



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À
FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*) EM SOJA
(*Glycine max*)”**

Londrina
2008

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À
FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*) EM SOJA
(*Glicyne max*)”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Arrabal
Arias

Londrina
2008

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R119i Rachid, Breno Francovig.

Identificação de novos locos de resistência à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em soja (*Glycine max*) / Breno Francovig Rachid. – Londrina, 2008. 74f. : il.

Orientador: Carlos Alberto Arrabal Arias.

Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Genética vegetal – Teses. 2. Soja – Biologia molecular – Teses. 3. Fungos fitopatogênicos – Teses. I. Arias, Carlos Alberto Arrabal. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Instituto Agrônomo do Paraná. IV. EMBRAPA. V. Título.

CDU 581.169

BRENO FRANCOVIG RACHID

**“IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À
FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*) EM SOJA (*Glycine
max*)”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Francisco Ferraz de Toledo
Embrapa Soja

Prof. Dr. Ricardo Vilela Abdelnoor
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias
Embrapa Soja / Orientador

Londrina, 12 de dezembro de 2008

DEDICATÓRIA

À minha esposa, Fernanda G. 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.

Ao pesquisador e orientador Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias, meu muito obrigado pela paciência, tempo e disposição em sempre sanar minhas dúvidas e resolver meus problemas.

Aos pesquisadores da Embrapa Soja, José Francisco Ferraz de Toledo e Alvaro Manuel Rodrigues Almeida pelo incentivo e auxílio no meu percurso pela instituição.

Aos colegas Larissa Di Cássia Laperuta, Pedro Henrique Braga Pierozzi, Aliny Simony Ribeiro pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Às secretárias Mabel Nakai (Embrapa Soja) e Maria Sueli Miranda (UEL – PG), pela atenção e paciência.

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 Mestrado em Genética e Biologia Molecular 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. A Deus porque sem Ele nada disso seria possível.

RACHID, Breno Francovig. “**Identificação De Novos Locos De Resistência À Ferrugem Asiática (*Phakopsora Pachyrhizi*) Em Soja (*Glycine max*)**” 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

RESUMO

No Brasil, a ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, vem provocando perdas de produtividade e aumento no custo de produção pelo uso intensivo de fungicidas em lavouras de soja. A utilização de variedades resistentes é uma ferramenta importante no combate à doença. Atualmente existem cinco locos relatados contendo genes de resistência à doença, denominados *rpp1* a *rpp5*. A resistência conferida por alguns genes presentes nos locos *rpp1* e *rpp3* foi quebrada, no Brasil, por uma nova raça do fungo. O presente estudo teve como objetivo realizar testes de alelismo entre fontes de resistência identificadas no banco de germoplasma da Embrapa Soja e que não mapeiam nos locos *rpp2* e *rpp4*. Para tanto, 20 fontes cujos genes de resistência mapeiam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* (Laperuta, 2007) foram separados em um grupo com quatro testadoras cruzadas entre si e com o outro grupo composto pelas outras 16 fontes. As gerações parentais e F2 derivadas desses cruzamentos foram inoculadas e avaliadas em casa-de-vegetação. Cada planta foi classificada de acordo com a reação de resistência (lesões RB) ou de suscetibilidade (lesões TAN). Com base na ausência de segregação ou no padrão de segregação observados na geração F2, foi possível concluir que das quatro fontes utilizadas como testadoras, três delas (PI 200487 ou “Kinoshita”, PI 200526 ou “Shira Nui” e GC 84058-18-4) possuem pelo menos um gene de resistência no mesmo grupo de ligação (GL), enquanto a outra testadora (PI 203398 ou “Abura”) possui um gene de resistência em loco independente. Das demais fontes testadas, duas delas (PI 416764 e PI 423966) pertencem ao grupo da “Kinoshita”, três (PI 416810, PI 417421 e PI 398777) pertencem ao grupo da “Abura”, e cinco (PI 397618TC1, PI 417074, PI 417503, Nova Santa Rosa e Hyuuga) obtiveram segregação independente em relação ao grupo da “Kinoshita” e “Abura”, indicando que apresentam pelo menos um gene de resistência segregando independentemente em relação aos GL testados. As fontes GC 84058-21-4 e GC 84051-9-1 não segregaram em cruzamentos com a testadora GC84058-18-4 enquanto a PI416819 não segrega com a testadora PI 200526, as quais devem conter pelo menos um gene próximo ao GL da “Kinoshita”. Outras três fontes (PI 471904, PI 200455 e PI 417115) não segregam em cruzamentos com “Abura”, mas não foi possível concluir sobre o GL já que a PI 471904 também não segrega com o grupo “Kinoshita”, enquanto a PI 200455 também não segrega com as testadoras PI 200526 e PI 200487 do grupo da “Kinoshita” e, finalmente, a PI 417115 também não segrega com a PI 200487 do grupo da “Kinoshita”. É possível, em função desses resultados, que estejamos lidando com um novo grupo de genes de resistência a doenças, no GL N.

Palavras chave: Teste de alelismo. Resistência vertical. Mapeamento genético. *Phakopsora pachyrhizi* e *Glycine max*.

RACHID, Breno Francovig. “**Identification of new loci resistance to Asian rust (*Phakopsora Pachyrhizi*) in Soybean (*Glycine max*)**” 2008. 74 f. Dissertation (Master’s degree in Genetics and Molecular Biology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

ABSTRACT

In Brazil, the soybean rust, caused by *Phakopsora pachyrhizi*, has caused yield losses and increased the cost of production by the intensive use of fungicides in soybean fields. The use of resistant varieties is an important tool to control the disease. Currently five different loci have been reported containing genes for resistance to disease, called *rpp1* to *rpp5*. A new race of the fungus broke the resistance conferred by some genes present in the loci *rpp1* and *rpp3* in Brazil. This study aimed to perform allelism tests between sources of resistance identified in the germplasm bank of Embrapa Soybean, whose genes do not belong to *rpp4* and *rpp2* loci. To accomplish this objective, 20 sources of resistance genes mapping out of the loci *rpp2* and *rpp4* (Laperuta, 2007) were divided into a group with four testers, which were crossed between them, and with the other 16 sources. The parents and F2 generations from these crosses were inoculated and evaluated in a greenhouse. Each plant was classified according to the reaction of resistance (RB lesion) or susceptibility (TAN lesion). Based on the segregation observed in the F2 generation, it was possible to conclude that among the four sources used as testers, three of them (PI 200487 or "Kinoshita," PI 200526 or "Shira Nui" and GC 84058 18-4) have at least one gene of resistance in the same linkage group (LG), while the other tester (PI203398 or "Abura") has a gene of resistance in an independent locus. Among the other sources tested, three of them (PI 416764 and PI 423966) belong to the group "Kinoshita," three (PI 416810, PI 417421 and PI 398777) belong to the group "Abura", and five (PI 397618TC1, PI 417074, PI 417503, Nova Santa Rosa and Hyuuga) segregated independently in relation to the groups "Kinoshita" and "Abura," which indicates that they have at least one gene of resistance mapping out of the loci tested. The sources GC 84058-21-4 and GC 84051-9-1 didn't segregate in crosses with the tester GC 84058-18-4 and must contain at least one gene next to the LG of "Kinoshita." Three other sources (PI 471904, PI 200455 and PI 417115) not segregated in crosses with "Abura," but it was not possible to conclude about their LG, because the PI 471904 also do not segregate with "Kinoshita", while the PI 200455 do not segregate with the testers PI 200526 and PI 200487 of the group "Kinoshita" and, finally, the PI417115 also do not segregate with PI 200487 of the group "Kinoshita." According to these results, it is possible that we are dealing with a new cluster of genes for disease resistance in LG-N.

Keywords: Allelism test. Vertical resistance. Genetic mapping. *Phakopsora pachyrhizi* e *Glycine max*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de plantas com reação RB e TAN e teste de qui-quadrado aplicado para as populações F2 segregantes derivadas dos seis cruzamentos entre as quatro testadoras.....	32
Tabela 2 – Segregação obtida nos cruzamentos entre as linhagens e o grupo da PI 203398 (“abura”).....	36
Tabela 3 – Segregação obtida nos cruzamentos entre as linhagens e o grupo “kinoshita”.....	40
Tabela 4 – Grupos por testadora	42
Tabela 5 – Atualização dos agrupamentos entre as diferentes fontes de genes de resistência da soja (<i>Glycine max</i>) à ferrugem asiática (<i>Phakopsora pachyrhizi</i>).....	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	A CULTURA DA SOJA NO BRASIL	16
2.2	FERRUGEM DA SOJA.....	17
2.2.1	Agente Causador.....	17
2.2.2	Sintomatologia e Epidemiologia	19
2.2.3	Danos e Perdas Causados pelo Patógeno.....	20
2.2.4	Resistência Genética.....	21
3	ARTIGO	24
3.1	TÍTULO: IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM ASIÁTICA (<i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i>) EM SOJA (<i>GLICYNE MAX</i>).....	24
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXOS	53
ANEXO A –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população f2 do cruzamento pi 203398 x pi 200487	54
ANEXO B –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população f2 do cruzamento pi 203398 x gc 84058-18-4.....	55
ANEXO C –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 x PI 200526.....	56
ANEXO D –	Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as testadoras PI 200526, PI 200487 e GC 84058-18-4.....	57
ANEXO E –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 417503.....	58

ANEXO F –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 423966	59
ANEXO G –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x GC 84051-9-1.....	60
ANEXO H –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 416764	61
ANEXO I –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 416819	62
ANEXO J –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 417074	63
ANEXO K –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 379618 TC1	64
ANEXO L –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x GC 84058-21-4.....	65
ANEXO M –	Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 471904, PI 398777, PI 200455, PI 416810, PI 417115, PI 417421 com o testador PI 203398 (Abura)	66
ANEXO N –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 398777	67
ANEXO O –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 416819.....	68
ANEXO P –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 379618 TC1	69

ANEXO Q –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x GC 84058-21-4	70
ANEXO R –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 416810.....	71
ANEXO S –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 417074.....	72
ANEXO T –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x Nova Santa Rosa	73
ANEXO U –	Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 471904, PI 416764, PI 200455, GC 84058-18-4, PI 417115, PI 423966 com o testador PI 200487 (Kinoshita).....	74
ANEXO V –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 398777	75
ANEXO W –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 417503.....	76
ANEXO X –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 379618 TC1	77
ANEXO Y –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x GC 84058-21-4.....	78
ANEXO Z –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x Nova Santa Rosa	79
ANEXO A A –	Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 416810.....	80

ANEXO A B – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 417074.....	81
ANEXO A C – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x GC 84051-9-1	82
ANEXO A D – Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 200487 (Kinoshita), GC 84058-18-4, PI 471904, PI 416764, PI 200455, PI 416819 e PI 423966, com o testador PI 200526 (Shira Nui).....	83
ANEXO A E – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417503.....	84
ANEXO A F – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417115.....	85
ANEXO A G – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417074.....	86
ANEXO A H – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x Hyuuga.....	87
ANEXO A I – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 200455.....	88
ANEXO A J – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 416819.....	89
ANEXO A K – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 416810.....	90

ANEXO A L – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 379618 TC1.....	91
ANEXO A M – Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x Nova Santa Rosa.....	92
ANEXO A N – Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 416764, PI 423966, GC 84058-21-4, GC 84051-9-1 e PI 471904 com o testador GC 84058-18-4.....	93
ANEXO A O – Divisão dos grupos de plantio	94

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem, há vários anos, mantido sua posição de segundo maior produtor mundial de soja. Na safra 2007/2008 a produção de soja brasileira ultrapassou 59 milhões de toneladas. O segredo dessa forte competitividade brasileira frente aos Estados Unidos, maior produtor mundial, é a produtividade. Enquanto a área cultivada decresceu quase 9% da safra 2004/2005 para a safra 2007/2008, a produtividade média teve um incremento de 25% nesse mesmo período, passando de 2200 kg/ha para 2800 kg/ha respectivamente. (Conab, 2008).

Para o Brasil alcançar o posto de maior produtor mundial de soja, primeiro deve resolver alguns problemas que limitam o rendimento e a lucratividade da soja brasileira. Atualmente um dos principais fatores limitantes é a doença denominada ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow. A doença basicamente provoca a queda prematura das folhas, prejudicando o enchimento de grãos e, conseqüentemente, causando perdas de rendimento e de qualidade. Foi constatada no Brasil na safra 2000/2001, causando sérios danos na produção já na safra seguinte nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás. As maiores perdas foram observadas em Chapadão do Sul (Mato Grosso do Sul), Chapadão do Céu (Goiás) e Alto Taquari (Mato Grosso), sendo estimadas entre 30% e 50%. O potencial de dano dessa doença é tão grande, que mesmo tomando os cuidados necessários, na safra 2006/2007 o prejuízo foi da ordem de 2,2 bilhões de dólares, sendo 0,6 bilhões provenientes das perdas de produção e 1,6 bilhões do custo de controle incluindo a aquisição de fungicidas e as despesas com a aplicação (Del Ponte, 2008).

Muitos problemas ainda deverão ocorrer devido à falta de cultivares resistentes/tolerantes à ferrugem e ao elevado e continuado uso de agroquímicos, acarretando além de perdas financeiras ao produtor, sérios problemas ao meio ambiente, aparecimento de novas doenças e pragas e, eventualmente, desenvolvimento de tolerância do fungo aos fungicidas utilizados.

Sob esse aspecto, a obtenção de cultivares de soja com alta resistência e produtividade é uma medida de controle econômica e efetiva. No entanto, ainda não há cultivares competitivas e com resistência a essa doença,

sendo necessário, um grande esforço dos programas de melhoramento para alcançar esse objetivo.

Até o momento, estão identificados e descritos cinco genes de resistência à ferrugem asiática, dominantes e independentes, denominados Rpp1 a Rpp5 (Bromfield & Hartwig 1980, Mclean e Byth 1980, Hartwig & Bromfield 1983, Hartwig 1986, Garcia et. al., 2008). No ano de 2003 surgiu um novo isolado de *Phakopsora pachyrhizi*, proveniente do Mato Grosso, quebrando a resistência conferida pelos genes Rpp1 e Rpp3 (Arias et. al. 2004). Laperuta (2007), verificou a existência de 24 genótipos de soja resistentes à essa nova raça, cujos genes de resistência mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* e, também, outros três genótipos com genes de resistência no loco *rpp2*.

A distribuição desses locos de resistência ao longo do genoma da soja pode ser determinada com o auxílio de marcadores moleculares. Atualmente estão mapeados os genes de resistência Rpp1 no grupo de ligação G (Hyten et. al., 2007) e o gene Rpp3 no grupo de ligação C2 (Hyten, 2007); o gene Rpp2 no grupo de ligação J e o gene Rpp4 no grupo de ligação G (Silva et. al., 2008); e os genes das fontes PI 200526 “Shira Nui” e PI 200487 “Kinoshita” no grupo de ligação N (Catelli et. al., 2008, Garcia et. al., 2008). No grupo de ligação G, o mesmo grupo do gene Rpp1, também foi mapeado o gene de resistência da PI 594538A (Curley et. al., 2007), e no grupo de ligação C2, o mesmo grupo do gene Rpp3, também foram mapeados o gene de resistência da fonte “Hyuuga” (Monteros et. al., 2007) e o gene da fonte FT 2 (Brogin et. al., 2004), este último já quebrado pelo patógeno.

Dessa forma, os objetivos do trabalho são: estudar o número de locos envolvidos na resistência ao fungo *Phakopsora pachyrhizi* das fontes PI 203398 (Abura), PI 200526 (Shira Nui), PI 200487 (Kinoshita) e GC 84058-18-4, cujos genes mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* segundo o trabalho de Laperuta (2007); verificar se os genes de resistência das outras 16 fontes estudadas por Laperuta (2007), os quais mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4*, estão nos mesmos locos envolvidos na resistência das quatro fontes do primeiro objetivo; e gerar informações para incrementar o uso desses genes em programas de melhoramento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA SOJA NO BRASIL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma espécie originária da região leste da Ásia, provavelmente na região centro-sul da China, lugar aonde vem sendo cultivada há centenas de anos (Xu et. al., 1989).

Sua introdução no Brasil ocorreu na Bahia em 1882, mas somente a partir do final dos anos 60 é que a soja tornou-se economicamente importante. Nessa época a produção passou de 203 mil toneladas, em 1960, para um milhão de toneladas, em 1969 (Bonato & Bonato, 1997). O maior aumento de produção de soja ocorreu na década de 70. De 1970 a 1980, a produção passou de 1,5 para 15,2 milhões de toneladas (aumento de 25,9% ao ano), enquanto a área passou de 1,3 para 8,8 milhões de hectares (aumento de 20,8% ao ano). Esse crescimento fez com que o Brasil aumentasse sua participação na produção mundial de 3,6%, em 1970, para 18,7%, em 1980. Esse aumento na década de 80 foi possível, pois o Cerrado brasileiro começou a ter importância econômica como região produtora (Arantes & Souza, 1993).

Até a década de 80, as lavouras se concentravam no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Na região tradicional de cultivo, os aumentos de área com soja ocorreram principalmente por substituição de culturas como arroz, feijão, mandioca, batata, milho e café. Suas características nutritivas e industriais e sua adaptabilidade a diferentes latitudes, solos e condições climáticas, fizeram com que seu cultivo se expandisse por todo o território brasileiro, sendo atualmente uma das principais culturas por todo o Brasil. As maiores áreas com soja estavam nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, mas Minas Gerais (Triângulo Mineiro) e as regiões sul dos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Goiás já contavam com áreas significativas e crescentes de produção. A partir desse período, a produção aumentou consideravelmente na Região Centro-Oeste, pela incorporação de novas áreas de cultivo (Bonato & Bonato, 1997).

Ao longo das últimas três décadas constata-se que a soja foi não apenas a cultura que mais cresceu em volume de produção, mas foi, também, a que

mais cresceu em área cultivada. Na safra de 2004 o Brasil foi o segundo produtor, com cerca de 50 milhões de toneladas, sendo também um dos principais produtos de exportação brasileiro. Nesse mesmo ano, o Brasil exportou 21 milhões de toneladas de grãos, sendo Holanda, China, Alemanha e a Espanha os principais compradores (Embrapa Soja, 2004). Na safra de 2006/2007, houve uma redução na área plantada de soja, devido ao endividamento dos produtores, mas mesmo assim o Brasil alcançou um patamar de 55 milhões de toneladas (Conab, 2007) e na safra 2007/2008 a produção de soja brasileira ultrapassou 59 milhões de toneladas (Conab, 2008).

Considerando que a possibilidade de expansão da área de produção de soja está limitada em grande parte ao Brasil e cientes da crescente demanda do grão, resta ao incremento na produtividade a responsabilidade da manutenção do suprimento global. Para tanto, há necessidade de constantes inovações tecnológicas em face da contínua pressão de fatores adversos à produção, tanto de origem biótica quanto abiótica. Destes, as epidemias de fitopatógenos, a exemplo da recente ameaça da ferrugem asiática, possuem um papel fundamental por terem um grande potencial de dano.

2.2 FERRUGEM DA SOJA

2.2.1 Agente Causador

A ferrugem da soja tem como agente etiológico duas espécies de fungo do gênero *Phakopsora*. As ferrugens são assim denominadas em razão das lesões amareladas e de aspecto ferruginoso que causam nos hospedeiros atacados. Estas lesões também podem ser chamadas de pústulas e são constituídas por estruturas reprodutivas do fungo. Os patógenos responsáveis pelas ferrugens são fungos basidiomicetos pertencentes à ordem Uredinales (Bedendo, 1995).

A primeira espécie é a *Phakopsora meibomiae*, agente etiológico da ferrugem americana, que é um fungo geograficamente mais restrito e que raramente causa danos econômicos. Ainda é vista esporadicamente em cultivos no Distrito

Federal, Goiás e Minas Gerais, mais precisamente na região do triângulo mineiro. Na região norte do Paraná, ocorre anualmente mas sem causar danos significativos. Além da soja, o fungo infecta outras 42 espécies em 19 gêneros de leguminosas, sendo mais comum em final de ciclo e está restrito às áreas de clima mais ameno.

A segunda é a *Phakopsora pachyrhizi*, agente etiológico da ferrugem asiática, presente na maioria dos países que cultivam soja. Foi descrita pela primeira vez no Japão em 1902. Por volta de 1914, surgiu em caráter epidêmico em vários países do sudoeste da Ásia. Em 1976 foi descrita em Porto Rico (Vakili e Bromfield, 1979). Em 1990, foi registrada na África, sendo constatada em Uganda, Kenia e Rwanda em 1998, e na África do Sul, em 2001. Especula-se que o inóculo tenha chegado ao continente africano transportado por correntes aéreas (Caldwell & Laing, 2008). Na América do Sul foi constatada pela primeira vez nas lavouras brasileiras e paraguaias na safra de 2000/2001. No estado do Paraná a doença foi identificada pela primeira vez em maio de 2001. Na safra de 2001/2002, causou perdas entre 30% e 75% nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás.

Semelhantemente às demais ferrugens, *Phakopsora pachyrhizi* é um parasita biotrófico, requerendo um hospedeiro vivo para parasitar e sobreviver (Reis, 2004). Este patógeno possui uma ampla gama de hospedeiros, que incluem além de *Glycine max*, outras espécies do gênero *Glycine* e outros gêneros de leguminosas. Uma coleção de 95 espécies de plantas hospedeiras, distribuídas em 42 gêneros da família Fabaceae (Keogh, 1978 citado em Caldwell e MacLaren, 2004) são hospedeiras da ferrugem asiática da soja. Devido ao fato de possuir uma série de hospedeiros, nas épocas de entressafra o fungo pode parasitar outras plantas presentes no mesmo ambiente, como por exemplo, o feijão de lima (*Phaseolus vulgaris* var. *macrocarpus*), o desmódio (*Desmodium* sp.), a soja perene (*Neunotonia wightii*), o kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*), kudzu (*Pueraria lobata*) e jicama (*Pachyrhizus erosus*), o que torna difícil controlar o inóculo inicial (CTPA, 2003).

2.2.2. Sintomatologia e Epidemiologia

Os primeiros sintomas da ferrugem são caracterizados por minúsculos pontos mais escuros do que o tecido sadio da folha, de coloração esverdeada a cinza-esverdeado (Embrapa Soja, 2006b). Essas lesões podem aparecer nos pecíolos, vagens, ramos e cotilédones, porém, são mais abundantes nas folhas, principalmente na superfície superior. O número de pústulas, também chamadas de urédias aumenta com a idade da lesão e adquirem coloração castanho-claro a castanho-escuro, abrem-se em minúsculo poro, expelindo os uredósporos. Os uredósporos acumulam-se ao redor dos poros e com o tempo são carregados pelo vento. As urédias que deixam de esporular apresentam as pústulas, nitidamente, com os poros abertos, o que permite distinguir da pústula bacteriana, com as quais são frequentemente confundidas (Yorinori, 2002)

A ferrugem asiática da soja também pode ser confundida com lesões iniciais de mancha-parda, as quais formam um halo amarelo ao redor nas lesões necróticas, angular e castanho-avermelhado. Em ambos os casos, as folhas infectadas amarelam, secam e caem prematuramente (Yorinori, 2002).

As epidemiologias mais severas de ferrugem asiática foram observadas em áreas onde as temperaturas médias diárias são menores que 28°C, com precipitações ou longos períodos de molhamento foliar (10 a 12 horas) ocorrendo por toda a safra. Os uredósporos germinam entre três e seis horas sob temperatura de 14 a 29°C, porém, a germinação e a penetração no tecido da folha podem ocorrer à temperatura variando de 8°C a 28°C (Sinclair & Hartman, 1999).

Em condições de casa-de-vegetação, sob ausência de luz e a 20°C, uredósporos de *Phakopsora pachyrhizi* iniciaram a germinação em uma hora e meia, a partir do momento que se iniciou a nebulização, atingindo o máximo após seis a sete horas. O surgimento das primeiras lesões ocorre sete dias após a inoculação e a produção de esporos inicia-se entre nove a quatorze dias (Melching et. al., 1979, Martins, 2006).

2.2.3 Danos e Perdas Causados pelo Patógeno

A principal consequência do ataque do fungo é a queda prematura das folhas, prejudicando o enchimento dos grãos, reduzindo o número de vagens e sementes, e, conseqüentemente, causando perda de rendimento e de qualidade. Um dos principais efeitos da desfolha é a diminuição do tamanho dos grãos (Costamilan et. al., 2002). Quanto mais cedo ocorrer a desfolha, menor será o tamanho dos grãos e, conseqüentemente, maior a perda de rendimento e de qualidade. Em casos severos, quando a doença atinge a soja na fase de formação das vagens ou no início da granação, pode causar o aborto e a queda das vagens, resultando até em perda total do rendimento (Hartman et. al., 1991; Yang et. al., 1991). Elevadas perdas de rendimento têm sido registradas na Tailândia (entre 10% a 40%), sul da China (entre 10% a 50%), Índia (entre 10% a 90%), Taiwan (entre 20% a 90%) e Japão (40%) (Sinclair & Hartman, 1999; Godoy, 2005). No Brasil, reduções de produtividade de até 70% têm sido observadas, quando se comparam áreas tratadas e não tratadas com fungicidas. As regiões onde a doença tem sido mais agressiva têm variado de safra para safra, em função das condições climáticas. (Embrapa Soja, 2006a)

Desde a primeira detecção até o presente momento, a ferrugem asiática foi identificada em praticamente todas as regiões produtoras de soja do Brasil, exceto no estado de Roraima, e tem causado sérios prejuízos. (Embrapa Soja, 2006a). As estimativas de perdas provocadas por esta doença foram de 569 mil toneladas, para a safra 2001/2002, 3,4 milhões de toneladas, para a safra 2002/2003, e 4,6 milhões de toneladas para a safra 2003/2004. Para a safra 2007/2008, se forem contabilizados, os gastos com fungicida e perdas na produção, as perdas chegam à ordem de 2,2 bilhões de dólares (Del Ponte, 2008).

Além da perda de produção, a ferrugem asiática também aumenta custos decorrentes da administração de defensivos químicos para o controle da doença. Em algumas regiões do país, na safra 2006/2007, foi realizada uma média superior a três aplicações de fungicidas para o controle da ferrugem asiática. Considerando que uma aplicação nessa safra tinha o custo de R\$ 76,16/ha, pelo menos R\$ 228,48/ha foram gastos com fungicida para combater a ferrugem asiática. Felizmente na safra 2007/2008, a estimativa é que o custo de uma aplicação

decreça para R\$ 38,12/ha, em função da redução de 16,2% no preço dos fungicidas. Dessa forma, o custo de três aplicações ficaria em R\$ 114,36/ha (Richetti, 2006). Além do preço dos fungicidas, existem outros fatores que afetam o custo total, como a eficiência destes produtos que varia, dependendo das formulações utilizadas (Embrapa Soja, 2007), das condições climáticas que predominaram durante a safra e da cultivar plantada.

2.2.4 Resistência Genética

De acordo com Van Der Plank (1968), a resistência de plantas a doenças pode ser classificada em resistência vertical ou específica capaz de atuar com grande eficiência sobre raças específicas do patógeno e resistência horizontal, inespecífica ou de campo, caracterizada por ser ativa contra as raças do patógeno, embora com eficiência inferior e podendo ser afetada por fatores do ambiente.

A obtenção de cultivares resistentes à ferrugem asiática tem sido um desafio para a pesquisa. A utilização de genes dominantes ou de efeito principal, denominados *Rpp1* a *Rpp4* e identificados em introduções de plantas (PI's) e cultivares, são relatados na literatura (Bromfield & Hartwig, 1980; Hartwig, 1986; McLean & Byth, 1980; Rahangdale & Raut, 2004). No entanto, a estabilidade dessa resistência é duvidosa, devido à grande variabilidade do patógeno. Dezoito raças foram identificadas, em amostras coletadas em plantas de soja e hospedeiros selvagens no Japão (Yamaoka et. al., 2002). Estudos realizados em Taiwan mostraram a existência de pelo menos uma raça, contendo três genes de virulência (Bromfield, 1981). Na Tailândia, 59 raças foram diferenciadas entre 69 amostras coletadas de diferentes localidades do país (Poonpolgul, 2004).

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.

No Brasil, estudos realizados pela Embrapa Soja identificaram 11 cultivares com resistência à ferrugem (Yorinori et. al., 2002), derivadas da cultivar

FT-2. A resistência dessa fonte foi quebrada por um novo isolado do fungo em 2003. Desde então, esse isolado tem sido mantido e multiplicado na cultivar BRSMS Bacuri, cuja resistência foi quebrada junto com o grupo de cultivares descendentes da FT-2. Das quatro fontes de resistência já descritas na literatura, apenas aquelas com os genes *Rpp2* e *Rpp4* permanecem resistentes à ferrugem no Brasil após o aparecimento desse novo isolado (Arias et. al., 2004).

A busca por variedades resistentes à ferrugem da soja no Brasil iniciou-se no inverno de 2001, onde testes em condições controladas de casa-de-vegetação, na Embrapa Soja, em Londrina, PR, identificaram cultivares com resistência a essa doença.

A ferrugem asiática proporciona dois tipos de lesões às quais podem ser classificadas como castanho-claro (TAN) ou castanho-avermelhado (RB-Reddish Brown). As plantas com lesões TAN são suscetíveis ao fungo *Phakopsora pachyrhizi* e as plantas com lesões RB são resistentes, causando a morte do tecido foliar afetado ao redor das lesões, o que caracteriza uma reação de hipersensibilidade.

Lesões do tipo RB, com pouca ou nenhuma esporulação foram encontradas em materiais com resistência a essa doença (Bromfield, 1981). Essas lesões do tipo RB podem ser descritas como resultantes de uma reação de hipersensibilidade. No fenômeno de hipersensibilidade, as células do hospedeiro, próximo ao ponto de penetração do patógeno, morrem logo após a infecção. O patógeno *Phakopsora 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 hipersensível é extremamente resistente, uma vez que o patógeno tem sua reprodução limitada, cessando o processo epidêmico no campo (Camargo, 1995) e de acordo com 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.

Quando trabalhamos com populações segregantes podemos nos deparar com diferentes proporções ou padrões de segregação. As diferenças nas proporções das classes fenotípicas da população F2 em um cruzamento envolvendo mais de um gene podem ser explicadas usando o conhecimento sobre as relações de dominância e epistasia.

As relações de dominância correspondem às interações entre alelos de um mesmo loco. No caso da ferrugem, a maioria dos genes de resistência descritos é dominante, embora existam relatos de genes de resistência recessivos (Pierozzi et. al., 2008; Calvo et. al., 2008). Por exemplo, dois genes resistentes com dominância completa em locos distintos produziram uma segregação de 15RB: 1TAN na geração F₂; da mesma forma um gene dominante e outro recessivo produziria uma proporção de 13RB: 3TAN.

A epistasia é a interação entre genes de locos diferentes que afetam o mesmo caráter. Ela foi originalmente usada por Baterson em 1909 para descrever dois diferentes genes que afetavam o mesmo caráter, um inibindo a expressão do outro. O gene que inibe é chamado de epistático e o gene, o qual a expressão é inibida é chamado de hipostático. A epistasia ou interação não-alélica, causa derivações da segregação fenotípica comum na população F₂ de 9:3:3:1. Essa segregação é associada a dois genes independentes com dominância completa e que não interagem (Kuckuck, 1985 & Fehr, 1987).

3 ARTIGO A SER SUBMETIDO À REVISTA CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA.

3.1 IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM ASIÁTICA (*PHAKOPSORA PACHYRHIZI*) EM SOJA (*GLICYNE MAX*)

IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS LOCOS DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM ASIÁTICA (*PHAKOPSORA PACHYRHIZI*) EM SOJA (*GLICYNE MAX*)

Breno Francovig Rachid

Resumo

O objetivo deste estudo foi realizar testes de alelismo entre 20 fontes de resistência à ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*), cujos genes mapeiam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* (Laperuta, 2007). Com base na ausência de segregação ou no padrão de segregação observado na geração F₂, foi possível concluir que das quatro fontes utilizadas como testadoras, três delas (PI 200487, PI 200526 e GC 84058-18-4) possuem pelo menos um gene de resistência no mesmo grupo de ligação denominado grupo "Kinoshita", enquanto a outra testadora (PI 203398) possui um gene de resistência em loco independente, denominado grupo "Abura". Das demais fontes testadas, três delas (PI 416764, PI 423966 e PI 471904) pertencem ao grupo "Kinoshita", já outras quatro (PI 416810, PI 417421, PI 398777 e PI 471904) pertencem ao grupo "Abura". De todas as fontes estudadas cinco delas (PI 397618TC1, PI 417074, PI 417503, Nova Santa Rosa e Hyuuga) segregaram independentemente em relação aos dois grupos. As fontes GC 84058-21-4 e GC 84051-9-1 não segregaram em relação à testadora GC84058-18-4 e devem conter pelo menos um gene próximo ao grupo "Kinoshita". Outras três fontes (PI 471904, PI 200455 e PI 417115) não segregam com "Abura" nem, com pelo menos uma das testadoras do grupo "Kinoshita", não permitindo conclusão sobre o grupo de ligação. Possivelmente estejamos lidando com um novo grupo de genes de resistência a doenças, no grupo de ligação N.

Palavras chave: Teste de alelismo. Resistência vertical. Mapeamento genético. *Phakopsora pachyrhizi* e *Glycine max*.

Abstract

This study aimed to perform allelism test between 20 sources of resistance to the soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*), whose genes mapped out to the loci *rpp2* and *rpp4* (Laperuta, 2007). Based on the segregation observed in the F₂ generation, it was possible to conclude that among the four sources used as testers, three of them (PI 200487, PI 200526 and GC 84058-18-4) have at least one gene for resistance in the same LG in the "Kinoshita" group, while the other tester (PI 203398) has a gene for resistance in an independent locus belonging to "Abura" group. Among the other sources tested, three of them (PI 416,764, PI 423966 and PI 471904) belong to the group "Kinoshita," four (PI 416810, PI 417421, PI 398777 and PI 471904) belong to the group "Abura", and five (PI 397618TC1, PI 417074, PI 417503, Nova Santa Rosa and Hyuuga) segregated independently in relation to the two groups. The sources GC 84058-21-4 and GC 84051-9-1 did not segregate in relation to the tester GC 84058-18-4 and must contain at least one gene next to the group "Kinoshita." Three

other sources (PI 471904, PI 200455 and PI 417115) did not segregate with "Abura," nor with at least one of the testers of the group "Kinoshita," not allowing any conclusion about the linkage group. It is possible that we are dealing with a new cluster of genes for resistance to disease, in the linkage group N.

Keywords: Allelism test. Vertical resistance. Genetic mapping. *Phakopsora pachyrhizi* e *Glycine max*.

Introdução

O Brasil tem, há vários anos, mantido sua posição de segundo maior produtor mundial de soja, se aproximando do maior produtor os Estados Unidos. Na safra 2007/2008 a produção de soja brasileira ultrapassou 59 milhões de toneladas, sendo a produtividade o segredo dessa competitividade (Conab, 2008).

Para o Brasil alcançar o posto de maior produtor mundial de soja, primeiro deve resolver alguns problemas que limitam o rendimento e a lucratividade da soja brasileira. Atualmente um dos principais fatores limitantes é a doença denominada ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow. A doença basicamente provoca a queda prematura das folhas, prejudicando o enchimento de grãos e, conseqüentemente, causando perdas de rendimento e de qualidade. Foi constatada no Brasil na safra 2000/2001, causando sérios danos na produção já na safra seguinte nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás. As maiores perdas foram observadas em Chapadão do Sul (Mato Grosso do Sul), Chapadão do Céu (Goiás) e Alto Taquari (Mato Grosso), sendo estimadas entre 30% e 50%. O potencial de dano dessa doença é tão grande, que mesmo tomando os cuidados necessários, na safra 2006/2007 o prejuízo foi da ordem de 2,2 bilhões de dólares, sendo 0,6 bilhões provenientes das perdas de produção e 1,6 bilhões do custo de controle incluindo a aquisição de fungicidas e as despesas com a aplicação (Del Ponte, 2008).

Muitos problemas ainda deverão ocorrer devido à falta de cultivares resistentes/tolerantes à ferrugem e ao elevado e continuado uso de agroquímicos, acarretando além de perdas financeiras ao produtor, sérios problemas ao meio ambiente, aparecimento de novas doenças e pragas e, eventualmente, desenvolvimento de tolerância do fungo aos fungicidas utilizados.

Sob esse aspecto, a obtenção de cultivares de soja com alta resistência e produtividade é uma medida de controle econômica e efetiva. No entanto, ainda não há cultivares competitivas e com resistência a essa doença, sendo necessário, um grande esforço dos programas de melhoramento para alcançar esse objetivo.

Até o momento, estão identificados e descritos cinco genes de resistência à ferrugem asiática, dominantes e independentes, denominados Rpp1 a Rpp5 (Bromfield e Hartwig 1980, Mclean e Byth 1980, Hartwig e Bromfield 1983, Hartwig 1986, Garcia et. al., 2008). No ano de 2003 surgiu um novo isolado de *Phakopsora pachyrhizi*, proveniente do Mato Grosso, quebrando a resistência conferida pelos genes Rpp1 e Rpp3 (Arias et. al. 2004). Laperuta (2007), verificou a existência de 24 genótipos de soja resistentes à essa nova raça, cujos genes de resistência mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* e, também, outros três genótipos com genes de resistência no loco *rpp2*.

A distribuição desses locos de resistência ao longo do genoma da soja pode ser determinada com o auxílio de marcadores moleculares. Atualmente estão mapeados os genes de resistência Rpp1 no grupo de ligação G (Hyten et. al., 2007) e o gene Rpp3 no grupo de ligação C2 (Hyten, 2007); o gene Rpp2 no grupo de ligação J e o gene Rpp4 no grupo de ligação G (Silva et. al., 2008); e os genes das fontes PI 200526 “Shira Nui” e PI 200487 “Kinoshita” no grupo de ligação N (Catelli et. al., 2008, Garcia et. al., 2008). No grupo de ligação G, o mesmo grupo do gene Rpp1, também foi mapeado o gene de resistência da PI 594538A (Curley et. al., 2007), e no grupo de ligação C2, o mesmo grupo do gene Rpp3, também foram mapeados o gene de resistência da fonte “Hyuuga” (Monteros et. al., 2007) e o gene da fonte FT 2 (Brogin et. al., 2004), este último já quebrado pelo patógeno. Dessa forma, os objetivos do trabalho são: estudar o número de locos envolvidos na resistência ao fungo *Phakopsora pachyrhizi* das fontes PI 203398 (Abura), PI 200526 (Shira Nui), PI 200487 (Kinoshita) e GC 84058-18-4, cujos genes mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4* segundo o trabalho de Laperuta (2007); verificar se os genes de resistência das outras 16 fontes estudadas por Laperuta (2007), os quais mapearam fora dos locos *rpp2* e *rpp4*, estão nos mesmos locos envolvidos na resistência das quatro fontes do primeiro objetivo; e gerar informações para incrementar o uso desses genes em programas de melhoramento.

Materiais e Métodos

Material Genético

Os estudos de alelismo envolveram 20 fontes de resistência, incluindo linhagens derivadas dos programas de melhoramento e acesso do banco de germoplasma, identificadas pela Embrapa Soja (Centro Nacional de Pesquisa de Soja) como portadoras de resistência à ferrugem asiática e que possuem o gene de resistência localizado fora dos locos *rpp2* e *rpp4* (Laperuta, 2007). Essas fontes estão listadas a seguir: PI 203398 (Abura), PI 200487 (Kinoshita), PI 200526 (Shira Nui), GC 84058-18-4, PI 471904, PI 416764, PI 398777, PI 200455, PI 416819, PI 417503, PI 416810, PI 417115, PI 417421, PI 397618 TC1, PI 417074, PI 423966, GC 84058-21-4, GC 84051-9-1, Hyuuga e Nova Santa Rosa.

Plantas individuais de cada uma dessas linhagens foram selecionadas e trilhadas individualmente e suas sementes foram utilizadas para a semeadura da bateria de cruzamentos, garantindo maior uniformidade genética dentro dos parentais estudados. As linhagens PI 203398, PI 200487, PI 200526 e GC 84058-18-4 foram intercruzadas para obtenção de seis combinações possíveis sem o recíproco e serviram como testadoras para as 16 outras fontes de resistência estudadas. A linhagem PI 203398 foi escolhida como testadora por ter sido muito utilizada nos programas de soja para alimentação humana, produzindo descendentes que participam nas avaliações finais dos programas de melhoramento no Brasil. As outras três testadoras foram escolhidas por apresentarem lesões escuras e com pouca esporulação.

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 a serem utilizadas nos experimentos para avaliação da reação à ferrugem asiática. Caracteres morfológicos como cor de flor, de pubescência e de hilo foram usados como marcadores genéticos para identificação de prováveis autofecundações nas gerações F1 e F2.

Preparo do Inóculo e Inoculação

O inóculo da ferrugem asiática usado foi obtido através da coleta de esporos a partir de folhas infectadas da cultivar BRSMS Bacuri cultivada em casa-de-vegetação. Essa cultivar possui o gene de resistência a ferrugem asiática derivado da cultivar FT-2, a qual foi quebrada no ano de 2003, depois do aparecimento de um novo isolado. A utilização da cultivar BRSMS Bacuri, resistente ao isolado de 2001 e suscetível ao isolado de 2003, como hospedeiro para a produção do inóculo, promove a seleção do novo isolado e reduz a possibilidade de se estar trabalhando com uma mistura de raças do patógeno.

Após a obtenção do inóculo, os esporos foram mantidos em nitrogênio líquido (- 196°C), por um período de dois meses. Um dia antes da inoculação foi necessária a quebra de dormência dos esporos provenientes do nitrogênio líquido, realizada através de um tratamento dos esporos em banho-maria a 35°C durante um período de 20 horas.

Logo após o término das etapas da quebra de dormência, os esporos foram colocados em uma solução de água + 10 gotas tween 20 (espalhante), resultando em um volume final de cinco litros com uma concentração de 3×10^4 esporos por ml. As plantas a serem testadas foram inoculadas com o isolado de ferrugem asiática quando atingiram o estágio V3 (2º trifólio aberto) sempre próximo das 18:00 horas. Ao longo da noite após a inoculação, as plantas foram nebulizadas com água por período de 15 segundos a cada quatro horas (programado para 22:00hs, 2:00hs e 6:00hs), proporcionando um período de molhamento maior que 12 horas, tempo suficiente para a ferrugem infectar a planta.

Ensaio para Avaliação da Reação à Ferrugem

As avaliações da reação à ferrugem foram realizadas em casa-de-vegetação onde as plantas foram cultivadas em vasos contendo 5 kg de mistura de terra, areia e esterco na proporção 2:1:2, já tratados com brometo de metila. Após o desbaste, três plantas foram mantidas em cada vaso, para serem avaliadas individualmente. Foram avaliadas 108 plantas F2 de cada cruzamento (36 vasos com três plantas por vaso), distribuídas segundo delineamento inteiramente ao acaso (DIC) com repetição dentro da parcela. Um vaso com cinco plantas de cada parental envolvido no cruzamento também foi incluído nas avaliações para confirmar

a resistência e auxiliar na interpretação dos padrões de segregação obtidos na geração F2.

Em função do grande número de cruzamentos gerados para os estudos de alelismo, as avaliações foram feitas em quatro etapas, agrupando os cruzamentos conforme descrito no anexo 41. Após as inoculações, realizadas conforme descrito anteriormente, e com o aparecimento das lesões nas folhas, iniciou-se o processo de avaliação dos parentais e das plantas F2 de cada cruzamento para classificá-las como resistentes (lesões RB) ou suscetíveis (lesões TAN). Foram realizadas três avaliações nas populações com reação pouca característica entre TAN e RB e duas avaliações em populações que estavam com as lesões bem caracterizadas. As avaliações para a primeira semeadura (emergência 12/10/2006) foram realizadas entre 13/11/2006 a 26/11/2006, para a segunda semeadura (emergência 20/11/2006) foram realizadas entre 21/12/2006 a 08/01/2007, para a terceira semeadura (emergência 07/01/2007) foram realizadas entre 07/02/2007 a 14/02/2007 e para a quarta semeadura (emergência 07/02/2007) foram realizadas entre 08/03/2007 a 10/03/2007.

Análises Genéticas e Estatísticas

Após a caracterização da reação dos parentais e das plantas F2 em resposta à ferrugem, as plantas F2 de cada cruzamento foram classificadas como resistente ou suscetível. Confirmada a reação de resistência das fontes utilizadas como parentais todos os cruzamentos realizados seriam do tipo resistente x resistente (R x R). A ausência de plantas F2 suscetíveis indica que os parentais envolvidos no cruzamento têm pelo menos um gene de resistência no mesmo loco ou genes muito próximos no mesmo grupo de ligação, não sendo aplicado um teste estatístico. A presença de plantas F2 suscetíveis indica que houve segregação entre os genes de resistência derivados de cada parental. Neste caso, a adequação das proporções de plantas resistentes e suscetíveis aos padrões de segregação Mendelianos para a geração F2 foi testada através do teste do qui-quadrado.

Resultados e Discussão

Quando a ferrugem asiática foi relatada pela primeira vez no Brasil na safra 2000/2001, havia quatro locos de resistência descritos e efetivos, e desses, atualmente, só os genes da PI 230970 e PI 459025 (*Rpp2* e *Rpp4*, respectivamente) continuam funcionais, enquanto a resistência conferida pelos genes da PI 200492 e PI 462312 (*Rpp1* e *Rpp3*, respectivamente) foi quebrada em 2003 por um isolado do Estado do Mato Grosso. Esse fato fez com que os testes de alelismo feitos por Laperuta (2007) se restringissem apenas aos locos *rpp2* e *rpp4*. 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. A PI 200526 e a PI 200487 são duas das fontes testadoras em nosso trabalho e, portanto, servem como testadoras para o loco *rpp5*. Primeiramente, serão apresentados e discutidos os resultados para as seis combinações híbridas obtidas entre as fontes testadoras e, posteriormente, para as combinações entre as 16 fontes com cada testadora.

Cruzamento entre as testadoras PI 203398 (Abura), PI 200487 (Kinoshita), PI 200526 (Shira Nui) e GC 84058-18-4

As seis combinações híbridas obtidas entre as fontes testadoras foram cultivadas e avaliadas na mesma época de semeadura sob condições ambientais similares, permitindo comparações entre cruzamentos. Todas as plantas avaliadas de cada parental testador confirmaram a reação de resistência do tipo RB, mostrando lesões escuras e com pouca ou nenhuma esporulação.

Nas combinações envolvendo as quatro fontes testadoras (Tabela 1), observa-se que não houve segregação para resistência e suscetibilidade na geração F₂ dos três cruzamentos realizados envolvendo as testadoras PI 200487, PI 200526 e GC 84058-18-4 (Anexo 4 e Tabela 1). O número de plantas avaliadas no cruzamento PI 200487 x PI 200526 foi relativamente pequeno (N=62). Reforçando a hipótese de não segregação nesse cruzamento, Garcia et. al. (2008) verificaram a presença de um único gene de resistência nessas PIs (PI 200487 e PI 200526) os quais mapearam no mesmo grupo de ligação onde foi mapeado o loco *rpp5*. Nas

duas outras combinações, o número de plantas testadas na geração F2 foi suficientemente grande para detectar uma segregação de até três genes em locos independentes. A outra fonte (GC 84058-18-4) vem apresentando padrões de segregação compatíveis com a presença de um único gene dominante (Laperuta, 2007) e, desta forma, pode-se concluir que os genes de resistência dessas três fontes estejam no mesmo grupo de ligação.

Tabela 1 – Número de plantas com reação RB e TAN e teste de qui-quadrado aplicado para as populações F2 segregantes derivadas dos seis cruzamentos entre as quatro testadoras.

Cruzamentos	Reação Observada			Avaliação	Proporção Testadas	χ^2	P
	RB	TAN	TOTAL				
PI 203398 X PI 200487	73	27	100	1 e 2	03:01	0,2133	0,6442
PI 203398 X GC 84058-18-4	86	15	101	1 e 2	13:03	1,0076	0,3155
	95	6	101	3	15:01	0,0165	0,8978
PI 203398 X PI 200526	46	10	56	1 e 2	13:03	0,0293	0,8641
	51	5	56	3	15:01	0,6857	0,4076
PI 200487 X PI 200526	62	0	62	-	-	-	-
PI 200487 X GC 84058-18-4	98	0	98	-	-	-	-
PI 200526 X GC 84058-18-4	96	0	96	-	-	-	-

Todos os demais cruzamentos envolvendo essas três testadoras com a última testadora, a PI 203398, apresentaram segregação de classes resistentes e suscetíveis na geração F2 (Tabela 1), demonstrando que o gene de resistência presente na PI 203398 está em loco independente em relação às demais testadoras. Neste caso, os padrões de segregação não rejeitados pelo teste qui-quadrado variaram de acordo com o cruzamento, produzindo o padrão 3RB: 1TAN nas três avaliações do cruzamento com a PI 200487 (Anexo 1 e Tabela 1); enquanto para os cruzamentos com a GC 84058-18-4 e PI 200526 foi obtido o padrão 13RB: 3TAN nas duas primeiras avaliações e o padrão 15RB: 1TAN na terceira avaliação (Anexo 2 e 3; Tabela 1).

A proporção de 3RB:1TAN não era esperada para um cruzamento entre duas fontes de resistência, cuja resistência foi confirmada nos parentais utilizados no cruzamento. Embora a proporção 3RB:1TAN esteja próxima da proporção 13RB:3TAN, esta última foi rejeitada pelo teste de qui-quadrado. O

tamanho da população (N=100) foi grande o suficiente para atender ao objetivo deste trabalho e estamos descartando a hipótese de algum desvio na amostragem da geração F₂, já que não foi realizada nenhuma seleção consciente. A reação de resistência da fonte PI 203398, envolvida nesse cruzamento, é uma das mais difíceis de serem caracterizadas fenotipicamente, por serem mais claras e apresentarem maior esporulação quando comparadas com as outras fontes testadoras. Assim, é provável que muitas das combinações genóticas geradas na população F₂ contendo os genes de resistência dessa fonte, não tenham produzido o fenótipo esperado, sendo classificadas como suscetíveis ou com reação TAN. Este fato alcança especial relevância quando consideramos que o outro gene de resistência segregando nesta população veio da PI 200487, a qual produz lesões RB mais escuras e muito contrastantes, gerando classes de plantas com genótipos RB com reações comparativamente diferentes. O resultado nesse caso seria o padrão de segregação de 3RB:1TAN produzido pela segregação dos genes de resistência da PI 200487.

Os padrões de segregação diferentes obtidos entre as avaliações 1 e 2 em relação à avaliação 3 para os outros dois cruzamentos com a PI 203398 indicam que houve uma mudança nas relações de dominância dos alelos de resistência ao longo do tempo (Anexos 2 e 3; Tabela 1). Nas duas primeiras avaliações, o gene de resistência desta PI funcionou como um gene recessivo ou com dominância incompleta e produziu a proporção 13RB:3TAN enquanto, na última avaliação, atuou como um gene dominante produzindo a proporção de 15RB:1TAN. Pierozzi et. al, (2008) estudaram a herança da resistência de uma linhagem com resistência derivada dessa mesma PI e concluíram que trata-se de um gene recessivo, sendo portanto o primeiro relato de um gene recessivo conferindo resistência à ferrugem asiática na literatura. Esse gene comportou-se a maior parte do tempo como um gene recessivo, demonstrando boa aderência entre os resultados dos dois trabalhos.

Em função dos resultados, as quatro fontes testadoras foram divididas em dois grupos, um contendo a PI 203398, denominado grupo da “Abura” e outro formado pelas outras três testadoras, denominado grupo da “Kinoshita”, cujos cruzamentos representam testes de alelismo em relação ao loco *rpp5*, recentemente descrito. Assim, a discussão sobre os cruzamentos com as demais fontes segue para cada um desses dois grupos de testadoras.

Cruzamentos com a testadora PI 203398 – grupo “Abura”

Em função do número restrito de sementes F2 obtido para os cruzamentos entre esta testadora com as fontes Hyuuga e Nova Santa Rosa, não serão apresentados os testes de alelismo para essas duas fontes.

Não foi observada segregação para resistência e suscetibilidade na geração F2 dos cruzamentos realizados entre essa testadora com as fontes de resistência PI 471904, PI 398777, PI 200455, PI 416810, PI 417115 e PI 417421 (Tabela 2 e Anexo 13), para os quais não foi realizado o teste qui-quadrado. Na maioria dos cruzamentos, o número de plantas F2 avaliado foi grande o suficiente para detectar a segregação de até três genes presentes em locos independentes. No cruzamento com a PI 471904, o tamanho da população F2 foi relativamente pequeno (N=73), entretanto existem populações maiores obtidas para as outras testadoras e que serão discutidas posteriormente. O gene de resistência da PI 471904 já foi mapeado no loco *rpp5* e dados de segregação, em cruzamentos com materiais suscetíveis, confirmaram a presença de apenas um gene de resistência nessa fonte (Garcia et. al, 2008).

Como o gene de resistência de “Abura” segrega independente em relação ao loco *rpp5*, conforme discutido anteriormente, a PI 471904 teria que possuir dois genes de resistência, um no loco *rpp5* e outro no loco de “Abura” o que foi descartado pelos resultados de segregação obtidos por Garcia et. al. (2008), ou possuir um único gene de resistência localizado entre o loco de “Abura” e o *rpp5*, a distâncias suficientemente pequenas para não segregar em cruzamentos com essas duas testadoras e, ao mesmo tempo, suficientemente grandes para permitir a segregação entre os genes das duas testadoras. Essa hipótese terá de ser confirmada em outras pesquisas para esclarecer esses resultados.

A ausência de plantas F2 suscetíveis nos cruzamentos com as outras PIs descritas acima, é um indicativo de que todas essas fontes devem ter pelo menos um gene de resistência no mesmo grupo de ligação do gene de resistência derivado da PI 203398. Em estudos realizados por Laperuta (2007), a linhagem PI 203398 havia apresentado padrões de segregação na geração F2, em cruzamentos com outros genótipos resistentes, compatíveis com a presença de um único gene de resistência.

Em todos os cruzamentos com as demais fontes de resistência foi observada a segregação de plantas com reação RB e TAN na geração F₂, indicando que os genes responsáveis pela resistência de cada parental envolvido no cruzamento estão em locos independentes. Dos padrões de segregação observados nos cruzamentos com essa testadora, o padrão de 15RB: 1TAN prevaleceu para a maioria das linhagens e avaliações realizadas. Essa segregação seria o resultado de dois genes com dominância completa segregando na população F₂, sendo o fenótipo suscetível produzido pelo indivíduo portador do genótipo homocigoto recessivo para os dois locos. Esse foi o modelo aceito para todas as avaliações nos cruzamentos com a PI 417503 (Anexo 5; Tabela 2), PI 416764 (Anexo 7; Tabela 2), PI 416819 (Anexo 9; Tabela 2) e GC 84058-21-4 (Anexo 12; Tabela 2). No caso da PI 379618 TC1, o padrão 63RB: 1TAN também não foi rejeitado, podendo indicar a presença de um terceiro loco de resistência (Anexo 11; Tabela 2). Como o padrão 15RB: 1TAN também não foi rejeitado, será considerado esse modelo com dois genes segregando enquanto não existirem outras evidências de um gene adicional.

O modelo de segregação de 13RB: 3TAN foi o mais adequado para vários cruzamentos, incluindo a PI 423966 (Anexo 6; Tabela 2) e GC 84051-9-1 (Anexo 7; Tabela 2). Nesse modelo, o gene de resistência de um dos parentais é recessivo, provavelmente o gene da própria testadora “Abura”, a qual já demonstrou esse comportamento nos cruzamentos com outras testadoras e também no trabalho de Pierozzi et. al. (2008).

Para a PI 417074, o modelo que mais se adequou foi o de 9RB: 7TAN nas duas primeiras avaliações (Anexo 10; Tabela 2). Esse resultado seria esperado quando os dois genes de resistência fossem complementares para expressar a resistência, sendo necessária a presença de pelo menos um alelo de resistência no 1º loco e outro no 2º para produzir a reação de resistência. Entretanto, essa hipótese deve ser descartada uma vez que as linhagens parentais são resistentes (exemplo: AAbb e aaBB). Um modelo diferente com dois genes e epistasia tendo o envolvimento de um terceiro gene seria necessário para explicar esses resultados. Na 3ª avaliação desse mesmo cruzamento (Anexo 10; Tabela 2) o modelo de segregação de 3RB: 1TAN foi o mais adequado, o que seria esperado com apenas um gene de resistência segregando. Neste cruzamento, semelhante ao ocorrido no cruzamento entre as testadoras PI 203398 x PI 200487, o contraste entre as lesões RB de um parental em relação ao outro pode levar a esse tipo de

resultado. Outra possibilidade seria a ação de um terceiro gene presente na PI 417074 o que é pouco provável em função dos resultados com as demais testadoras a serem discutidos adiante.

Tabela 2 – Segregação obtida nos cruzamentos entre as linhagens e o grupo da PI 203398 (“Abura”)

PI's	Reação Observada			Avaliação	Proporção Não Rejeitada	χ^2	P
	RB	TAN	TOTAL				
PI 416764	92	10	102	1 e 2	15:01	1,1529	0,2829
PI 423966	92	14	106	1 e 2	13:03	2,1374	0,1437
PI 417503	97	11	108	1 e 2	15:01	2,8543	0,0911
PI379618 TC1	103	2	105	1 e 2	15:01	1,0673	0,3016
PI 417074	61	38	99	1 e 2	09:07	1,1584	0,2818
PI 417074	68	31	99	3	03:01	2,1044	0,1469
PI 416819	96	8	104	1 e 2	15:01	0,3692	0,5434
GC 84058-21-4	94	8	102	1 e 2	15:01	0,4418	0,5062
GC 84051-9-1	80	12	92	1 e 2	13:03	1,9666	0,1608
PI 416810	105	0	105	-	-	-	-
PI 417421	89	0	89	-	-	-	-
PI 398777	104	0	104	-	-	-	-
PI 471904	73	0	73	-	-	-	-
PI 200455	102	0	102	-	-	-	-
PI 417115	102	0	102	-	-	-	-

Cruzamentos com as testadoras PI 200487 (Kinoshita), PI 200526 (Shira Nui) e GC 84058-18-4 – grupo “Kinoshita”

O grupo formado pelas outras três testadoras foi chamado grupo da “Kinoshita”, onde foi mapeado o loco *rpp5* descrito por Garcia et. al (2008). Os cruzamentos obtidos com as testadoras PI 200487, PI 200526 e GC 84058-18-4 serão discutidos conjuntamente, pois como mostrado anteriormente, os cruzamentos entre elas não apresentaram segregação, sendo toda a população F2 caracterizada pela reação RB de resistência.

Não foi possível estudar a segregação da população F2 dos cruzamentos entre a fonte PI 417421 com as três testadoras do grupo da “Kinoshita”; da fonte PI 398777 com a testadora GC 84058-18-4; da fonte Hyuuga

com as testadoras PI 200487 e PI 200526; e das fontes PI 417503 e GC 84051-9-1 com a testadora PI 200487, devido ao insucesso na obtenção das sementes F1.

As avaliações, bem como as segregações referentes ao cruzamento entre a testadora PI 200526 e as linhagens PI 398777 e PI 417115 não serão consideradas para testar os padrões de segregação devido ao pequeno número de indivíduos da população F2. Entretanto, o resultado da segregação com a PI 398777 está sendo mostrado para registrar que houve segregação em RB e TAN na população F2.

Para as linhagens PI 416764, PI 423966 e PI 471904 não foi observada segregação em nenhum dos cruzamentos com as três testadoras (Anexos 21, 30 e 40; Tabela 3). Sendo assim, pode-se concluir que tanto as três testadoras quanto as três linhagens referidas anteriormente devem ter pelo menos um gene de resistência à ferrugem asiática no mesmo grupo de ligação. O resultado obtido para a PI 471904 confirma as observações de Garcia et. al (2008) que mapeou o gene dessa PI no loco *rpp5*.

Além da testadora PI 203398 as linhagens que apresentaram genes de resistência fora do loco desse grupo das três testadoras foram PI 398777 (Anexo 14 e 22; Tabela 3), PI 417503 (Anexo 23 e 31; Tabela 3), PI 416810 (Anexo 18, 27 e 37; Tabela 3), PI 379618 TC1 (Anexo 16, 24 e 38; Tabela 3), PI 417074 (Anexo 19, 28 e 33; Tabela 3) e Nova Santa Rosa (Anexo 20, 26 e 39; Tabela 3) totalizando sete genótipos. As segregações obtidas também foram de 15 resistentes para 1 suscetível e/ou 13 resistentes para 3 suscetíveis, indicando que os genes segregam independentes e que as relações de dominância variam para cada gene. Não foi possível obter o cruzamento da PI 398777 com a testadora GC 84058-18-4 e da PI 417503 com a testadora PI 200487, dessa forma a conclusão foi obtida através da análise das segregações com as outras duas testadoras que possuem genes no mesmo grupo de ligação.

Dos padrões de segregação observados nos cruzamentos com as três testadoras, o padrão de segregação mais observado foi 15RB: 1TAN. Esse tipo de segregação indica que temos dois genes em locos independentes e com dominância completa de cada gene envolvido. Esse modelo foi aceito para o cruzamento entre as três testadoras e a PI 416810 (Anexo 18, 27 e 37; Tabela 3) e a PI 379618 TC1 (Anexos 16, 24 e 38; Tabela 3). Para essas fontes, os genes de resistência mantiveram o padrão de dominância completa ao longo das avaliações,

indicando que a idade fisiológica da planta não afetou significativamente a reação das plantas avaliadas.

A linhagem Nova Santa Rosa obteve a segregação 15RB: 1TAN em todas as avaliações quando cruzada com as testadoras PI 200526 e GC 84058-18-4 (Anexo 26 e 39; Tabela 3) e apenas na 1ª avaliação com a testadora PI 200487 (Anexo 20; Tabela 3). Na 2ª avaliação, não foi rejeitada pelo teste do qui-quadrado apenas a segregação 13RB: 3TAN. Nesse cruzamento, o gene dessa fonte comportou-se inicialmente como um gene dominante evoluindo para uma dominância incompleta ou ausência de dominância. Embora fique clara a segregação independente do gene de resistência dessa PI em relação às testadoras, as relações de dominância parecem ser afetadas pela idade fisiológica das plantas. Para essa fonte, ocorreu exatamente o inverso do que foi observado para a testadora PI 203398, a qual inicia comportando-se como um gene recessivo e termina como um gene dominante. De qualquer forma, fica claro que diferenças na idade fisiológica das plantas avaliadas aliado a diferenças ambientais existentes, principalmente entre experimentos, parecem ter papel importante na determinação da reação à doença. Mudanças na coloração das lesões de acordo com a idade fisiológica também foi observada por Ribeiro et. al 2007 e Pierozzi et. al 2008, podendo ocorrer devido a mudanças na expressão gênica ao longo do ciclo da planta.

A linhagem PI 417074 apresentou segregação de 15:1 em todas as avaliações com as testadoras PI 200487 e GC 84058-18-4 (Anexos 19 e 33; Tabela 3), e de 13RB: 3TAN com a testadora PI 200526 (Anexo 28; Tabela 3). Apesar das variações nas relações de dominância, os dois padrões de segregação demonstraram que essa linhagem possui um gene de resistência em loco diferente em relação ao do grupo da “Kinoshita”. Também mostra que, embora essas testadoras possam ter seus genes de resistência no mesmo grupo de ligação, esses genes não devem ser iguais uma vez que produzem resultados diferentes quando cruzados com uma mesma fonte.

A fonte PI 398777 apresentou o padrão de segregação de 13RB: 3TAN em cruzamento com testadora PI 200487 e com a testadora PI 200526 (Anexo 14 e 22; Tabela 3), indicando que o gene presente nessa fonte está em loco independente ao do grupo da “Kinoshita”. O modelo de segregação 13RB: 3TAN também não foi rejeitado para vários outros cruzamentos incluindo os dois

cruzamentos envolvendo a fonte PI 417503 com as testadoras PI 200526 e GC 84058-18-4 em todas as avaliações (Anexo 23 e 31; Tabela 3); o cruzamento entre a fonte PI 417074 e a testadora PI 200526 para as duas avaliações (Anexo 28; Tabela 3); o cruzamento entre a fonte Hyuuga e a GC 84058-18-4 em todas as avaliações (Anexo 34; Tabela 3) e no cruzamento entre a fonte Nova Santa Rosa com a PI 200487 na segunda avaliação (Anexo 20; Tabela 3). Para o cruzamento da linhagem PI 417503 com a testadora PI 200526 além do modelo de segregação de 13RB: 3TAN o modelo de 3RB: 1TAN também não foi rejeitado. Entretanto, como as duas fontes parentais confirmaram sua resistência, a segregação de 13RB: 3TAN será a segregação aceita nesse caso. A segregação independente da fonte Hyuuga em relação à GC 84058-18-4 já era esperada, pois Monteros (2007) mapeou o gene de Hyuuga no loco *rpp3*, enquanto o gene da GC 84058-18-4 deve estar ligado ao loco *rpp5* conforme já discutido.

Embora houvesse a expectativa de que resultados iguais seriam obtidos com as três testadoras deste grupo, não foi esse o resultado alcançado para cinco outras fontes de resistência. Foi o caso da fonte PI 416819 que não apresentou segregação para RB e TAN no cruzamento com a testadora PI 200526 (Anexo 30; Tabela 3), o que indicaria a presença de pelo menos um gene nesse mesmo grupo de ligação. Entretanto, essa mesma fonte apresentou segregação de 15RB:1TAN nos cruzamentos com as outras duas testadoras deste mesmo grupo, mostrando que o gene não estaria mapeando dentro desse grupo (Anexo 15 e 36; Tabela 3). Outro caso ocorreu nos cruzamentos envolvendo duas outras fontes de resistência, a GC 84058-21-4 e GC 84051-9-1, as quais não segregaram quando cruzadas com a testadora GC 84058-18-4 (Anexo 40; Tabela 3) e segregaram quando cruzadas com a testadora PI 200526 (Anexo 25 e 29; Tabela 3). Adicionalmente a GC 84058-21-4 também segregou quando cruzada com a PI 200487 (Anexo 17; Tabela 3). O inverso ocorreu nos cruzamentos envolvendo as fontes PI 200455 e PI 417115, as quais não segregaram em cruzamentos com as testadoras PI 200487 e PI 200526 (Anexo 21 e 30; Tabela 3) e segregaram quando cruzadas com a GC 84058-18-4 (Anexo 32 e 35; Tabela 3). Estes cinco casos envolvendo resultados diferentes entre as testadoras deste grupo representam um indicativo adicional de que os locos de resistência de cada uma destas três testadoras não devam ser os mesmos embora estejam num mesmo grupo de ligação. Isto é possível já que mesmo com 20% de recombinação entre, por

exemplo, o loco da PI 200487 e o loco da GC 84058-18-4, seria esperado apenas um indivíduo com reação TAN numa população com 100 indivíduos e o tamanho populacional utilizado neste trabalho não garantiria a detecção destes recombinantes. As duas fontes GC 84058-21-4 e GC 84051-9-1 não estariam no mesmo loco da GC 84058-18-4, mas a uma distância suficientemente pequena para não produzir recombinantes com essa testadora com populações menores que 100 indivíduos ($R < 20\%$) e suficientemente grande ($R > 40\%$) para produzir recombinantes com reação TAN tanto com a PI 200526 quanto com a PI 200487. Novos estudos sobre esses cruzamentos, envolvendo populações maiores e assistidas por marcadores moleculares, serão necessários para esclarecer esses resultados permitindo conclusões.

Tabela 3 – Segregação obtida nos cruzamentos entre as linhagens e o grupo “Kinoshita”.

PI's	PI 200487			PI 200526			GC 84058-18-4			Avaliação	Proporção Não Rejeitada	X ²	P
	Reação Observada			Reação Observada			Reação Observada						
	RB	TAN	TOTAL	RB	TAN	TOTAL	RB	TAN	TOTAL				
PI 416764	96	0	96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	99	0	99	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	96	0	96	-	-	-	-
PI 423966	92	0	92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	98	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	100	0	100	-	-	-	-
PI 417503	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	62	20	82	-	-	-	1 e 2	13:03	1,7123	0,1907
	-	-	-	-	-	-	87	14	101	1 e 2	13:03	1,5844	0,2081
PI379618 TC1	90	6	96	-	-	-	-	-	-	1 e 2	15:01	0,0000	1,0000
	-	-	-	85	4	89	-	-	-	1 e 2	15:01	0,4682	0,4938
	-	-	-	-	-	-	100	8	108	1 e 2	15:01	0,2469	0,6193
PI 417074	80	8	88	-	-	-	-	-	-	1 e 2	15:01	1,2121	0,2709
	-	-	-	85	14	99	-	-	-	1 e 2	13:03	1,3802	0,2401
	-	-	-	-	-	-	90	8	98	1 e 2	15:01	0,6122	0,4339
PI 416819	89	8	97	-	-	-	-	-	-	1 e 2	15:01	0,6605	0,4164
	-	-	-	93	0	93	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	100	6	106	1 e 2	15:01	0,0629	0,8020
GC 84058-21-4	91	7	98	-	-	-	-	-	-	1 e 2	15:01	0,1333	0,7150
	-	-	-	56	4	60	-	-	-	1 e 2	15:01	0,0178	0,8939
	-	-	-	-	-	-	105	0	105	-	-	-	-
GC 84051-9-1	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	81	4	85	-	-	-	1 e 2	15:01	0,3459	0,5565
	-	-	-	-	-	-	90	0	90	-	-	-	-

PI 398777	83	11	94	-	-	-	-	-	-	1 e 2	13:03	3,0649	0,0800
	-	-	-	35	11	46	-	-	-	1 e 2	13:03	0,8049	0,3696
	-	-	-	-	-	-	XX	XX	XX	-	-	-	-
PI 471904	108	0	108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	98	0	98	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	100	0	100	-	-	-	-
PI 200455	105	0	105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	93	0	93	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	96	6	102	1 e 2	15:01	0,0235	0,8781
PI 417115	108	0	108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	17	0	17	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	101	5	106	1 e 2	15:01	0,4252	0,5144
Hyyuga	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	75	10	85	1 e 2	13:03	2,7225	0,0989
Nova Sta. Rosa	88	3	91	-	-	-	-	-	-	1	15:01	1,3546	0,2445
	80	11	91	-	-	-	-	-	-	2	13:03	2,6512	0,1035
	-	-	-	97	10	107	-	-	-	1 e 2	15:01	1,7502	0,1859
PI 417421	-	-	-	-	-	-	100	6	106	1 e 2	15:01	0,0629	0,8020
	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	XX	XX	XX	-	-	-	-	-	-	-
PI 416810	-	-	-	-	-	-	XX	XX	XX	-	-	-	-
	79	5	84	-	-	-	-	-	-	1 e 2	15:01	0,0127	0,9103
	-	-	-	84	7	91	-	-	-	1 e 2	15:01	0,3231	0,5698
	-	-	-	-	-	99	6	105	1 e 2	15:01	0,0514	0,8206	

Análise Conjunta dos Grupos

Os dois grupos de testadoras, um denominado “Kinoshita” (formado pelas testadoras PI 200487, PI 200526 e GC 84058-18-4) e outro denominado “Abura” (PI 203398), foram formados com base nos padrões de segregação observados nas seis combinações de cruzamentos entre elas. Entretanto, os resultados de segregação de cinco fontes de resistência com as três testadoras do grupo “Kinoshita” mostraram que os locos de resistência dessas testadoras não devam ser os mesmos. Assim, é mais conveniente classificar os grupos de resistência por testadora, sendo que a ausência de segregação entre cada fonte e as várias testadoras do grupo “Kinoshita” não significa que existe mais de um gene conferindo a resistência. Essa interpretação vai depender não só da posição relativa dos locos das testadoras como da posição da fonte que participa do teste de alelismo.

A tabela 4 contém a lista das fontes de resistência posicionadas abaixo da testadora para a qual não houve segregação de plantas com reação RB e TAN. Os espaços vazios abaixo das testadoras indicam os casos onde houve segregação para as classes “RB” e “TAN”. O código “SI” (sem informação) indica que a população daquele cruzamento não foi avaliada.

Das 20 fontes de resistência à ferrugem estudadas neste trabalho foi possível obter dados completos para 13, que correspondem às quatro testadoras

mais as 09 primeiras fontes listadas na tabela 4. Para as outras sete fontes, a possibilidade de se tirar alguma conclusão irá depender da informação faltante.

Foi observado neste trabalho que o gene de resistência de “Abura” segrega independentemente em relação ao loco *rpp5* e também observa-se que a fonte PI 471904 não segrega em cruzamentos com nenhuma das testadoras. Inicialmente, poderia se pensar que essa fonte possa ter dois genes de resistência, um em cada grupo de ligação, mas essa hipótese pode ser descartada, pois essa fonte está bem caracterizada como portadora de um único gene (Garcia et. al., 2008) e pelos dados de segregação nos testes de alelismo em relação aos locos *rpp2* e *rpp4* observados por Laperuta (2008). Outra hipótese a ser considerada colocaria o loco da PI 471904 posicionado entre o loco da “Abura” e o *rpp5*, o que precisaria ser testado em estudos adicionais.

Tabela 4 – Grupos por testadora

Não ligado	“Abura”	Grupo “Kinoshita”		
	PI 203398	PI 200487	PI 200526	GC 84058-18-4
	PI 471904	PI 471904	PI 471904	PI 471904
	PI 200455	PI 200455	PI 200455	
		PI 416764	PI 416764	PI 416764
		PI 423966	PI 423966	PI 423966
			PI 416819	
				GC 84058-21-4
	PI 416810			
PI 397618 TC1				
PI 417074				
PI 417503		SI		
		SI		GC 84051-9-1
	PI 417115	PI 417115	SI	
Nova Santa	SI			
Rosa				
	PI 417421	SI	SI	SI
	PI 398777		SI	SI
Hyuuga	SI	SI	SI	

A mesma hipótese pode ser feita para as fontes PI 200455 e PI 417115 com a diferença que o loco correspondente ao grupo da “Kinoshita” nestes casos está distante do loco da GC 84058-18-4, permitindo a segregação entre esses genes. Os locos de resistência das fontes PI 416764 e PI 423966 também estão no grupo da “Kinoshita” próximos aos genes das três testadoras, não sendo observada segregação nesses cruzamentos. Os locos de resistência das fontes PI 416819, GC 84058-21-4 e GC 84051-9-1 estão no grupo da “Kinoshita”, a primeira com o loco próximo ao da testadora PI 200526 e as duas últimas com o loco próximo ao da testadora GC 84058-18-4. O loco de resistência da fonte PI 416810 está ligado ao grupo da “Abura”. Os locos com os genes de resistência das fontes PI 397618 TC1 e PI 417074 estão segregando independentemente em relação aos grupos “Abura” e “Kinoshita”. Para essas duas PI’s pode tratar-se de locos ainda não descritos ou mapeados na literatura. Este é o mesmo caso da PI 417503, apesar de faltar a informação do cruzamento com a PI 200487. As fontes PI 417421 e PI 398777 têm um loco de resistência no grupo da “Abura” e não há informação quanto à presença de genes junto ao grupo da “Kinoshita”, com exceção da segregação observada para o cruzamento PI 398777 x PI 200487. A fonte Nova Santa Rosa não contém genes no grupo de ligação da “Kinoshita”, mas falta a informação sobre o grupo da “Abura”. Sobre a fonte Hyuuga são poucas as informações obtidas não permitindo conclusões, embora já exista relato de que sua resistência seja determinada por um gene mapeado próximo ao loco *rpp3* (Monteros, 2007).

Para verificar a existência de novos locos de resistência relacionados a essas fontes com genes independentes em relação aos locos *rpp2*, *rpp4* e *rpp5*, faltam os testes de alelismo em relação aos locos *rpp1* e *rpp3* o que agora podem ser realizados, uma vez que existe a PI 594358A que possui a resistência ativa e mapeada próximo ao loco *rpp1* (Curley et. al., 2007) e a fonte Hyuuga próximo ao loco *rpp3* (Monteros et. al., 2007) (Tabela 5)

Tabela 5 – Atualização dos agrupamentos entre as diferentes fontes de genes de resistência da soja (*Glycine max*) à ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*)

Agrupamentos	Fonte de resistência	autor/ano
Grupo de ligação G	PI 200492 (Rpp1)	Hyten,2007
	PI 459025 (Rpp4)	Silva,2008
	PI 594358A	Curley,2007
Grupo de ligação C2	PI 462312 (Rpp3)	Hyten,2007
	Hyuuga	Monteros,2007
	FT-2	Brogin,2004
Grupo de ligação J	PI 230970 (Rpp2)	Silva,2008
	PI 197182, PI 230971 e PI 417125	Laperuta,2007
	PI 224270 (rpp2)	Garcia,2008
Grupo de ligação N	PI 200526 e PI 200487	Catelli,2008
	PI 471904, PI 200526 e PI 200487 (Rpp5) e PI 200456 (rpp5)	Garcia,2008
	GC 84058-18-4, PI200487 e PI200526	Rachid,2008
Grupo “Abura”	PI 203398 (Abura), PI 416810, PI 398777	Rachid,2008
Outras fontes ainda não agrupadas	PI 397618 TC1, PI417074, PI 417504, Nova Santa Rosa	Rachid,2008

No geral, todos os resultados levam a uma conclusão importante de que existem muitos locos de resistência à ferrugem asiática distribuídos ao longo do grupo de ligação N da soja. Até o momento, não existem estudos de mapeamento envolvendo a fonte “Abura” ou mesmo as outras fontes que não segregaram com Abura e, portanto, não se sabe qual o grupo de ligação. Neste trabalho, três das fontes de resistência ligaram o grupo da “Abura” ao grupo da “Kinoshita” reforçando a conclusão de que estão todos no grupo de ligação N, mas a uma distância que permite a segregação independente desses locos. Uma possível hipótese sobre a posição relativa desses grupos está representada na Figura 1, e sua confirmação através do mapeamento com marcadores moleculares confirmaria um exemplo adicional de um novo “cluster” de genes de resistência a doenças.

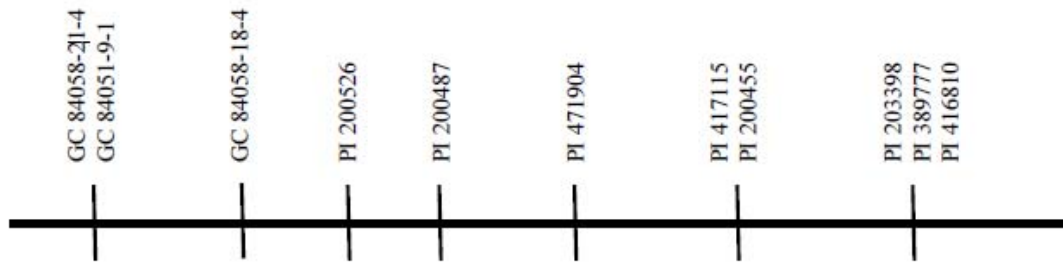


Figura 1 – Possível hipótese sobre a posição relativa das linhagens do estudo.

Referências

ARIAS, C.A.A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J. F. F. **Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow)**. In: Abstracts of contributed papers and posters, VII World Soybean Research Conference. (Moscardi, F. et. al. editors) Londrina: Embrapa Soybean, 2004.

BROGIN, R.L.; ARIAS, C.A.A.; VELLO, N.A.; TOLEDO, J.F.F.; PIPOLO, A.E.; CATELLI, L.L.; MARIN, S.R.R. **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 Fevereiro – 5 Março, 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.

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.

CATELLI, L. L.; ARIAS, C. A. A.; Di MAURO, A.O; CAMARGO, P.O; MARIN, S. R. R.; POLIZEL, A.M; Luana Gonçalves Souza; Noéle G. Lemos; Michelle P. Rincão; YAMANAKA, N.; ABDELNOOR, R. V. **Parâmetros genéticos de resistencia asociados a la roya asiática de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*)**. In: 13 Congreso Latinoamericano de Genética e VI Congreso Peruano de Genética, 2008, Lima. 13 Congreso Latinoamericano de Genética e VI Congreso Peruano de Genética, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: julho de 2008.

CURLEY, J.; CHAKRABORTY, N.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.; NELSON, R.; DIERS, B.W. **Mapping QTL for resistance to Asian Soybean Rust**. Crop Science Annual Meeting, November, 4-8, New Orleans – Louisiana, 2007.

DEL PONTE, E.M. **Ferrugem asiática da soja: informações climáticas para o manejo de risco de epidemias**. Brasília 3 a 7 de março de 2008. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/documentos/cursoli_INMET._IRI/material_didatico/07_Mar/Emerson_curso_INMET._2008.pdf> Acesso em: agosto de 2008.

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.

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

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

HYTEN, DL, HARTMAN, GL, NELSON, RL, FREDERICK, RD, CONCIBIDO, VC, NARVEL, JM, CREGAN, PB (2007) **Map location of the Rpp1 locus that confers resistance to soybean rust in soybean**. Crop Sci 47:837–840.

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.

LAPERUTA, L.D.C. **Teste de alelismo para genes de resistência à ferrugem asiática da soja**. 2007. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

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.

MONTEROS, MJ, MISSAOUI, AM, PHILLIPS, DV, WALKER, DR, BOERMA, HR (2007) **Mapping and confirmation of the „Hyyuga“ red–brown lesion resistance gene for Asian soybean rust**. Crop Sci 47:829–836.

PIEROZZI, PHB, RIBEIRO, AS, MOREIRA, JUV, LAPERUTA, LDC, RACHID, BF, LIMA, WF, ARIAS, CAA, OLIVEIRA, MFO, TOLEDO, JFF. **New soybean (*Glycine max* Fabales, Fabaceae) sources of qualitative genetic resistance to Asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* (Uredinales, Phakopsoraceae)**. GMB, v.31,n.2, 2008.

RIBEIRO AS, MOREIRA JUV, PIEROZZI PHB, RACHID BF, TOLEDO JFF, ARIAS CAA, SOARES RM and GODOY CV (2007). **Genetic control of Asian rust in soybean**. *Euphytica* 157:15-25.

SILVA DCG, YAMANAKA, N, BROGIN, RL, ARIAS, CAA; NEPOMUCENO, AL; DIMAURO, AO; PEREIRA, S DOS S; NOGUEIRA, LM; PASSIANOTTO, AL; e ABDELNOOR RV. **Molecular mapping of the two loci that confer resistance to Asian rust in soybean**. *Theoretical and Applied Genetics (TAG)*, v.117, p.57-63, 2008

REFERÊNCIAS

- ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. de M. **A cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: POTAFOS, 1993. 535p.
- ARDNER, E. J.; SIMMONS, M. J.; SNUSTAD, D. P. **Principles of genetics**. 8^{ed}. John Wiley & Sons, Inc. 1991. 648p.
- ARIAS, C.A.A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J. F. F. **Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow)**. In: Abstracts of contributed papers and posters, VII World Soybean Research Conference. (Moscardi, F. et. al. editors) Londrina: Embrapa Soybean, 2004.
- BEDENDO, I.P. Ferrugens. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (eds.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo, Agronômica Ceres, 3^a ed., 1995. 919p.
- BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Londrina: Embrapa – CNPSo, 1997. 61p. (Embrapa – CNPSo. Documentos, 21).
- 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 Fevereiro – 5 Março, 2004.
- BROMFIELD, K. R. **Differential reaction of some soybean accessions to *Phakopsora pachyrhizi***. Soybean Rust News, v.4, p.2, 1981.
- BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. **Resistance to soybean rust and mode of inheritance**. Crop Science, v. 20, n. 2, p. 254 – 255, 1980.
- CALDWELL, P. M.C. MACLAREN, N. W. **Soybean rust research in South Africa**. Proceedings / VII World Soybean Research Conference, IV International soybean Processing and Utilization Conference, III Congresso Brasileiro de Soja. (Moscardi, F. et. al. editors) Londrina: Embrapa Soybean, 2004
- CALDWELL, P.; LAING, M. **Soybean rust - a new disease on the move**. Disponível em: <http://saspp.org/content/view/20/11>. Acesso em: setembro de 2008.
- 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.

CATELLI, L. L.; ARIAS, C. A. A.; Di MAURO, A.O; CAMARGO, P.O; MARIN, S. R. R.; POLIZEL, A.M; Luana Gonçalves Souza; Noéle G. Lemos; Michelle P. Rincão; YAMANAKA, N.; ABDELNOOR, R. V. **Parâmetros genéticos de resistencia asociados a la roya asiática de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*)**. In: 13 Congreso Latinoamericano de Genética e VI Congreso Peruano de Genética, 2008, Lima. 13 Congreso Latinoamericano de Genética e VI Congreso Peruano de Genética, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: julho de 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: janeiro de 2007.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; YORINORI, J. T. **Perda de rendimento de grãos causada por Ferrugem Asiática (*Phakopsora pachyrhizi*)**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 27, p. S100, ago. 2002. Suplemento. Resumo 210. Edição do XXXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Recife, PE, ago. 2002.

CTPA. **Ferrugem da soja: Evolução, sintomas, danos e controle**. Boletim informativo CTPA. Goiânia, 2003. 18p.

CURLEY, J.; CHAKRABORTY, N.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.; NELSON, R.; DIERS, B.W. **Mapping QTL for resistance to Asian Soybean Rust**. Crop Science Annual Meeting, November, 4-8, New Orleans – Louisiana, 2007.

DEL PONTE, E.M. **Ferrugem asiática da soja: informações climáticas para o manejo de risco de epidemias**. Brasília 3 a 7 de março de 2008. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/documentos/cursoli_INMET._IRI/material_didatico/07_Mar/Emerson_curso_INMET._2008.pdf. Acesso em: agosto de 2008.

EMBRAPA SOJA. **Ferrugem “asiática” da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle**. Londrina: Embrapa Soja – Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Londrina: Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Soja. 2004. 36p.

EMBRAPA SOJA. **Chega a 313 o número de municípios com ferrugem asiática no Brasil**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.com.br>. Acesso em: julho de 2006b.

EMBRAPA SOJA. Eficiência de fungicidas para controle da ferrugem asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2006/2007. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 8p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 42).

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias para a produção de soja – região central do Brasil – 2007**. Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste, 2006, 225p. disponível em < <http://www.cnpso.embrapa.com.br> > Acesso em dezembro de 2006a.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development.** 1987. 536p.

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. **Resultados da rede de ensaios para controle químico de doenças na cultura da soja.** Safra 2003/2004. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 88p. (Embrapa Soja. Documentos, 251).

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.

HARTWIG, E. E. **Identification of a four 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, DL, HARTMAN, GL, NELSON, RL, FREDERICK, RD, CONCIBIDO, VC, NARVEL, JM, CREGAN, PB (2007) **Map location of the Rpp1 locus that confers resistance to soybean rust in soybean.** Crop Sci 47:837–840.

KUCKUCK, H.; KOBABE, G.; WENZEL, G. **Fundamentals of plant breeding.** Verlag Walter de Grueter & Co., Berlim, 1985. 236p.

LAPERUTA, L.D.C.; **Teste de alelismo para genes de resistência à ferrugem asiática da soja.** 2007. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

MARTINS, J. A. S.; **Caracteres epidemiológicos e uso da análise de agrupamento para resistência parcial à ferrugem da soja.** 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade federal de Uberlândia, Uberlândia.

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.

MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R.; KINGSOLVER, C. H. **Infection, colonization and uredospores production on Wayne soybean by for cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust.** Phytopathology, St Paul, v. 69, n. 12, p. 1262 – 1265, Dec. 1979.

MONTEROS, M.J.; MISSAOUI, A.M.; PHILLIPS, D.V.; WALKER, D.R.; BOERMA, H.R (2007) **Mapping and confirmation of the „Hyuuga“ red–brown lesion resistance gene for Asian soybean rust.** *Crop Sci* 47:829–836.

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).** *GMB*, v.31, n.2, 2008.

POONPOLGUL, S. Country Report: **How soybean rust is managed in Thailand.** In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguassu. **Proceedings...** Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 335 – 339.

RAHANGDALE, S. R.; RAUT, V. M. **Genetics of rust resistance in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill].** *Indian Journal of Genetic*, v. 64, n. 2, p. 121 – 124, 2004.

REIS, E.M. **Doenças na cultura da soja.** Passo fundo: Aldeia Nova, 2004, 178p.

RIBEIRO A.S.; MOREIRA, J.U.V.; PIEROZZI, P.H.B.; RACHID, B.F.; TOLEDO, J.F.F.; ARIAS, C.A.A.; SOARES, R.M and GODOY CV (2007). **Genetic control of Asian rust in soybean.** *Euphytica* 157:15-25.

RICHETTI, A. **Custos do controle químico da ferrugem asiática da soja na safra 2005/2006.** In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 28., 2006, Uberaba. Resumos. Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional: Fundação Triângulo, 2006. p. 31 (Embrapa Soja. Documentos, 272).

SILVA D.C.G.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R.L.; ARIAS, C.A.A.; NEPOMUCENO, A.L.; DIMAURO, A.O.; PEREIRA, S. DOS S.; NOGUEIRA, L.M.; PASSIANOTTO, A.L; e ABDELNOOR, R.V. **Molecular mapping of the two loci that confer resistance to Asian rust in soybean.** *Theoretical and Applied Genetics (TAG)*, v.117, p.57-63, 2008

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean rust. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases.** 4 ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1999. p. 25-26.

TSCHANZ, A.T.; WANG, T.C.; TSAI, B.Y. **Recent advances in soybean rust research at AVRDC.** In: Soybeans in Tropical and Subtropical Cropping Systems (S. Shanmugasundaram and E.W. Sulzberger editors). Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, 1986.

VAKILI, N.G.; BROMFIELD, K.R. **Phakopsora rust on soybean and other legumes in Puerto Rico**. Plant Disease Reporter, v.60, p.995-999, 1979.

VAN DER PLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968.

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

XU, B.; ZHEN, H.; LU, Q.; ZHAO, S. **Three new evidences of the original area of soybean**. In: World Soybean Research Conference, 4., Buenos Aires, 1989. Proceedings. Buenos Aires: Gráfica Editora SRL, 1989. P. 124 – 128.

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 Genetics and Plant Pathology, v. 68, p. 52 – 56, 2002.

YANG, X. B.; DOWLER, W. M.; TSCHANZ, A. T. **A simulation model for assessing soybean rust epidemics**. Journal of Phytopathology, 133: 187 – 200, 1991.

YORINORI, J. T. **Situação atual das doenças potenciais no cone sul**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2, 2002, Foz do Iguaçu. Anais... Londrina: Embrapa Soja, 2002, p. 171 – 187.

YORINORI, J. T.; MOREL, P. W.; FREDERICK, R. D.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F. **Epidemia de ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) no Brasil e Paraguai, em 2001 e 2002**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 27, p. S178-179, ago. 2002. Suplemento. Resumo 569. Edição do XXXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Recife, PE, ago. 2002.

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).

ANEXOS

ANEXO A

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 x PI 200487

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 100						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	73	75	1	0,2133	0,6442
	TAN	27	25	1		
13:3	RB	73	81,25	1	4,4677	0,0345
	TAN	27	18,75	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 100						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	73	75	1	0,2133	0,6442
	TAN	27	25	1		
13:3	RB	73	81,25	1	4,4677	0,0345
	TAN	27	18,75	1		

3ª Avaliação						
Nº de plantas: 100						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	73	75	1	0,2133	0,6442
	TAN	27	25	1		
13:3	RB	73	81,25	1	4,4677	0,0345
	TAN	27	18,75	1		

ANEXO B

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 x GC 84058-18-4

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 101						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	86	82,0625	1	1,0076	0,3155
	TAN	15	18,9375	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 101						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	86	82,0625	1	1,0076	0,3155
	TAN	15	18,9375	1		

3ª Avaliação						
Nº de plantas: 101						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	95	94,6875	1	0,0165	0,8978
	TAN	6	6,3125	1		

ANEXO C

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 x PI 200526

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 56						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	46	45,5	1	0,0293	0,8641
	TAN	10	10,5	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 56						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	46	45,5	1	0,0293	0,8641
	TAN	10	10,5	1		

3ª Avaliação						
Nº de plantas: 56						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	51	52,5	1	0,6857	0,4076
	TAN	5	3,5	1		

ANEXO D

Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as testadoras PI 200526, PI 200487 e GC 84058-18-4.

Cruzamentos	Valores Observados		Total de Plantas
	RB	TAN	
PI 200487 x PI 200526	62	0	62
PI 200487 x GC 84058-18-4	98	0	98
PI 200526 x GC 84058-18-4	96	0	96

Abura

ANEXO E

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 417503

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 108						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	97	101,25	1	2,8543	0,0911
	TAN	11	6,75	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 108						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	97	101,25	1	2,8543	0,0911
	TAN	11	6,75	1		

ANEXO F

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 423966

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 106						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	92	86,125	1	2,1374	0,1437
	TAN	14	19,875	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 106						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	92	86,125	1	2,1374	0,1437
	TAN	14	19,875	1		

ANEXO G

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x GC 84051-9-1

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 92						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	80	74,75	1	1,9666	0,1608
	TAN	12	17,25	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 92						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	80	74,75	1	1,9666	0,1608
	TAN	12	17,25	1		

ANEXO H

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 416764

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 102						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	92	95,625	1	2,1987	0,1381
	TAN	10	6,375	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 102						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	93	95,625	1	1,1529	0,2829
	TAN	9	6,375	1		

ANEXO I

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 416819

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 104						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	96	97,5	1	0,3692	0,5434
	TAN	8	6,5	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 104						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	96	97,5	1	0,3692	0,5434
	TAN	8	6,5	1		

ANEXO J

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 417074

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 99						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
9:7	RB	61	55,6875	1	1,1584	0,2818
	TAN	38	43,3125	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 99						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
9:7	RB	64	55,6875	1	2,8361	0,0922
	TAN	35	43,3125	1		

3ª Avaliação						
Nº de plantas: 99						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	68	74,25	1	2,1044	0,1469
	TAN	31	24,75	1		

ANEXO K

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x PI 379618 TC1

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 105						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	103	98,4375	1	3,3835	0,0659
	TAN	2	6,5625	1		
63:1	RB	103	103,3594	1	0,0800	0,7773
	TAN	2	1,640625	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 105						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	101	98,4375	1	1,0673	0,3016
	TAN	4	6,5625	1		
63:1	RB	101	103,3594	1	3,4469	0,0634
	TAN	4	1,640625	1		

ANEXO L

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 203398 (Abura) x GC 84058-21-4

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 102						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	94	95,625	1	0,4418	0,5062
	TAN	8	6,375	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 102						
Proporção (RB:TAN)	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	94	95,625	1	0,4418	0,5062
	TAN	8	6,375	1		

ANEXO M

Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 471904, PI 398777, PI 200455, PI 416810, PI 417115, PI 417421 com o testador PI 203398 (Abura).

Linhagem	Valores Observados		Total de Plantas
	RB	TAN	
PI 471904	73	0	73
PI 398777	104	0	104
PI 200455	102	0	102
PI 416810	105	0	105
PI 417115	102	0	102
PI 417421	89	0	89

Kinoshita

ANEXO N

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 398777

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 94						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	83	88,125	1	4,7688	0,0290
	TAN	11	5,875	1		
13:3	RB	83	76,375	1	3,0649	0,0800
	TAN	11	17,625	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 94						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	83	88,125	1	4,7688	0,0290
	TAN	11	5,875	1		
13:3	RB	83	76,375	1	3,0649	0,0800
	TAN	11	17,625	1		

ANEXO O

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 416819

1ª Avaliação

Nº de plantas: 97						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	89	90,9375	1	0,6605	0,4164
	TAN	8	6,0625	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 97						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	89	90,9375	1	0,6605	0,4164
	TAN	8	6,0625	1		

ANEXO P

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 379618 TC1

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 96						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	89	90	1	0,1778	0,6733
	TAN	7	6	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 96						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	90	90	1	0,0000	1,0000
	TAN	6	6	1		

ANEXO Q

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x GC 84058-21-4

1ª Avaliação

Nº de plantas: 98						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	91	91,875	1	0,1333	0,7150
	TAN	7	6,125	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 98						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	90	91,875	1	0,6122	0,4339
	TAN	8	6,125	1		

ANEXO R

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 416810

1ª Avaliação

Nº de plantas: 84						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	79	78,75	1	0,0127	0,9103
	TAN	5	5,25	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 84						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	81	78,75	1	1,0286	0,3105
	TAN	3	5,25	1		

ANEXO S

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x PI 417074

1ª Avaliação

Nº de plantas:
88

Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	80	82,5	1	1,2121	0,2709
	TAN	8	5,5	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas:
88

Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	80	82,5	1	1,2121	0,2709
	TAN	8	5,5	1		

ANEXO T

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200487 (Kinoshita) x Nova Santa Rosa

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 91						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	88	85,3125	1	1,3546	0,2445
	TAN	3	5,6875	1		
2ª Avaliação						
Nº de plantas: 91						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	80	73,9375	1	2,6512	0,1035
	TAN	11	17,0625	1		

ANEXO U

Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 471904, PI 416764, PI 200455, GC 84058-18-4, PI 417115, PI 423966 com o testador PI 200487 (Kinoshita).

Linhagem	Valores Observados		Total de Plantas
	RB	TAN	
PI 471904	108	0	108
PI 416764	96	0	96
PI 200455	108	0	108
PI 417115	108	0	108
PI 423966	92	0	92

Shira Nui

ANEXO V

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 398777

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 46						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	35	34,5	1	0,0290	0,8648
	TAN	11	11,5	1		
13:3	RB	35	37,375	1	0,8049	0,3696
	TAN	11	8,625	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 46						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	35	34,5	1	0,0290	0,8648
	TAN	11	11,5	1		
13:3	RB	35	37,375	1	0,8049	0,3696
	TAN	11	8,625	1		

ANEXO W

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 417503

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 82						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	62	61,5	1	0,0163	0,8985
	TAN	20	20,5	1		
13:3	RB	62	66,625	1	1,7123	0,1907
	TAN	20	15,375	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 82						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
3:1	RB	62	61,5	1	0,0163	0,8985
	TAN	20	20,5	1		
13:3	RB	62	66,625	1	1,7123	0,1907
	TAN	20	15,375	1		

ANEXO X

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 379618 TC1

1ª Avaliação

Nº de plantas: 89						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	85	83,4375	1	0,4682	0,4938
	TAN	4	5,5625	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 89						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	85	83,4375	1	0,4682	0,4938
	TAN	4	5,5625	1		

ANEXO Y

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x GC 84058-21-4

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 60						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	56	56,25	1	0,0178	0,8939
	TAN	4	3,75	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 60						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	56	56,25	1	0,0178	0,8939
	TAN	4	3,75	1		

ANEXO Z

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x Nova Santa Rosa

1ª Avaliação

Nº de plantas: 107						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	97	100,3125	1	1,7502	0,1859
	TAN	10	6,6875	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 107						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	97	100,3125	1	1,7502	0,1859
	TAN	10	6,6875	1		

ANEXO A.A

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 416810

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 91						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	84	85,3125	1	0,3231	0,5698
	TAN	7	5,6875	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 91						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	84	85,3125	1	0,3231	0,5698
	TAN	7	5,6875	1		

ANEXO A.B

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x PI 417074

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 99						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	85	80,4375	1	1,3802	0,2401
	TAN	14	18,5625	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 99						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	85	80,4375	1	1,3802	0,2401
	TAN	14	18,5625	1		

ANEXO A.C

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento PI 200526 (Shira Nui) x GC 84051-9-1

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 85						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	81	79,6875	1	0,3459	0,5565
	TAN	4	5,3125	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 85						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	81	79,6875	1	0,3459	0,5565
	TAN	4	5,3125	1		

ANEXO A.D

Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 200487 (Kinoshita), GC 84058-18-4, PI 471904, PI 416764, PI 200455, PI 416819 e PI 423966, com o testador PI 200526 (Shira Nui).

Linhagem	Valores Observados		Total de Plantas
	RB	TAN	
PI 471904	98	0	98
PI 416764	99	0	99
PI 200455	93	0	93
PI 416819	93	0	93
PI 423966	98	0	93

GC84058-18-4

ANEXO A.E

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417503

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 101						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	87	82,0625	1	1,5844	0,2081
	TAN	14	18,9375	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 101						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	87	82,0625	1	1,5844	0,2081
	TAN	14	18,9375	1		

ANEXO A.F

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417115

1ª Avaliação

Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	101	99,375	1	0,4252	0,5144
	TAN	5	6,625	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	101	99,375	1	0,4252	0,5144
	TAN	5	6,625	1		

ANEXO A.G

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 417074

1ª Avaliação

Nº de plantas: 98						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	90	91,875	1	0,6122	0,4339
	TAN	8	6,125	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 98						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	90	91,875	1	0,6122	0,4339
	TAN	8	6,125	1		

ANEXO A.H

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x Hyuuga

1ª Avaliação

Nº de plantas: 85						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	75	69,0625	1	2,7225	0,0989
	TAN	10	15,9375	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 85						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
13:3	RB	75	69,0625	1	2,7225	0,0989
	TAN	10	15,9375	1		

ANEXO A I

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 200455

1ª Avaliação

Nº de plantas: 102						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	96	95,625	1	0,0235	0,8781
	TAN	6	6,375	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 102						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	96	95,625	1	0,0235	0,8781
	TAN	6	6,375	1		

ANEXO A.J

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 416819

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	99,375	1	0,0629	0,8020
	TAN	6	6,625	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	99,375	1	0,0629	0,8020
	TAN	6	6,625	1		

ANEXO A.K

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 416810

1ª Avaliação

Nº de plantas: 105						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	99	98,4375	1	0,0514	0,8206
	TAN	6	6,5625	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 105						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	99	98,4375	1	0,0514	0,8206
	TAN	6	6,5625	1		

ANEXO A.L

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x PI 379618 TC1

1ª Avaliação						
Nº de plantas: 108						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	101,25	1	0,2469	0,6193
	TAN	8	6,75	1		

2ª Avaliação						
Nº de plantas: 108						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	101,25	1	0,2469	0,6193
	TAN	8	6,75	1		

ANEXO A.M

Padrões de segregação testados pelo teste qui-quadrado nas diferentes avaliações sobre a população F2 do cruzamento GC 84058-18-4 x Nova Santa Rosa

1ª Avaliação

Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	99,375	1	0,0629	0,8020
	TAN	6	6,625	1		

2ª Avaliação

Nº de plantas: 106						
Proporção	Lesão	O	E	GL	X ²	P
15:1	RB	100	99,375	1	0,0629	0,8020
	TAN	6	6,625	1		

ANEXO A.N

Número de plantas com reação RB e TAN observados na geração F2 dos cruzamentos envolvendo as linhagens PI 416764, PI 423966, GC 84058-21-4, GC 84051-9-1 e PI 471904 com o testador GC 84058-18-4.

Linhagem	Valores Observados		Total de Plantas
	RB	TAN	
PI 416764	96	0	96
PI 423966	100	0	100
GC 84058-21-4	105	0	105
GC 84051-9-1	90	0	90
PI 471904	100	0	100

ANEXO A.O

Divisão dos grupos de plantio

1º Plantio (06/10/2006)

PI 203398	x	PI 200487	PI 200487	x	GC 84058-18-4
PI 203398	x	PI 200526	PI 200526	x	GC 84058-18-4
PI 203398	x	GC 84058-18-4	PI 203398	x	PI 416810 - L 8
PI 203398	x	PI 200526 - L 1	PI 203398	x	PI 417115 - L 9
PI 203398	x	PI 471904 - L 2	PI 203398	x	PI 417421 - L 10
PI 203398	x	PI 416764 - L 3	PI 203398	x	PI 379618 TC1 - L 11
PI 203398	x	PI 398777 - L 4	PI 203398	x	417074 - L 12
PI 203398	x	PI 200455 - L 5	PI 203398	x	423966 - L 13
PI 203398	x	PI 416819 - L 6	PI 203398	x	FT 87-17893 - L 14
PI 203398	x	PI 417503 - L 7	PI 203398	x	GC 84058-21-4 - L 15
PI 200487	x	PI 200526	PI 203398	x	GC 84051-9-1 - L 16

2º Plantio (14/11/2006)

PI 203398	x	Hyuuga - L 17	PI 200487	x	L 12
PI 203398	x	Nova Santa Rosa - L 18	PI 200487	x	L 13
PI 200487	x	L 1	PI 200487	x	L 14
PI 200487	x	L 2	PI 200487	x	L 15
PI 200487	x	L 3	PI 200487	x	L 16
PI 200487	x	L 4	PI 200487	x	L 17
PI 200487	x	L 5	PI 200487	x	L 18
PI 200487	x	L 6	PI 200526	x	L 1
PI 200487	x	L 7	PI 200526	x	L 2
PI 200487	x	L 8	PI 200526	x	L 3
PI 200487	x	L 9	PI 200526	x	L 4
PI 200487	x	L 10	PI 200526	x	L 5
PI 200487	x	L 11	PI 200526	x	L 6
			GC 84058-18-4	x	L 18

3º Plantio (30/01/2007)

PI 200526	x	L 7	GC 84058-18-4	x	L 2
PI 200526	x	L 8	GC 84058-18-4	x	L 3
PI 200526	x	L 9	GC 84058-18-4	x	L 4
PI 200526	x	L 10	GC 84058-18-4	x	L 5
PI 200526	x	L 11	GC 84058-18-4	x	L 6
PI 200526	x	L 12	GC 84058-18-4	x	L 7
PI 200526	x	L 13	GC 84058-18-4	x	L 8
PI 200526	x	L 14	GC 84058-18-4	x	L 9
PI 200526	x	L 15	GC 84058-18-4	x	L 10
PI 200526	x	L 16	GC 84058-18-4	x	L 11
PI 200526	x	L 17	GC 84058-18-4	x	L 12
PI 200526	x	L 18	GC 84058-18-4	x	L 13
GC 84058-18-4	x	L 1			

4º Plantio (01/02/2007)

GC 84058-18-4	x	L 14	GC 84058-18-4	x	L 16
GC 84058-18-4	x	L 15	GC 84058-18-4	x	L 17