

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura e Pecuária**

DOCUMENTOS 453

18^a Jornada Acadêmica da Embrapa Soja Resumos expandidos

*Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite
Larissa Alexandra Cardoso Moraes
Kelly Catharin*
Editoras Técnicas

Embrapa Soja
Londrina, PR
2023

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja
Rod. Carlos João Strass, s/n
Acesso Orlando Amaral, Distrito da Warta
CEP 86065-981
Caixa Postal 4006
Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000
www.embrapa.br/soja
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Comitê Local de Publicações
da Embrapa Soja**

Presidente
Adeney de Freitas Bueno

Secretária-Executiva
Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Membros
*Claudine Dinali Santos Seixas, Edson Hirose,
Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros
França Neto, Leandro Eugênio Cardamone
Diniz, Marco Antonio Nogueira, Mônica Juliani
Zavaglia Pereira e Norman Neumaier*

Supervisão editorial
Vanessa Fuzinatto Dall’Agnol

Bibliotecária
Valéria de Fátima Cardoso

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica e capa
Marisa Yuri Horikawa

1ª edição
PDF digitalizado (2023).

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Jornada Acadêmica da Embrapa Soja (18. : 2023: Londrina, PR).

Resumos expandidos [da] XVIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja / Regina
Maria Villas Bôas de Campos Leite... [et al.] editoras técnicas – Londrina:
Embrapa Soja, 2023.

161 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937 ; n. 453).

1. Soja. 2. Pesquisa agrícola. I. Leite, Regina Maria Villas Bôas de Campos. II.
Moraes, Larissa Alexandra Cardoso. III. Catharin, Kelly. IV. Série.

CDD: 630.2515 (21. ed.)

Determinação de doses para testes de sensibilidade de micoparasitas de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas

MOREIRA, V. B.¹, SCOLIN, L. B.², FANTINATO, G. G. P.³, DINIZ, L. E. C.⁴; SEIXAS, C. D. S.⁴

¹Universidade Pitágoras Unopar Anhanguera, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, vanessa.moreira@colaborador.embrapa.br; ²Doutorando UEL; ³Analista, Embrapa Soja; ⁴Pesquisador(a), Embrapa Soja

Introdução

Uma das doenças mais severas que incide na cultura da soja é a ferrugem-asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Esse patógeno pode gerar perdas de até 90% de produtividade na cultura (Hartman et al., 2015).

Uma das estratégias de manejo é o controle químico, mas o amplo uso de fungicidas sítio-específicos tem ocasionado a redução da sensibilidade do fungo a esses produtos (Schmitz et al., 2014; Klosowski et al., 2016; Simões et al., 2018). Dessa forma, além de estimular o adequado uso desses produtos, têm sido estudadas outras estratégias de controle, entre elas o controle biológico.

O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo por meio de outro microrganismo (Morandi et al., 2006). Em plantas de soja cultivadas em casa de vegetação, com sintomas de ferrugem-asiática, foi observado crescimento fúngico sobre urédias de *P. pachyrhizi*. Foram obtidos vários isolados a partir dessas urédias e foi constatado que havia mais de uma espécie de fungo associada a essas estruturas de *P. pachyrhizi*. Esses micoparasitas foram caracterizados morfológicamente e a espécie está sendo determinada por técnicas moleculares.

Algumas características são importantes num agente de controle biológico: devem ser geneticamente estáveis e não sofrer variação em suas atividades antagônicas entre as gerações; crescer em meios de cultivo de baixo custo, fácil aquisição e de fácil produção; serem efetivos em baixas concentrações; serem compatíveis com outros métodos de controle, como químico e cultural e não serem patogênicos ao homem, nem às plantas (Medeiros et al., 2018).

Vários estudos têm sido conduzidos para verificar o potencial desses fungos para controle biológico de *P. pachyrhizi*, entre eles a determinação da sensibilidade a fungicidas, cuja finalidade é averiguar a compatibilidade do uso desses micoparasitas com o controle químico. Para avaliar a sensibilidade a fungicidas é utilizada a CE50, ou seja, a concentração efetiva para inibir 50% do crescimento ou da germinação do fungo. A CE50 é estimada por meio do ajuste da curva-resposta do organismo-alvo a uma série de concentrações do produto (Brown, 2006).

O objetivo deste trabalho foi determinar as doses de fungicidas para a realização de testes de sensibilidade de micoparasitas a princípios ativos utilizados na cultura da soja.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja, em Londrina, PR.

Para determinar as doses para posterior avaliação da sensibilidade dos micoparasitas aos fungicidas foram utilizados seis isolados da Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja (CMES), sendo eles, CMES 936, CMES 937, CMES 2107, CMES 2108, CMES 2253 e CMES 2254. Todos os isolados foram obtidos de urédias de *P. pachyrhizi*.

Os fungicidas testados foram formulações comerciais dos grupos dos inibidores de desmetilação (IDM), dos inibidores de quinona externa (IQe), dos metil benzimidazol carbamato (MBC) e dos inibidores de succinato desidrogenase (ISDH) (Tabela 1). Os produtos foram utilizados nas concentrações de 0 ppm; 0,01 ppm; 2 ppm e 10 ppm. Para descrever modelos de dose-resposta, é recomendado explorar uma ampla faixa de doses do produto testado, sendo utilizadas seis ou mais doses do fungicida, normalmente. No presente trabalho, após a avaliação dos fungos em cada fungicida, serão determinadas as doses com base no resultado do isolado mais sensível.

Tabela 1. Fungicidas utilizados no teste: grupo químico, princípio ativo, produto comercial, empresa e dose.

Grupo químico	Princípio-ativo	Produto comercial, empresa	Dose
IDM	protioconazol	NFK 57®, Oxon Química	250 g L ⁻¹
	tebuconazol	Tebufort®, UPL S.A.	200 g L ⁻¹
IQe	picoxistrobina	Oranis®, DuPont S.A.	250 g L ⁻¹
MBC	carbendazim	Carbendazim Nortox®, Nortox Ltda.	500 g L ⁻¹
ISDH	bixafen	Bixafen EC 125, DOW Agrosience Industrial Ltda.	125 g L ⁻¹
	fluxapiróxade	Fluxapiróxade SC, DOW Agrosience Industrial Ltda.	300 g L ⁻¹

Os fungicidas foram incorporados com 20 µL das respectivas concentrações à 20 mL de meio a base de batata, dextrose e ágar (BDA) fundido e 0,1 mL de estreptomomicina, homogeneizados e vertidos em placas de Petri.

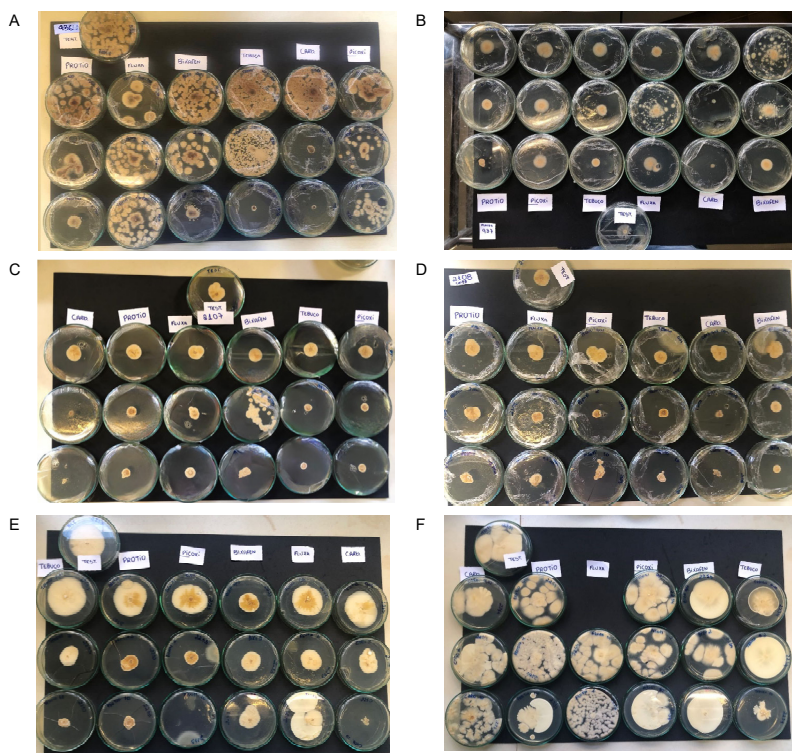
Os isolados foram repicados para placas contendo meio BDA e incubados em câmara tipo BOD a 25 °C com fotoperíodo 12h de luz e 12h de escuro (12h/12h) por sete dias.

Após os sete dias de incubação, discos de micélio da margem das colônias de cada isolado foram transferidos para o centro das placas com BDA + fungicidas. Foi montada uma placa por isolado para cada fungicida e a testemunha. Essas placas foram transferidas para BOD a 25 °C, com fotoperíodo 12h/12h por 14 dias, quando então foi medido o diâmetro das colônias e calculada a porcentagem de inibição do crescimento. Como testemunha, cada isolado foi repicado também para placa contendo apenas o meio BDA, sem adição de fungicidas. Para esse teste foi preparada uma placa por isolado por fungicida e a testemunha.

Resultado e Discussão

Houve diferença no crescimento dos fungos, dependendo do fungicida presente, mas todos os isolados foram capazes de crescer em uma ou mais doses dos fungicidas (Figura 1). Em algumas situações, não foi possível medir o diâmetro em razão da forma como o fungo cresceu na placa, caso do isolado CMES 936 (Figura 1 A) em protioconazol na dose de 0,01 ppm, em fluxapiróxade nas três doses (0,01 ppm, 2 ppm e 10 ppm), bixafen e tebuconazol nas doses de 0,01 ppm e 2 ppm, carbendazim na dose de 0,01 ppm e

picoxistrobina nas três doses. Também não foi possível medir o diâmetro para o isolado CMES 937 em fluxapiroxade na dose de 2 ppm e bixafen na dose de 0,01 ppm (Figura 1 B), para o isolado CMES 2107 em bixafen na dose de 2 ppm (Figura 1 C) e para o isolado CMES 2254 (Figura 1 F) em carbendazim na dose de 10 ppm, protioconazol na dose de 0,01 ppm, picoxistrobina e bixafen na dose de 2 ppm. A forma do crescimento da testemunha do isolado CMES 936 também impossibilitou o medição do diâmetro, mas como o fungo tomou praticamente toda a placa, foi considerado o maior valor do diâmetro. Em algumas situações o diâmetro foi considerado igual ao da testemunha por comparação com o aspecto da colônia na placa: CMES 936 em protioconazol, carbendazim e bixafen na dose de 0,01 ppm, em tebuconazol nas doses de 0,01 ppm e 2 ppm (Figura 1 A); CMES 2254 em carbendazim e protioconazol na dose de 2 ppm, fluxapiroxade nas doses de 2 ppm e 10 ppm, picoxistrobina na dose de 0,01 ppm (Figura 1 F).



Fotos: Vanessa Batista Moreira.

Figura 1. Crescimento dos micoparasitas CMES 936 (A), CMES 937 (B), CMES 2107 (C), CMES 2108 (D), CMES 2253 (E) e CMES 2254 (F) em meio de cultura BDA (testemunha) e BDA contendo diferentes princípios ativos de fungicidas, nas doses de 0,01 ppm, 2 ppm e 10 ppm.

Com os dados de diâmetro foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento dos isolados (Tabela 2). Para isso, primeiro foi calculada a porcentagem de crescimento dos isolados em relação à testemunha, multiplicado por 100 e esse valor foi subtraído de 100 para obter a porcentagem de inibição do crescimento.

Tabela 2. Porcentagem de inibição do crescimento dos isolados de micoparasitas em relação à testemunha nas doses testadas dos fungicidas.

Fungicida	Concentração (ppm)	Inibição do crescimento (%)					
		CMES 936	CMES 937	CMES 2107	CMES 2108	CMES 2253	CMES 2254
Testemunha	0	0	0	0	0	0	0
	0,01	0	0	23,3	0	41,7	0
bixafen	2	ND ¹	0	0	25,9	41,7	ND
	10	63,3	22,7	33,3	51,8	33,3	9,7
fluxapiroxade	0,01	ND	27,3	6,7	0	5,0	Contaminada ²
	2	ND	0	16,7	40,0	35,0	0
	10	ND	9,1	40,0	29,6	0	0
picoxistrobina	0,01	ND	0	16,7	0	0	0
	2	ND	4,5	50,0	48,1	60,0	ND
	10	ND	9,1	50,0	44,4	Contaminada ²	2,8
carbendazim	0,01	0	13,6	10,0	0	0	19,4
	2	84,4	100	76,7	51,8	26,7	0
	10	91,1	100	83,3	63,0	83,3	ND
protioconazol	0,01	ND	9,1	16,7	0	11,7	ND
	2	47,8	22,7	46,7	0	50,0	0
	10	74,4	36,4	50,0	25,9	65,0	8,3
tebuconazol	0,01	0	4,5	20,0	18,5	0	20,8
	2	0	18,2	56,7	37,0	43,3	0
	10	88,9	40,9	60,0	44,4	68,3	55,5

¹ND: não foi determinado o nível de inibição porque não foi possível medir o diâmetro da colônia. ²Placa contaminada.

Mesmo não sendo possível obter o diâmetro de todas as colônias em todas as doses de fungicidas, a combinação do que foi possível medir com a observação visual das colônias possibilitou apontar o isolado CMES 936 como

o mais sensível aos fungicidas testados. E, com isso, a determinação das doses para o teste de sensibilidade, com base no resultado desse isolado, que serão 0 ppm; 0,01; 2 ppm; 5 ppm; 10 ppm e 20 ppm. Isolados que tiverem crescimento superior ao CMES 936 serão considerados resistentes/ menos sensíveis.

Conclusão

As doses foram determinadas com base no crescimento do isolado mais sensível, CMES 936. O isolado CMES 2254 mostrou-se o menos sensível aos fungicidas. Embora preliminar, esse resultado evidenciou uma característica desejável, nesses isolados, para um agente de controle biológico, que é a possibilidade de combinação com o controle químico.

Referências

- BROWN, J. K. M. Survey of variation in virulence and fungicide resistance and their application to disease control. In: COOKE, B. M.; JONES, D. G.; KAYE, B. (ed.). **The epidemiology of plant diseases**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 81-116.
- HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J. C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (ed.). **Compendium of soybean diseases**. 5th ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 56-59.
- KLOSOWSKI, A. C.; MAY-DE-MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1211-1215, 2016. DOI: 10.1002/ps.4099.
- MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino-MG: Agronômica Ceres, 2018. v. 1. p. 261-274.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; GHINI, R. Situação do controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. (ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG-CTZM, 2006. p. 247-268
- SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinoneoutsideinhibitors and demethylationinhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, p. 378388, 2014. DOI: 10.1002/ps.3562.
- SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n. 1, p. 21-26, 2018.