



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA: TESTES DE
INDEPENDÊNCIA E RELAÇÃO ENTRE NOVAS FONTES
GENÉTICAS DE RESISTÊNCIA E À PI 203398 (ABURA)”**

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA: TESTES DE
INDEPENDÊNCIA E RELAÇÃO ENTRE NOVAS FONTES
GENÉTICAS DE RESISTÊNCIA E À PI 203398 (ABURA)”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Carpentieri Pipolo.

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias.

Londrina
2012

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R119t Rachid, Breno Francovig.
“Ferrugem asiática da soja: testes de independência e relação entre
novas fontes genéticas de resistência e à pi 203398 (abura)” / Breno
Francovig. – Londrina, 2012.
42 f.: il.

Orientadora: Valéria Carpentieri Pipolo.
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de
Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação
em Agronomia, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Soja – Melhoramento genético – Teses. 2. Soja – Ferrugem asiática –
Teses. 3. Soja – Resistência a doenças e pragas – Aspectos genéticos – Teses.
4. Soja – Linhagem (Genética) – Teses. I. Pipolo, Valéria Carpentieri. II.
Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 631.52:633.34

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA: TESTES DE INDEPENDÊNCIA E
RELAÇÃO ENTRE NOVAS FONTES GENÉTICAS DE RESISTÊNCIA
E À PI 203398 (ABURA)”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, da Universidade
Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Giovanetti Canteri
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
UEL – Londrina – PR

Dr. Romeu Afonso de Souza Kiihl
TMG – Londrina - PR

Pós-Dr. Jair Unfried
TMG – Londrina - PR

Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias
UEL – Londrina - PR

Londrina, 24 de fevereiro de 2012.

DEDICO

À minha esposa, Fernanda G. Maciel Rachid,
ao meu filho Pedro Maciel Rachid
e aos meus pais Ligia Eleodora Francovig
Rachid
e Aziz Rachid Junior.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Fernanda G. Maciel Rachid, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais Ligia Eleodora Francovig Rachid e Aziz Rachid Junior, que sempre me deram todas as condições para meu crescimento profissional e pessoal. Meus queridos pais muito obrigado por tudo.

Aos meus irmãos Kalyl Francovig Rachid e Alex Francovig Rachid, pela torcida e palavras de apoio.

Aos meus tios Ronaldo Piazzalunga e Lucia Maria Francovig Piazzalunga pela ajuda nesses anos de estudo, sempre serei grato.

Às minhas “irmãs” Juliana Francovig Piazzalunga e Maria Tereza Francovig Piazzalunga pela compreensão e carinho.

À Prof^a e orientadora Dra. Valéria Carpentieri Pipolo, e ao pesquisador e coorientador Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias, meu muito obrigado pela paciência, tempo e disposição em sempre sanar minhas dúvidas e resolver meus problemas.

Aos companheiros de trabalho do melhoramento Paulo Roberto Choucino Andregretti, Rogério Matsuo Omura e Roberto Chagas, pelo auxílio prestado.

Aos amigos Luiz Carlos Benato, Nilson Valentim, Rodrigo Bhremer, Allan Misael Flausino e principalmente “Tia” Alda pela amizade e pelas palavras de conforto em dias difíceis.

À Coordenação do curso de Doutorado em Agronomia e à Universidade Estadual de Londrina.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Soja – Embrapa Soja, por ter disponibilizado sua estrutura para desenvolvimento do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro.

À Deus porque sem Ele nada disso seria possível.

RACHID, B. F. “**Ferrugem asiática da soja: testes de independência entre a resistência de nove fontes em relação à PI 203398 (Abura)**”. 2012. 42 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

A ferrugem asiática da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. é hoje a principal doença da soja (*Glycine max* (L.)) e o desenvolvimento de cultivares resistentes é um desafio para os programas de melhoramento dessa cultura. O objetivo deste estudo foi identificar novas fontes de resistência à ferrugem da soja através do estudo da relação genética entre a PI 203398 (Abura) e nove linhagens selecionadas para o desenvolvimento de cultivares resistente à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). As linhagens GC 00138-29 e PI 587880A, não obtiveram segregação na população F₂ quando cruzadas com a fonte PI 203398 (Abura), dessa forma, essas linhagens possuem pelo menos um gene de resistência em comum a PI 203398 (Abura). As demais fontes testadas, (PI 224270, PI 423956, PI 587905, PI 587920, PI 594766, PI 594767A e a PI 200455) obtiveram o padrão digênico de segregação 15:1 (resistente e suscetível respectivamente) quando cruzadas com a fonte PI 203398 (Abura), indicando que essas linhagens possuem um gene resistência diferente ao gene de resistência da fonte PI 203398 (Abura).

Palavras-chave: Resistência vertical. Melhoramento genético. *Phakopsora pachyrhizi*. *Glycine max*.

RACHID, B. F. "Asian Soybean Rust: tests of independence between the resistance of nine sources in relation to PI 203398 (Abura)". 2012. 42 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

The Asian Soybean Rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* Syd. is the main disease of soybean (*Glycine max* (L.)) and the development of resistant cultivars is a challenge for this crop improvement programs. The objective of this study was to identify new sources of resistance to soybean rust by studying the genetic relationship between PI 203398 (Abura) and nine sources selected for the development of cultivars resistant to rust (*Phakopsora pachyrhizi*). Sources GC 00138-29 and PI 587880A, did not have segregation in the F2 population when crossed with the source PI 203398 (Abura), thus, these sources have at least one resistance gene in common with PI 203398 (Abura). The other sources tested (PI 224270, PI 423956, PI 587905, PI 587920, PI 594766, PI 200455 and PI 594767A) had the pattern of digenic segregation 15:1 (resistant and susceptible, respectively) when crossed with PI 203398 (Abura), indicating that these sources have a different resistance gene of the PI 203398 (Abura).

Keywords: Vertical resistance. Breeding. *Phakopsora pachyrhizi*. *Glycine max*.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Padrões de segregação obtidos das populações F2 derivadas dos cruzamentos entre cada uma das fontes de resistência à ferrugem com a testadora PI 203398 (Abura), com a respectiva proporção teórica aceita pelo teste de qui-quadrado (χ^2), o número de plantas avaliadas (N), tipo de lesão (L), número de plantas observadas (O) e esperadas (E), grau de liberdade (G.L.) e a probabilidade ($P > 0,05$)28
- Tabela 2** – Resumo dos resultados e conclusões e proporção genotípicas propostas para nove linhagens resistentes à ferrugem asiática (*P. pachyrhizi*)30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 A CULTURA DA SOJA	12
2.2 MELHORAMENTO DE SOJA VISANDO RESISTÊNCIA A DOENÇAS	13
2.3 DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA.....	14
2.4 FERRUGEM ASIÁTICA	15
2.4.1 Etiologia.....	17
2.4.2 Sintomatologia	17
2.4.3 Epidemiologia e controle.....	18
2.5 CONTROLE GENÉTICO	19
3 ARTIGO: “Ferrugem asiática da soja: Testes de independência e relação entre novas fontes genéticas de resistência e à PI 203398 (Abura)”	23
3.1 INTRODUÇÃO.....	23
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4 REFERÊNCIAS	32
ANEXOS	35
Anexo A –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 224270	36
Anexo B –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 423956	37
Anexo C –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 587905	38

Anexo D –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 587920	39
Anexo E –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 594766	40
Anexo F –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 594767A.....	41
Anexo G –Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a popul	

1 INTRODUÇÃO

A ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sdy., foi detectada no Brasil em 2001, desde então, tem sido motivo de grande preocupação, tanto por parte de pesquisadores quanto de produtores de soja em todo o mundo, devido ao elevado potencial de danos que o patógeno responsável por essa doença pode causar em lavouras comerciais. Perdas variando de 10% a 80% já foram registradas sob condições experimentais, em vários países asiáticos e na Austrália (OGLE et al., 1979).

Entre as safras de 2001/2002 a 2009/2010 as perdas chegaram a pouco mais de 18 milhões de toneladas, o que representa a quantia de 4,3 bilhões de dólares. Ao se somar a essa perda na produção o custo de agro químicos, os quais chegaram a quase 14 bilhões de dólares, o custo total da ferrugem asiática da soja chega quase à extraordinária quantia de 19 bilhões de dólares (Consórcio antiferrugem, 2011).

O método mais empregado para controle tem sido os fungicidas. Devido à agressividade do fungo o monitoramento racional e contínuo é essencial a fim de evitar impactos negativos ao ambiente e reduções na produtividade. Assim, o uso de cultivares resistente é o método mais indicado para o controle da doença.

A ferrugem asiática é caracterizada por dois tipos de lesões, as quais podem ser classificadas como castanho-clara (TAN) ou castanho-avermelhada (RB "Reddish Brown"). As plantas com lesões TAN são suscetíveis ao fungo *P. pachyrhizi* e as plantas com lesões RB são resistentes. Segundo Camargo (1995), as lesões do tipo RB são reações de hipersensibilidade.

Na literatura foram descritas em variedades exóticas (PI – *plant introduction*) cinco genes independentes de resistência: Rpp1 (PI 200692), Rpp2 (PI 230970), Rpp3 (PI 462312), Rpp4 (PI 459025) e Rpp5 (PI 200526) (Bromfield & Hartwig, 1980; McLean & Byth, 1980; Hartwig, 1986; Monteros, 2007; Hyten, 2007; Garcia et al., 2008).

A PI 203398 (Abura), muito usada no Brasil nos programas de melhoramento para alimentação por ser fonte de proteína, foi descrita apresentando gene de resistência diferente dos locos descritos até o momento (MILES et al., 2006; LAPERUTA et al., 2008; RACHID, 2008).

O fungo da ferrugem apresenta alta capacidade de desenvolver novas raças e, no Brasil, dois anos após o primeiro relato da doença, algumas fontes de resistência já haviam sido quebradas. Estudos envolvendo acessos dos bancos de germoplasma brasileiro e americano tem indicado várias PI's expressando resistência à ferrugem, entretanto pouca informação existe sobre os genes envolvidos na resistência.

É de muita importância para os programas de melhoramento o conhecimento sobre o número de locos e o tipo de ação gênica envolvidos na resistência para integração desses genes nos genótipos elites.

O presente estudo tem por objetivo foi identificar novas fontes de resistência a ferrugem da soja através da identificação da relação genética entre a PI 203398 (Abura) e nove linhagens selecionadas para o desenvolvimento de cultivares resistente à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DA SOJA

A cultura da soja é originária da Manchúria, região da China. É cultivada a mais de cinco mil anos e foi espalhada pelo mundo por viajantes ingleses, imigrantes japoneses e chineses (EMBRAPA, 2012).

A primeira tentativa, sem êxito, de introdução da soja no Brasil ocorreu no ano de 1882, no estado da Bahia. Foi trazida por Gustavo Dutra, professor da Universidade Estadual da Bahia, responsável pelos primeiros estudos nessa cultura. A segunda tentativa se deu após 10 anos, desta vez trazida por imigrantes japoneses, nessa época o interesse na cultura da soja era para a utilização do grão como alimentação animal, não tendo o interesse no segmento industrial. No início do século XX o IAC começou a distribuir as sementes de soja para os produtores, sendo introduzida em 1914 no Rio Grande do Sul e em 1954 no Paraná (EMBRAPA, 2012).

No ano de 1958, devido ao aumento na produção, foi instalada no estado do Rio Grande do Sul uma fábrica destinada à industrialização da soja, com capacidade de 150 toneladas dia. O grande impulso se deu em meados de 70 por diversos fatores, entre eles o início do uso da sucessão de culturas “trigo-soja” nos estados do Sul; o esforço para produção de aves e suínos, o qual gerou demanda do farelo; e a ocorrência da quebra de produção na Rússia e a incapacidade dos Estados Unidos de suprir a demanda mundial (EMBRAPA, 2012).

No início do desenvolvimento da cultura da soja no Brasil, a produção estava confinada nos Estados do Sul e São Paulo, sendo a produção nacional na safra de 1964/1965 de apenas 500 mil toneladas. Com o decorrer dos anos novas variedades foram adaptadas às regiões de baixa latitude, com isso, a cultura da soja foi expandida para o Cerrado, o qual compreendia os estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Bahia e Maranhão.

Após a expansão da fronteira agrícola para o Cerrado brasileiro, tanto a área plantada quanto o produção nacional deram um grande salto. A área plantada obteve um acréscimo entre as safras de 1976/1977 e 1997/1998 de aproximadamente 90%, passando de pouco menos de 7 milhões de hectares para pouco mais de 13 milhões de hectares. Atualmente a área plantada já alcança o

patamar de 23 milhões de hectares, um acréscimo de 76% quando comparada com a safra 97/98 (BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004; CONAB, 2010).

Nesse mesmo período a produção passou de 12 milhões de toneladas na safra 1976/1977, para 31 milhões de toneladas na safra 1997/1998 e chegando atualmente ao patamar de 67 milhões de toneladas, sendo um acréscimo de 158% entre as safras de 76/77 e 97/98, e de 115% entre as safras de 97/98 e 2009/2010 (CONAB, 2010).

2.2 MELHORAMENTO DE SOJA VISANDO RESISTÊNCIA A DOENÇAS

Desde a antiguidade até os momentos atuais, as doenças de plantas têm sido responsáveis por grandes mudanças sociais, políticas, econômicas e científicas. Desde o momento que o homem passou a domesticar as plantas, nem sempre significou progresso. A agricultura é uma atividade dinâmica em que, no processo de produzir alimentos e matérias-primas para atender suas necessidades, o homem passou a ser o maior responsável pelo desequilíbrio ambiental. No lugar da vegetação que se desenvolveu por séculos ou milênios, a substituição da diversidade natural das plantas em milhares ou milhões de hectares, por uma ou poucas espécies geneticamente uniformes, tornou inevitável o surgimento e ou agravamento das doenças existentes. O homem aprendeu com seus erros e os constantes desafios obrigaram-no a utilizar a inteligência para solucionar os problemas criados por ele (NASS, L.L. et al. (Ed.), 2001).

Um exemplo clássico deste desequilíbrio causado pelo homem, foi a falência do projeto de plantio de seringueiras (*H. brasilienses*) na década de 20, pela Ford Motor Company, no Pará. O fungo *Microcyclus ulei* causador do mal-das-folhas inviabilizou totalmente o projeto, pois em seu ambiente selvagem a doença era diluída no meio de uma vegetação densa e diversificada, no momento em que ocorreu o plantio de uma população uniforme o fungo devastou as plantações existentes (TRINDADE & FURTADO, 1997).

As doenças constituem os principais fatores limitantes do rendimento e da qualidade da produção, exigindo maior conhecimento técnico para o controle. Para tentar minimizar ou mesmo sanar os danos causados pelas doenças existem meios químicos, tratamentos culturais e genéticos. O controle através da resistência genética é a forma mais eficiente e econômica, porém, exige um contínuo trabalho

de melhoramento para fazer frente à variação genética do patógeno (PEREIRA et al., 1985; NASS, L.L. et al. (Ed.), 2001).

Para que um programa de melhoramento visando resistência seja justificável e atinja seus objetivos é necessário que seja relevante economicamente, tenha disponibilidade de genes de resistência, banco de germoplasma e métodos de melhoramento, cooperação ampla entre as áreas de conhecimento, agilidade do desenvolvimento de cultivares resistentes e capacidade de produção de semente básica aos produtores (PEREIRA et al, 1985).

2.3 DOENÇAS DA CULTURA DA SOJA

Devido à expansão do cultivo da soja no mundo, as doenças da soja tiveram um crescimento tanto de número quanto de severidade. Algumas doenças já eram conhecidas e recentemente outras foram introduzidas nas áreas de produção. Sabe-se que mais de 100 patógenos afetam a planta de soja, sendo deste total, apenas 35 capazes de causar alguma perda econômica. Todas as partes da planta de soja são suscetíveis a alguma doença que reduz tanto a qualidade quanto a quantidade de sementes produzidas (SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975).

As doenças da cultura da soja podem ser classificadas em infecciosas e não infecciosas. As doenças infecciosas são causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, capazes de transmitir a doença de plantas infectadas para as não infectadas, mas apenas sob condições favoráveis. Já as doenças não infecciosas são causadas pela grande variedade de condições ambientais e nutricionais desfavoráveis (SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975).

No Brasil aproximadamente 40 doenças já foram identificadas e esse número tende a aumentar devido à expansão da cultura para novas áreas, utilização da monocultura e introdução de novos patógenos. A importância de cada doença varia de acordo com as condições climáticas presente no respectivo ano, sendo as perdas na produção da lavoura variando de 20% até 100% (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005).

2.4 FERRUGEM ASIÁTICA

A ferrugem asiática esta hoje entre as vinte mais devastadoras doenças presente em regiões tropicais e subtropicais em todo o globo terrestre. No hemisfério leste os países asiáticos e a Austrália são afetados pela doença. No hemisfério oeste Brasil, Paraguai, América Central, Caribe e recentemente os Estados Unidos sofrem com os efeitos destruidores dessa doença (BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004; SCONYERS, L.E. et al., 2006).

Na América do Sul, a ferrugem asiática da soja foi constatada em março de 2001 em Pitapó, Paraguai, já causando severa perda na produção. Em maio de 2001 a doença já infectava plantas voluntárias e lavouras de segundo plantio tanto no Paraguai quanto no Brasil (YORINORI, J.T. et al. 2002).

Na safra 2001/02, a ferrugem asiática atingiu as lavouras de Encarnación a Catuetê, no Paraguai, porém, a estiagem, na segunda metade do ciclo, e o uso de fungicidas evitou maiores perdas. No Brasil, nessa mesma safra, causou perdas de 60% nos estados de Goiás e Mato Grosso, entre 30% a 75% no estado de Mato Grosso do Sul e de 48% no estado do Rio Grande do Sul (Yorinori, J.T. et al., 2004). As perdas econômicas com a ferrugem asiática nesse ano safra foram de 300 milhões de dólares (EMBRAPA, 2012).

Na safra 2002/2003 a ferrugem asiática já estava disseminada por quase todo o Brasil, exceto Roraima e Pará, causando grandes perdas na Bahia e Minas Gerais. As perdas na produção chegaram a 63% e as econômicas quase a 2,0 bilhões de dólares (EMBRAPA, 2012; YORINORI, J.T. et al., 2004). As perdas nessa safra na região centro-norte do Brasil foram drásticas devido ao aparecimento de uma nova raça mais virulenta que quebrou a resistência de todas as variedades comerciais disponíveis e pela primeira vez foi relatado infecção e esporulação nos cotilédones (YORINORI, J.T. et al., 2004).

Na safra 2003/2004, exceto Roraima havia constatado a presença da ferrugem asiática dentre todas as regiões produtoras de soja. As maiores perdas ocorreram nos estados de Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais e São Paulo, sendo as perdas estimadas em 2,3 bilhões de dólares. Os plantios em pivôs centrais ficaram marcados como o início do epicentro da ferrugem para áreas de sequeiro e responsáveis pelo aumento do inoculo nessa safra (EMBRAPA, 2012).

Na safra 2004/2005, a estiagem na região centro sul do Brasil, acompanhada de altas temperaturas desfavoreceu o desenvolvimento da ferrugem asiática. As perdas de grãos de soja atribuídas à seca foram estimadas em mais de 11 milhões de toneladas. Apesar das condições climáticas não favoráveis ao desenvolvimento da doença, ainda houve lavouras onde a ferrugem se desenvolveu, mas, na grande maioria, a doença não atingiu o nível de dano econômico (YORINORI, J.T. et al., 2004).

Na safra seguinte 2005/2006, Roraima continuou sendo o único estado brasileiro não tendo a incidência da doença. O plantio da soja na entressafra aumentou o inoculo do patógeno promovendo a ocorrência da doença em estádios iniciais da cultura no Mato Grosso, São Paulo e Minas Gerais. Muitos produtores usaram metade da dose recomendada do fungicida na expectativa de diminuir o custo, resultando em muitas falhas de controle da doença. Entre perdas e fungicidas o custo total da doença nessa safra foi de 2,8 bilhões de dólares (EMBRAPA, 2012).

Nas safras 2006/2007, 2007/2008 e 2008/2009 exceto para Roraima chuvas bem distribuídas favoreceram a ferrugem em todos os estados. Na safra 2006/2007 o vazio sanitário foi implementado nos estados de Goiás e Mato Grosso. Em 2007/2008 o vazio sanitário foi expandido para os estados de Mato Grosso do Sul, Tocantins, Minas Gerais, São Paulo e Maranhão. O Inverno seco e atraso nas chuvas retardaram os plantios reduzindo a viabilidade e a manutenção do inóculo inicial da ferrugem. Nessas safras nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, foi observada menor sensibilidade do fungo aos triazóis. Em 2008/2009 a estiagem atingiu vários estados principalmente Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, levando a um menor desenvolvimento da doença. A Bahia, por utilizar cultivares mais tardias e pela ocorrência de chuvas melhores distribuídas, apresentou maior severidade da doença. A perda econômica nessas safras foi na ordem de 2,8 bilhões de dólares, 2,5 bilhões de dólares e 1,9 bilhões de dólares respectivamente (EMBRAPA, 2012).

2.4.1 Etiologia

A ferrugem é causada pelos parasitas obrigatórios *Phakopsora pachyrhizi* e *Phakopsora meibomiae*, sendo a distinção entre as duas espécies feita por meio da morfologia de teliósporos e da análise de DNA (Juliatti, F.C. et al., 2005). Entre esses dois patógenos, a ferrugem asiática da soja causada pela *Phakopsora pachyrhizi* responsável por causar significantes perdas de produção na Ásia e América do Sul, é a mais agressiva entre os dois patógenos (MILES, M.R., FREDRICK, R. D., HARTMAN, G.L. 2003).

São conhecidos dois tipos de esporos em *P. pachyrhizi*, os uredósporos e os teliósporos. Os uredósporos são os mais comuns e constituem a fase epidêmica da doença, possuem aparência pulverulenta (assemelhando a terem sido polvilhadas), são sésseis, ovóides a elípticos, largos com parede de 1,0 µm de espessura, densamente equinulados e variando de incolor a castanho-amarelo pálido.

A produção de télios e teliósporos é descrita na literatura em campo e casa-de-vegetação na Ásia. Os teliósporos unicelulares são dispostos em subglobosos a oblongos elipsoidais, suas paredes também variam de incolor a castanho-amarelo pálido e com espessura ligeiramente maior na parte apical (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005; JULIATTI, F.C. et al., 2005; KOCH, E. et al., 1983, ONO, Y. et al., 1992).

2.4.2 Sintomatologia

Os sintomas são bastante semelhantes aos da ferrugem americana podendo aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento em cotilédones, folhas e hastes, sendo os sintomas nas folhas os mais característicos da doença. Os primeiros sintomas são caracterizados por minúsculos pontos, máximo de 1,0 mm de diâmetro e se expandem rapidamente de 2 a 3 mm com a evolução da doença, são mais escuros do que o tecido sadio da folha, de uma coloração esverdeada a cinza-esverdeada, com correspondente protuberância (urédia) na parte inferior da folha (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005; BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004).

As urédias estão predominantemente na face inferior da folha, mas podem, esporadicamente, aparecer na face superior das folhas. Progressivamente,

as urédias, adquirem cor castanho-clara a castanho-escura, abrem-se em um minúsculo poro, expelindo os uredósporos (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005; BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004; SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975).

Os uredósporos, inicialmente de coloração hialina, tornam-se bege e acumulam-se ao redor dos poros ou são carregados pelo vento. À medida que prossegue a esporulação, o tecido da folha ao redor das primeiras urédias, adquire coloração castanho-clara, quando a lesão é TAN, ou seja, suscetível, ou coloração castanho-avermelhado, sendo assim lesão RB, resistente. As urédias que deixam de esporular apresentam as pústulas, nitidamente, com poros abertos, o que permite distingui-la de outras doenças (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005; SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975).

Quanto mais cedo ocorrer a desfolha, menor será o tamanho dos grãos e, conseqüentemente, maior a perda do rendimento e da qualidade. (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005; SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975).

2.4.3 Epidemiologia e Controle

O fungo é um parasita obrigatório e sobrevive em meses de inverno e, sob condições desfavoráveis, em hospedeiros alternativos. Mais de 95 espécies e plantas de 42 gêneros da família Fabaceae, a mesma da soja, são hospedeiras do fungo (JULIATTI, F.C. et al., 2005).

A penetração ocorre de forma direta através da cutícula e produz as hifas, as quais crescem intercelularmente e colonizam as células do mesófilo. Na literatura existem relatos que a penetração pode também ocorrer através dos estômatos. O processo de infecção depende da disponibilidade de água na folha, sendo necessário no mínimo seis horas, com um máximo de infecção ocorrendo entre 10 a 12 horas de molhamento foliar, com temperatura variando de 15°C a 28°C. A nova geração de uredósporos é produzida 10 horas após a primeira infecção e as lesões já começam a ser visualizadas nas folhas superiores e não somente nas folhas inferiores. A produção de uredósporos de uma simples urédia pode ocorrer por 9 a 10 dias após a penetração. Os uredósporos podem se manter viáveis de 40 a 60 dias, a qual pode ser prolongada pela umidade e temperatura.

A epidemia de ferrugem asiática é extremamente influenciada pelas condições ambientais, com as condições ambientais ideais os uredósporos poderão

ser dispersos, depositados e germinar em novas plantas em um curto espaço de tempo.

A gama de hospedeiros é enorme e envolve muitas plantas leguminosas. Na Austrália, a ferrugem asiática pode persistir de um ano a outra em certo tipo de leguminosa para pastagem, o qual pode servir de reservatório de inóculo para o próximo cultivo de soja. Até o momento não existem relatos de transmissão do fungo através da semente, mas os uredósporos podem contaminar a superfície da semente.

A tentativa de se minimizar as perdas de produção pela doença pode ser através da aplicação de fungicidas, manejo da cultura e uso de cultivares com algum tipo de resistência, tanto horizontal quanto vertical (SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (Ed.), 1975; BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004). Devido à agressividade dessa doença, o monitoramento contínuo é essencial para que a medida de controle possa ser adotada no momento correto, a fim de se evitar reduções de produtividade (YORINORI, J.T., 2004).

2.5 CONTROLE GENÉTICO

A *P. pachyrhizi* é um patógeno variável, com múltiplas raças, as quais diferem em virulência de acordo com o genótipo de soja, dificultando o controle através da resistência vertical, sendo hoje o controle químico o mais viável para reduzir as perdas (KIMATI, H. et al. (Ed.), 2005, BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), 2004). Na literatura, atualmente, estão descritos cinco diferentes locos contendo genes maiores, ou seja, de resistência vertical, denominados *rpp1*, *rpp2*, *rpp3*, *rpp4* e *rpp5* (BROMFIELD E HARTWIG 1980; MCLEAN E BYTH 1980; HARTWIG E BROMFIELD 1983; HARTWIG 1986; GARCIA et al. 2008).

McLean e Byth (1980) estudaram a herança da resistência à ferrugem nos acessos PI 200492, Tainung 3 e Tainung 4, utilizando o isolado australiano Q-1. A partir desse estudo, os mesmos autores concluíram que a característica de resistência é dominante em relação à suscetibilidade. Em outro estudo, McLean e Byth (1976) observaram que a PI 200492 e Tainung 3 são suscetíveis ao isolado australiano Q-2, mas Tainung 4 é resistente a esse mesmo isolado, indicando possuir um genótipo diferente do observado em PI 200492 e

Tainung 3. Esses autores denominaram *rpp1* como símbolo para o gene dominante de resistência à ferrugem presente na PI 200492.

Bromfield e Hartwig (1980) estudaram cruzamentos envolvendo a PI 230970 e a partir de seus resultados concluíram que essa linhagem possui um gene dominante de resistência aos isolados Índia-73-1, Philippines-77-1 e Taiwan-72-1. Posteriormente, a relação entre os genes de resistência presentes na PI 200492, PI230970 e PI 462312 foram estudadas utilizando os isolados Índia-73-1 e Taiwan-72-1 como testadores. Com base nesses resultados, os autores denominaram de *rpp2* o gene de resistência presente na PI 230970 e *rpp3* o gene de resistência presente na PI 462312, e propuseram os genótipos *Rpp1 Rpp1 rpp2 rpp2 rpp3 rpp3*, para a PI 200492; *rpp1 rpp1 Rpp2 Rpp2 rpp3 rpp3*, para a PI 230970; e *rpp1 rpp1 rpp2 rpp2 Rpp3 Rpp3*, para a PI 462312 (Hartwig & Bromfield, 1983).

Posteriormente, foi identificado um novo isolado do fungo, Taiwan 80-2. As PI 200492, PI 230970 e PI 462312 apresentaram reações de suscetibilidade a esse novo isolado, mas foi identificado um genótipo, PI 459025, que se mostrou resistente a esse mesmo isolado. Foram realizados cruzamentos entre esses quatro genótipos e os resultados mostraram que a PI 459025 possui um gene dominante de resistência aos isolados Índia-73-1, Taiwan-72-1 e Taiwan-80-2, e que esse gene está em um loco diferente dos outros três genes identificados anteriormente. O gene presente na PI 459025 foi denominado de *Rpp4* e o genótipo proposto para essa fonte de resistência foi *rpp1 rpp1 rpp2 rpp2 rpp3 rpp3 Rpp4 Rpp4* (HARTWIG, 1986).

Segundo Hartwig (1986), o isolado Taiwan-72-1 do fungo *Phakopsora pachyrhizi* quebrou a resistência das fontes PI 200492 (portadora do gene de resistência *rpp1*) e PI 462312 (portadora do gene de resistência *rpp3*). As fontes PI 230970 (portadora do gene de resistência *rpp2*) e PI 459025 (portadora do gene de resistência *rpp4*) se mantiveram resistentes também a esse isolado.

Estudos feitos por Brogin et al. (2004) mostraram que a cultivar FT-2 também possuía um gene de resistência à ferrugem asiática, mas em 2003, esse gene foi quebrado por um isolado proveniente do Mato Grosso, a qual se mostrou muito mais agressiva em comparação ao isolado que se encontrava na região (Arias, et al., 2004).

Após algum tempo sem a descoberta e nomeação de novos genes de resistência, um quinto loco foi descrito por Garcia et. al. (2008), denominado *rpp5* e localizado no grupo de ligação N da soja, sendo que quatro fontes de resistência, incluindo as introduções PI 200526, PI 200487, PI 471904 e PI 200456, tiveram seus genes mapeados nesse loco. As duas primeiras têm um gene dominante, a terceira um gene com dominância incompleta e a quarta um gene recessivo conferindo a resistência.

Em estudo com 33 fontes portadoras do gene de resistência à ferrugem asiática feito por Laperuta et al. (2008), foi verificado que três fontes (PI 197182, PI 230971 e PI 417125), possuem um gene de resistência presente no loco *rpp2*. Para uso no melhoramento de plantas, apenas um desses genes poderá ser inserido em cada cultivar, mas todas as fontes devem ser utilizadas já que podem conter alelos diferentes. Em relação as demais fontes estudadas, a segregação encontrada foi de 15 resistentes para 1 suscetível, indicando assim que os genes de resistência à ferrugem asiática presentes nessas fontes estão em locos diferentes em relação aos locos *rpp2* e *rpp4*, pois segregaram independentemente. Entre as 30 fontes, que segregaram em relação aos dois referidos locos, está a PI 203398 (Abura), fonte principal desse estudo. No estudo de Laperuta et al. (2008), a PI 203398 (Abura) se comportou como possuindo um gene dominante de resistência à ferrugem asiática. Entretanto em estudo feito por Pierozzi et al. (2008), a linhagem BR01-18437, que provavelmente recebeu o gene de resistência à ferrugem asiática da fonte PI 203398 (Abura), se comportou como possuindo um gene de resistência recessivo. Rachid (2009) estudando a fonte PI 203398 (Abura) também identificou que a fonte possui um gene de resistência dominante à ferrugem asiática e que o mesmo não está no mesmo loco do gene *rpp1*, *rpp3* e *rpp5*, pois segrega independentemente.

Outro tipo de resistência também identificado na cultura da soja é a resistência parcial, que nada mais é do que a tolerância da planta ao patógeno, caracterizada pela diminuição do número e o tamanho da lesão, redução da produção de uredósporos e o aumento do período de latência (Marchetti et al., 1975; Bromfield et al., 1980), diminuindo conseqüentemente a quantidade de inóculo e por fim a doença.

A ferrugem asiática proporciona dois tipos de lesões às quais podem ser classificadas como castanho-claro (TAN), ou seja, suscetível à doença, ou

castanho-avermelhado (RB), ou seja, resistente. Lesões RB podem ser descritas como resultantes de uma reação de hipersensibilidade. Nesse fenômeno, as células hospedeiras, próximas ao ponto de penetração do patógeno, morrem logo após a infecção. O patógeno *P. pachyrhizi* necessita de células vivas para sobreviver e se multiplicar e, com a morte dessas células, o crescimento é limitado ao local da infecção.

Do ponto de vista do melhoramento genético, a planta com reação de hipersensibilidade é extremamente resistente, uma vez que o patógeno tem sua produção limitada, cessando o processo epidêmico no campo (Camargo, 1995) e de acordo Keen citado por Wang et al., (1994), é um tipo de resistência quase sempre monogênico, embora existam relatos de reações de hipersensibilidade controladas por vários genes.

3 ARTIGO

“FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA: TESTES DE INDEPENDÊNCIA E RELAÇÃO ENTRE NOVAS FONTES GENÉTICAS DE RESISTÊNCIA E À PI 203398 (ABURA)”

3.1 INTRODUÇÃO

A ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd., foi detectada no Brasil em 2001, desde então, tem sido motivo de grande preocupação, tanto por parte de pesquisadores quanto de produtores de soja em todo o mundo, devido ao seu elevado potencial de danos em lavouras comerciais. Perdas variando de 10% a 80% já foram registradas sob condições experimentais, em vários países asiáticos e na Austrália (OGLE et al., 1979).

Entre as safras de 2001/2002 a 2009/2010 as perdas chegaram a pouco mais de 18 milhões de toneladas, o que representa a quantia de 4,3 bilhões de dólares. A essa perda na produção pose-se somar o custo do controle químico, o qual chegou a quase 14 bilhões de dólares, alcançando quase à extraordinária quantia de 19 bilhões de dólares (Consórcio antiferrugem, 2011).

O controle químico através do uso de fungicidas tem sido amplamente empregado. Devido à agressividade do fungo, o monitoramento racional e continuo é essencial a fim de evitar impactos negativos ao ambiente e reduções na produtividade. Assim, o uso de cultivares resistentes é o método mais indicado para o controle da doença.

A ferrugem asiática é caracterizada por dois tipos de lesões, as quais podem ser classificadas como castanho-clara (TAN) ou castanho-avermelhada (RB “Reddish Brown”). As plantas com lesões TAN são suscetíveis ao fungo *P. pachyrhizi* e as plantas com lesões RB são resistentes. Segundo Camargo (1995), as lesões do tipo RB são reações de hipersensibilidade.

Na literatura foram descritas em variedades exóticas (PI – *plant introduction*) cinco genes independentes de resistência: Rpp1 (PI 200692), Rpp2 (PI 230970), Rpp3 (PI 462312), Rpp4 (PI 459025) e Rpp5 (PI 200526) (BROMFIELD & HARTWIG, 1980; MCLEAN & BYTH, 1980; HARTWIG, 1986; MONTEROS, 2007; HYTEN, 2007; GARCIA et al., 2008).

A PI 203398 (Abura), muito usada no Brasil nos programas de melhoramento para alimentação por ser fonte de variabilidade para alto teor de proteína, foi descrita apresentando gene de resistência diferente dos locos descritos até o momento (MILES et al., 2006; LAPERUTA et al., 2008; RACHID, 2009).

O fungo da ferrugem apresenta alta capacidade de desenvolver novas raças, no Brasil algumas fontes de resistência já foram quebradas. Estudos envolvendo acessos dos bancos de germoplasma brasileiro e americano tem indicado várias PI's expressando resistência à ferrugem, entretanto pouca informação existe sobre os genes envolvidos na resistência.

É de muita importância para os programas de melhoramento o conhecimento sobre o número de locos e o tipo de ação gênica envolvidos na resistência para integração desses genes nos genótipos elites.

O presente estudo tem por objetivo foi identificar novas fontes de resistência a ferrugem da soja através da identificação da relação genética entre a PI 203398 (Abura) e nove linhagens selecionadas para o desenvolvimento de cultivares resistente à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*).

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O material genético selecionado para o estudo envolveram nove PI's (*Plant Introduction*), e a PI 203398 (Abura), identificados em casa-de-vegetação no Centro Nacional de Pesquisa em Soja - Embrapa Soja, Londrina, PR, Brasil, como portadores de genes de resistência à ferrugem asiática da soja (FAS). O grupo das nove fontes foi composto pelos seguintes materiais: GC 00138-29, PI 200455, PI 224270, PI 423956, PI 587880A, PI 587905, PI 587920, PI 594766 e PI 594767A. Sementes de uma única planta trilhada de cada genótipo resistente foram utilizadas em cruzamentos com a PI 203398. A PI 203398 é portadora de um gene de resistência à ferrugem asiática diferente dos descritos na literatura *Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3*, *Rpp4* e *Rpp5* (Rachid, 2008). Os parentais, a geração F₁ e as respectivas gerações F₂ totalizando aproximadamente 1.380 indivíduos, foram cultivados em estufa com temperatura e umidade controladas. Foram obtidas de duas a cinco sementes F₁ de cada combinação híbrida, as quais foram cultivadas em casa-de-vegetação para obtenção das sementes F₂. Características morfológicas, como cor

de pubescência, de flor e de hilo foram usados para eliminar plantas resultantes de autofecundação das gerações F_1 e F_2 .

Foi realizado um experimento para avaliar o padrão de segregação das gerações F_2 . Esse experimento foi composto por um vaso com seis indivíduos de cada um dos parentais, para confirmar a resistência e auxiliar na interpretação dos padrões de segregação obtidos na geração F_2 , e 60 a 170 indivíduos das gerações F_2 derivadas dos cruzamentos entre as linhagens e a fonte principal distribuídos aleatoriamente na casa de vegetação, sendo que cada vaso possuía entre 4 a 6 plantas do mesmo cruzamento. Também foram adicionadas ao experimento 24 plantas da cultivar suscetível BRSMS Bacuri com o intuito de verificar a eficiência da inoculação.

O isolado de *P. pachyrhizi* derivado de Mato Grosso (isolado MT), que quebrou a resistência dos genes *Rpp1* e *Rpp3* (Arias et al., 2004), foi utilizada para as inoculações. Com base na sua sequência, este isolado é, provavelmente, relacionado ao isolado MUT de Zimbabwe (GenBank acesso nº AF333499), mostrando uma identidade de 99,8% (Silva et al., 2008). O isolado MT foi mantido através de inoculações constantes em casa-de-vegetação sob a cultivar de soja BRSMS Bacuri que serviu de filtro. A cultivar BRSMS Bacuri é utilizada como filtro, pois antes do aparecimento do isolado MT, essa cultivar era resistente ao isolado de ferrugem asiática previamente presente no Brasil. Dessa forma, toda inoculação feita sobre a cultivar BRSMS Bacuri e que produzir reação de suscetibilidade, vem servindo como parâmetro para monitorar a presença do isolado mais agressivo proveniente do Estado do Mato Grosso. Os esporos presentes nas folhas da cultivar BRS Bacuri foram coletados utilizando-se uma escova macia e após a coleta eram colocadas em um recipiente com água destilada. Considerando que os esporos não foram coletados de uma única lesão, eles podem representar uma mistura de raças múltiplas. No entanto, a presença de reações RB e TAN na mesma folha não foram observadas nas avaliações. A preparação do inóculo envolveu uma câmara de Neubauer, para a contagem de esporos/ml, aonde se buscou obter $3,0 \times 10^4$ esporos/ml e a adição de Tween 20, um espalhante que auxilia na dispersão do inóculo. As plantas foram inoculadas quando estavam no estágio V_3 (2º trifólio aberto), com uma bomba costal após as 18:00 horas para garantir a umidade nas folhas e evitar queda na germinação dos esporos. Durante a noite seguinte à pulverização, as plantas foram submetidas a nebulizações durante 15 segundos a

cada três horas. A avaliação foi realizada entre o 15° a 20° dia após a inoculação (entre V₆ e V₉ fase de crescimento de soja), observando-se todas as folhas e classificando-a quanto ao seu tipo de reação, marrom-avermelhado (RB - reação de resistência) e castanho-claro ou 'tanish' (TAN - reação suscetível). As lesões RB são escuras e possuem pouco ou nenhuma esporulação, já as lesões TAN são mais claras e apresentam esporulação abundante.

O teste qui-quadrado (χ^2) foi aplicado sobre a segregação observada nas populações F₂ para averiguação das hipóteses: segregação independente dos genes envolvidos no cruzamento ou de alelos pertencentes ao mesmo loco (ausência de segregação). As reações dos parentais e da cultivar BRSMS Bacuri foram usadas para avaliar a presença de falso resistente.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições ambientais propiciaram boa expressão da resistência dos genótipos resistentes à ferrugem asiática. As lesões tornaram-se visíveis nas folhas entre o 6° e 8° dia, e a massa de esporos entre o 15° e 20° dia após a inoculação. Não foi observado, nos parentais, nas gerações F₂ e na BRSMS Bacuri (controle de suscetibilidade), ambas as lesões, RB e TAN, indicativo de resistência e suscetibilidade respectivamente na mesma folha, como já observado por Miles et al. (2006). O uso de um único isolado de *Phakopsora pachyrhizi* na inoculação e o ambiente da casa-de-vegetação livres de outros isolados, resultou em reações bem visíveis e homogêneas.

A reação de suscetibilidade (lesões TAN) na cultivar BRSMS Bacuri e a reação de resistência (lesões RB) nos parentais indicou a predominância do isolado MT no experimento. De acordo com Hartwig (1986) o isolado de *P. pachyrhizi* Taiwan 72-1 quebrou a resistência da PI 462312, portadora do gene de resistência Rpp3. Este padrão de reação foi semelhante ao obtido no estudo de Laperuta (2008), com o isolado brasileiro, sugerindo que a Taiwan-72-1 e os isolados MT podem pertencer à mesma raça. Estudos sobre raças FAS estão sendo realizados no Brasil, mas até agora nenhum resultado conclusivo sobre esses dois isolados foi disponibilizado na literatura.

Em seleções preliminares, as PI's utilizadas nessa pesquisa apresentaram reação de resistência ao isolado de *P. pachyrhizi* proveniente da

cultivar BRSMS Bacuri. Estudo feito com um isolado de *P. pachyrhizi* japonês por Yamanaka et al.(2010) corroboram esses resultados. Algumas das PI's utilizadas nesse estudo mostraram-se resistentes quando inoculadas com o referido isolado, onde a PI 587880A se mostrou imune enquanto, as demais introduções de plantas (PI 587905, PI 594767A, GC 00138-29 e a PI 203398 (Abura)) foram altamente resistentes. Segundo Miles et al.(2006), as introduções PI 200455, PI 587880A e PI 587905 também apresentaram resistência quando inoculadas com uma mistura de isolados de *P. pachyrhizi* provenientes da Tailândia (TH01-1), do Brasil (BZ01-1), do Paraguai (PG01-2) e de Zimbábue (ZM01-1). Ray et al.(2009) identificaram genes de resistência na PI 587886 e PI587880A quando inoculadas com oito isolados de *P. pachyrhizi*.

Na Tabela 1 é apresentado os padrões de segregação obtidas nas populações F₂ derivadas dos cruzamentos entre as fontes de resistência: GC 00138-29, PI 200455, PI 224270, PI 423956, PI 587880A, PI 587905, PI 587920, PI 594766 e PI 594767A com a fonte PI 203398 (Abura).

O tamanho da população de cada cruzamento avaliada depende do número de sementes F₂ obtidas e das dificuldades em classificar as plantas com pouco ou nenhuma lesão. Portanto apenas as plantas que expressaram as lesões RB ou TAN bem definidas foram consideradas nas análises. MacLean e Byrth (1980) em estudo de herança da ferrugem asiática relatam que o tamanho mínimo da população F₂ requerido para distinguir entre uma segregação monogênica (3:1) e digênica (9:7) a 0,025 de probabilidade são 60 plantas.

A análise dos dados permitiu concluir que duas PI's possuem o gene de resistência em comum ao da fonte PI 203398 (Abura) e, conseqüentemente, sete PI's apresentaram genes de resistência segregando independentemente, ou seja, diferentes em relação ao gene da PI 203398 (Abura).

Tabela 1 – Padrões de segregação obtidos das populações F₂ derivadas dos cruzamentos entre cada uma das fontes de resistência à ferrugem com a testadora PI 203398 (Abura), com a respectiva proporção teórica aceita pelo teste de qui-quadrado (χ^2), o número de plantas avaliadas (N), tipo de lesão (L), número de plantas observadas (O) e esperadas (E), grau de liberdade (G.L.) e a probabilidade (P > 0,05)

Fontes Resistentes	PI 203398 (Abura)							
	Proporção	N	L	O	E	g.l.	χ^2	P
PI 587880A	1:0	92	RB	92	92	-	-	-
			TAN	0	0			
GC00138-29	1:0	134	RB	134	134	-	-	-
			TAN	0	0			
PI 224270	15:1	86	RB	82	80.63	1	0.38 ^{ns}	0.54
			TAN	4	5.38			
PI 423956	15:1	165	RB	152	154.69	1	0.75 ^{ns}	0.39
			TAN	13	10.31			
PI 587920	15:1	159	RB	145	149.06	1	1.77 ^{ns}	0.18
			TAN	14	9.94			
PI 594766	15:1	65	RB	59	60.94	1	0.99 ^{ns}	0.32
			TAN	6	4.06			
PI 594767A	15:1	134	RB	129	125.63	1	1.45 ^{ns}	0.23
			TAN	5	8.38			
PI 200455	15:1	157	RB	151	147.19	1	1.58 ^{ns}	0.21
			TAN	6	9.81			
PI 587905	13:3	168	RB	145	136.50	1	2.82 ^{ns}	0.09
			TAN	23	31.50			

* O valor de χ^2 tabelado a 5% de probabilidade para 1 (um) grau de liberdade é de 3,84 em todos os casos.

As fontes investigadas foram divididas em três grupos: o primeiro grupo foi formado pelas fontes em que a população F₂ não segregou em relação à fonte PI 203398 (Abura), o segundo grupo foi formado pelas fontes em que a população F₂ obteve um padrão digênico de segregação 15:1 (resistente e suscetível respectivamente), que indica que cada parental possui um gene de resistência diferente e dominante, em relação a PI 203398 (Abura) e o terceiro grupo foi formado pela fonte em que a população F₂ obteve um padrão digênico de segregação 13:3 (resistente e suscetível respectivamente), que indica que cada

parental também possui um gene resistência diferente mas com dominância incompleta, em relação a PI 203398 (Abura).

Os genótipos PI 587880A e GC00138-29 foram classificados no primeiro grupo, ou seja, essas fontes possuem um gene de resistência à ferrugem asiática em comum a PI 203398 (Abura). Até o momento, não foi descrito na literatura em qual grupo de ligação está o gene de resistência da PI 203398 (Abura). A única afirmação que pode ser feita é que o gene dessa PI está em loco diferente dos demais descritos na literatura (Lapetura et al.,2008; Rachid, 2008). De grande importância nos programas de melhoramento de cultivares, são fontes alternativas com o mesmo gene de resistência, pois podem facilitar o processo de seleção, a PI 203398 (Abura), que apresenta lesões difíceis de serem caracterizadas, o que além de dificultar as avaliações pode gerar resultados imprecisos como, por exemplo, um falso suscetível. Segundo Rachid (2008), a reação de resistência da fonte PI 203398, é uma das mais difíceis de serem caracterizadas fenotipicamente, por serem mais claras e apresentarem maior esporulação quando comparadas a outras fontes.

Os genótipos PI 224270, PI 423956, PI 587920, PI 594766, PI 200455 e PI 594767A foram incluídos no segundo grupo. O padrão digênico de segregação (15:1) na população F₂ de cada cruzamento indicou que essas fontes possuem um único gene de resistência à ferrugem asiática e que esses genes se comportam como dominantes.

As informações disponíveis sobre a relação de dominância relacionada aos genes de resistência à ferrugem nem sempre são concordantes, dentre outros fatores isso se deve principalmente pelo fato que o grau de expressão das lesões nas plantas da população F₂ ser muito sensível aos fatores ambientais. Estudos feitos por Pierozzi et al.(2008), indicaram que a cultivar BR01-18437 provavelmente teria um gene de resistência, obtido da fonte PI 203398, e que o mesmo seria recessivo. Entretanto nesse estudo, a PI 203398 se comportou, em todos os cruzamentos, como uma fonte que possui um gene dominante a ferrugem asiática. Em estudo feito por Laperuta et al.(2008) e Rachid, (2008) ambos chegaram à mesma conclusão de que a fonte PI 203398 possui um gene dominante. As diferentes conclusões sobre a relação de dominância entre o alelo de resistência presente na PI 203398 e o alelo de suscetibilidade presente no outro parental utilizado em cada estudo podem ser explicadas pela variação dos próprios parentais

“suscetíveis” (para o loco da PI 203398) de um estudo para o outro, ou pela interpretação e classificação diferencial sobre o tipo de lesão (“RB” ou “TAN”) expressa por essa fonte, ou ainda pela expressão diferencial da resistência nos diferentes estádios da soja principalmente antes e após a floração.

O terceiro grupo foi formado apenas por uma fonte, a PI 587905. O padrão de segregação observado foi de 13 resistentes para 03 suscetíveis, indicando que o gene da referida PI é um gene recessivo ou que não expressa dominância completa, fazendo com que o nível de resistência expressa pelo genótipo heterozigoto seja menor quando comparado ao respectivo genótipo homozigoto para o gene de resistência. Os primeiros genes de resistência recessivos à ferrugem asiática foram descritos na literatura na cultivar BR01-18437 (Pierozzi et al., 2008), e depois na PI 200456 e PI 224270 (Calvo et al., 2008). O relato sobre genes recessivos à ferrugem asiática é muito importante para os programas de melhoramento, pois deve-se aumentar a atenção sobre a possibilidade de se obter plantas F_1 suscetíveis, as quais não devem ser descartadas.

Neste trabalho foi possível identificar duas fontes (PI 587880A e GC 00138-29, Tabela 2) que possuem o mesmo gene de resistência ao da PI 203398 (Abura) e um grupo de sete fontes que possuem um gene de resistência segregando independentemente em relação ao da PI 203398 (Abura). Das sete fontes apresentando segregação independente em relação ao loco da PI 203398, seis delas (PI 224270, PI 423956, PI 587920, PI 594766, PI 594767A e PI 200455) se comportam como genes dominantes enquanto o gene de resistência da PI 587905 se comporta como recessivo em relação ao alelo de suscetibilidade.

Tabela 2 – Resumo dos resultados e conclusões e proporção genotípicas propostas para nove linhagens resistentes à ferrugem asiática (*P. pachyrhizi*)

Fontes	Proporção com a testadora PI 2033398 (Abura)	Genótipo
PI 587880A	1:0	Loco Rpp(Abura)
GC 00138-29	1:0	Loco Rpp(Abura)
PI 224270	15:1	Novo gene
PI 423956	15:1	Novo gene
PI 587920	15:1	Novo gene
PI 594766	15:1	Novo gene
PI 594767A	15:1	Novo gene
PI 200455	15:1	Novo gene
PI 587905	15:1	Novo gene

Essas informações sobre a independência dos diversos genes de resistência presentes nas fontes estudadas são de grande importância como alternativas para a definição de estratégias para o desenvolvimento de cultivares resistentes nos programas de melhoramento. Como já afirmado anteriormente, existem muitos genes de resistência à ferrugem asiática distribuídos ao longo dos grupos de ligação na soja. Até o momento, não existem trabalhos de mapeamento envolvendo a fonte PI 203398 (Abura), os resultados obtidos sugerem que se trata de um novo loco de resistência à ferrugem asiática e apresenta perspectivas para o estudo de mapeamento molecular.

4 REFERÊNCIAS

ARIAS, C. A. A.; BROGIN, R. L.; YORINORI, J. T.; KIIHL, R. A. S.; TOLEDO, J. F. F. Um gene dominante determinando a resistência da cultivar FT – 2 à ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: SBMP, 2003. 7 p. 1 CD-ROM.

BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E.(Ed.), **Soybeans: Improvement, Production and Uses**. 3. ed. Madison: 2004. 1119 p.

BROGIN, R.L.; ARIAS, C.A.A.; VELLO, N.A.; TOLEDO, J.F.F.; PIPOLO, A.E.; CATELLI, L.L.; MARIN, S.R.R. (2004). **Molecular mapping of a gene conferring resistance to soybean rust**. Poster presented at the VII World Soybean Res. Conf., Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 29 Fev. – 5 Mar. 2004.

BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, v. 20, n. 2, p. 254 – 255, 1980.

BROMFIELD, K. R.; MELCHING, J. S. Sources of specific resistance to soybean rust. **Phytopatology**, v. 72, p. 706, 1982.

CALVO, E.S.; KIIHL, R.A.S.; GARCIA, A.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. Two major recessive soybean genes conferring soybean rust resistance. **Crop Science**, v. 48, p. 1350 – 1354, 2008.

CAMARGO, L. E. A. Análise genética da resistência e da patogenicidade. In BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1995. p. 470 – 491.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: dez. 2011.

EMBRAPA SOJA. **História da soja**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.com.br>>. Acesso em: jan. 2012.

GARCIA, A.; CALVO, E.S.; KIIHL, R.A.S.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M.; VIEIRA, L.G.E. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, p. 545-553, 2008.

GODOY, C.V. **Tabela de custo**. 2011. Disponível em: <www.consortioantiferrugem.net/portal>. Acesso em: abr. 2011.

HARTWIG, E. E. Identification of a fourth major genes conferring resistance to rust in soybeans. **Crop Science**, v. 26, p. 1135 – 1136, 1986.

HARTWIG, E.E.; BROMFIELD, K.R. Relationships among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. **Crop Science**, v. 23, p. 237-239, 1983.

HYTEN, D. Mapping soybean rust single gene resistance. In: **Proceedings of the 2007 National Soybean Rust Symposium**, Louisville, Kentucky, 2007.

HYTEN, D.L.; HARTMAN, G.L.; NELSON, R.L.; FREDERICK, R.D.; CONCIBIDO, V.C.; NARVEL, J.M.; CREGAN, P.B. Map location of the Rpp1 locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, v. 47, p. 837–840, 2007.

JULIATTI, F.C.; POLIZEL, A.C.; BALARDIN, R.S.; VALE, F.X.R. Ferrugem da soja – epidemiologia e manejo para uma doença reemergente. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 13, p. 351-395, 2005.

KIMATI, H.; AMORIM, A.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M.(Org.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. Piracicaba: Ed. Ceres, 2005. 578 p.

KOCH, E.; EBRAHIMNESBAT, F.; HOPPE; H. H. Light and electronmicroscopic studies on the development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd) in susceptible soybean leaves. **J. Phytopathologic**, v. 106, p. 302-320, 1983.

LAPERUTA, L.D.C. et al. New genes conferring resistance to Asian soybean rust: allelic testing for the Rpp2 and Rpp4 loci. **P.A.B.**, v. 43, n. 12, p. 1740-1747, dez. 2008.

MARCHETTI, M.A.; UECKER, F.A.; BROMFIELD, K.R. Uredial development of *Phakopsora pachyrhizi* in soybeans. **Phytopathology**, v. 65, 822-823 p.

McLEAN, R. J.; BYTH, D. E. Resistance of soybean to rust in Australia. **Australian Plant Pathology Society Newsletter**, v. 5, n. 3, p. 34-36, 1976.

McLEAN, R. J.; BYTH, D. E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 31, p. 951 – 956, 1980.

MILES, M.R.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L. Evaluation of soybean germoplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Health Progress**, doi:10.1094/PHP, jan. 2006.

MILES, M.R.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L. Soybean rust: Is the U.S. soybean crop at risk. **ASPnet Online**, 2003.

MONTEROS, M.J.; MISSAOUI, A.M.; PHILLIPS, D.V.; WALKER, D.R.; BOERMA, H.R. Mapping and confirmation of the 'Hyuuga' red–brown lesion resistance gene for Asian soybean rust. **Crop Science**, v. 47, p. 829–836, 2007.

NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 1183 p.

OGLE, H. J.; BYTH, D. E.; McLEAN, R. J. Effect of rust (*Phakopsora pachyrhizi*) on soybean yield and quality on south-eastern Queensland. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 30, p. 883 – 893, 1979.

ONO, Y.; BURITICA, P.; HENNEN, J.F. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. **Mycological. Research**. 96: 825-850. 1992.

PEREIRA, A.A.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. **Melhoramento visando à resistência a doenças**. Informe Agropecuário, v. 11, n. 122, p. 82-92, 1985.

PIEROZZI P.H.B.; RIBEIRO A.S.; MOREIRA J.U.V.; LAPERUTA, L.D.C.; RACHID, B.F.; LIMA, W.F.; ARIAS, C.A.A., OLIVEIRA, M.F.O., TOLEDO, J.F.F. New soybean (*Glycine max* Fabales, Fabaceae) sources of qualitative genetic resistance to Asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* (Uredinales, Phakopsoraceae). **G.M.B.**, v. 31, n. 2, 2008.

YAMANAKA, N., YAMAOKA, Y., KATO, M., LEMOS, N.G., PASSIANOTTO, A.L., SANTOS, J.M.V., BENITEZ, E.R., ABDELNOOR, R.V., SOARES, R.M., SUENAGA, K. Development of classification criteria for resistance to soybean rust and differences in virulence among Japanese and Brazilian rust populations. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 3, 2010.

YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; FREDERICK, R. D.; FERNANDEZ, F. T. Ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) no Brasil e no Paraguai. In: **Congresso Brasileiro de Soja**, 2002, Foz do Iguaçu. Resumos do II Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja 2002. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 393 p.

YORINORI, J. T.; NUNES JUNIOR, J.; LAZZAROTTO, J. J. **Ferrugem "asiática" da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 247).

RACHID, B.F. **Identificação de novos locos de resistência à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em soja (*Glycine max*)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RAY, J., MOREL, W., SMITH, J., FREDERICK, R., MILES, M. Genetics and mapping of adult plant rust resistance in soybean PI 587886 and PI 587880A. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, p. 271-280, 2009.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean diseases. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. St Paul: American Phytopathological Society, 1999. p. 3 – 4.

SINCLAIR, J. B.; SHURTLEFF, M. C. (ED.). **Compendium of soybean diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1975. 69 p.

SCONYERS, L.E., KEMERAIT JR, R.C., BROCK, J.H., GITAITIS, R.D., SANDERS, F.H., PHILLIPS, D.V., JOST, P.H. First report of *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust, on Florida beggarweed in the United States. **Plant Disease**, v. 90, n. 7, p. 972-972, 2006.

TRINDADE, D.R., FURTADO, E.L. Doenças da seringueira. In: KIMATI, H., AMORIM, A., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. Piracicaba: Ed. Ceres, 1997. p. 578.

WANG, J.F.; JONES, J.B.; SCOTT, J.W.; STALL, R.E. Several genes in *Lycopersicon esculentum* control hypersensitivity to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Phytopathology**, v. 84, n. 7, p. 702-706, 1994.

ANEXOS

Anexo A

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 224270

		Avaliação						
Nº total de plantas:	86	Proporção	Lesão	Nº de plantas			χ^2	P
				O	E	GL		
	3:1	RB	82	64,5	1	18,9922	0,0000	
		TAN	4	21,5	1			
	15:1	RB	82	80,625	1	0,3752	0,5402	
		TAN	4	5,375	1			
	9:7	RB	82	48,375	1	53,4227	0,0000	
		TAN	4	37,625	1			
	13:3	RB	82	69,875	1	11,2212	0,0008	
		TAN	4	16,125	1			
	63:1	RB	82	84,65625	1	5,3341	0,0209	
		TAN	4	1,34375	1			

Anexo B

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 423956

		1ª Avaliação						
Nº total de plantas:	165	Proporção	Lesão	Nº de plantas		GL	X ²	P
				O	E			
Nº total de plantas:	165	3:1	RB	152	123,75	1	25,7960	0,0000
			TAN	13	41,25	1		
		15:1	RB	152	154,6875	1	0,7471	0,3874
			TAN	13	10,3125	1		
		9:7	RB	152	92,8125	1	86,2731	0,0000
			TAN	13	72,1875	1		
		13:3	RB	152	134,0625	1	12,8002	0,0003
			TAN	13	30,9375	1		
		63:1	RB	152	162,4219	1	42,7984	0,0000
			TAN	13	2,578125	1		

Anexo C

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 587905

		Avaliação						
Nº total de plantas:	168	Proporção	Lesão	Nº de plantas			X ²	P
				O	E	GL		
Nº total de plantas:	3:1	RB	145	126	1	11,4603	0,0007	
		TAN	23	42	1			
	15:1	RB	145	157,5	1	15,8730	0,0001	
		TAN	23	10,5	1			
	9:7	RB	145	94,5	1	61,6841	0,0000	
		TAN	23	73,5	1			
	13:3	RB	145	136,5	1	2,8230	0,0929	
		TAN	23	31,5	1			
	63:1	RB	145	165,375	1	160,6591	0,0000	
		TAN	23	2,625	1			

Anexo D

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 587920

		Avaliação						
Nº total de plantas:	159	Proporção	Lesão	Nº de plantas			χ^2	P
				O	E	GL		
Nº total de plantas:	159	3:1	RB	145	119,25	1	22,2411	0,0000
			TAN	14	39,75	1		
		15:1	RB	145	149,0625	1	1,7715	0,1832
			TAN	14	9,9375	1		
		9:7	RB	145	89,4375	1	78,8980	0,0000
			TAN	14	69,5625	1		
		13:3	RB	145	129,1875	1	10,3224	0,0013
			TAN	14	29,8125	1		
		63:1	RB	145	156,5156	1	54,2247	0,0000
			TAN	14	2,484375	1		

Anexo E

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 594766

		Avaliação					
Nº total de plantas:	65	Proporção	Lesão	Nº de plantas		X ²	P
				O	E		
Nº total de plantas:	3:1	RB	59	48,75	1	8,6205	0,0033
		TAN	6	16,25	1		
	15:1	RB	59	60,9375	1	0,9856	0,3208
		TAN	6	4,0625	1		
	9:7	RB	59	36,5625	1	31,4728	0,0000
		TAN	6	28,4375	1		
	13:3	RB	59	52,8125	1	3,8663	0,0493
		TAN	6	12,1875	1		
	63:1	RB	59	63,98438	1	24,8501	0,0000
		TAN	6	1,015625	1		

Anexo F

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 594767A

		Avaliação						
Nº total de plantas:	134	Proporção	Lesão	Nº de plantas		GL	X ²	P
				O	E			
Nº total de plantas:	134	3:1	RB	129	100,5	1	32,3284	0,0000
			TAN	5	33,5	1		
		15:1	RB	129	125,625	1	1,4507	0,2284
			TAN	5	8,375	1		
		9:7	RB	129	75,375	1	87,2026	0,0000
			TAN	5	58,625	1		
		13:3	RB	129	108,875	1	19,8400	0,0000
			TAN	5	25,125	1		
		63:1	RB	129	131,9063	1	4,0981	0,0429
			TAN	5	2,09375	1		

Anexo G

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado na avaliação sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 200455

		1ª Avaliação						
Nº total de plantas:	157	Proporção	Lesão	Nº de plantas			X ²	P
				O	E	GL		
Nº total de plantas:	3:1	RB	151	117,75	1	37,5563	0,0000	
		TAN	6	39,25	1			
	15:1	RB	151	147,1875	1	1,5800	0,2088	
		TAN	6	9,8125	1			
	9:7	RB	151	88,3125	1	101,7095	0,0000	
		TAN	6	68,6875	1			
	13:3	RB	151	127,5625	1	22,9667	0,0000	
		TAN	6	29,4375	1			
	63:1	RB	151	154,5469	1	5,2097	0,0225	
		TAN	6	2,453125	1			