

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Marlon Tagliapietra Stefanello

**MANCOZEBE INFLUENCIA A PERSISTÊNCIA DE
FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO E
INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE EM
CULTIVARES DE SOJA**

Santa Maria, RS
2017

Marlon Tagliapietra Stefanello

**MANCOZEBE INFLUENCIA A PERSISTÊNCIA DE FUNGICIDAS INIBIDORES
DA DESMETILAÇÃO E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE EM CULTIVARES
DE SOJA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia**.

Orientador: Prof. PhD. Ricardo Silveiro Balardin

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Stefanello, Marlon Tagliapietra

Mancozebe influencia a persistência de fungicidas inibidores da desmetilação e inibidores da quinona oxidase em cultivares de soja / Marlon Tagliapietra Stefanello.- 2017.

99 p.; 30 cm

Orientador: Ricardo Silveiro Balardin

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2017

1. Ferrugem asiática da soja 2. Fungicida protetor 3. Multissítio 4. Resistência 5. Controle químico I. Balardin, Ricardo Silveiro II. Título.

©2017

Todos os direitos autorais reservados a Marlon Tagliapietra Stefanello. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço eletrônico: marlonstefanello@gmail.com

Marlon Tagliapietra Stefanello

**MANCOZEBE INFLUENCIA A PERSISTÊNCIA DE FUNGICIDAS INIBIDORES
DA DESMETILAÇÃO E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE EM CULTIVARES
DE SOJA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia.**

Aprovado em 17 de fevereiro de 2017:

Ricardo Silveiro Balardin, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Leandro José Dallagnol, Dr. (UFPel)

Ivan Francisco Dressler da Costa, Dr. (UFSM)

Marcelo Gripa Madalosso, Dr. (URI)

Sandro Borba Possebon, Dr. (IFFar)

Santa Maria, RS
2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

A Universidade Federal de Santa Maria, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realização deste trabalho e aperfeiçoamento profissional.

Agradeço à minha família, em especial ao meu pai Reni Assis Cargnin Stefanello, minha mãe Maria Tagliapietra Stefanello (*in memorian*), meus irmãos Fernando Tagliapietra Stefanello e Ronaldo Tagliapietra Stefanello (*in memorian*) e minha tia Ceres Helena Xavier por todo apoio e carinho que tenho recebido de todos.

Ao meu orientador professor Ricardo Silveiro Balardin e sua esposa Clarice Rubin Balardin pelos oito anos de convivência, por terem me acolhido, pelos conselhos, pela orientação não só neste trabalho, mas também em tantos outros que foram substanciais para o meu crescimento profissional e pessoal.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia e do Curso de Agronomia da UFSM pelos inúmeros ensinamentos.

A todos os amigos que fiz durante oito anos de pesquisa no Instituto Phytus, que com certeza são muitos e não quero cometer o erro de citar seus nomes e esquecer alguém.

A CAPES pelo auxílio financeiro concedido na realização deste trabalho.

Aos membros da banca avaliadora pela disponibilidade, sugestões e contribuições para melhoria do trabalho.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e não foram lembrados meus sinceros agradecimentos.

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não
sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não
sou o que era antes.

(Martin Luther King)

RESUMO

MANCOZEBE INFLUENCIA A PERSISTÊNCIA DE FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE EM CULTIVARES DE SOJA

AUTOR: MARLON TAGLIAPIETRA STEFANELLO

ORIENTADOR: RICARDO SILVEIRO BALARDIN

A reação de cultivares de soja ao agente causal da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) e responsividade de mistura de fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) são importantes fatores a serem determinados para o manejo do patógeno. A atividade desses fungicidas pulverizados na folha depende da quantidade que atinge o local de ação bioquímico e da eficácia do composto. Assim, a proporção do depósito foliar que entra na folha, a taxa de entrada e sua dissipação no tecido foliar são determinantes para a atividade e residual no controle das doenças após a ocorrência de uma lavagem. O capítulo I teve como objetivo avaliar a reação de quinze cultivares de soja ao agente causal da ferrugem asiática e responsividade da mistura dos ingredientes ativos (IA) epoxiconazol (EPOX) + piraclostrobina (PIR) e protioconazol (PROT) + trifloxistrobina (TRIFL). Os parâmetros avaliados foram o período de latência, residual de controle, progresso e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). No capítulo II, a persistência de EPOX e PIR associadas com mancozebe (Mz) em duas cultivares comerciais de soja foi determinada em condições de casa de vegetação. Lavagens artificiais foram utilizadas para determinar a concentração dos IA remanescentes nos tecidos foliares após a pulverização. Para isso, as folhas foram lavadas com água 0,17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h após a pulverização do fungicida e imediatamente coletadas. As concentrações de EPOX e PIR também foram determinadas em folhas aos 12, 16 e 20 dias após a pulverização. Através da análise cromatográfica líquida de alta eficiência e do desenho experimental foi possível mensurar as concentrações de EPOX e PIR penetradas e dissipadas em folhas de planta inteira, associadas ou não à mancozebe. A influência da interação de idade de trifólios e cultivares sobre as concentrações de EPOX e PIR após a pulverização também foi avaliada. Devido à escassez de estudos detalhados sobre o desempenho dos fungicidas sítio-específicos associados aos fungicidas multissítios, no capítulo III foi investigado a severidade de ferrugem asiática e o residual de controle da mistura de EPOX e PIR associada ao mancozebe. No capítulo I foi verificado que a responsividade de misturas de IDM e IQo à *P. pachyrhizi* é distinta entre as cultivares. O maior residual de controle do patógeno nas diferentes cultivares foi através da pulverização de PROT + TRIFL. No capítulo II foi verificado que mancozebe influencia a persistência de fungicidas IDM e IQo em cultivares de soja. A taxa de penetração de EPOX nas cultivares foi mais rápida sem a associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo). A associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) reduziu a taxa de penetração de PIR na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A concentração de PIR em folhas das duas cultivares às 48 h após a pulverização foi semelhante pela associação ou não do fungicida com mancozebe. As cultivares apresentaram diferentes taxas de penetração dos IA em folhas. Observou-se uma redução das concentrações dos IA nos tecidos foliares após 48 h da pulverização, evidenciando um processo de dissipação dos IA, após esse tempo. A associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) somente influenciou a persistência de PIR aos 16 dias após a pulverização na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A taxa de dissipação de PIR em folhas é diferente entre as cultivares. A penetração dos IA é maior em folhas mais novas do que em folhas velhas. As concentrações de PIR em folhas de soja foram superiores que EPOX nos diferentes tempos de coletas, após a pulverização do fungicida. No capítulo III foi verificado que mancozebe associado com EPOX + PIR em calda de pulverização aumenta o residual de controle de *P. pachyrhizi* e reduz a severidade da doença.

Palavras-chave: Epoxiconazol. Piraclostrobina. Protioconazol. Trifloxistrobina. Multissítio. *Glycine max* L.. *Phakopsora pachyrhizi*. Ferrugem asiática. Ingrediente ativo. Chuva simulada.

ABSTRACT

MANCOZEB INFLUENCES THE PERSISTENCE OF DEMETHYLATION INHIBITORS FUNGICIDES AND QUINONE OUTSIDE INHIBITOR IN SOYBEAN CULTIVARS

AUTHOR: MARLON TAGLIAPIETRA STEFANELLO

ADVISOR: RICARDO SILVEIRO BALARDIN

The soybean cultivars reaction to the causal agent of asian rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) and mixing responsiveness of DeMethylation Inhibitor (DMI) and Quinone outside Inhibitor (QoI) fungicides are important factors to be determined for the management of the pathogen. The activity of these fungicides sprayed on the leaves depends on the amount that it reaches the biochemical action site and the compound efficacy. Thus, the proportion of leaf deposit that it enters the leaf, the rate of entry and dissipation in the leaf tissue are determinant for the activity and diseases residual control after the occurrence of a wash. The chapter I objective was to evaluate the reaction of fifteen soybean cultivars to the causal agent of soybean rust and the responsiveness mixing Active Ingredients (AI) epoxiconazole (EPOX) + pyraclostrobin (PYR) and prothioconazole (PROT) + trifloxystrobin (TRIFL). The parameters evaluated were the latency period, residual control, progression and the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). In the Chapter II, the EPOX and PYR persistence associated with mancozeb (Mz) was determined under greenhouse conditions in two commercial soybean cultivars. Artificial washes were used to determine the concentration of the remaining AI on the foliar tissues after the spraying. For this purpose, the leaves were washed with water at 0.17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h after the fungicide spraying and immediately collected. The EPOX and PYR concentrations were also determined on leaves at 12, 16 and 20 days after spraying. Through the high performance liquid chromatographic analysis and the experimental design, it was possible to measure the EPOX and PYR concentrations penetrated and it dissipated in whole-plant leaves, associated or not to mancozeb. The influence of the interaction between leaflets age and cultivars in the EPOX and PYR concentration on leaves after the spraying was also evaluated. Due to the scarcity of detailed studies on the performance of site-specific fungicides associated with multisite fungicides, in the Chapter III was investigated the asian rust severity and the residual control of the EPOX and PYR mixture associated mancozeb. In the chapter I, it was verified that the responsiveness of DMI and QoI mixtures to *P. pachyrhizi* is different among the cultivars. The greatest residual control of the pathogen in the different cultivars was through of the PROT + TRIFL spraying. In the chapter II, it was verified that mancozeb influences the persistence of DMI and QoI fungicides in soybean cultivars. The EPOX penetration rate in the cultivars was faster without the association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI). The association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI) reduced the penetration rate of PYR in DM 6563 RSF IPRO cultivar. The PYR concentration in leaves of the two cultivars at 48 h after spraying was similar by the association or not of the fungicide with mancozeb. The cultivars showed different AI penetration rates in leaves. It was observed a reduction of the AI concentrations in the foliar tissues after 48 h of the spraying, evidencing a dissipation process of the AI, after this time. The association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI) only influenced the persistence of PYR at 16 days after spraying in DM 6563 RSF IPRO cultivar. The dissipation rate of PYR is different between the leaves cultivars. The penetration of the AI is greater in younger leaves than in older leaves. The concentrations of PYR in soybean leaves were higher than EPOX at different sampling times, after the fungicide spraying. In the chapter III, it was verified that mancozeb associated with EPOX + PYR in spray solution increases the residual control of *P. pachyrhizi* and it reduces the disease severity.

Key words: Epoxiconazole. Pyraclostrobin. Prothioconazole. Trifloxystrobin. Multi-site. *Glycine max* L.. *Phakopsora pachyrhizi*. Asian rust. Active ingredient. Simulated rain.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Esquema onde mostra que mancozebe forma uma camada protetora tóxica aos fungos em tecidos suscetíveis do hospedeiro, prevenindo a interação do patógeno-hospedeiro (A); trifólio de soja após 1 h da pulverização de epoxiconazol + piraclostrobina com mancozebe (B); trifólio após 1 h da pulverização de epoxiconazol + piraclostrobina sem mancozebe (C)..... | 17 |
| Figura 2 – Penetração de fungicidas em tecidos foliares através da difusão passiva..... | 19 |
| Figura 3 – Representação esquemática das interações planta-ambiente com processos que contribuem diretamente na penetração ou transporte de defensivos agrícolas (setas azuis) e processos que contribuem diretamente para a dissipação de defensivos agrícolas (setas verdes). | 21 |

CAPÍTULO I – REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA AO AGENTE CAUSAL DA FERRUGEM ASIÁTICA E RESPONSABILIDADE A MISTURA DE FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO (IDM) E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE (IQo)

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Residual de controle de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (dias) em diferentes cultivares e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo)..... | 31 |
| Figura 2 – Progresso da severidade de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). Cultivar CD 205 (A), FUNDACEP 33 (B), IAS-5 (C), FT-Saray (D), PEL8710 (E), BMX Titan RR (F), FUNDACEP 54 RR (G), FEPAGRO-RS 10 (H) | 32 |
| Figura 3 – Progresso da severidade de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). Cultivar FUNDACEP 45 (A), FEPAGRO 25 (B), NA 5909 RG (C), BMX Potência RR (D), BMX Tornado RR (E), AS 3570 IPRO (F), DM 6563 RSF IPRO (G).. | 33 |
| Figura 4 – Correlação (r) das variáveis Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) de cultivares de soja sem fungicida e período latente de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (dias) (A), eficácia de controle (%) de epoxiconazol + piraclostrobina (B) e protioconazol + trifloxistrobina (C)..... | 35 |
| Figura 5 – Eficácia de controle de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (%) em diferentes cultivares e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo)..... | 36 |

CAPÍTULO II – PENETRAÇÃO E DISSIPAÇÃO DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADOS COM MANCOZEBE EM CULTIVARES DE SOJA APÓS A LAVAGEM

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Padronização da exposição dos trifólios para a pulverização dos tratamentos..... | 46 |
| Figura 2 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar BMX Tornado RR. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas.. | 53 |
| Figura 3 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas.. | 56 |
| Figura 4 – Concentração da média dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas.. | 59 |
| Figura 5 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados e não com mancozebe (Mz) em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO em tempos de coletas após a pulverização | 66 |
| Figura 6 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados e não com mancozebe (Mz) em folhas da cultivar BMX Tornado RR em tempos de coletas após a pulverização | 66 |
| Figura 7 – Concentração na média de epoxiconazol (EPOX) associado e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR.. | 68 |
| Figura 8 – Concentração das médias de piraclostrobina (PIR) associadas e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR. | 68 |
| Figura 9 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) (mg kg^{-1}) 4 h após a pulverização na média das folhas de soja da cultivar BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO..... | 70 |
| Figura 10 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) (mg kg^{-1}) 4 h após a pulverização em folhas de soja da cultivar BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO..... | 71 |

CAPÍTULO III – SEVERIDADE DE FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E RESIDUAL DE CONTROLE DA MISTURA DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADA AO MANCOZEBE

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Número de Dias para o Aparecimento da Primeira Pústula de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (NDAPP) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas..... | 84 |
| Figura 2 – Residual de controle de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (dias) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas..... | 86 |
| Figura 3 – Progresso da severidade de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (%) na cultivar 'DM 6563 RSF IPRO' com diferentes tratamentos fungicidas. | 88 |
| Figura 4 – Progresso da severidade de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (%) na cultivar 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas.. | 88 |
| Figura 5 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas..... | 90 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA AO AGENTE CAUSAL DA FERRUGEM ASIÁTICA E RESPONSABILIDADE A MISTURA DE FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO (IDM) E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE (IQo)

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Cultivares de soja classificadas por tempo, de acordo com o Registro Nacional de Cultivares (RNC) nas quais compuseram os níveis do fator A do experimento..... | 26 |
| Tabela 2 – Aparecimento da primeira pústula de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> (dias) e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo)..... | 30 |

LISTA DE ABREVIACOES

AI: active(s) ingredient(s)
DMI: DeMethylation Inhibitor
EBI: etileno bisisotiocianato
EBIS: sulfeto de etileno bisisotiocianato
EPOX: epoxiconazol
FAS: Ferrugem Asiática da Soja
IA: ingrediente(s) ativo(s)
IDM: Inibidor da DesMetilação
IQo: Inibidores da Quinona oxidase
Mz: mancozebe
PIR: piraclostrobina
PROT: protioconazol
QoI: Quinone outside Inhibitor
TRIFL: trifloxistrobina

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1 Mancozebe, um fungicida protetor com ação multissítio..... | 16 |
| 2.2 Penetração de agrotóxicos em tecidos foliares | 17 |
| 2.3 Dissipação de agrotóxicos | 19 |
| 2.4 Efeito da chuva na aplicação de fungicidas..... | 22 |
| 3 CAPÍTULO I – REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA AO AGENTE CAUSAL DA FERRUGEM ASIÁTICA E RESPONSABILIDADE DAS MISTURAS DE FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE | 23 |
| 3.1 Resumo | 23 |
| 3.2 Abstract..... | 24 |
| 3.3 Introdução..... | 25 |
| 3.4 Material e Métodos..... | 26 |
| 3.5 Resultados e Discussão..... | 28 |
| 3.6 Conclusão | 36 |
| 3.7 Referências Bibliográficas..... | 37 |
| 4 CAPÍTULO II – PENETRAÇÃO E DISSIPAÇÃO DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADOS À MANCOZEBE EM CULTIVARES DE SOJA ... | 40 |
| 4.1 Resumo | 40 |
| 4.2 Abstract..... | 41 |
| 4.3 Introdução..... | 42 |
| 4.4 Materiais e Métodos | 43 |
| 4.4.1 Experimento I..... | 43 |
| 4.4.2 Experimento II..... | 48 |
| 4.4.3 Experimento III..... | 50 |
| 4.5 Resultados e Discussões | 52 |
| 4.5.1 Experimento I..... | 52 |
| 4.5.2 Experimento II..... | 64 |
| 4.5.3 Experimento III..... | 69 |
| 4.6 Conclusão | 71 |
| 4.7 Referências Bibliográficas..... | 72 |
| 5. CAPÍTULO III – SEVERIDADE DE FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E RESIDUAL DE CONTROLE DA MISTURA DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADA AO MANCOZEBE..... | 78 |
| 5.1 Resumo | 78 |
| 5.2 Abstract..... | 79 |
| 5.3 Introdução..... | 80 |
| 5.4 Materiais e Métodos | 81 |
| 5.5 Resultados e Discussões | 83 |
| 5.6 Conclusão | 91 |
| 5.7 Referências Bibliográficas..... | 91 |
| 6. CONCLUSÕES GERAIS | 94 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 95 |

1 INTRODUÇÃO

A Ferrugem Asiática da Soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. é a doença mais difundida e prejudicial na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Este patógeno é um dos principais fatores que limitam a produtividade da cultura, pois causa rápido amarelecimento e queda prematura das folhas, prejudicando a plena formação de grãos (SOARES et al., 2004).

Medidas de manejo para o controle da doença são necessárias para que as plantas expressem seu potencial produtivo. Práticas culturais tais como semeadura antecipada, eliminação de hospedeiros secundários, escolha de cultivares, têm sido aplicada para redução da severidade da doença (KAWUKI et al., 2003; HU; WIATRACK et al., 2012). A escolha de cultivares tolerantes ao patógeno contribui no controle de *P. pachyrhizi*, pois diminui o inóculo secundário e consequentemente o desenvolvimento da doença. Com isso, a verificação do nível de tolerância das cultivares através da combinação dos componentes que a condicionam, como Período de Latência (PL) mais longo, redução na frequência de infecção, menor comprimento de lesões, menor taxa de progresso da doença e menor período infeccioso (OHM; SHANER, 1976; WAHL et al., 1980) são importantes para auxiliar no controle químico.

A limitada disponibilidade de cultivares resistentes faz com que o manejo da doença ocorra por meio de pulverização com fungicidas. Em particular, os Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) têm fornecido os melhores e mais consistentes resultados (IVANCOVICH, 2005) para controle de *P. pachyrhizi*. No entanto, este patógeno vem apresentando adaptações a IDM e IQo, o que tem reduzido a eficiência destas classes de compostos químicos (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016).

Uma maneira de aumentar a eficácia do controle químico de *P. pachyrhizi* em soja é a associação de fungicidas multissítios, como o mancozebe, a fungicidas sítio-específicos (IDM e IQo). Mancozebe possui uma série de atributos que têm contribuído globalmente no manejo de doenças à base de químicos (GULLINO et al., 2010). Ele apresenta-se como um produto para ser utilizado como estratégia antirresistência de fungos a fungicidas (GENET et al., 2006; GULLINO et al., 2010), podendo ser combinado à mistura de IDM e IQo e contribuir na proteção contra a FAS (SILVA et al., 2015).

A interação dos fungicidas pulverizados na superfície da planta, ainda continua sendo um dos maiores desafios para melhoria dos tratamentos fitossanitários, pois contribui para determinar a magnitude do residual de controle dos patógenos. Neste sentido, é importante

verificar a interação produto-planta através da persistência dos fungicidas em tecidos foliares. A persistência dependerá da penetração do fungicida através dos tecidos foliares seguido da dissipação desses, após atingirem o equilíbrio com as concentrações externas da solução aplicada.

Informações sobre a taxa de penetração e dissipação de IDM e IQo são importantes, especialmente nas associações com mancozebe em aplicação de planta inteira e sob condição de lavagem após a pulverização. Essas informações contribuem para determinar a atividade residual do controle das doenças, embora sejam raramente disponíveis (LEGIND et al., 2011; FANTKE et al., 2013).

Precipitações pluviais, após a aplicação do fungicida, podem também comprometer o desempenho do controle das doenças. O conhecimento da persistência dos produtos, após a ocorrência de chuvas, é essencial para otimizar a utilização dos mesmos (SCHEPERS, 1996). Tal fato permite estimar mais precisamente sua atividade residual (NEELY, 1971; KUDSK et al., 1991), auxiliando no estabelecimento de parâmetros que definem a necessidade de reaplicação após a ocorrência de chuvas (MCDOWELL et al., 1987; CABRAS et al., 2001). Além disso, estas informações são importantes para desenvolver modelos matemáticos que visam prever o transporte de agrotóxicos através dos efluentes de água (SMITH et al., 1981), solo e absorção pelas plantas (MCDOWELL et al., 1987; WAUCHOPE et al., 2004).

O presente trabalho teve como objetivos:

- (i) avaliar a reação de cultivares de soja ao agente causal da Ferrugem Asiática da Soja (FAS) e responsividade de misturas de fungicidas IDM e IQo;
- (ii) investigar a penetração e dissipação de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados com mancozebe (Mz) em cultivares de soja após lavagem;
- (iii) investigar a dissipação de EPOX e PIR associados com Mz em cultivares de soja após períodos prolongados da pulverização;
- (iv) avaliar a influência da interação de idade de trifólios e cultivares sobre as concentrações de EPOX e PIR após a pulverização;
- (v) investigar a severidade de FAS e o residual de controle da mistura de EPOX e PIR associada ao mancozebe.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mancozebe, um fungicida protetor com ação multissítio

Nas últimas décadas, o uso de fungicidas na agricultura tornou-se um fator crucial para o controle efetivo de doenças em plantas, uma vez que infecções fúngicas causam reduções de produtividade em todo o mundo. Uns dos fungicidas mais utilizados no mundo são os Etilenobisditiocarbamatos (EBDCs). Sua importância está associada à baixa toxicidade aguda, amplo espectro de atividade, baixo custo de produção e curta persistência no meio ambiente (HANADA et al., 2002; GARCINUÑO et al., 2004a). Mancozebe, produto da coordenação de etilenobisditiocarbamato de manganês e íon zinco, é um importante membro dos fungicidas EBDCs.

Mancozebe é classificado como fungicida protetor, devido ser aplicado antes do início da patogênese. Esse fungicida é considerado tópico, pois após a aplicação na planta, o composto permanece na superfície da folha e não penetra através da cutícula para onde a redistribuição sistêmica poderia ocorrer (KAARS SIJPESTEIJN, 1982) (Figura 1).

Cada partícula de mancozebe consiste em um complexo rico em zinco em torno de um núcleo central de EBDC. Esta estrutura complexada é estável e apresenta baixa solubilidade (GULLINO et al., 2010), facilitando a sua comercialização. No entanto, quando o produto é misturado em água e exposto ao ambiente apresenta instabilidade resultando em degradação. Essa degradação pela taxa de quebra de mancozebe em sulfeto de etileno bisisotiocianato (EBIS) e etileno bisisotiocianato (EBI) pode diretamente afetar a atividade residual do composto na folhagem da planta (GULLINO et al., 2010).

Mancozebe também é conhecido como residual, pois quando aplicado aos órgãos aéreos das plantas forma uma camada protetora tóxica na superfície da folha. O termo residual não diz respeito à permanência do produto no tecido foliar controlando a doença, mas de estar ligado ao depósito do produto sobre o tecido vegetal, visto que não penetra, nem se movimenta. Deste modo, quando o esporo é depositado nos tecidos suscetíveis e germina, o tubo germinativo entra em contato com o tóxico, absorvendo-o, determinando a morte do patógeno. A chamada ação residual tem por objetivo evitar a penetração do patógeno nos tecidos foliares, prevenindo as infecções que poderão ocorrer no futuro (MUELLER; BRADLEY, 2008).

Mancozebe, em si, não é um fungicida eficaz, podendo ser considerado um pró-fungicida que, quando exposto à água, se decompõe para liberar EBIS, que é então convertido através da ação da luz UV em EBI (GULLINO et al., 2010). Acredita-se que ambos, EBIS e EBI são os ativos fungicidas, que podem interferir sobre enzimas que contêm grupos sulfidrilos. A interrupção nos processos enzimáticos é postulada como inibitória ou interferente em, pelo menos, seis processos bioquímicos diferentes dentro do citoplasma da célula fúngica e mitocôndrias (KAARS SIJPESTEIJN, 1984; LUDWIG; THORN, 1960). Desse modo, mancozebe apresenta modo de ação multissítio, segundo a classificação proposta por FRAC (2016). Essa classificação é devido ao fungicida apresentar atividade em dois ou mais sítios. A atividade biológica do mancozebe tem efeito direto nos processos bioquímicos do núcleo do fungo, resultando na inibição da germinação de esporos (SZKOLNIK, 1981; WICKS; LEE, 1982; WONG; WILCOX, 2001).

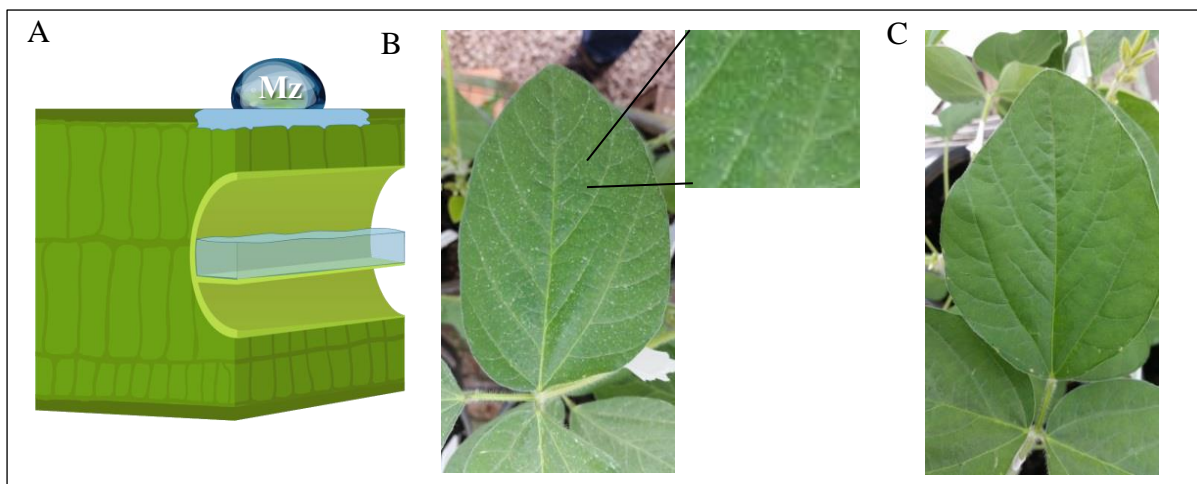


Figura 1 – Ilustração onde mostra que mancozebe forma uma camada protetora tóxica aos fungos em tecidos suscetíveis do hospedeiro, prevenindo a interação do patógeno-hospedeiro (A); trifólio de soja após 1 h da pulverização de epoxiconazol + piraclostrobina com mancozebe (B); trifólio após 1 h da pulverização de epoxiconazol + piraclostrobina sem mancozebe (C).

2.2 Penetração de agrotóxicos em tecidos foliares

A penetração de substâncias em folhas é um processo passivo impulsionado por gradientes de concentração (Figura 2). Os agrotóxicos sistêmicos penetram em plantas através de um processo denominado difusão passiva, o que significa que o agrotóxico move-se de

uma região de maior concentração (depósito do fungicida pulverizado) para uma região de menor concentração (interior da planta) (WHITFORD et al., 2014).

A concentração de uma determinada solução no interior da folha depende da natureza do composto em estudo e de fatores fisiológicos das plantas, tais como a mobilidade e a taxa de penetração na epiderme e células do mesófilo (GRIGNON et al., 1999; EWERT et al., 2000). Em comparação com as concentrações externas das substâncias de aplicação foliar, em especial para as concentrações das gotículas pulverizadas ou os seus resíduos depois de ter alcançado o equilíbrio com a atmosfera, as concentrações internas abaixo da gota são supostamente muito menores, especialmente no início de um tratamento foliar. Portanto, pode-se dizer que as taxas de difusão para o interior da folha são governadas principalmente pela concentração externa dos solutos (WHITFORD et al., 2014).

A difusão foliar dos compostos pulverizados é determinada por muitas características inerentes aos ingredientes ativos, assim como, a interação planta-ambiente. Assim, fatores como morfologia, estrutura e posição da folha, exposição ao sol e taxa de processos fisiológicos na planta poderão ser determinantes na difusão dos produtos. A superfície primária aérea, que um produto químico irá encontrar em plantas vasculares, é uma fina película superficial, a cutícula, que é composta de lipídios solúveis e poliméricos (JEFFREE, 1996). A função mais importante da cutícula é a proteção dos tecidos vivos das plantas contra a perda de água (SCHÖNHERR, 1982), mas constitui-se também em uma barreira para a penetração de produtos químicos aplicados via foliar.

O movimento de agrotóxicos através das cutículas vegetais tem sido extensivamente modelado e revisado (BRIGGS; BROMILOW, 1994; WANG; LIU, 2007; SATCHIVI et al., 2006), sendo consideravelmente mais complexo do que o previsto por leis simples de transferência por massa (RIEDERER; FRIEDMANN, 2006). Os adjuvantes, tipo de formulação, relações de ingrediente ativo (IA) para adjuvante, e a concentração do IA na pulverização de gotículas estão entre os parâmetros de aplicação que influenciam a penetração foliar (ZABKIEWICZ, 2007; STOCK, 1996; FORSTER et al., 2006; STOCK et al., 1993).

A partição octanol-água ($\log K_{ow}$) está entre as propriedades físicas dos IA que influenciam a penetração foliar. Este parâmetro é frequentemente considerado fundamental para a penetração através da cutícula e a redistribuição na planta (WANG; LIU, 2007; KIRKWOOD, 1999). De fato, Bromilow e Chamberlain (1989) afirmaram que a sistematicidade de compostos pode ser prevista pela lipofilicidade e que compostos com valores de $\log K_{ow}$ maiores que 3, deixam de ser móveis em plantas. O volume molar (VM) também tem sido considerado um preditor-chave do movimento de compostos através de uma

membrana cuticular (SATCHIVI et al., 2006; SCHÖNHERR; BAUR, 1994). Briggs e Bromilow (1994) consideram o ponto de fusão (PF) ser uma propriedade chave para controlar a solubilização de um composto na superfície da folha, sendo o primeiro passo na penetração e redistribuição foliar. Sauter (2007) também propôs que PF é um parâmetro importante, que um baixo PF impulsiona uma forte atividade translaminar de piraclostrobina, e que PF pode afetar positivamente o espectro de atividade de piraclostrobina, a segurança das culturas, e melhorias de rendimento.

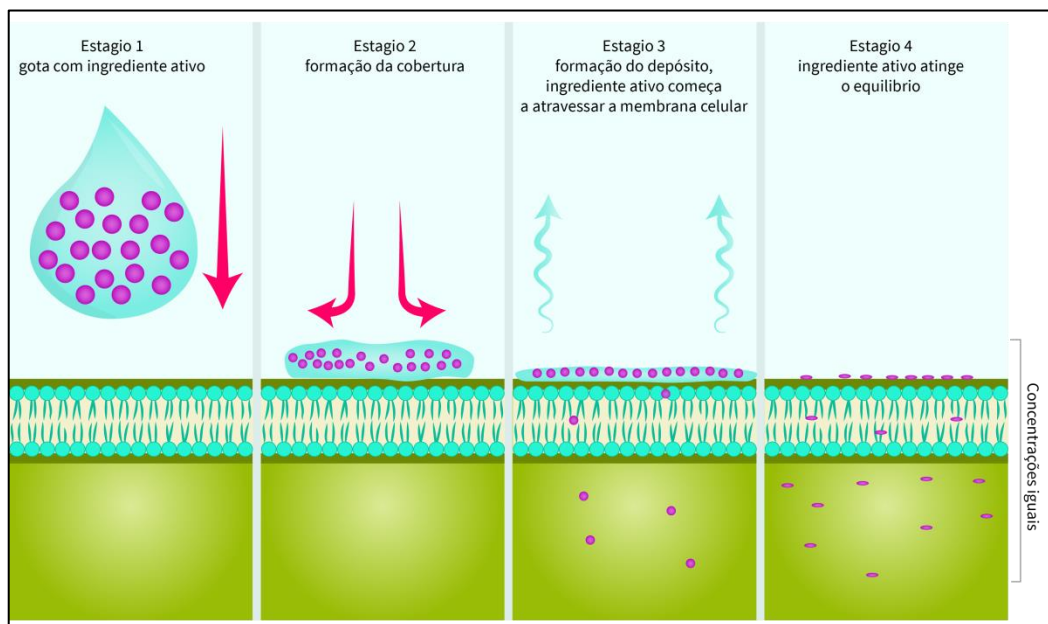


Figura 2 – Penetração de fungicidas em tecidos foliares através da difusão passiva. Adaptado de Whitford et al. (2014).

2.3 Dissipação de agrotóxicos

Os agrotóxicos têm, por definição, propriedades tóxicas e podem se distribuir dentro de vários meios, tais como ar, solo e água, seguidos por penetração nos tecidos de plantas e seres humanos, onde eles podem estar sujeitos à bioacumulação e levar a efeitos negativos (BASSIL et al., 2007; STENERSEN, 2004). As concentrações residuais de agrotóxicos nas culturas são altamente sensíveis às informações sobre os processos de dissipação específicos (JACOBSEN et al., 2015).

Fantke e Juraske (2013) revisaram 811 fontes da literatura científica fornecendo dados de 4513 fontes de dissipação por meia-vida de 346 agrotóxicos, mensurados em 183 espécies

de plantas. Tentativas têm sido realizadas para prever a dissipação de agrotóxicos em plantas com base em meia-vida no solo, utilizando fatores de extrapolação genéricos entre agrotóxicos (FANTKE, et al., 2014). Quando são estimados em plantas, os resultados são provenientes de ingredientes ativos (IA) dissipados em superfície de folhas, raízes e frutos (FANTKE, et al., 2014; JURASKE et al., 2008), e não no interior de tecidos foliares. Apesar da magnitude das informações, desconhecem-se dados sobre a persistência de fungicidas sítio-específicos associados com o fungicida multissítio mancozebe. Essas informações contribuem para a elaboração dos modelos mecanicistas de penetração de fungicidas, além de estimar a dissipação e conseqüentemente os resíduos de agrotóxicos em folhas. Isso contribuirá para estabelecer o residual de controle dos patógenos e reduzir os impactos de aplicações ao meio ambiente e seres humanos.

As interações da planta com o ambiente influenciam diretamente na penetração de agrotóxicos pulverizados na superfície da folha e sua dissipação na planta e/ou ambiente (Figura 3). Os processos-chave para a perda de produtos químicos pelas plantas são a degradação fotolítica na superfície das plantas, a volatilização para o ar e a diluição do composto pelo crescimento da planta (COLLINS et al., 2006). O crescimento das plantas leva a um processo de dissipação que não reduz a massa dos compostos, mas leva a concentrações mais baixas por diluição. A perda através da diluição pelo crescimento pode ser responsável por 60-80% do depósito do agrotóxico inicial (HOPKINS et al., 1952). Miles et al. (1964) estimaram que a diluição de crescimento é de igual importância para a dissipação, como a degradação e volatilização. Jacobsen et al. (2015) relataram que o crescimento de plantas anuais segue uma curva logística e que o crescimento pode, portanto, ser muito eficiente no processo de dissipação quando os agrotóxicos são aplicados durante a fase de crescimento exponencial.

A degradação tem sido relatada como sendo um dos processos de dissipação predominante em plantas (LEGIND et al., 2011; FANTKE et al., 2013), mas valores medidos raramente estão disponíveis. Komossa et al. (1995) compilaram valores para o metabolismo de agrotóxicos em culturas de suspensão de células de soja e trigo. Nesses testes, os autores relatam que a rápida degradação é muitas vezes vista dentro de curtos períodos de tempo. Por exemplo, mais de 90% do herbicida 2,4-D foi degradado em metabólitos principalmente polares dentro de 48 h por células de trigo (KOMOSSA et al., 1995).

Através das alterações morfofisiológicas e bioquímicas causadas pelo uso de fungicidas, as plantas precisam remover e/ou metabolizar esses compostos potencialmente tóxicos para se proteger, dissipando-os no tecido foliar. Sandermann (1992) descreveu as

plantas como "fígados verdes", que podem atuar como um dissipador global de poluentes ambientais desta natureza. A biotransformação de agrotóxicos pode ocorrer através de múltiplos processos conhecidos como metabolismo. Transformação enzimática, que é principalmente o resultado de processos bióticos mediados por plantas e microrganismos, é a principal via de desintoxicação e/ou metabolismo de agrotóxicos na vegetação (VAN EERD et al., 2003). Tais transformações biológicas, que envolvem enzimas como catalisadores, frequentemente trazem grandes modificações na estrutura e propriedades toxicológicas dos poluentes. Plantas geralmente metabolizam os agrotóxicos para compostos conjugado solúveis em água e resíduos ligados que são menos ou não tóxicos, que podem ficar na planta (HATZIOS, 1991).

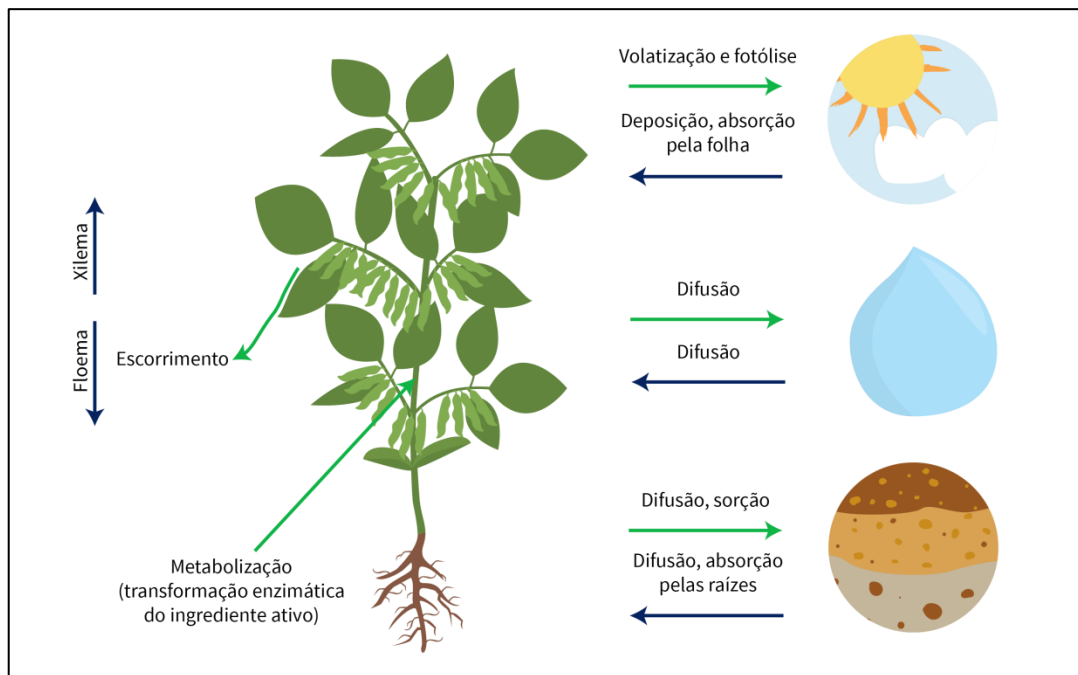


Figura 3 – Representação esquemática das interações planta-ambiente com processos que contribuem diretamente na penetração ou transporte de agrotóxicos (setas azuis) e processos que contribuem diretamente para a dissipação de agrotóxicos (setas verdes). Adaptado de Fantke e Juraske (2013).

2.4 Efeito da chuva na aplicação de fungicidas

A chuva é um fator climático que também requer atenção no momento das aplicações. Dentre todos os processos que podem ocorrer no meio ambiente, a chuva exerce grande efeito na persistência e conseqüentemente na eficácia de produtos aplicados via foliar (MCDOWELL et al., 1987; SCHEPERS, 1996), considerando que a mesma venha logo após as aplicações.

A ocorrência de chuva pode afetar a estrutura e atividade do agrotóxico pela sua diluição, redistribuição, remoção física ou ainda pela remoção dos tecidos (THACKER; YOUNG, 1999). Neste caso, recomenda-se bastante cuidado na observação do intervalo mínimo de tempo entre a aplicação e a ocorrência da chuva, visando permitir o tempo mínimo para a ação dos produtos.

A precipitação pode reduzir a eficácia de agrotóxicos, lavando o composto ativo depositado na folha, para fora da planta, aumentando a disponibilidade do mesmo para o escoamento ao ambiente (REDDY et al., 1994). Uma vez que a perda de IA pode causar uma perda na eficácia (REDDY et al., 1994; REDDY; LOCKE, 1996), é importante conhecer a persistência de agrotóxicos em tecidos foliares, submetidos à lavagem das folhas, especialmente quando essa ocorre pouco após o tratamento. O tempo decorrido entre a aplicação dos tratamentos e a precipitação afeta profundamente o residual do agrotóxico, embora dependa das suas características físico-químicas (PICK et al., 1984; SMITH et al., 1981; WILLIS et al., 1992). A resistência à lavagem pode ser definida como a quantidade de IA que é exposto, mas não é removido pela chuva (HUNSCHE, 2006). Com isso, o IA penetrado nas folhas, antes da lavagem, não está mais exposto a fatores externos, determinando o residual de controle e a eficácia do agrotóxico.

O conhecimento da persistência dos agrotóxicos após a ocorrência de chuvas é essencial para otimizar a utilização dos mesmos (SCHEPERS, 1996). Tal fato permite estimar mais precisamente sua atividade residual (NEELY, 1971; KUDSK et al., 1991) e ajuda a estabelecer parâmetros para definir a necessidade de reaplicação após a ocorrência de chuvas (MCDOWELL et al., 1987; CABRAS et al., 2001). Além disso, estas informações são importantes para desenvolver modelos matemáticos que visam prever o transporte de agrotóxicos através dos efluentes de água (SMITH et al., 1981), solo e absorção pelas plantas (MCDOWELL et al., 1987; WAUCHOPE et al., 2004).

3 CAPÍTULO I – REAÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA AO AGENTE CAUSAL DA FERRUGEM ASIÁTICA E RESPONSABILIDADE DAS MISTURAS DE FUNGICIDAS INIBIDORES DA DESMETILAÇÃO E INIBIDORES DA QUINONA OXIDASE

3.1 Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de cultivares de soja ao agente causal da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) e responsividade de misturas de fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). O experimento foi realizado em casa de vegetação no ano 2014/15. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (15x3), totalizando 45 tratamentos com três repetições. O fator A foi composto por 14 cultivares de soja registradas em diferentes anos no Registro Nacional de Cultivares (RNC) e uma linhagem, representadas pelos diferentes níveis de suscetibilidade a *P. pachyrhizi*. O fator B foi composto por duas misturas de fungicidas com epoxiconazol (EPOX) + piraclostrobina (PIR) e protioconazol (PROT) + trifloxistrobina (TRIFL), além de um tratamento controle (sem pulverização). Os parâmetros avaliados foram o período de latência, residual de controle, taxa de progresso e a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Foi verificado que as cultivares de soja respondem diferentemente ao agente causal da ferrugem asiática. A responsividade de misturas de IDM e IQo à *P. pachyrhizi* é distinta entre as cultivares. O maior residual de controle do patógeno nas diferentes cultivares foi através da pulverização de PROT + TRIFL. O uso de cultivares com menores valores de AACPD e misturas de fungicidas IDM + IQo eficazes são ferramentas importantes para o manejo de *P. pachyrhizi*.

Palavras-chave: *Phakopsora pachyrhizi*. Residual de controle. Protioconazol. Trifloxistrobina. Epoxiconazol. Piraclostrobina.

CHAPTER I - REACTION OF SOYBEAN CULTIVARS TO THE CAUSAL AGENT OF ASIAN SOYBEAN RUST AND RESPONSIVENESS OF THE MIXTURE OF DEMETHYLATION INHIBITOR AND QUINONE OUTSIDE INHIBITOR FUNGICIDES

3.2 Abstract

The objective of this study was to evaluate the reaction of soybean cultivars to the causal agent of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd.) and the responsiveness mixing fungicides DeMethylation Inhibitor (DMI) and Quinone outside Inhibitor (QoI). The experiment was performed in a greenhouse in the year 2014/15. The experimental design was completely randomized, in a factorial arrangement (15x3), totaling 45 treatments with three replicates. The factor A was composed of 14 soybean cultivars registered in different years in the Cultivars National Register (CNR), and a genotype, represented by different levels of susceptibility to *P. pachyrhizi*. The factor B was composed of two fungicide mixtures with epoxiconazole (EPOX) + pyraclostrobin (PYR) and prothioconazole (PROTH) + trifloxystrobin (TRIFL), in addition to a control treatment (without spraying). The parameters assessed were the latency period, residual control, progress and the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). The results indicate that the soybean cultivars respond differently to the causal agent of asian rust. The responsiveness of the mixtures of DMI and QoI fungicides to the *P. pachyrhizi* is distinct among the cultivars. The greatest residual control of the pathogen in the different cultivars was by the spraying of PROT + TRIFL. The use of cultivars with lower AUDPC values and mixtures of effective DMI + QoI fungicides are important tools for the management of *P. pachyrhizi*.

Key words: *Phakopsora pachyrhizi*. Residual control. Prothioconazole. Trifloxystrobin. Epoxiconazole. Pyraclostrobin.

3.3 Introdução

A Ferrugem Asiática da Soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. é a doença mais difundida e prejudicial na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Este patógeno é um dos principais fatores que limitam a produtividade da cultura, pois causa rápido amarelecimento e queda prematura das folhas, prejudicando a plena formação de grãos (SOARES et al., 2004). Esta doença tem limitado a produção de soja nas áreas tropicais e subtropicais da África, Ásia e Sul da América, onde foram reportadas perdas de 10 a 80% no rendimento de grãos (HARTMAN et al., 1991; LEVY, 2005; YORINORI et al., 2005).

Medidas de manejo para controle da doença são necessárias para que as plantas expressem seu potencial produtivo. Práticas culturais tais como semeadura mais precoce, eliminação de hospedeiros secundários, escolha de cultivares, têm sido aplicadas para redução da severidade da doença (KAWUKI et al., 2003; HU; WIATRACK et al., 2012). A escolha de cultivares menos suscetíveis ao patógeno otimiza o controle de *P. pachyrhizi*, pois diminui o inóculo secundário e conseqüentemente o desenvolvimento da doença. Com isso, verificar o nível de tolerância das cultivares, através da combinação dos componentes que a condicionam, maior período de latência (PL), redução na frequência de infecção, menor comprimento de lesões, menor taxa de progresso da doença e menor período infeccioso (OHM; SHANER, 1976; WAHL et al., 1980), é importante para auxiliar um adequado controle químico com fungicidas.

Outras medidas de manejo incluem o melhoramento genético para resistência à *P. pachyrhizi* e introdução de um período de três meses livres de soja cultivada no campo (HARTMAN et al., 2005; GODOY, 2009). No entanto, a limitada disponibilidade de cultivares resistentes faz com que o manejo da cultura seja por meio de pulverização com fungicidas, e em particular os Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) tem fornecido os melhores e mais consistentes resultados (IVANCOVICH, 2005). No entanto *P. pachyrhizi* esta apresentando adaptações para os fungicidas IDM e IQo, o que esta resultando em redução da eficácia destes agrotóxicos (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016). A partir disso, verificar o residual de controle de *P. pachyrhizi* e a taxa de progresso da doença pela pulverização de misturas fungicidas IDM + IQo em diferentes cultivares servirá de base para auxiliar um eficiente controle da doença, buscando a sustentabilidade do cultivo.

Considerando a falta de estudos detalhados acerca do comportamento das misturas fungicidas IDM e IQo em diferentes cultivares de soja, o objetivo da pesquisa foi investigar a reação de cultivares de soja ao agente causal da FAS e responsividade a mistura de IDM e IQo.

3.4 Material e Métodos

O experimento foi realizado no verão 2014/15, em casa de vegetação, sob condições parcialmente controladas, no município de Itaara, RS, Brasil. A temperatura foi de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo a máxima regulada através de exaustores. A umidade relativa do ar mantida na faixa de $70\% \pm 15\%$, regulada por um sistema de nebulização computadorizado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (15x3), totalizando 45 tratamentos com três repetições. O fator A foi composto por 14 cultivares de soja registradas em diferentes anos no Registro Nacional de Cultivares (RNC) e uma linhagem (Tabela 1); o fator B foi considerado duas misturas de fungicidas com IDM + IQo, representados pelos fungicidas protioconazol (PROT) + trifloxistrobina (TRIFL) (70,0 + 60,0 g i.a ha⁻¹) com adição de óleo mineral Aureo[®] (0,375 L.p.c ha⁻¹) e epoxiconazol (EPOX) + piraclostrobina (PIR) (30 + 79,8 g i.a ha⁻¹), respectivamente, com adição de óleo mineral Assist[®] (0,750 L.p.c ha⁻¹), além de um controle sem pulverização de fungicida.

Tabela 1 – Cultivares de soja classificadas pelo tempo, de acordo com o Registro Nacional de Cultivares (RNC), nas quais compuseram os níveis do fator A do experimento.

| ---Cultivares mais antigas--- | ---Cultivares intermediárias--- | ---Cultivares mais recentes--- |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Ano de registro até 1993 | De 1998 até 2004 | De 2007 até 2012 |
| IAS-5 ¹ | CD 205 (1998) | BMX Titan RR (2007) |
| PEL 8710 ^{1,2} | FEPAGRO-RS 10 (1998) | BMX Potência RR (2007) |
| | FT-Saray (1998) | NA 5909 RG (2008) |
| | FUNDACEP 33 (1999) | BMX Tornado RR (2011) |
| | FEPAGRO 25 (2003) | DM 6563 RSF IPRO (2012) |
| | FUNDACEP 45 ¹ | AS 3570 IPRO (2012) |
| | FUNDACEP 54 RR (2004) | |

¹ Ano exato de registro da cultivar desconhecido pelo autor; ² Linhagem de soja

As sementes das 14 cultivares de soja e da linhagem foram previamente tratadas com fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metílico (50 + 5 + 45 g i.a. 100 kg⁻¹ de semente, respectivamente) e inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (0,200 L.p.c. 100 kg⁻¹ de

semente do inoculante Bionutri[®]) antes da semeadura. A semeadura foi realizada em vasos (5 L) contendo substrato a base de solo + areia (2:1). As características químicas do substrato: pH (H₂O) – 5.95, saturação por Al – 0.0 %, saturação por bases (V) – 78 %, capacidade de troca catiônica (CTC) pH₇ – 11.6 cmol_c dm⁻³, matéria orgânica – 1.6 %, macronutrientes P-Mehlich – 50,5 mg dm⁻³, K – 271,8 mg dm⁻³, Ca – 5,6 cmol_c dm⁻³, Mg – 2,8 cmol_c dm⁻³.

A pulverização com fungicida foi realizada quando as plantas atingiram o estágio V6 (FEHR; CAVINES, 1977), em caráter preventivo. Somente foi realizada uma pulverização de fungicida. Para isso, foi utilizado um pulverizador costal, pressurizado à CO₂, dotado de barra com quatro pontas de pulverização do tipo XR 11002 calibrado para uma taxa de aplicação de 150 L ha⁻¹. As gotas produzidas pela pulverização foram caracterizadas como finas. A condição meteorológica no momento da pulverização foi de temperatura de 24°C e umidade relativa do ar de 81%.

Após 12 horas da aplicação dos tratamentos, ocorreu a inoculação das plantas com o patógeno. A inoculação foi baseada na metodologia utilizada por Lenz et al. (2011), através da deposição do inóculo do patógeno (uredósporos de *P. pachyrhizi*) na concentração de 2x10⁵ esporos ml⁻¹ suspensos em água destilada mais espalhante adesivo Tween (80 ppm), em ambas faces das folhas, no período da noite. As plantas foram inoculadas a cada semana, além de permanecerem em casa de vegetação junto com plantas infectadas com *P. pachyrhizi*, onde estas, também serviram como fonte de inóculo. Dessa maneira, as plantas do experimento foram expostas constantemente ao patógeno.

Os parâmetros avaliados foram o número de dias para aparecimento da primeira pústula (NDAPP) e severidade da doença. As avaliações do NDAPP iniciaram-se a partir do segundo dia após a inoculação. Avaliações diárias com auxílio de lupa (A: 20 X) foram realizadas para a visualização dos primeiros sintomas. Os dois últimos trifólios completamente expandidos de cada planta foram marcados com fita colorida e as avaliações realizadas repetidamente nessa amostragem. O NDAPP serviu de base para o cálculo do residual de controle. O residual de controle foi o período compreendido entre o NDAPP nos tratamentos fungicidas reduzidos do NDAPP da testemunha (sem fungicida) para cada cultivar.

Aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos foi avaliada a severidade de *P. pachyrhizi*. A severidade foi determinada atribuindo notas visuais do percentual de área foliar com sintomas da doença em relação à área sadia, sendo utilizada a escala proposta por Godoy et al. (2006).

A partir dos valores de severidade foi calculada a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). A AACPD pode ser usada como descritor de uma epidemia, quando o objetivo é resumir uma curva de progresso de doença em dados que possam ser analisados e comparados (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Os dados obtidos foram transformados através de BoxCox, devido à distribuição normal não se adequar aos dados. Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância (teste $F \leq 5\%$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), calculado através do software ASSITAT, versão 7.6 (SILVA; AZEVEDO, 2009).

3.5 Resultados e Discussão

A análise de variância dos dados apresentou efeito significativo para cultivares, fungicidas e a interação entre os dois fatores, em todos os parâmetros avaliados. Verificaram-se diferenças significativas entre cultivares quanto à reação às doenças e também à responsividade ao fungicida pulverizado.

O desenvolvimento de urédias foi mensurado nos tecidos foliares das 14 cultivares de soja e de uma linhagem. O Período de Latência (PL) do patógeno foi observado nos folíolos entre 5,7 a 8 dias após a inoculação dependendo da cultivar (Tabela 2). O período de latência, sob o aspecto fitopatológico, refere-se ao período de tempo que vai desde a infecção, até o rompimento da primeira pústula esporulada. Segundo Vallavielle-Pope et al. (2000) o aumento de apenas um dia, para o estabelecimento das relações parasitárias, já é de significativa contribuição para a diminuição da quantidade de ciclos reprodutivos que um fungo pode realizar em uma safra.

As mais recentes cultivares ‘NA 5909 RG’, ‘BMX Potência RR’, ‘DM 6563 RSF IPRO’ apresentaram maior período de latência em relação às cultivares intermediárias e mais antigas ‘Fepagro 25’, ‘FUNDACEP 33’ e ‘PEL 8710’ (linhagem). Dessa forma, o estudo mostra que cultivares mais antigas são tão suscetíveis à *P. pachyrhizi* quanto as cultivares recentes. As cultivares de soja apresentam diferentes sensibilidade ao patógeno (BALARDIN et al., 2006; MENEGHETTI et al., 2010), assim, a diferença na suscetibilidade das cultivares deve ser cuidadosamente analisada, uma vez que os autores destacam que todas as cultivares apresentaram sintomas da doença.

O residual de controle do patógeno foi significativamente influenciado pela mistura de fungicida IDM e IQo e pela cultivar (Figura 1). O residual de controle de EPOX + PIR foi maior nas cultivares ‘FEPAGRO-RS 10’, ‘NA 5909 RG’, ‘BMX Potência RR’ e ‘BMX

Tornado RR’, enquanto que o residual de PROT + TRIFL foi maior nas cultivares ‘CD 205’, ‘FUNDACEP 45’, ‘FEPAGRO 25’, ‘AS 3570 IPRO’, ‘DM 6563 RSF IPRO’, ‘FEPAGRO-RS 10’, ‘NA 5909 RG’ e ‘BMX Potência RR’. Os resultados mostram que a responsividade de misturas de IDM e IQo à *P. pachyrhizi* é distinta entre as cultivares, evidenciando que a cultivar deve ser levada em consideração, quando do controle químico, como uma estratégia do manejo integrado de FAS. Vale ressaltar que a recomendação atual de aplicações de fungicidas não levam em consideração as cultivares, somente os agrotóxicos utilizados.

As cultivares analisadas no experimento apresentaram diferentes AACPD (Tabela 2). O nível de suscetibilidades das cultivares, através dos valores de AACPD, variou de 639,33 à 210,58. Analisando 50 cultivares de soja, Azevedo et al. (2007) não observaram diferenças significativa nos valores de AACPD entre as cultivares. As cultivares de soja apresentaram menores valores de AACPD pela pulverização de PROT + TRIFL.

Observando os valores de AACPD é possível identificar três grupos de cultivares quanto à responsividade de PROT + TRIFL frente ao patógeno. As cultivares ‘CD 205’, ‘FUNDACEP 54 RR’, ‘FEPAGRO-RS 10’, ‘FUNDACEP 45’, ‘NA 5909 RG’ e ‘BMX Potência RR’, ‘AS 3570 IPRO’, ‘DM 6563 RSF IPRO’ foram responsivas pela pulverização de PROT + TRIFL, com AACPD abaixo de 4. As cultivares ‘FEPAGRO 25’, ‘BMX Tornado RR’, ‘FUNDACEP 33’, ‘IAS 5’, ‘FT-Saray’ e ‘BMX Titan RR’ apresentaram resposta intermediária frente ao fungicida PROT + TRIFL. A linhagem ‘PEL 8710’ mostrou menor resposta ao controle do patógeno pela pulverização do fungicida PROT + TRIFL. ‘PEL 8710’ foi o genótipo mais suscetível à *P. pachyrhizi*, pelo aparecimento mais rápido da primeira pústula (5,7 dias), valores mais altos de AACPD e progresso da doença para todos os tratamentos.

Tabela 2 – Aparecimento da primeira pústula de *Phakopsora pachyrhizi* (dias) e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo).

| Cultivares | Controle ¹ | | epoxiconazol + piraclostrobina | | protioconazol + trifloxistrobina | | | |
|-----------------------------|-------------------------|-------|-----------------------------------|-----------------|-------------------------------------|-------|-------|----|
| | Primeira pústula (dias) | AACPD | AACPD | AACPD | AACPD | AACPD | | |
| CD 205 | 7 | b | 399,58 | eA ³ | 197,167 | fB | 3,97 | cC |
| FUNDACEP 54 RR | 8 | a | 368,08 | fA | 232,167 | eB | 2,22 | cC |
| FEPAGRO-RS 10 | 8 | a | 364,58 | fA | 161,000 | hB | 4,08 | cC |
| FUNDACEP 45 | 8 | a | 319,08 | gA | 203,000 | fB | 4,67 | cC |
| NA 5909 RG | 8 | a | 251,42 | iA | 116,667 | jB | 0,82 | cC |
| BMX Potência RR | 8 | a | 225,75 | jA | 100,333 | lB | 0,70 | cC |
| AS 3570 IPRO | 7 | b | 218,75 | jA | 114,333 | jB | 0,35 | cC |
| DM 6563 RSF IPRO | 8 | a | 210,58 | lA | 119,000 | jB | 0,93 | cC |
| FEPAGRO 25 | 6 | c | 571,08 | bA | 362,833 | cB | 8,75 | bC |
| BMX Tornado RR | 8 | a | 324,33 | gA | 177,333 | gB | 9,92 | bC |
| FUNDACEP 33 | 6,7 | b | 544,83 | cA | 333,667 | dB | 9,57 | bC |
| IAS-5 | 8 | a | 414,75 | eA | 231,000 | eB | 5,83 | bC |
| FT-Saray | 7 | b | 523,25 | dA | 373,333 | bB | 11,78 | bC |
| BMX Titan RR | 8 | a | 280,00 | hA | 136,500 | iB | 7,58 | bC |
| PEL 8710² | 5,7 | c | 639,33 | aA | 432,833 | aB | 27,53 | aC |

¹Controle: Tratamento sem pulverização de fungicida. ² Linhagem de soja. ³Letras minúsculas na coluna (comparam cultivares em cada combinação de tratamento fungicida); letras maiúsculas na linha (comparam tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivar); médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

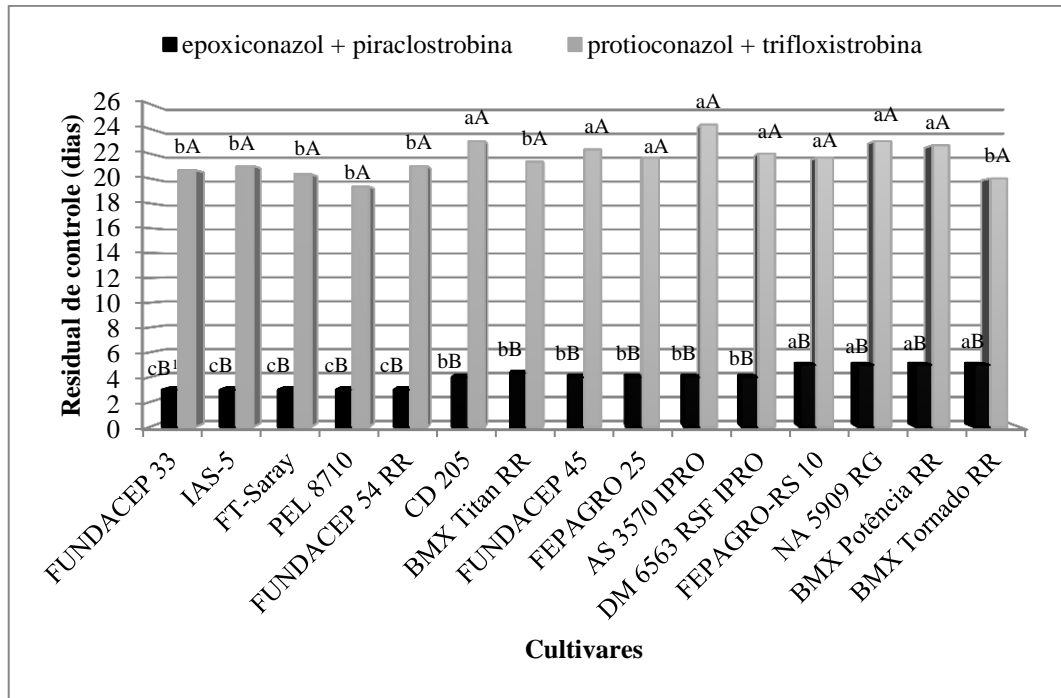


Figura 1 – Residual efetivo de controle de *Phakopsora pachyrhizi* (dias) em diferentes cultivares e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQO). PEL 8710: linhagem de soja. ¹Letras minúsculas (comparam cultivares em cada combinação de tratamento fungicida; letras maiúsculas (comparam tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivar); médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O progresso de *P. pachyrhizi* depende da cultivar e fungicida utilizado (Figura 2 e 3). Cultivares que apresentam menor progresso da doença respondem mais a aplicação de fungicida, apresentando menores valores de severidade no decorrer das avaliações. O nível de resistência parcial de cada cultivar altera a reação das plantas frente a *P. pachyrhizi*, influenciando o progresso da doença. Os dados revelam que a escolha de cultivares com menor progresso da doença maximiza o controle químico, podendo ser utilizada como ferramenta dentro do manejo integrado de doenças. O menor progresso da doença nas diferentes cultivares foi através da aplicação de PROT + TRIFL.

Alguns autores mencionam a necessidade de buscar genótipos que possuam resistência horizontal ou taxa reduzida de progresso da doença (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; HARTMAN et al., 1997, 2005), em razão da alta capacidade de adaptação e presença de fatores múltiplos de virulência de *P. pachyrhizi* (BURDON; SPEER, 1984; TSCHANZ; WANG, 1985; YAMAOKA et al., 2002). A baixa frequência de infecção, a diminuição do desenvolvimento do micélio dentro do tecido do hospedeiro, o período latente longo, e a baixa produção de esporos estão entre os possíveis mecanismos responsáveis pela diminuição do progresso de doenças, ao longo do tempo (HEAGLE; MOORE, 1970; PARLEVLIET, 1979).

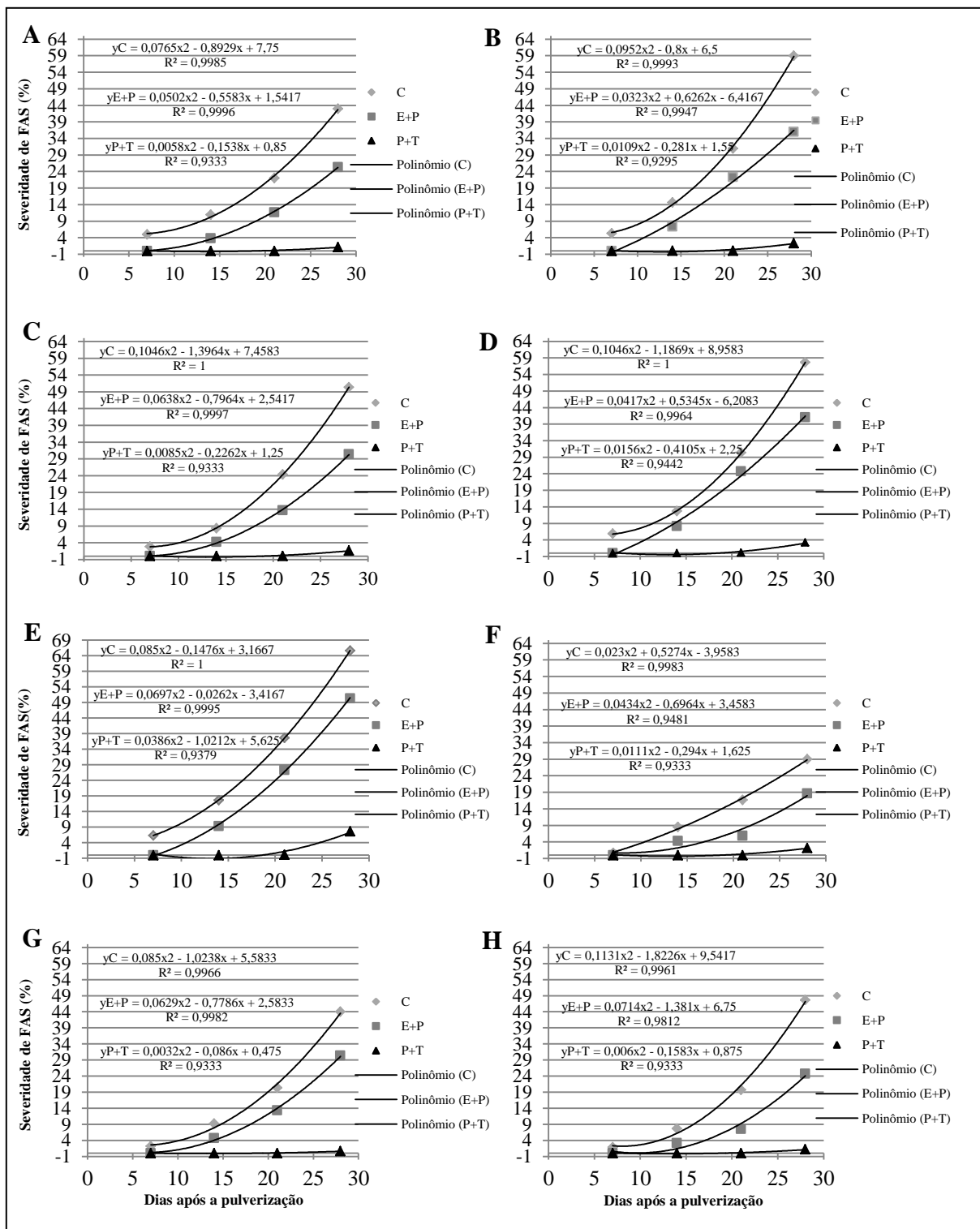


Figura 2 – Progresso da severidade de Ferrugem Asiática da Soja (FAS) em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). Cultivar CD 205 (A), FUNDA CEP 33 (B), IAS-5 (C), FT-Saray (D), PEL8710 (linhagem de soja) (E), BMX Titan RR (F), FUNDA CEP 54 RR (G), FEPAGRO-RS 10 (H). C= controle (sem fungicida); E+P= epoxiconazol + piraclostrobina; P+T= protioconazol + trifloxistrobina.

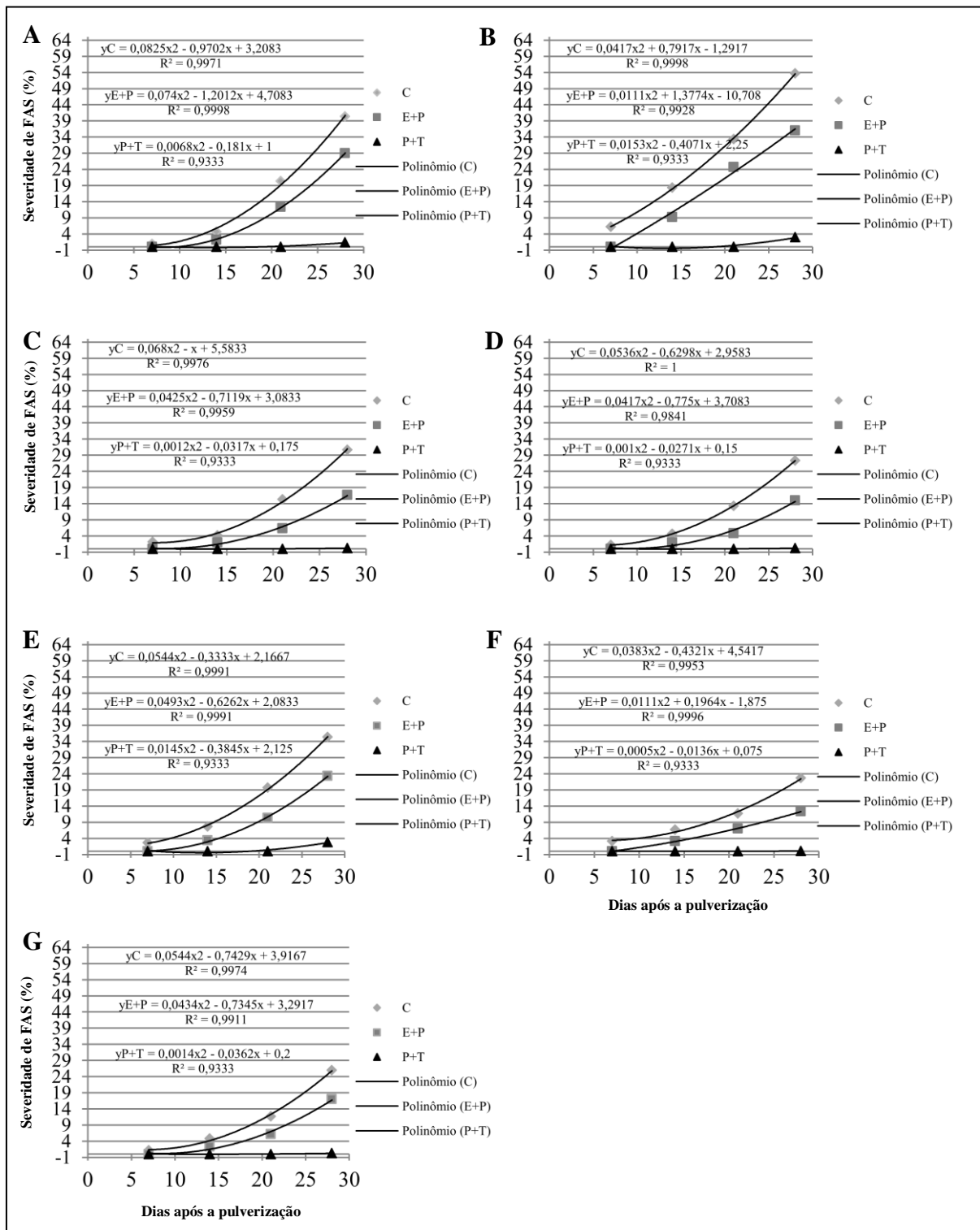


Figura 3 – Progresso da severidade de Ferrugem Asiática da Soja (FAS) em diferentes cultivares de soja e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). Cultivar FUNDACEP 45 (A), FEPAGRO 25 (B), NA 5909 RG (C), BMX Potência RR (D), BMX Tornado RR (E), AS 3570 IPRO (F), DM 6563 RSF IPRO (G). C= controle (sem fungicida); E+P= epoxiconazol + piraclostrobina; P+T= protioconazol + trifloxistrobina.

A correlação entre as variáveis AACPD de cultivares sem fungicida e o período latente de *P. pachyrhizi* foi $r = - 0,7877$ (Figura 4). A correlação negativa das variáveis foi significativa ($P \leq 0,05$) e indicou que o maior período de latência contribui para reduzir a quantidade de inóculo secundário, reduzindo assim o potencial do patógeno para disseminar e conseqüentemente diminuir os valores de AACPD. Estudos que analisam valores de AACPD de diferentes cultivares são importantes, pois determinam o nível de suscetibilidade de cada cultivar para determinada doença. Além de analisar o nível de suscetibilidade das cultivares, os valores de AACPD estão altamente correlacionados com o rendimento de grãos da soja (HIKISHIMA et al., 2010). No entanto, esses autores não correlacionaram o AACPD com o período de latência de *P. pachyrhizi*, como demonstrado neste estudo.

A Figura 5 apresenta a eficácia de controle *P. pachyrhizi* em diferentes cultivares e misturas de fungicida IDM e IQo. A maior variação na eficácia de controle foi visualizada pela aplicação de EPOX + PIR. Esta variação foi de 28,6 % à 55,8 %, dependendo da cultivar. O presente estudo sugere uma redução de controle de *P. pachyrhizi* pelo uso de EPOX + PIR, possivelmente devido à adaptação da mistura de esporos utilizados na investigação. Tomados em conjuntos, os dados mostram que a população brasileira de *P. pachyrhizi* é menos sensível para algumas misturas de IDM e IQo (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016). A análise de CYP51 em *P. pachyrhizi* revelou que as mutações pontuais e sobre-expressão estão envolvidas na redução de sensibilidade a EPOX (IDM) (SCHMITZ et al., 2014). Mutações no alvo do gene citocromo b (cyt b) pode resultar na redução da sensibilidade para os fungicidas IQo, devido à redução na afinidade de ligação do fungicida em virtude da mudança na sequência do aminoácido (KLOSOWSKI et al., 2016).

A menor variação de eficácia de controle da doença nas diferentes cultivares foi visualizada pela aplicação de PROT + TRIFL (Figura 5). Esta variação foi de 95,7 % à 99,8 %, dependendo da cultivar. Percebe-se que as misturas de fungicidas IDM + IQo apresentam diferentes eficácia de controle sobre o patógeno. Os dados sugerem que a população de *P. pachyrhizi* utilizada no experimento não apresentou níveis significativos de adaptação frente à pulverização de PROT + TRIFL. De acordo com a EMBRAPA (2015), as misturas de IDM + IQo apresentam diferentes eficácia de controle frente a *P. pachyrhizi*. No entanto, o presente estudo ainda considerou o residual de controle do patógeno, bem como progresso da doença. Esses parâmetros são importantes e decisivos para determinar a reentrada de futuras aplicações de fungicidas no campo.

O nível de resistência parcial de cada cultivar, pelo maior período de latência e menores valores de AACPD (sem fungicida), altera a resposta da planta aos patógenos,

podendo promover uma melhor eficácia de controle químico. Dessa forma, a associação de cultivares com menor AACPD e misturas de IDM + IQo eficazes contribui para reduzir a intensidade da doença, além de possibilitar o estabelecimento de um programa de manejo integrado que permita um controle mais eficiente da FAS. As cultivares tolerantes podem requerer menos aplicações de fungicidas e assim contribuir para a redução dos custos de produção da cultura (MELO et al., 2015).

Com base nos resultados encontrados neste estudo, fica evidente a necessidade de avaliar a reação de novas cultivares de soja à *P. pachyrhizi* e a responsividade de novos fungicidas. Para que isso seja viável, os fungicidas utilizados devem ser seguros em termos toxicológicos e ambientais, além de eficazes no controle da doença e não causar fitotoxicidade à cultura.

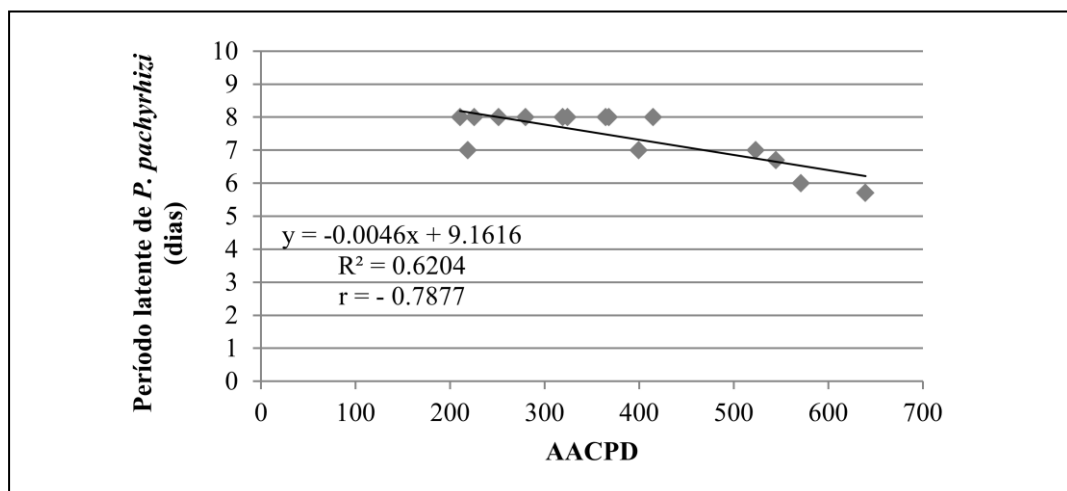


Figura 4 – Correlação (r) da variável Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) de cultivares de soja sem fungicida e período latente de *Phakopsora pachyrhizi* (dias).

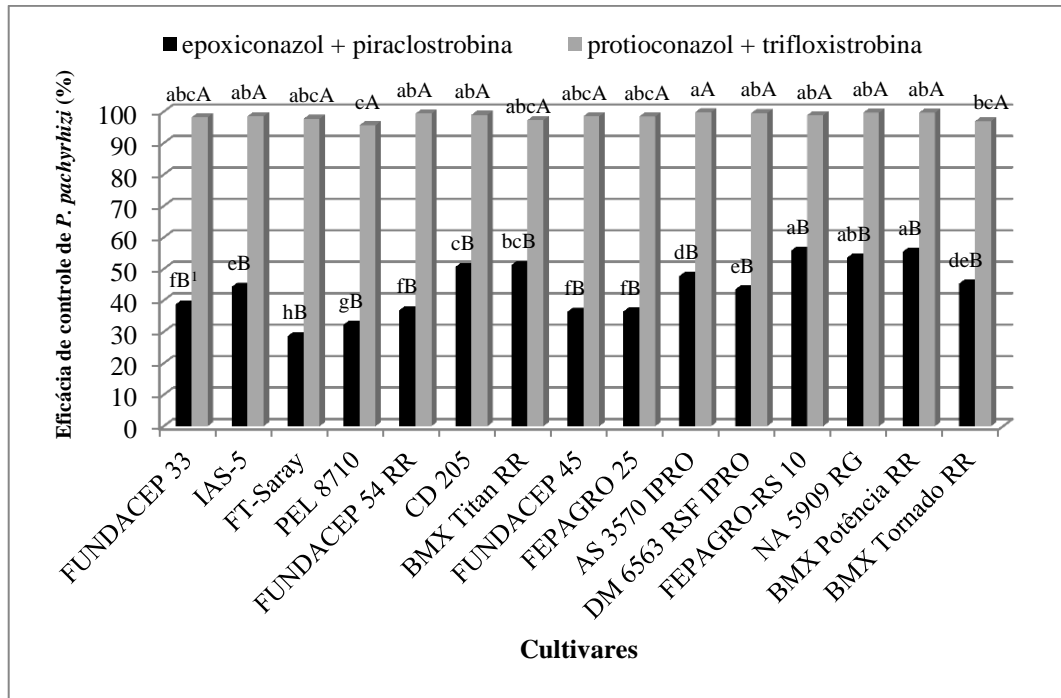


Figura 5 – Eficácia de controle de *Phakopsora pachyrhizi* (%) em diferentes cultivares e misturas de fungicida Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). PEL 8710: linhagem de soja. ¹Letras minúsculas (comparam cultivares em cada combinação de tratamento fungicida; letras maiúsculas (comparam tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivar); médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.6 Conclusão

Através das condições descritas neste experimento, pode se verificar que as cultivares de soja respondem diferentemente à *Phakopsora pachyrhizi*. A responsividade de misturas de Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) à *P. pachyrhizi* é distinta entre as cultivares. O maior residual de controle do patógeno nas diferentes cultivares foi através da pulverização de protioconazol + trifloxistrobina. Foi verificado que o uso de cultivares com menores valores de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) e misturas de fungicidas IDM + IQo eficazes são ferramentas importantes para o manejo de *P. pachyrhizi*.

3.7 Referências Bibliográficas

- AZEVEDO, L. A. S. D.; JULIATTI, F. C.; BARRETO, M. Resistência de genótipos de soja à *Phakopsora pachyrhizi*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 252-257, 2007.
- BALARDIN, R.S.; DALLAGNOL, L. J.; DIDONE, H. T.; NAVARINI, L. Influência do fósforo e do potássio na severidade da ferrugem da soja *Phakopsora pachyrhizi*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 462-467, 2006.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996. 289p.
- BROWN, M. H.; PAULSEN, I. T.; SKURRAY, R. A. The multidrug efflux protein NorM is a prototype of a new family of transporters. **Molecular Microbiology**, v. 31, 393–395, 1999.
- BURDON, J. J.; SPEER, S. S. A set of differential *Glycine* hosts for the identification of races of *Phakopsora pachyrhizi* Syd. **Euphytica**, v. 33, p. 891-896, 1984.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley, 1990. 532 p.
- EMBRAPA. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2014/15: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. In: **Embrapa Soja. Circular Técnica**, 111. Acessado em 06 out. 2015. Online. Disponível em:
<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1021068/1/CT111online.pdf>>.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames IA. Iowa State University. 1977.
- GODOY, C.V. Changes in performance of SBR fungicides over the years and new management strategies adopted in Brazil. In: **National Soybean Rust Symposium**, New Orleans, p.9–11, december 2009. Acessado em 14 dez. 2015. Online. Disponível em:
<<https://www.plantmanagementnetwork.org/infocenter/topic/soybeanrust/2009/presentations/Godoy.pdf>>.
- GODOY, C.V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.
- HARTMAN, G. L.; MILES, M. R.; FREDERICK, R. D. Breeding for resistance to soybean rust. **Plant Disease**, v. 89, p. 664-666, 2005.
- HARTMAN, G. L.; WANG, T. C.; SHANMUGASUNDARAM, S. Soybean rust research: progress and future prospects. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE**, 5., 1994, Chiang Mai. **Proceedings**. Bangkok: Kasetsart University Press, 1997. p. 180-186.
- HARTMAN, G. L.; WANG, T. C.; TSCHANZ, A. T. Soybean rust development and the quantitative relationship between rust severity and soybean yield. **Plant Disease**, v. 75, p. 596-600, 1991.

HEAGLE, A. S.; MOORE, M. B. Some effects of moderate adult resistance to crown rust of oats. **Phytopathology**, v. 60, p. 461-466, 1970.

HIKISHIMA, M.; CANTERI, M. G.; GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; SILVA, A. J. D. Quantificação de danos e relações entre severidade, medidas de refletância e produtividade no patossistema ferrugem asiática da soja. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 96-103, 2010.

HU, M.; WIATRAK, P. Effect of planting date on soybean growth, yield, and grain quality: Review. **Agronomy Journal**, v. 104, p. 785-790, 2012.

IVANCOVICH, A. Soybean rust in Argentina. **Plant Disease**, v. 89, p. 667-668, 2005.

KAWUKI, R.S.; ADIPALA, E. TUKAMUHABWA, P. Yield loss associated with soya bean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in Uganda. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 7-12, 2003.

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.

LENZ, G.; BALARDIN, R. S.; MINUZZI, S. G.; TORMEN, N. R.; MARQUES, L. N. Espectro de gotas e idade de trifólios na taxa de absorção e efeito residual de fungicidas em soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1702-1708, 2011.

LEVY, C. Epidemiology and chemical control of soybean rust in Southern Africa. **Plant Disease**, v. 89, p. 669-774, 2005.

MELO, C. L. P. D.; ROESE, A. D. GOULART, A. C. P. Tolerância de genótipos de soja à ferrugem-asiática. **Ciência Rural**, v. 45, p. 1353-1360, 2015.

MENEGHETTI, R. C.; BALARDIN, R. S.; DALLA CORTE, G.; DEBONA, D. Avaliação da ativação de defesa em soja contra *Phakopsora pachyrhizi* em condições controladas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 823-829, 2010.

OHM, J. W.; SHANER, G. E. Three components of slow leaf-rusting at different growth stages in wheat. **Phytopathology**, v. 66, p. 1356-1360, 1976.

PARLEVLIET, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 17, p. 203-222, 1979.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C. A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidoreductase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest management science**, v. 70, n. 3, p. 378-388, 2014.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: World Congress on Computers in Agricultura , 7., 2009, Reno. **Anais...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOARES, R. M.; RUBIN, S. de A. L.; WIELEWICKI, A. P.; OZELAME, J. G. Fungicidas no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e produtividade da soja. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1245-1247, 2004.

TSCHANZ, A. T.; WANG, T. C. Interrelationship between soybean development, resistance, and *Phakopsora pachyrhizi*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF THE SOCIETY FOR THE ADVANCED OF BREEDING RESEARCH IN ASIA AND OCEANIA, 5., 1985. Bangkok. **Proceedings**. Bangkok: Society for the Advanced of Breeding Research in Asia and Oceania, 1985. p. 14-20.

VALLAVIEILLE-POPE, C. de; GIOSUE, S.; MUNK, L.; NEWTON, A. C.; NIKS, R. E.; OSTERGARD, H.; PONS-KUHNEMANN, J.; ROSSI, V.; SACHE, I. Assessment of epidemiological parameters and their use in epidemiological and forecasting models of cereal airborne diseases. **Agronomie**, v. 20, p. 715-727, 2000.

WAHL, I. R. D.; WILCOXSON, R. D.; ROWELL, J. B. Slow rusting of wheat and stem rust detected in the glasshouse. **Plant Disease**, v. 64, p. 54-56, 1980.

YAMAOKA, Y.; FUJIWARA, Y.; KAKISHIMA, M.; KATSUYA, K.; YAMADA, K.; HAGIWARA, H. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of General Plant and Pathology**, v. 68, p. 52-56, 2002.

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

4 CAPÍTULO II – PENETRAÇÃO E DISSIPAÇÃO DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADOS À MANCOZEBE EM CULTIVARES DE SOJA

4.1 Resumo

A atividade de agrotóxicos pulverizados na folha depende da quantidade que atinge o local de ação bioquímico. Assim, a proporção do produto que entra na folha após a deposição, a taxa de entrada e a dissipação no tecido foliar podem ser importantes na determinação da atividade e residual no controle das doenças após a ocorrência de uma lavagem. Através do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar a penetração e dissipação de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados à mancozebe em folhas de duas cultivares comerciais de soja. A concentração dos Ingredientes Ativos (IA) foliares foram determinadas através de análise cromatográfica líquida de alta eficiência. Lavagens artificiais foram utilizadas para determinar a concentração dos IA remanescentes nos tecidos foliares. Para isso, após a pulverização do fungicida, as folhas foram lavadas com água, em diferentes períodos e imediatamente coletadas. No experimento I mensurou-se a concentração de EPOX e PIR às 0,17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h após a pulverização. No experimento II mensurou-se a concentração dos IA de folhas após 12, 16 e 20 dias da pulverização. Através dos experimentos I e II analisaram-se os processos de penetração e dissipação dos IA associados ou não com mancozebe em folhas de planta inteira, além da mensuração do efeito das cultivares sob tais processos. A partir do experimento III verificou-se a influência da interação entre idade de trifólios e cultivares na concentração dos IA em folhas. Percebe-se que mancozebe influencia a persistência de fungicidas IDM e IQo em cultivares de soja. A taxa de penetração de EPOX nas cultivares foi mais rápida sem a associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo). A associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) reduziu a taxa de penetração de PIR na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A concentração de PIR em folhas das duas cultivares às 48 h após a pulverização foi semelhante pela associação ou não do fungicida com mancozebe. As cultivares apresentaram diferentes taxas de penetração dos IA em folhas. Observou-se uma redução das concentrações dos IA nos tecidos foliares após 48 h da pulverização, evidenciando um processo de dissipação dos IA, após esse tempo. A associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) somente influenciou a persistência de PIR aos 16 dias após a pulverização na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A taxa de dissipação de PIR em folhas é diferente entre as cultivares. A penetração dos IA é maior em folhas mais novas do que em folhas velhas. As concentrações de PIR em folhas de soja foram superiores que EPOX nos diferentes tempos de coletas, após a pulverização do fungicida.

Palavras-chave: Penetração de fungicida. Dissipação de fungicida. *Glycine max* L.. *Phakopsora pachyrhizi*. Ferrugem asiática da soja. Ingrediente ativo. Chuva simulada.

CHAPTER II - PENETRATION AND DISSIPATION OF EPOXICONAZOLE AND PYRACLOSTROBIN ASSOCIATED WITH MANCOZEB IN SOYBEAN CULTIVARS

4.2 Abstract

The pesticides activity sprayed on the leaf depends on the amount that reaches the biochemical action site. Thus, the proportion of the product that enters on the leaf after deposition, the rate of entry and dissipation in the leaf tissue, may be important in determining the activity and residual after the occurrence of a wash. The objective of this work was evaluate the penetration and dissipation of epoxiconazole (EPOX) and pyraclostrobin (PYR) associated with mancozeb in leaves of two commercial soybean cultivars. The concentration of foliar Active Ingredients (AI) was determined by high performance liquid chromatographic analysis. Artificial washes were used to determine the concentration of the remaining AI in the leaf tissues. For this, after the spraying of the fungicide, the leaves were washed with water, in different periods and immediately collected. In the experiment I, the concentration of EPOX and PYR was measured at 0.17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h after spraying. In the experiment II, the AI concentration of leaves was measured after 12, 16 and 20 days of the spraying. In the experiments I and II, it was possible to analyze the penetration and dissipation processes of the AI associated or not with mancozeb in leaves of whole plant, besides the measurement of the cultivars effect under such processes. In the experiment III, it was possible to verify the influence of the interaction between leaflets age and cultivars on the concentration of AI in leaves. It was verified that the mancozeb influences the persistence of DMI and QoI fungicides in soybean cultivars. The EPOX penetration rate in the cultivars was faster without the association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI). The association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI) reduced the penetration rate of PYR in DM 6563 RSF IPRO cultivar. The PYR concentration in leaves of the two cultivars at 48 h after spraying was similar by the association or not of the fungicide with mancozeb. The cultivars showed different AI penetration rates in leaves. It was observed a reduction of the AI concentrations in the foliar tissues after 48 h of the spraying, evidencing a dissipation process of the AI, after this time. The association of mancozeb to the fungicide (DMI + QoI) only influenced the persistence of PYR at 16 days after spraying in DM 6563 RSF IPRO cultivar. The dissipation rate of PYR is different between the leaves cultivars. The penetration of the AI is greater in younger leaves than in older leaves. The concentrations of PYR in soybean leaves were higher than EPOX at different sampling times, after the fungicide spraying.

Key words: Fungicide penetration. Fungicide dissipation. *Glycine max* L.. *Phakopsora pachyrhizi*. Asian soybean rust. Active ingredient. Simulated rain.

4.3 Introdução

A atividade de agrotóxicos pulverizados na folha depende da quantidade que atinge o local de ação bioquímico. Assim, a proporção do produto que entra na folha após a deposição, a taxa de entrada e a dissipação no tecido foliar podem ser importantes na determinação da atividade e residual no controle das doenças após a ocorrência de uma lavagem. A eficácia de um agrotóxico pode ser definida pela dose recebida pelo local-alvo ou organismo, modelada como uma função da deposição, retenção, absorção e translocação (ZABKIEWICZ, 2000).

A precipitação pode reduzir a eficácia de agrotóxicos, por lavar o ingrediente ativo depositado na folha, para fora da planta, e também por aumentar sua disponibilidade para o escoamento, e conseqüentemente para o ambiente (REDDY et al., 1994). Uma vez que a perda de ingrediente ativo (IA) pode causar uma perda na eficácia (REDDY et al., 1994; REDDY; LOCKE, 1996), é importante conhecer o comportamento de agrotóxicos em resposta a lavagem das folhas, especialmente quando essa ocorre logo após o tratamento. O tempo decorrido entre os tratamentos e a precipitação afeta profundamente o residual do agrotóxico, mas isto depende de suas propriedades físico-químicas (PICK et al., 1984; SMITH et al., 1981; WILLIS et al., 1992). Dentro desse conceito, a resistência à lavagem pode ser definida como a quantidade de IA que é exposto, mas não removido pela chuva (HUNSCHE, 2006). Com isso, o IA penetrado nas folhas, antes da lavagem não está mais exposto a fatores externos, determinando o residual de controle e eficácia do agrotóxico.

Dentro do manejo integrado de *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow em soja, o controle químico, pela utilização de fungicidas representa a principal medida para controle da doença. No entanto, a utilização de produtos específicos isolados vem apresentando uma redução da eficácia de controle sobre o patógeno (REIS et al., 2015; SILVA et al., 2015) devido à perda de sensibilidade (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016). Os fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo), também conhecidos de triazóis e estrobilurinas respectivamente, atuam em apenas um sítio específico de milhares de reações bioquímicas na célula fúngica. Portanto, eles são vulneráveis à seleção de linhagens do fungo através da redução ou perda de sensibilidade. O Comitê de Ação à Resistência de Fungicidas (FRAC), classifica IDM e IQo como fungicidas de alto risco para o desenvolvimento da resistência e, portanto, não recomendam a sua utilização isoladamente (FRAC, 2010).

Uma maneira de aumentar a eficácia biológica de controle de *P. pachyrhizi* em soja é a associação de fungicidas multissítios, como o mancozebe, com fungicidas sítio-específico

(IDM e IQo). O fungicida de ação multissítio mancozebe possui uma série de atributos-chave que têm contribuído globalmente como ferramenta para o manejo de doenças à base de químicos (GULLINO et al., 2010). Dessa forma, mancozebe representa um produto que pode ser utilizado em estratégias antirresistência de fungos a fungicidas (GENET et al., 2006; GULLINO et al., 2010), contribuindo para a proteção contra a Ferrugem Asiática da Soja (FAS), e podendo ser associado à mistura de IDM e IQo (SILVA et al., 2015).

A interação dos agrotóxicos pulverizados na superfície-alvo ainda continua a ser um dos maiores desafios para a melhoria dos tratamentos fitossanitários. No entanto, informações sobre a taxa de penetração e dissipação de IDM e IQo são importantes especialmente quando associados com mancozebe, em aplicação de planta inteira e em condição de lavagem após a pulverização. A importância reside no fato de que além de determinar a atividade residual no controle das doenças, esses valores raramente estão disponíveis na literatura (LEGIND et al., 2011; FANTKE et al., 2013). O residual de controle também dependerá do metabolismo e da meia-vida de dissipação, nos quais são dados necessários para a avaliação dos produtos na proteção de plantas, quando o destino e modelos de exposição são utilizados (HUMBERT et al., 2007).

Com base no exposto, os objetivos da pesquisa foram:

- (i) investigar a penetração e dissipação de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados com mancozebe (Mz) em cultivares de soja após lavagem;
- (ii) investigar a dissipação de EPOX e PIR associados com mancozebe em cultivares de soja após períodos prolongados da pulverização;
- (iii) avaliar a interação de idade de trifólios e cultivares sobre as concentrações de EPOX e PIR após a pulverização.

4.4 Materiais e Métodos

4.4.1 Experimento I

Crescimento e manejo das plantas

O experimento foi realizado no ano de 2015, em casa de vegetação, com condições parcialmente controladas, no município de Itaara, RS, Brasil. A temperatura foi de $25\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$, sendo a máxima regulada através de exaustores. A umidade relativa do ar foi de $70\% \pm$

15 %. Para a semeadura foram utilizadas sementes de duas cultivares de soja, tratadas com fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metílico (50 + 5 + 45 g i.a. 100 kg⁻¹ de semente, respectivamente), produto comercial Standak Top[®] e inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (0,200 L.p.c. 100 kg⁻¹ de semente do inoculante Bionutri[®]).

A semeadura foi realizada em vasos (5 L) contendo substrato a base de solo + casca de arroz (2:1). As características químicas do substrato: pH (H₂O) – 5,6, saturação por Al – 0,0%, saturação por bases (V) – 85,3%, capacidade de troca catiônica (CTC) pH₇ – 12,9 cmol_c dm⁻³, matéria orgânica – 1,8%, macronutrientes P-Mehlich – 55,3 mg dm⁻³, K – 283,4 mg dm⁻³, Ca – 6,7 cmol_c dm⁻³, Mg – 3,6 cmol_c dm⁻³.

Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2x7, totalizando 28 tratamentos com três repetições. Em cada repetição foi considerado um vaso com duas plantas. O fator A foi composto por duas cultivares de soja, BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO. Para o fator B foi considerado o fungicida, piraclostrobina + epoxiconazol associado ou não à mancozebe. Para o fator C foi considerado sete intervalos de tempo de coleta de trifólios, entre a pulverização do fungicida e a lavagem das folhas com água. Os tempos de coletas foram 0,17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h após a pulverização do fungicida.

O fungicida considerado na pulverização foi piraclostrobina + epoxiconazol, na dose de 79,8 + 30 g i.a ha⁻¹, respectivamente, na sua formulação comercial (0,600 L p.c ha⁻¹ Opera[®], BASF S.A., São Paulo, Brasil) com adição de óleo mineral na dose de 567 g i.a ha⁻¹, na sua formulação comercial (0,750 L p.c ha⁻¹ de Assist[®], BASF S.A., São Paulo, Brasil). Nos tratamentos com a associação dos produtos na calda foi utilizado mancozebe na dose de 1125 g i.a ha⁻¹ (1,5 kg p.c ha⁻¹ na formulação comercial de Unizeb Gold[®], United Phosphorus do Brasil LTDA, São Paulo, Brasil).

Cada repetição foi representada por duas plantas, nas quais foram avaliados os dois trifólios de cada planta (terceiro e quarto trifólio completamente expandido). Para quantificação de resíduo, três replicatas foram realizadas em cada repetição, sendo sua média o valor obtido para cada repetição dentro do tratamento.

Pulverização dos tratamentos

As pulverizações foram realizadas em duas cultivares de soja, que diferem quanto à eficácia de controle de *P. pachyrhizi* frente à mistura dos IA EPOX e PIR, de acordo com os resultados do capítulo I. A pulverização do fungicida foi realizada quando as plantas atingiram o estágio V5 (RITCHIE et al., 1982), quarto trifólio expandido, e a quinta folha trifoliolada aberta de tal modo que os bordos de cada folíolo não se tocam. Utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado à CO₂, dotado de barra com quatro pontas de pulverização do tipo XR 11002 (Teejet Inc., Illinois, EUA). A barra de pulverização foi movida horizontalmente com uma velocidade de 1,39 m s⁻¹, operando a 207 kPa de pressão e calibrada para um volume de 150 L ha⁻¹. A qualidade (espectro de gotas) e quantidade (densidade de gotas) do fungicida pulverizado e depositado às partes vegetais foram através de uma distribuição uniforme e homogênea da quantidade do IA por folha.

Para o exposto, a parte abaxial do terceiro e quarto trifólio foi fixada com fita dupla face em um policloreto de polivinila (PVC) (Figura 1). A fixação do trifólio ocorreu para que, durante a pulverização da solução dos tratamentos, os trifólios permanecessem completamente expostos, de modo que cada folha não se tocasse e recebesse a mesma quantidade de IA por unidade de área. O PVC foi sustentado por estacas metálicas. As coletas de folhas para análise da concentração dos IA basearam-se na retirada do terceiro e quarto trifólio completamente expandido.

A pulverização dos tratamentos na cultivar DM 6563 RSF IPRO foi realizada no dia 29/05 às 11h25. As condições meteorológicas no momento da pulverização foram de temperatura de 25,5 °C e umidade relativa do ar de 58 %.

A cultivar BMX Tornado RR foi pulverizada no dia 30/05 às 09h15. Na ocasião da pulverização, as condições meteorológicas foram de temperatura de 25,2 °C e umidade relativa do ar de 56%. As pulverizações foram realizadas dentro da casa de vegetação.

Após a pulverização, as folhas foram lavadas aos 0,17, 1, 2, 4, 48, 96, 192 h e imediatamente coletadas. Para a lavagem foi utilizada uma pistola pulverizadora elétrica 300 w, marca Schulz Air Plus Spray, capacidade de 750 ml. O jato de água dirigido foi padronizado em ambas as faces da folha. Cada trifólio recebeu 60 ml de água para retirada do produto ainda não penetrado através do tecido foliar. A distância entre a saída do jato de água e a folha foi padronizada em 10 cm.



Figura 1 – Padronização da exposição dos trifólios para a pulverização dos tratamentos.

Extração e quantificação dos Ingredientes Ativos (IA)

Os trifólios de soja foram imediatamente coletados após a lavagem, acondicionados em papel alumínio e levados para freezer -25°C . As amostras foram conservadas até sua análise, para a quantificação dos Ingredientes Ativos (IA). As análises dos resíduos dos IA nas folhas foram realizadas pelo grupo de pesquisa do laboratório CEPARC (Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes, da UFSM), empregando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas tandem (UPLC-MS/MS).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo calibrado modelo Acquity UPLC (Waters, Milford, EUA) equipado com bomba quaternária, sistema de degaseificação, amostrador automático e forno para coluna. A separação foi realizada em uma coluna analítica BEH C_{18} (100 mm x 2,1 mm d.i) com 1,7 μm de tamanho de partícula. Sistema de detecção por espectrômetro de massas modelo Xevo TQS (Waters, Manchester, Reino Unido) equipado com interface de ionização por eletronebulização (ESI) operada no modo positivo, usando monitoramento de reações múltiplas (MRM).

A eluição por gradiente foi realizada empregando fase móvel composta por uma solução de formiato de amônio ($0,3 \text{ g L}^{-1}$) e metanol, eluentes A e B, respectivamente, a uma

vazão de 0,45 mL min⁻¹. O programa do gradiente da fase móvel foi iniciado com 90% do eluente A e levado diretamente a 10% em 7,75 minutos. Manteve-se essa proporção por 0,75 minutos e posteriormente a composição foi levada à composição inicial (90% de A) em 0,01 minutos e manteve-se essa proporção até o final da corrida cromatográfica. O volume de injeção foi de 2 µL no modo “*partial loop with needle overfill*”. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C, assegurando máxima resolução durante a separação.

Os parâmetros aplicados na fonte de íons do espectrômetro de massas foram: voltagem do capilar, 3,0 kV; a voltagem do cone foi previamente estabelecida para cada agrotóxico (Epoxiconazol 35 V e Piraclostrobina 25 V); e temperatura do gás de dessolvatação, 400 °C. A energia de colisão foi 25 eV para a transição de quantificação para ambos os agrotóxicos. Para a transição de confirmação foram aplicados 20 e 12 eV para epoxiconazol e piraclostrobina, respectivamente.

O gás de dessolvatação e do cone de amostragem foram empregados a 500 e 150 L h⁻¹, respectivamente. A dissociação induzida por colisão foi realizada empregando argônio como gás de colisão a 0,15 mL min⁻¹.

Os íons monitorados foram 330,1→120,9 (quantificação) e 330,1→122,9 (confirmação) para epoxiconazol; 388,1→163,0 (quantificação) e 388,1→193,9 (confirmação) para piraclostrobina.

Para controle do instrumento, aquisição e processamento de dados os programas MassLynx e QuanLynx versão 4.1 (Waters) foram empregados.

Análise estatística

Para analisar o efeito dos IA associados ou não com mancozebe e sua interação com a planta, as cultivares foram analisadas separadamente. Primeiramente, para verificar a penetração dos IA em folhas foi analisado os dados das concentrações das folhas coletadas às 0,17, 1, 2, 4 e 48 h, após a pulverização. Para verificar a dissipação dos IA em folhas foram analisadas as concentrações dos IA em folhas, utilizando os dados das coletas 48, 96, 192 h, após a pulverização. No segundo momento foi analisado o efeito das cultivares para a interação dos IA em folhas. Nesse aspecto, as cultivares foram analisadas comparativamente para entender esse efeito.

Os dados obtidos das concentrações dos IA foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a interação entre os fatores bem como suas médias, foram comparadas através do teste de Tukey (5%), calculado através do software ASSITAT, versão 7.6 (SILVA;

AZEVEDO, 2009). Os gráficos foram criados com Excel 2010[®] (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

4.4.2 Experimento II

Crescimento e manejo das plantas

O experimento foi realizado no ano de 2016, em casa de vegetação, com condições parcialmente controladas, no município de Itaara, RS, Brasil. A temperatura foi de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo a máxima regulada através de exaustores. A umidade relativa do ar foi de $70\% \pm 15\%$. Para a semeadura foram utilizadas sementes de duas cultivares de soja, tratadas com fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metílico (50 + 5 + 45 g i.a. 100 kg^{-1} de semente, respectivamente), produto comercial Standak Top[®] e inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (0,200 L.p.c. 100 kg^{-1} de semente do inoculante Bionutri[®]). A semeadura foi realizada em vasos (5 L) contendo o substrato a base de solo + casca de arroz (2:1) com a mesma característica do experimento I.

Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $2 \times 2 \times 3$, totalizando 12 tratamentos com três repetições. Em cada repetição foi considerado um vaso com duas plantas. O fator A foi composto por duas cultivares de soja, BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO. Para o fator B foi considerado um fungicida, associado ou não à mancozebe. O fator C foi composto por três intervalos de tempo de coleta de trifólios entre a pulverização do fungicida e a lavagem das folhas com água. Os tempos de coletas foram 12, 16 e 20 dias após a pulverização.

O fungicida considerado na pulverização foi PIR + EPOX, na dose de $79,8 + 30\text{ g i.a. ha}^{-1}$, respectivamente, na formulação comercial ($0,600\text{ L p.c. ha}^{-1}$ Opera[®], BASF S.A., São Paulo, Brasil), com adição de óleo mineral na dose de $567\text{ g i.a. ha}^{-1}$, na formulação comercial ($0,750\text{ L p.c. ha}^{-1}$ de Assist[®], BASF S.A., São Paulo, Brasil). Nos tratamentos com a associação dos produtos na calda foi utilizado mancozebe na dose de $1125\text{ g i.a. ha}^{-1}$ ($1,5\text{ kg p.c ha}^{-1}$ na formulação comercial de Unizeb Gold[®], United Phosphorus do Brasil LTDA, São Paulo, Brasil).

Cada tratamento apresentou três repetições. A repetição foi representada por duas plantas, nas quais foram avaliados os dois trifólios de cada planta (quarto e quinto trifólio completamente expandido). Para a quantificação da concentração, três replicatas foram realizadas em cada repetição, sendo sua média, o valor obtido para cada repetição dentro do tratamento.

Pulverização dos tratamentos

As pulverizações foram realizadas em duas cultivares de soja, que diferem quanto à eficácia de controle de *P. pachyrhizi* frente à mistura dos IA EPOX e PIR, de acordo com os resultados do capítulo I. A pulverização do fungicida foi realizada quando as plantas atingiram o estágio V6 (RITCHIE et al., 1982), quinto trifólio expandido, e a sexta folha trifoliolada aberta de tal modo que os bordos de cada folíolo não se tocavam. A maneira de pulverização e a exposição dos trifólios foram semelhantes ao experimento I. Utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado à CO₂, dotado de barra com quatro pontas de pulverização do tipo XR 11002 (Teejet Inc., Illinois, EUA). A barra de pulverização foi movida horizontalmente com uma velocidade de 5 km h⁻¹, operando a 207 kPa de pressão e calibrada para um volume de 150 L ha⁻¹.

Para o exposto, a parte abaxial do quarto e quinto trifólio foi fixada com fita dupla face em um policloreto de polivinila (PVC) de maneira similar à Figura 1. A fixação do trifólio ocorreu para que, durante a pulverização da solução dos tratamentos, os trifólios permanecessem completamente expostos, de modo que cada folha não se tocasse e recebesse a mesma quantidade de IA por unidade de área. O PVC foi sustentado por estacas metálicas. As coletas de folhas para análise da concentração dos IA basearam-se na retirada do quarto e quinto trifólio completamente expandido.

A pulverização das cultivares foi realizada no dia 09/12/2015 às 10h00. A condição meteorológica no momento da pulverização foi de temperatura de 26,5 °C e umidade relativa do ar de 70%. As pulverizações foram realizadas dentro da casa de vegetação.

Aos 12, 16 e 20 dias após a pulverização, as folhas foram lavadas de acordo com a metodologia do experimento I. Após lavadas, as folhas foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e levadas para freezer -25°C. As amostras foram conservadas até sua análise, para a quantificação dos IA.

Extração e quantificação dos Ingredientes Ativos (IA)

As concentrações dos IA nas folhas foram mensuradas pelo laboratório do CEPARC (Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes da UFSM). Os resultados do experimento referem-se a amostras de folhas de soja analisadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (UPLC-MS / MS). O método de extração, bem como a quantificação dos IA em folhas foram através da mesma metodologia descrita no experimento I.

Análise estatística

Para analisar o efeito dos IA associados ou não com mancozebe e sua dissipação em folhas, as cultivares foram analisadas separadamente. No segundo momento foi analisado o efeito das cultivares para a dissipação dos IA em folhas. Nesse aspecto, as cultivares foram analisadas comparativamente para entender esse efeito.

Os dados obtidos das concentrações dos IA foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a interação entre os fatores bem como suas médias, foram comparadas através do teste de Tukey (5%), calculado através do software ASSITAT, versão 7.6 (SILVA; AZEVEDO, 2009). Os gráficos foram criados com Excel 2010[®] (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

4.4.3 Experimento III

Crescimento e manejo das plantas

O experimento foi conduzido simultaneamente com o experimento I, em casa de vegetação e nas mesmas condições. Com isso, o estabelecimento e desenvolvimento das plantas até o momento da pulverização foram semelhantes.

Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (2x2), totalizando quatro tratamentos com três repetições. Em cada repetição foi considerado um vaso com duas plantas. O fator A foi composto por duas cultivares de soja

(BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO); Para o fator B foi considerado duas posições de avaliação na planta (3^o – trifólio inferior e 4^o – trifólio superior); O fungicida considerado na pulverização foi a mistura de PIR na dose 79,8 g i.a ha⁻¹ e EPOX na dose de 30 g i.a ha⁻¹ com adição de óleo mineral na dose de 567 g i.a ha⁻¹, na sua formulação comercial de Assist[®] (0,750 L p.c ha⁻¹).

Pulverização dos tratamentos

A pulverização do fungicida em plantas foi realizada da mesma forma que o experimento I. As duas cultivares foram pulverizadas no mesmo momento, no dia 30/05. As condições meteorológicas no momento da pulverização eram de temperatura de 26,5 °C, umidade relativa do ar de 55 %.

As folhas foram lavadas 4h após a pulverização e imediatamente coletadas. Para a lavagem foi utilizada uma pistola pulverizadora elétrica 300 w, marca Air Plus Spray, capacidade de 750 ml. O jato de água dirigido foi padronizado em ambas as faces da folha. Cada trifólio recebeu 60 ml de água para retirada do produto ainda não penetrado através do tecido foliar. Os valores observados de EPOX e PIR referem-se às concentrações dos IA nos tecidos foliares 4 h após a pulverização.

As folhas trifolioladas foram recolhidas após a lavagem e imediatamente envolvidas em papel alumínio para quantificação dos IA. O método de extração, bem como a quantificação dos IA em folhas foram através da mesma metodologia descrita para o experimento I.

Análise estatística

Primeiramente os dados foram analisados para verificar o efeito da idade de trifólios sob a interação dos IA EPOX e PIR em folhas. Na sequência foi analisado o efeito das cultivares sob a interação dos IA em folhas.

Os dados obtidos das concentrações dos IA foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a interação entre os fatores bem como suas médias, foram comparadas através do teste de Tukey (1%), calculado através do software ASSITAT, versão 7.6 (SILVA; AZEVEDO, 2009). Os gráficos foram criados com Excel 2010[®] (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

4.5 Resultados e Discussões

4.5.1 Experimento I

A análise de variância dos dados apresentou efeito significativo para a interação entre cultivares, ingredientes ativos (IA) associados ou não com mancozebe e tempos de coletas após a pulverização, para as concentrações de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) em folhas de soja. Concentrações de EPOX e PIR já foram detectáveis em folhas de soja coletada 0,17 h após a pulverização. As concentrações dos IA em folhas de soja representam a quantidade de IA transferido do depósito pulverizado sobre a superfície da folha para a parte interna da planta.

Os dados de penetração dos IA no tecido foliar da cultivar BMX Tornado RR foram analisados a partir das concentrações de EPOX e PIR nos tempos de coletas 0,17, 1, 2, 4 e 48 h após a pulverização (Figura 2 A,C). As concentrações de EPOX em folhas foram menores nas coletas às 0,17 h e 48 h após a pulverização, quando associado mancozebe ao produto. Dessa maneira, a associação de mancozebe ao produto e após a pulverização sob o tecido vegetal exerce influencia na interação de EPOX e a planta. Gozzo et al. (1988) também verificaram que mancozebe retarda consideravelmente a penetração do fungicida benalaxil através de folhas de uva. A reduzida penetração de epoxiconazol e benalaxil pode ser atribuída a uma alterada partição pela presença do fungicida de contato mancozebe. Alguns fatores podem ser afetados pela interação de duas classes de agrotóxicos, quando aplicados em misturas, dentre eles o processo de penetração, translocação e metabolismo dentro da planta (HARTZLER et al., 2002). Nas coletas realizadas 1, 2 e 4 h após a pulverização não foram observadas diferenças na concentração de EPOX quando da associação com mancozebe. O mesmo foi observado para as concentrações de PIR, que não variaram pela associação ou não de mancozebe, nas coletas às 0,17, 1, 2, 4 e 48 h. Assim, para PIR, a associação de mancozebe ao produto não exerceu influência sobre a interação do IA e a planta após a pulverização sob o tecido vegetal.

Os dados de dissipação dos IA no tecido foliar na cultivar BMX Tornado RR foram analisados a partir das concentrações de EPOX e PIR nos tempos de coletas 48, 96 e 192 h (Figura 2 B,D). As concentrações de EPOX foram semelhantes, nas coletas às 96 e 192 h, independente da associação ou não de mancozebe ao produto. Para PIR, a coleta realizada às 96 h apresentou maior concentração do IA, quando mancozebe foi associado ao produto. No entanto, na coleta às 192 h não foi possível verificar essa diferença na concentração de PIR

pela associação de mancozebe. Percebe-se que a associação de mancozebe ao produto afetou a dissipação de PIR somente às 96 h após a pulverização para a cultivar BMX Tornado RR.

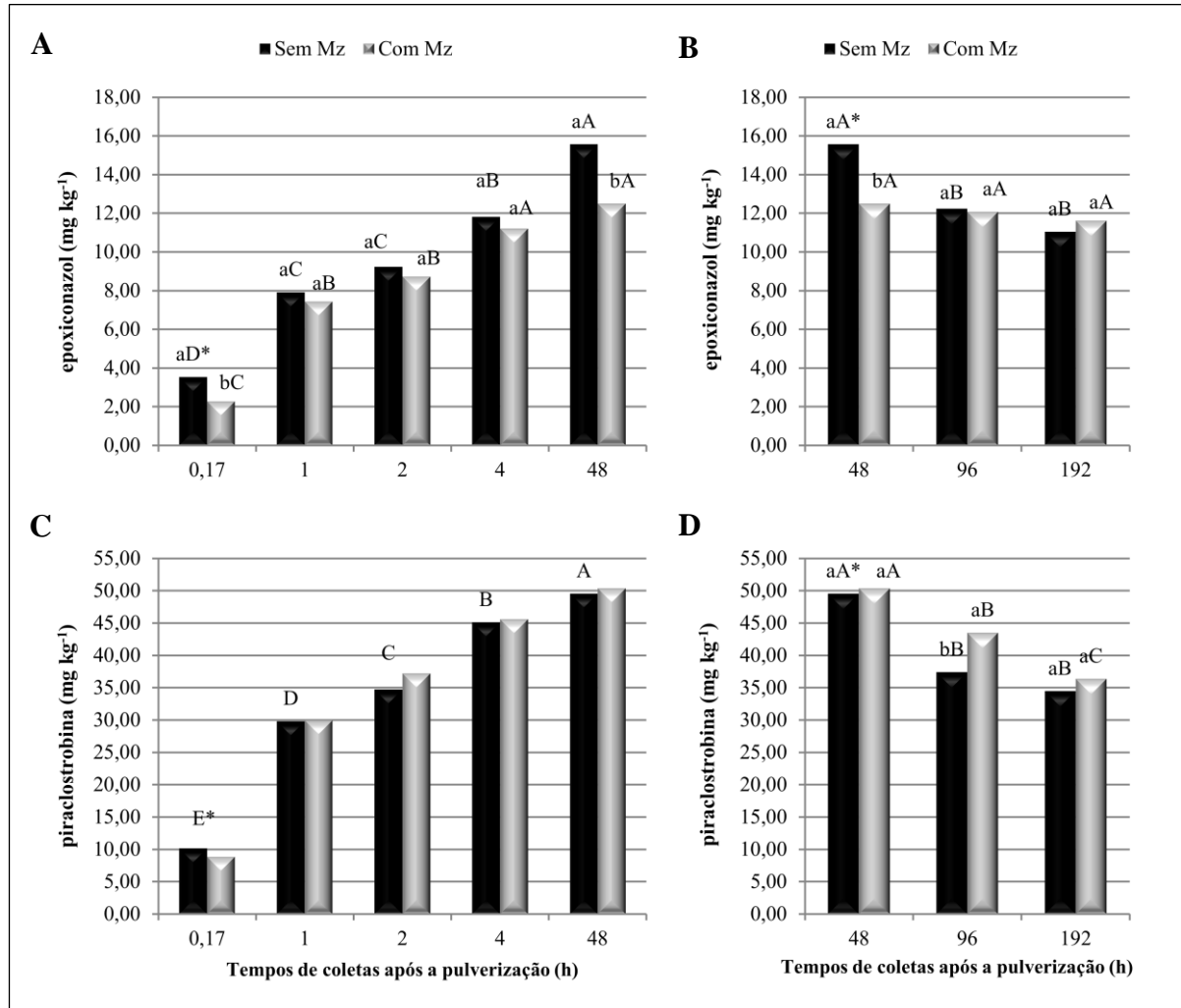


Figura 2 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg⁻¹) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar BMX Tornado RR. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas. *Letras minúsculas, comparação de IA associado ou não com mancozebe em cada combinação de tempos de coletas após a pulverização; letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização em cada combinação de IA associado ou não com mancozebe; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. (A) % = 7,28; C.V. (B) % = 5,36; C.V. (C) % = 4,30; C.V. (D) % = 3,53.

Os dados de penetração dos IA no tecido foliar da cultivar DM 6563 RSF IPRO foram analisados a partir das concentrações de EPOX e PIR nos tempos de coletas 0,17, 1, 2, 4 e 48 h após a pulverização (Figura 3 A,C). As concentrações de EPOX em folhas foram menores nas coletas às 0,17, 1, 4 e 48 h após a pulverização, quando associado mancozebe ao produto. Novamente, vale ressaltar que a menor concentração de EPOX nesses tempos de coletas pode ser atribuída a uma alterada partição nos tecidos foliares pela presença do fungicida de contato mancozebe, assim como visualizado na cultivar BMX Tornado RR. Dessa maneira, entende-se que a associação de mancozebe ao produto reduz a taxa de penetração de EPOX em folhas, após a pulverização sob o tecido vegetal, exercendo influência na interação do IA e a planta. As concentrações de PIR em folhas foram menores nas coletas às 0,17, 1 e 4 h após a pulverização, quando associado mancozebe ao produto. No entanto, na coleta às 48 h não apresentou essas diferenças para a concentração de PIR. Assim, a associação de mancozebe ao produto, reduziu a taxa de penetração também de PIR na cultivar DM 6563 RSF IPRO, mas a concentração final encontrada às 48 h não sofreu influência.

Os dados de dissipação dos IA no tecido foliar da cultivar DM 6563 RSF IPRO foram analisados a partir das concentrações de EPOX e PIR nos tempos de coletas 48, 96 e 192 h (Figura 3 B,D). Na coleta realizada às 96 h após a pulverização, as concentrações de EPOX foram menores quando da associação do mancozebe ao produto. No entanto, na coleta às 192 h as concentrações de EPOX foram semelhantes, independente da associação ou não de mancozebe ao produto. Para PIR, a coleta realizada às 96 h apresentou concentrações semelhantes do IA, quando mancozebe foi associado ao produto. No entanto, na coleta às 192 h foi possível verificar maiores valores na concentração de PIR pela associação de mancozebe. Percebe-se que a associação de mancozebe ao produto influenciou a persistência dos IA nos tecidos foliares, reduzindo em parte, a taxa de dissipação de EPOX e PIR em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO. De acordo com Gozzo et al. (1988), mancozebe poderá influenciar a dissipação de um produto no interior da folha, quando utilizado em associação. Os autores verificaram que a dissipação de benalaxil dentro das folhas de uva foi um pouco menor quando aplicado em mistura com mancozebe, do que quando foi aplicado separadamente. O autor relata que um produto da decomposição de mancozebe poderá atuar como inibidor da enzima oxidase em folhas. Essa inibição poderá resultar em menor ataque enzimático ao benalaxil, resultando em maiores concentrações nas folhas.

Há evidência de que a persistência de agrotóxicos em plantas pode ser alterada quando utilizados em combinação com outros. Segundo Van Eerd et al. (2003), alguns agrotóxicos

podem estimular ou prejudicar a ação do complexo enzimático P-450, que é responsável por uma das fases de metabolismo destes em plantas. Os inseticidas organofosforados e os herbicidas ALS são degradados pelo mesmo sistema enzimático em plantas de milho (HARTZLER, 2000). Se o inseticida organofosforado estiver presente na planta de milho no momento da aplicação do herbicida, a taxa de metabolização do herbicida pode ser reduzida (HARTZLER, 2000). Sugere-se que, através da associação de fungicidas também poderá ocorrer diferentes taxa de metabolização na planta.

Informações sobre a persistência de fungicidas em plantas são escassos, principalmente quando há associação de produtos em tanque de pulverização, embora elas estejam no cotidiano e façam parte da realidade de campo. Nesse sentido, estudos deveriam ser conduzidos para melhorar a compreensão da persistência dos fungicidas em plantas. Existem informações que chegam ao produtor, as quais têm origem incerta e carecem de confiabilidade (RAMOS; ARAUJO, 2006).

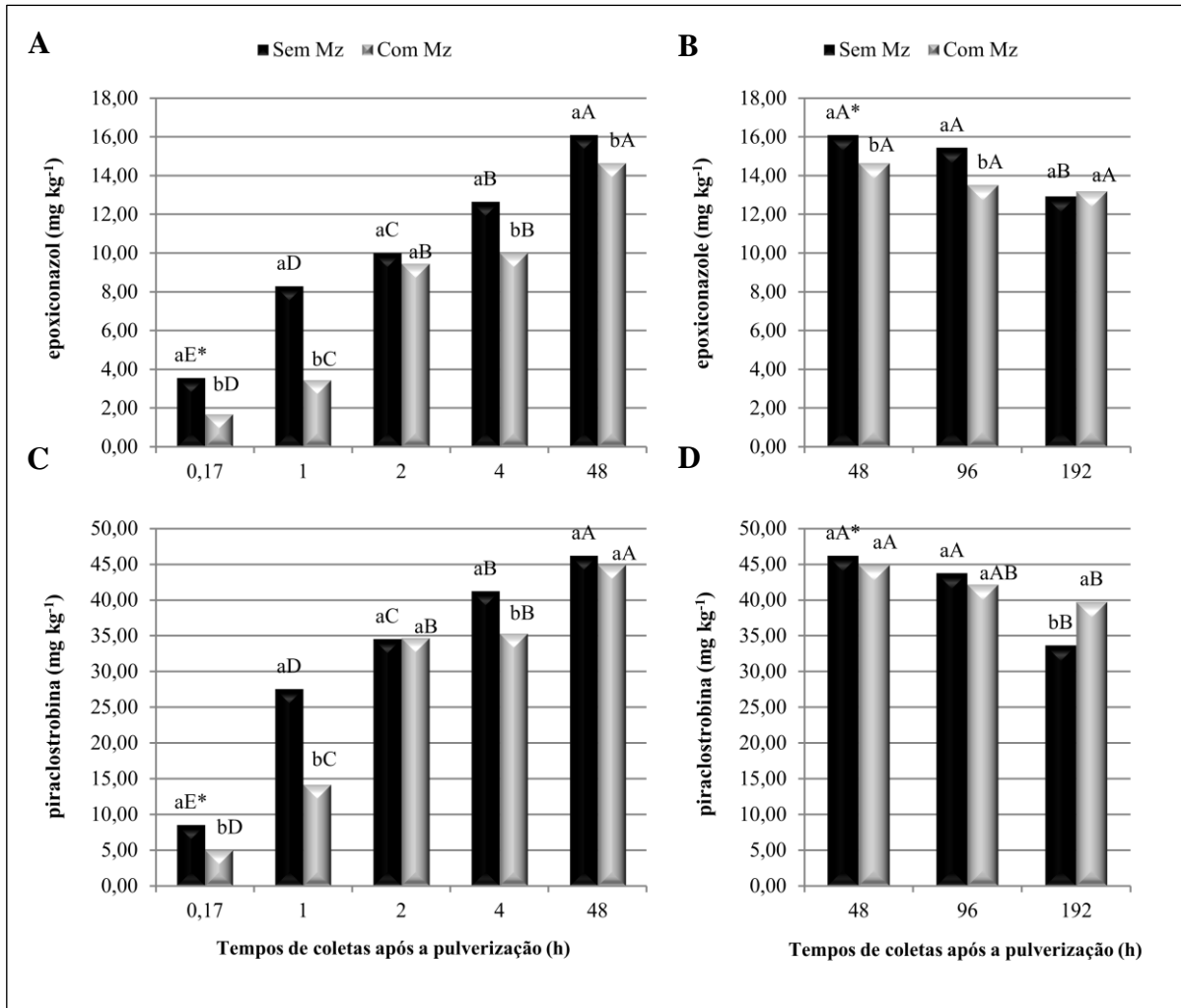


Figura 3 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas. *Letras minúsculas, comparação de IA associado ou não com mancozebe em cada combinação de tempos de coletas após a pulverização; letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização em cada combinação de IA associado ou não com mancozebe; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. (A) % = 6,73; C.V. (B) % = 4,75; C.V. (C) % = 4,59; C.V. (D) % = 4,29.

As cultivares apresentaram diferenças significativas na interação produto e a planta. Para entender esse efeito, as médias dos IA associados e não com mancozebe foram comparadas entre as cultivares. Houve efeito significativo para a taxa de penetração de EPOX e PIR entre as cultivares (Figura 4 A, C) e para a taxa de dissipação de PIR entre as cultivares (Figura 4 D).

A cultivar DM 6563 RSF IPRO apresentou maior concentração de EPOX em folhas nas coletas realizadas 2 e 48 h após a pulverização em relação a cultivar BMX Tornado RR

(Figura 4 A). A cultivar BMX Tornado RR apresentou maior concentração de PIR nas coletas 0,17, 1, 4 e 48 h, o que indica maior taxa de penetração desse IA em folhas desta cultivar (Figura 4 C). As cultivares apresentam parâmetros morfológicos e fisiológicos que distinguem uma cultivar da outra. A distinguibilidade de uma cultivar refere-se à diferença clara de qualquer outra cultivar cuja existência na data do período de proteção seja reconhecida (GRILLI, 2005). A cutícula adaxial e as epidermes adaxial e abaxial são significativamente mais espessas em *Coffea racemosa*, enquanto o parênquima lacunoso é maior em folhas de *C. arábica* (RAMIRO et al., 2004). Sugere-se que as cultivares de soja também podem apresentar diferenças na sua morfologia foliar, o que poderá ter influência nas diferentes taxas de penetração dos IA em folhas.

A cutícula é importante para a proteção dos tecidos vivos das plantas contra a perda de água (SCHÖNHERR, 1982), mas constitui-se também em uma barreira para a penetração de agrotóxicos aplicados via foliar (HEREDIA et al., 1998). Ela é a principal via de penetração dos agrotóxicos, o que torna o seu conhecimento de importância fundamental nos estudos de penetração desses compostos (PROCÓPIO et al., 2003). A composição química do revestimento cuticular é variada, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. A quantidade e a composição da cera epicuticular variam com a espécie e com a variedade (FERREIRA et al., 2005). Sugere-se que as cultivares de soja também podem apresentar quantidade e/ou composição distinta na cera epicuticular, o que poderá ter influência nas diferentes taxas de penetração dos IA. Ferreira et al. (2005) relataram que a cera da cultivar de cana de açúcar sensível à mistura dos herbicidas trifloxysulfuron-sodium + ametryn apresentou menor número de componentes químicos e predominância de ésteres graxos de cadeia mais curta que os encontrados nos demais cultivares, bem como pequena proporção de esteróides e hidrocarbonetos. Nas cultivares com média sensibilidade à mistura dos herbicidas, a cera apresentou maior proporção de hidrocarbonetos e esteroides.

As cultivares não apresentaram diferenças na taxa de dissipação de EPOX (Figura 4 B). Os dados mostraram redução da concentração dos IA após às 48 h da pulverização, o que evidencia a dissipação do fungicida na folha. Existem enzimas que apresentam a capacidade de metabolizar diversos agrotóxicos, proporcionando a desintoxicação das plantas (MANNERVIK; DANIELSON, 1988). Dentre as enzimas, está a glutathione S-transferase, que catalisa a conjugação de glutathione (GSH) a uma variedade de substratos hidrofóbicos e eletrofílicos, geralmente tóxicos no citoplasma (WILCE; PARKER, 1994; KREUZ et al., 1996), produzindo conjugados solúveis em água de agrotóxicos, o que reduz sua toxicidade (COLE, 1994; KREUZ et al., 1996).

Analisando as concentrações de PIR em folhas das duas cultivares de soja, pode-se observar diferenças na concentração do IA no tecido foliar 96 h após a pulverização (Figura 4 D). O resultado apontou que a taxa de dissipação de PIR é diferente entre as cultivares. Cataneo et al. (2003) relataram que as cultivares podem apresentar distinta taxa de absorção, translocação, metabolização e/ou conjugação dos herbicidas na planta. Sugere-se que as diferentes cultivares podem apresentar diferenças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que poderão influenciar a dissipação do fungicida na planta. Faria et al. (2013) encontram menores valores de condutância estomática (gs) e taxa transpiratória (E) da cultivar de cana de açúcar SP 81- 3250 em relação a cultivar RB 867515. Os processos fisiológicos das cultivares de soja também poderão ser diferentes, o que poderá ter influenciado a dissipação do fungicida.

A interação produto-planta depende de uma série de fatores, que influenciam a eficácia do controle químico. Dessa maneira, a cultivar e a associação de produtos são fatores que devem ser analisados antes da aplicação, nas quais afetarão a interação do produto e a planta e conseqüentemente o controle das doenças. Estudos também mostram que a condição hídrica da planta no momento da pulverização (STEFANELLO et al., 2016a) e as condições climáticas, nos diferentes horários de aplicação também influenciam a interação do produto e a planta, que afetará o controle químico (STEFANELLO et al., 2016b).

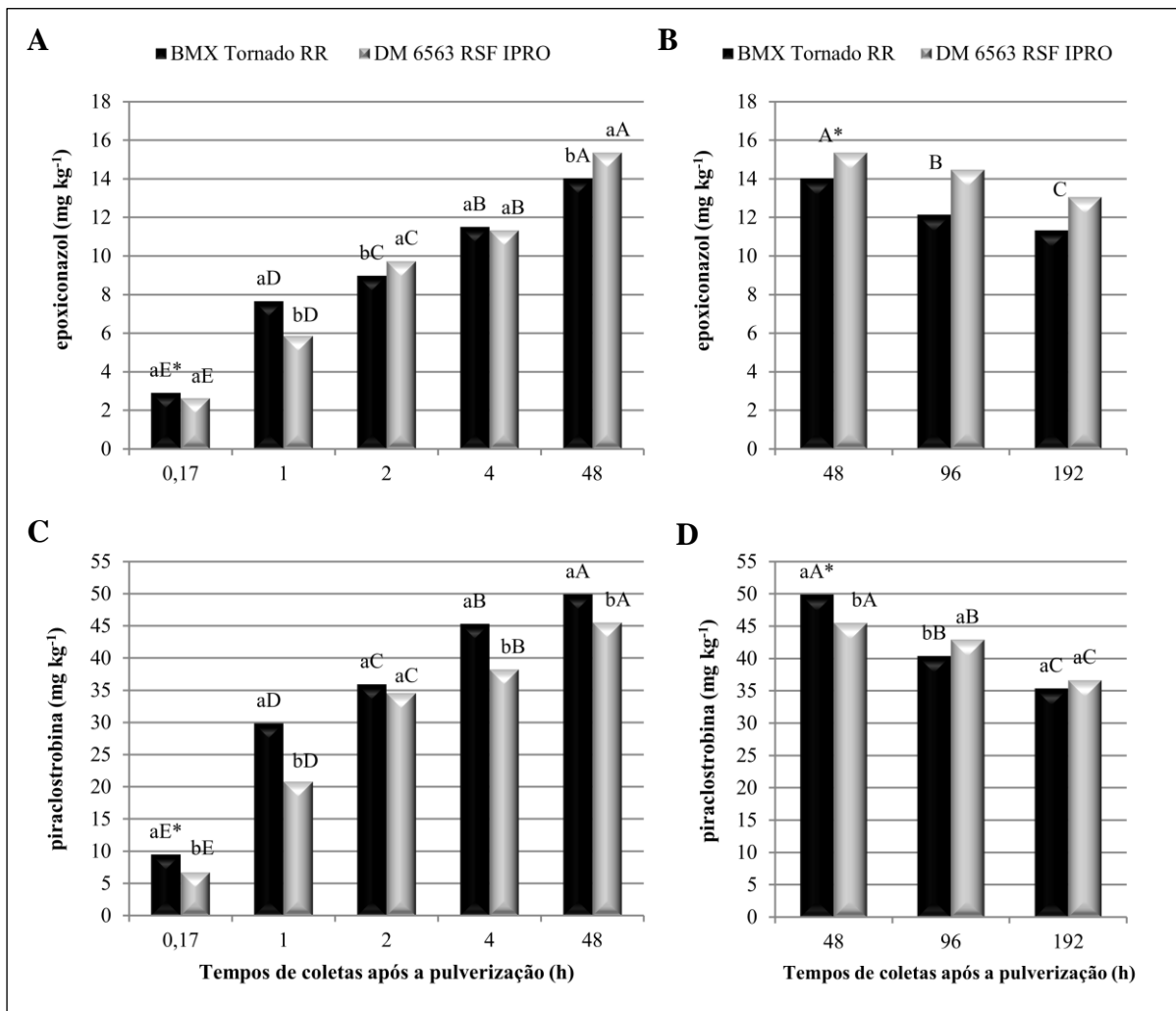


Figura 4 – Concentração da média dos ingredientes ativos (IA) associados e não com mancozebe (Mz) (mg kg^{-1}) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR. Concentrações de epoxiconazol (EPOX) (A) e piraclostrobina (PIR) (C) que indicam penetração em folhas. Concentrações de EPOX (B) e PIR (D) que indicam dissipação em folhas. *Letras minúsculas, comparação de cultivares em cada combinação de tempos de coletas após a pulverização; letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização em cada combinação de cultivar; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. (A) % = 7,01; C.V. (B) % = 5,04; C.V. (C) % = 4,44; C.V. (D) % = 3,92.

O efeito negativo da lavagem esteve diretamente ligado ao intervalo entre a pulverização e a ocorrência dela. Quando a lavagem ocorreu aos 0,17, 1, 2, 4 e 48 h após a pulverização do fungicida, a remoção dos IA da superfície foliar foi diminuindo com o passar do tempo, ao passo que a concentração dos IA foi aumentando, atingindo seu máximo de concentração. Pode-se dizer que uma vez no interior do tecido foliar, os IA são menos suscetíveis à lavagem. A velocidade com que os fungicidas sistêmicos penetram e translocam nos tecidos deve-se às suas propriedades físico-químicas. Entre as propriedades físicas que

influenciam a penetração foliar dos IA, o particionamento octanol-água ($\log K_{ow}$) é frequentemente considerado o parâmetro fundamental para a penetração da cutícula e redistribuição (KIRKWOOD, 1999; WANG; LIU 2007). Epoxiconazol apresenta um valor de 3,44, enquanto que piraclostrobina apresenta um valor de 3,99 (TOMLIN, 2003). Bromilow e Chamberlain (1989) afirmam que a sistemicidade de compostos podem ser previstos pela lipofilicidade, e que os compostos com valores $\log K_{ow}$ acima de 3 apresentam dificuldade de se mover em plantas.

Os IA foram removidos da superfície de folhas das duas cultivares de soja através da lavagem das 0,17 h após a pulverização (Figura 4). Os dados foram verificados através da média dos IA associados e não com mancozebe. As concentrações removidas em folhas da cultivar BMX Tornado RR pela lavagem às 0,17 h após a pulverização foram de 79,2 e 80,9% de EPOX e PIR, respectivamente, quando comparado ao máximo das concentrações visualizadas às 48 h no tecido foliar. Em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO, a remoção de EPOX e PIR foram de 82,9 e 85,1 %, respectivamente, pela lavagem às 0,17 h após a pulverização. A chuva logo após a pulverização exerce grande efeito na remoção dos IA pulverizado em folhas. A ocorrência de chuva pode afetar a estrutura e atividade do produto pela sua diluição, redistribuição, remoção física ou ainda pela remoção dos tecidos (THACKER; YOUNG, 1999).

Por um lado, os dados apontam que grande parte dos IA são removidos pela lavagem 0,17 h após a pulverização. Por outro lado, os dados revelam que parte dos IA são prontamente penetrados através dos tecidos foliares após a pulverização, não sendo removidos pela lavagem. Lenz et al. (2011) mostraram que parte do IA aplicado é prontamente penetrado pelos tecidos foliares da planta logo após o contato com eles, mesmo com a ocorrência de chuva imediatamente após a pulverização. No entanto, os autores avaliaram indiretamente a taxa de penetração do fungicida através da análise indireta pelo aparecimento da primeira pústula de *P. pachyrhizi*. O nosso experimento analisou a taxa de penetração através da análise direta, pela quantificação dos IA nos tecidos foliares através de análise cromatográfica líquida de alta eficiência.

O estudo conduzido expressou que o método de lavagem foi verdadeiramente eficiente, removendo os IA ainda não difundidos através da folha. Melo et al. (2015) mostram que apenas 5 mm de chuva é suficiente para a remoção de depósito de clorantniliprole ainda não penetrado através de superfícies foliares de trigo e milho. Hunsche et al. (2007) relataram uma perda de até 90% de mancozebe aplicado e posteriormente lavado a partir de mudas de

maçã. Wauchope et al. (2004) relataram que muitos agrotóxicos insolúveis foram relativamente laváveis, com perdas variando de 50% a 80%.

A concentração dos IA foi aumentando com o passar do tempo, atingindo seu máximo às 48 h após a pulverização. A penetração de EPOX e PIR foi mais rápida nos primeiros intervalos de tempo (Figura 4). Analisando a concentração, na média dos IA associados e não com mancozebe, pode-se verificar que 54,7 e 59,9% da concentração de EPOX e PIR, respectivamente, foram encontradas 1 h após a pulverização em folhas da cultivar BMX Tornado RR, comparado com o máximo da concentração visualizado às 48 h. Para a cultivar DM 6563 RSF IPRO, as concentrações de EPOX e PIR foram de 38,2 e 45,8%, respectivamente, 1 h após a pulverização. Uma concentração considerável dos IA no tecido foliar foram observados 1h após a pulverização. A dose inicial do ativo na superfície da folha é maior em períodos iniciais após a pulverização, facilitando a difusão para o interior da folha (FORSTER et al., 2006). A absorção de massa de 2-deoxy-D-glucose (DOG), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) e epoxiconazol {(2RS,3SR)-1-[3-(2-chlorophenyl)-2,3-epoxy-2-(4-fluorophenyl)propyl]-1H-1,2,4-triazole} na presença dos agentes surfactantes demonstraram que a dose inicial do agrotóxico (em nmol mm^{-2}) aplicado na folhagem da planta foi uma determinante forte e positiva de absorção (FORSTER et al., 2006).

A remoção dos IA em folhas foram reduzindo pela lavagem às 2 e 4 h após a pulverização (Figura 4). Os dados mostram que 4 h após as pulverizações, 82,1 e 90,8 % de EPOX e PIR, respectivamente, já são penetrados através do tecido foliar na cultivar BMX Tornado RR, comparada com a concentração observada às 48 h. Para a cultivar DM 6563 RSF IPRO, as concentrações de EPOX e PIR foram de 73,7 e 84,9 %, respectivamente, 4 h após a pulverização, comparada com a concentração visualizada às 48 h. Os dados revelam que mesmo uma lavagem 4 h após a pulverização pode remover parte dos IA ainda não penetrados nos tecidos foliares. Reddy e Locke (1996) já mencionaram os efeitos das características de superfície da folha para a retenção de pulverização com imazaquin em duas espécies de plantas daninhas, mas não proporcionaram detalhada discussão. É necessária uma investigação mais detalhada para esclarecer o mecanismo de penetração de agrotóxicos em folhas de soja, especialmente pela utilização de fungicidas.

Analisando as duas cultivares, pode-se notar redução das concentrações de EPOX e PIR às 96 e 192 h nos tecidos foliares, quando comparados aos valores de 48 h (Figura 2 B, D e Figura 3 B, D). Os dados revelam que, a partir de 48 h após a pulverização, os IA são dissipados pela planta. Jacobsen et al. (2015) relataram a meia vida de agrotóxicos em plantas através de modelos que indicam os processos de dissipação de produtos químicos. A diferença

entre o empírico e as taxas de perdas calculadas representa uma degradação dentro das plantas, quer por transformação enzimática ou por fotólise. O crescimento das plantas também é um processo de dissipação, que leva a concentrações mais baixas por diluição (JACOBSEN et al., 2015). Os autores complementam que o processo de dissipação eficiente é quando os agrotóxicos são aplicados durante a fase de crescimento exponencial. Komossa et al. (1995) verificaram o metabolismo de agrotóxicos em culturas de células em suspensão de soja e trigo. Nesses testes, a degradação foi rápida, sendo muitas vezes vista dentro de curtos períodos de tempo. Por exemplo, mais de 90% do herbicida 2,4-D foi degradado em metabólitos principalmente polares dentro de 48 h por células de trigo (KOMOSSA et al., 1995).

As concentrações mais baixas nos tecidos foliares as 96 e 192 h, deve-se também as propriedades tóxicas dos IA fungicidas em células de plantas. Preez e Caldwell (2004) verificaram fitotoxicidade em folhas de soja pela aplicação de epoxiconazol + piraclostrobina pela má formação de folhas, com ligeira redução de estatura. Alguns relatórios apontaram que a aplicação de fungicidas tem consequências sobre a fisiologia das plantas, tais como redução de crescimento, perturbação do desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, alterações do metabolismo do nitrogênio, e/ou do carbono, devido às propriedades tóxicas dos IA (SALADIN et al., 2003). Estas características fisiológicas são fundamentais para as plantas, e é refletida por ambas, taxa fotossintética e mobilização de reservas de carboidratos (PETIT et al., 2008). Através das alterações morfológicas e fisiológicas causadas pelo uso de fungicidas, as plantas precisam remover e/ou metabolizar esses compostos potencialmente tóxicos para se proteger, levando-os a concentrações mais baixas no tecido foliar, após a aplicação.

As células das plantas são capazes de remover um grande número de compostos potencialmente tóxicos a partir do citoplasma (ECKARDT, 2001). O autor ainda cita que os compostos são sequestrado em vacúolos ou transportado para a parede celular. Sandermann (1992) ainda demonstra que o metabolismo dos compostos tóxicos pela planta podem ser realizado pelo citocromo P450 e glutathione-transferases que estão envolvidos nas duas primeiras fases de desintoxicação de um número de hidrocarbonetos policlorados e policíclicos e agrotóxicos relacionados, bem como as toxinas endógenas. Existe uma boa evidência que os transportadores da super-família ABC (transportadores multi drogas) estão envolvidos no transporte de conjugados de glutathione em células de plantas (REA et al., 1998; THEODOULOU, 2000).

A biotransformação de agrotóxicos pode ocorrer através de múltiplos processos conhecidos como metabolismo. Transformação enzimática, que é principalmente o resultado

de processos bióticos mediados por plantas e microorganismos, é a principal via de desintoxicação e metabolismo de agrotóxicos na vegetação (VAN EERD et al., 2003). Uma vez nas partes internas de plantas, um agrotóxico pode ser metabolizado através de sistemas enzimáticos internos. Tais transformações biológicas, que envolvem enzimas como catalisadores, frequentemente trazem grandes modificações na estrutura e propriedades toxicológicas dos poluentes. Plantas geralmente metabolizam agrotóxicos para compostos conjugados solúveis em água e resíduos ligados, que são menos ou não tóxicos, podendo ficar na planta (HATZIOS, 1991). Através desse conhecimento, pode ser entendido a menor concentração de EPOX e PIR às 96 e 192 h após a pulverização.

A análise comparativa entre as concentrações dos IA em folhas apresentou resposta superior de PIR, comparada com EPOX em todas as coletas. Isso demonstra que a penetração e/ou a retenção de PIR é superior que EPOX em folhas das duas cultivares de soja. Cada composto ou formulação necessitará de experimentos separados para determinar suas propriedades e sua influência na interação com a planta (HUNSCHE et al., 2007). Duas hipóteses podem explicar este fato. A primeira hipótese é que a concentração de PIR (133 g L^{-1}) no produto Opera[®] é maior que EPOX (50 g L^{-1}). A maior concentração de PIR favorece a difusão para o interior da folha devido à diferença de concentração na superfície da folha tratada em relação ao interior do tecido vegetal. Forster et al. (2004) encontraram que a dose inicial foi determinante positiva para a penetração de todas as formulações de agrotóxicos estudados ao longo de um amplo intervalo de concentração, mesmo quando eles excederam as concentrações normais de operação. Os adjuvantes, o tipo de formulação, a proporção de IA por adjuvante, a estrutura química e física da cutícula, a dispersão da gota na superfície foliar, o tempo de secagem e a concentração de IA na gotícula de pulverização estão entre os muitos parâmetros de aplicação que influenciam a penetração do IA (WHITE et al., 2002; STOCK, 1996; FORSTER et al., 2006; RIEDERER; FRIEDMANN, 2006; ZABKIEWICZ, 2007; SCHÖNHERR; BAUR, 1994; STOCK et al., 1993).

A segunda hipótese que explica a maior penetração e/ou retenção na cutícula de folhas de soja de PIR em relação ao EPOX é que o $\log K_{ow}$ de PIR ($\log K_{ow} = 3,99$) é maior que EPOX ($\log K_{ow} = 3,44$) (TOMLIN, 2003). A lipofilicidade, pelos maiores valores de $\log K_{ow}$, esta entre as principais propriedades físico-químicas que explica a tendência dos IA serem retidos na superfície do tecido graxo da planta, que favorece a partição no interior das células vegetais (FUJISAWA et al., 2002). Wang e Liu (2007) consideraram a lipofilicidade crítica para a penetração foliar, por sua influência no movimento transcuticular. A penetração de IA é influenciada por suas características de solubilidade, como indicado pelos coeficientes de

partição octanol/água ($\log K_{ow}$) e cutícula/água ($\log K_{cw}$). Penetração de compostos hidrofílicos (baixo $\log K_{ow}$) pode ser melhorada pela hidratação da cutícula, enquanto que o transporte de solutos transcuticulares apolares (alto $\log K_{ow}$) é aumentada por fatores que reduzem a viscosidade da cera (KIRKWOOD, 1999).

A associação de mancozebe com outros fungicidas sítio-específico em tanque de pulverização é uma prática comum em sistemas de produção e orientada para o rendimento, sustentabilidade do cultivo e dos IA. Mancozebe é normalmente incluído em misturas como um ferramenta para ajudar com a gestão de resistência e de alargar o espectro do produto frente às doenças (GULLINO et al., 2010). Eventualmente, o conhecimento obtido a partir deste estudo de investigação permite a compreensão da persistência de EPOX e PIR em soja associados ou não ao mancozebe, após a ocorrência de uma lavagem. A associação desses produtos pode tornar-se parte do controle químico, dentro do manejo integrado das doenças. Neste estudo, a relação sugerida não é sem incertezas e é baseado apenas em dois IA associados com mancozebe. Finalmente, tem que salientar que os resultados são destinados a mais eficiente gestão da doença e sustentabilidade não somente do cultivo, mas também dos agrotóxicos registrados.

4.5.2 Experimento II

A análise de variância dos dados apresentou efeito significativo para a interação entre ingredientes ativos (IA) associados ou não com mancozebe e tempos de coletas após a pulverização, somente para as concentrações de PIR em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO. Os fatores IA associados ou não com mancozebe e tempos de coletas após a pulverização foram desdobrados dentro de cada cultivar. No primeiro momento, as cultivares foram analisadas separadamente. A Figura 5 apresenta as concentrações dos IA para a cultivar DM 6563 RSF IPRO e a Figura 6 apresenta as concentrações dos IA para a cultivar BMX Tornado RR.

A concentração de PIR na cultivar DM 6563 RSF IPRO aos 16 dias após a pulverização foi menor quando mancozebe foi associado ao produto (Figura 5). No entanto, aos 12 e 20 dias após a pulverização, as concentrações de PIR em folhas foram semelhantes pela associação ou não de mancozebe ao produto.

A análise de variância dos dados não apresentou efeito significativo para a interação entre IA associados ou não com mancozebe e tempos de coletas após a pulverização, para as concentrações de EPOX em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO (Figura 5) e BMX

Tornado RR (Figura 6) e para as concentrações de PIR em folhas da cultivar BMX Tornado RR. Assim, a associação de mancozebe em calda de pulverização com o produto Opera[®] somente influenciou a persistência de PIR aos 16 dias após a pulverização na cultivar DM 6563 RSF IPRO. De acordo com Gozzo et al. (1988), mancozebe poderá influenciar a dissipação de um produto no interior da folha, quando utilizado em associação. Os autores verificaram que a dissipação de benalaxil dentro das folhas de uva foi um pouco menor quando aplicado em mistura com mancozebe, do que quando foi aplicado separadamente. O autor relata que um produto da decomposição de mancozebe poderá atuar como inibidor da enzima oxidase em folhas. Essa inibição poderá resultar em menor ataque enzimático ao benalaxil, resultando em maiores concentrações nas folhas.

Na medida em que os tempos de coletas ficaram mais longevos após a pulverização, menores foram as concentrações de EPOX e PIR em folhas das cultivares. Dessa maneira, os dados revelam novamente que os IA em folhas são dissipados após a pulverização. Sugere-se para os próximos estudos, avaliar a partir de que concentração dos IA em folhas não é possível controlar mais as doenças. Esses resultados proporcionarão estimativas do residual de controle das doenças, contribuindo para a maior eficácia do controle químico em plantas.

Analisando as concentrações dos IA EPOX e PIR na cultivar DM 6563 RSF (Figura 5) e na cultivar BMX Tornado RR (Figura 6), pode-se relatar que existe IA nos tecidos foliares aos 12, 16 e 20 dias após a pulverização. No entanto, os dados do experimento do capítulo I apontam um residual efetivo de controle de *Phakopsora pachyrhizi* pelos IA EPOX + PIR de no máximo cinco dias. Por um lado, os dados sugerem que não falta IA no tecido foliar de ambas as cultivares. Por outro lado, o estudo sugere novamente, uma redução do residual de controle de *P. pachyrhizi* pelo uso de EPOX + PIR, possivelmente, devido à adaptação da mistura de esporos utilizados na investigação. Tomados em conjuntos, os dados mostram que a população brasileira de *P. pachyrhizi* é menos sensível para algumas misturas de IDM e IQo (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016). A análise de CYP51 em *P. pachyrhizi* revelou que as mutações pontuais e sobre-expressão estão envolvidas na redução de sensibilidade a EPOX (IDM) (SCHMITZ et al., 2014). Mutações no alvo do gene citocromo b (cyt b) pode resultar na redução da sensibilidade para os fungicidas IQo, devido à redução na afinidade de ligação do fungicida em virtude da mudança na sequência do aminoácido (KLOSOWSKI et al., 2016).

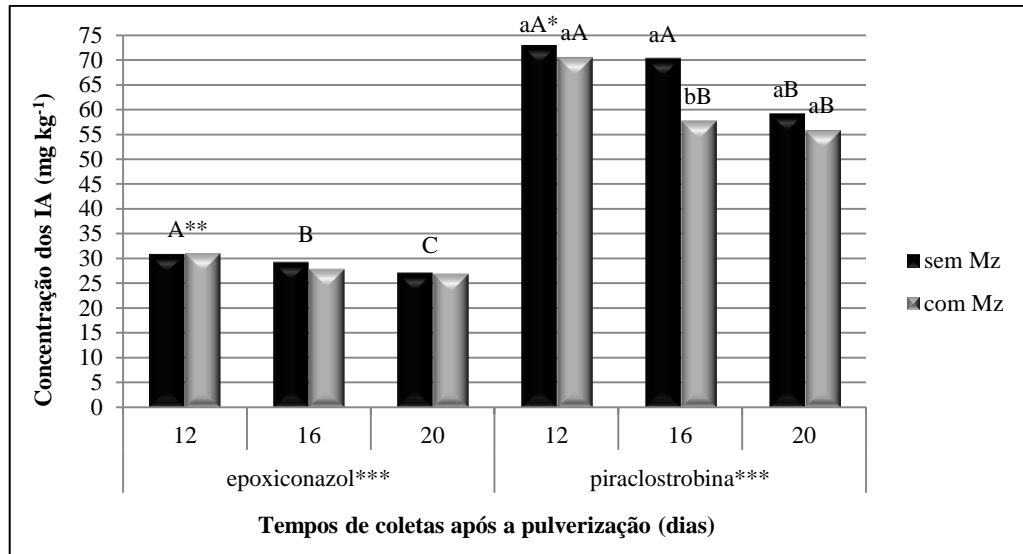


Figura 5 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados e não com mancozebe (Mz) em folhas da cultivar DM 6563 RSF IPRO em tempos de coletas após a pulverização. *Letras minúsculas, comparação de IA associado ou não com mancozebe em cada combinação de tempos de coletas após a pulverização; letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização em cada combinação de IA associado ou não com mancozebe; **Letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização na combinação das médias dos IA associado e não com mancozebe; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). *** Os IA foram analisados separadamente. C.V. (EPOX) % = 2,77; C.V. (PIR) % = 3,11.

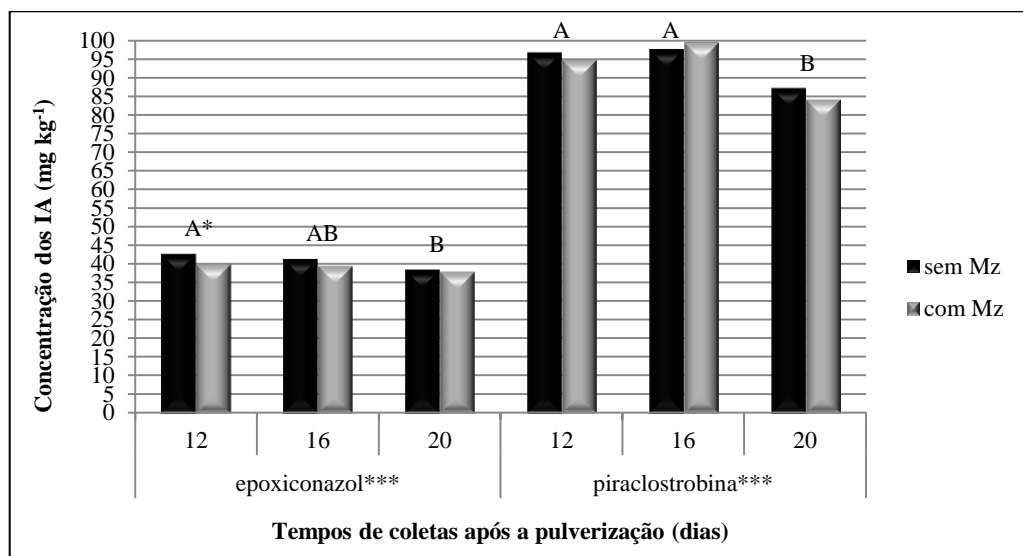


Figura 6 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associados e não com mancozebe (Mz) em folhas da cultivar BMX Tornado RR em tempos de coletas após a pulverização. *Letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização na combinação das médias dos IA associado e não com mancozebe; médias seguidas pela mesma maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). **Os IA foram analisados separadamente. C.V. (EPOX) % = 4,11; C.V. (PIR) % = 5,88.

As cultivares apresentaram diferenças significativas na interação do produto e a planta. Para entender esse efeito, as médias dos IA associados e não com mancozebe foram comparadas entre as cultivares. Para o IA EPOX, a análise de variância dos dados revelou efeito significativo somente para o fator cultivar. Para PIR, a análise de variância dos dados apresentou efeito significativo para a interação entre cultivares e tempos de coletas após a pulverização.

Na média dos dados de concentração de EPOX em folhas, a cultivar BMX Tornado RR apresentou maior concentração do IA (Figura 7). As concentrações de PIR em tecidos foliares também foram maiores na cultivar BMX Tornado RR, em todos os tempos de coletas após a pulverização (Figura 8). O resultado aponta que a taxa de dissipação de PIR é diferente entre as cultivares. Esse resultado corrobora com os apresentados no experimento 1.

A dissipação de agrotóxicos em plantas reduzem a concentração do IA em tecidos foliares. Os agrotóxicos são considerados compostos estranhos para a planta. Assim, as plantas necessitam remover esses compostos tóxicos do interior da célula (ECKARDT, 2001). Transportadores multidrogas formam uma grande classe de proteínas membranares presentes nas células da maioria dos organismos. Estas proteínas se ligam a uma variedade de compostos potencialmente citotóxicos e remove-os a partir da célula em um processo dependente de ATP ou de prótons (ZHELENOVA et al., 2000). Tradicionalmente, os transportadores multidrogas foram divididos em quatro superfamílias: a superfamília ABC (do inglês ATP-binding cassette), a maior família facilitadora, a menor família de resistência multidrogas, e a família de resistência-nodulação-divisão celular (do inglês resistance-nodulation-cell division family). Brown et al. (1999) definiu uma quinta família, chamada de família de transportadores multidrogas e extrusão de compostos tóxicos (MATE). Os genes MATE são abundantes em bactérias e plantas. Por exemplo, o genoma de *Arabidopsis* contém pelo menos 54 membros da família MATE. Como a família MATE é menos conhecida, a função da maioria desses genes é também desconhecida, mas a caracterização de alguns membros da família sugere uma multiplicidade de funções no crescimento e desenvolvimento nas plantas dentro da superfamília, além de seu papel no transporte de agrotóxicos (ECKARDT, 2001).

Analisando os dados em conjunto, pode-se relatar que, a cultivar DM 6563 RSF IPRO apresentou menor concentração de EPOX (Figura 7) e PIR (Figura 8). No entanto, no experimento do capítulo I, a cultivar DM 6563 RSF IPRO apresentou menor acúmulo de ferrugem asiática (AACPD= 119) que a cultivar BMX Tornado RR (AACPD= 177,3), pela pulverização de EPOX + PIR. Novamente, vale ressaltar que a cultivar é um fator que deve

ser analisado antes da pulverização, na qual afetará a interação produto e planta e consequentemente a concentração dos IA nas folhas para o controle das doenças. Além disso, foi apresentado também, que as cultivares apresentam diferenças em relação à resistência parcial à *P. pachyrhizi*, que confere diferente responsividade às aplicações dos fungicidas.

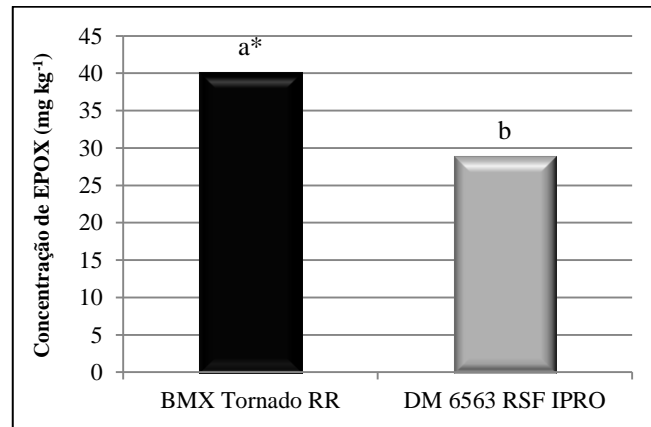


Figura 7 – Concentração na média de epoxiconazol (EPOX) associado e não com mancozebe (Mz) (mg kg⁻¹) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR. *Letras minúsculas, comparação entre cultivares; médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. % = 3,75.

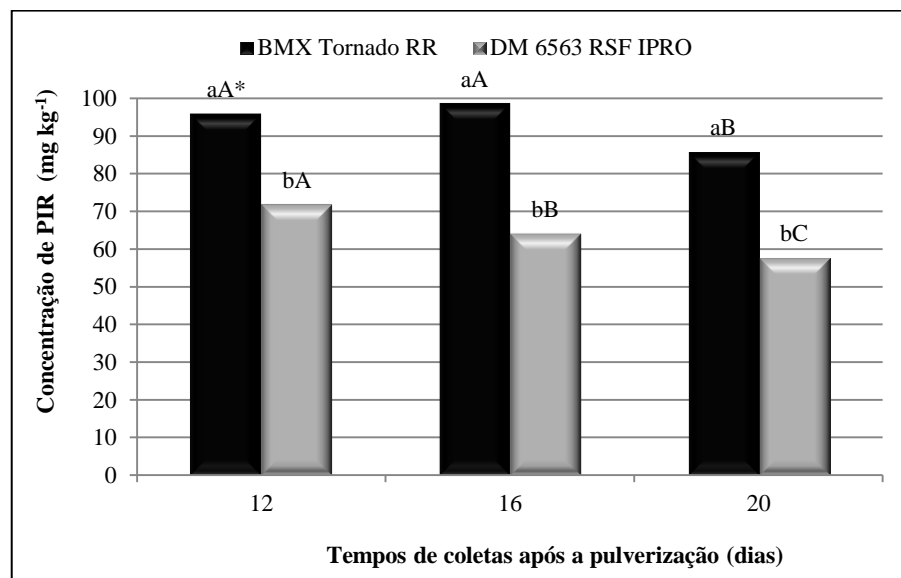


Figura 8 – Concentração das médias de piraclostrobina (PIR) associadas e não com mancozebe (Mz) (mg kg⁻¹) em tempos de coletas após a pulverização (h) em folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR. *Letras minúsculas, comparação de cultivares em cada combinação de tempos de coletas após a pulverização; letras maiúsculas, comparação de tempos de coletas após a pulverização em cada combinação de cultivar; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. % = 5,24.

4.5.3 Experimento III

A análise de variância mostrou interação significativa para idade de trifólios e Ingrediente Ativo (IA) (Figura 9). Sabe-se que, à medida que o caule cresce, diferenciam-se lateralmente, regiões onde surgem folhas e gemas axilares. As folhas verdadeiras formadas pela planta são trifolioladas, com pecíolos longos, e são produzidas unicamente (em nós diferentes) e alternadamente no caule. Dessa maneira, os trifólios encontrados alternadamente no caule são de diferentes idades. Devido a essa diferença de idade, a estrutura do trifólio poderá apresentar diferenças morfológicas e fisiológicas (YODER et al., 1994; WARREN; ADAMS, 2001; KARAVIN, 2013). Sugere-se que tais diferenças podem influenciar a penetração de fungicidas em folhas de soja. Assim, foi possível verificar que a concentração de EPOX e PIR é maior em trifólios mais novos (4^o trifólio - superior) que trifólios mais velhos (3^o trifólio - inferior).

Os dados revelam que a penetração de EPOX e PIR é mais rápida em trifólios mais novos, pelas suas maiores concentrações dos IA no tecido foliar. Esses dados corroboram com os apresentados por Lenz et al. (2011), onde os autores relatam que trifólios mais novos absorvem os fungicidas mais rapidamente e, em consequência, estabelecem um maior atraso no desenvolvimento da doença. No entanto Lenz et al. (2011) não quantificaram diretamente a concentração dos IA em folhas. Os mesmos relataram essas diferenças através da medida indireta, a partir do surgimento da primeira pústula de *Phakopsora pachyrhizi* em folhas. Já em nossas análises foram quantificadas a concentração dos IA em folhas através de cromatografia líquida de alta eficiência. A cutícula cobre toda a superfície da folha, incluindo os estômatos e os tricomas. A mesma compõe desta forma uma importante barreira para a penetração de produtos químicos aplicados via foliar (HEREDIA et al., 1998). A espessura e composição química da cutícula foliar variam com a espécie, idade, bem como os fatores ambientais. Há evidências de que a penetração de herbicidas decresce com o aumento da idade da folha (GROVER; CESSNA, 1991). Da mesma maneira, os dados evidenciam que a penetração de fungicidas também decresce com o aumento da idade da folha.

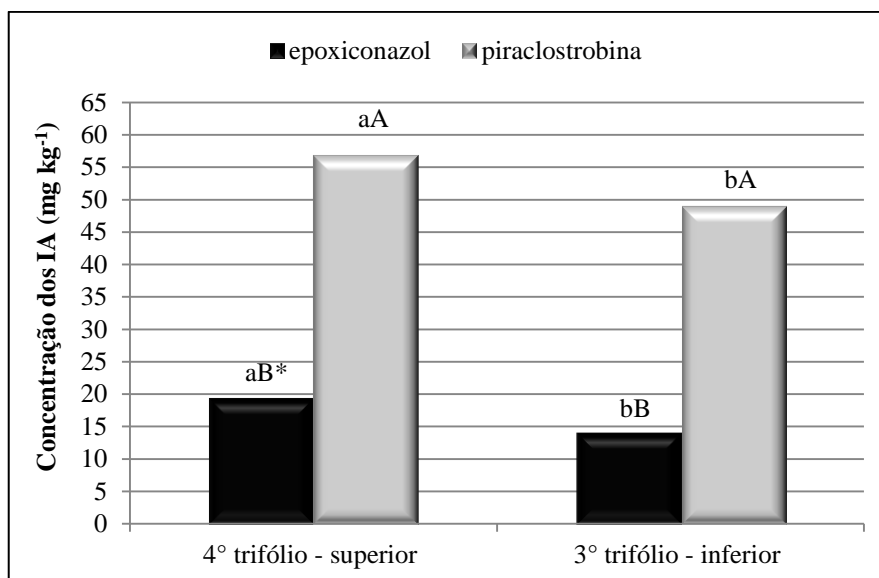


Figura 9 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) (mg kg⁻¹) 4 h após a pulverização na média das folhas de soja da cultivar BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO. *Letras minúsculas, comparação entre trifólios em cada combinação de ingrediente ativo; letras maiúsculas, comparação entre ingredientes ativos em cada combinação de trifólio; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$). C.V. (%) = 3,00.

Analisando os IA, pode-se verificar que a concentração de PIR é maior que EPOX em folhas das duas cultivares (Figura 10). Os dados corroboram com os apresentados no experimento I. Novamente, o estudo demonstra que a penetração de PIR é superior que EPOX em folhas de soja. Cada composto ou formulação necessitará de experimentos separados para determinar suas propriedades e sua influência na interação do produto e a planta (HUNSCHE et al., 2007). Nos resultados do experimento I foram abordadas duas hipóteses, que podem explicar as diferentes concentrações dos IA nos tecidos foliares.

A análise de variância mostrou interação significativa para cultivares e a concentração dos IA em folhas (Figura 10). Pode-se verificar que a concentração de PIR, em folhas da cultivar BMX Tornado RR é maior, comparada a cultivar DM 6563 RSF IPRO. O resultado corrobora com os apresentados no experimento I, deste capítulo (Figura 4 – experimento I do capítulo II). A Figura 4 apresentada no experimento I, do capítulo II mostra que a concentração de PIR na cultivar BMX Tornado RR é também maior do que na cultivar DM 6563 RSF IPRO, 4 hs após a pulverização. A concentração de EPOX também é corroborada pelos dados do outro experimento, da mesma figura, que aponta uma mesma concentração de EPOX entre as cultivares, 4 hs após a pulverização. As cultivares apresentam parâmetros morfológicos e fisiológicos que distinguem uma cultivar da outra. A distinguibilidade de uma

cultivar refere-se à diferença clara de qualquer outra cultivar cuja existência na data do período de proteção seja reconhecida (GRILLI, 2005). Sugere-se que as diferenças expressas em diferentes cultivares de soja pode influenciar na taxa de penetração dos IA. Na discussão dos dados no experimento I, desse capítulo, foram apresentadas algumas diferenças entre as cultivares sob os aspectos morfológicos que podem explicar tais diferenças de concentração dos IA em folhas. Como descrito anteriormente, não foi possível verificar diferença na concentração de EPOX em folhas das duas cultivares, 4 h após a pulverização.

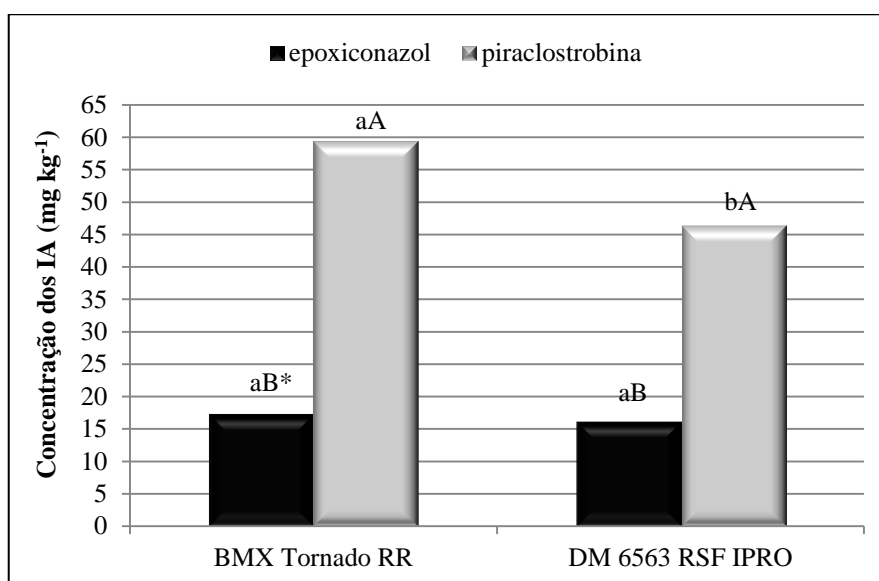


Figura 10 – Concentração dos ingredientes ativos (IA) (mg kg^{-1}) 4 h após a pulverização em folhas de soja da cultivar BMX Tornado RR e DM 6563 RSF IPRO. *Letras minúsculas, comparação entre cultivares em cada combinação de ingrediente ativo; letras maiúsculas, comparação entre ingredientes ativos em cada combinação de cultivar; médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$). C.V. (%) = 3,00.

4.6 Conclusão

Através das condições descritas no experimento I e II, verificou-se que mancozebe influencia a persistência de fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) em cultivares de soja. No experimento I, a taxa de penetração de epoxiconazol (EPOX) em folhas das cultivares DM 6563 RSF IPRO e BMX Tornado RR foi mais rápida sem a associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo). A associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) reduziu a taxa de penetração de piraclostrobina (PIR) na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A maior concentração de EPOX e PIR em folhas das duas

cultivares ocorreu às 48 h após a pulverização. Neste período, a concentração de EPOX foi ligeiramente maior quando o fungicida (IDM + IQo) foi pulverizado sem a presença de mancozebe. A concentração de PIR em folhas das duas cultivares às 48 h após a pulverização foi semelhante pela associação ou não do fungicida com mancozebe. As cultivares apresentaram diferentes taxas de penetração dos IA em folhas. Observou-se uma redução das concentrações dos IA nos tecidos foliares após 48 h da pulverização, evidenciando um processo de dissipação dos IA, após esse tempo. As concentrações de PIR em folhas de soja foram superiores que EPOX nos diferentes tempos de coletas, após a pulverização do fungicida. No experimento II foi observado que a associação de mancozebe ao fungicida (IDM + IQo) somente influenciou a persistência de PIR aos 16 dias após a pulverização na cultivar DM 6563 RSF IPRO. A taxa de dissipação de PIR em folhas é diferente entre as cultivares. A partir do experimento III foi verificado que a penetração dos IA é maior em folhas mais novas do que em folhas velhas.

4.7 Referências Bibliográficas

- BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K. Designing molecules for systemicity, mechanisms and regulation of transport processes, in: **R.K. Atkin, D.R. Clifford (Eds.), Monograph 18**, British Plant Growth Regulator Group, pp. 113–128. 1989.
- CATANEO, A. C.; DÉSTRO, G.F.G.; FERREIRA, L. C.; CHAMMA, K. L.; SOUSA, D. C. F. Glutathione S-transferase activity on the degradation of the herbicide glyphosate in maize (*Zea mays*) plants. **Planta Daninha**, v. 21, n.2, p. 307-312, 2003.
- COLE, D. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pest Science**, v. 42, p. 209-222, 1994.
- ECKARDT, N. A. Move It on Out with MATes. **Plant Cell**, v. 13, p. 1477-1480, 2001.
- FANTKE, P.; JURASKE, R. Variability of pesticide dissipation half-lives in plants. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 3548-3562, 2013.
- FARIA, A. T. et al. Atividade fisiológica da cana-de-açúcar após a aplicação de herbicidas em pré- emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 171-178, 2013.
- FERREIRA, E. A.; DEMUNER, A. J.; SILVA, A. A.; SANTOS, J. B.; VENTRELLA, M. C.; MARQUES, A. E.; PROCÓPIO, S. O. Composição química da cera epicuticular e caracterização da superfície foliar em genótipos de cana de açúcar. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 611-619, 2005.

FORSTER, W. A.; ZABKIEWICZ, J. A.; LIU, Z. Cuticular uptake of xenobiotics into living plants. Part 2: influence of the xenobiotic dose on the uptake of bentazone, epoxiconazole and pyraclostrobin, applied in the presence of various surfactants, into *Chenopodium album*, *Sinapis alba* and *Triticum aestivum* leaves. **Pest Management Science**, v. 62, p. 664-672, 2006.

FORSTER, W. A.; ZABKIEWICZ, J. A.; RIEDERER M. Spray formulation deposits on leaf surfaces and xenobiotic mass uptake, in **Proceedings of 7th International Symposium on Adjuvants for Agrochemicals**, CD-ROM, Document Transformation Technologies, ISBN 1-920-01716-X, 2004. pp. 332–338.

FRAC. Fungicide Resistance Action Committee. **FRAC recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution**. 2010. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf?sfvrsn=4>>. Acessado em: 10 jan. 2017.

FUJISAWA, T.; ICHISE, K.; FUKUSHIMA, M.; KATAGI, T.; TAKIMOTO, Y. Improved uptake models of nonionized pesticides to foliage and seed of crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 532-537, 2002.

GENET, J.-L.; JAWORSKA, G.; DEPARIS, F. Effect of dose rate and mixtures of fungicides on selection for QoI resistance in populations of *Plasmopara viticola*. **Pest Management Science**, v. 62, p. 188-194, 2006.

GOZZO, F.; PIZZINGRILLI, G.; VALCAMONICA, C. Chemical evidence of the effects of mancozeb on benalaxyl in grape plants as possible rationale for their synergistic interaction. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 30, p. 136-141, 1988.

GRILLI, G.V. Legislação brasileira sobre proteção de cultivares. Palestras. In: **ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO DE PLANTAS REGIONAL DF**, 2005, Brasília. Documentos... Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005 14p.

GROVER, R.; CESSNA, A. J. **Environmental Chemistry of Herbicides**. Vol. 2, Boca Raton: CCR Press, 1991. 302p

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb: past, present, and future. **Plant Disease**, v. 94, 1076-1087, 2010.

HARTZLER, B.; PRINGNITZ, B.; OWEN, M. Interactions between ALS-herbicides and organophosphate insecticides. **Integrated crop management**, Ames, Iowa. 2000. Disponível em: <http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm/2000/5-22-2000/interaction.html>. Acesso em: 25 dez 2017.

HATZIOS, K. K. Biotransformations of herbicides in higher plants. In: **Grover, R., Cessna, A.J. (Eds.), Environmental Chemistry of Herbicides**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1991. pp. 141–185.

HEREDIA, A.; CASADO, C. G.; LAGUNA, L.; REINA, J. J.; SERRANO, J. M.; DOMÍNGUEZ, E. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecología**, v. 12, p. 293-305, 1998.

HUMBERT, S.; MARGNI, M.; CHARLES, R.; SALAZAR, O. M. T.; QUIRÓS, A. L.; JOLLIET, O. Toxicity assessment of the main pesticides used in Costa Rica. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, p. 183-190, 2007.

HUNSCHE, M. Rainfastness of selected agrochemicals as affected by leaf surface characteristics and environmental factors. University of Bonn, Cuvillier Verlag, Gottingen, pp. 2. 2006.

HUNSCHE, M.; DAMEROW, L.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; NOGA, G. Mancozeb wash-off from apple seedlings by simulated rainfall as affected by drying time of fungicide deposit and rain characteristics. **Crop Protection**, v. 26, p. 768-774, 2007.

JACOBSEN, R. E.; FANTKE, P.; TRAPP, S. Analysing half-lives for pesticide dissipation in plants. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 26, p. 325-342, 2015.

KARAVIN, N. Effects of leaf and plant age on specific leaf area in deciduous tree species *Quercus cerris* L. var. *cerris*. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 301-306, 2013.

KIRKWOOD, R. C. Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. **Pest Science**, v. 55, p. 69-77, 1999.

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, 2016b.

KOMOSSA, D.; LANGEBARTELS, C.; SANDERMANN, H. J. Metabolic processes for organic chemicals in plants, in **Plant Contamination – Modeling and simulation of organic chemical processes**, S. Trapp and J.C. McFarlane, eds., Lewis Publisher, Boca Raton, FL, pp. 69–103 (1995).

KREUZ, K.; TOMMASINI, R.; MARTINOIA, E. Old enzymes for a new job. Herbicide detoxification in plants. **Plant Physiology**, v. 111, p. 349-53, 1996.

LEGIND, C. N.; KENNEDY, C. M.; REIN, A.; SNYDER, N.; TRAPP, S. Dynamic plant uptake model applied for drip irrigation of an insecticide to pepper fruit plants. **Pest Management Science**, v. 67, p. 521-527, 2011.

LENZ, G.; BALARDIN, R. S.; MINUZZI, S. G.; TORMEN, N. R.; MARQUES, L. N. Espectro de gotas e idade de trifólios na taxa de absorção e efeito residual de fungicidas em soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1702-1708, 2011.

MANNERVIK, B.; DANIELSON, U. H. Glutathione transferases: structure and catalytic activity. **CRC Critical Reviews in Biochemistry**, v. 23, p. 283-337, 1988.

MELO, A. A.; USANO-ALEMANY, J.; GUEDES, J. V. C.; HUNSCHE, M. Impact of tank-mix adjuvants on deposit formation, cuticular penetration and rain-induced removal of chlorantraniliprole. **Crop Protection**, v. 78, p. 253-262, 2015.

PETIT, A. N.; FONTAINE, F.; CLÉMENT, C.; VAILLANT-GAVEAU, N. Photosynthesis limitations of grapevine after treatment with the fungicide fludioxonil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6761-6767, 2008.

PICK, F. E.; VAN DYK, L. P.; DE BEER, P. R. The effect of simulated rain on deposits of some cotton pesticides. **Pest Science**, v. 15, p. 616-623, 1984.

PREEZ, E. D. du, CALDWELL, P. M. Chemical control of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in South Africa. In: **Proceedings VII World Soybean Research Conference**, IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Brazilian Soybean Congress, Foz do Iguassu, PR, Brazil, pp. 431-435 (2004).

PROCÓPIO, S. O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana de açúcar**. Produção de cana de açúcar. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003b. 150 p.

RAMIRO, D. A.; GUERREIRO-FILHO, O.; QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; MATTHIESEN, S. C. Caracterização anatômica de folhas de cafeeiros resistentes e suscetíveis ao bicho-mineiro. **Bragantia**, v. 63, p. 363-372, 2004.

RAMOS, H. H.; ARAÚJO, D. de. **Preparo da calda e sua interferência na eficácia de agrotóxicos**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/V2/Index.htm>. Acesso em: 10 jan. 2017.

REA, P. A.; LI, Z. S.; LU, Y. P.; DROZDOWICZ, Y. M.; MARTINOIA, E. From vacuolar GS-X pumps to multispecific ABC transporters. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 727-760, 1998.

REDDY, K. N.; LOCKE, M. A.; BRYSON, C. T. Foliar washoff and runoff losses of lactofen, norflurazon, and fluometuron under simulated rainfall. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 2338-2343, 1994.

REDDY, K. N.; LOCKE, M. A. Imazaquin spray retention, foliar washoff and runoff losses under simulated rainfall. **Pest Science**, v. 48, p. 179-187, 1996.

RIEDERER, M.; FRIEDMANN, A. Transport of lipophilic non-electrolytes across the cuticle. In: **Biology of the Plant Cuticle**; Riederer, M.; Miller, C., Eds.; Blackwell Publishing Ltd.: Oxford, UK, 2006, pp. 250-279.

RITCHIE, S.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Serv., Special Report, 53 (1982).

REIS, E. M.; DEUNER, E.; ZANATTA, M. In vivo sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* to DMI and QoI fungicides. **Summa Phytopathologica**, v. 41, p. 21-24, 2015.

SALADIN, G.; MAGNE, C.; CLEMENT, C. Effects of fludioxonil and pyrimethanil, two fungicides used against *Botrytis cinerea*, on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera* L. **Pest Management Science**, v. 59, p. 1083-1092, 2003.

SANDERMANN, H. Jr. Plant metabolism of xenobiotics. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 17, p. 82-84, 1992.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C.-A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, p. 378-388, 2014.

SCHÖNHERR, J. Resistance of plant surfaces to water loss: Transport properties of cutin, suberin and associated lipids, in **Physiological plant ecology, Part 2**, ed by Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. and Ziegler H., Springer, Berlin, Heidelberg, New York, p. 153-179, 1982.

SCHÖNHERR, J.; BAUR, P. Modeling penetration of plant cuticles by crop protection agents and effects of adjuvants on their rates of penetration. **Pest Science**, v. 42, p. 185–208, 1994.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: World Congress on Computers in Agricultura , 7., 2009, Reno. **Anais...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, L. H. C. P. D.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. **Summa Phytopathologica**, v. 41, p. 64-67, 2015.

SMITH, C. N.; PAYNE, W. R. JR., MULKEY, L. A.; BENNER, J. E.; PARRISH, R. S.; SMITH, M. C. The persistence and disappearance by washoff and dryfall of methoxychlor from soybean foliage — a preliminary study. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 16, p. 777-794, 1981.

STEFANELLO, M. T.; MARQUES, L. N.; PINTO, F. F.; RAMOS, J. P. D.; CADORE, P. C.; BALARDIN, R. S. Dinâmica do controle químico de *Phakopsora pachyrhizi* em plantas de soja submetidas a diferentes regimes hídricos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-6, 2016a.

STEFANELLO, M. T.; BALARDIN, R. S.; MINUZZI, S. G.; DALLA FAVERA, D. MARQUES, L. N.; PEZZINI, D. T.; EBONE, A. Effect of the interaction between fungicide application time and rainfall simulation interval on Asian Soybean Rust control effectiveness. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 3881-3892, 2016b.

STOCK, D. Achieving optimal biological activity from crop protection formulations: design or chance? In: **Proc Brighton Crop Protection Conference- Pests and Diseases, Brighton, 1996**; British Crop Protection Council, Farnham, UK, 1996, pp. 791-800.

STOCK, D.; HOLLOWAY, D. J.; GRAYSON, B. T.; WHITEHOUSE, P. Development of a predictive uptake model to rationalize selection of polyoxyethylene surfactant adjuvants for foliage-applied agrochemicals. **Pest Science**, v. 37, p. 233–245, 1993.

- THACKER, J. R. M.; YOUNG, R. D. F. The effects of six adjuvants on the rainfastness of chlorpyrifos formulated as an emulsifiable concentrate. **Pest Science**, v. 55, n. 2, p. 198-200, 1999.
- THEODOULOU, F. L. Plant ABC transporters. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1465, p. 79-103, 2000.
- TOMLIN, C. **The pesticide manual**, 13th edn. Crop Protection Publications, British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK, 1341 pp. 2003.
- VAN EERD, L. L.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M.; HALL, J. C.; Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, p. 472-495, 2003.
- WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides—Present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 87, p. 1-8, 2007.
- WARREN, C. R.; ADAMS, M. A. Distribution of N, Rubisco and photosynthesis in *Pinus pinaster* and acclimation to light. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, p. 597-609, 2001.
- WAUCHOPE, R. D.; JOHNSON, W. C. III; SUMNER, H. R. Foliar and soil deposition of pesticide sprays in peanuts and their washoff and runoff under simulated worst-case rainfall conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7056-7063, 2004.
- WHITE, A. D.; HEAVERLO, C. A.; OWEN, M. D. K. Evaluation of methods to quantify herbicide penetration in leaves. **Weed Technology**, v. 16, p. 37-42, 2002.
- WILCE, M. C.; PARKER, M. W. Structure and function of glutathione S-transferases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1205, p. 1-18, 1994.
- WILLIS, G. H.; MCDOWELL, L. L.; SMITH, S.; SOUTHWICK, L. M. Foliar washoff of oil-applied malathion and permethrin as a function of time after application. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 40, p. 1086-1089, 1992.
- YODER, B. J.; RYAN, M. G.; WARING, R. H.; SCHOETTLE, A. W.; KAUFMANN, M. R. Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. **Forest Science**, v. 40, n. 3, p. 513-527, 1994.
- ZABKIEWICZ J. A. Adjuvants and herbicidal efficacy – present status and future prospects. **Weed Research**, v. 40, p. 139-149, 2000.
- ZABKIEWICZ, J. A. Spray formulation efficacy- holistic and futuristic perspectives. **Crop Protection**, v. 26, p. 312-319, 2007.
- ZHELENOVA, E. E., MARKHAM, P., EDGAR, R., BIBI, E., NEYFAKH, A.A., AND BRENNAN, R.G. A structure-based mechanism for drug binding by multidrug transporters. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 25, p. 39-43, 2000.

5. CAPÍTULO III – SEVERIDADE DE FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA E RESIDUAL DE CONTROLE DA MISTURA DE EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA ASSOCIADA AO MANCOZEBE

5.1 Resumo

A Ferrugem Asiática da Soja (FAS), causada por *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. pode ser avaliada pela sua rápida expansão e sua dificuldade de controle em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Tal dificuldade de controle da doença com fungicidas está se tornando cada vez mais evidente, comprovada a redução de sensibilidade do patógeno frente aos fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo). Com isso, o objetivo do estudo foi avaliar a severidade de FAS e residual de controle da mistura de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associada ao mancozebe (Mz). O experimento foi realizado em casa de vegetação no ano 2015/16. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4), totalizando oito tratamentos com três repetições. O fator A foi composto por duas cultivares de soja, 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO'; O fator B foi composto por uma testemunha (sem fungicida), fungicida com Mz (1125 g ia ha⁻¹) mais óleo mineral Aureo® (0,375 L p.c. ha⁻¹), fungicida com EPOX + PIR (30 + 79,8 g ia ha⁻¹, respectivamente) mais Assist® (0,750 L p.c. ha⁻¹) e fungicida com EPOX + PIR + Mz (30 + 79,8 + 1125 g ia ha⁻¹, respectivamente) mais óleo mineral Assist® (0,750 L p.c. ha⁻¹). Após a pulverização dos tratamentos as plantas de soja foram inoculadas com esporos de *P. pachyrhizi* em ambos os lados da folha. Os parâmetros avaliados foram o período de latência, severidade da doença, residual de controle e a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Verificou-se que as cultivares de soja apresentam diferente severidade e a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Mancozebe associado com EPOX + PIR em calda de pulverização aumenta o residual de controle de *P. pachyrhizi* e reduz a severidade da doença.

Palavras-chave: *Phakopsora pachyrhizi*. Controle químico. Fungicidas. Multissítio. Inibidores da DesMetilação. Inibidores da Quinona oxidase.

CHAPTER III - ASIAN SOYBEAN RUST SEVERITY AND RESIDUAL CONTROL OF THE EPOXICONAZOLE AND PYRACLOSTROBIN MIXTURE ASSOCIATED WITH MANCOZEB

5.2 Abstract

Asian Soybean Rust (ASR), caused by *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. it can be evaluated by its rapid expansion and its control difficulty in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. This difficulty in disease control with fungicides is becoming evident, due to the reduction of the pathogen sensitivity to the Demethylation Inhibitor (DMI) and Quinone outside Inhibitor (QoI) fungicides. Therefore, the objective of this study was to evaluate the ASR severity and residual control of the epoxiconazole (EPOX) and pyraclostrobin (PYR) mixture associated with mancozeb (Mz). The experiment was carried out in a greenhouse during the 2015/16 season. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (2x4), totaling eight treatments with three replicates. Factor A was composed of two soybean cultivars, 'BMX Tornado RR' and 'DM 6563 RSF IPRO'; Factor B was composed of a control (without fungicide), fungicide with Mz (1125 g i.a. ha⁻¹) plus Aureo[®] mineral oil (0.375 L c.p. ha⁻¹), fungicide with EPOX + PYR (30 + 79.8 g a.i. ha⁻¹, respectively) plus Assist[®] (0.750 L c.p. ha⁻¹) and a fungicide with EPOX + PYR + Mz (30 + 79.8 + 1125 g a.i. ha⁻¹, respectively) more Assist[®] mineral oil (0.750 L c.p. ha⁻¹). The soybean plants were inoculated with *P. pachyrhizi* spores on both sides of the leaves, after spraying treatments. The parameters evaluated were the latency period, disease severity, residual control and Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). It was verified that the soybean cultivars have different severity and AUDPC. Mancozeb associated with EPOX + PIR in spray solution increases the residual control of the *P. pachyrhizi* and it reduces the disease severity.

Key words: *Phakopsora pachyrhizi*. Chemical control. Fungicides. Multi-site. DeMethylation Inhibitors. Quinone outside Inhibitors.

5.3 Introdução

A Ferrugem Asiática da Soja (FAS), causado por *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. pode ser avaliada pela sua rápida expansão e pela sua dificuldade de controle em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Tal dificuldade de controle da doença com fungicidas está se tornando cada vez mais evidente, comprovada a alta capacidade de adaptação e variabilidade do patógeno (SCHIMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016b).

Dentre os fungicidas mais utilizados estão os Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo) que atuam em apenas um sítio-específico, entre milhares de processos bioquímicas na célula fúngica. Portanto, eles são vulneráveis a redução ou perda de sensibilidade pela seleção de raças do patógeno (SILVA et al., 2015). Logo, os fungicidas IDM e IQo são classificados como de alto risco para o desenvolvimento da resistência e, portanto, não são recomendados para utilização isoladamente (FRAC, 2010).

A redução da eficiência de controle pelo uso de fungicidas IDM e IQo isoladamente esta sendo verificada a campo gradualmente nas últimas safras. Os tratamentos com tebuconazol (IDM), ciproconazol (IDM) e azoxistrobina (IQo), incluídos para monitorar a sensibilidade do fungo aos IDM e IQo, nas diferentes regiões, mostraram uma queda de eficiência em relação a safra 2012/13 (GODOY et al., 2013). Como um exemplo, a eficiência de tebuconazol foi reduzida progressivamente de 90% para 24% em dez safras de cultivo (GODOY et al., 2013). A redução da sensibilidade de *P. pachyrhizi* aos fungicidas tebuconazol e ciproconazol, com apenas 42 e 38% de controle, respectivamente, também foi comprovada por Godoy e Palaver (2011). Medidas alternativas devem ser tomadas para elevar a eficácia do controle químico acima de 80% novamente.

O uso de fungicidas IDM e IQo associados com um fungicida multissítio, por exemplo, o mancozebe (Mz), pode ser uma estratégia importante para aumentar a sensibilidade de *P. pachyrhizi* ao controle químico. Mancozebe pode atuar na interrupção fatal de processos enzimáticos do núcleo, sendo postulado para inibir ou interferir com pelo menos seis diferentes processos bioquímicos no citoplasma de células fúngicas e mitocôndrias. (KAARS SIJPESTEIJN, 1984; LUDWIG; THORN, 1960).

Devido à escassez de estudos detalhados sobre o desempenho dos fungicidas sítio-específicos associados aos fungicidas multissítios, o objetivo deste trabalho foi investigar a severidade de FAS e o residual de controle da mistura de epoxiconazol (EPOX) e piraclostrobina (PIR) associada ao mancozebe (Mz).

5.4 Materiais e Métodos

Crescimento e manejo das plantas

Um experimento foi realizado na safra 2015/16 em casa de vegetação, em condições parcialmente controladas, em Itaara, RS. A temperatura dentro da casa de vegetação foi mantida a $27\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ com uma temperatura máxima regulada através de exaustores. A umidade relativa foi mantida na faixa de $75\% \pm 15\%$, regulada por um sistema de nebulização automático.

As sementes das cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO' foram semeadas em vasos (5 L) contendo substrato a base de solo + casca de arroz (2:1). As características químicas do substrato: pH (H₂O) – 5,6, saturação por Al – 0,0%, saturação por bases (V) – 85,3%, capacidade de troca catiônica (CTC) pH₇ – 12,9 cmol_c dm⁻³, matéria orgânica – 1,8%, macronutrientes P-Mehlich – 55,3 mg dm⁻³, K – 283,4 mg dm⁻³, Ca – 6,7 cmol_c dm⁻³, Mg – 3,6 cmol_c dm⁻³. As sementes foram previamente tratadas antes da semeadura com fipronil + piraclostrobina + tiofanato-metílico (50 + 5 + 45 g i.a. 100 kg⁻¹ de semente, respectivamente), sendo o produto comercial Standak Top[®] e inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (0,200 L p.c. 100 kg⁻¹ de semente do inoculante Bionutri[®]).

Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4), totalizando oito tratamentos com três repetições. O fator A foi composto por duas cultivares de soja, 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO'; O fator B foi composto por uma testemunha (sem fungicida), fungicida Mz (1125 g ia ha⁻¹) mais óleo mineral Aureo[®] (0,375 L p.c. ha⁻¹), fungicida EPOX + PIR (30 + 79,8 g ia ha⁻¹, respectivamente) mais Assist[®] (0,750 L p.c. ha⁻¹) e EPOX + PIR + Mz (30 + 79,8 + 1125 g ia ha⁻¹, respectivamente) mais óleo mineral Assist[®] (0,750 L p.c. ha⁻¹).

Pulverização dos tratamentos

A pulverização dos tratamentos fungicida foi realizada quando as plantas atingiram o estágio V5 (RITCHIE et al. 1982), ou seja, as plantas estavam com o quarto trifólio

expandido, e a quinta folha trifoliolada aberta, de tal modo que os bordos de cada folíolo não se tocassem. A pulverização foi em caráter preventivo, ou seja, sem sintomas da doença. Utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado à CO₂, dotado de barra com quatro pontas de pulverização do tipo XR 11002 (Teejet Inc., Illinois, EUA). A barra de pulverização foi movida horizontalmente com uma velocidade de 5 km h⁻¹, operando a 207 kPa de pressão e calibrada para um volume de 150 L ha⁻¹.

Inoculação do patógeno

Após 12 horas da aplicação dos tratamentos, ocorreu a inoculação das plantas com o patógeno. A inoculação foi baseada na metodologia utilizada por Lenz et al. (2011), através da deposição do inóculo do patógeno (uredósporos de *P. pachyrhizi*) na concentração de 2×10^5 esporos ml⁻¹ suspensos em água destilada mais espalhante adesivo Tween (80 ppm), em ambas faces das folhas. As plantas foram inoculadas a cada semana, além de permanecerem em casa de vegetação junto com plantas infectadas com *P. pachyrhizi*, onde estas, também serviram como fonte de inóculo. Dessa maneira, as plantas do experimento foram expostas constantemente ao patógeno.

A inoculação de *P. pachyrhizi* foi efetuada em período noturno e a deposição dos esporos sobre as folhas de soja foi realizada com pistola de micropintura pressurizada a ar comprimido, sendo que a pulverização foi efetuada em ambas as faces da folha até completo molhamento.

Decorridas 10 horas da inoculação artificial, ao amanhecer, foram iniciadas as nebulizações, programadas através de um controlador eletrônico para execução de turno de nebulização de 1 min h⁻¹, mantendo-se assim, condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo.

Avaliações

As variáveis foram o número de dias até o aparecimento da primeira pústula (NDAPP) e a severidade da doença. As avaliações do NDAPP começaram no terceiro dia após a inoculação. As duas últimas folhas completamente expandidas de cada planta foram marcadas com fita adesiva colorida. As avaliações foram realizadas diariamente nessas folhas, até que todas as plantas do experimento apresentassem os sintomas da doença. A avaliação do NDAPP forneceu de base para calcular o residual de controle dos tratamentos fungicidas. O

residual de controle foi o período compreendido entre o NDAPP nos tratamentos fungicidas reduzidos do NDAPP da testemunha (sem fungicida).

As avaliações de severidade de *P. pachyrhizi* foram realizadas aos sete, 14, 21 e 28 dias após a pulverização dos tratamentos. A severidade da doença foi estimada através de notas visuais da porcentagem de área foliar com sintomas da doença em relação à área sadia, utilizando a escala proposta por Godoy et al. (2006). Os valores de severidade foram utilizados para calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Análise estatística

Os dados obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a interação entre os fatores bem como suas médias, foram comparadas através do teste de Tukey (5%), calculado através do software ASSITAT, versão 7.6 (SILVA; AZEVEDO, 2009). Os gráficos foram criados com Excel 2010[®] (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

5.5 Resultados e Discussões

A análise de variância mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos fungicidas, para o número de dias para aparecimento da primeira pústula *P. pachyrhizi* (NDAPP) (Figura 1). Não houve interação significativa entre os tratamentos fungicidas e as cultivares. Desse modo, as cultivares foram analisadas separadamente.

A primeira pústula de *P. pachyrhizi* foi observada em ambas as cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO' aos sete dias após a inoculação (Figura 1). Os tratamentos com fungicida diferenciaram-se da testemunha pelo maior NDAPP. Não foi possível observar diferença entre a pulverização de EPOX + PIR e mancozebe para o NDAPP. Neste caso, pode-se notar que mancozebe pulverizado em folhas de soja apresenta um efeito fungicida sobre *P. pachyrhizi* por retardar o aparecimento da primeira pústula do patógeno em relação à testemunha, sem fungicida. Quando associa-se mancozebe a EPOX + PIR pode-se observar um incremento significativos para o NDAPP em ambas as cultivares. Mancozebe em si não é um eficaz fungicida e pode ser considerado um pró-fungicida que, quando expostos à água, se decompõe para liberar EBIS, que é então convertido através da

ação da luz UV, em etileno bisisotiocianato (EBI) (GULLINO et al., 2010). Ambos EBIS e EBI se acreditam ser os ativos tóxicos contra os patógenos e são pensados para interferir com enzimas que contêm grupos sulfidrilos. Esta interrupção fatal nos processos enzimáticos do núcleo é postulada para inibir ou interferir com pelo menos, seis processos bioquímicos diferentes dentro do citoplasma da célula fúngica e mitocôndrias (KAARS SIJPESTEIJN, 1984; LUDWIG; THORN, 1960).

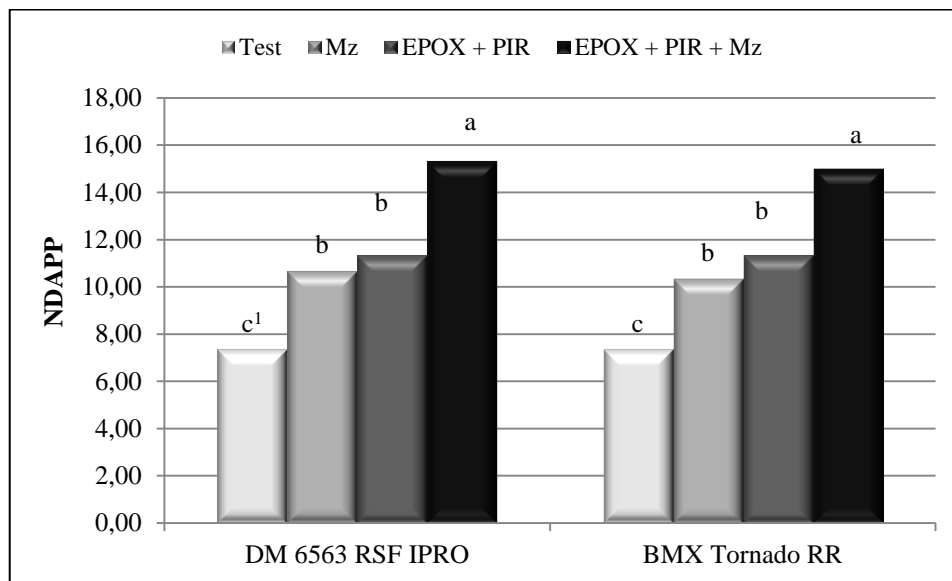


Figura 1 – Número de Dias para o Aparecimento da Primeira Pústula de *Phakopsora pachyrhizi* (NDAPP) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas. Test = Testemunha (sem pulverização de fungicida); Mz = mancozebe; EPOX + PIR = epoxiconazol + piraclostrobina; EPOX + PIR + Mz = epoxiconazol + piraclostrobina + mancozebe. ¹Letras minúsculas (comparam os tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivares); médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). CV. (%) - (DM 6563 RSF IPRO) = 5,17; C.V. (%) - (BMX Tornado RR) = 4,55.

A análise de variância mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos fungicidas, para o residual de controle de *P. pachyrhizi* (Figura 2). Não houve interação significativa entre os tratamentos fungicidas e as cultivares. Desse modo, as cultivares foram analisadas separadamente.

O residual de controle de *P. pachyrhizi* pela pulverização de mancozebe foi de 3 e 3,33 dias nas cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO', respectivamente. Novamente, os dados evidenciam que mancozebe pulverizado em folhas de soja apresenta um

efeito fungicida sobre *P. pachyrhizi*. O residual de controle da pulverização de EPOX + PIR em ambas as cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO' foi de quatro dias. Possivelmente, esse baixo residual de controle pela pulverização de EPOX + PIR deve-se a uma adaptação do patógeno a estes IA. Esses resultados corroboram com os apresentados no experimento do capítulo I. Alguns estudos já mostram que a população brasileira de *P. pachyrhizi* é menos sensível para algumas misturas de IDM e IQo, apresentando adaptações para ambos grupos químicos (SCHMITZ et al., 2014; KLOSOWSKI et al., 2016b).

Tomados em conjuntos, os dados da Figura 2 e 3 do experimento I, do capítulo III, eles revelam que aos 4 e 8 dias após a pulverização de EPOX + PIR nas cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO' ainda existem concentrações significativas de ambos os IA. No entanto, quando observam-se os resultados da Figura 2 desse estudo pode-se verificar que o residual de controle de EPOX + PIR em folhas de soja foi somente de 4 dias. Percebe-se que existe IA no tecido foliar 4 e 8 dias após a pulverização, porém não resulta no controle do patógeno. Desse modo, sugere-se que os isolados de *P. pachyrhizi* utilizados no estudo apresentam redução de sensibilidade frente aos IA EPOX + PIR. Alguns mecanismos de resistência podem ser desenvolvidos pelo patógeno, como manter as concentrações intracelulares dos fungicidas abaixo de um nível crítico, através do aumento do efluxo e metabolismo dos IA (BRENT; HOLLON, 2007; GISI et al. 2000).

A resistência de patógenos a IQo está relacionada principalmente a mutações no gene do citocromo b (CYTB) (GISI et al., 2000). Até o momento, F129L é a única mutação em *P. pachyrhizi* que está associada à resistência de IQo (KLOSOWSKI et al., 2016b). A resistência a IDM é causada por diferentes mecanismos, mas principalmente, pela mutação no sítio alvo do gene do citocromo P450 14 α -esterol desmetilase (CYP51), tais como, F120L, Y131H/F, K142R e I475T, ou através da sobre-expressão de CYP51, ambos os quais foram relatados em *P. pachyrhizi* (SCHMITZ et al., 2014).

Quando o mancozebe foi associado ao EPOX + PIR podem ser observados aumentos significativos no residual de controle do patógeno. Este ganho no residual de controle foi de 3,67 e 4 dias, para as cultivares 'BMX Tornado RR' e 'DM 6563 RSF IPRO', respectivamente, quando comparado à pulverização de EPOX + PIR sem a associação de mancozebe. Assim, a associação do fungicida multissítio mancozebe com fungicidas sítio-específico (IDM, IQo, Inibidores da Succinato Desidrogenase - ISD) no programa de controle da ferrugem asiática da soja pode ser uma ferramenta importante para o manejo da resistência e preservação da vida útil de fungicidas sítio-específico na cultura da soja. Mancozebe não teve qualquer efeito sobre a dinâmica da competição entre o isolado tipo-selvagem e os isolados com mutações no

gene CYP51 e CYTB (KLOSOWSKI et al., 2016a). Os autores complementam que, embora um menor número de lesões de ferrugem tem sido geralmente observado em folhas tratadas com mancozebe comparada com folhas não tratadas, a sensibilidade dos isolados tipo-selvagem e mutantes parecem ser semelhantes, porque a frequência dos isolados nas misturas foi à mesma na presença ou ausência do fungicida multissítio, indicando que todos os isolados foram inibidos igualmente bem por mancozebe (KLOSOWSKI et al., 2016a).

Deve igualmente ser lembrado, que toda mistura é suscetível de eventual desenvolvimento de resistência, para um componente da mistura, mas se usado sabiamente, elas podem atrasar significativamente o processo e levar o fungicida a uma vida mais longa (FRAC, 2010). Para a AENDA (2011), a mistura em tanque não é proibida, e pode ser praticada pelo agricultor, sob sua responsabilidade. No entanto, é preciso entender que qualquer agrotóxico só pode ser receitado por um profissional legalmente habilitado, e os produtos só poderão ser prescritos com observância das recomendações de uso aprovadas em rótulo e bula, conforme estabelece o Decreto 4.074/02 (BRASIL, 2002). Percebe-se que a regulamentação das misturas em tanque é um assunto de interesse de todos os que atuam na área da sanidade vegetal e caracteriza-se como um tema que precisa ser analisado pelos órgãos governamentais no Brasil (GAZZIERO, 2015).

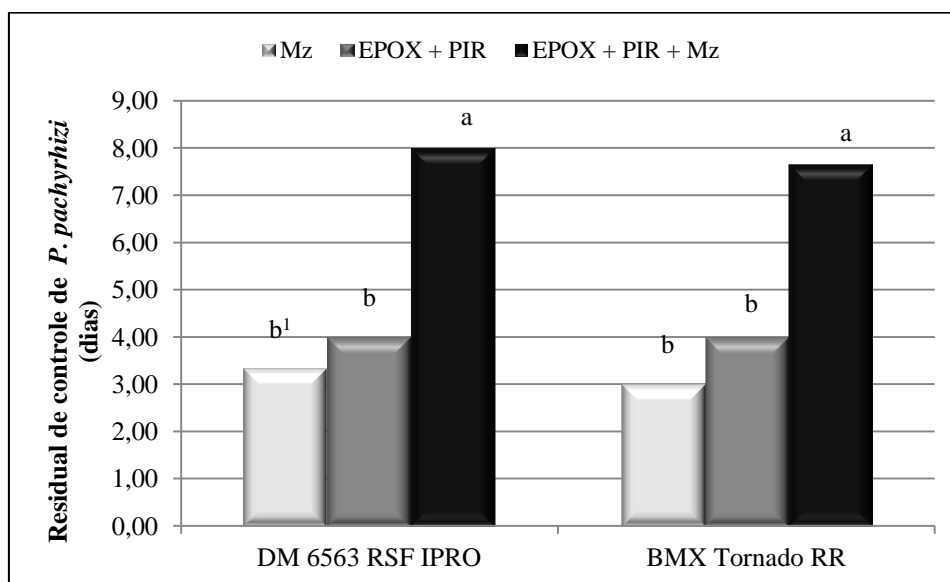


Figura 2 – Residual de controle de *Phakopsora pachyrhizi* (dias) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas. Mz = mancozebe; EPOX + PIR = epoxiconazol + piraclostrobina; EPOX + PIR + Mz = epoxiconazol + piraclostrobina + mancozebe. ¹Letras minúsculas (comparam os tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivares); médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C.V. (%) - (DM 6563 RSF IPRO) = 11,30; C.V. (%) - (BMX Tornado RR) = 9,64.

As Figuras 3 e 4 apresentam que em condições favoráveis ao desenvolvimento e sem adoção de medidas de controle de *P. pachyrhizi*, o progresso da doença é muito rápido, como ilustrado no tratamento testemunha (sem fungicida). Segundo Yorinori et al. (2005) e Hartman et al. (2015) esta doença é uma das doenças mais severas que incide na cultura da soja, com danos variando de 10% a 90% nas diversas regiões geográficas onde foi relatada. Para Sinclair e Hartman (1995), as curvas de progresso de doenças são usadas para o monitoramento de epidemias da ferrugem asiática baseadas em níveis de severidade em função do tempo.

Atualmente, há cultivares de soja com boas características agronômicas e resistência a *P. pachyrhizi*. No entanto, o controle da doença baseia-se, quase que exclusivamente, no uso de fungicidas. Os tratamentos fungicidas influenciaram o progresso de *P. pachyrhizi* em folhas de soja. Nas duas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR', pode-se observar que o tratamento fungicida com mancozebe reduziu o progresso da doença comparado ao EPOX + PIR. Porém, a doença teve ainda significativos progressos pela utilização isolada de mancozebe. Através dos dados da Figura 3 e 4, pode-se observar que a associação de mancozebe com EPOX + PIR reduz o progresso de *P. pachyrhizi* em folhas das duas cultivares de soja. Através desses dados, pode-se recomendar a associação de mancozebe com EPOX + PIR para manejo de *P. pachyrhizi*, pois a utilização isolada de EPOX + PIR pode comprometer negativamente o manejo da doença. Informações sobre a eficiência de fungicidas para controle das diferentes doenças são cada vez mais necessárias para orientar a sua correta utilização no campo (GODOY et al., 2007).

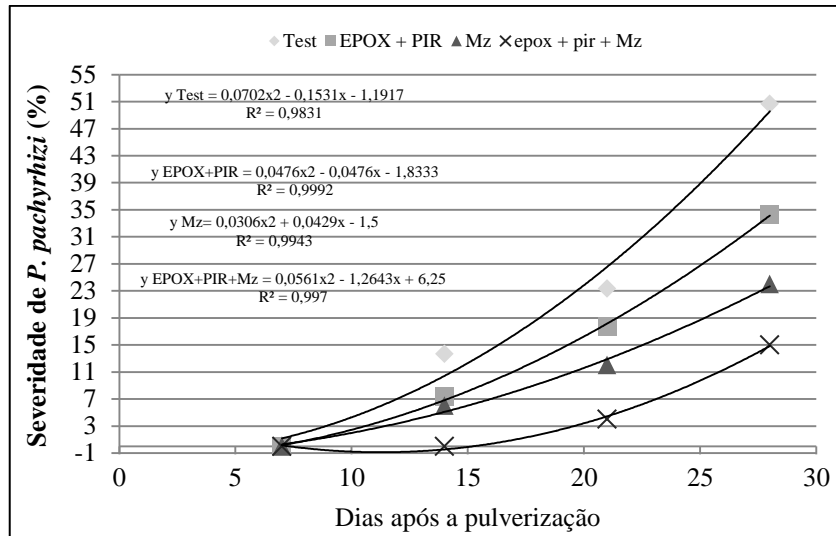


Figura 3 – Progresso da severidade de *Phakopsora pachyrhizi* (%) na cultivar 'DM 6563 RSF IPRO' com diferentes tratamentos fungicidas. Test = Testemunha (sem pulverização de fungicida); Mz = mancozebe; EPOX + PIR = epoxiconazol + piraclostrobina; EPOX + PIR + Mz = epoxiconazol + piraclostrobina + mancozebe.

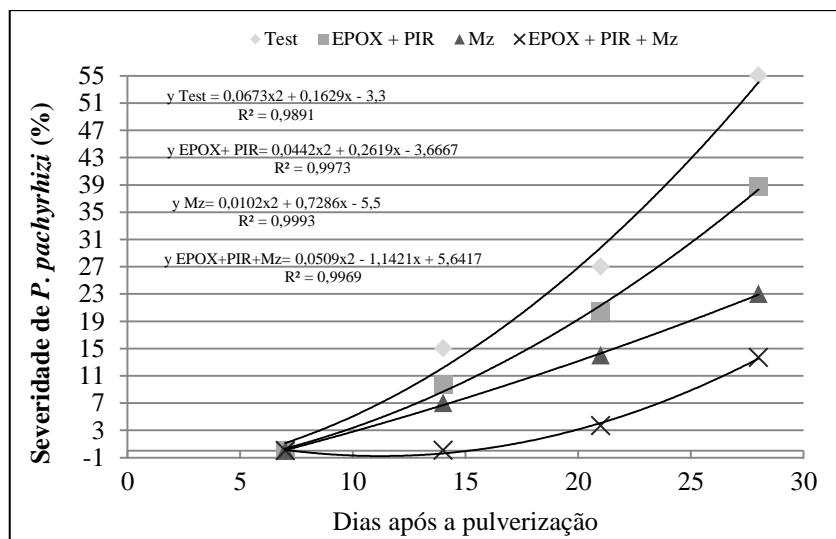


Figura 4 – Progresso da severidade de *Phakopsora pachyrhizi* (%) na cultivar 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas. Test = Testemunha (sem pulverização de fungicida); Mz = mancozebe; EPOX + PIR = epoxiconazol + piraclostrobina; EPOX + PIR + Mz = epoxiconazol + piraclostrobina + mancozebe.

A análise de variância da Área Abaixo da Curva de Progresso da doença (AACPD) mostrou efeito significativo ($P < 0,05$) para a interação entre cultivares e tratamentos fungicidas (Figura 5). A cultivar 'BMX Tornado RR' apresentou maior acúmulo da doença que a cultivar 'DM 6563 RSF IPRO'. Pode-se dizer que, a cultivar 'BMX Tornado RR' é mais suscetível à *P. pachyrhizi*. Koga et al. (2008) agruparam as cultivares em diferentes grupos

em relação a quantidade de doença e resistência inicial. Os autores identificaram genótipos que apresentaram lesões RB (“redish-brown”), e que variaram quanto à resistência inicial, resistência tardia, intensidade de esporulação, estabilidade da resposta qualitativa, produtividade de urediníósporos e número de dias para atingir 50% da severidade máxima.

Os tratamentos fungicidas apresentaram menor acúmulo da doença em relação à testemunha. A pulverização de mancozebe nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' reduziu os valores de AACPD comparada a EPOX + PIR. Quando mancozebe foi associado à EPOX + PIR e pulverizado em folhas de soja, o tratamento reduziu ainda mais o acúmulo da doença. O Mancozebe pertence ao grupo dos ditiocarbamatos. Mais especificamente, ele pertence à classe de compostos conhecidos como “etilenobisditiocarbamatos” (EBDCs). A decomposição metabólica dos EBDCs é complexa e resulta na formação de dissulfeto de carbono (CS_2), sulfeto de hidrogênio (H_2S), etileno bistiouram dissulfeto (ETD), etileno diisocianato (EDI), etilenotiouréia (ETU), etileno diamina (EDA), etilenouréia (EU) e 2-imidazole (WHO, 1988). ETU, EDA, EU, 2-imidazole, e outros metabolitos desconhecidos são substâncias formadas em plantas pela degradação e/ou biotransformação dos EBDCs aplicados em plantas (IUPAC, 1977). Sugere-se que essas substâncias formadas através da degradação e/ou biotransformação do mancozebe podem interferir em processos enzimáticos e no núcleo afetando os diferentes processos bioquímicos dentro do citoplasma da célula de *Phakopsora pachyrhizi*.

Os fungicidas IDM e IQo, especialmente em misturas, são amplamente utilizados para o controle da ferrugem da soja na América do Sul e na África Sulista (MILES et al., 2003, SCHERM et al., 2009). No centro do Brasil, as condições favoráveis de ambiente podem levar ao aparecimento precoce da doença, aumentando sua pressão. Segundo Godoy e Meyer (2014) em algumas regiões do Brasil, onde é possível realizar duas safras de soja no mesmo ano, até 12 aplicações desses fungicidas são às vezes necessárias, para o manejo da doença. Desse modo, o uso intensivo de fungicidas pode resultar na seleção de isolados resistentes aos fungicidas comercializados. De acordo com os relatos de Schmitz et al. (2014), Klosowski et al. (2016b) e FRAC (2015), os isolados de *P. pachyrhizi* do Brasil são menos sensíveis a IDM e IQo. Além disso, outras preocupações são relatadas pela incidência desse patógeno em soja. Klosowski et al. (2016a) observaram que os isolados com menor sensibilidade à IDM e alelos CYP51 diferentes apresentaram desvantagens competitivas em comparação com um isolado CYP51 de tipo selvagem sensível a IDM. Em contraste, o isolado com a mutação F129L no gene CYTB competiu igualmente bem com um isolado CYTB de tipo selvagem sensível a IQo nas condições desta experiência. Os alelos CYP51 e CYTB foram estáveis em todos os

isolados ao longo de quatro ciclos de doença quando cultivados isoladamente (KLOSOWSKI et al., 2016a). Este achado e os dados obtidos nesta experiência evidenciam cada vez mais a importância da associação do fungicida multissítio mancozebe, com fungicidas sítio-específicos, para o manejo de *P. pachyrhizi* no Brasil, além de contribuir para reduzir os riscos de resistência do fungo aos fungicidas.

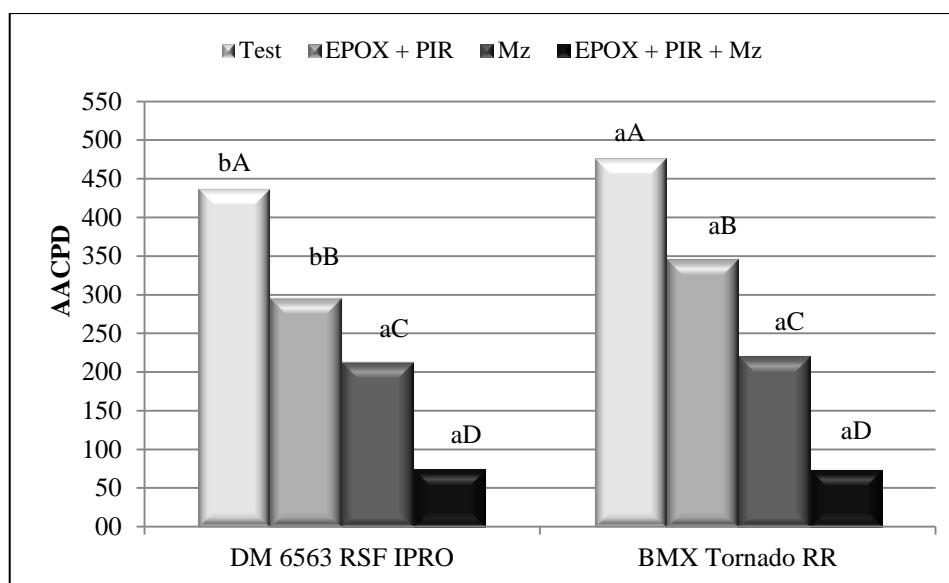


Figura 5 – Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) nas cultivares 'DM 6563 RSF IPRO' e 'BMX Tornado RR' com diferentes tratamentos fungicidas. Test = Testemunha (sem pulverização de fungicida); Mz = mancozebe; EPOX + PIR = epoxiconazol + piraclostrobina; EPOX + PIR + Mz = epoxiconazol + piraclostrobina + mancozebe. ¹Letras minúsculas (comparam as cultivares em cada combinação de tratamento fungicida); letras maiúsculas (comparam os tratamentos fungicidas em cada combinação de cultivares); médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). CV. (%) = 3,02.

Percebe-se que *P. pachyrhizi* tem causado grandes preocupações, devido a redução de sensibilidade do patógeno aos fungicidas IDM e IQo, além de causar redução de produtividade e perdas econômicas severas aos produtores de soja. Assim, mancozebe surge como uma importante ferramenta para o manejo da doença em soja à base de produtos químicos, que poderá ser associado aos fungicidas sítio-específico para aumentar o espectro de controle de *P. pachyrhizi*.

Futuras pesquisas podem identificar os principais metabólitos da rota de degradação e/ou biotransformação de mancozebe que atua contra *P. pachyrhizi*. Com isso, o próximo caminho seria sintetizar e incluir somente os metabólitos em co-formulação com outros ingredientes ativos, ao contrário de incluir a molécula inteira de mancozebe. Através desse

resultado, sugere-se que poderá ocorrer uma redução de custo para a manufatura do produto e uma maior eficácia no controle da doença.

5.6 Conclusão

Através das condições descritas no experimento, verificou-se que as cultivares de soja apresentam diferente severidade e a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Mancozebe associado com EPOX + PIR em calda de pulverização aumenta o residual de controle de *P. pachyrhizi* e reduz a severidade da doença.

5.7 Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS – AENDA. Mistura em tanque. **Caderno AENDA**, n. 1, p. 1-11, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 4074 que regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providencias. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2002.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can it be Managed? **2nd revised ed. Fungicide Resistance Action Committee**, Brussels. 2007.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley, 1990. 532 p.

[FRAC] Fungicide Resistance Action Committee. **FRAC recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution**. 2010. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf?sfvrsn=4>>. Acessado em: 10 jan. 2017.

[FRAC] Fungicide Resistance Action Committee. **Mutations associated with QoI-resistance**. 2015. Online. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/about-frac/mutations-associated-with-qoiresistance.pdf>>. Acessado em 13 jan. 2017.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015.

GISI, U.; CHIN, K. M.; KNAPOVA, G.; KUNG FARBER, R.; MOHR, U.; PARISI, S.; SIEROTZKI, H.; STEINFELD, U. Recent developments in elucidating models of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. **Crop Protection**, v. 19, p. 863-872, 2000.

GODOY, C. V. et al. Eficiência de fungicidas para controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2006/07. Resultados sumarizados dos ensaios em rede. **Embra Soja, Circular Técnica, 42**. Londrina, PR, 2007. 8 p.

GODOY, C. V. et al. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2012/13: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Embrapa Soja, Circular Técnica 99**. Londrina, PR, 2013. 7 p.

GODOY, C.V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.

GODOY, C. V.; MEYER, M. C. Resistencia a fungicidas na cultura da soja. 2014. **Informativo Meridional**, v. 51. Online. Disponível em: <<http://www.fundacaomeridional.com.br/Informativos/51/informativo-51.pdf>>. Acessado em 13 jan. 2017.

GODOY, C.V.; PALAVER, L. Ensaio cooperativo para avaliação da eficiência de fungicida no controle da ferrugem da soja, em Londrina, PR, na safra 2010/11. In: **Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil, 32, Resumos... 2011**. São Pedro, SP. 2011. pp. 182-184.

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb: past, present, and future. **Plant Disease**, v. 94, 1076-1087, 2010.

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 and pests**. Fifth edition. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 56-59.

KAARS SIJPESTEIN, A. Mode of action of some traditional fungicides. In: **Mode of Action of Antifungal Agents**. A. P. J. Trinci and J. F. Ryley, eds. Cambridge University Press, Cambridge. 1984. p. 135-153.

KLOSOWSKI, A. C.; BRAHM, L.; STAMMLER, G. DE MIO, L. L. M. Competitive fitness of *Phakopsora pachyrhizi* isolates with mutations in the CYP51 and CYTB genes. **Phytopathology**, v. 106, n. 11, p. 1278-1284, 2016a.

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, 2016b.

KOGA, L. J. et al . Análise multivariada dos componentes da resistência à ferrugem-asiática em genótipos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1277-1286, 2008.

LENZ, G.; BALARDIN, R. S.; MINUZZI, S. G.; TORMEN, N. R.; MARQUES, L. N. Espectro de gotas e idade de trifólios na taxa de absorção e efeito residual de fungicidas em soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1702-1708, 2011.

LUDWIG, R. D., THORN, G. D. Chemistry and mode of action of dithiocarbamate fungicides. **Advances in Pest Control Research**, v. 30, p. 219-252, 1960.

MILES, M. R.; HARTMAN, G. L.; LEVY, C.; MOREL, W. Current status of soybean rust control by fungicides. **Pesticide Outlook**, v. 14, p. 197-200, 2003.

RITCHIE, S.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Serv., Special Report, 53 (1982).

SCHERM, H.; CHRISTIANO, R. S. C.; ESKER, P. D.; DEL PONTE, E. M.; GODOY, C. V. Quantitative review of fungicide efficacy trials for managing soybean rust in Brazil. **Crop Protection**, v. 28, p. 774-782, 2009.

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

SILVA, L. H. C. P. D.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. **Summa Phytopathologica**, v. 41, p. 64-67, 2015.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: World Congress on Computers in Agricultura , 7., 2009, Reno. **Anais...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. **Soybean Rust Workshop**. Urbana: Illinois Proceedings, 1995.

[WHO] World Health Organization. Environmental Health Criteria 78. **Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, and propylenethiourea: a general introduction**. Geneva; 1988.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Ethylenethiourea. **Pure and Applied Chemistry**, v. 49, pp. 675-689, Pergamon Press, 1977.

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

6. CONCLUSÕES GERAIS

Este estudo evidencia que mancozebe influencia a persistência de fungicidas Inibidores da DesMetilação (IDM) e Inibidores da Quinona oxidase (IQo), reduzindo principalmente a penetração de epoxiconazol nos tecidos foliares. Mesmo com a redução da penetração dos ingredientes ativos (IA), a associação do mancozebe aos fungicidas IDM e IQo contribui para aumentar o residual de controle de *Phakopsora pachyrhizi* e reduzir a severidade da doença.

Percebe-se que as cultivares, idade de trifólio e associação de fungicidas são fatores que devem ser analisados antes da pulverização, nas quais afetarão a interação do produto e a planta, e conseqüentemente a concentração dos IA nos tecidos foliares.

As cultivares apresentaram diferentes taxas de penetração e dissipação dos IA em folhas. Após 48 h da pulverização ocorreu uma redução das concentrações dos IA nos tecidos foliares, evidenciando um processo de dissipação dos IA, após esse tempo.

Mancozebe é uma importante ferramenta no manejo de doenças em soja à base de agrotóxicos, que poderá ser associado aos fungicidas sítio-específicos para ampliar o espectro de controle de *P. pachyrhizi*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASSIL, K. L.; VAKIL, C.; SANBORN, M.; COLE, D. C.; KAUR, J. S.; KERR, K. J. Cancer health effects of pesticides: Systematic review. **Canadian Family Physician**, v. 53, p. 1704–1711, 2007.

BRIGGS, G. G.; BROMILOW, R. H. Influence of physicochemical properties on uptake and loss of pesticides and adjuvants from the leaf surface. In: **Ernst Schering Research Foundation Workshop**, vol. 12 Issue Interactions between Adjuvants, Agrochemicals and Target Organisms, 1994, pp. 1–26.

BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K. **Designing molecules for systemicity, mechanisms and regulation of transport processes**, in: R.K. Atkin, D.R. Clifford (Eds.), Monograph 18, British Plant Growth Regulator Group, 1989, pp. 113–128.

CABRAS, P.; ANGIANI, A.; GARAU, V.L.; MELIS M.; PIRISI, F.M.; CABITZA F.; PALA, M. The effect of simulated rain on folpet and mancozeb residues on grapes and wine leaves. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 36, n. 5, p.609-618, 2001.

COLLINS, C.; FRYER, M.; GROSSO, A. Plant uptake of non-ionic organic chemicals. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 45–52, 2006.

EWERT, M. S.; OUTLAW J. W. H.; ZHANG, S.; AGHORAM, K.; RIDDLE, K. A. Accumulation of an apoplastic solute in the guard-cell wall is sufficient to exert a significant effect on transpiration in *Vicia faba* leaflets. **Plant Cell Environments**, v. 23, p. 195-203, 2000.

FANTKE, P.; GILLESPIE, B. W.; JURASKE, R.; JOLLIET, O. Estimating half-lives for pesticide dissipation from plants. **Environmental Science and Technology**, v. 48, p. 8588–8602, 2014.

FANTKE, P.; JURASKE, R. Variability of Pesticide Dissipation Half-Lives in Plants. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 8, p. 3548-3562, 2013.

FANTKE, P.; WIELAND, P.; WANNAZ, C.; FRIEDRICH, R.; JOLLIET, O. Dynamics of pesticide uptake into plants: From system functioning to parsimonious modeling. **Environmental Modelling & Software**, v. 40, p. 316–324, 2013.

FORSTER, W. A.; ZABKIEWICZ, J. A.; LIU, Z. Cuticular uptake of xenobiotics into living plants. Part 2: influence of the xenobiotic dose on the uptake of bantazone, epoxiconazole and pyraclostrobin, applied in the presence of various surfactants, into *Chenopodium album*, *Sinapis alba* and *Triticum aestivum* leaves. **Pest Management Science**, v. 62, 664–672, 2006.

[FRAC] Fungicide Resistance Action Committee. **FRAC Code List[®]* 2016: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering)**, 2016. Disponível em: <<http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2016.pdf?sfvrsn=2>>. Acessado em: 30 de nov. de 2016.

GARCINUÑO, R. M.; RAMOS, L.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, P.; CÁMARA, C. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method with subsequent clean-up for the determination of ethylene bisdithiocarbamate residues in almond samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1041, p. 35-41, 2004a.

GENET, J.-L.; JAWORSKA, G.; DEPARIS, F. Effect of dose rate and mixtures of fungicides on selection for QoI resistance in populations of *Plasmopara viticola*. **Pest Management Science**, v. 62, p. 188-194, 2006.

GRIGNON, N.; JEUSSET, J.; LEBEAU, E.; MORO, C.; GOJON, A.; FRAGU, P. SIMS localization of nitrogen in the leaf of soybean: basis of quantitative procedures by localized measurements of isotopic ratios. **Journal of Trace and Microprobe Techniques**, v. 17, p. 477-490, 1999.

GULLINO, M. L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G. M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb: past, present, and future. **Plant Disease**, v. 94, p. 1076-1087, 2010.

HANADA, Y.; TANIZAKI, T.; KOGA, M.; SHIRAISHI, H.; SOMA, M. LC/MS studies on characterization and determination of N,N'-ethylenebisdithiocarbamate fungicides in environmental water samples. **Analytical Sciences**, v. 18, p. 441-444, 2002.

HATZIOS, K. K. Biotransformations of herbicides in higher plants. In: Grover, R., Cessna, A.J. (Eds.), **Environmental Chemistry of Herbicides**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1991. p. 141-185.

HOPKINS, L.; NORTON, L. B.; GYRISCO, G. G. Persistence of insecticide residues on forage crops, **Journal of Economic Entomology**, v. 45, p. 213-218, 1952.

HU, M.; WIATRAK, P. Effect of planting date on soybean growth, yield, and grain quality: Review. **Agronomy Journal**, v.104, p.785-790, 2012.

HUNSCHE, M. **Rainfastness of selected agrochemicals as affected by leaf surface characteristics and environmental factors**. University of Bonn, Cuvillier Verlag, Gottingen, pp. 2. 2006.

IVANCOVICH, A. Soybean rust in Argentina. **Plant Disease**, v.89, p.667-668, 2005.

JACOBSEN, R.E.; FANTKE, P.; TRAPP, S. Analysing half-lives for pesticide dissipation in plants. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 26, p. 325-342, 2015.

JEFFREE, C.E. Structure and ontogeny of plant cuticles, in **Plant Cuticles**, ed by Kersteins, G., BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, p. 33-82, 1996.

JURASKE, R.; ANTÓN, A.; CASTELLS, F. Estimating half-lives of pesticides in/on vegetation for use in multimedia fate and exposure models. **Chemosphere**, v. 70, p. 1748-1755, 2008.

KAARS SIJPESTEIN, A. Mechanism of action of fungicides. In: **Fungicide Resistance in Crop Plants**. J. Dekker and S. G. Georgopoulos, eds. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, the Netherlands. 1982. p. 32-45.

KAARS SIJPESTEIN, A. Mode of action of some traditional fungicides. In: **Mode of Action of Antifungal Agents**. A. P. J. Trinci and J. F. Ryley, eds. Cambridge University Press, Cambridge. 1984. p. 135-153.

KAWUKI, R.S.; ADIPALA, E. TUKAMUHABWA, P. Yield loss associated with soya bean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in Uganda. **Journal of Phytopathology**, v.151, p.7-12, 2003.

KIRKWOOD, R. C. Recent developments in our understanding of the plant cuticle: a barrier to the foliar uptake of pesticides. **Pest Science**, v. 55, p. 69–77, 1999.

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.

KOMOSSA, D.; LANGEBARTELS, C.; SANDERMANN, H. J. Metabolic processes for organic chemicals in plants, in **Plant Contamination – Modeling and Simulation of Organic Chemical Processes**, S. Trapp and J.C. McFarlane, eds., Lewis Publisher, Boca Raton, FL, 1995. p. 69–103.

KUDSK, P.; MATHIASSEN, S. K.; KIRKNEI, E. Influence of formulations and adjuvants on the rainfastness of maneb and mancozeb on pea and potato. **Pest Science**, v. 33, n. 1, p. 57-71, 1991.

LEGIND, C.N.; KENNEDY, C.M.; REIN, A.; SNYDER, N.; TRAPP, S. Dynamic plant uptake model applied for drip irrigation of an insecticide to pepper fruit plants. **Pest Management Science**, v. 67, n. 5, p. 521-527, 2011.

LUDWIG, R. D., THORN, G. D. Chemistry and mode of action of dithiocarbamate fungicides. **Advances in Pest Control Research**, v. 30, p. 219-252, 1960.

MCDOWELL, L. L.; WILLIS, G. H.; SOUTHWICK, L. M.; SMITH, S. Fenvalerate wash-off from cotton plants by rainfall. **Pesticide Science**, v. 21, n. 2, p. 83–92, 1987.

MILES, J. R. W.; SANS, W. W.; WRESSELL, H. B.; MANSON, G. F. Growth-dilution as a factor in the decline of pesticide residues on alfalfa-grass forage. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 44, p. 37–41, 1964.

MUELLER, D. S.; BRADLEY, C. A. **Field crop fungicide for the north central United States**. North Central Integrated Pest Management Center, Urbana-Champaign, IL. 2008.

NEELY, D. Deposition and tenacity of foliage protectant fungicides. **Plant Disease Report**, v. 55, n. 10, p. 898–902, 1971.

OHM, J. W.; SHANER, G. E. Three components of slow leaf-rusting at different growth stages in wheat. **Phytopathology**, v.66, p.1356-1360, 1976.

PICK, F. E.; VAN DYK, L. P.; DE BEER, P. R. The effect of simulated rain on deposits of some cotton pesticides. **Pest Science**, v. 15, p. 616-623, 1984.

REDDY, K.N.; LOCKE, M.A.; BRYSON, C.T. Foliar washoff and runoff losses of lactofen, norflurazon, and fluometuron under simulated rainfall. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2338-2343, 1994.

REDDY, K. N.; LOCKE, M. A. Imazaquin spray retention, foliar washoff and runoff losses under simulated rainfall. **Pest Science**, v. 48, p. 179-187, 1996.

RIEDERER, M.; FRIEDMANN, A. Transport of lipophilic non-electrolytes across the cuticle, in: M. Riederer, C. Miller (Eds.), **Biology of the Plant Cuticle**, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 2006, pp. 250–279.

SANDERMANN, H. JR. Plant metabolism of xenobiotics. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 17, p. 82-84, 1992.

SATCHIVI, N. M.; STOLLER, E. W.; WAX, L. M.; BRISKIN, D. P. A nonlinear, dynamic, simulation model for transport, and whole plant allocation of systemic xenobiotics following foliar application. IV: Physicochemical properties requirements for optimum absorption and translocation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, p. 83–97, 2006.

SAUTER, H. Strobilurins and other complex III inhibitors, in: W. Krämer, U. Schirmer (Eds.), **Modern Crop Protection Compounds**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007, pp. 457–491.

SCHEPERS, H. T. A. M. Effect of rain on efficacy of fungicide deposits on potato against *Phytophthora infestans*. **Potato Research**, v. 39, n. 4, p. 541–550, 1996.

SCHMITZ, H. K.; MEDEIROS, C.-A.; CRAIG, I. R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-oxidase-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, p. 378-388, 2014.

SCHÖNHERR, J. Resistance of plant surfaces to water loss: Transport properties of cutin, suberin and associated lipids, in **Physiological plant ecology, Part 2**, ed by Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. and Ziegler H., Springer, Berlin, Heidelberg, New York, p. 153-179, 1982.

SCHÖNHERR, J.; BAUR, P. Modeling penetration of plant cuticles by crop protection agents and effects of adjuvants on their rates of penetration. **Pest Science**, v. 42, p. 185–208, 1994.

SILVA, L. H. C. P. D.; CAMPOS, H. D.; SILVA, J. R. C.; REIS, E. M. Control of Asian soybean rust with mancozeb, a multi-site fungicide. **Summa Phytopathologica**, v. 41, p. 64-67, 2015.

SMITH, C. N.; PAYNE JR, W. R.; MULKEY, L. A.; BENNER, J. E.; PARRISH, R. S.; SMITH, M. C. The persistence and disappearance by washoff and dryfall of methoxychlor from soybean foliage: a preliminary study. **Journal of Environmental Science Health**, v. 16, n. 6, p. 777-794, 1981.

SOARES, R. M.; RUBIN, S. de A. L.; WIELEWICKI, A. P.; OZELAME, J. G. Fungicidas no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e produtividade da soja. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1245-1247, 2004.

STENERSEN, J. **Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology**, CRC Press, Boca Raton, FL, 2004.

STOCK, D. Achieving optimal biological activity from crop protection formulations: design or chance? **Proc Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases**, Brighton, British Crop Protection Council, Farnham, UK, 1996. pp. 791–800.

STOCK, D.; HOLLOWAY, D. J.; GRAYSON, B. T.; WHITEHOUSE, P. Development of a predictive uptake model to rationalize selection of polyoxyethylene surfactant adjuvants for foliage-applied agrochemicals. **Pest Science**, v. 37, p. 233–245, 1993.

SZKOLNIK, M. Physical modes of action of sterol inhibiting fungicides against apple diseases. **Plant Disease**, v. 65, p. 981-985, 1981.

THACKER, J. R. M.; YOUNG, R. D. F. The effects of six adjuvants on the rainfastness of chlorpyrifos formulated as an emulsifiable concentrate. **Pest Science**, v. 55, n. 2, p. 198-200, 1999.

VAN EERD, L. L.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M.; HALL, J. C. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, p. 472-495, 2003.

WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides – present status and future challenge, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 87, p. 1–8, 2007.

WAUCHOPE, R. D.; JOHNSON, W. C.; SUMNER, H. R. Foliar and soil deposition of pesticide sprays in peanuts and their washoff and runoff under simulated worst-case rainfall conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 23, p. 7056-7063, 2004.

WHITFORD et al. **Adjuvants and the power of the spray droplet: Improving the performance of pesticide applications**. Purdue University, West Lafayette, Indiana, EUA. 2014.

WICKS, T.; LEE, T. C. Evaluation of fungicides applied after infection for control of *Plasmopara viticola* on grapevine. **Plant Disease**, v. 66, p. 839-841. 1982.

WILLIS, G.H.; MCDOWELL, L.L.; SMITH, S.; SOUTHWICK, L.M. Foliar washoff of oil-applied malathion and permethrin as a function of time after application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 6, p. 1086-1089, 1992.

WONG, F. P.; WILCOX, W. F. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). **Plant Disease**, v. 85, p. 649-656, 2001.

ZABKIEWICZ, J. A. Spray formulation efficacy – holistic and futuristic perspectives. **Crop Protection**, v. 26, p. 312-319, 2007.