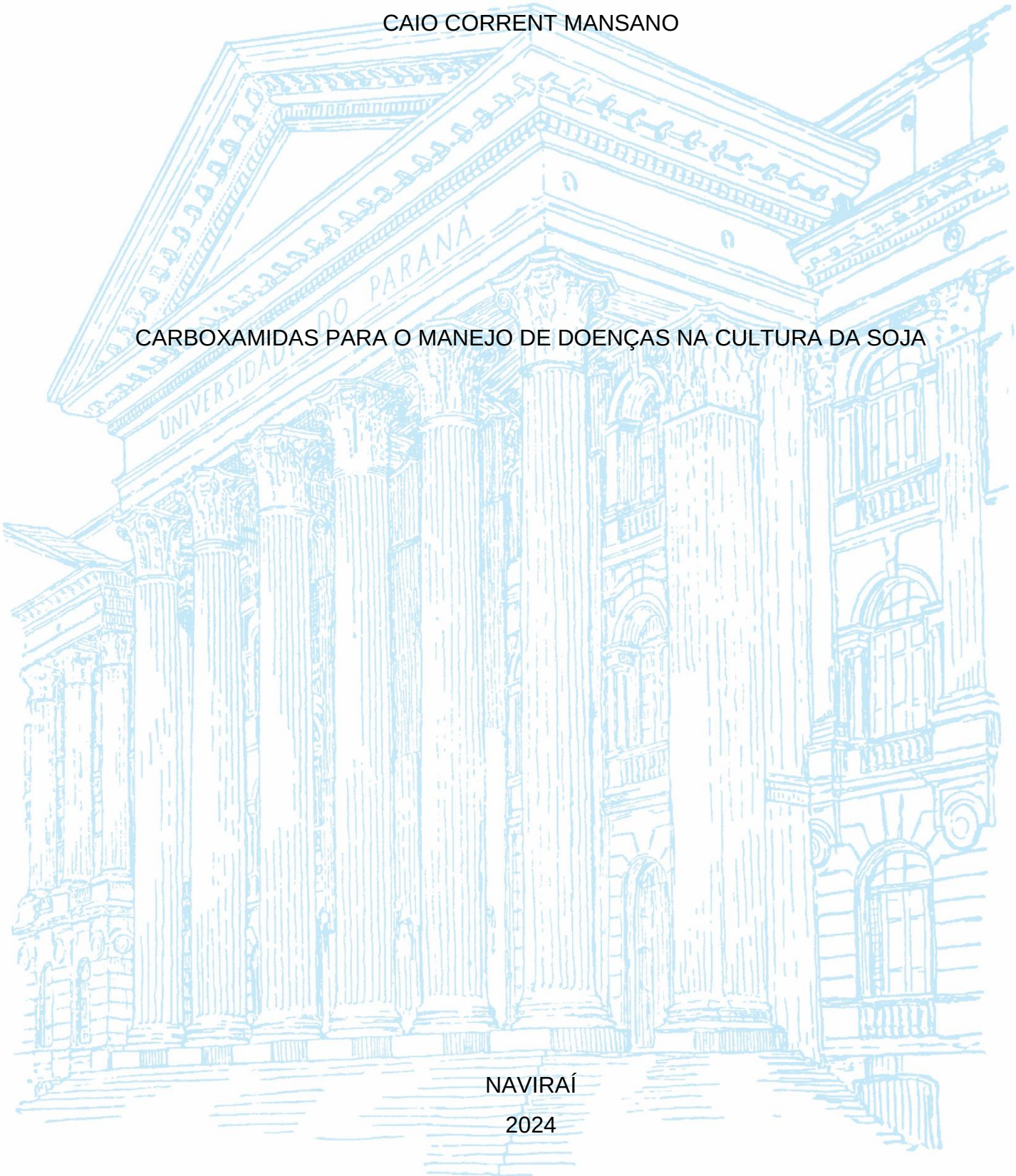
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAIO CORRENT MANSANO



CARBOXAMIDAS PARA O MANEJO DE DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

NAVIRAÍ

2024

CAIO CORRENT MANSANO

CARBOXAMIDAS PARA O MANEJO DE DOENÇAS NA CULTURA DA SOJA

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Fitossanidade.

Orientador Prof. Dr.: Alexandre Claus

NAVIRAÍ

2024

Dedico este trabalho à toda comunidade científica, em especial às áreas das ciências agrárias.

Medo é a ferramenta de um diabo idealizado pelo homem.
A fé inabalável em si mesmo é tanto a arma que derrota este diabo quanto a ferramenta que o homem utiliza para construir uma vida de sucesso.
E é mais do que isso. É uma conexão direta com ar forças irresistíveis do universo que apoiam o homem que não acredita em fracassos e derrotas, senão como experiências meramente temporárias
(NAPOLEON HILL, 1938)

RESUMO

O Brasil como um dos principais fornecedores de soja do mundo tem grande responsabilidade no fornecimento dessa oleaginosa e por consequência a segurança alimentar de milhões de pessoas, contudo, devido às condições climáticas, extensas áreas de cultivo, sucessão de culturas e baixa adesão dos produtores aos manejos de resistência aos fungicidas no país, hoje diversas doenças fúngicas colocam em risco toda essa produção. É nesse contexto que entram os fungicidas, para garantirem que essas doenças não comprometam o pleno desenvolvimento da cultura, todavia o mal uso dessas moléculas ao longo dos anos, as adaptações dos patógenos a mais de uma cultura, a sobrevivência no ambiente e um número crescente de indivíduos mutantes têm colocado em risco a eficiência dos fungicidas. Atualmente um grupo de moléculas é o mais utilizado e um dos mais eficientes para as principais doenças da soja, as carboxamidas. Por esse motivo a maioria dos produtores faz uma ou mais aplicações desse grupo dentro de uma mesma safra de soja e isso muitas vezes se repete na cultura subsequente, seja ela milho ou algodão. Mas a pergunta que fica é: até quando esse grupo vai resistir à tamanha pressão de seleção? Elucida-se nesse trabalho como ocorrem as adaptações dos patógenos aos fungicidas e como isso pode impactar no dia a dia do cultivo de soja no Brasil e no mundo. Além disso, foram descritas as principais mutações e onde ocorreram. Por fim, pôde-se concluir que são necessárias medidas economicamente viáveis, sustentáveis e eficazes para que o crescente número de casos de fungos resistentes ao redor do mundo pare de subir e que as moléculas do grupo das carboxamidas permaneçam como uma excelente opção para o manejo de doenças.

Palavras-chave: Resistência à fungicidas. Doenças fúngicas. Resistência à SDHI. Mutações. *Phakopsora pachyrhizi.*

ABSTRACT

As one of the world's leading soybean suppliers, Brazil has a major responsibility in supplying this oilseed and, consequently, ensuring the food security of millions of people. However, due to climate conditions, extensive cultivation areas, crop succession and low adherence by producers to fungicide resistance management in the country, several fungal diseases currently put all of this production at risk. This is where fungicides come in, to ensure that these diseases do not compromise the full development of the crop. However, the misuse of these molecules over the years, the adaptation of pathogens to more than one crop, survival in the environment and a growing number of mutant individuals have put the effectiveness of fungicides at risk. Currently, one group of molecules is the most widely used and one of the most efficient for the main soybean diseases: carboxamides. For this reason, most producers apply one or more of this group within the same soybean crop and this is often repeated in the subsequent crop, whether corn or cotton. But the question remains: how long will this group resist such selection pressure? This study explains how pathogens adapt to fungicides and how this can impact the day-to-day cultivation of soybeans in Brazil and around the world. In addition, the main mutations and where they occur were described. Finally, it was concluded that economically viable, sustainable and effective measures are needed to stop the growing number of cases of resistant fungi around the world and to ensure that molecules from the carboxamide group remain an excellent option for disease management.

Keywords: Resistance to fungicides. SDHI Resistance. Fungal diseases. Mutations. *Phakopsora pachyrhizi.*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DE CARBOXAMIDA 19
FIGURA 2 - COMO SE DESENVOLVE A RESISTÊNCIA À FUNGICIDAS.....21
FIGURA 3 - ILUSTRAÇÃO COMPLEXO SUCCINATO DESIDROGENASE.....22
FIGURA 4 - ESQUEMA DE TIPOS DE RESISTÊNCIA.....24

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

DMI - “DeMethylation Inhibitiors”

FRAC - “Fungicide Resistance Action Committee”

PIB - Produto Interno Bruto

QoI - “Quinone outside Inhibitor”

SDH - Succinato desidrogenase

SDHI - “Succinate dehydrogenase inibitor”

*Cyt*b - Citocromo b

LISTA DE SÍMBOLOS

© - copyright

µ - micro, unidade de medida

@ - arroba

® - Marca registrada

™ - “Trade Mark”

SUMÁRIO

1. SOJA E DOENÇAS 15
1.1 HISTÓRICO 15
1.2 PRINCIPAIS DOENÇAS 16
2. FUNGICIDAS DO GRUPO CARBOXAMIDA 18
2.1 RECENTES CARBOXAMIDAS 19
3. RESISTÊNCIA DE PATÓGENOS A FUNGICIDAS 20
3.1 COMO OCORRE A RESISTÊNCIA 20
3.2 COMO OCORRE A RESISTÊNCIA A NÍVEL CELULAR 21
3.3 TIPOS DE RESISTÊNCIA 22
3.3.1 Mecanismos de resistência 23
4. PRIMEIROS RELATOS DE RESISTÊNCIA DE FUNGOS À FUNGICIDAS 24
4.1 HISTÓRICO 24
4.2 CASOS DE RESISTÊNCIA À CARBOXAMIDAS 26
4.3 CASOS DE RESISTÊNCIA À CARBOXAMIDA EM DOENÇAS DA SOJA 27
5. MANEJO ANTI-RESISTÊNCIA 29
CONSIDERAÇÕES FINAIS 30
REFERÊNCIAS 32

1. SOJA E DOENÇAS

1.1 HISTÓRICO

Um dos principais países do agronegócio mundial, o Brasil é responsável pela segurança alimentar de milhões de pessoas em diversos países e dentre inúmeros produtos e subprodutos produzidos aqui, a soja é a principal cultura de todo esse conglomerado. Para se ter uma ideia da relevância dessa oleaginosa para a economia do país, de cada 100 dólares exportados, 14 são de soja (Cagnin, 2022).

Os maiores produtores do mundo são, em ordem decrescente, Brasil (153 milhões de toneladas), Estados Unidos (113,34), Argentina (50), China (20,84), Índia (11,88), Paraguai (10,5), Canadá (6,98), Rússia (6,8), Ucrânia (5,2) e Bolívia (3,65) (USDA, 2024). No Brasil os maiores estados produtores de soja em mil toneladas são o Mato Grosso (39.344), Rio Grande do Sul (20.193), Paraná (18.351) e Goiás (16.711) (CONAB, 2024).

O PIB brasileiro em 2022 foi de R$10 trilhões (Estadão, 2023) e o valor de produção da soja, no mesmo ano, foi de R$345,4 bilhões (IBGE, 2023), ou seja, a oleaginosa sozinha representa mais de 13% do PIB do país.

Com isso, é indiscutível a essencialidade desse cereal para economia não apenas brasileira, mas global. Todavia existem fatores que ameaçam toda essa produção, principalmente em um país com clima tropical como o Brasil, onde plantas daninhas, insetos e doenças são abundantes nos sistemas de cultivos da soja e com isso podem causar perdas irreversíveis à cultura.

As doenças da soja podem ser ocasionadas principalmente por fungos, bactérias, vírus e nematoides que anualmente causam uma perda na produção estimada entre 15 e 20%, sendo que algumas doenças podem chegar até 100% (Seixas *et al*., 2020), como é o caso da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) (Godoy *et al*., 2016). A primeira constatação dessa doença no Brasil foi em março de 2001 em plantas de soja “tiguera” em lavouras de milho segunda safra. Estima-se que entre as safras 2001/02 a 2003/04 o prejuízo atribuído à essa doença foi de mais de U$2 bilhões (Yorinori *et al*., 2004).

Além da ferrugem destacam-se as demais principais doenças da cultura no Brasil: Antracnose (*Colletotrichum truncatum*; *C sojae*; *C plurivorum*), cancro da haste

(*Diaporthe aspalathi*; *D. caulivora*), doenças de final de ciclo (*Cercospora kikuchii* e *Septoria glycines*), mancha-alvo e podridão radicular de *Corynespora* (*Corynespora cassiicola*), mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), mela e tombamento (*Rhizoctonia solani* AG1), míldio (*Peronospora manshurica*), entre outras, e o que chama a atenção é que de uma extensa lista (25 doenças), 15 (60%) são ocasionadas por fungos (Seixas *et al*., 2020).

Uma das medidas de controle dessas doenças, para que não comprometam o potencial produtivo das lavouras de soja, principalmente onde as condições climáticas são favoráveis ao seu desenvolvimento, como é o caso do Brasil, é o controle químico com o uso de fungicidas (Toigo *et al*., 2008).

Atualmente o Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC) classifica os fungicidas com eficiência na cultura da soja em cinco: os DMIs (benzimidazóis), as dicarboximidas, os QoIs (estrobilurinas), os SDHIs (carboxamidas) e os multissítios (FRAC, 2024).

No grupo dos DMIs temos como principais representantes e os mais utilizados na cultura os seguintes ingredientes ativos: protioconazol, ciproconazol, difenoconazol e mais recentemente o mefentrifluconazol, lançado pela BASF®. No grupo dos QoIs são a trifloxistrobina, azoxistrobina e picoxistrobina. Benzovindiflupir, bixafem e fluxapiroxade são os principais representantes do grupo das carboxamidas. Já no grupo dos multissítios, os dois principais representantes são o clorotalonil e o macozeb. Por último, no grupo das dicarboximidas, o iprodiona e o captana são exemplos desse grupo, porém ambos não têm registro para a cultura da soja (IBAMA, 2022).

1.2 PRINCIPAIS DOENÇAS

Sendo a principal doença da cultura, a ferrugem asiática da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrrhizi* encontra-se em todo o território nacional, identificada pela primeira vez em 2001. O principal dano causado é a desfolha prematura das plantas o que pode reduzir a produtividade em até 100%. Os sintomas iniciam-se no geral no terço inferior das plantas de soja e observam-se pontuações verde-escuras a cinza-esverdeada nas folhas. Para a confirmação, constata-se a face abaxial da

folha onde formam-se saliências semelhantes a pequenas bolhas, que são as urédias (estruturas reprodutivas do fungo) (Godoy, 2014).

Mancha olho-de-rã causada pelo fungo *Cercospora sojina* Hara (sin. C. *daizu* Miura) pode ocorrer nas folhas, hastes, vagens e sementes. O tamanho das lesões pode variar de 1 a 5mm de diâmetro. (Kimati *et al*., 2005).

Sendo a doença mais disseminada no país, a mancha parda ou septoriose, causada pelo fungo *Mycosphaerella uspenskajae* Machk & Tomil (*Septoria glycines* Hemmi) já apresenta seus sintomas após duas semanas de emergência das plântulas. Sob situações favoráveis de hospedeiro e clima pode causar intensa desfolha e maturação precoce (Soares *et al*., 2021; Kimati *et al*., 2005).

A mancha alvo e podridão radicular de *Corynespora*, causadas pelo fungos *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt), é caracterizada por pontuações pardas com halos concêntricos, característicos da doença, que chegam até 2cm de diâmetro. O fungo é encontrado em praticamente todas as regiões de cultivo de soja do Brasil. (Soares *et al*., 2021; Kimati *et al*., 2005).

Ocasionada pelo fungo *Colletotrichum dematium* (Pers. Ex Fr) Grove var. *truncata* (Schw.) Arx (sin*. C. truncatum* (Schw.) Andrus & Moore), a antracnose é a principal doença que acomete a cultura no início do estádio reprodutivo, atingindo as vagens em processo inicial de formação. Além disso, a antracnose pode provocar a morte de plântulas, manchas nas vagens e nas hastes, bem como necrose de pecíolos. (Nechet *et al*., 2003; Kimati *et al*., 2005).

Cancro da haste, ocasionada por *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell) Sacc. f. sp. *Meridionalis* Morgan-Jones (*Phomopsis phaseoli* (Dems.) Sacc. f. sp. *Meridionalis* Morgan-Jones) tem os sintomas visíveis aos 15 a 20 dias após a infecção e é caracterizado por pequenas pontuações pretas nas hastes que podem evoluir para manchas alongadas e elípticas. Em condições favoráveis aos desenvolvimento do patógeno as lesões podem ser profundas e causarem lesões na medula das plantas, o que pode levar a quebra da haste e intenso acamamento (Soares *et al*., 2021; Kimati *et al*., 2005).

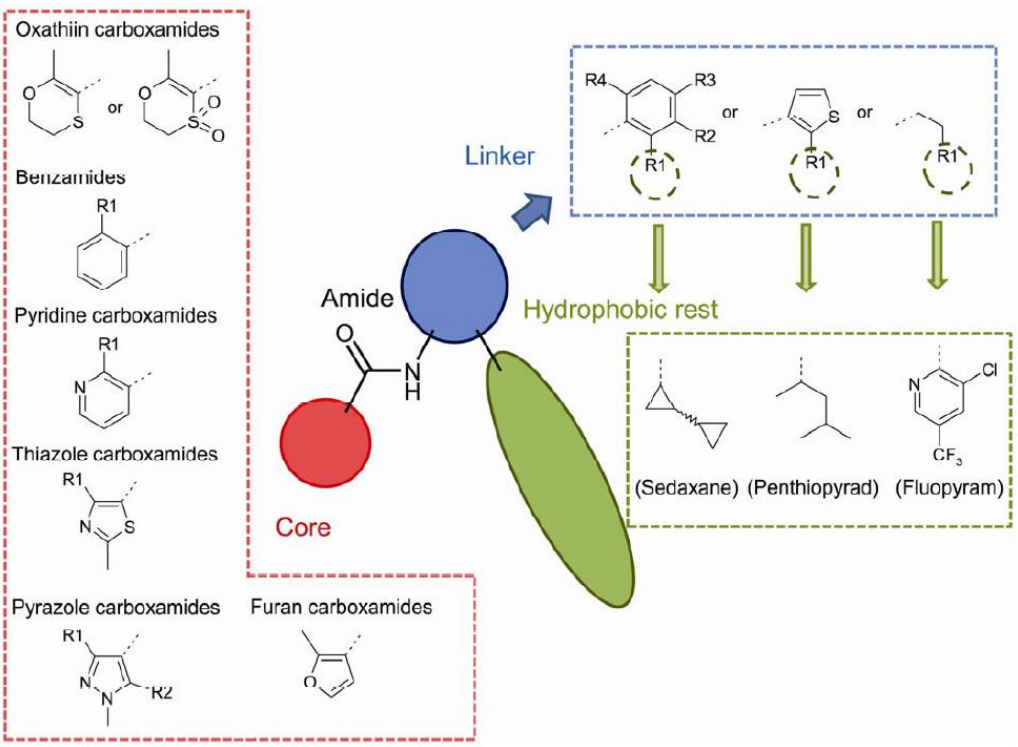
2. FUNGICIDAS DO GRUPO CARBOXAMIDA

O primeiro ingrediente ativo a ser comercializado dessa classe de fungicidas foi a carboxina, em 1966. Era utilizado principalmente no tratamento de sementes para o controle de manchas. Depois, entre 1971 e 1997, vieram benonadil, fenfuram, mepronil, flutolanil, furamepti e a tifluzamida, contudo esses tinham a mesma deficiência da carboxina: um pequeno espectro de controle. Foi então que em 2003 a primeira carboxamida de amplo espectro foi lançada, a boscalida (Sierotzki; Scaliett, 2013). Hoje existem sete grupos químicos que atuam na inibição da SDH (Succinato desidrogenase), compostos por 24 ingredientes ativos distintos (FRAC, 2024). Atualmente os que possuem registro para a cultura da soja são: bixafem, captana, carboxina, fluindapyr, fluxapiroxade, impirfluxam, iprodiona, procimidona, pidiflumetofen e benzovindiflupir (AGROFIT, 2024).

Após anos de pesquisa desenvolveu-se essas moléculas valiosas para a proteção de cultivos, que possuem ação protetiva, elevada atividade a baixas doses e especificidade. Essas moléculas atuam na respiração dos fungos, ligando-se especificamente ao sítio alvo que é a ubiquinona (Q-site), do complexo mitocondrial II (Avenot; Michaildes, 2010).

Estruturalmente os SDHIs são muito diversos, contudo apresentam uma característica essencial que é a ligação amida. O núcleo da molécula que está ligado ao carbonil dessa ligação é utilizado para a classificação de seis grupos químicos (figura 1) (Siertotzki; Scaliett, 2013).

FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DE CARBOXAMIDA



FONTE: Siertotzki e Scaliett, (2013).

Estrutura esquemática de um inibidor da succinato desidrogenase (SDHI), “carboxamida”. Uma característica comum dessas moléculas é a ligação amida. A parte ligante nessa ligação, chamada de “coração” classifica seis grupos químicos. Ao lado da amina, na ligação amida, se conecta um ligante que usualmente é um grupo fenil. O último componente é o “resto hidrofóbico”, localizado na posição orto.

2.1 RECENTES CARBOXAMIDAS

Em 2010 foi lançada pela BASF® uma nova molécula do grupo SDHI no mercado, o fluxapiroxade, primeiramente registrado para as culturas do trigo, triticale, cevada, centeio e aveia, mas logo depois registrou-se para a soja e é hoje uma das moléculas mais utilizadas na cultura no Brasil e no mundo (EFSA, 2012).

Com a promessa de um novo patamar de controle da ferrugem asiática da soja, a Syngenta® lançou em 2013 o benzovindiflupir com a marca comercial Solatenol™, que é um SDHI (Guicherit *et al*., 2024).

Depois em 2015 a Syngenta® Crop Protection trouxe o pidiflumetofen, em contraste com a grande maioria dos SDHIs que são anilidas, esse é apenas o terceiro SDHI com uma ponte C2-amina com a amida central. Pidiflumetofen faz parte de uma nova geração de fungicidas (Jeanmart *et al*., 2021; Xiong Li *et al*., 2022).

Em 2017 a Sumitomo Chemical Company lançou um novo fungicida a base de impirfluxam (Jeanmart *et al*., 2021), que foi então um novo ingrediente ativo, mas que pertence ao mesmo grupo químico das pirazol-4-carboxamidas. Ainda em 2017 a Isagro® SpA e a FMC® Corporation anunciaram o fluindapir, que é muito semelhante ao impirfluxam.

A “pyrapropoyne” foi anunciada também em 2017 pela Nissan® Chemical Indrustries e também faz parte dos novos fungicidas SDHIs com um ligante C2.

Classificado como um novo subgrupo dos SDHIs, a Bayer® CropSciense anunciou em 2017 a descoberta do isoflucipram, a primeira carboxamida com uma porção benzilamina (Desbordes *et al*., 2020; Jeanmart *et al*., 2021)

Anunciada pela Corteva® Agriscience em 2016, a fenpicoxamida é convertida a um produto natural assim que entra em contato com as células vegetais da cultura alvo. Depois, em 2017, a própria Corteva® descobriu a florilpicoxamida, que nada mais é que a fenpicoxamida e seu produto totalmente sintéticos (Jeanmart *et al*., 2021).

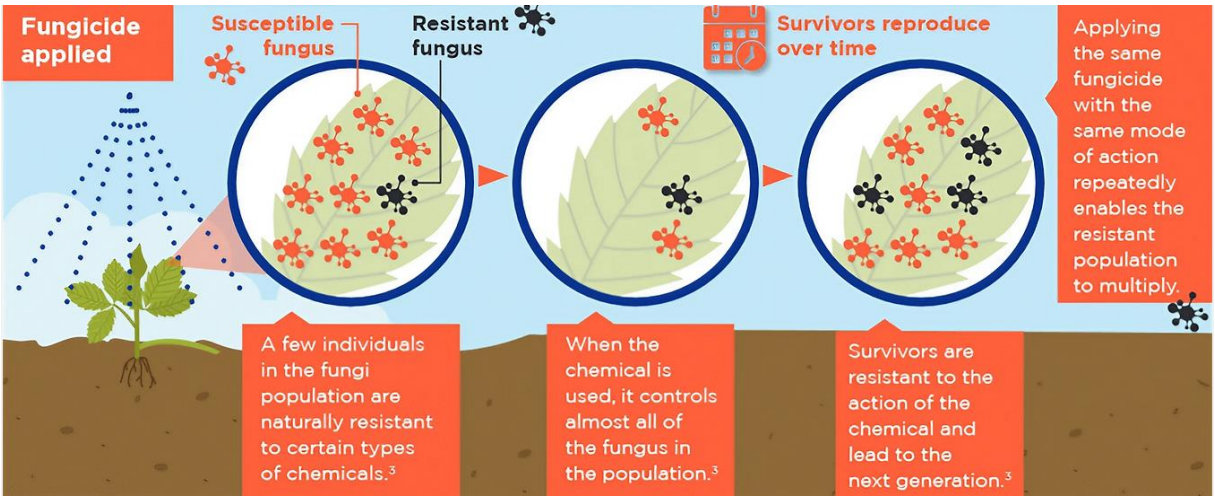
3. RESISTÊNCIA DE PATÓGENOS A FUNGICIDAS

3.1 COMO OCORRE A RESISTÊNCIA

Em uma determinada população de fungos existe uma constante de alelos que se mantém ao longo do tempo, seguindo o pressuposto de Hardy e Weinberg (Equilíbrio de Hardy-Weinberg), a menos que essa população passe por eventos como os de mutação, seleção, deriva genética e outros (Silva, 2017).

Assim, devido a eficácia desses fungicidas (SDHI) no campo, houve em todo o mundo o uso indiscriminado dessas ferramentas, e isso pode potencialmente, devido a especificidade de seu modo de ação, causar seleção de patógenos resistentes (Dekker, 1995). A ilustração de como ocorre essa seleção está na figura 2.

FIGURA 2- COMO SE DESENVOLVE A RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS



FONTE: FRAC (2024).

Após a aplicação dos fungicidas, um pequeno número de indivíduos na população serão naturalmente resistentes, os demais serão controlados. Com o uso repetido do mesmo modo de ação, a população resistente se multiplica.

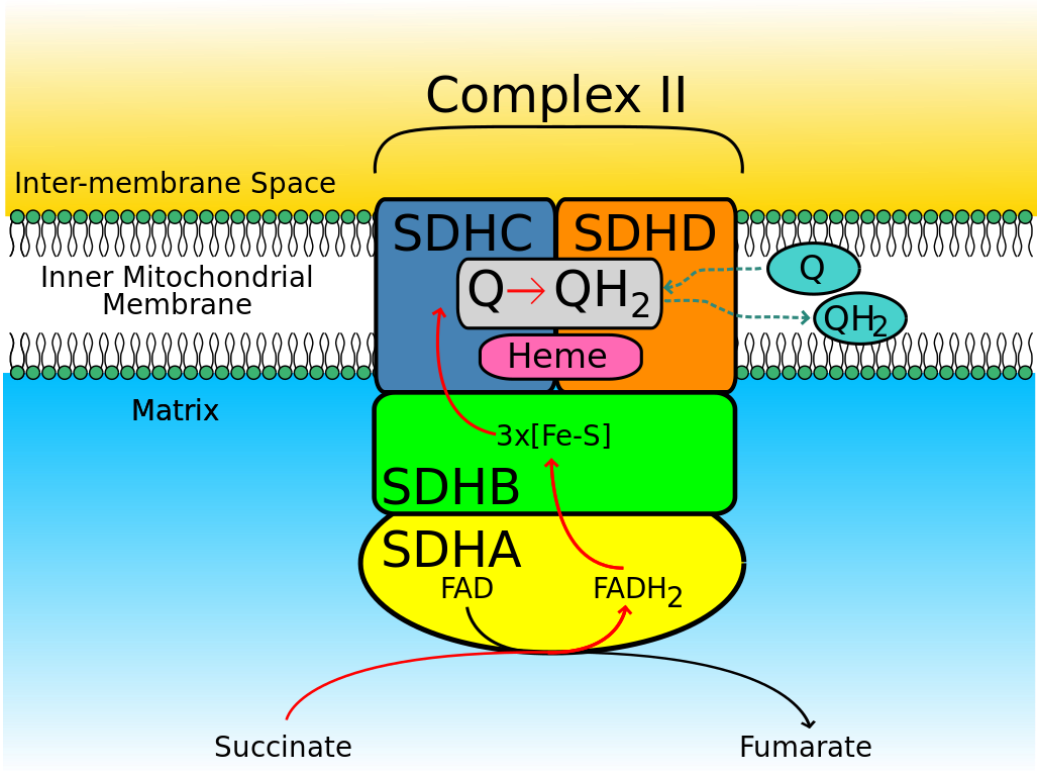
3.2 COMO OCORRE A RESISTÊNCIA A NÍVEL CELULAR

A resistência a carboxamida e a fungicidas que são quimicamente similares ao seu mecanismo de ação é descrita como monogênica e as mutações nos genes da SDH que conferem resistência à carboxamida foram caracterizados em vários organismos (mutações em sítios únicos) (Avenot; Michaildes, 2009).

Essa enzima (SDH) é formada por quatro subunidades (A, B, C e D) que são codificadas no núcleo celular. As subunidades SDHA e SDHB são expostas a matriz mitocondrial, enquanto as subunidades SDHC e SDHD são proteínas integrais de membrana e ancoram as subunidades A e B (Sierotzki; Scaliett, 2013) (figura 3).

As carboxamidas utilizadas na proteção de cultivos, sem exceção, tem como alvo as subunidades B, C e D e existe uma grande variação nos aminoácidos que codificam as subunidades C e D entre as espécies, o que justifica a variação de espectro biológico de controle das SDHIs. Diversos trabalhos mostram que alterações nos genes que codificam essas subunidades que recepcionam as carboxamidas foram responsáveis pelos fenótipos resistentes (Sierotazki; Scaliett, 2013; Keon *et al*., 1991).

FIGURA 3 - ILUSTRAÇÃO COMPLEXO SUCCINATO DESIDROGENASE



FONTE: Wikipédia (https://pt.wikipedia.org/wiki/Succinato_desidrogenase).

3.3 TIPOS DE RESISTÊNCIA

Os tipos de resistência que ocorrem são classificados em dois grandes grupos: qualitativo e quantitativo.

Caracterizada por ser definida por poucos ou por apenas um gene, é a resistência qualitativa ou disruptiva. Nesse caso, existem indivíduos na população que são resistentes a determinados fungicidas, mas esses ocorrem em baixa frequência ou com frequência reduzida, sendo que a dose para o controle desses indivíduos, quando se tornam os mais frequentes na população, é muito alta. Dessa forma, durante o processo de seleção ocorrem apenas indivíduos sensíveis e resistentes, não ocorrem fenótipos com resistência intermediária. Assim, em termos econômicos

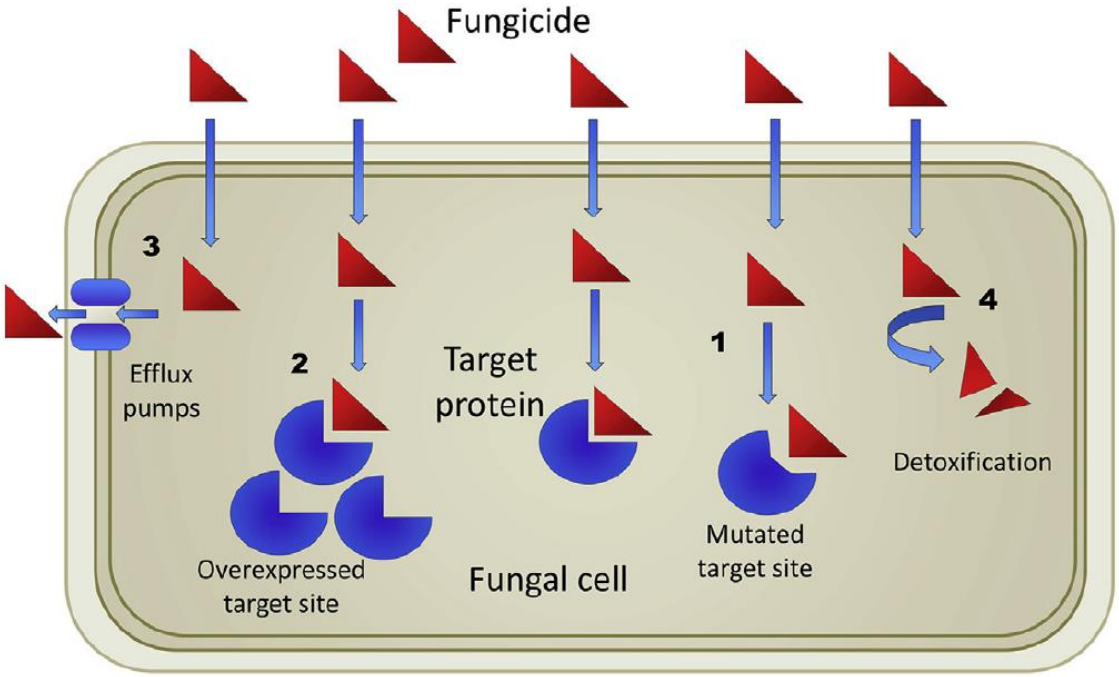
e ambientais, não há razões para o aumento de doses nesse caso (Deising *et al*., 2008).

A resistência quantitativa é caracterizada por afetar diversos genes e dessa maneira os biótipos apresentam uma sensibilidade variada dentro da população. Assim, o aumento de dose do fungicida implica em um ligeiro acréscimo na eficiência do fungicida (Deising *et al*., 2008). Nesse tipo de resistência raramente os fungicidas tem a perda completa da eficiência, uma vez que o processo ocorre ao longo do tempo, de geração em geração do patógeno, o que permite que estratégias anti-resistência sejam adotadas, desde que haja o monitoramento dessas populações (Ghini; Kimati, 2000).

3.3.1 Mecanismos de resistência

Para os fungicidas com sítio específico, são classificados quatro mecanismos de resistência: 1. Alteração do sítio alvo do fungicida na proteína (mutação). 2. Superexpressão do sítio alvo do fungicida. 3. Bombas de efluxo. 4. Degradação do fungicida por enzimas metabólicas (figura 4) (Lucas *et al*., 2015).

FIGURA 4 - ESQUEMA DE TIPOS DE RESISTÊNCIA



FONTE: Lucas *et al*. (2015).

4. PRIMEIROS RELATOS DE RESISTÊNCIA DE FUNGOS À FUNGICIDAS

4.1 HISTÓRICO

Até 1970, época em que os fungicidas não específicos, hoje chamados de multissítios, eram predominantes, haviam sido relatados menos de 10 gêneros de fungos resistentes à fungicidas. Por outro lado, já em 1988, com o uso intensivo e extensivo dos fungicidas sítio-especifico, também conhecidos como sistêmicos, já eram de aproximadamente 60 gêneros (Delp,1988).

Os multissítios são fungicidas que interferem em mais de um processo metabólico do fungo e têm baixo risco de resistência. Por agirem em diferentes pontos metabólicos não podem penetrar na planta pois podem ser fitotóxicos. Com o objetivo de formar uma camada protetora sobre o hospedeiro e impedir o desenvolvimento de infecções, esses fungicidas são pulverizados sobre as partes susceptíveis do

hospedeiro. Enquanto isso, os sítio-específico atuam em pontos específicos do fungo e apresentam alto risco de resistência (Godoy *et al*., 2022)

O primeiro relato de resistência a triazol (benzimidazol) ocorreu nos Estados Unidos, onde o fungo oídio apresentou resistência em plantas de pepino, após um ano de aplicação (Schroeder; Provvidenti, 1969).

Stilgenbauer *et al*. analisaram a presença ou não de mutações no gene CYP51, que é o sítio-alvo dos DMIs, de nove isolados de *P*. *pachyrhizi* da américa do sul. Foram utilizados quatro ingredientes ativos (protioconazol, ciproconazol, tebuconazol e metconazol) em sete concentrações cada um (0/ 0,3/ 1/ 3/ 10 e 100mg i.a. L^{-1}). Foram identificadas três novas mutações: V130A, I145V e F154Y. Cada uma dessas ocorreram em combinação com outras mutações já descritas. As combinações foram: F120L + V130A + Y131F, F120L + Y131H + I145V e F120L + Y131H + F154Y. Previamente descrita, a mutação F120L + Y131H foi detectada em apenas um isolado. Além disso, um dos isolados não apresentou mutação no gene CYP51 e foi considerado como selvagem. Os isolados com a mutação F120L + V130A + Y131F foram mais controlados pelo tebuconazol (DL_{50} = 11-27mg L^{-1}), metconazol (DL_{50} = 23-29mg L^{-1}) e protioconazol (DL_{50} = 27-29mg L^{-1}). Ciproconazol apresentou baixa eficiência com valores variando entre 77 e 98mg L^{-1}. Para os isolados com as combinações F120L + Y131H + I145V/ F154Y, 100mg L^{-1} de tebuconazol e metconazol não foi suficiente para inibir 50% do crescimento de *P*. *pachyrrhizi.* O mais eficiente para essa mutação foi o protioconazol com DL_{50} variando de 10 a 25mg L^{-1} seguido pelo ciproconazol (21 a 38mg L^{-1}) (Stilgenbauer *et al.,* 2023).

Keon *et al*. (1991) descreveram através de transformação genética o ponto de mutação que conferiu resistência à carboxamida ao *Ustilago maydis.* Essa mutação foi indicada no gene que codifica a subunidade Ip da succinato desidrogenase, o gene Cbx r.

Testou-se 46 isolados de *Alternaria alternata* provenientes da cultura do pistache onde suspeitavam de resistência do fungo ao fungicida “Pristine” (piraclostrobina + boscalida) (Qoi + SDHI). Desses 46, 38 eram altamente resistentes à boscalida (Avenot *et al*., 2008).

4.2 CASOS DE RESISTÊNCIA À CARBOXAMIDAS

Testando a sensibilidade de 192 isolados de *Botrytis cinerea* à fluopiram (SDHI), Veloukas e Karaoglanidis (2013) observaram que na fase de elongação do tubo germinativo o patógeno foi mais susceptível à molécula, enquanto que na fase de crescimento micelial foi considerada a fase de menor sensibilidade do patógeno e onde esse apresentou característica de resistência. Mesmo em altas concentrações de fluopiram testadas (10 µg mL^{-1}) o crescimento micelial do fungo não foi interrompido. Foi identificada uma mutação nos isolados resistentes onde possuíam uma substituição de histidina pela arginina no códon 272 (H272R) da subunidade sdhB.

Observando que podridões em pomares de pêssego, causadas pelo fungo *Alternaria alternata,* na Carolina do Sul (EUA), estavam aumentando e sem controle eficiente dos fungicidas, Yang *et al*. (2015) coletaram 63 isolados em pomares aleatórios no estado para analisarem a possibilidade de resistência do patógeno aos fungicidas mais comumente utilizados pelos produtores das regiões (boscalida, fluopiram, pentiopirade e fluxapiroxade). Desses isolados foram localizados 30 fenótipos resistentes à fungicidas SDHI e 10 genótipos com variações de nucleotídeo nas subunidades sdh. A mutação mais frequente dos isolados resistentes foi a H134R na SdhC.

Após observarem deficiência de controle com quatro fungicidas SDHI (boscalida, fluopiram, fluxapiroxade e isopirazam) em *C. cassiicola* na cultura do pepino, Zhu *et al*. (2022) analisaram se haviam mutações relacionadas a menor sensibilidade do fungo e quais as mutações relacionadas.

Foram analisados 357 isolados de 9 localidades produtoras de pepino da China. Foram consideradas cepas resistentes aquelas com valores de EC_{50} acima de 1,72, 0,85, 0,13 e 1,30µg mL^{-1} para os quatro fungicidas testados, respectivamente. A frequência de cepas resistente foi de 79,83% para boscalida, 78,43% para fluopiram, 83,19% para fluxapiroxade e de 49,86% para o isopirazam.

As análises moleculares revelaram mutações nos genes da subunidade D (SdhD) nas regiões D95E e G109V, na SdhB em H278Y/ L e I280V e em SdhC nos genes H134R e N75S. Foram detectadas três mutações duplas I280V+S73P,

I280V+N75S e S73P+N75S. A frequência de todas essas mutações variou de acordo com o ano de coleta das amostras.

A mutação H278Y conferiu alta resistência à boscalida, com EC_{50} de 116,47±60,95µg mL^{-1}, mas foi sensível ao fluopyram com EC_{50} de 0.40 ±0.1µg mL^{-1}. Não obstante, a mutação H278L foi resistente aos quatro ativos testados. A sensibilidade das variações I280V+S73P à isopirazam foram altas em relação ao “wild tipe” (WP).

4.3 CASOS DE RESISTÊNCIA À CARBOXAMIDA EM DOENÇAS DA SOJA

Simões *et al*. (2017) relataram o primeiro caso de *Phakopsora pachyrhizi* com sensibilidade reduzida à SDHI em soja. Após coletarem amostras na cidade de Passo Fundo no estado do Rio Grande do Sul eles observaram sensibilidade reduzida do patógeno à duas carboxamidas: benzovindiflupir e fluxapiroxade. Foi localizada uma alta frequência da mutação C-I86F nos isolados resistentes e a conclusão é que essa mutação foi a responsável pela menor sensibilidade aos fungicidas.

Coletando amostras de populações de *P. pachyrrhizi* de dois dos principais estados produtores de soja do Brasil, Paraná e Bahia, Claus *et al*. (2022) avaliaram se a mutação SdhC-I86F estava associada a penalidades adaptativas e ainda se ela era estável em ambiente controlado com e sem a presença do fungicida SDHI. Destaca-se ainda no trabalho que todas as populações apresentaram alta frequência (100%) da mutação F129L (*Cyt*b), sítio-alvo dos QoIs. Quanto a estabilidade da mutação, na ausência de pressão de seleção, por 36 gerações ela se manteve constante para 60% dos casos, no entanto, em duas populações a frequência reduziu 43 e 60% após as 36 gerações. Na presença do fungicida, no geral, a frequência do alelo de resistência aumentou.

Para avaliação das penalidades adaptativas as populações foram submetidas à diferentes concentrações de NaCl (estresse osmótico). Avaliou-se depois a germinação dos esporos. As populações mutantes (I86F) sofreram mais quando comparadas à WT, ou seja, seus esporos eram menos viáveis quando submetidos ao estresse. Outra avaliação realizada foi a do estresse oxidativo, com o uso de diferentes concentrações de paraquat. Repetiu-se o resultado do estresse osmótico. Os esporos da WT foram mais resistentes ao estresse. Isso implica que houve

penalidades adaptativas para as populações resistentes, ou seja, em condições selvagens as populações-selvagens (WT) teriam mais chances de sobrevivência e reprodução. Ademais, foi avaliada a sensibilidade das populações ao fungicida multissítio macozeb, onde a WT foi menos sensível do que as mutantes (SDHc-I86F). Isso sugere que houve penalidade adaptativa para a população mutante. Contudo não houve essa correlação direta no presente trabalho.

Com o objetivo de analisar a resistência múltipla em isolados de *P. pachyrhizi*, Muller *et al.* (2021) coletaram amostras de quatro estados brasileiros: São Paulo, Paraná, Mato Grosso e Rondônia, totalizando 21 isolados. Para análise de resistência à fungicidas SDHI foram utilizados três tipos diferentes de ingredientes ativos: bixafem, fluxapiroxade e benzovindiflupir. Para a mutação I86F apenas dois dos 21 isolados foram considerados completamente mutantes e um dos isolados apresentou 11% dessa mutação, os demais não apresentaram essa característica. Os isolados totalmente resistentes apresentaram valores de EC_{50} muito maiores quando comparados com a população selvagem, essa apresentou valores de EC_{50} de 11,75µg mL^{-1} para bixafem, 2,31µg mL^{-1} para benzovindiflupir e de 3,74µg mL^{-1} para fluxapiroxade, enquanto que para os mutantes os valores foram de 47,05, 61,05 e 16,0 µg mL^{-1}, respectivamente.

Estudando casos de mutações duplas em *Corynespora cassiicola*, Sun *et al*. (2022) selecionaram isolados que já eram confirmados mutantes simples e desses selecionaram aqueles com dois pontos de mutação. Foram utilizados quatro fungicidas: boscalida, fluopiram, carboxin e “penthiopyrad”. Os resultados mostraram que todos os isolados com mutação dupla foram resistentes à boscalida, contudo a EC_{50} variou entre as diferentes mutações. As mutações duplas B-I280V+D-D95E, B-H278R+D-D95E e B-H278Y+D-G109V foram classificadas como moderadamente resistentes com EC_{50} variando entre 2,472 e 4,062µg mL^{-1}. Já as mutações B-H278Y+DD95E, B-I280V+D-G109V e D-B-H278R+D-G109V foram classificadas como muito resistentes com EC_{50} variando de 13,863 a 16,822µg mL^{-1}. Superando os 25µg mL^{-1} a mutação B-I280V+D-H105R foi identificada como super-resistente. Todos os mutantes foram resistentes ao fluopiram. Isolados que continham apenas a mutação B-H278Y/R apresentaram resistência cruzada negativa entre fluopiram e boscalida. Em relação ao carboxin, os resultados variaram de baixa a moderada

resistência. Quanto ao “penthiopyrad” apenas uma mutação dupla apresentou baixa resistência.

Sabendo que o mesmo fungo causa a mesma doença em ambas culturas, soja e algodão, a mancha alvo tem se tornado cada vez mais resistente aos fungicidas sítio-específico, principalmente aos SDHIs, haja visto que os mesmos princípios ativos são utilizados nas duas culturas, aumentando a pressão de seleção desse fungo à esses fungicidas. Esse fato também ocorre em relação a *P*. *pachyrrhizi* que infecta as plantas de soja invasoras na cultura do algodão, que por sua vez são tratadas com os mesmos fungicidas utilizados na última safra de soja, expondo da mesma maneira esse fungo aos mesmo fungicidas utilizados no cultivo da cultura, assim como ocorre com a *C. cassiicola*. Esse ciclo durante muitos anos tem contribuído para o aumento da resistência desses patógenos aos fungicidas atuais (Reis *et al*., 2023).

5. MANEJO ANTI-RESISTÊNCIA

Aplicar os SDHIs sempre em mistura, sendo que o parceiro da mistura deve ter sozinho um controle satisfatório da doença alvo e deve ser de um modo de ação diferente; usar no máximo duas aplicações de carboxamidas no ciclo da soja; aplicar sempre preventivamente; nunca utilizar subdosagens e respeitar os intervalos de pulverização recomendados pelo fabricante são as mais recentes práticas recomendadas pelo FRAC em relação a molécula química. O comitê ainda cita boas práticas agrícolas com o intuito de redução da fonte de inoculo, como a não realização de cultivo múltiplo, respeito ao vazio sanitário, considerar o uso de variedades mais resistentes à(s) determinada(s) doença(s), redução da janela de plantio, manejar com eficiência plantas de soja voluntarias, considerar o uso de variedades mais precoces e colheita dos resíduos de culturas anteriores.

Somado à isso, o monitoramento é uma importante ferramenta para o acompanhamento da evolução ou não da resistência do patógeno ao fungicida. Com o monitoramento é possível saber se a sensibilidade do fungo está aumentando ou diminuindo e ainda em quais locais isso está acontecendo (Guini; Kimati, 2000).

E mais recentemente diversas empresas e instituições de pesquisa têm reforçado o uso de fungicidas multissítios associados às aplicações com fungicidas sítio-específicos, pois ainda não apresentaram resistência de qualquer fungo que

cause doença na cultura da soja e no geral aumentam a eficiência de controle e a produtividade da soja quando associado às aplicações (Baldo, 2020; Godoy, 2022). Além disso, como já mencionado no trabalho de Claus *et al*. (2022), populações resistentes às SDHIs podem ser mais sensíveis aos fungicidas multissítios, o que reforça a importância do uso dessas moléculas nos manejos.

Ademais, em recente circular técnica divulgada pela EMBRAPA foi avaliada a eficiência de fungicidas registrados e em fase de registro para o controle de *P*. *pachyrhizi* na cultura da soja. O uso de multissítios, seja em mistura de tanque ou em produto formulado, aumentou o nível de controle em 16% na média, para todos os fungicidas sítio-específico testados, comprovando a importância do uso do multissítio, visando melhor performance de controle, e ainda proteger a vida útil das moléculas existentes, reduzindo a frequência da mutação, devido a menor pressão de seleção com a rotação de moléculas (Godoy *et al*., 2024).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nota-se a importância dos fungicidas SDHIs para o manejo de doenças em geral, com destaque para a cultura da soja. Fica evidente que além da importância, seu uso está associado a vários relatos de perda de eficiência, associado a mutações, que comprometem a vida útil das moléculas. Assim, estratégias de manejo anti-resistência são muito aplicáveis. É possível perceber a importância desse grupo de fungicida para a cultura da soja e por isso deve-se adotar tanto quanto possível e com urgência as medidas necessárias para que não sejam perdidas essas moléculas no Brasil.

À luz de tudo que foi exposto no trabalho, chama-se a atenção dos técnicos de campo e pesquisadores para que enfatizem junto aos produtores a importância da implementação das ferramentas anti-resistência que ainda existem e são, com certeza, a única alternativa para a manutenção da eficiência desses fungicidas tão importantes para a cultura não apenas da soja, mas de outras culturas que são susceptíveis os mesmos patógenos e compartilham os mesmos produtos fitossanitários.

Ademais recomenda-se a contínua pesquisa sobre os demais grupos de fungicidas utilizados na cultura, para que o monitoramento da resistência seja contínuo e se necessário as medidas anti-resistência sejam adotadas à tempo.

REFERÊNCIAS

Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Safra 2023/24 9^0 Levantamento. **Companhia Nacional de Abastecimento** (CONAB). Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos

AVENOT, H. F.; MICHAILIDES, T. J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fung. **Crop Protection**, Parllier, v. 29, p. 643-651, 2010.

AVENOT, H. F.; SELLMAN, A.; KARAOGLANIDIS, G.; MICHAILIDES, T. J. Characterization of Mutations in the Iron-Sulphur Subunit of Succinate Dehydrogenase Correlating with Boscalid Resistance in Alternaria alternata from California Pistachio. **Phytopathology**, Davis, vol.98. n.6, p.736-742, 2008.

BALDO, V. A. C. Manejo da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) com fungicidas sítio-específico associados a fungicidas multi-sítio. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – UnB, Universidade de Brasília. Brasília, 2020.

CAGNIN, P. R. O mercado da soja. 40f. Monografia de graduação (Ciências Economicas) - Pontifícia Universidade Ctólica de São Paulo, São Paulo, 2022.

CLAUS, A.; SIMÕES K.; MIO L. L.M. SdhC-I86F Mutation in Phakopsora pachyrhizi Is Stable and Can Be Related to Fitness Penalties. **Phytopathology**, v.112, p.1413-1421, 2022.

Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluxapyroxad. European Food Safety Authority. **EFSA Journal**, v. 10, n. 2522, p. 99-189, 2012.

DEISING, H. B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S. F. Mechanims and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 286-295, Jaboticabal-SP, 2008.

DEKKER, J., 1995. Development of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: Lyr, H. (Ed.), Modern Selective Fungicides Properties, Applications, Mechanisms of Action. Gustav Fisher Verlag, New York, pp. 23e38.
DELP, C. J. **Fungicide Resistance in North America**. 133p. APS Press, St. Paul, 1988.

DESBORDES, Philippe *et al*. Isoflucypram, the first representative of a new succinate dehydrogenase inhibitor fungicide subclass: Its chemical discovery and unusual binding mode. **Pest management sciense**, v. 76, p. 3340-3347, julho, 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7540001/ Acesso em 2 Mar. 2024. https://doi.org/10.1002/ps.5951.

GHINI, R. KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. 78p. ISBN: 85-85771-10-0. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, 2000.

GODOY, C. C.; SEIXAS, C. D.; SOARES, R. M.; GUIMARÃES-MARCELINO, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, presente and future. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 407-421, maio, 2016.

GODOY, C. V. Ferrugem asiática da soja: identificação e sintomas. **Embrapa Soja**, 2014. Acesso em 30/06/2024. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1001340/ferrugem-asiatica-da-soja.

GODOY, C. V. *et al*. Eficiência de fungicidas multissítios e produto biológico no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2021/2022: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. Circular Técnica 185. **Embrapa Soja**, Londrina, 2022. ISSN 2176-2864.

GOODY, C. V. Eficiência de fungicidas para o controle de ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2023/2024: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Circular técnica 206. **Embrapa Soja**, Londrina 2024. ISSN 2176-2864.

GUICHERIT E.; BARTLETT D.; DALE SM.; HAAS U-U.; SCALLIET G.; WALTER H. Solatenol – The Second Generation Benzonorbornene SDHI Craboxamide With Outstanding Performance against Key Crop Diseases. **Syngenta Crop Protection AG**. Basiléia, Suíça, 2014. Acesso em 14/07/2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/GabrielScalliet/publication/298403924_Solatenol_the_second_generation_benzonorbornene_SDHI_carboxamide_with_outstanding_performance_against_key_crop_diseases.

JEANMART S., EDMUNDS A. J. F., LAMBERTH C., POULIOT M., Morris J. A. Synthetic approaches to the 2015–2018 new agrochemicals. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Volume 39, 2021, 116162, ISSN 0968-0896.

KEON, J. P. R.; WHITE, G. A. HARGREAVES, J. A. Isolation, characterization and sequence of a gene conferring resistance to the systemic fungicide carboxin from the maize smut pathogen, *Ustilago maydis*. **Curr Genet**, v. 19, p. 475–481, 1991.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia** Volume 2 - Doenças das Plantas Cultivadas. 4. ed. Piracicaba, 2005. 663 p.

LI, X.; GAO, X.; HU S.; HAO, X.; LI G.; CHEN, Y.; LIU Z.; LI Y.; MIAO J.; GU B.; LIU X. Resistance to pydiflumetofen in *Botrytis cinérea*: risk assessment and detection of point mutations in sdh genes that confer resistance. **Pest Management Science**, Yangling v.78, n.4, p.1448-1456, 2021.

LUCAS, J.A.; HAWKINGS N.J.; FRAAIJE, B.A. The evolution of fungicide resistance. **Advances in applied microbiology** vol. 90; p.29-92. 2015.

Mecanismos de Ação dos Fungicidas. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC), 2024. Acesso em 03/04/2024. Disponível em: https://www.frac-br.org/modo-de-acao.

MÜLLER, M. A.; STAMMLER, G.; MIO, L. L. M. Multiple resistance to DMI, QoI and SDHI fungicides in field isolates of Phakopsora pachyrhizi. **Crop Protection**, v.145, 2021.

NECHET, K. L.; VIEIRA-HALFELD, B. A.; GIANLUPPI, V. PEREIRA, P. R. V. Antracnose (*Colletotrichum truncatum*): doença importante para a soja (*Glycine max*) nos cerrados de Roraima. Comunicado Técnico 05. **Embrapa Roraima**. Boa Vista-RR. 2003.

PIB: Qual é a importância do agronegócio na economia do Brasil? Agro Estadão-Estadão, 2023. Disponível em: https://agro.estadao.com.br/summit-agro/pib-qual-e-a-importancia-do-agronegocio-na-economia-do-brasil. Acesso em 10 abril 2024.

REIS, E. M.; GUERRA, W. D.; ZAMBOLIM, L. A aceleração da redução da sensibilidade de Phakopsora pachyrhizi a fungicidas sítio-específicos pode ter relação com plantas invasoras de soja em meio às lavouras de algodão em Mato Grosso?. **Summa Phytopathologica**, v. 50, p. 1-2, 2024.

Relatórios de comercialização de agrotóxicos. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis** (IBAMA). Acesso em 20/07/2024. Disponível em:https://www.gov.br/ibama/ptbr/assuntos/quimicosebiologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos.

SEIXAS, C. D. S. SOARES R. S., GODOY C. V., MEYER M. C., COSTAMILAN L. M., DIAS W. P., ALMEIRA A. M. R. Tecnologias de produção de soja. Londrina: **Embrapa Soja**, 2020. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 17).

SIEROTZKI, H.; SCALLIET, G. A review of Current Knowledge of Resistance Aspects for the Next-Generation Succinate Dehydrogenase Inhibitor Fungicides. The **American Phytopathology Society**, Stein, v. 103, n. 9, p. 880-7, 2013.

SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA F. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Santo Antonio de Posse, v.125, p.21–26, (2018).

Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2024. Disponível em: agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 25/08/2024.

SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; DIAS, W. P. Manual de identificação de doenças de soja. **Embrapa Soja**. 2023.

STILGENBAUER, S.; SIMÕES, K.; CRAIG, I.R; BRAHM, L. STEINER, U.; STAMMLER, G. New *CYP51*-genotypes in *Phakopsora pachyrhizi* have different

effects on DMI sensitivity. **Journal of Plant Diseases and Protection**. v.130, p. 973–983, 2023.

SUN B.; ZHU G.; XIE X.; CHAI A.; LI L.; Shi, Y.; LI B. Double Mutations in Succinate Dehydrogenase Are Involved in *Corynespora cassiicola*. **Microorganisms**, v.10, n.132, 2022.

TOIGO, S.; SANTOS, I.; CARNIELETTO, C. E.; MAZARO, S. M. Controle químico do oídio na cultura da soja. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 4, p. 491-496, 2008.

Top Producing Countries. Production – Soybeans. Foreign Agricultural Service. U. S. **Department of Agriculture**. Acesso em 22/06/2024. Disponível em: https://fas.usda.gov/data/production/commodity/2222000.

Valor de produção e safra de grãos batem recorde em 2022, aponta IBGE. Agência gov, 2023. Disponível em: https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202309/valor-de-producao-e-safra-de-graos-batem-recorde-em-2022. Acesso em 3 abril 2024.

VELOUKAS, T.; KARAOGLANIDIS, G. S. Biological activity of the succinate dehydrogenase inhibitor fluopyram against *Botrytis cinérea* and fungal baseline sensitivity. **Pest Management Sciense**, v. 68, n. 6, p. 858-864, 2013.

YANG, J. H.; BRANNEN, P. M.; SCHNABEL, G. Resistance in *Alternaria alternata* to SDHI fungicides causes rare outbreak in peach orchards. **Plant disease**, v.99, n.1, p.65-70, 2015.

YORINORI, J. T.; JUNIOR, J. N.; LAZZAROTTO, J. J. Ferrugem “asiática” da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle. **Embrapa Soja**. Londrina, p.36, n.247, 2004. ISSN 1516-781X.

ZANON S. S. Modelo determinístico e análise de incerteza para predição do tempo de resistência de Phakopsora phachyrhizi a fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) na cultura da soja. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) -USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2017.