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

**Avaliação de parâmetros epidemiológicos da ferrugem-asiática em
diferentes genótipos de soja**

Alice Borges Landim

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

**Piracicaba
2020**

Alice Borges Landim
Bacharela em Agronomia

**Avaliação de parâmetros epidemiológicos da ferrugem-asiática em diferentes genótipos
de 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
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2020

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

Landim, Alice Borges

Avaliação de parâmetros epidemiológicos da ferrugem-asiática da soja em diferentes genótipos de soja / Alice Borges Landim. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

50 p.

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

1. *Phakopsora pachyrhizi* 2. Epidemiologia 3. Resistência genética I.
Título

DEDICATÓRIA

A meus pais Ângelo Thomaz Landim Júnior e Gláucia Maria Borges Landim pelo exemplo de determinação, honestidade e por serem meus grandes incentivadores pela busca de conhecimento. Obrigada por nunca medirem esforços para me dar a melhor educação que poderia ter;

As minhas irmãs Alyne Borges Landim e Andressa Borges Landim pelo apoio, amizade, incentivo e palavras de conforto nos momentos difíceis;

Ao meu noivo Lucas Pessoa Carvalho pelo companheirismo, amor, paciência e pleno apoio durante esta etapa

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus, pai e criador, pela proteção e bênçãos a mim concedidas;

Aos meus tios Célia e Ademir pelo acolhimento, carinho e amor durante a execução do trabalho
no Paraná.

Ao prof. Dr. Armando Bergamin Filho pela valiosíssima orientação não apenas na dissertação,
mas em todos os questionamentos que surgiram ao longo do mestrado, meu muitíssimo
obrigado!

A Dra. Cláudia Vieira Godoy, pela orientação, pelos conhecimentos compartilhados durante
todo o período do mestrado e pelo acolhimento durante o período de desenvolvimento dos
ensaios na Embrapa Soja. Obrigada por todas as contribuições. Você foi essencial para
conclusão dessa dissertação;

Aos colegas do mestrado que levarei para sempre na memória com muito carinho, em especial,
Rafaela Zázera, Isabela Primiano e Kelly Pazolini;

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

Aos funcionários e colaboradores da Embrapa pelo auxílio no desenvolvimento dos trabalhos,
em especial, Allan Flausino, Angelo e Ludiane;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“O problema do mundo é que tolos e fanáticos estão sempre cheios de certeza enquanto os sábios estão cheios de dúvidas”

Bertrand Russell

“Escuta e serás sábio. O começo da sabedoria é o silêncio.”

Pitágoras

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 CULTURA DA SOJA	11
2.2 ETIOLOGIA DA FERRUGEM-ASIÁTICA.....	11
2.3 <i>Distribuição da ferrugem-asiática da soja</i>	13
2.4 <i>Sintomatologia</i>	13
2.5 <i>Epidemiologia tropical x temperada</i>	14
2.6 MANEJO DA DOENÇA	15
2.6.1 <i>Controle Cultural</i>	16
2.6.2 <i>Controle químico</i>	18
2.6.3 <i>Controle genético</i>	20
2.6.4 <i>Situação atual dos programas de melhoramento</i>	22
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 CULTIVARES	25
3.2 INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO ENSAIO	27
3.3 INOCULAÇÃO.....	27
3.4 AVALIAÇÕES	28
4 RESULTADOS.....	31
4.1 NÚMERO DE LESÕES POR CM ²	31
4.2 NÚMERO DE URÉDIAS POR CM ²	33
4.3 PRODUÇÃO DE ESPOROS E PERÍODO LATENTE.....	35
4.4 EFEITO DA RESISTÊNCIA NO TIPO DE LESÃO	37
5 DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS.....	45

RESUMO

Avaliação de parâmetros epidemiológicos da ferrugem-asiática da soja em diferentes genótipos de soja

A ferrugem-asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é uma doença que pode causar grandes perdas de produtividade na cultura. A redução de sensibilidade do fungo aos fungicidas tem levado pesquisadores a selecionar fontes de resistência para desenvolvimento de novas cultivares resistentes a doença. No entanto, pouco se sabe a respeito do impacto dos genes de resistência na epidemia da doença. O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de genótipos de soja, com diferentes níveis de resistência, nas variáveis: severidade da doença (número de lesões por cm² e número de urédias por cm²), tipo de lesão, produção de uredinósporos e período de latência. Três cultivares comerciais resistentes (TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO) e uma cultivar comercial suscetível (68170RSF IPRO) foram utilizadas para avaliar as variáveis em casa de vegetação. Foram realizados dois experimentos. Regressão linear resultou nos valores de taxa de progresso e intercepto, sendo o primeiro melhor enfatizado. Para a taxa de aumento do número de lesões por cm², no experimento 1, nenhuma das cultivares resistentes diferiu da cultivar 68170RSF IPRO. No experimento 2, apenas os genótipos TMG 7062 IPRO e BRS 511 diferiram de 68170RSF IPRO. Quanto ao número de urédias por cm², no experimento 1, a taxa de aumento dos genótipos TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA e 68170RSF IPRO não diferiram entre si. Apenas TMG 7062 IPRO e PRODUZA IPRO diferiram da cultivar suscetível. Já no experimento 2, apenas as taxas dos genótipos TMG7062 IPRO e BRS 511 diferiram do genótipo resistente. Não houve diferença significativa de produção de esporos entre as cultivares resistentes, porém todas produziram menos esporos que 68170RSF IPRO. A cultivar TMG 7062 IPRO produziu até 25 vezes menos esporos que a cultivar suscetível. Quanto ao período latente, pouca variação (cerca de 1 dia) foi observada no número de dias entre os materiais resistentes e 68170RSF IPRO. O tipo de lesão variou entre os experimentos 1 e 2. O presente estudo chama atenção para o fato de que cultivares com gene de resistência quando utilizadas como única medida de controle da doença não são suficientes. A existência de raças e consequentemente alta variabilidade do patógeno no campo pode inviabilizar o uso da resistência genética.

Palavras-chave: *Phakopsora pachyrhizi*, Epidemiologia, Resistência genética

ABSTRACT

Evaluation of epidemiological parameters of Asian soybean rust in different soybean genotypes

Asian soybean rust is a huge threat to soybean production. The failure of chemical control as a result of the loss of sensitivity of fungus to fungicide has led breeders to select for sources of resistance for the development of new soybean rust resistant cultivars. However, little is known about how these genes can impact the epidemiology of the disease. The present study aims to evaluate the influence of genotypes with different resistance levels in the epidemic through the following variables: disease severity (number of lesions per cm² and number of uredinias per cm²), type of lesion, urediniospore production and latent period. Three resistant commercial cultivars (TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO) and one susceptible commercial cultivar (68170RSF IPRO) were used to evaluate the variables in the greenhouse. Two experiments were performed. Linear regression resulted in the values of progress rate and intercept, being the first better emphasized. For the rate of increase in the number of lesions per cm², in experiment 1, none of the resistant cultivars differed from cultivar 68170RSF IPRO. In experiment 2, only genotypes TMG 7062 IPRO and BRS 511 differed from 68170RSF IPRO. Regarding the number of uredias per cm², in experiment 1, the rate of increase of the genotypes TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA and 68170RSF IPRO did not differ from each other. Only TMG 7062 IPRO and PRODUZA IPRO differed from susceptible cultivar. In experiment 2, only the rates of the TMG7062 IPRO and BRS 511 genotypes differed from the resistant genotype. There was no significant difference in spore production among resistant cultivars, but all produced less spores than 68170RSF IPRO. The cultivar TMG 7062 IPRO produced up to 25 times fewer spores than the susceptible cultivar. As for the latent period, little variation (about 1 day) was observed in the number of days between resistant materials and 68170RSF IPRO. The type of lesion varied between experiments 1 and 2.

Keywords: *Phakopsora pachyrhizi*, Epidemiology, Genetic resistance

1. INTRODUÇÃO

No cenário mundial, a soja é o quarto grão mais produzido e consumido, ficando atrás do milho, trigo e arroz. É uma *commodity* padronizada e uniforme que tem a maior parte de sua produção destinada à agroindústria de processamento para nutrição humana e animal. Entre as safras 2000/01 e 2013/14 a produção cresceu em mais de 60% e está concentrada nos países Estados Unidos, Brasil e Argentina (Hirakuri & Lazzarotto, 2014).

Na safra 2017/18 o Brasil obteve recorde de produção, com produção estimada em 119 milhões de toneladas. Na safra 2018/19 a produção estimada foi de 115 milhões de toneladas. Portanto, nota-se o impacto do agronegócio e a importância da cultura da soja na economia brasileira (Conab, 2019).

A cultura é acometida por várias doenças, entre elas destaca-se a ferrugem-asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*. O fungo foi identificado pela primeira vez em 1902, no Japão (Bromfield, 1984), e no Brasil em 2001, no Estado do Paraná, em plantas de soja voluntárias. Na safra seguinte, as perdas causadas pela doença variaram de 30 a 75% (Yorinori *et al.*, 2005).

Os sintomas típicos da doença ocorrem principalmente nas folhas, sendo esses caracterizados por pontos mais escuros que o tecido sadio, variando de coloração esverdeada a cinza-esverdeada, com uma correspondente saliência (urédia) na superfície abaxial das folhas. Quando as urédias se formam, liberam os urediníósporos. As lesões tendem ao formato angular e podem raramente aparecer em outras partes da planta como cotilédones, hastes e vagens. Em alta severidade, a doença causa desfolha podendo comprometer a formação, o enchimento das vagens e o peso dos grãos (Hartman *et al.*, 2015).

Após o primeiro relato do fungo no Brasil em 2001, o uso de fungicida na cultura aumentou. O controle químico é realizado principalmente com fungicidas dos grupos inibidores da desmetilação (IDM - triazóis), inibidores da quinona externa (IQe - estrobilurinas) e inibidores da succinato desidrogenase (ISDH - carboxamidas) (Godoy *et al.*, 2016b).

Além do controle químico, medidas suplementares são adotadas no manejo da doença, entre elas o vazio sanitário e a semeadura de cultivares precoces. O vazio sanitário é um período de 60 a 90 dias onde é proibida a semeadura de soja na entressafra e é obrigatória a eliminação de plantas de soja voluntárias. O mesmo varia de acordo com o Estado e a microrregião produtora (Consórcio Antiferrugem, 2004; Godoy *et al.*, 2016b).

A resistência genética também é uma medida de controle que pode ser adotada. A diferença entre as cultivares suscetíveis e as resistentes está no tipo de lesão que o fungo *P. pachyrhizi* causa nas plantas (Bromfield & Hartwig, 1980). As duas reações de resistência incluem a “imune”, com nenhum sintoma ou sinal visível, e a reação RB (“reddish-brown”, lesão marrom-avermelhada), que se caracteriza por ter pouca ou nenhuma esporulação. A reação de suscetibilidade é a do tipo *Tan* (castanha), que é caracterizada por alta esporulação (Miles *et al.*, 2006). São relatados 7 genes dominantes de resistência à ferrugem-asiática da soja, denominados *Rpp1* até *Rpp7* (Bromfield & Hartwing, 1980; McLean & Byth, 1980; Bromfield & Melching, 1982; Hartwig & Bromfield, 1983; Hartwig, 1986; Garcia *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Childs *et al.*, 2018b).

Os genes de resistência são usados no processo de melhoramento em cultivares comerciais de soja. No Brasil, programas de melhoramento têm incorporado esses genes nas cultivares, sendo algumas cultivares comerciais disponibilizadas pelas empresas TMG (Tropical Melhoramento e Genética) e Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Apesar destes genes dominantes conferirem altos níveis de resistência e terem relativa facilidade de incorporação em novas cultivares de soja, eles não são efetivos contra todas as raças do fungo *P. pachyrhizi*. A resistência mediada por um único gene *Rpp*, de herança dominante contra *P. pachyrhizi*, tem sido superada na natureza em razão da alta variabilidade do patógeno (Yorinori *et al.*, 2005). Grande parte das pesquisas tem se concentrado na seleção de genes para o desenvolvimento de cultivares resistentes, mas há uma lacuna a respeito do impacto dessas cultivares na epidemia da doença.

O conceito proposto por Bergamin Filho (2008) para o patossistema soja - *P. pachyrhizi* considera que as variáveis relacionadas à via horária de infecção, como número de lesões por unidade de inóculo e período latente, têm menor significância epidemiológica. Por este motivo, variáveis relacionadas à via anti-horária, como número de urédias por lesão, seria a melhor variável para quantificar a resistência de cultivares em programas de melhoramento para a ferrugem-asiática da soja.

Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência de genótipos com diferentes níveis de resistência por meio das variáveis: número de lesões e número de urédias por cm², tipo de lesão, produção de urediníósporos e período de latência.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a principal oleaginosa produzida no Brasil. É uma planta herbácea, da classe Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, gênero *Glycine* L., espécie *max*. O seu crescimento é variável de acordo com a cultivar, podendo ser de hábito determinado, indeterminado ou semi-determinado (Nepomuceno *et al.*, 2008).

A soja é importante fonte de proteína vegetal, sendo amplamente utilizada na agroindústria. Além disso, é a principal oleaginosa cultivada no mundo e as atividades relacionadas a ela tem o maior destaque no mercado mundial. Os principais produtos gerados são o óleo e o farelo. Esse último, em combinação com outros cereais, constitui a matéria prima essencial para fabricação de rações. É a principal *commodity* usada como fonte de proteína vegetal (em torno de 40%) para conversão em proteína animal. Possui ao redor de 20% de teor de óleo o qual é utilizado para diversos fins, o que faz da soja a responsável por 57% da produção mundial de óleo (Hirakuri & Lazzarotto, 2014; USDA & FAS, 2018a)

De acordo com USDA & FAS (2018b) o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja com uma produção de 113 milhões de toneladas, ficando atrás apenas dos Estados Unidos que obteve uma produção de 119,5 milhões de toneladas na safra 2017.

No Brasil, a produção de soja se concentra nas regiões Sul e Centro-Oeste (81%). No ano de 2017, o Brasil alcançou safra recorde e aumentou a oferta total do grão em quase 18 milhões de toneladas. Com o estoque de registros disponível para exportação em 1º de setembro, o Brasil exportou mais de 11 milhões de toneladas nos últimos quatro meses de 2017, um aumento de mais de três vezes em relação ao mesmo período de 2016 (Foreign Agricultural Service/USDA, 2018).

2.2 Etiologia da ferrugem-asiática

O agente causal da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi* Syd & P. Syd., foi relatado pela primeira vez no Japão, em 1902, como *Uredo sojae*. Até 1992 acreditava-se na existência de apenas uma espécie de ferrugem, *Phakopsora pachyrhizi*, sendo a partir do trabalho de Ono *et al* (1992), separado em duas espécies, com base na morfologia dos teliosporos: *Phakopsora pachyrhizi* e *P. meibomia*. *P. pachyrhizi* correspondia às populações

encontradas na Ásia e Austrália e *P. meibomiae* às populações da América, sendo este menos agressivo que *P. pachyrhizi* (Ono *et al.*, 1992).

P. pachyrhizi possui teliósporos organizados de 1 a 7 camadas com paredes dos esporos de coloração marrom amarelo-pálidas e espessura mais ou menos uniforme de 1 a 3 µm de espessura nas células das camadas apicais. *P. meibomiae* apresenta teliósporos organizados geralmente em 1 a 4 camadas com parede de coloração castanho clara, com 1,5 a 2 µm de espessura podendo atingir até 6 µm nas células da camada apical (Ono *et al.*, 1992). *Phakopsora pachyrhizi* é um fungo biotrófico, basidiomiceto o qual na fase assexual produz os urediniósporos que constituem o inóculo responsável pelas epidemias. Os urediniósporos são ovóides e elipsóides com paredes de 1 µm de espessura, densamente equinulados, e variando de incolor a castanho-pálido. A penetração nas folhas ocorre de forma direta através da cutícula. Possui ampla gama de hospedeiros, sendo mais de 150 espécies de leguminosas para *P. pachyrhizi* e 60 para *P. meibomiae* (Slaminko *et al.*, 2008).

A disseminação dos urediniósporos ocorre pelo vento. Para a ocorrência de infecção é necessário um período mínimo de 6-7 horas de molhamento foliar contínuo e temperatura média entre 18 e 26,5°C (Melching *et al.*, 1989). Entretanto, a temperatura apresenta menor correlação com a severidade final da doença em comparação com a precipitação e apresentam valor preditivo mínimo para a severidade final da doença. Resultados obtidos por Del Ponte *et al.* (2006) mostraram que a temperatura pode não ser limitante para o desenvolvimento de epidemias da ferrugem-asiática no Brasil. No entanto, noites frias frequentes com várias horas de temperatura abaixo de 15°C podem afetar o ciclo da doença, incluindo a infecção e o período latente. Em algumas regiões do Cerrado, o padrão de chuvas consiste em uma mistura de chuvas leves e pesadas durante o verão, o que propicia condições ideais de umidade para o desenvolvimento da cultura e da ferrugem-asiática (Del Ponte *et al.*, 2006).

De acordo com Bergamin Filho (2008) a chuva age liberando os urediniósporos da massa mucilaginosa, fornecendo água livre para germinação dos esporos e mantendo a temperatura para infecção próxima à ideal. Interrupções desse período de molhamento foliar reduzem as taxas de germinação dos urediniósporos e de formação do apressório, além de reduzir a severidade da doença em até 92%, indicando a intolerância dos esporos do fungo a períodos secos (Furtado *et al.*, 2011). Temperaturas acima de 28°C reduzem a taxa de progresso da doença e abaixo de 10°C as folhas não apresentam sintomas. O aumento da temperatura influencia na severidade da doença até 22,5°C, após essa temperatura há um decréscimo na severidade e frequência de infecção (Alves *et al.*, 2005).

O período latente médio, que corresponde ao período, em dias, entre a inoculação até o aparecimento de 50% das lesões esporuladas não varia em relação ao estágio fenológico das plantas de soja. (Alves *et al.*, 2006; Furtado *et al.*, 2009).

2.3 Distribuição da ferrugem-asiática da soja

O primeiro relato da ferrugem-asiática ocorreu no Japão em 1902. Em 1934 o patógeno foi encontrado em outros países da Ásia e na região sul da Austrália (Bromfield & Hartwing, 1980). Posteriormente em países da África (Levy, 2005), no Paraguai, no Brasil e na Argentina (Ivancovich, 2005; Yorinori *et al.*, 2005) e, em novembro de 2004, a ferrugem-asiática foi relatada pela primeira vez nos Estados Unidos (Schneider *et al.*, 2005).

A ferrugem-asiática no Brasil, causada pela espécie *P. pachyrhizi*, teve seu primeiro relato em 2001, no Estado do Paraná. Na safra 2001/02, foi encontrada em 60% das áreas produtoras de soja, nas principais regiões sojicultoras do País, especialmente na região central: Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, onde as perdas variaram de 30 a 75% (Yorinori *et al.*, 2005). Apesar de ter hospedeiros alternativos como feijão comum e algumas plantas daninhas, o principal meio de sobrevivência de *P. pachyrhizi* é em plantas de soja voluntárias.

A dispersão a longa distância dos esporos de *P. pachyrhizi* pode ser atribuída a tempestades de vento e outras formas não convencionais como vestuário, gerado pelo aumento da mobilidade humana (Nagarajan & Singh, 1990; USDA, 2004; Hartman & Haudenschild, 2009). Nos Estados Unidos, durante o período livre do cultivo de soja, *P. pachyrhizi* sobrevive no sul do País, em hospedeiros alternativos, como a leguminosa kudzu [*Pueraria montana* (Lour.) Merr. var. *lobata* (Willd.) Maesen & S.M. Almeida] (USDA, 2004). No Brasil, a sobrevivência ocorre principalmente em plantas de soja voluntárias, também chamadas de plantas tigueras embora também possa ocorrer em hospedeiros alternativos como o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), o kudzu (*Pueraria lobata*) e a soja perene (*Neotonia witwigii*) (Jacoud Filho *et al.*, 2007).

2.4 Sintomatologia

A ferrugem-asiática da soja é uma doença severa que apresenta como sintomatologia inicial pequenas lesões foliares, mais escuras que o tecido vegetal, que tendem a ser angulares

e se restringem às nervuras das folhas. As lesões possuem coloração castanha bronzeada e são observadas na face abaxial, constituindo de uma ou mais urédias. Em condições de alta severidade da doença ocorre a desfolha prematura da planta, que pode comprometer a formação das vagens e o peso dos grãos (Godoy *et al.*, 2006, 2016b; Henning & Godoy, 2006).

Figura 1. Plantas de soja saudáveis (A – foto tirada em 28/02/2018) e com médio grau de severidade (B – foto tirada em 15/03/2018) causado por da ferrugem-asiática da soja. Londrina, PR.

Figura 2. Sintomas de ferrugem-asiática da soja na face abaxial (A) e adaxial (B) em cultivar suscetível. Londrina, PR.

2.5 Epidemiologia tropical x temperada

Um princípio básico capaz que diferenciar a fitopatologia tropical da temperada é a continuidade de inóculo entre estações de cultivo no patossistema tropical, em razão da falta de períodos prolongados de baixa temperatura (Vanderplank, 1984). Por essa razão as doenças nos trópicos normalmente são endêmicas e as epidemias são predominantemente

tardívas e em regiões temperadas são explosivas (Gäumann, 1950). Além disso, nos trópicos o orvalho ocorre em menor frequência e duração e quando combinado a temperaturas elevadas e alta intensidade luminosa afetam a esporulação de um grande número de fungos (Rotem *et al.*, 1978). Dessa forma uma das explicações para as epidemias de ferrugem-asiática seria o crescimento das lesões. O crescimento da lesão é um fenômeno menos dependente do clima e é representado pela via anti-horária de infecção. Através dele, sítios doentes podem gerar novos sítios doentes por meio da infecção dos sítios adjacentes àqueles previamente doentes (Bergamin Filho & Amorim, 1996; Bergamin Filho, 2006).

O crescimento da lesão resulta em um aumento da intensidade da doença. Em simulações feitas a partir de dados de crescimento de lesão de *Cercospora medicaginis* e *Exserohilum turcicum* a expansão de 1 mm dia⁻¹ resulta em um aumento >70% do total de área doente advinda do crescimento da lesão (Berger *et al.*, 1997).

No caso da ferrugem-asiática da soja o crescimento da lesão se dá por meio do crescimento do patógeno no interior do tecido do hospedeiro, isso equivale dizer que o crescimento da lesão é o mesmo que o aumento do número de urédias que se deve a via anti-horária de infecção, a qual é menos dependente de variações climáticas (Melching *et al.*, 1979; Bergamin Filho, 2006).

Isso explica porque testes de resistência de variedades baseados na variável número de lesões por unidade de inóculo e período latente (variáveis da via horária) têm menor influência na epidemiologia na doença (Bergamin Filho, 2008). A variável mais adequada seria em relação ao número de urédias por lesão, parâmetro relacionado à via anti-horária de infecção (Bergamin Filho, 2006).

Primiano (2019), estudando os patossistemas *P. pachyrhizi* – soja e *P. meliosmaemyrianthae* – videira, observou que o aumento no número de urédias ocorre em paralelo com o crescimento da lesão nos dois patossistemas e está diretamente correlacionado com o aumento de biomassa fúngica. Por este motivo o crescimento da lesão e a contínua produção de uredinósporos são componentes relevantes na dinâmica temporal de epidemias causadas por *Phakopsora* spp. e deveriam ser considerados em trabalhos relacionados ao melhoramento de plantas focados em resistência à patógenos.

2.6 Manejo da Doença

O manejo indicado para controle da ferrugem-asiática da soja consiste na adoção de inúmeras práticas, entre elas a utilização do controle químico, o uso de cultivares precoces, a

semeadura no início da época indicada, a adoção do vazio sanitário, o monitoramento e a identificação da doença nos estádios iniciais da planta e o uso de cultivares resistentes à ferrugem (EMBRAPA, 2013).

2.6.1 Controle Cultural

2.6.1.1 Uso de cultivar precoce e calendário de semeadura

O uso de cultivares precoces e adoção de semeadura no início da época recomendada é uma prática cultural que tem como objetivo evitar que a cultura estabelecida seja exposta a maior quantidade de esporos do fungo que irá iniciar a sua multiplicação nas plantas provenientes das primeiras semeaduras (EMBRAPA, 2013). Para reduzir o risco de exposição da cultura ao patógeno e consequentemente reduzir a pressão de seleção para resistência de fungicidas causada pelo grande número de aplicações, as agências de defesa agropecuária dos Estados de Goiás, Mato Grosso e Tocantins foram as primeiras a instituírem medidas complementares ao vazio sanitário definindo calendários de semeadura. Em Goiás foi estabelecido um calendário de semeadura entre o dia 01 de outubro a 31 de dezembro. No Mato Grosso o plantio das lavouras deve ser realizado entre 16 de setembro e 31 de dezembro e o prazo final da colheita é até o dia 5 de maio (Agrodefesa, 2014; INDEA-MT, 2015). Em Tocantins a semeadura foi pré-determinada por período que se inicia em 01 de outubro e finaliza em 15 de janeiro (ADAPEC-TOCANTINS, 2016).

Atualmente, os Estados da Bahia, Mato Grosso do Sul, Paraná e Santa Catarina também possuem período de semeadura de soja restrito (Figura 3).

PERÍODOS DE SEMEADURA DE SOJA																		
ESTADO	SETEMBRO			OUTUBRO			NOVEMBRO			DEZEMBRO			JANEIRO			FEVEREIRO		
	1	15	30	1	15	31	1	15	30	1	15	31	1	15	31	1	15	28
TO							01/10 a 15/01											
BA							08/10 a 15/01									COLHEITA 30/05		
MT							16/09 a 31/12						COLHEITA 05/05					
MS							16/09 a 31/12											
GO							01/10 a 31/12						COLHEITA 15/05					
PR							11/09 a 31/12											
SC							15/09 a 10/02											
As cores indicam as regiões TO, BA, MT, MS e PR: proibido soja sobre soja																		

Figura 3. Períodos de semeadura da soja em diferentes Estados brasileiros e Paraguai. Fonte: Embrapa Soja (<https://www.embrapa.br/en/soja/ferrugem>)

Em razão das perdas causadas pela doença e do elevado custo do controle químico, em 2004 foi estabelecido o Consórcio Antiferrugem pela Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária em conjunto com setor público e privado para auxiliar no manejo da doença. O objetivo inicial do consórcio era padronizar a informação existente e transferi-la para toda a cadeia de soja, como forma de reduzir as perdas causadas pela ferrugem-asiática. Além de reunir informações sobre o fungo, realizar treinamentos e auxiliar na definição de políticas públicas como o vazio sanitário, o Consórcio Antiferrugem também tem como objetivo informar as ocorrências da doença durante a safra em um website (Godoy *et al.*, 2016b).

2.6.1.2 Vazio sanitário

Uma das estratégias adotadas no Brasil para o manejo da doença foi a adoção do vazio sanitário que consiste em um período de no mínimo 60 dias em que é proibida a semeadura de soja. Essa medida visa reduzir a quantidade de urediniósporos durante a entressafra e diminuir o risco de incidência precoce da doença. Este período foi definido com base na maior sobrevivência de esporos relatada, que foi de 55 dias em folhas de soja infectadas e armazenadas na sombra (Patil *et al.*, 1998).

Os primeiros estados a instituírem esta medida foram Mato Grosso, Goiás e Tocantins em 2006. No entanto, em 29 de janeiro de 2007, o MAPA (Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento) publicou a Instrução Normativa instituindo o Programa Nacional de Controle da Ferrugem-asiática da soja (PNCFS), no qual ficou estabelecido que os estados deveriam criar seus comitês estaduais de controle da ferrugem-asiática da soja e que as instâncias intermediárias do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA) em cada Estado devem estabelecer um calendário de semeadura de soja, com um período de pelo menos 60 dias sem a presença de plantas cultivadas ou voluntárias. Atualmente 13 Estados e o Distrito Federal apresentam o período de vazio sanitário regulamentado (Figura 4) (MAPA, 2006; Godoy *et al.*, 2018).

Figura 4. Períodos de vazio sanitário da soja de acordo com as principais regiões sojícolas do Brasil.

PA (1): Microrregiões de Conceição do Araguaia, Redenção, Marabá, São Feliz do Xingu, Parauapebas, Itaituba (com exceção dos Municípios de Rurópolis e Trairão), e Altamira (Distritos de Castelo dos Sonhos e Cachoeira da Serra). **PA (2):** Microrregiões de Paragominas, Bragantina, Guamá, Tomé-Açu, Salgado, Tucuruí, Castanhal, Arari, Belém, Cametá, Furos de Breves e de Portel. **PA (3):** Microrregiões de Santarém, Almeirim, Óbidos, Itaituba (municípios de Rurópolis e Trairão) e de Altamira (com exceção dos Distritos de Castelo dos Sonhos e Cachoeira da Serra).

MA (1): Microrregiões de Alto Mearim, Grajaú, Balsas, Imperatriz e Porto Franco. **MA (2):** Microrregiões de Baixada Maranhense, Caxias, Chapadinha, Codó, Coelho Neto, Gurupi, Itapecuru Mirim, Pindaré, Presidente Dutra, Rosário, Paço do Lumiar, Raposa, São José do Ribamar, São Luís.

2.6.2 Controle químico

Com a chegada da ferrugem-asiática da soja no Brasil, o uso de fungicidas foi intensificado. O controle da ferrugem-asiática baseia-se na aplicação de fungicidas de

diferentes modos de ação, entre eles os inibidores da desmetilação (IDM), os inibidores da quinona externa (IQe), os inibidores da succinato desidrogenase (ISDH) e fungicidas multissítios como mancozebe, cúpricos e clorotalonil.

Os IQe (estrobirulinas) agem inibindo a respiração mitocondrial por ligação com o sítio Qe do complexo citocromo bc1 (complexo III), impedindo a transferência de elétrons e consequentemente a produção de ATP, levando a uma deficiência energética em células fúngicas (ex: piraclostrobina e azoxistrobina). Os IDM (triazóis) atuam na inibição do ergosterol, o qual é um componente na membrana celular de fungos (ex: tebuconazol e epoxiconazol). Os ISDH (carboxamidas) agem de modo similar aos IQe, no entanto atuam no complexo 2 da cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria (ex: fluxapiroxade e bixafen) (FRAC-BR, 2017).

A alta variabilidade de *P. pachyrhizi* aliada às grandes populações desenvolvidas nas áreas de cultivo com variedades suscetíveis e sujeitas a aplicações de fungicidas levou a seleção de populações menos sensíveis aos fungicidas sítio-específicos. Alguns desses grupos já tiveram redução de sensibilidade comprovada. Mutações gênicas no citocromo b gerou redução da sensibilidade do patógeno aos IQe, assim como mutações nos códons 120, 131, 142, 145 e 475 e superexpressão do gene *cyp51* geraram menor de sensibilidade aos IDM (Schmitz *et al.*, 2014; Klosowski *et al.*, 2016).

Isolados menos sensíveis aos fungicidas ISDH foram encontrados pela primeira vez em estudos de monitoramento na safra 2015/2016, envolvendo a mutação I86F na subunidade do gene *SdhC* (Simões *et al.*, 2018), na região Sul do Brasil.

A redução de eficiência no controle da doença reforçou a adoção de fungicidas multissítios, protetores e imóveis, como o mancozebe, o clorotalonil e cúpricos que têm se mostrado bons aliados no controle da doença e no manejo de resistência de fungos a fungicidas (Silva *et al.*, 2015). As orientações ligadas ao controle químico, de acordo com a FRAC-BR, é utilizar fungicidas multissítios, realizar aplicações de forma preventiva, respeitar o vazio sanitário, não semear soja tardia, realizar a semeadura na época recomendada e dar preferência a cultivares de ciclo curto e com genes de resistência.

2.6.3 Controle genético

O processo de melhoramento de plantas, em que há o cruzamento de plantas suscetíveis e plantas resistentes, pode gerar dois tipos de resistência: a qualitativa, também conhecida como resistência “vertical” e a quantitativa também conhecida como resistência “horizontal”. Na primeira, não há plantas com nível intermediário de resistência. A planta pode apresentar sintomas e ser considerada suscetível e não apresentar sintomas, ou apenas pequenas lesões necróticas, e ser considerada resistente. A segunda forma de resistência apresenta graus de resistência entre as plantas, podendo variar entre plantas altamente resistentes, mediantemente resistentes e pouco resistentes, chamadas de suscetíveis (Camargo, 2018a).

Na natureza, os microrganismos estão presentes em populações compostas por indivíduos geneticamente diferentes. Esta variabilidade é de grande importância, pois havendo variantes na população, alguns indivíduos podem tolerar e sobreviver a alterações do ambiente ou imposta por fatores externos (Mizubuti & Ceresini, 2018). A variabilidade genética da população de *P. pachyrhizi* faz com que o processo de obtenção de uma cultivar que apresente resistência total a todos os isolados seja um processo complexo (Bromfield *et al.*, 1980; Bonde *et al.*, 2006). Desta forma, o uso de um único gene para controlar a ferrugem-asiática pode ter alguma utilidade, entretanto, o uso de resistência parcial, pode ser necessário para o desenvolvimento de cultivares que atrasam o desenvolvimento da doença (Hartman *et al.*, 2005).

A resistência à ferrugem-asiática da soja tem sido encontrada em inúmeros acessos de plantas de soja. Sete genes R dominantes de resistência a *P. pachyrhizi* já foram mapeados. Esses genes são referidos como Rpp's e variam de Rpp1 a Rpp7 (Bromfield & Hartwing, 1980; McLean & Byth, 1980; Bromfield & Melching, 1982; Hartwig & Bromfield, 1983; Hartwig, 1986; Garcia *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Childs *et al.*, 2018b).

O primeiro gene que condiciona resistência à ferrugem-asiática da soja foi identificado por McLean & Byth (1980). Estudos para determinar a herança da resistência em três acessos de soja ao isolado Q-1 da Austrália e determinar a relação alélica entre os genes desses acessos foram desenvolvidos utilizando os genótipos: PI (“*Plant Introduction*”) 200492, originalmente da estação experimental de Chiougoku-Shikoku em Shikoku no Japão, a Tainung 3, originada do cruzamento entre Nung-shih H-11 X PI 200492, e Tainung 4, do cruzamento entre Nung-shih H-11 X PI 200492. Estudos preliminares sugeriram que um ou poucos genes seriam os responsáveis por determinar a resistência à ferrugem-asiática em cada

acesso. No entanto, o cruzamento entre os acessos e cultivares convencionais mostraram que a resistência era controlada por um único gene dominante. Os autores sugeriram o termo Rpp1 para indicar o gene que condiciona a resistência à ferrugem-asiática na PI 200492. Posteriormente, o gene foi mapeado no cromossomo 18 por Hyten *et al.* (2007). O resultado da ação do gene em diferentes populações do patógeno é variável. Rpp1 conferiu resistência a populações de *P. pachyrhizi* dos EUA durante muitos anos, mas é suscetível a muitos isolados de ferrugem-asiática em outras partes do mundo, incluindo na América do Sul.

O gene Rpp1-b foi descoberto na PI 594538A por Chakraborty *et al.* (2009) por meio do mapeamento molecular de isolados coletados no Zimbábue em 2001. A localização desse gene é próxima ao locus Rpp1. Rpp2 foi descoberto na PI 230970 e possui ampla resistência comparada a de Rpp1 e foi mapeado por Silva *et al.* (2008). Rpp5 foi encontrado no cruzamento entre as PI's 200456, 200526, 471904 com a cultivar CD 208. O gene recessivo da PI 200456, o gene dominante da PI 200526 e o gene dominante incompleto da PI 471904 foram mapeados entre os mesmos locos do mapa de consenso da soja, embora as distâncias entre os locos variassem entre populações do patógeno (Garcia *et al.*, 2008). A descoberta mais recente de um gene que confere resistência à ferrugem-asiática da soja é do gene Rpp7, cuja nomeação foi aprovada pelo Comitê de Genética de Soja para o gene de resistência à ferrugem da soja da PI 605823, situado numa região genômica totalmente diferente de qualquer um dos locos em que Rpp1 a Rpp6 foram descritos (Childs *et al.*, 2018b).

2.6.3.1 Cultivares resistentes a *P. pachyrhizi*

Em 2008, a Fundação MT em parceria com Tropical Melhoramento e Genética (TMG) lançaram as duas primeiras cultivares de soja da série Inox®, TMG 801 e TMG 803. Em seguida, no ano 2010, foi lançado a cultivar 7188 RR com tecnologia Inox e transgenia Roundap Read. Atualmente a empresa conta com oito cultivares com a tecnologia disponível no mercado.

Como resultado de uma parceria entre Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Goiás (EMATER-GO) e o Centro Tecnológico para Pesquisas Agropecuárias Ltda (CTPA), na safra 2010/11 foi lançada a cultivar BRSGO 7560, portadora de um gene maior, recessivo com resistência vertical ao patógeno da ferrugem-asiática da soja (EMBRAPA, 2010).

Em 2018, outro material, também desenvolvido pela EMBRAPA foi lançado. A cultivar BRS 511 foi a primeira cultivar a ser lançada no mercado com o selo Tecnologia

Shield, que identifica cultivares com genes de resistência à ferrugem-asiática. O material não confere imunidade à doença, mas foi lançado com a proposta de reduzir o número de aplicações e permitir o convívio com a doença no campo, sendo uma cultivar tolerante ao patógeno (EMBRAPA, 2018).

Esses genes são usados em programas de melhoramento de cultivares comerciais de soja. No Brasil, a TMG (Tropical Melhoramento e Genética) e a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) têm desenvolvido cultivares com esses genes a partir de técnicas de introgressão e piramidamento genético. No entanto, os genes de resistência inseridos nesses materiais condicionam a resistência vertical (qualitativa), que possui estabilidade não durável. Grande parte das pesquisas tem se concentrado na obtenção de genes para o desenvolvimento de cultivares resistentes, mas pouco se sabe sobre o impacto dessas cultivares dentro da epidemia da doença.

2.6.4 Situação atual dos programas de melhoramento

Os programas de melhoramento genético têm como objetivo o desenvolvimento de novas cultivares, contribuindo no desafio de aumentar a produção mundial de alimentos. No entanto é preciso que o desenvolvimento de novos materiais seja realizado buscando a minimização dos efeitos do aquecimento global através do desenvolvimento de cultivares adaptadas aos estresses abióticos como o déficit hídrico e também de bióticos, a fim de minimizar o uso de agrotóxicos.

De acordo com Gwinner *et al.* (2017) o uso frequente de um pequeno conjunto de genótipos no processo de melhoramento de soja no Brasil é um problema que tem culminado na baixa diversidade genética que foi observada em 77 genótipos de soja do programa de melhoramento de plantas da Universidade Federal de Lavras. A baixa diversidade no germoplasma é preocupante quando considerada a vulnerabilidade da agricultura perante as mudanças climáticas. Considerando o aumento da demanda de transgênicos e cultivares precoces no Brasil, a preocupação com a diversidade genética necessita de esforços para enriquecer o *pool* genético da soja.

Trabalhos relacionados à caracterização de resistência de diferentes genótipos de soja à ferrugem-asiática da soja são comumente realizados a partir de avaliações baseadas no tipo e cor de lesão, na severidade avaliada normalmente por escala e na quantificação visual da área lesionada (número de lesões) (Miles *et al.*, 2006, 2011; De Lúcia *et al.*, 2008). A cor da lesão é o parâmetro mais comum para registrar a resistência à ferrugem-asiática da soja,

provavelmente porque pode ser observada macroscopicamente. No entanto, a seleção de variáveis apropriadas para a seleção de resistência deve ser baseada na praticidade e na confiabilidade em todos os ambientes. Usar uma combinação de métodos é a melhor estratégia (Childs *et al.*, 2018a).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar o impacto da ferrugem-asiática em diferentes genótipos de soja, foram avaliados os componentes epidemiológicos número de lesões por cm², número de urédias por cm², tipo de lesão, período latente e produção de esporos em quatro genótipos de soja. Foram instalados dois ensaios em casa de vegetação (Tabela 1).

Tabela 1. Data da semeadura, data da inoculação e do início das avaliações. Piracicaba – SP, 2018

Local	Data de semeadura	Data de inoculação	Início da avaliação	Temperatura média do ar ¹
Embrapa Soja ² – Warta, PR.	15/01/2018	08/02/2018	16/02/2018	25°C
ESALQ/USP ³ – Piracicaba, SP.	12/09/2018	23/10/2018	30/10/2018	22°C

[1] Temperatura média do ar entre a data de semeadura e o início da avaliação

[2] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa de Soja

[3] Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo

Embora não tenha sido descrito detalhadamente, houve uma diferença de temperatura na casa de vegetação entre os experimentos 1 e 2 realizados em Warta, PR e Piracicaba, SP, respectivamente. Provavelmente essa diferença de temperatura gerou uma queda na germinação e crescimento lento das plantas cultivadas em Piracicaba, o que levou as mesmas a serem inoculadas 41 dias após a semeadura enquanto as de Warta foram inoculadas 25 dias após a semeadura.

3.1 Cultivares

Os genótipos resistentes foram selecionados a partir de cultivares comerciais, que apresentam resistência à ferrugem-asiática da soja proveniente das tecnologias oferecidas pelas empresas TMG e EMBRAPA. Um genótipo de soja foi selecionado como padrão suscetível do experimento (Tabela 2).

Tabela 2. Cultivar, mantenedor, número de registro e reação da cultivar quanto à infecção causada por *Phakopsora pachyrhizi*.

Tratamento	Cultivar	Mantenedor	Nº de registro	Reação a ferrugem-asiática
T1	TMG 7062 IPRO	TMG ^[1]	31288	Resistente
T2	BRS 511	EMBRAPA ^[2]	36361	Resistente
T3	PRODUZA IPRO	TMG*	34457	Resistente
T4	68170 RSF IPRO (ÍCONE)	GDM Genética	33807	Suscetível

[1] Tropical Melhoramento e Genética;

[2] Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária;

(*) Seleccionada pela Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária em parceria com Tropical Melhoramento e Genética.

A cultivar TMG 7062 IPRO é uma cultivar comercial classificada como resistente nos catálogos de descrição de cultivares da TMG. A mesma é referida como INOX[®], termo patenteado pela empresa para se referir ao material que contém tecnologia de resistência à ferrugem-asiática da soja. Esse material foi escolhido devido a sua ascensão no mercado de sementes. Sua recomendação para plantio é para região sul e região central do Brasil. Na safra 2017/2018 a cultivar TMG 7062 IPRO foi a nona cultivar mais plantada no Brasil, sendo destaque na região sul como a terceira cultivar mais plantada (Fonte: Informação pessoal oferecida por Helder Leão). A obtenção da resistência presente nesses materiais é feita a partir do cruzamento de materiais de alto teto produtivo com PI's (*"Plant Introduction"*) cujos genes de resistência selecionados são mantidos em sigilo pelos programas de melhoramento.

A PRODUZA IPRO é uma cultivar selecionada pela FAPA (Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária) a partir de materiais com base genética da TMG. É uma cultivar resistente à ferrugem-asiática da soja, porém sua recomendação é restrita para macrorregião sojícola 1 e 2, sul e centro-sul, respectivamente. A cultivar BRS 511 é uma cultivar de soja convencional desenvolvida pela Embrapa, lançada na safra 2017/2018, que também possui resistência genética à ferrugem-asiática da soja. É comercializada como cultivar com reação resistente apresentando lesões do tipo RB (*"Reddish-Brown"*) à ferrugem-asiática. A sua resistência deve-se ao gene Rpp5. É recomendada para as regiões edafoclimáticas 102, 103, 301, 302 e macrorregião 2.

Apesar da resistência introduzida nesses materiais, todos devem receber aplicação de fungicida seguindo o calendário de aplicação de produtos fitossanitários. De acordo com as empresas detentoras dos materiais, a aplicação do fungicida é essencial para manutenção da tecnologia. Sendo assim, as cultivares resistentes atuam como uma ferramenta adicional no

manejo da ferrugem-asiática capaz de retardar o avanço da doença e possibilitar segurança em casos onde o intervalo entre aplicações se estende devido à ocorrência de chuvas.

A cultivar 68170RSF IPRO (ÍCONE) foi utilizada como padrão suscetível. É uma cultivar de hábito indeterminado, grupo de maturação 6.8, recomendada para as macrorregiões 1 e 2.

3.2 Instalação e condução do ensaio

A semeadura das cultivares utilizadas para o desenvolvimento dos ensaios foi realizada em vasos com capacidade de três litros preenchidos com terra vegetal e substrato esterilizado. No experimento 1 foram semeados nove vasos por genótipo e no experimento 2, dez vasos por genótipo. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (genótipos), com nove e dez repetições por tratamento, respectivamente, sendo cada repetição constituída por um vaso com uma planta.

Quando as plantas atingiram o estágio V3, dois folíolos foram marcados como 1 e 2. No folíolo 1, dois quadrantes de 1 cm² foram desenhados com o auxílio de molde e caneta permanente (Figura 5). Os quadrantes constituíram a unidade amostral para avaliação do número de lesões por cm², número de urédias por cm² e tipo de lesão. O folíolo 2 foi utilizado para quantificar a produção de esporos.

Figura 5. Molde usado na demarcação dos quadrantes de 1 cm² nos folíolos das plantas de soja para avaliação das variáveis número de lesões por cm², número de urédias por cm² e tipo de lesão.

3.3 Inoculação

No experimento 1, para preparação da suspensão de esporos, foram utilizados esporos frescos de *Phakopsora pachyrhizi* coletados em campo na Embrapa Soja, região de Warta, PR. Sendo assim, os esporos constituíam uma população de *P. pachyrhizi* da região

norte do Estado do Paraná. A suspensão foi preparada com água destilada e uma gota de álcool 70%.

Para execução do experimento 2, foi utilizado uma mistura de esporos congelados, obtidos da coleta realizada em campo na Embrapa Soja em janeiro de 2018, e esporos frescos coletados da casa de vegetação da Esalq, em Piracicaba, SP. Dos esporos que foram coletados em março de 2018, parte foram armazenados em Eppendorf, desidratados em sílica gel e posteriormente congelados em Deep-Freezer (-80°C). Outra parte desses esporos foi utilizada para multiplicação de inóculo em casa de vegetação, na Esalq.

Para os esporos congelados, seguindo a metodologia proposta por Bonde *et al.* (2006) e Schmitz & Stammer (2012) para a quebra de dormência, os esporos foram colocados em banho-maria a 40°C por 5 min, posteriormente foram mantidos em câmara úmida para reidratação por aproximadamente 16 horas. Em seguida, foi preparada a suspensão de esporos com água destilada e uma gota de álcool 70%. A suspensão utilizada nos dois experimentos foi ajustada à concentração de 5×10^4 esporos mL^{-1} com o auxílio de um hemacitômetro do tipo Neubauer. O teste de germinação de esporos em placas contendo ágar-água foi realizado para os experimentos 1 e 2. No experimento 1, onde foi utilizado esporos frescos, a germinação dos esporos foi de 80% enquanto no experimento, onde foi utilizado uma mistura de esporos congelados e frescos foi de 30%.

A inoculação foi realizada com o auxílio de aspersor manual, de forma direcionada nas folhas marcadas até o ponto de escoamento (aproximadamente 1,5 mL de suspensão por folha). A suspensão permaneceu em agitação para que fosse alcançada uma melhor distribuição e padronização do inóculo nas folhas. A inoculação foi realizada por volta das 18:00 horas. Posteriormente, as plantas foram mantidas na casa de vegetação com o sistema de aspersão acionado e ajustado para funcionar por 60 segundos às 19h30min, 21h, 00h, 03h e às 06h para garantir o molhamento foliar e infecção. Após esse período, o sistema de aspersão foi desligado.

3.4 Avaliações

Nos dois experimentos foram avaliadas as variáveis: número de lesões e número de urédias por cm^2 , tipo de lesão, produção de urediniosporos e período latente nos 4 genótipos de soja. As avaliações de número de lesões e número de urédias por cm^2 foram realizadas diariamente nos dois quadrantes de 1 cm^2 desenhados no folíolo 1, com o auxílio de uma lupa de aumento de 10x até a estabilização do crescimento da doença.

O tipo de lesão foi classificado de acordo com metodologia proposta por Bromfield (1984a): Tan (castanha), com pouca necrose associada à reação de suscetibilidade; RB (“reddish-brown”) de coloração marrom-avermelhada associada à reação de resistência, com necrose extensa; MX (“mixed”) quando há mistura dos dois tipos de lesão na mesma folha, a partir da observação das lesões nos quadrantes marcados utilizando a lupa de aumento.

Para medir a produção de urediniósporos, os folíolos marcados como folha dois, foram agitados e os esporos coletados em papel sulfite e armazenados em eppendorf. Posteriormente, em laboratório, foi adicionado um mililitro de solução de água destilada + Tween 20. Cada suspensão foi agitada em agitador magnético por 60 segundos e contabilizada com o auxílio de hemacitômetro do tipo Neubauer em microscópio. Cada amostra foi contabilizada duas vezes e para as análises foi considerado o valor da média entre as contagens. Para a análise dos dados foi utilizado o valor da soma dos esporos do primeiro ao último dia de avaliação.

O período latente foi considerado como o intervalo de tempo, em dias, decorrido entre a inoculação e a ocorrência de 50% das lesões esporuladas (Primiano, 2019).

4 RESULTADOS

4.1 Número de lesões por cm²

Para os genótipos 1-TMG 7062 IPRO, 2-BRS 511, 3-PRODUZA IPRO e 4-68170RSF IPRO foram observados e ajustados os dados de 8 a 13 dias após a inoculação aos modelos lineares e monomoleculares, porém, o modelo monomolecular não apresentou ajuste a todos os dados. Por este motivo, embora o fenômeno não seja linear, foi realizada a regressão do número de lesões por cm² vs tempo para os quatro genótipos em estudo para os dois experimentos, com base no ajuste de modelo linear (Figura 6).

Figura 6. Número de lesões.cm² de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes genótipos no experimento 1 (preto) e experimento 2 (vermelho) em função do tempo, em dias após a inoculação. TMG7062 IPRO ○; BRS 511 □; PRODUZA IPRO ● e ÍCONE IPRO ■. As linhas representam a regressão linear de cada genótipo.

A partir da regressão obtiveram-se os coeficientes lineares e angulares. O coeficiente linear corresponde ao intercepto, ou seja, declinação da reta, já o coeficiente angular corresponde biologicamente à taxa. Portanto, neste estudo foi dado maior ênfase para o coeficiente angular visto que o objetivo principal foi comparar a taxa de progresso da doença entre as cultivares.

Quanto ao intercepto, no experimento 1, não houve diferença entre os genótipos resistentes TMG 7062 IPRO e PRODUZA IPRO. BRS 511 obteve resultado similar ao genótipo suscetível (Tabela 3). No experimento 2, TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO (resistentes) não diferiram da cultivar suscetível 68170RSF IPRO (Tabela 3).

Tabela 3. Teste t entre os coeficientes lineares das equações de regressões da variável número de lesões.cm² após a inoculação do fungo *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes cultivares de soja com (1,2 e 3) e sem (4) gene de resistência a ferrugem-asiática da soja.

	Coeficiente Linear (intercepto)			
	Experimento 1	R ²	Experimento 2	R ²
1-TMG 7062 IPRO	1,74	a 0,87	6,15	a 0,90
2-BRS 511	12,63	b 0,50	7,10	a 0,98
3-PRODUZA IPRO	1,40	a 0,83	9,80	a 0,91
4-68170RSF IPRO	0,73	ab 0,89	11,68	a 0,88

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo do teste t a 5% de probabilidade

Quanto a taxa de progresso da doença, no experimento 1, todas as cultivares resistentes e a cultivar suscetível apresentaram valores semelhantes, não diferindo entre si pelo teste t a 5% de probabilidade (Tabela 4). Os resultados do experimento 2 diferiram do experimento 1. As cultivares TMG 7062 IPRO e BRS 511 diferiram entre as demais cultivares. PRODUZA IPRO, resistente, e 68170RSF IPRO, suscetível, apresentaram valores de taxa semelhantes de acordo com o teste t (Tabela 4).

Tabela 4. Teste t entre os coeficientes angulares das equações de regressões da variável número de lesões.cm² após a inoculação do fungo *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes cultivares de soja com (1,2 e 3) e sem (4) gene de resistência a ferrugem-asiática da soja.

	Coeficiente Angular (taxa)			
	Experimento 1	R ²	Experimento 2	R ²
1-TMG 7062 IPRO	1,56	a 0,87	0,71	a 0,90
2-BRS 511	0,99	a 0,50	0,89	a 0,98
3-PRODUZA IPRO	1,59	a 0,83	1,38	b 0,91
4-68170RSF IPRO	2,30	a 0,89	1,67	b 0,88

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo do teste t a 5% de probabilidade

Para uma análise mais clara e objetiva foi feita a avaliação do número de lesões.cm² em apenas uma data. Escolhemos a avaliação no 11º dia para exemplificar este fato (Figura 7).

No experimento 1 apenas os genótipos PRODUZA IPRO e 68170RSF IPRO diferiram entre si para produção de lesões.cm² no 11º dia após a inoculação de acordo com o teste de Tukey (Figura 7A). No experimento 2, apenas o genótipo TMG 7062 IPRO diferenciou do genótipo suscetível 68170RSF IPRO. Os genótipos BRS 511 e PRODUZA IPRO não diferenciaram dos demais genótipos (Figura 7B). É notável que houve inversão na ordem da produção de lesões entre os genótipos PRODUZA IPRO e BRS 511 nos experimentos 1 e 2.

Figura 7. Número de lesões.cm² contabilizadas no 11º dia após a inoculação de *Phakopsora pachyrhizi* por cultivar no experimento 1 (A) e 2 (B). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Número de urédias por cm²

Para o parâmetro número de urédias também foi feita a regressão linear da média do número de urédias por cm² entre as repetições de cada tratamento vs tempo (Figura 8).

Figura 8. Número de urédias.cm² de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes genótipos no experimento 1 (preto) e experimento 2 (vermelho) em função do tempo, em dias após a inoculação. TMG7062 IPRO ○; BRS 511 □; PRODUZA IPRO ● e ÍCONE IPRO ■. As linhas representam a regressão linear de cada genótipo.

Através dos valores dos coeficientes obtidos na regressão, as equações referentes aos dados do experimento 1 e 2 foram geradas e testes estatísticos foram realizados através do teste t a 5% de probabilidade (Tabela 5).

Tabela 5. Teste t entre os coeficientes lineares das equações de regressões da variável número de urédias.cm² após a inoculação do fungo *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes cultivares de soja com (1,2 e 3) e sem (4) gene de resistência a ferrugem-asiática da soja.

	Coeficiente Linear (intercepto)			
	Experimento 1		Experimento 2	
		R ²		R ²
1-TMG 7062 IPRO	86,76	a 0,87	9,34	a 0,87
2-BRS 511	82,88	a 0,85	13,3	a 0,96
3-PRODUZA IPRO	111,76	a 0,95	23,17	b 0,93
4-68170RSF IPRO	131,21	a 0,97	29,36	b 0,93

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo do teste t a 5% de probabilidade

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, considerando os valores de intercepto do experimento 1, os genótipos TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO e 68170RSF IPRO não diferiram entre si pelo teste t. Quanto aos interceptos obtidos no experimento 2, apenas os genótipos TMG 7062 IPRO e BRS 511 se diferenciaram do genótipo suscetível. O coeficiente linear do tratamento PRODUZA IPRO não diferiu do tratamento suscetível (68170RSF IPRO).

O teste t a 5% de probabilidade foi aplicado também para os coeficientes angulares obtidos das regressões dos experimentos 1 e 2 (Tabela 6).

Tabela 6. Teste t entre os coeficientes angulares das equações de regressões da variável número de urédias.cm² após a inoculação do fungo *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes cultivares de soja com (1,2 e 3) e sem (4) gene de resistência a ferrugem-asiática da soja.

	Coeficiente Angular (taxa)			
	Experimento 1		Experimento 2	
		R ²		R ²
1-TMG 7062 IPRO	10,34	a 0,87	1,06	a 0,87
2-BRS 511	15,46	ab 0,85	1,70	b 0,96
3-PRODUZA IPRO	15,34	a 0,95	3,09	c 0,93
4-68170RSF IPRO	21,66	b 0,97	3,94	c 0,93

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo do teste t a 5% de probabilidade

Considerando as taxas de progresso do experimento 1, observa-se que os tratamentos resistentes TMG 7062 IPRO, BRS 511 e PRODUZA IPRO não diferiram entre si, obtendo valores de coeficiente angular semelhantes. No entanto, apenas os tratamentos TMG 7062 IPRO e PRODUZA IPRO diferiram da cultivar suscetível 68170RSF IPRO. Esta por sua vez foi similar ao genótipo BRS 511(Tabela 6).

No experimento 2, os resultados mostram que as taxas das cultivares resistentes TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO, diferenciaram entre si. Apenas o genótipo

PRODUZA IPRO apresentou valor da taxa semelhante ao encontrado no genótipo 68170RSF IPRO (Tabela 6).

Novamente, para uma análise mais clara e objetiva foi feita a avaliação do número de lesões por cm^2 no 11º dia (Figura 9). No experimento 1 os genótipos TMG 7062 IPRO e PRODUZA IPRO diferiram do genótipo suscetível 68170RSF IPRO. O mesmo não ocorreu com o genótipo BRS 511 que apresentou resultados semelhantes a este de acordo com o teste de comparação múltipla de médias de Tukey a 5% de probabilidade (Figura 9A).

No experimento 2, apenas o genótipo TMG 7062 IPRO, que obteve 2,0 urédias. cm^2 em média no 11º dia após a inoculação, diferiu do genótipo 68170RSF IPRO que obteve 15,9 urédias. cm^2 . Os genótipos BRS 511 e PRODUZA IPRO não diferiram entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (Figura 9B).

Figura 9. Número de urédias. cm^2 contabilizadas no 11º dia após a inoculação de *Phakopsora pachyrhizi* por cultivar no experimento 1 (A) e 2 (B). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.3 Produção de esporos e período latente

Para a análise da variável produção de esporos foi utilizado a soma dos esporos coletados do oitavo ao décimo quarto dia após a inoculação, utilizando a média das repetições de cada tratamento por dia de avaliação. O teste de comparação múltipla de médias de Tukey a 5% de probabilidade foi utilizado para obter grupos de tratamentos com efeitos semelhantes.

De acordo com os dados apresentados na Figura 10, em ambos os experimentos, as cultivares resistentes produziram menos esporos do que a cultivar suscetível. Os tratamentos resistentes não diferiram entre si quanto ao total de esporos produzidos. Observa-se que no experimento 1 os genótipo TMG 7062IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO produziram respectivamente 22,5, 5,3 e 3,7 vezes menos urediniósporos do que a cultivar suscetível

68170RSF IPRO (Figura 10A). No experimento 2, TMG 7062 IPRO, BRS 511 e PRODUZA IPRO produziram respectivamente 25,5, 8,5 e 3,4 vezes menos urediniósporos que 68170RSF IPRO (Figura 10B).

Figura 10. Produção de esporos de *Phakopsora pachyrhizi* por cultivar de soja aos 14 dias após a inoculação no experimento 1 (A) e experimento 2 (B), respectivamente. Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para calcular o período latente foi utilizado o dia correspondente a 50% do número total de lesões produzidas até a última avaliação. Não houve diferença entre o período latente das cultivares resistentes com a cultivar suscetível (Tabela 7).

Tabela 7. Período latente, em dias após a inoculação, dos diferentes genótipos a partir do número de lesões nos experimento 1 e 2.

Genótipos	Período Latente (dias)	
	Experimento1	Experimento 2
TMG 7062 IPRO	11	13
BRS 511	10-11	12
PRODUZA IPRO	10-11	11
68170RSF IPRO	10-11	11-12

4.4 Efeito da resistência no tipo de lesão

O tipo de lesão variou entre as cultivares. Sabe-se que a lesão do tipo Tan é típica de genótipos suscetíveis, no entanto, foram encontradas lesões mistas, ou seja, com presença de coloração e produção de urédia típicas de cultivares suscetíveis, em materiais resistentes. No experimento 1, observando as imagens coletadas, a cultivar TMG 7062 IPRO apresentou lesões tipicamente RB, de coloração escura, marrom-avermelhada, com pouca ou nenhuma esporulação. Já as cultivares também resistentes BRS 511 e PRODUZA IPRO apresentaram lesões mistas. O genótipo BRS 511 apresentou lesões do tipo Tan, com bastante produção de esporos, ao lado de lesões RB, com pouca ou nenhuma esporulação (Figura 11).

Figura 11. Imagem dos genótipos de soja 68170RSF IPRO, BRS 511, PRODUZA IPRO e TMG 7062 IPRO, da esquerda para a direita, e as lesões predominantes apresentadas pelos genótipos durante o primeiro ensaio realizado em casa de vegetação.

No primeiro experimento a cultivar PRODUZA IPRO começou a apresentar lesões mistas com coloração marrom escuro, porém produzindo urédias e esporos. No segundo experimento apresentou lesões tipicamente Tan em algumas plantas e em outras, lesões RB (Figura 12). As cultivares TMG 7062 IPRO, BRS 511 e 68170RSF IPRO apresentaram lesões RB, MX com bastante produção de esporos, e Tan, respectivamente, no experimento 2 (Figura 13).

Figura 12. Imagem dos genótipos de soja 68170RSF IPRO, TMG 7062 IPRO, BRS 511 e PRODUZA IPRO fotografadas em microscópio estereoscópico e as lesões predominantes apresentadas pelos genótipos durante o segundo ensaio realizado em casa de vegetação.

Figura 13. Imagem dos genótipos de soja 68170RSF IPRO, TMG 7062 IPRO, BRS 511, PRODUZA IPROe as lesões predominantes apresentadas pelos genótipos durante o segundo ensaio realizado em casa de vegetação.

5 DISCUSSÃO

O emprego de cultivares resistentes é o método ideal para o controle de doenças por ser aplicável em grandes áreas, ter baixo custo e apresentar pequeno ou nenhum impacto ambiental, ao contrário do que acontece com o emprego frequente de defensivos (Camargo, 2018b). Para o caso da ferrugem-asiática da soja, no entanto, mesmo as variedades mais modernas, comercializadas como resistentes, não prescindem do emprego de fungicidas, fato reconhecido pelas próprias empresas de melhoramento. Este fato está bem corroborado pelos resultados deste trabalho. Mesmo a cultivar que apresentou consistentemente a maior resistência (TMG 7062 IPRO) exibiu, nos diversos parâmetros avaliados (como número de lesões por cm², número de urédias por cm², número de urediniósporos produzidos), resultados aquém do ideal (figuras 6-10), além de não se diferenciar da cultivar suscetível em relação ao período latente (Tabela 7).

Para Berger & Bergamin Filho (1990), Bergamin Filho & Amorim (1996), Berger *et al.* (1997) e Bergamin Filho (2006; 2008), o crescimento da lesão para patógenos tropicais é o conceito chave para explicar a dinâmica epidêmica. Patógenos tropicais têm a capacidade de conquistar dia após dia áreas adjacentes à lesão original, processo que é menos dependente de variáveis climáticas, como o molhamento foliar. Assim o progresso da doença é explicado mais pelo crescimento da lesão (no caso da ferrugem-asiática da soja representado pelo aumento do número de urédias) do que pelo número de novas lesões. Os resultados aqui apresentados corroboram essa visão, o que também foi observado por Bonde *et al.* (2006) e, mais recentemente, por Primiano (2019). Esta última autora diz, inclusive, que o “*in-depth monitoring of satellite uredinia represents a significant breakthrough in our comprehension of the biology of Phakopsora pathogens and the great damage they cause to their hosts*”.

Neste trabalho, a cultivar mais suscetível (68170RSF IPRO) apresentou 4 e 7,9 vezes mais urédias por cm² que a cultivar mais resistente (TMG 7062 IPRO) nos experimentos 1 e 2, respectivamente (Figura 9), em contraste com os resultados desses mesmos experimentos quando se avaliou o número de lesões por cm², que apresentaram resultados menos consistentes (Figura 7). Situação semelhante pode ser vista nas figuras 6 e 8.

A epidemiologia e a genética têm alguns fatores compartilhados e entre eles está o tamanho da população do patógeno que afeta a medição da incidência da doença em epidemiologia e o grau de deriva genética em populações genéticas (McDonald, 2004).

Considerando a taxa de mutação natural, em pequenas populações, a deriva genética leva à perda de alelos ao longo do tempo. Patógenos com grandes tamanhos populacionais

têm maior potencial evolutivo que patógenos com pequenos tamanhos populacionais. Patógenos que sofrem reduções regulares e severas no tamanho da população são menos diversos e mais lentos para se adaptar do que as populações que mantêm um tamanho populacional alto o ano todo. Qualquer medida que mantém pequenos tamanhos de população de patógenos auxilia o controle da doença limitando a diversidade genética na população de patógenos (McDonald & Linde, 2002). Por este motivo, considerando os resultados aqui apresentados, é recomendado o uso de cultivares resistentes como ferramenta no controle da ferrugem-asiática visando a diminuição de esporos e consequentemente redução da taxa de indivíduos resistentes.

No presente estudo foi utilizada uma população de *P. pachyrhizi* coletada na Warta, distrito de Londrina, situado na região norte do Paraná, e não um isolado, o que pode explicar algumas inconsistências entre os experimentos, como a inversão da ordem de resistência das cultivares BRS 511 e PRODUZA IPRO (figuras 8 e 9). Akamatsu *et al.* (2013), investigando a diferença patogênica de 49 populações da América do Sul coletadas no Brasil, Argentina e Paraguai, constatou a alta variabilidade patogênica de populações de *P. pachyrhizi*. De 24 populações coletadas no Brasil, a população coletada no campo da EMBRAPA em Londrina na safra 2008/09 foi a mais virulenta para todos os 16 diferenciais testados. Das 59 populações sul-americanas analisadas, apenas dois pares de populações apresentaram perfis de patogenicidade idêntico e entre estes, do Brasil, apenas a população coletada em Uberaba, MG, na safra 2008/09. Variações na agressividade de *P. pachyrhizi* também foram identificadas por Twizeyimana *et al.* (2014) entre isolados da Nigéria e dos Estados Unidos da América que mostraram diferença significativa para o aparecimento de lesões, urédias, esporulação e número de lesões.

Devido à importância do crescimento da lesão, representado pelo aumento do número de urédias por cm², a redução da mesma deve ser enfatizada nos programas de melhoramento. Essa redução pode ser obtida pela seleção de cultivares com menor tamanho de lesão inicial e com menores taxas de expansão, como preconizado por Berger *et al.* (1997), características observadas de forma mais acentuada em TMG 7062 IPRO.

Quanto ao período latente, as cultivares resistentes (TMG 7062 IPRO, BRS 511 e PRODUZA IPRO) não diferiram da suscetível (68170RSF IPRO) (Tabela 7), o que sugere que esse parâmetro não foi enfatizado no processo de melhoramento dessas cultivares. Fato semelhante foi relatado por Danelli & Reis (2016) que, em estudo realizado em câmara de crescimento utilizando as cultivares BRSGO 7560 (resistente) e BRS 246 RR (suscetível), encontraram períodos de latência de 17, 10,2 e 8 dias para a cultivar resistente e 19, 9,3 e 8

dias para a cultivar suscetível, quando expostas a temperaturas de 15°C, 22°C e 25°C, respectivamente.

Referente ao tipo de lesão, a cultivar 68170RSF IPRO, suscetível, apresentou lesões tipicamente TAN e produziu mais lesões, urédias e urediniósporos do que os materiais resistentes (lesões RB e MX). A mudança de características da lesão da cultivar PRODUZA IPRO pode estar relacionada às características do gene que é desconhecido, à quebra de resistência ou a mistura de raças.

6 CONCLUSÃO

- (i) Número de urédias por cm^2 é um critério mais confiável e consistente do que número de lesões por cm^2 para quantificar a resistência de genótipos de soja à ferrugem-asiática;
- (ii) As cultivares resistentes disponíveis no mercado não prescindem da periódica aplicação de defensivos químicos para evitar danos severos à produção, uma vez que permitem considerável esporulação do patógeno;
- (iii) Os programas de melhoramento visando resistência à ferrugem-asiática devem enfatizar além do critério urédias por cm^2 , maior duração do período latente.
- (iv) Cultivares resistentes produzem menos esporos do que cultivares suscetíveis diminuindo a frequência de mutações de indivíduos.

REFERÊNCIAS

- ADAPEC-TOCANTINS, 2016. *Portaria nº 164, de 02 de maio de 2016*.
- Agrodefesa, 2014. *Instrução Normativa AGRODEFESA nº 08/2014*. Brasil: Diário Oficial/GO nº 21.957.
- Akamatsu H, Yamanaka N, Yamaoka Y *et al.*, 2013. Pathogenic diversity of soybean rust in Argentina, Brazil, and Paraguay. *Journal of General Plant Pathology* **79**, 28–40.
- Alves SAM, Furtado GQ, Bergamin Filho A, 2006. Influência as condições climáticas sobre a ferrugem da soja. In: Zambolim L, ed. *Ferrugem Asiática da Soja*. Viçosa, 37–57.
- Alves SAM, Furtado GQ, Carneiro LC, Godoy CV, Bergamin Filho A, 2005. Influência da temperatura e da duração do período de molhamento foliar no desenvolvimento da ferrugem da soja. *Fitopatologia Brasileira* **30**, 127.
- Bergamin Filho A, 2006. Epidemiologia Comparativa: Ferrugem da Soja e Outras Doenças. In: Zambolim L, ed. *Ferrugem Asiática da Soja*. Viçosa, 15–36.
- Bergamin Filho A, 2008. *Comparative Epidemiology: Soybean Rust and Other Diseases*. Tsukuba, Japan.
- Bergamin Filho A, Amorim L, 1996. *Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico* (Agronômica Ceres, Ed.). São Paulo: São Paulo Ed Agronomica Ceres.
- Berger RD, Bergamin Filho A, 1990. A model for the expansion of cohorts of lesions on cohorts of leaves. *Phytopathology* **80**.
- Berger RD, Bergamin Filho A, Amorim L, 1997. Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology* **87**, 1005–1013.
- Bonde MR, Nester SE, Austin CN *et al.*, 2006. Evaluation of Virulence of *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia* Isolates. *Plant Disease* **90**, 708–716.
- Bromfield KR, 1984. *Soybean rust*. American Phytopathological Society.
- Bromfield K, Hartwing E, 1980. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. *Crop Science* **20**, 254–255.
- Bromfield K. R., Melching J. S., Kingsolver C. H., 1980. Virulence and Aggressiveness of *Phakopsora pachyrhizi* isolates causing Soybean Rust. *Phytopathology* **70**, 17–21.
- Bromfield K, Melching J, 1982. Sources of specific resistance to soybean rust. *Phytopathology* **72**, 706–706.

- Camargo LEA, 2018a. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: Amorim L., Rezende JAM., Bergamin Filho A, eds. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres Ltda., 85–92.
- Camargo LEA, 2018b. Controle genético. In: Amorim L., Rezende JAM., Bergamin Filho A, eds. *Manual de fitopatologia : princípios e conceitos*. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres Ltda., 229–238.
- Chakraborty N, Curley J, Frederick RD *et al.*, 2009. Mapping and Confirmation of a New Allele at Rpp1 from Soybean PI 594538A Conferring RB Lesion-Type Resistance to Soybean Rust. *Crop Science* **49**.
- Childs SP, Buck JW, Li Z, 2018a. Breeding soybeans with resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*). *Plant Breeding* **137**, 250–261.
- Childs SP, King ZR, Walker DR *et al.*, 2018b. Discovery of a seventh Rpp soybean rust resistance locus in soybean accession PI 605823. *Theoretical and Applied Genetics*.
- Consórcio Antiferrugem, 2004. Vazio sanitário e regulamentação de janela de semeadura - Normativas Brasil e Paraguai.
- Danelli ALD, Reis EM, 2016. Quantification of incubation, latent and infection periods of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean, according to chronological time and degree-days. *Summa Phytopathologica* **42**, 11–17.
- EMBRAPA, 2010. Primeira cultivar de soja com resistência à ferrugem chega ao mercado - Portal Embrapa.
- EMBRAPA, 2013. *Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014*. Londrina.
- EMBRAPA, 2018. Nova cultivar de soja favorece manejo da ferrugem-asiática - Portal Embrapa.
- Foreign Agricultural Service/USDA, 2018. *Oilseeds: World Markets and Trade*.
- FRAC-BR, 2017. frac-br | Modo de ação.
- Furtado GQ, Alves SAM, Carneiro LC, Godoy CV, Massola Junior NS, 2009. Influência do estágio fenológico e da idade dos trifólios de soja de *Phakopsora pachyrhizi*. *Tropical Plant Pathology* **34**, 118–122.
- Furtado GQ, Moraes SRG, Alves SAM, Amorim L, Júnior NSM, 2011. The Infection of Soybean Leaves by *Phakopsora pachyrhizi* during Conditions of Discontinuous Wetness. *Journal of Phytopathology* **159**, 165–170.

- Garcia A, Calvo ÉS, de Souza Kiihl RA, Harada A, Hiromoto DM, Vieira LGE, 2008. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. *Theoretical and Applied Genetics* **117**, 545–553.
- Gäumann E, 1950. *Principles of plant infection* (CL& Sons, Ed.). London: Crosby Lockwood & Sons.
- Godoy CV, Almeida AMR, Costamilan LM *et al.*, 2016a. Doenças da Soja. In: Amorim L,, Rezende JAM,, Bergamin Filho A,, Camargo LEA, eds. *Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas*. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres Ltda, 663–664.
- Godoy C V., Koga LJ, Canteri MG, 2006. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira*.
- Godoy CV, Seixas CDS, Soares RM, Marcelino-Guimarães FC, Meyer MC, Costamilan LM, 2016b. Asian soybean rust in Brazil: Past, present, and future. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* **51**, 407–421.
- Godoy CV, Seixas CDS, Soares RM, Meyer MC, 2018. Consórcio Antiferrugem.
- Gwinner R, Setotaw TA, Pasqual M *et al.*, 2017. Genetic diversity in Brazilian soybean germplasm. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* **17**, 373–381.
- Hartman GL, Haudenschild JS, 2009. Movement of *Phakopsora pachyrhizi* (soybean rust) spores by non-conventional means. *European Journal of Plant Pathology* **123**, 225–228.
- Hartman GL, Miles MR, Frederick RD, 2005. Breeding for Resistance to Soybean Rust. *Plant Disease* **89**, 664–666.
- Hartwig EE, 1986. Identification of a 4th major gene conferring resistance to soybean rust. *Crop Science* **26**, 1135–1136.
- Hartwig E, Bromfield K, 1983. Relationships among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. *Crop Science* **23**, 237–239.
- Henning AA, Godoy CV, 2006. Situação da ferrugem da soja no Brasil e no mundo. In: Zambolim L, ed. *Ferrugem Asiática da Soja*. Viçosa: Viçosa UFV, 140.
- Hirakuri MH, Lazzarotto JJ, 2014. *O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro*. Londrina, PR.
- Hyten DL, Hartman GL, Nelson RL *et al.*, 2007. Map Location of the Rpp1 Locus That Confers Resistance to Soybean Rust in Soybean. *Crop Science* **47**, 837–840.
- INDEA-MT, 2015. *Instrução Normativa conjunta SEDEC/INDEA-MT n° 002/2.015*. Brasil: Diário Oficial n° 26629.
- Ivancovich A, 2005. Soybean Rust in Argentina. *Plant Disease* **89**, 667–668.

- Jacoud Filho D, Passini F., Dabul ANG, Granado CJ., Figueiredo MB, 2007. Alternatives hosts of the agent of the Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, **32**, 60–63.
- Klosowski AC, May De Mio LL, Miessner S, Rodrigues R, Stammers G, 2016. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. *Pest Management Science* **72**.
- Langenbach C, Campe R, Beyer SF, Mueller AN, Conrath U, 2016. Fighting Asian Soybean Rust. *Frontiers in Plant Science* **7**, 797.
- Levy C, 2005. Epidemiology and Chemical Control of Soybean Rust in Southern Africa. *Plant Disease* **89**, 669–674.
- Li S, Smith JR, Ray JD, Frederick RD, 2012. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. *Theoretical and Applied Genetics* **125**, 133–142.
- De Lúcia A, Gilli J, Soldini D, Salines L, Blaszczyk J, Fariza S, 2008. Current Situation of Breeding for Resistance to Soybean Asian Rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Argentina: Assessment of the Official Germplasm Bank. Tsukuba.
- Madalosso MG, Balardin R, 2015. Mecanismo e modo de ação do grupo químico das Carboxamidas (SDHI). *Phytus Técnica*, 1–4.
- MAPA, 2006. *INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 2, DE 29 DE JANEIRO DE 2007*.
- McDonald BA, 2004. Population Genetics of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*.
- McDonald BA, Linde C, 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **40**, 349–379.
- McLean R, Byth D, 1980. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. *Australian Journal of Agricultural Research* **31**, 951–956.
- Melching JS, Dowler WM, Koogler DL, Royer MH, 1989. Effects of Duration, Frequency, and Temperature of Leaf Wetness Periods on Soybean Rust. *Plant Disease* **73**, 117–122.
- Melching J. S., Bromfield K. R., Kingsolver C. H., 1979. Infection, colonization, and uredospore production on wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology* **69**, 1262–1265.
- Miles MR, Bonde MR, Nester SE, Berner DK, Frederick RD, Hartman GL, 2011. Characterizing Resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in Soybean. *Plant Disease* **95**, 577–581.
- Miles MR, Frederick RD, Hartman GL, 2006. Evaluation of Soybean Germplasm for Resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. *Plant Health Progress*.

- Mizubuti ESG, Ceresini PC, 2018. Biologia de populações de fitopatógenos. In: Amorim L,, Rezende JAM,, Bergamin Filho A, eds. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres Ltda., 481–496.
- Nagarajan S, Singh D V, 1990. LONG-DISTANCE DISPERSION OF RUST PATHOGENS. *Annual Review Phytopathology* **28**, 139–153.
- Nepomuceno AL, Farias JRB, Neumaier N, 2008. Características da Soja. *Embrapa-CNPSo*.
- Ono Y, Buriticá P, Hennen JF, 1992. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. *Mycological Research* **26**, 825–850.
- Del Ponte EM, Godoy C V, Li X, Yang XB, 2006. Predicting Severity of Asian Soybean Rust Epidemics with Empirical Rainfall Models. *Phytopathology* **96**, 797–803.
- Primiano IV, 2019. Comparative epidemiology of grapevine and soybean rusts. USP/Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz.”
- Rotem J, Cohen Y, Bashi E, 1978. HOST AND ENVIRONMENTAL INFLUENCES ON SPORULATION IN VIVO. *Ann. Rev. Phytopathol* **16**, 83–101.
- Rubio N, 2016. *Oilseeds and Products Update - Soybean Production and Exports Forecast to Reach Record*. Brasilia.
- Schmitz HK, Medeiros C-A, Craig IR, Stammler G, 2014. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. *Pest Management Science* **70**, 378–388.
- Schmitz HK, Stammler G, 2012. Effects of Long-Term Storage Methods on the Infectivity of Urediospores of *Phakopsora pachyrhizi*. *Journal of Phytopathology* **160**, 500–503.
- Schneider RW, Hollier CA, Whitam HK *et al.*, 2005. First Report of Soybean Rust Caused by *Phakopsora pachyrhizi* in the Continental United States. *Plant Disease* **89**, 774–774.
- Silva LHCP da, Campos HD, Silva JRC *et al.*, 2015. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. *Summa Phytopathologica* **41**, 64–67.
- Silva DCG, Yamanaka N, Brogin RL *et al.*, 2008. Molecular mapping of two loci that confer resistance to Asian rust in soybean. *Theoretical and Applied Genetics* **117**, 57–63.
- Slaminko TL, Miles MR, Frederick RD, Bonde MR, Hartman GL, 2008. New legume hosts of *Phakopsora pachyrhizi* based on greenhouse evaluations. *Plant Disease* **92**, 767–771.
- Twizeyimana M, Sciences C, Ojiambo PS, 2014. Use of Quantitative Traits to Assess Aggressiveness of *Phakopsora pachyrhizi* Isolates from Nigeria and the United States. , 1261–1266.

USDA, 2004. STRATEGIC PLAN TO MINIMIZE THE IMPACT OF THE INTRODUCTION AND ESTABLISHMENT OF SOYBEAN RUST ON SOYBEAN PRODUCTION IN THE UNITED STATES. , 31.

USDA, FAS, 2018a. International: World Oilseed Production. *World Oilseed Production 2017*.

USDA, FAS, 2018b. International: World Soybean Production 2017. *SoyStats* .

Yorinori JT, Paiva WM, Frederick RD *et al.*, 2005. Epidemics of Soybean Rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. *Plant Disease* **89**, 675–677.