho-clara a castanho-avermelhada, as quais são denominadas lesões do tipo TAN e reddish-brown (RB) respectivamente. As folhas que apresentam alta concentração de lesões amarelecem e caem precocemente (Figura 2), o que compromete todo o processo de formação e enchimento de vagens, resultando em menor peso final de grãos e reduzida qualidade de sementes (GODOY et al., 2016).

Figura 1. Uredínias com extensiva produção de urediniósporos em folha de soja cultivar BRS 284. Londrina, PR. 2020.

Figura 2. Plantas de soja, cultivar BRS 284, com amarelecimento e queda de folhas decorrentes da infecção por *Phakopsora pachyrhizi*. Londrina, PR. 2019.

A infecção de *P. pachyrhizi* ocorre em um intervalo de temperatura de 10 a 27°C, entretanto a máxima eficiência do processo infeccioso é relatada entre 22 e 23°C. Também,

além da temperatura, a infecção requer molhamento foliar contínuo superior a 6 horas (MELCHING et al., 1989; ALVES; FURTADO; BERGAMIN FILHO, 2006). Após ocorrida a infecção, o desenvolvimento da doença em plantas de soja é favorecido por temperaturas entre 17 e 27°C e suprimido em temperaturas que excedam 30°C (MELCHING et al., 1989; ALVES; FURTADO; BERGAMIN FILHO, 2006).

A utilização de fungicidas é, atualmente, a maneira mais eficaz de controlar a ferrugem-asiática da soja (LANGENBACH et al., 2016). Os custos do controle químico no Brasil são estimados em US\$ 2 bilhões por ano, valor este composto basicamente pela média de 3 aplicações de fungicidas anuais (GODOY; BUENO; GAZZIERO, 2015). Estratégias para redução do inóculo durante a entressafra, com a restrição de semeadura de soja por períodos de 60 a 90 dias, tem sido adotada no Brasil desde 2006. Outra vertente utilizada em auxílio ao controle da doença é a resistência genética. Já foram registradas cultivares com um ou mais genes de resistência à *P. pachyrhizi*. Esses genes são denominados de Rpp (resistência à *P. pachyrhizi*) e foram mapeados em pelo menos 7 loci diferentes até a atualidade (CHILDS; BUCK; LI, 2018). Além da resistência genética, cultivares precoces semeadas no início da safra de soja auxiliam no escape da doença.

2.4. Fatores abióticos e ocorrência de doenças

Plantas que se desenvolvem em ambientes naturais não controlados são usualmente privadas de expressarem a completude de seu potencial genético, estado esse denominado comumente de estresse (BOYER, 1982). Sabe-se que, normalmente, os cultivos estão submetidos à um conjunto concomitante de estresses em detrimento de uma classe isolada de fatores estressantes, sendo essa a situação mais letal para as culturas (MITTLER, 2006).

A ocorrência de um ou um conjunto de estresses bióticos e abióticos (seca, excesso de água, altas e baixas temperaturas, salinidade, etc.), mais do que uma mera relação aditiva, resulta em um novo estado de estresse diferente daquele expresso pela planta quando submetido a cada condição estressante individualmente (ATKINSON; URWIN, 2012).

A interação entre diferentes formas de estresses bióticos e abióticos pode ser computada como negativa ou positiva face ao desenvolvimento das espécies vegetais (MITLER, 2006; SUZUKI et al., 2014). No que diz respeito ao desenvolvimento de patógenos, sabe-se que as interações negativas mais pronunciadas são decorrentes da exposição das plantas ao déficit hídrico, salinidade, temperaturas muito elevadas ou muito baixas e deficiências nutricionais (SUZUKI et al., 2014).

Com o avanço do aquecimento global e as mudanças climáticas decorrentes desse processo, a frequência de fatores bióticos e abióticos estressantes às culturas, bem como a presença conjunta de ambos, tende a mudar (KISSOUDIS et al., 2015). No tocante às doenças de plantas, a influência das mudanças climáticas para um patossistema considerado é função do efeito que essas mudanças gerarão tanto no hospedeiro quanto no patógeno, sendo o epílogo expresso pelo resultante da interação entre ambos (BOLAND et al., 2004). Por conseguinte, objetivando o aumento da produtividade das culturas nesse cenário de alterações, faz-se necessário o entendimento dos mecanismos relacionados às respostas da planta quando exposta a diferentes combinações de fatores estressantes bióticos e abióticos (ZHANG; SONNEWALD, 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Origem e manutenção do isolado

O isolado de *P. pachyrhizi* utilizado é originário da coleção de microrganismos da Embrapa Soja e foi mantido e multiplicado em plantas de soja envasadas da cultivar BRS 284. As plantas foram inoculadas com suspensões na concentração de 10^5 urediniósporos.mL⁻¹ com auxílio de um pulverizador manual. As inoculações foram realizadas ao final da tarde e as plantas mantidas em casa-de-vegetação com controle de temperatura ($26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) e umidade por nebulização.

3.2. Determinação do estado de limitação hídrica

Foram utilizados vasos contendo mistura de terra e areia de modo que o substrato final apresentava teor de ao redor de 15% de argila, caracterizando uma textura arenosa. A primeira etapa na determinação da limitação hídrica foi o acondicionamento dos vasos na capacidade de campo (CC) ou, nesse caso, capacidade de vaso (CV). A umidade na CV foi determinada por meio da metodologia proposta por Casaroli e van Lier (2008). Os vasos foram dispostos em uma caixa d'água de forma que o nível de água atingisse pelo menos metade da altura do vaso. O substrato foi então saturado por fluxo ascendente de água durante 24 h. Em seguida os vasos foram retirados do ambiente de saturação e mantidos em casa-de-vegetação por 72 h para drenagem da água gravitacional. Durante esse período os vasos foram vedados em sua superfície com auxílio de filme plástico e elástico visando evitar a perda de água por evaporação. Ao final das 72 h de drenagem foram determinados a umidade do substrato e o peso dos vasos. Foram esses a umidade na CV e o peso do vaso na CV.

A umidade no ponto de murcha permanente (PMP) foi estimada através de um psicrômetro modelo WP4-T (Decagon® Devices®, Pullman, Washington, USA) segundo a metodologia proposta e validada por Klein e colaboradores (2010). Para tal fim o substrato presente em um vaso foi peneirado (crivos de 2 mm) e a terra fina resultante seca ao ar (TFSA) e posteriormente submetida a análise no aparelho já citado. A análise é fundamentada em uma amostra de solo úmido com estrutura deformada (TFSA) disposta dentro de uma câmara hermeticamente fechada, dentro da qual a umidade equilibra-se com o potencial de água no solo, sendo esse calculado com base na temperatura do solo e do ar, no ponto de orvalho. O PMP é definido como a umidade do solo a -1,5 Mpa (SCANLON et al., 2002).

O intervalo entre a umidade na capacidade de vaso e a da terra fina seca ao ar representa a capacidade de água disponível do solo (CAD). O fator de disponibilidade (f) definido para a cultura pela literatura pertinente é de 50% da CAD (ALLEN et al., 1998). O valor de f determina a porcentagem da CAD que cada cultura é capaz de aproveitar sem que se configure um estado de limitação hídrica. O valor de f indicado pela literatura foi corrigido antes da realização de cada experimento. Esse teste inicial deve ocorrer considerando que o valor de f determinado para dada cultura depende das condições atmosféricas vigentes, podendo variar consideravelmente dada a condição na qual o experimento é desenvolvido.

Tal teste consistiu em submeter plantas de soja da mesma cultivar utilizada para o experimento principal, no mesmo estágio fenológico e considerando as mesmas condições atmosféricas, a diferentes níveis de limitação hídrica determinados por valores de f que flutuem ao redor daquele indicado pela literatura. O estado fisiológico das plantas foi aferido mediante a avaliação da eficiência das trocas gasosas correntes nos diferentes níveis de limitação hídrica com auxílio de um analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). O parâmetro utilizado para a seleção do valor de f que mais se adapta à temática do presente trabalho é melhor explanado na seção 4.1.

Determinado o valor de f mais adequado para as condições vigentes, o controle da umidade do solo para manutenção do estado de limitação hídrica foi feito de acordo com a metodologia proposta por Frizzzone (2017). Para essa metodologia o peso dos vasos na CV foi registrado e esse relacionado com a umidade previamente definida para o mesmo ponto. Esta relação torna possível aferir o teor de água dos vasos com base em seu peso. A reposição de água aconteceu assim que o peso dos vasos em limitação hídrica foi inferior àquele que se espera para um teor de água relativo à fração da CAD determinada pelo valor de f , nunca ultrapassando este valor. Os vasos não acondicionados em limitação hídrica foram mantidos com teor de água relativo a 80% da CAD durante todo o experimento.

Foram aplicados quatro tratamentos, correlacionando a presença ou ausência da limitação hídrica e do patógeno (Figura 3), com cinco repetições cada, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Cada repetição foi constituída por um vaso com quatro plantas de soja. Foram utilizadas plantas de soja da cultivar BRS 284, semeadas e conduzidas em casa-de-vegetação ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o estágio V4. O experimento foi realizado duas vezes.

Em V4, as plantas foram transferidas para câmara de incubação (S.S. Santana – Refrigeração Científica, Londrina, PR, Brasil) com controle de temperatura, umidade e fotoperíodo. As plantas foram mantidas a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 60% de umidade relativa e fotoperíodo de 14 h de luz/ 10 h de escuro. No mesmo momento, tais plantas foram inoculadas com suspensão na

concentração de 5.10^5 urediniósporos.mL⁻¹ com auxílio de um pulverizador manual. A suspensão foi preparada a partir de esporos coletados em plantas multiplicadoras (BRS 284) mantidas em casa de vegetação, e calibrada com auxílio de hemacitômetro do tipo Neubauer. Foi utilizada água destilada como agente diluidor, em combinação com álcool 70% (0,05% v/v), visando melhor dispersão dos esporos em solução. Após a inoculação as plantas foram mantidas no escuro por 12 h enquanto submetidas a câmara úmida. Para aplicação da câmara úmida os vasos foram envoltos por saco plástico transparente previamente umedecido.

	Limitação hídrica	Inóculo
+	-
-	-
-	+
+	+

Figura 3. Esquema ilustrativo dos tratamentos aplicados, apresentando as devidas combinações de limitação hídrica e presença do patógeno.

As plantas foram submetidas a limitação hídrica 48 horas após a inoculação, considerados os tratamentos que assim exigiam. Foram avaliados os componentes monóclicos: período de incubação e latente, frequência de infecção e severidade da doença e as variáveis relacionadas às trocas gasosas das plantas (assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂ e a taxa de transpiração), bem como sua relação com a severidade da doença. A avaliação das trocas gasosas permitem inferir a eficiência fotossintética das plantas.

3.3. Avaliação dos componentes monocíclicos

Para a aferição dos componentes monocíclicos foram realizadas avaliações a cada 3 ou 4 dias. Foram avaliados os folíolos centrais dos 1º, 2º e 3º trifólios completamente expandidos no momento da inoculação (V4), em uma planta por vaso, desde a retirada da câmara úmida até a estabilização da severidade da doença.

Os parâmetros estimados foram: período de incubação (tempo entre a inoculação e aparecimento de 50% das lesões), período latente (tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% de lesões com esporulação), frequência de infecção (uredínias por cm² de folhas) e a severidade da doença (porcentagem de área com lesões).

Para a avaliação da severidade foi considerado um quadrante de 4 cm², previamente e aleatoriamente marcado em cada folha avaliada com auxílio de um molde (Figura 4). A área resultante das lesões, tendo em conta a área ocupada pelas uredínias e a seu entorno clorótico ou necrótico, foi transferida para um filme plástico com auxílio de uma caneta permanente. As imagens foram posteriormente analisadas com auxílio do software Quant (VALE et al., 2001), e os dados transformados em porcentagem de área com lesões. Os dados de severidade no decorrer do tempo foram ajustados em um modelo exponencial [$y(t) = x_0 * \exp(rt)$] através do software STATISTICA v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os coeficientes das regressões para ambas replicatas do experimento foram comparados mediante aplicação do teste t de Student. Uma nova regressão foi realizada para o conjunto de dados de ambos experimentos quando os coeficientes não diferiram estatisticamente. Os tratamentos foram comparados mediante a aplicação do teste t de Student ($\alpha = 0,05$) aos parâmetros das regressões conjuntas.

A frequência de infecção (uredínias por cm² de folha) foi determinada para um quadrante de 1 cm², marcado em cada folha avaliada da mesma forma que o realizado para avaliação de severidade (Figura 4). O número de uredínias dentro do quadrante foi determinado com auxílio de uma lupa de aumento de 10x. Os dados obtidos foram normalizados para o maior valor de cada experimento (fixado como 1), e a proporção analisada no decorrer do tempo. A proporção de uredínias foi ajustada em um modelo monomolecular [$y(t) = y_{max} * (1 - y_0 * \exp(-r * t))$] com auxílio do programa STATISTICA v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Para tal modelo $y(t)$ é correspondente a proporção de uredínias em um dado momento; y_0 , ao inóculo inicial; r , a taxa de progresso da proporção de uredínias; y_{max} , a assíntota; t , ao tempo expresso em dias após a inoculação (PRIMIÃO, 2019). Da mesma forma que para a regressão dos dados de severidade, os parâmetros do modelo para ambas replicatas do experimento foram comparados mediante aplicação do teste t de Student. Uma nova regressão foi realizada para o conjunto de

dados de ambos experimentos quando os coeficientes não diferiram estatisticamente. Os tratamentos foram comparados mediante a aplicação do teste t de Student ($\alpha = 0,05$) aos valores de r para cada condição de disponibilidade hídrica.

Figura 4. Demarcações em folha de soja utilizadas para avaliação de frequência de infecção (1 cm²) e severidade da doença (4 cm²). Londrina, PR. 2019.

3.4. Interferência de *P. pachyrhizi* nas trocas gasosas de plantas de soja

O estado fisiológico das plantas foi aferido mediante a avaliação de parâmetros relacionados às trocas gasosas das plantas nos diferentes tratamentos considerados. Foi empregado para tal fim um analisador portátil de gás infravermelho Li-6400 XT equipado com uma câmara de leitura do tipo fluorômetro (6400-40, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA) e utilizando 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de concentração ambiental de CO₂ na câmara, 500 $\mu\text{mol s}^{-1}$ de fluxo de ar, e temperatura ambiente (25 °C). As avaliações foram realizadas semanalmente, a partir do aparecimento dos sintomas até a estabilização da severidade da doença, em uma área de 2 cm² (área do leitor) do folíolo central do 3° trifólio expandido de três planta por vaso. Tais plantas não foram utilizadas para avaliação dos componentes monocíclicos citados no item 3.3.

Os parâmetros avaliados foram: assimilação líquida de CO₂ (P), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO₂ (C_i) e taxa de transpiração (E). Tais parâmetros foram analisados no formato de espectro, considerada sua elevada variação para um mesmo tratamento.

Ainda, os dados referentes a assimilação líquida de CO₂, foram transformados em proporção relativa ao valor médio de 3 folhas saudáveis em condições normais de disponibilidade hídrica (P_x/P_o ou taxa fotossintética relativa), onde a variável seguida da letra 'x' é obtida de plantas doentes, e aquela seguida pela letra 'o' das plantas saudáveis já citadas (PRIMIANO, 2019). A variação de P_x/P_o ao longo do tempo foi analisada para ambos os tratamentos buscando-se identificar diferenças entre os mesmos.

A severidade da doença na área foliar avaliada foi determinada da mesma forma que o denotado no item 3.3. A área avaliada corresponde à câmara do analisador portátil que, para o modelo considerado, é de 2 cm². Essa área foi previamente marcada nas folhas avaliadas com auxílio de um molde. Os dados referentes a severidade da doença foram ajustados em um modelo exponencial com auxílio do software STATISTICA v.7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os tratamentos foram comparados mediante a aplicação do teste t de Student ($\alpha = 0,05$) aos coeficientes das regressões conjuntas.

4. RESULTADOS

4.1. Determinação de f

Foram testados fatores de disponibilidade (f) de 70, 60, 50, 40 e 20%, sendo o último o valor de referência para uma planta em estado normal de disponibilidade hídrica. Os tratamentos foram avaliados em quatro repetições, cada uma constituída por um vaso com quatro plantas. As plantas foram mantidas em uma câmara de incubação (S.S. Santana – Refrigeração Científica, Londrina, PR, Brasil) a 23 °C, 60% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h de luz/ 12 h de escuro. As leituras foram realizadas a partir de V4 sempre no folíolo central do terceiro trifólio expandido de cada planta para cada repetição. Foram realizadas cinco leituras, uma a cada dois dias. Os valores de assimilação líquida de CO₂ (P $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO₂ (C_i $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol air}^{-1}$) e taxa de respiração (E $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram analisados no formato de espectro. Isso fez-se necessário visto a grande variação que os mesmos podem apresentar em função da planta avaliada.

Observou-se, como esperado, que com o aumento do fator de disponibilidade, ou seja, do nível de limitação hídrica, os valores de P , g_s e E foram reduzidos em relação a referência, em estado de normal de disponibilidade hídrica. Os valores de C_i comportaram-se de forma instável entre os tratamentos. Determinou-se que o nível moderado de limitação hídrica desejado para a condução dos experimentos posteriores foi aquele em que $f = 60\%$. Isso infere-se visto que houve uma redução significativa, porém não exacerbada, das trocas gasosas avaliadas no presente delineamento. Reduções pronunciadas de tais parâmetros, como aquelas encontradas para $f = 70\%$, refletem um estado extremo de limitação hídrica, o que não corresponde a temática do presente trabalho.

Tabela 1. Espectro de valores de assimilação líquida de CO₂ (P $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO₂ (C_i $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol air}^{-1}$) e taxa de respiração (E $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para os diferentes níveis de limitação hídrica testados. Desvio padrão em parênteses.

	P	g_s	C_i	E
$f = 70\%$	0,15 (1,12) 3,8	0,007 (0,09) 0,281	110 (133,46) 554	0,10 (0,13) 0,79
$f = 60\%$	3,35 (1,75) 7,69	0,022 (0,01) 0,056	104 (39,28) 263	0,39 (0,28) 1,33
$f = 50\%$	3,72 (1,71) 8,38	0,029 (0,01) 0,062	163 (15,83) 204	0,61 (0,20) 1,36
$f = 40\%$	6,13 (1,61) 11,3	0,065 (0,03) 0,194	181 (25,26) 278	1,71 (0,78) 4,35
$f = 20\%$	12,3 (1,10) 15,5	0,155 (0,04) 0,279	236 (17,57) 278	3,09 (0,63) 4,89

4.2. Componentes monocíclicos

Para ambas condições de disponibilidade hídrica delineadas (déficit e normal), os períodos de incubação e latência apresentaram valores idênticos, havendo sincronia entre esses para ambas repetições do experimento. Para o experimento 1, tanto latência como incubação, para ambas condições de disponibilidade hídrica, foram de 10,5 dias, ao passo que, para o experimento 2, foram de 10 dias. A taxa de progresso do número de uredínias não diferiu estatisticamente para ambas condições de disponibilidade hídrica, assumindo valores de 0,17 uredínias.dia⁻¹ (Tabela 2 e Figura 5a) para as plantas em condição normal, e 0,11 uredínias.dia⁻¹ para as plantas em limitação hídrica (Tabela 2 e Figura 5b).

Tabela 2. Parâmetros e erros (em parênteses) estimados para o modelo monomolecular ajustado às curvas de progresso de infecção (proporção de uredínias) de *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja ‘BRS 284’, para plantas mantidas em condições normais e de limitação hídrica.

Parâmetros ^a	Uredínias (proporção)	
	Normal ¹	Limitação hídrica ¹
y_{max}	1,06	1,15
(erro)	(0,03)	(0,07)
Y_0	-2,94	-1,83
(erro)	(-0,45)	(-0,29)
r	0,17	0,11
(erro)	(0,02)	(0,02)
R^2	0,95	0,93

^aCoefficiente de determinação (R^2) e parâmetros estimados através do modelo monomolecular $y(t) = y_{max} * (1 - y_0 * \exp(-r * t))$, em que $y(t)$ é correspondente a proporção de uredínias em um dado momento; y_0 , ao inóculo inicial; r , a taxa de progresso da proporção de uredínias; y_{max} , a assíntota; t , ao tempo expresso em dias após a inoculação.

¹Análise realizada para o conjunto de dados de ambas repetições do experimento.

Figura 5. Curvas de progresso da frequência de infecção (proporção de uredínias) em função do tempo (dias após a inoculação) de *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja ‘BRS 284’, para plantas mantidas em condições normais (a) e de limitação hídrica (b). Tanto o primeiro (círculos pretos) como o segundo (círculos brancos) experimentos são apresentados. O modelo monomolecular ($y(t) = y_{max} * (1 - y_0 * \exp(-r * t))$) foi ajustado para o conjunto de dados de ambos experimentos.

De forma antagônica ao avanço da frequência de infecção de *P. pachyrhizi* ao longo do tempo, a severidade da doença foi bastante influenciada pelo estado de disponibilidade hídrica vigente. As plantas em estado de limitação hídrica apresentaram 15,93% de severidade média estimada da doença aos 26 dias após a inoculação, ao passo que as plantas em condição normal apresentaram 6,81 % da área foliar acometida pelo patógeno. Esse incremento em severidade é bastante evidente ao analisar-se visualmente folhas de soja inoculadas com *P. pachyrhizi* e mantidas em ambas condições de disponibilidade hídrica (Figura 6a e 6b). A taxa de progresso exponencial da severidade da doença para as plantas mantidas em estado de limitação hídrica ($0,13 \text{ dia}^{-1}$) também foi levemente superior àquela apresentada pelas plantas mantidas em regime hídrico normal ($0,11 \text{ dia}^{-1}$), entretanto não foi verificada diferença significativa (Figura 7a e 7b).

Figura 6. Lesões de *P. pachyrhizi* em folhas de soja ‘BRS 284’, para plantas mantidas em condições normais (a) e de limitação hídrica (b). Londrina, PR. 2020.

Figura 7. Severidade (%) em função do tempo (dias após a inoculação) de *Phakopsora pachyrhizi* em folhas de soja ‘BRS 284’, para plantas mantidas em condições normais (a) e de limitação hídrica (b). Tanto o primeiro (círculos pretos) como o segundo (círculos brancos) experimentos são apresentados. Tanto o primeiro (círculos pretos) como o segundo (círculos brancos) experimentos são apresentados. O modelo exponencial ($y(t) = x_0 \cdot \exp(rt)$) foi ajustado para o conjunto de dados de ambos experimentos, onde y é correspondente a severidade da doença, x_0 ao inóculo inicial, r a taxa de progresso da severidade, t o tempo (dias após a inoculação) e R^2 ao coeficiente de determinação.

4.3. Trocas gasosas

Os diferentes tratamentos, que correlacionam a presença e ausência de limitação hídrica e do patógeno, alteraram a dinâmica de trocas gasosas para as plantas avaliadas (Tabela 3). No que diz respeito a assimilação líquida de CO₂ (P), houve redução significativa dos valores observados tanto para as plantas doentes, como para as em estado de limitação hídrica. As plantas submetidas concomitantemente à limitação hídrica e ao patógeno apresentaram uma redução similar da taxa fotossintética em comparação aos tratamentos com cada tipo de estresse isolado. No tocante a condutância estomática (g_s), houve redução acentuada de tal parâmetro para as plantas submetidas tanto a limitação hídrica como ao patógeno, de forma que, o decréscimo foi similar na presença presença combinada de ambos estresses. A taxa de transpiração (E) também foi reduzida, tanto pela presença do patógeno, quanto pela limitação hídrica, sendo esse último responsável por uma atenuação mais abrupta de tal parâmetro. Ainda para E , a combinação de estresses resultou em valores próximos ao do tratamento somente submetido a limitação hídrica, indicando predominância de tal fator sobre o parâmetro avaliado. Os valores de concentração intracelular de CO₂ (C_i) não apresentaram variação significativa entre os tratamentos.

Tabela 3. Espectro de valores de assimilação líquida de CO₂ (P $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intercelular de CO₂ (C_i $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol air}^{-1}$) e taxa de transpiração (E $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para os diferentes tratamentos avaliados. LH: Limitação hídrica; I: Inóculo. Desvio padrão em parênteses.

LH	I	P	g_s	C_i	E
+	-	0,05 (2,04) 6,10	0,008 (0,02) 0,077	35 (77,18) 365	0,01 (0,50) 1,81
+	+	0,05 (1,60) 7,27	0,006 (0,02) 0,093	120 (6,40) 381	0,1 (0,48) 1,89
-	-	3,65 (3,60) 17,88	0,036 (0,06) 0,280	123 (49,78) 334	0,66 (0,98) 4,50
-	+	0,68 (1,67) 6,69	0,016 (0,03) 0,108	154 (49,48) 350	0,38 (0,60) 2,28

Na área avaliada pelo analisador portátil de gás infravermelho, a severidade média estimada da doença atingiu 1,72% aos 7 dias após a inoculação (DAI) para as plantas em condição normal de disponibilidade hídrica. A severidade da doença avançou linearmente à uma taxa exponencial de 0,11 dia⁻¹, alcançando 7,49% aos 21 DAI. Para as plantas submetidas à limitação hídrica, a severidade média estimada da doença foi de 2,5% aos 7 DAI, e essa apresentou uma taxa de progresso exponencial levemente superior às plantas em condição normal (0,12 dia⁻¹), assumindo valor de 14,39% aos 21 DAI (Figura 9a e 9b). A taxa

fotossintética relativa (P_x/P_o) decresceu em padrão linear para ambos tratamentos, embora não fora possível um ajuste linear satisfatório para tal conjunto de dados. Dessa forma, não foi viável a comparação da taxa de decréscimo de P_x/P_o ao longo do tempo para os tratamentos avaliados (Figura 8a e 8b).

Figura 8. Taxa fotossintética relativa (P_x/P_o) de folhas de soja ‘BRS 284’ inoculadas com *P. pachyrhizi* em função do tempo e tendência linear dos dados, para plantas mantidas em condições normais (a) e de limitação hídrica (b), no primeiro (círculos pretos e linha pontilhada) e segundo (círculos brancos e linha tracejada) experimentos.

Figura 9. Severidade (%) em função do tempo (dias após a inoculação) na área de avaliação de trocas gasosas, em folhas de soja ‘BRS 284’ inoculadas com *P. pachyrhizi*, para plantas mantidas em condições normais (a) e de limitação hídrica (b). Tanto o primeiro (círculos pretos) como o segundo (círculos brancos) experimentos são apresentados. O modelo exponencial ($y(t) = x_0 * \exp(rt)$) foi ajustado para o conjunto de dados de ambos experimentos, onde y é correspondente a severidade da doença, x_0 ao inóculo inicial, r a taxa de progresso da severidade, t o tempo (dias após a inoculação) e R^2 ao coeficiente de determinação.

5. DISCUSSÃO

A ocorrência de doenças é uma perturbação biótica correntemente presente em múltiplos cultivos. Sua presença é dependente de diversos fatores, os quais podem ser sumarizados como proposto por Bergamin Filho e Amorim (2018), na resultante da interação entre tecido suscetível do hospedeiro, inóculo viável do patógeno e ambiente favorável. Entende-se por ambiente favorável o conjunto de condições atmosféricas vigentes requeridas pelo patógeno para iniciar um processo infeccioso em dado tecido do hospedeiro. Tal conjunto de condições é excepcionalmente dinâmico e altera marcadamente o efeito predominante de dada doença em uma determinada cultura. A variação de uma das condições, a limitação hídrica, foi o objeto de estudo do presente trabalho, todavia, várias outras oscilações já foram de certa forma delineadas, caracterizando a importância do tema no estudo de patossistemas de relevância (ATKINSON; URWIN, 2012; GARRETT et al., 2006; KISSOUDIS et al., 2015; SUZUKI et al., 2014).

Visando avaliar o efeito da limitação hídrica no patossistema *Phakopsora pachyrhizi*-soja, o primeiro parâmetro a ser encarado é o conjunto de componentes monocíclicos da doença, e sua comparação para as condições conjecturadas. O primeiro passo para tal avaliação foi a inoculação de plantas de soja da cultivar ‘BRS 284’ mediante a aplicação de uma suspensão de urediniósporos do patógeno sobre as folhas das plantas. Para tanto, foi utilizada uma suspensão calibrada em concentração relativamente mais branda de esporos (5.10^5 urediniósporos.mL⁻¹), visto que, densidades superiores de inóculo propiciam a coalescência das lesões resultantes, podendo isso encobrir o real efeito dos tratamentos (ZANATTA; REIS; ZANATTA, 2012). Realizada a inoculação, os componentes monocíclicos foram observados sistematicamente em áreas fixas marcadas às folhas, ou seja, foram condicionadas amostras não destrutivas, o que permitiu uma avaliação de alta precisão do desenvolvimento das lesões para as diferentes condições de disponibilidade hídrica impostas às plantas.

Como demonstrado na seção 4 desse documento, os períodos de incubação e latência não diferiram entre si para nenhuma condição de disponibilidade hídrica, em ambas repetições do experimento. Tal comportamento é conhecido e descrito para *P. pachyrhizi* em soja (DANELLI; REIS, 2016; PRIMIANO; AMORIM, 2020). É válido pontuar, entretanto, que a duração de tais períodos é variável de acordo com a cultivar considerada, o que gera discrepâncias notáveis entre estudos que avaliam tais parâmetros. Da mesma forma, não houve variação na duração dos períodos de incubação e latência para as plantas submetidas à limitação hídrica em comparação àquelas em condição normal. Tal observação induz a conclusão que a

condição limitante delineada não influencia na velocidade de surgimento de lesões e lesões esporulantes. Isso também pode ser inferido ao comparar-se os modelos de progresso da frequência de infecção (uredínias/cm²) ao longo do tempo (dias após a inoculação), para os quais não houve diferença estatística entre as taxas de progresso estimadas para ambas condições de disponibilidade hídrica avaliadas.

Apesar da velocidade de surgimento de novas lesões não haver diferido entre as plantas submetidas à limitação hídrica e aquelas em condição normal, a severidade da doença, entende-se a área foliar acometida pelas lesões (considerando-se cloroses e necroses circundantes às uredínias), variou significativamente entre os tratamentos. As plantas submetidas à limitação hídrica apresentaram maior severidade final da doença em comparação com as plantas em condição normal. As bases genética e metabólica regendo tal resposta diferencial entre as condições testadas ainda não são conhecidas. Uma hipótese para tal reação está atrelada a superexpressão de genes LSD (*Lesion simulated disease*), os quais codificam uma família de proteínas dedo de zinco, que por sua vez desempenham um papel importante no processo de morte celular programada. Cabreira et al. (2013) reportaram que a expressão de genes LSD pode ser induzida pela infecção por *P. pachyrhizi*, bem como pelo estresse hídrico, e dessa forma induzir à uma resposta hipersensitiva das células, com o concomitante desenvolvimento de lesões. A ocorrência simultânea de ambas condições estressantes pode, portanto, induzir à uma superexpressão de tais genes, resultando em uma resposta hipersensitiva mais vasta, e consequentemente maior severidade da doença. Todavia, vale ressaltar que tal hipótese carece de validação experimental.

Os efeitos nocivos da limitação hídrica incidentes às culturas vão além da perda de potencial produtivo diretamente relacionada a escassez de água. A combinação de diferentes estresses bióticos e abióticos, entre eles a ocorrência de doenças e a limitação hídrica, tem o potencial de induzir respostas variadas em espécies vegetais, podendo essas serem mais ou menos danosas ao desenvolvimento das culturas de acordo com cada arranjo de condições estressantes. Mittler (2006) e Garrett et al. (2006) propõem que a ocorrência de condições de disponibilidade reduzida de água desempenhem uma interação potencial negativa com a presença de patógenos, ou seja, em geral, períodos de seca mais prolongados elevariam o desprendimento de recursos no manejo de fitopatógenos. Todavia, sabe-se que isso não é regra para todo patossistema. Fitopatógenos são numerosos e constituem unidades dinâmicas bastante influenciadas pelas condições do meio, como já citado acima, e portanto cada qual exige determinado conjunto de condições para seu desenvolvimento satisfatório. Ilustrando essa variabilidade, Ramegowda e Senthil-Kumar (2015) ao compilar observações realizadas por

diversos autores, concluem que a combinação seca-patógeno em plantas é bastante difícil de ser delineada, dado que em condições de campo essa correlação não ocorre instantaneamente, visto o desenvolvimento gradual da limitação hídrica, e dessa forma, o resultado dessa relação pode variar muito de acordo com o patossistema considerado e a severidade de cada fator, sendo cada caso um estudo a parte.

Em adição aos componentes monocíclicos já discutidos, outro parâmetro bastante profícuo na caracterização da influência de patógenos no desenvolvimento vegetal é a avaliação do estado de trocas gasosas da planta objeto de estudo, mediante a utilização de um analisador portátil de gás infravermelho. Numerosos trabalhos empregam essa técnica no estudo de temas fitopatológicos (BASSANEZI et al., 2001; BETHENOD et al., 2005; KUMUDINI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2018).

Em suma, tanto a presença do patógeno e da limitação hídrica, como a combinação de ambos, reduziram a assimilação líquida de CO_2 (P) e a condutância estomática (g_s) de forma idêntica, não havendo efeito aditivo dos estresses bióticos e abióticos. Para a variável taxa de transpiração (E), ambos fatores influenciaram no declínio do parâmetro, sendo a limitação hídrica dominante e mais ponderosa. Tais dados corroboram com o que foi descrito por Oliveira et al. (2018), os quais verificaram reduções significativas de P , g_s e E para plantas de soja inoculadas com *P. pachyrhizi*. Segundo os autores, a redução nos valores de tais parâmetros é regrado por múltiplos processos interligados. Para P , o decréscimo pode ser explicado por duas vias, primeiro devido aos danos causados ao mecanismo fotossintético decorrentes de mudanças metabólicas na planta antes mesmo do surgimento dos sintomas, e segundo, devido a redução no influxo de CO_2 resultante da redução de g_s . Segundo Loehrer et al. (2008), pode-se observar um acúmulo de peróxido de hidrogênio nas células de plantas infectadas por *P. pachyrhizi*. O peróxido de hidrogênio, por sua vez, induz o fechamento estomático, o que pode explicar a redução de g_s em plantas inoculadas com *P. pachyrhizi* (MUNEMASA et al., 2007). Com a redução de g_s , é limitada a perda de vapor de água via transpiração, e consequentemente verifica-se redução de E . Os resultados observados para as plantas em limitação hídricas condizem com o que foi descrito por Cotrim et al. (2020), os quais ao compararem plantas de soja em sistema de sequeiro e irrigado, observaram redução de P , g_s e E para plantas em estado de estresse hídrico.

Examinando o decréscimo da assimilação líquida de CO_2 (P) ao longo do tempo, bem como sua relação com o avanço da severidade na área avaliada pelo analisador portátil de gás infravermelho, observa-se uma tendência de redução linear de P ao passo que a severidade da doença progride. Para as plantas submetidas à limitação hídrica, os valores de severidade

observados foram significativamente superiores em comparação às plantas mantidas em condição normal. Seria ideal para melhor compreensão de tal dinâmica a comparação da taxa de decréscimo de P ao longo do tempo para ambas condições de disponibilidade hídrica avaliadas, todavia, isso não foi possível devido a impossibilidade de ajuste de qualquer modelo para a dispersão em questão, vista a ampla variabilidade para os dados coletados. Tal variabilidade é comum ao mensurar-se parâmetros relacionados às trocas gasosas de plantas com auxílio de um analisador portátil de gás infravermelho. Isso ocorre em razão da grande variação que condições do meio impõe à tais parâmetros. Entre essas condições devem ser exaltadas as variações de luminosidade, temperatura, umidade, estágio de desenvolvimento da planta e contato mecânico com as folhas avaliadas. Acredita-se, entretanto, que a taxa de decréscimo de P seja consideravelmente superior para plantas mantidas em condição de limitação hídrica, vista a influência negativa marcante que tal fator impõe ao aparato fotossintético. Observações realizadas por Primiano e Amorim (2020) ratificam parte da informação coletada na condução do presente trabalho, uma vez que as autoras descrevem um decréscimo linear modelado de P para um avanço linear, também modelado, da severidade de *P. pachyrhizi* em plantas de soja.

Estudos como o dissertado acima são de suma importância em um cenário de mudança climáticas, as quais tendem à alterar grandemente as condições ambientais vigentes nas principais regiões produtoras de soja no mundo, o que em muitos casos pode resultar na redução do potencial de tais regiões em acomodar a cultura, e no surgimento de novas áreas com caráter favorável ao seu desenvolvimento (LAMICHHANE et al., 2020). A conversão dos padrões climáticos globais, além da problemática acima citada, ainda pode induzir a emergência e disseminação de novos patógenos em novas áreas e em novas culturas, além de alterar o comportamento de patossistemas já bastante conhecidos (FONES et al., 2020). Isso posto, a alteração no padrão da dinâmica de desenvolvimento de *P. pachyrhizi* em condições de limitação hídrica acima descrito lança uma luz à conjuntura à qual pesquisadores e produtores devem atentar-se para o manejo da doença em regiões que podem ter seu regime hídrico alterado em um futuro próximo devido ao cenário de mudanças climáticas vigentes, evitando assim a ocorrência de danos financeiros e sociais decorrentes da atividade do patógeno.

6. CONCLUSÃO

- (i) Não houve variação dos períodos de latência, incubação, e da taxa de progresso da frequência de infecção (uredínias/cm²), para as plantas submetidas à limitação hídrica, em comparação com aquelas em condição normal;
- (ii) A severidade da doença foi significativamente superior para as plantas em estado de limitação hídrica;
- (iii) Os parâmetros assimilação líquida de CO₂ (P), condutância estomática (g_s) e taxa de transpiração (E) foram reduzidos tanto pela limitação hídrica como pela presença do patógeno, entretanto não houve efeito aditivo dos estresses para com os mesmos;
- (iv) A taxa fotossintética relativa (P_x/P_o) apresentou tendência de decréscimo linear ao longo do tempo para ambas condições de limitação hídrica, acompanhando o avanço exponencial modelado da severidade da doença, a qual foi mais elevada para as plantas em estado de limitação.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, R.G.; PEREIRA, L.S.; RAES, D.; SMITH, M. Crop evapotranspiration – Guidelines for computing water requirements. **FAO Irrigation and Drainage Paper 56**. Roma: FAO, 1998. 300p.
- ALVES, S.A.M.; FURTADO, G.Q.; BERGAMIN FILHO, A. Influência das condições climáticas sobre a ferrugem da soja. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Ferrugem asiática da soja**. Viçosa MG. Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2006. p. 37-59.
- ATKINSON, N.J.; URWIN, P.E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of Experimental Botany**, vol.63, n.10, p.3523-3544, 2012.
- BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B.; BERGER, R.D. Accounting for photosynthetic efficiency of beans leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. **Plant Pathology**, v.50, p.443-452, 2001.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. (ed.). **Manual de Fitopatologia - princípios e conceitos**. vol.1. 5ª ed. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 2018. p. 215-228.
- BETHENOD, O.; LE CORRE, M.; HUBER, L.; SACHE, I. Modelling the impact of brown rust on wheat crop photosynthesis after flowering. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.131, p.41-53, 2005.
- BOLAND, G.J.; MELZER, M.S.; HOPKIN, A.; HIGGINS, V.; NASSUTH, A. Climate change and plant diseases in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.26, p.335-350, 2004.
- BORDINGNON, J.R.; MANDARINO, J.M.G. Soja: composição química, valor nutricional e sabor. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, 1994. 32p.
- BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science**, v.218, p.443-448, 1982.
- BROOMFIELD, K.; HARTWING, E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, v.20, p.254-255, 1980.
- CABREIRA, C.; CAGLIARI, A.; BÜCKER-NETO, L.; WIEBKE-STROHM, B.; DE FREITAS, L.B.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; NEPOMUCENO, A.L.; MARGIS-PINHEIRO, M.M.A.N.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. The *Lesion Simulating Disease* (LSD) gene family as a variable in soybean response to *Phakopsora pachyrhizi* infection and dehydration. **Functional & Integrative Genomics**, v.13, p.323-338, 2013.
- CARTER, T.E.; NELSON, R.L.; SNELLER, C.H.; CUI, Z. Genetic diversity in soybean. In: BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E. (Ed.) Soybeans: Improvement, Production, and Uses. 3ªed. Madison – WI: Agronomy Monograph 16, ASA, CSSA, SSSA, 2004. p.303-416.
- CASAROLI, D.; VAN LIER, Q.J. Critérios para determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.59-66, 2008.
- CATTELAN, A.J.; DALL'AGNOL, A. The rapid soybean growth in Brazil. **OCL – Oilseeds and Fats, Crops and Lipids**, v.25, n.1, D102, 2018.
- 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.

- COHEN, I.; ZANDALINAS, S.I.; FRITSCHI, F.B.; SENGUPTA, S.; FICHMAN, Y.; AZAD, R.K.; MITTLER, R. The impact of water deficit and heat stress combination on the molecular response, physiology, and seed production of soybean. **Physiologia Plantarum**, DOI: 10.1111/ppl.13269, 2020.
- COTRIM, M.V.; GAVA, R.; CAMPOS, C.N.S.; de DAVID, C.H.O.; REIS, I.A.; TEODORO, L.P.R.; TEODORO, P.E. Physiological performance of soybean genotypes grow under irrigated and rainfed conditions. **Journal of Agronomy and Crop Sciences**, DOI: 10.1111/jac.12448, 2020.
- DANELLI, A.L.D.; REIS, E.M. Quantification of incubation, latent and infection periods of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean, according to chronological time and degree-days. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n.1, p.11-17, 2016.
- EMBRAPA. **Soja em números (safra 2017-2018)**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 29 Abr. 2019.
- FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007, 9p. (Embrapa Soja: Circular Técnica 48).
- FONES, H.N.; BEBBER, D.P.; CHALONER, T.M.; KAY, W.T.; STEINBERG, G.; GURR, S.J. Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. **Nature Food**, v.1, p.332-342, 2020.
- FRIZZONE, J.A. Necessidade de Água para Irrigação. Piracicaba: Esalq, 2017. 56p.
- GARRETT, K.A.; DENDY, S.P.; FRANK, E.E.; ROUSE, M.N.; TRAVERS, S.E. Climate change effects on plant diseases: genomes to ecosystems. **Annual Review of Phytopathology**, v.44, p.489-509, 2006.
- GODOY, C.V.; ALMEIDA, A.M.R.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C; DIAS, W.P.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A.; YORINORI, J.T.; FERREIRA L.P.; SILVA, J.F.V. Doenças da Soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v.2. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres, 2016. p. 657-676.
- GODOY, C.V; BUENO, A.F.; GAZZIERO, D.L.P. Brazilian soybean pest management and threats to its sustainability. **Outlooks on Pest Management**, v.26, p.113-117, 2015.
- GOELLNER, K.; LOEHRER, M.; LANGENBACH, C.; CONRATH, U.; KOCH, E.; SCHAFFRATH, U. *Phakopsora pachyrhisi*, the causal agent of Asian soybean rust. **Molecular Plant Pathology**, v.11, n.2, p.169-177, 2010.
- GOLDSMITH, P. Economics of soybean production, marketing, and utilization. In: JOHNSON, L.A.; WHITE, P.J.; GALLOWAY, R. (Ed.) *Soybeans: Chemistry, production, processing, and utilization*. Urbana – IL: AOCS, 2008. p. 117-150.
- GONÇALVES, C.G.; SILVA JUNIOR, A.C.; PEREIRA, M.R.R.; GASPARINO, E.C.; MARTINS, D. Morphological modifications in soybean in response to soil water management. **Plant Growth Regulation**, v.83, n.1, p.105-117, 2017.
- HARTMAN, G.L.; WEST, E.D.; HERMAN, T.K. Crops that feed the world 2. Soybean-worldwide production, use and constraints caused by pathogens and pests. **Food Security**, v.3, p.5-17, 2011.

<<http://www.indexfungorum.org>>. Acesso em: 29 Mar. 2019.

JURICK, W.M. II; NARVAEZ, D.F.; BRENNAN, M.M.; HARMON, C.L.; MAROIS, J.J.; WRIGHT, D.L.; HARMON, P.F. Winter survival of soybean rust pathogen, *Phakopsora pachyrhisi*, in Florida. **Plant Disease**, v.92, p.1551-1558, 2008.

KISHOR, P.B.K.; HONG, Z.; MIAO, G.H.; HU, C.A.A.; VERMA, D.P.S. Overexpression of A¹-Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. **Plant Physiology**, v.108, p.1387-1394, 1995.

KISSOUDIS, C.; CHOWDHURY, R.; VAN HEUSDEN, S.; VAN DE WIEL, C.; FINKERS, R.; VISSER, R.G.F.; BAI, Y.; VAN DER LINDEN, G. Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato. **Euphytica**, v.202, 317-332, 2015.

KLEIN, V.A.; BASEGGIO, M.; MADALOSSO, T.; MARCOLIN, C.D. Textura do solo e a estimativa do teor de água no ponto de murcha permanente com psicrômetro. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1550-1556, 2010.

KUMUDINI, S.; GODOY, C.V.; KENNEDY, B.; PRIOR, E.; OMIELAN, J.; BOERMA, H.R.; HERSHMAN, D. Role of host plant resistance and disease development stage on leaf photosynthetic competence of soybean rust infected leaves. **Crop Science**, v.50, p.2533-2542, 2010.

LAMICHHANE, J.R.; CONSTANTIN, J.; SHOVING, C.; MAURY, P.; DEBAEKE, P.; AUBERTOR, J.; DÜRR, C. Analysis of soybean germination, emergence, and prediction of a possible northward establishment of the crop under climate change. **European Journal of Agronomy**, v.113, DOI: 10.1016/j.eja.2019.125972, 2020.

LANGENBACH, C.; CAMPE, R.; BEYER, S.F.; MUELLER, A.N.; CONRATH, U. Fighting Asian Soybean Rust. **Frontiers in Plant Science**, v.7, article 797, 2016.

LEVY, C. Epidemiology and chemical control of soybean rust in southern Africa. **Plant Disease**, v.89, p.669-674, 2005.

LI, X.; ESKER, P.D.; PAN, Z.; DIAS, A.P.; XUE, L.; YANG, X.B. The Uniqueness of the soybean rust pathosystem: An improved understanding of the risk in different regions of the world. **Plant Disease**, v.94, n.7, p.796-806, 2010.

LOBATO, A.K.S.; COSTA, R.C.L.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SANTOS FILHO, B.G.; CRUZ, F.J.R.; FREITAS, J.M.N.; CORDEIRO, F.C. Morphological changes in soybean under progressive water stress. **International Journal of Botany**, v.4, n.2, p.231-235, 2008.

LOEHRER, M.; LANGENBACH, C.; GOELLNER, K.; CONRATH, U.; SCHAFFRATH, U. Characterization of nonhost resistance of *Arabidopsis* to Asian soybean rust. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v.21, n.11, p.1421-1430, 2008.

MELCHING, J.S.; DOWLER, W.M.; KOOGLE, D.L.; ROYER MH Effects of duration, frequency, and temperature of leaf wetness periods on soybean rust. **Plant Disease**, v.73, p.117-122, 1989.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v.11, n.1, p.15-19, 2006.

MUNEMASA, S.; ODA, K.; WATANABE-SUGIMOTO, M.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. The *coronatine-insensitive 1* Mutation Reveals the Hormonal Signaling Interaction between Abscissic Acid and Methyl Jasmonate in Arabidopsis Guard Cells. Specific Impairment of Ion Channel Activation and Second Messenger Production^{1[OA]}. **Plant Physiology**, v.143, p.1398-1407, 2007.

OLIVEIRA, T.S.; PEIXOTO, L.A.; TEODORO, P.E.; ALVARENGA, A.A.; BHERING, L.L.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Relationship between biochemical and photosynthetic traits with Asian soybean rust. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v.90, n.4, p.3925-3940, 2018.

PRIMIANO, 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.

PRIMIANO, I. V.; **Comparative epidemiology of grapevine and soybean rusts**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo. São Paulo, 110p., 2019.

RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. **Journal of Plant Physiology**, v.176, p.47-54, 2015.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SCANLON, B.R. Water potential: Miscellaneous methods for measuring matric or water potential. In: DANE, J.H.; TOPP, C. (Eds.) **Methods of soil analysis. Part 4. Physical methods**. Madison: Soil Science Society of America, 2002. P.643-970.

SLAMINKO, T.L.; MILES, M.R.; FREDERICK, R.D.; BONDE, M.R.; HERTMAN, G.L. New legume hosts of *Phakopsora pachyrhizi* based on greenhouse evaluations. **Plant Disease**, v.92, p.767-771, 2008.

SUZUKI, N; RIVERO, R.M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v.203, n.1, p.32-43, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Tradução de Paulo Luiz de Oliveira et al. 5ªed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2013. 918 p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **World Agriculture Production**. Circular Series, October 2020.

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.; LIBERATO, J.R.; ZAMBOLIM, L. Quant – a software to quantify plant disease severity. **Proceedings of the 8th International Workshop on Plant Disease Epidemiology**. Ouro Preto, 1: 160, 2001.

VENDRUSCOLO, E.C.G.; SCHUSTER, I.; PILEGGI, M.; SCAPIM, C.A.; MOLINARI, B.C.; MARUR, C.J.; VIEIRA, L.G.E. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.10, p.1367-1376, 2007.

XAVIER, S.A.; MARTINS, D.C.; FANTIN, L.H.; CANTERI, M.G. Older leaf tissues in younger plants are more susceptible to soybean rust. **Acta Scientiarum**, v.39, n.1, p.17-24, 2017.

YORINORI, J.T.; PAIVA, W.M.; FREDERICK, R.D.; COSTAMILAN, L.M.; BERTAGNOLLI, P.F.; HARTMAN, G.E.; GODOY, C.V.; NUNES Jr., J. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. **Plant Disease**, v.89, n.6, p.675-677, 2005.

ZANATTA, T.; REIS, E.M.; ZANATTA, M. Adjuvant concentration and uredospore densities on *Phakopsora pachyrhizi* infection efficiency in soybeans. **Summa Phytopathologica**, v.38, p.148-151, 2012.

ZHANG, H.; SONNEWALD, U. Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. **The Plant Journal**, v.90, 839-855, 2017.