



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

IDENIZE PEDRINA ORSINI

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA À RAÇA 4⁺ DO
NEMATOIDE DE CISTO**

Londrina
2013

IDENIZE PEDRINA ORSINI

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA À RAÇA 4⁺ DO
NEMATOIDE DE CISTO**

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

Orientador: Prof^a. Dr^a. Débora Cristina Santiago

Co-orientador: Dr. Waldir Pereira Dias

Londrina
2013

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

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

O76h Orsini, Idenize Pedrina.
Herança da resistência da soja à raça 4+ do nematoide de cisto/ Idenize Pedrina
Orsini. – Londrina, 2013.
58 f.: il.

Orientador: Débora Cristina Santiago
Coorientador: Waldir Pereira Dias
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013.
Inclui bibliografia

1. Nematoda em plantas – Teses. 2. Nematoide de cisto da soja– Teses. 3. Soja –
Resistência a doenças e pragas – Aspectos genéticos – Teses. 4. Genética quantitativa
– Teses. I. Santiago, Débora Cristina. II. Dias, Waldir Pereira. III. Universidade
Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia. IV. Título.

CDU 631.467.2

IDENIZE PEDRINA ORSINI

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA À RAÇA 4⁺ DO NEMATÓIDE
DE CISTO**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientadora. Prof. Dr^a. Débora Cristina Santiago
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Co-orientador. Dr. Waldir Pereira Dias
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa Soja

Dr. Waldir Pereira Dias
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa Soja

Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa Soja

Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado
Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR

Dra. Neucimara Rodrigues Ribeiro
BRASMAX

Prof. Dr. Seiji Igarashi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Cláudia Regina Dias-Arieira
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dra. Maria Isabel Balbi Peña
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 26 de fevereiro 2013.

“Aos meus Pais, Reinaldo Orsini e Maria Aparecida Martins Orsini, por estarem sempre presentes, incentivando, confiando e acreditando em mim, não poupando esforços para que meus sonhos pudessem ser realizados. Meu papai e minha mamãe... obrigada pela educação, ensinamentos e pelos valores e princípios que vocês sempre fizeram questão de falar e mostrar. Obrigada pelas lições de vida, pelas palmadas quando foi preciso... Obrigada pela minha vida, pelos meus irmãos... obrigada por serem meus pais... ‘Meu amor por vocês é simplesmente INCALCULÁVEL’.

“Aos meus irmãos, Izabel Cristiane Orsini e Izael Cristiano Orsini, pela amizade, compreensão, força demonstrada durante minha trajetória de vida e, principalmente, durante a realização deste trabalho”. ‘É na família que concentramos todo nosso amor’.

“Aos meus avós, Américo Orsini e Pedrina Marcusso Orsini, ‘in memorian’, que sempre me incentivaram a lutar com garra, dedicação, amor e perseverança na busca de meus objetivos. Infelizmente vocês não estão mais aqui para ver este sonho realizado. Mas, rezo para o meu “Papai Deus” conceder-me a Graça de vocês ai do céu estarem vendo o meu grande sonho realizado aqui na terra. Meus amados avós, vô Merco e vó Lola... vocês partiram deixando um enorme vazio, mas a lembrança de suas vozes amigas, de seus sorrisos, de seus abraços, realimenta o amor que jamais se apagará do meu coração. Meu amor por vocês é eterno...”

Ao meu noivo, Thiago Zanoni Bagio, por todo amor, carinho, paciência e ajuda... Amo você!!!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao meu bom Deus por tudo que tem feito em minha vida, pela sua infinita misericórdia.

À minha mãezinha do céu, Nossa Senhora Aparecida e ao meu Divino Espírito Santo, pois neles encontro a paz nas horas de aflição, medo e angústia.

À toda minha família, por todo amor demonstrado.

À Universidade Estadual de Londrina e à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela minha formação.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja, por fornecer estrutura e ambiente para a realização deste trabalho.

À minha orientadora Professora Dr^a. Débora Cristina Santiago pela paciência e ajuda. Obrigada por me acolher quando precisei.

Ao meu co-orientador Pesquisador Waldir Pereira Dias que me aceitou no Laboratório de Nematologia da Embrapa Soja, sempre disposto a me ajudar, ensinar e auxiliar. Obrigada pelos grandes conhecimentos adquiridos e por toda a paciência.

Em especial, ao Professor Dr. Martin Homechin (*in memoriam*), que a princípio era meu orientador, mas infelizmente nos deixou. Martinzão... nunca esquecerei do senhor.

Ao Pesquisador Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias, pelo enorme apoio e instruções.

Aos Pesquisadores Dr. Ricardo Vilela Abdelnoor e Dr^a. Francismar Corrêa Marcelino-Guimarães, pela oportunidade de executar parte da pesquisa desta Tese no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Soja. Obrigada pela valiosa ajuda.

Aos técnicos e colaboradores do Laboratório de Nematologia da Embrapa Soja, Claudemir Gaia, Manoel Pinto, Anita, Natália Parpinelli, Ivani e Marco, por todo o carinho, acolhimento, ensinamentos e grande ajuda. Vou sentir muita saudade!

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Soja, Adriana Polizel, Amanda Paiva, André Passianotto, César Silveira, Cibelle Engels, Elton Gargioni, Gislaine Vasquez, João Vitor Maldonado, Juliane Marinho, Juliana Leite, Juliana Marcolino, Kleber Miranda, Larissa Giroto, Lívia Nogueira, Salvador Lima, Lucas Soares, Máisa Pinheiro, Márcia Kamogae, Maria Cecília Soldera, Mayla Molinari, Michelle Rincão, Nilson Vieira, Paulo Camargo, Renata Fuganti, Silvana Rockenbach Marin, Valéria Lopes, Luiz Fernando, Andressa Nakagawa, Alessandra Yokoyama, Máira Sertorio Maia, Bruna

Brumer, Danielle Gregório, Renan Milagres, Luana Darben, Katia Kuma, Letícia Botelho, Luciano Nabuhiro, Norihito Kanamori, Patrícia Honna, Adriano Camolese, Aguida Morales, Alan Pereira, Cynara Romero, Lizandra Catelli, Anelise Cruz, Euziane Lino, Tatiana Fraga, Jairo e Vera Lúcia Pierotte. Obrigada pelo acolhimento, amizade e ajuda.

Aos membros da banca examinadora pela consideração.

Aos Professores Dr. João Tavares Bueno, Dirce Ribeiro de Moraes e João Pereira Torres, da Universidade Estadual do Norte do Paraná '*Campus*' Luiz Meneghel, pela amizade e estímulos para continuar seguindo. Obrigada por me apresentar este mundo fascinante da Fitopatologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela disponibilização de bolsa.

Ao Professor Dr. Seiji Igarashi, da Universidade Estadual de Londrina, pela amizade.

À Weda Aparecida Westin, secretária do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela paciência e amizade.

Aos amigos da Pós-graduação: Ciro Hideki Sumida, Mário Hirano, Vanesca Priscila Camargo Rocha, Ricardo Okumura, Ricardo Michael Levy, Norberto Cruz, Thiago Zanoni Bagio, Leandro Riyuiti Higashibara Fabiana Tibolla, Giovani Arieira, e tanto outros não mencionados. Vocês estarão sempre em meu coração.

Aos amigos do laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Londrina, Ciro Hideki Sumida, Ricardo Michael Levy, Douglas Casaroto Peitl, Leonardo Tamanini, Alexandre Takahashi, Vanessa dos Santos Paes, Luan Cruz, Marina Cappareli Cadioli, Camila Mantovani Tavares, Vaneide Pimenta de Almeida, Giovani Arieira, Fabiana Tibolla, Thiago Bagio, Adriana Pontes, Débora Fonseca, Flávia Mello, José Aparecido Rocha, Viviane Ponte e aos demais não mencionados. Obrigada pela amizade e momentos de descontração.

Aos Professores e Funcionários do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina.

A todos os meus Professores, da Pós-graduação, pois cada um teve uma contribuição para que meu sonho pudesse ser realizado.

A todos os Professores da Universidade Estadual do Norte do Paraná '*Campus*' Luiz Meneghel, pelo privilégio do convívio amigo e ensinamentos durante minha graduação.

Às minhas eternas amigas, Dorli Aparecida Leite, Francielle Possinelli, Érica das Graças Gualiume Viera de Mira, Luciana da Silva, Flaviana Sauné Fernandes Deichuke, pelos momentos de descontração, alegrias e tristezas, mas acima de tudo pelas vitórias. Amo vocês.

A todos os amigos que conquistei ao longo desta etapa de minha vida.

E aos que, de uma alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

“...Quando alguém encontra seu caminho, não pode ter medo. Precisa ter coragem suficiente para dar passos errados. As decepções, as derrotas, o desânimo são as ferramentas que Deus utiliza para mostrar a estrada”.

(Paulo Coelho)

"O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".

(Fernando Pessoa)

RESUMO

O nematoide de cisto é um dos principais problemas para a cultura da soja, causando perdas consideráveis, dependendo das condições ambientais e da cultivar utilizada. Dada à alta variabilidade genética desse nematoide, a utilização consecutiva na área de cultivares resistentes oriundas de uma mesma fonte, invariavelmente, resulta no surgimento de novas raças do patógeno. Em 1998, a raça 4⁺ do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) foi identificada pela primeira vez no Brasil. Esta difere da raça 4 tradicional pela sua habilidade em parasitar a cultivar norte-americana Hartwig mas não sua ancestral, a PI 437654. O objetivo deste trabalho foi estudar a herança da resistência da soja à essa nova raça (4⁺). Para o trabalho, foi utilizada uma população de soja segregante originada de cruzamentos entre os genótipos E99-1402 (tipo PI 437654 e resistente à raça 4⁺) e BRQ95-799 (suscetível à raça 4⁺). Foram estudadas 164 famílias F_{2,3}, 87 plantas F₂ e 20 plantas para cada parental. Para possibilitar o estudo da existência de uma possível ligação do loco *i* (confere cor preta ou marrom ao tegumento da semente) com a resistência, as plantas F₂ também foram classificadas com relação à coloração das sementes. O experimento para fenotipar as plantas das diferentes gerações à raça 4⁺ foi conduzido em casa-de-vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Plântulas de soja das gerações estudadas e também das linhas diferenciadoras de raças do nematoide de cisto foram transplantadas (uma por recipiente) para vasos de argila contendo 1 kg de substrato previamente autoclavado, mistura de solo(1) e areia (3). No momento do transplântio, cada plântula foi inoculada com 4.000 ovos do nematoide. Os vasos, assim preparados, foram distribuídos aleatoriamente em 10 mesas. Após 28 dias o sistema radicular de cada planta foi lavado, sob torneira com pressão, e as fêmeas do nematoide recuperadas e quantificadas. Os números de fêmeas nas famílias F_{2,3}, nas plantas F₂, e nos dois parentais foram utilizados para obter gráficos de distribuição de frequência e ajustar modelos genéticos de média e de variância para o caráter. A herança da resistência da soja à raça 4⁺ mostrou ser complexa (envolvendo três ou mais genes). Isso dificulta a obtenção de materiais comerciais resistentes a partir de cruzamentos do tipo resistente x suscetível. A predominância de efeitos gênicos aditivos, tanto nos modelos de médias como nos de variâncias, deixa claro a necessidade de reunir o maior número possível de genes, para se alcançar o mesmo nível de resistência expresso na fonte. A dificuldade na obtenção de um genótipo recombinante sem o loco *i* (semente com tegumento amarelo) continua sendo uma barreira para a geração de cultivares de soja resistentes a essa raça do nematoide de cisto.. Epistasias do tipo aditivo x aditivo predominou no sentido do aumento da resistência. Assim, podem ser aproveitadas para o desenvolvimento de genótipos mais resistentes. Os efeitos de dominância foram não significativos. A estimativa de herdabilidade em nível de planta foi baixa, ressaltando a importância de se avaliar famílias com repetições, para aumentar os ganhos com a seleção.

Palavras-chave: *Glycine max*. Genética quantitativa. Modelos genéticos. Nematoides.

ORSINI, Idenize Pedrina. **Inheritance of soybean resistance to race 4⁺ of cyst nematode.** 2013. 58 p. Doctoral Thesis – State University of Londrina, Londrina, Paraná, 2013.

ABSTRACT

The cyst nematode is a major problem for the soybean crop, with considerable losses depending on environmental conditions and cultivars. With consecutive cultivation of the same resistant cultivar and due to the high genetic variability of this nematode, the emergence of new races is common. In 1998 the race 4⁺ of soybean cyst nematode was first identified in Brazil, and which differs from the traditional race 4 for their ability to parasitize the cultivar Hartwig, but not their ancestral PI 437654. The present objective was to study the inheritance of resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) 4⁺ race. The experiment was conducted at Embrapa Soja, Londrina, PR. The inheritance of resistance of the E99-1402 (derived from PI 437654), crossed with the susceptible genotype BRQ95-799 was studied using 164 F_{2:3} families, 87 F₂ plants and 20 plants for each parent. To enable the study of the binding of the resistance locus *i*, F₂ plants were classified with respect to coat color of the seeds. The experiment was conducted in a greenhouse with the vessels randomly distributed. Seedlings of each generation, and also the differentials of race, were transplanted (one per pot clay) and at the same time inoculated with 4000 eggs of nematodes. After thirty days, the root system of each plant was washed and female, recovered and quantified. For the number of females on F_{2:3} families and F₂ plants, were calculated for each parental the frequency distribution as well as quantitative genetics tests employed. In response to this junction we found that many genes are involved (three or more) in resistance to soybean cyst nematode race 4⁺ of hindering the achievement of commercial materials, besides the difficulty in obtaining a recombinant genotype without the spot color which loco *i* the dark seed coat, damaging its commercial value. Additive effects show the dependency between the resistance genes of this class, suggesting a resistance type quantitative. Epistasis of the type additive x additive, are involved in resistance and dominance effect was not observed. The heritability estimate will plant indicate low level of possibility of gains from selection for resistance.

Key-words: *Glycine max*. Genetic models. Nematode. Quantitative Genetics. Race 4⁺.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	A CULTURA DA SOJA	13
2.2	FITONEMATOIDES	14
2.3	FITONEMATOIDES DE OCORRÊNCIA NA CULTURA DA SOJA	15
2.4	NEMATOIDE DE CISTO (<i>Heterodera glycines</i>)	16
2.5	CONTROLE DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA (NCS)	17
2.6	DIVERSIDADE GENÉTICA DO NCS	19
2.7	FONTES DE RESISTÊNCIA AO NCS	20
	REFERÊNCIAS	23
3	ARTIGO: HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA À RAÇA 4⁺ DO NEMATOIDE DE CISTO	28
	ABSTRACT	28
	RESUMO	29
	INTRODUÇÃO	29
	MATERIAL E MÉTODOS	30
	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
	CONCLUSÕES	43
	AGRADECIMENTOS	43
	LITERATURA CITADA	43
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
	ANEXOS	47
	ANEXO A – Normas para submissão de artigos da Revista Nematropica	48

1 INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, uma leguminosa a muito tempo domesticada pelo homem, tem como centro de origem e variabilidade a Ásia (HYMOWITZ, 1970; COSTA, 1996). Atualmente, esta amplamente distribuída pelo mundo e constitui uma das espécies vegetais mais cultivada e com maior importância econômica.

Além de ser uma ótima fonte de proteína, a soja apresenta em sua composição nutricional, carboidratos, minerais e vitaminas, o que a torna excelente para a alimentação humana e animal. Hoje, a demanda mundial por grãos de soja é de aproximadamente 260 milhões de toneladas (USDA, 2013).

Os primeiros relatos de estudos com soja no Brasil datam do final do século XIX. Relatam a intensão inicial de utilização dessa leguminosa como planta forrageira. Entretanto, somente na década de 1970 a soja começou a ser cultivada para a produção de grão. A partir de então, houve um expressivo crescimento da produção e, hoje, o país é o segundo maior produtor mundial (USDA, 2013).

Dentre os principais problemas fitossanitários da cultura, destaca-se o nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe (1952), pelo seu elevado potencial de dano, sua grande diversidade genética e à dificuldade de controle (DIAS et al., 2009).

Em regiões tropicais, as condições ambientais são muito favoráveis para o aumento da população de nematoides, o que dificulta o controle dos mesmos. A rotação de culturas e a utilização da resistência genética são as principais formas de manejo dos fitonematoides (DIAS et al., 2010b). O planejamento da rotação de culturas para o controle de *H. glycines* é relativamente fácil, pois o parasita tem uma restrita gama de hospedeiros. Por outro lado, no Brasil, poucas culturas além da soja têm valor econômico. Assim, a estratégia de manejo do NCS mais aceita pelos sojicultores brasileiros é o uso de cultivares resistentes. Todavia, a maioria das cultivares resistentes disponíveis no país são adequadas apenas para as raças 1 e 3. Existe uma necessidade muito grande da geração de cultivares com resistência a outras raças, como por exemplo à raça 4⁺.

Como esta raça foi descrita recentemente (DIAS et al., 1998), estudos básicos são necessários para esclarecer o controle genético da resistência da soja à mesma e, desse modo, orientar os programas de melhoramento de soja na definição de estratégias que facilitem a geração de cultivares resistentes (DIAS et al., 2010a). Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a herança da resistência da soja à raça 4⁺ do NCS.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DA SOJA

A soja tem seu centro de origem ainda confuso, com relação à localização exata. Todavia, é de comum acordo que a mesma é nativa da China, sendo a China central, e a Manchúria consideradas, respectivamente, prováveis centros de origem primário e secundário ou de diversidade genética (HYMOWITZ, 1970; COSTA, 1996). A dispersão mundial da soja se deu a princípio pela Europa, e em seguida para América do Norte e América do Sul.

No Brasil, a soja foi introduzida no Estado da Bahia em 1882. Posteriormente, foi levada para a região Sul, onde inicialmente foi estudada como planta forrageira. No Sul, pelo fato das condições climáticas serem mais semelhantes às aquelas presentes no seu centro de domesticação (latitudes entre 35° e 45° N), a soja mostrou melhor adaptação.

Resultados dos programas de melhoramento no Brasil, utilizando genótipos com período juvenil longo, permitiram a obtenção de cultivares melhor adaptadas para regiões de baixas latitudes, permitindo assim a expansão do cultivo de soja para as regiões tropicais (PALUDZYSZYN FILHO; KIIHL; ALMEIDA, 1993; SPEHAR; MONTEIRO; ZUFFO, 1993).

Atualmente no Brasil os maiores produtores de soja estão nas regiões centro-oeste e sul, compreendendo os estados do MT, PR e RS, com participação aproximada de 28%, 19% e 17%, respectivamente, na produção nacional de soja no ano agrícola de 2011 (IBGE, 2012; CONAB, 2012). Da produção brasileira de soja total aproximadamente metade é destinada para exportação como grão. A outra parte é transformada em subprodutos como o farelo, destinado aos mercados externo (50%) e interno, e óleo para consumo interno (80%) (IBGE, 2012; CONAB, 2012).

O grão de soja constitui excelente fonte alimentar devido seu alto teor de proteína, atendendo as exigências alimentares de humanos e animais. É composto por 7 a 11% de água, 16 a 19% de óleo, 32 a 42% de proteína, 28 a 39% de carboidratos e 4 a 5% de cinza. Também é fonte de minerais, como magnésio, ferro, potássio, fósforo, cobre, zinco e cálcio, fornecedora das vitaminas E, K, tiamina, riboflavina e ácido fólico (VIEIRA; VIEIRA; VIEIRA, 2001). Por isso, essa leguminosa é cultivada em várias regiões do mundo, e o consumo total está estimado em cerca de 200 milhões de toneladas de grãos (EMBRAPA, 2004).

O Brasil, segundo maior produtor mundial de soja, está a caminho de liderar este mercado, uma vez que é o único grande produtor com potencial para expandir sua atual área de cultivo. No início da década de 1970, havia em torno de 1.319.000 ha cultivados. Atualmente esta área é de, aproximadamente, 24.050.418 ha. Entretanto, o fator que mais contribuiu para o país ser um grande produtor de soja foi o expressivo aumento na produtividade média. Esta passou de 1.089 kg.ha⁻¹ nos anos 60 para 3.116 kg.ha⁻¹ na atualidade. Grande parte deste aumento em produtividade é resultado de esforços de vários programas de melhoramento genético, que ao longo dos anos, disponibilizam cultivares adaptadas para as diferentes regiões edafoclimáticas do país (IBGE, 2012).

A organização e o desenvolvimento do Sistema de Sementes no Brasil coincidem com os inícios da modernização e mecanização da agricultura do país, a partir da década de 70. Somente com o uso de sementes melhoradas e com elevado padrão de qualidade, foi possível à soja brasileira avançar em área e produtividade. Neste período, houve uma estruturação intensa da pesquisa em busca de cultivares produtivas e da indústria de sementes. Ao mesmo tempo em que surgiram empresas de pesquisa públicas e privadas, programas governamentais foram implementados para treinamento técnico e financiamento de estruturas. Também nessa época ocorreu a implementação de leis e normas, que deram diretrizes para o surgimento e a consolidação deste sistema (CARRARO, 2006).

A Redução na produção, e grandes perdas econômicas causadas por problemas fitossanitários em soja são conhecidos de longa data. Wrather et al. (1997) estimaram as perdas causadas por doenças em dez países produtores de soja, por todo o mundo. Foram registrados perdas de aproximadamente um milhão de toneladas e prejuízos em torno de 50% do valor total do rendimento da cultura somente nos EUA. Dentre os 24 patógenos levados em consideração nos 10 países, mereceu destaque, sobretudo em países tropicais, os nematoides.

2.2 ITONEMATOIDES

Os nematoides parasitas de plantas são seres filiformes, com corpo em forma de fio, pseudocelomados e apresentam ecdises durante seu período de crescimento. Estão inseridos no Filo Nematoda nas classes Chromadorea e Enoplea (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Os fitonematoides de maior importância agrônômica estão classificados na classe Chromadorea, especialmente na ordem Rhabditida, subordem Tylenchina, com várias

famílias e muitos gêneros. Outros nematoides de menor importância agrônômica, alguns deles capazes de transmitir fitovirus, estão classificados na classe Enoplea (TIHOHOD, 1993).

Incluídos como organismos aquáticos, os fitonematoides são representantes do Filo Nematoda que se especializaram em parasitar plantas superiores. Predominantemente, parasitam órgãos subterrâneos como raízes, rizomas, tubérculos, bulbos e frutos hipógeos, apesar de existir algumas espécies com preferência por partes aéreas da planta (AGRIOS, 2004).

A importância dos nematoides para a agricultura está na dificuldade de sua erradicação. Assim, o manejo para a convivência em níveis populacionais toleráveis é a melhor estratégia. Porém, ainda assim, seus danos podem ser grandes em diversas culturas. Estimativas mostram um prejuízo mundial de 35 bilhões de dólares em arroz, 21 bilhões de dólares em milho, aproximadamente cinco bilhões de dólares em batata, trigo e tomate e quatro bilhões de dólares para a cultura da soja (MCCARTER, 2009).

2.3 ITONEMATOIDES DE OCORRÊNCIA NA CULTURA DA SOJA

No Brasil as espécies de nematoides que causam os maiores danos à soja são *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *Heterodera glycines* Ichinohe, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Stekhoven e *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira (FERRAZ, 2001).

Os sintomas provocados por nematoides em lavouras de soja geralmente apresentam-se de forma semelhante, com subdesenvolvimento de plantas e clorose distribuídas em reboleiras. A intensidade dos mesmos varia com a população do nematoide no local e às vezes pode chegar à morte de plantas (DIAS et al., 2010b). Estes sintomas podem ser facilmente confundidos, ou tornarem-se mais evidentes na presença de problemas relacionados com características físico-químicas do solo e sob determinadas condições ambientais. Além dos danos diretos, pode haver um agravamento das perdas devido à possibilidade de associação com outros patógenos da cultura habitantes do solo, como fungos dos gêneros *Phytophthora*, *Fusarium* e *Rhizoctonia* (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

2.4 NEMATOIDE DE CISTO (*Heterodera glycines*)

Detectado no Brasil na safra de 1991/1992 (LIMA; FERRAZ; SANTOS, 1992; LORDELLO; LORDELLO; QUAGGIO, 1992; MONTEIRO; MORAIS, 1992), o nematoide de cisto da soja (NCS) atualmente está presente em dez Estados (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA). As perdas provocadas pelo mesmo na cultura são variáveis. Em lavouras de soja atacadas em que os sintomas são menos evidentes, como ocorre nos Estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, experimentos mostraram que o rendimento de cultivares suscetíveis, quando comparado ao de cultivares resistentes, foi inferior em aproximadamente 400 kg.ha⁻¹. Por outro lado em lavouras instaladas em solo com excesso de calagem, situação bastante comum no Brasil Central, às perdas provocadas pelo NCS chegaram a atingir 100% (GARCIA et al., 2005).

O gênero *Heterodera* caracteriza-se pela formação de cisto que é o corpo da fêmea adulta morta, de cor marrom, altamente resistente às condições adversas e contendo em média 500 ovos (TAYLOR, 1971). Os ovos, no interior do cisto, sofrem embriogênese, dando origem ao juvenil de primeiro estágio (J₁). Este tem sua ecdise, ou troca de cutícula, dentro do ovo e torna-se o juvenil de segundo estágio (J₂), que eclode, migra no solo e invade as raízes da planta hospedeira. O J₂ induz denominado síncito, que passa a fornecer alimento para o nematoide. O J₂ continua a se desenvolver, sofre mais três ecdises e, finalmente, atinge a fase adulta, de macho ou fêmea (SCHMITT; BARKER, 1985; TAYLOR, 1971). As fêmeas aumentam de volume, assumem o formato de limão ‘Taiti’, de coloração branca amarelada, e permanecem fixadas à raiz, com o corpo do lado de fora e a parte anterior internamente nos tecidos radiculares. Os machos têm corpo alongado, passam para o solo e, após fertilizarem as fêmeas, morrem (TAYLOR, 1971). Durante a postura, a fêmea deposita cerca de um terço dos ovos numa pequena matriz gelatinosa, liberada pela vulva, e o restante permanece retido no interior do seu corpo. Ao morrer, o corpo da fêmea transforma-se no cisto, que tem coloração marrom escura e é muito resistente à deterioração e à dessecação (SCHMITT; NOEL, 1984; TAYLOR, 1971). Os ovos protegidos pelo cisto podem sobreviver por oito anos na ausência de plantas hospedeiras, e os juvenis recém-eclodidos conseguem escapar do cisto por uma região fina ao redor da vulva que pode ser rompida, chamada de “fenestra” (MOORE et al., 1984; FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

A temperatura do solo influencia no tempo de duração do ciclo de vida de *H. glycines*, sendo que temperaturas ente 22-28°C seu ciclo completa-se em 21-24 dias (DIAS et al., 2010b) Levando em consideração as condições ambientais nas regiões de cultivo de

soja, no Brasil, há a possibilidade de ocorrerem de três a seis gerações por ciclo de cultivo (FERRAZ, MONTEIRO, 2011).

Em lavouras infestadas por *H. glycines*, é comum o aparecimento de plantas cloróticas, subdesenvolvidas e agrupadas em manchas ou reboleiras com um acentuado agravamento dos sintomas em direção ao centro. Plantas com estes sintomas tem sua nodulação por *Bradyrhizobium* reduzido em decorrência das infecções do nematoide, levando redução no número de vagens e conseqüente redução da produção de grãos (HUNGRIA; CAMPO; MENDES; 2001; CAMPOS; HUNGRIA; TEDESCO; 2001). Após seis semanas a partir da semeadura é possível a visualização dos sinais, ou seja, com a ajuda de uma lupa é possível à visualização da fêmea de *H. glycines* parasitando a raiz (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Sintomas acima citados podem ser confundidos com deficiência de nitrogênio, potássio e alguns micronutrientes, fitotoxicidade por agrotóxicos, compactação do solo e outras desordens fisiológicas. Em regiões com alta fertilidade de solo e bons índices pluviométricos, a parte aérea das plantas pode não apresentar sintomas típicos, além de uma leve redução no porte das plantas. O diagnóstico definitivo deve ser feito a partir da visualização dos sinais nas raízes das plantas suspeitas (DIAS et al., 2010b).

2.5 CONTROLE DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA (NCS)

Uma vez identificado o NCS em campo de produção de soja, o produtor deve se conscientizar de que deverá conviver com este problema, uma vez que a erradicação deste nematoide é praticamente impossível (YORINORI, 1995). Entretanto a convivência com NCS em baixas populações é economicamente viável e tecnicamente possível, mas para isso algumas condições devem ser cumpridas para o manejo do mesmo na área (DIAS et al., 2007; DIOGO et al., 1999).

A técnica de rotação de culturas com espécies vegetais que não multiplicam o fitonematoide é sabidamente uma das melhores opções para o manejo desses parasitas. No caso do NCS, essa rotação pode ser facilmente planejada, pois esse nematoide tem uma gama de hospedeiros muito restrita. Relativamente poucos representantes de outras famílias botânicas podem hospedar este nematoide (SMART, 1964). Como exemplo de hospedeiros alternativos têm o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), feijão adzuki (*Vigna angularis*), feijão de fava (*Phaseolus lunatus*), feijão arroz (*Vigna umbellata*), ervilha (*Pisum sativum*) e ervilhaca peluda (*Vicia villosa*) (CARNIELLI, 1995; IUNES, 1995; SILVA et al., 1997).

No Brasil o cultivo de espécies de verão não hospedeiras de *H. glycines*, por um ano, reduz a população do nematoide a níveis que permite o retorno com a soja, na próxima safra, na maioria das condições (GARCIA et al., 1999). A utilização de milho por duas ou três safras permite a semeadura de soja suscetível por dois anos consecutivos. Entretanto os níveis populacionais do nematoide voltam a aumentar e torna-se necessário, no ano seguinte, a utilização na área de plantas não hospedeiras ou de cultivares de soja resistentes (DIAS et al., 2010a).

O cultivo de plantas não hospedeiras nas entressafras da soja não reduz a população NCS, não sendo recomendada a sucessão de cultivares nestas condições. Deve-se fazer o controle de plantas de soja voluntárias, ou espécies hospedeiras, na entressafra para não haver aumento da população neste período (DIAS et al., 2010a).

O algodão, amendoim, crotalária, girassol, mamona, mucuna, braquiárias e diversas outras gramíneas, são exemplos de espécies não hospedeiras de *H. glycines*, e podem ser utilizadas para redução da população do NCS (VALLE et al., 1996a; VALLE; DIAS; FERRAZ, 1996b; DIAS; FERRAZ; LIMA, 1995; RODRÍGUEZ-KABANA et al., 1992). Entretanto uma dificuldade na utilização de algumas destas espécies esta na sua viabilidade econômica.

A utilização de resistência genética é o método de controle do NCS mais econômico e de melhor aceitação pelo produtor (YORINORI, 1995). Entretanto cultivares no mercado são na maioria das vezes, resistentes apenas as raças 1 e 3 do NCS, mesmo havendo um grande número de cultivares resistentes, ainda há carência de genótipos adaptados a várias regiões produtoras (DIAS et al., 2010b).

A utilização de cultivares resistentes como única forma de controle do NCS não deve ser utilizada, pois ocasionaria a seleção de novas raças virulentas do nematoide, devido a grande variabilidade desta espécie, e da estreita base genética utilizada nos cruzamentos para obtenção de cultivares com resistência ao NCS (CONCIBIDO; DIERS; RAO-ARELLI, 2004; DONG; BAKER; OPPERMAN, 1997; RIGGS; HAMBLIN; SLACK, 1981).

Além da rotação de culturas com espécies não hospedeiras e da utilização de cultivares resistentes, recomenda-se ainda a adoção de semeadura direta nas áreas infestadas com o NCS, pois este modo de cultivo torna o solo antagonista, por favorecer a ocorrência de inimigos naturais, competidores por sítios de alimentação, e reduzir a disseminação dos cistos em decorrência da menor movimentação de solo na área (DIAS et al., 2010b).

2.6 DIVERSIDADE GENÉTICA DO NCS

Segundo Dias et al. (2009) a diversidade genética do NCS já é amplamente conhecida nos EUA segundo vários pesquisadores. A utilização de variedades resistentes tornou possível a identificação destas populações.

O termo raça é utilizado em NCS, para designar diferentes populações ao nível intraespecífico, ou seja, dentro de uma mesma espécie é possível observar diferenças na habilidade de parasitar seus hospedeiros, essa característica permitiu que Golden et al. (1970) e posteriormente Riggs e Schmitt (1988), proporem a divisão da espécie *H. glycines*, em raças fisiológicas baseado nas habilidades em parasitar uma série diferenciadora de genótipos de soja, Pickett, Peking, PI 99788 e PI 90763, consideradas resistentes e como padrão de suscetibilidade a cultivar Lee.

A designação da raça é feita com base no número médio de fêmeas do nematoide obtido em cada diferenciadora, em relação ao número médio encontrado em 'Lee'. Para cada diferenciadora, é calculado um índice de fêmeas (IF), isto é, $IF (\%) = (\text{número médio de fêmeas na diferenciadora} / \text{número médio de fêmeas em 'Lee'}) \times 100$. Se a diferenciadora apresentar $IF < 10\%$, é classificada como resistente (-). Caso contrário, se apresentar $IF > 10\%$, é tida como suscetível (+) (SCHMITT; SHANNON, 1992).

De acordo com esta classificação de Golden et al. (1970), foram descritas 16 raças, sendo quatro delas hipotéticas. Nos EUA 12 raças de *H. glycines*, foram descritas, raça 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14 e 15. No Brasil já foram relatadas a ocorrência das raças 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14 (NOEL et al., 1994; EMBRAPA, 2011).

Constantes e periódicos levantamentos são realizados pela Embrapa soja desde 1995, com o objetivo de monitorar a ocorrência das raças de NCS no Brasil. Os levantamentos são realizados com as diferenciadoras propostas por Golden et al. (1970), entretanto com a introdução da cultivar 'Hartwig' e a PI 437654 como diferenciadoras, foi possível a descrição de duas novas raças exclusivas do Brasil, são elas as raças 4⁺ e 14⁺, que diferenciam-se das raças 4 e 14 clássicas por parasitarem a cultivar 'Hartwig', considerada até então resistente a todas as raças de NCS (DIAS et al., 1998; DIAS et al., 1999).

Como nos EUA, a raça 3 é a mais disseminada no Brasil (NOEL et al., 1994; EMBRAPA, 2011). Porém, as raças 1, 2, 9 e 14 vêm se tornando cada vez mais importantes. Atualmente a distribuição das raças do NCS no Brasil é a seguinte: Mato Grosso, raças 1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14 e 14⁺; Mato Grosso do Sul 1,3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14; Goiás, raças 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14; Minas Gerais 3, 4, 6, e 10; Rio Grande do Sul, raças 3, 5 e 6;

Paraná, São Paulo, raça 3; e Bahia, raças 1,3 e 14; Tocantins, raça 1; e Maranhão, raça 5, 6 e 9 (EMBRAPA, 2011).

2.7 FONTES DE RESISTÊNCIA AO NCS

A utilização de cultivares resistentes é o método mais eficiente de controle do NCS, além de ser economicamente mais interessante e aceito pelo produtor rural. Desde que foi identificado em diversos países, fontes de resistência ao NCS começaram a ser buscadas e utilizadas (WINSTEAD; SKOTLAND; SASSER, 1989; DIAS, 2009).

Em uma das primeiras buscas por fontes de resistência, foram encontradas e identificadas as PIs 90763, 84751 e 209332, as cultivares ‘Ilsoy’ e ‘Peking’ (ROSS; BRIM, 1957), entretanto todas possuíam sementes de cor preta, e entre elas a com características agronômicas superiores foi selecionada para utilização em programas de melhoramento, a cultivar ‘Peking’ resistente as raças 1, 3 e 5 (HARTWIG, 1985).

A utilização de cultivares originadas basicamente de uma única fonte genética resultou em populações capazes de multiplicar nesses genótipos, o que estimulou a buscas por fontes de resistência maiores. Oito materiais foram selecionados, PI 88788, PI 89772, PI 87631-1, ‘Cloud’, ‘Columbia’, ‘Peking’, PI 847521 e PI 90763 com resistência a raça 4 (EPPS; HARTWIG, 1972).

Mesmo assim a base de resistência utilizada nos programas de melhoramento apresentavam falhas para algumas raças do NCS, até o aparecimento da cultivar PI 437654, pelos esforços de Anand e Gallo (1984), mostrando bons níveis de resistência à maioria das raças de NCS identificados até então, até mesmo as raças 4⁺ e 14⁺ (DIAS et al., 1998;. ANAND, 1985; RAO-ARELI; ANAND; WRATHER, 1992). Entretanto essa introdução apresenta sementes pretas, e sua resistência deve ser introduzida em cultivares agronomicamente superior.

Do cruzamento da PI 437654 com ‘Forrest’, foi produzida a ‘Hartwig’ (ANAND, 1991), essa cultivar tem sementes amarelas e resistência a todas as raças de NCS, exceto 4⁺ e 14⁺ (DIAS et al., 1998, 1999) e por ser pouco produtiva não foi muito cultivada, mas é amplamente utilizada em programas de melhoramento genético.

Para desenvolver cultivares de soja resistentes ao NCS é necessário o conhecimento do número de genes relacionados à resistência, bem como o tipo de ação gênica e a herdabilidade do caráter (MAURO; OLIVEIRA; MAURO, 1999). Estudos de mapeamento genético tem gerado informações da localização de genes de resistência maior

em algumas PIs. Caldwell, Brim e Ross (1960) foram os primeiros a relatar a herança de resistência para *H. glycines*. Eles estabeleceram que a herança da resistência de ‘Peking’ se encaixava com um modelo de três genes recessivos que foram denominados *rhg1*, *rhg2* e *rhg3*. Estudos posteriores indicaram a presença de um quarto gene de ‘Peking’ ligado com o loco *i* (MATSON; WILLIAMS, 1965) que controla a distribuição da pigmentação do tegumento da semente. Este quarto gene foi descrito como um gene dominante de resistência, *Rhg4*. Outro gene dominante foi identificado na PI 88788 e designado *Rhg5* (RAO-ARELLI; ANAND; WRATHER, 1992; RAO-ARELLI, 1994).

Estudos de mapeamento e QTL apontam o gene *rhg1* localizado no grupo de ligação (GL) G, responsável por explicar 50% das características de resistência para maioria das raças de NCS, e o *Rhg4* localizado no GL A2, como os mais importantes genes envolvidos na resistência ao NCS, além de existirem genes de resistência menores que podem estar relacionados com especificidade por alguma raça do NCS (CONCIBIDO; DIERS; ARELLI, 2004).

Porém, a base genética para resistência ao NCS ainda é pouco entendida, podem estar envolvidos vários genes, ou pouco genes com muitos alelos na resistência para as diversas raças (ANAND; RAO-ARELLI, 1989; HARTWIG, 1985). Esta base genética está distribuída em vários genótipos que são utilizados em programas de melhoramento, originando plantas com respostas variáveis ao NCS, de zero a muitos cistos por planta, tratando-se de uma resistência quantitativa (MANSUR et al., 1993). Alguns genótipos com bons níveis de resistência à maioria das raças de nematoide, inclusive a raça 4⁺, apresentam sementes de cor escura com baixo rendimento agrônômico. Uma explicação para isto é a proximidade do gene de resistência à raça 4⁺ com o loco *i*, que controla a distribuição da cor do hilo no tegumento da semente, o que confirma que a cultivar ‘Hartwig’ não herdou todos os genes de resistência da PI 437654 (ANAND, 1991; DIAS et al., 1998; DIAS et al., 1999).

No Brasil, desde a detecção do NCS, um amplo programa de melhoramento foi implementado pela Embrapa soja em parceria com instituições de pesquisa estaduais, e produtores de sementes, visando à incorporação de genes de resistência. São utilizados como fontes de resistência genótipos originados de ‘Peking’, PI 88788, PI 90763 ou da PI 437654 (DIAS et al., 2009).

Resultado dos esforços em melhoramento no Brasil já originou cerca de 50 cultivares com resistência ao NCS, entretanto a maioria das cultivares apresentam resistência para a raça 1 e 3 apenas, além disso, não há cultivares adaptadas para todas as regiões de cultivo da soja (DIAS et al., 2010a).

As primeiras cultivares com resistência ao NCS lançadas no Brasil, apresenta boa produtividade, o que faz com que seja de boa aceitação pelos produtores. Entretanto a complexidade da resistência às diversas raças do NCS torna a obtenção de cultivares com boas características agronômicas e resistentes a um grande número de raças, uma tarefa extremamente difícil de ser realizada.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Elsevier. ed. 5, 2004
- ANAND, S. C. Registration of soybean germplasm line S88-2036 having multiple-race soybean cyst nematode resistance. **Crop Science**, v. 31, p. 856. 1991.
- ANAND, S. C.; RAO-ARELLI, A. P. Genetic analyses of soybean genotypes resistant to soybean cyst nematode race 5. **Crop Science**, v. 29. 1989.
- ANAND, S. C. Sources of resistance to the soybean cyst nematode. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C. E. **Cyst Nematodes**. Plenum Press, New York, p. 269- 276. 1985.
- ANAND, S. C.; GALLO, K. M. Identification of additional soybean germplasm with resistance to race 3 of soybean cyst nematode. **Plant Disease**, v. 68, p. 593-595. 1984.
- CALDWELL, B. E.; BRIM, C. A.; ROSS, J. P. Inheritance of resistance of soybeans to the cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Agronomy Journal**, v. 52, p. 635-636. 1960.
- CAMPOS, B. C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N₂ por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 3, 2001, p. 583-592.
- CARNIELLI, A. Reação de culturas utilizadas em rotação e sucessão à soja ao nematoide *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, Rio Quente, 1995. **Anais...** Rio Quente: GO, 1995, 35p.
- CARRARO, I. M. Soja geneticamente modificada tolerante a herbicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 4, 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: Potafos, 2006. p. 140-143.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2012**. Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília : Conab, 2012. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_05_10_08_49_52_boletim_mai_2012.pdf > Acesso em janeiro de 2013
- CONCIBIDO, V. C.; DIERS, B. W.; RAO-ARELLI, P. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. **Crop Science**, v. 44, p. 1121-1131. 2004.
- COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: Evangraf, 1996. p. 233.
- DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em Soja: Identificação e Controle**, Circular Técnica, 76, Londrina, 2010a.
- DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides. In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. **Soja - doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa soja, 2010b.
- DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S.; GARCIA, A.; ARIAS, C. A. A. Nematode de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides de importância para a soja no Brasil. In: BOLETIM DE PESQUISA DE SOJA 2007. Rondonópolis: Fundação MT, n.11, p. 173-184. 2007.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; HIROMOTO, D. M.; KIIHL, R. A. S. Ocorrência de uma segunda população do nematoide de cisto da soja (NCS) “quebrando” a resistência da cv. Hartwig no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, I, Londrina (PR). **Resumos...** p.462, 1999.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R. A. S.; HIROMOTO, D. M.; ABDELNOOR, R. V. Quebra da resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p. 971-973. 1998.

DIAS, W. P.; FERRAZ, S.; LIMA, R. D. Efeito de algumas espécies vegetais sobre a população de *Heterodera glycines* Ichinohe, em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 370. 1995.

DIOGO, A. M.; SEDIYAMA, T.; LIMA, R. D.; SEDIYAMA, C. S. Penetração de *Heterodera glycines*, raça 3, em algumas espécies vegetais. **Nematologia Brasileira**, v.23, n. 2, p. 20-23, 1999.

DONG, K.; BAKER, K. R.; OPPERMAN, C. H. Genetic of soybean *Heterodera glycines* interactions. **Journal of Nematology**, v. 29, p. 509-522, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil 2012 e 2013**: sistema de produção. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2011. p. 261.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. **Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil 2005**: sistema de produção. Londrina: EMBRAPA/CNPQ, 2004. v. 6, p. 242.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011.

FERRAZ, L. C. C. B. As Meloidogynoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J. F. V. **Relações parasito-hospedeiro nas Meloidogynoses da soja**. Londrina: Embrapa soja: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001.

EPPS, J. M.; HARTWIG, E. E. Reaction of soybean varieties and strain to race 4 of the soybean cyst nematode. **Journal of Nematology**, v. 4, n. 4, p. 222, 1972.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; LONIEN, G.; PEREIRA, J. E. Avaliação de perdas causadas pelo nematoide de cisto através da comparação de rendimentos entre cultivares resistentes e suscetíveis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, Piracicaba (SP), **Resumos...** p.109, 2005.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; PEREIRA, J. E.; DIAS, W. P. Rotação de culturas e manejo do solo para controle do nematoide de cisto da soja. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **O Nematode de Cisto da Soja**: A experiência Brasileira. Artsigner Editores, Jaboticabal, p. 55-70. 1999.

GOLDEN, A. M.; EPPS, J. M.; RIGGS, R. D.; DUCLOS, L. A.; FOX, J. A.; BERNARD, R. L. Terminology and identity of intra-specific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease**, v. 54, p. 544-546. 1970.

HARTWIG, E. E. Breeding productive soybeans with resistance to the soybean cyst nematode. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 3, Boulder, **Abstracts...** p. 394-399. 1985.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa, 2001. p. 23-24.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, v. 23 p. 408-21, 1970.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro v.25 n.12 p.1-84 dezembro 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201212.pdf > Acesso em janeiro de 2013.

IUNES, C. A. **Reações de diferentes plantas cultivadas e daninhas ao nematoide de cisto da soja *Heterodera glycines*, Ichinohe, 1952**. Jaboticabal: 1995. 73p. (Dissertação-Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista).

LIMA, R. D.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Ocorrência de *Heterodera* sp. em soja, no Triângulo Mineiro. **Nematologia Brasileira**, v. 16, p. 101-102. 1992.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; QUAGGIO, J. A. *Heterodera* sp. reduz a produção de soja no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 16, p. 101. 1992.

MANSUR, L. M.; CARRIQUIRY, A. L.; RAO-ARELLI, A. P. Generation mean analysis of resistance to race 3 of the soybean cyst nematode. **Crop Science**, v.33. 1993.

MATSON, A. L.; WILLIAMS, L. F. Evidence of a fourth gene for resistance to the soybean cyst nematode. **Crop Science**, v. 5, p. 477. 1965.

MAURO, A. O.; OLIVEIRA, A. L. de; MAURO, S. M. Z. Genetics of resistance to soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe (race 3), in a Brazilian soybean population. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 2, p. 257-260, 1999.

MCCARTER, J. P. Molecular Approaches Toward Resistance to Plant-Parasitic Nematodes. **Plant Cell Monographs**. v. 15. 2009

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares e solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária. 2005

MONTEIRO, A. R.; MORAIS, S. R. A. C. Ocorrência do nematoide de cistos da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 16, p. 101-102. 1992.

MOORE, W. F.; BOST, S. C.; BREWER, F. L.; DUN, R. A.; ENDO, B. Y.; GRAU, C. R.; HARDMAN, L. L.; JACOBSEN, B. J.; LEFFEL, R.; NEWMAN, M. A.; NYVALL, R. F.;

OVERSTREET, C.; PARKS, C. L. Soybean cyst nematode. **Soybean Industry Resource Committee**, Washington, 23p. 1984.

NOEL, G. R.; MENDES, M. L.; MACHADO, C. C. Distribution of *Heterodera glycines* races in Brazil. **Nematropica**, v. 24, n. 1, p. 63-69, 1994.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Desenvolvimento de cultivares de soja na região Norte e Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE CULTURA DA SOJA NOS CERRADOS, 1992. Uberada. **Anais...** Piracicaba: Potafos, 1993. p. 255-265.

RAO-ARELLI, A. P. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* race 3 in soybean accessions. **Plant Disease**, v. 78, p. 898-900, 1994.

RAO-ARELLI, A. P.; ANAND, S. C.; WRATHER, J. A. Soybean resistance to soybean cyst nematode race 3 is conditioned by an additional dominant gene. **Crop Science**, v. 32, p. 862-864. 1992.

RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 3, p. 393-395, 1988.

RIGGS, R. D.; HAMBLEN, M. L.; SLACK, D. A. Infra-species variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. **Journal of Nematology**, v. 13, p. 171-179, 1981.

RODRÍGUEZ-KABANA, R.; PINOCHET, J.; ROBERTSON, D. G.; WELLS, L. Crop rotation studies with velvetbean (*Mucuna deeringiana*) for the management of *Meloydogyne* spp. **Journal Nematology**, v. 24, p. 662-668, 1992.

ROSS, J. P.; BRIM, C. A. Resistance of soybean to the soybean cyst nematodes as determined by a double row method. **Plant Disease Reporter**, v. 41, p. 923-924, 1957.

SASSER, J. N. **Plant-parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy**. North Carolina State University Press. Raleigh. 1989.

SCHMITT, D. P.; SHANNON, G. Differentiating soybean to *Heterodera glycines* races. **Crop Science**, v. 32, p. 275-277, 1992.

SCHMITT, R. D.; BARKER, K. R. **Plant-parasitic nematodes on soybean in North Carolina**. The North Carolina Agricultural Extension Service, 8 p. 1985.

SCHMITT, D. P.; NOEL, G. R. Nematodes parasites of soybean. In: NICKLE, W.R. **Plant and insect nematodes**. Marcel Dekker. New York. 1984.

SILVA, M. A.; HANADA, R. E.; SILVA, H. S. A.; LIMA, R. D.; VIEIRA, R. F. Reprodução de *Heterodera glycines* em algumas leguminosas. **Fitopatologia Brasileira**, 22 (Suplemento), 324p. 1997.

SMART, G. C. Additional hosts of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, including hosts in two additional plant families. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 5, p. 388-389, 1964.

SPEHAR, C. R.; MONTEIRO, P. M. F. de O.; ZUFFO, N. L. Melhoramento genético da soja na região Centro-Oeste. In: SIMPÓSIO NOS CERRADOS, 1992. Uberaba. **Anais...** Piracicaba. Potafos, 1993. p. 229-253.

TAYLOR, A. L. Introductions to research on plant nematology. **FAO**, Rome, 133 p. 1971.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. FUNEP/UNESP. 1993, 372p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **World agricultural supply and demand estimates**. WASDW-514. Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>> Acesso em: janeiro de 2013

VALLE, L. A. C. do; FERRAZ, S.; DIAS, W. P.; TEIXEIRA, D. A. Controle do nematoide de cisto da soja *Heterodera glycines* Ichinohe, com gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 1-11, 1996a.

VALLE, L. A. C. do; DIAS, W. P.; FERRAZ, S. Reação de algumas espécies vegetais, principalmente leguminosas, as nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe. **Nematologia Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 30-40, 1996b.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R. F. **Leguminosa graníferas** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2001. 206p.

WINSTEAD, N. N.; SKOTLAND, C. B.; SASSER, J. N. Soybean cyst nematodes in North Carolina. **Plant Disease Reporter**, v. 39, p. 9-11, 1955.

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; GAI, J.; PLOPER, L. D.; PORTA-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean Disease Loss Estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease**, v. 81, n. 1. 1997.

YORINORI, J. T. Principais doenças da cultura da soja e suas estratégias de controle. **Fitopatologia Brasileira**, v. 2, p. 276-277, 1995.

3 ARTIGO:

HERANÇA DA RESISTÊNCIA DA SOJA À RAÇA 4⁺ DO NEMATOIDE DE CISTO

Idenize Pedrina Orsini^{1,2*}, Waldir Pereira Dias³, Carlos Alberto Arrabal Arias³, Débora Cristina Santiago⁴,

Orsini, I. P., W. P. Dias, C. A. A. Arias and D. C. Santiago. 2013. Inheritance of soybean resistance to race 4⁺ of cyst nematode. *Nematropica* 00:00-00

ABSTRACT

In 1998 the race 4⁺ of soybean cyst nematode was first identified in Brazil, and which differs from the traditional race 4 for their ability to parasitize the cultivar 'Hartwig', but not their ancestral PI 437654. The objective was to study the inheritance of resistance to soybean cyst nematode in (*Heterodera glycines*) 4⁺ race. The experiment was conducted at Embrapa Soja, Londrina, PR. The inheritance of resistance of the E99-1402 (derived from PI 437654), crossed with the susceptible genotype BRQ95-799 was studied using 164 F_{2:3} families, 87 F₂ plants and 20 plants for each parent. The experiment was conducted in a green house with the vessels randomly distributed. Seedlings of each generation, and also the differentials of race were transplanted (one per pot clay) and at the same time inoculated with 4000 eggs of nematodes. After thirty days, the root system of each plant was washed and female, recovered and quantified. For the number of females on F_{2:3}, and F₂ plants were calculated for each parental frequency distribution as well as quantitative genetics tests employed. In response to this junction we found that additive effects (predominantly), and epistatic effects of additive x additive, are involved in resistance to soybean cyst nematode. There was no effect of dominance in this intersection. The heritability estimate will plant level ($h^2 < 30\%$) indicate low possibility of gains from selection for resistance.

Key-Words: Genetic models. *Glycine max*. Nematode. Quantitative genetics. Race 4⁺.

¹ Parte da Tese do primeiro autor, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Doutorado, Universidade Estadual de Londrina, PR

² Bolsista CAPES

* autor para correspondência: idenizeorsini@yahoo.com.br

³ Pesquisador, Embrapa Soja, Rodovia Carlos João Strass, CEP: 86001-970, C.P. 231, Londrina, PR.

⁴ Docente, Universidade Estadual de Londrina, CEP: 86057-970, C.P. 10.011, Londrina, PR.

Orsini, I. P., W. P. Dias, C. A. A. Arias and D. C. Santiago. 2013. Herança da resistência da soja à raça 4⁺ do nematoide de cisto. *Nematropica* 00:00-00

RESUMO

Em 1998 a raça 4⁺ do nematoide de cisto da soja foi identificada pela primeira vez no Brasil, e que difere da raça 4 tradicional pela sua habilidade em parasitar a cultivar ‘Hartwig’, mas não a sua ancestral PI 437654. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a herança da resistência da soja à raça 4⁺ do nematoide de cisto (*Heterodera glycines*). O experimento foi conduzido na Embrapa Soja, em Londrina, PR. A herança da resistência do genótipo E99-1402 (derivada da PI 437654), cruzado com o genótipo suscetível BRQ95-799, foi estudada utilizando 164 famílias F_{2:3}, 87 plantas F₂ e 20 plantas para cada parental. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação com os vasos distribuídos aleatoriamente. Plântulas de cada geração, e também das diferenciadoras de raça foram transplantadas (uma por vaso de argila) e no mesmo momento inoculado com 4000 ovos de nematoides. Após trinta dias, o sistema radicular de cada planta foi lavado e a fêmea, recuperada e quantificada. Para o número de fêmeas nas famílias F_{2:3}, nas plantas F₂ e para cada parental foram calculados a distribuição de frequência e também empregados testes de genética quantitativa. Como resposta a este cruzamento observamos que efeitos aditivos (predominantemente), e de epistasia do tipo aditivo x aditivo, estão envolvidos na resistência do nematoide de cisto da soja. Não foi observado efeito de dominância neste cruzamento. A estimativa de herdabilidade em nível de planta ($h^2 < 30\%$) indica baixa possibilidade de ganhos com seleção para resistência.

Palavras-chave: Genética quantitativa. *Glycine max*. Modelos genéticos. Nematóide. Raça 4⁺.

INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, uma leguminosa a muito tempo domesticada pelo homem, tem como centro de origem e variabilidade a Ásia (Hymowitz, 1970; COSTA, 1996). Atualmente, esta amplamente distribuída pelo mundo e constitui uma das espécies vegetais mais cultivada e com maior importância econômica.

Além de ser uma ótima fonte de proteína, a soja apresenta em sua composição nutricional, carboidratos, minerais e vitaminas, o que a torna excelente para a alimentação humana e animal. Hoje, a demanda mundial por grãos de soja é de aproximadamente 260 milhões de toneladas (USDA, 2013).

Os primeiros relatos de estudos com soja no Brasil datam do final do século XIX. Relatam a intensão inicial de utilização dessa leguminosa como planta forrageira. Entretanto, somente na década de 1970 a soja começou a ser cultivada para a produção de grão. A partir de então, houve um expressivo crescimento da produção e, hoje, o país é o segundo maior produtor mundial (USDA, 2013).

Dentre os principais problemas fitossanitários da cultura, destaca-se o nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe (1952), pelo seu elevado potencial de dano, sua grande diversidade genética e à dificuldade de controle (Dias *et al.*, 2009).

Em regiões tropicais, as condições ambientais são muito favoráveis para o aumento da população de nematoides, o que dificulta o controle dos mesmos. A rotação de culturas e a utilização da resistência genética são as principais formas de manejo dos fitonematoides (Dias *et al.*, 2010b). O planejamento da rotação de culturas para o controle de *H. glycines* é relativamente fácil, pois o parasita tem uma restrita gama de hospedeiros. Por outro lado, no Brasil, poucas culturas além da soja têm valor econômico. Assim, a estratégia de manejo do NCS mais aceita pelos sojicultores brasileiros é o uso de cultivares resistentes. Todavia, a maioria das cultivares resistentes disponíveis no país são adequadas apenas para as raças 1 e 3. Existe necessidade muito grande da geração de cultivares com resistência a outras raças, como por exemplo, à raça 4⁺.

Como esta raça foi descrita recentemente (Dias *et al.*, 1998; Dias *et al.*, 1999), estudos básicos são necessários para esclarecer o controle genético da resistência da soja à mesma e, desse modo, orientar os programas de melhoramento de soja na definição de estratégias que facilitem a geração de cultivares resistentes (Dias *et al.*, 2010a). Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a herança da resistência da soja à raça 4⁺ do NCS.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Genético

Os genótipos de soja utilizados no presente estudo foram desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético da Embrapa soja e são os seguintes: a) linhagem BRQ95-799: parental suscetível e com semente amarela; b) linhagem E99-1402 (tipo PI 437654): parental resistente e com semente preta.

Obtenção das Sementes

As hibridizações foram realizadas em casa de vegetação da Embrapa Soja em Londrina, PR. Para haver coincidência de floração, cada parental foi semeado (quatro sementes/vaso de plástico de cinco quilos contendo solo devidamente adubado e corrigido),

semanalmente, durante um mês. Os cruzamentos artificiais, utilizando a linhagem E99-1402 como mãe, aconteceram diariamente, sempre que haviam flores adequadas. Colhidas as sementes F_1 , as mesmas foram semeadas e obtiveram-se sementes F_2 . Para confirmar os cruzamentos, foi utilizado o marcador fenotípico cor de flor. Como em soja a cor roxa da flor é dominante sobre a branca e o parental materno tinha flores brancas, todas as plantas oriundas de cruzamentos (F_1) possuíam, obrigatoriamente, flores roxas. Desse modo, plantas com flores brancas foram eliminadas.

Das sementes F_2 produzidas, foi retirada ao acaso uma amostra com 164 sementes. Estas foram semeadas, separadamente, para originar as famílias $F_{2,3}$ (família F_3 derivada da planta F_2). Com o objetivo de obter, para os estudos de herança, sementes com a mesma idade fisiológica, simultaneamente à semeadura das sementes F_2 , também foram colocadas para germinar sementes dos parentais.

As plantas F_2 , diferentemente dos parentais, foram colhidas individualmente. Para possibilitar o estudo de ligação do loco i com o(s) loco(s) de resistência à raça 4⁺, cada planta F_2 foi classificada, conforme a coloração do tegumento de suas sementes.

Avaliação da Reação das Plantas de Soja a Raça 4+ do NCS

O experimento foi conduzido em outubro de 2009, em casa-de-vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR, quando foram testadas as plantas do cruzamento E99-1402 (parental resistente) x BRQ95-799 (parental suscetível) quanto à reação à raça 4⁺ do nematoide de cisto da soja (NCS). Foram avaliadas 164 famílias $F_{2,3}$, com seis repetições, 87 indivíduos F_2 , 20 indivíduos do parental suscetível (P_1) e 20 indivíduos do parental resistente (P_2). Também foram incluídos, utilizando-se seis repetições por genótipo, a série diferenciadora de raças do NCS ('Peking', 'Pichett', PI 88788, PI 90763 e 'Hartwig'), um padrão de suscetibilidade ('Lee 74') e um padrão de resistência (PI 437654). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, definindo-se previamente, por sorteio, a posição de cada vaso nas 10 mesas utilizadas.

Sementes dos genótipos de soja avaliados foram colocadas, separadamente, para germinar em vasos plásticos contendo areia lavada. Três dias após a emergência, as mudas foram transplantadas (uma por recipiente) para o centro de vasos de argila com capacidade para um quilo de solo. O substrato era composto pela mistura de solo e areia (1:3) e foi previamente esterilizada em autoclave a 121 °C por duas horas. No momento do

transplântio, cada plântula foi inoculada com 4.000 ovos do nematoide. A inoculação foi realizada com o auxílio de pipeta automática, depositando-se a suspensão de ovos nas paredes do orifício aberto no solo para receber a plântula de soja. Os vasos, assim preparados, permaneceram no interior da casa-de-vegetação por 28 dias, quando ocorreu a avaliação.

Para a obtenção do inóculo, utilizou-se uma população pura de *H. glycines*, raça 4⁺, originalmente coletada no município de Sorriso (MT) e mantida em casa-de-vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Após 30-35 dias de cultivo de plantas da cultivar Hartwig em vasos contendo solo infestado, a parte aérea das plantas foi eliminada e os sistemas radiculares lavados sob jato forte de água, sobre peneiras de 20 e 100 mesh, para a recuperação das fêmeas produzidas no período. Para a liberação dos ovos, na sequência as fêmeas foram esmagadas na própria peneira de 100 mesh, sobreposta a uma de 500 mesh, pelo atrito com uma rolha de borracha. Para eliminar os detritos e solo, os ovos foram recolhidos em solução de sacarose (454g de açúcar/L de água), que foi centrifugada a 2400 r.p.m., durante um minuto. Lavado o excesso de sacarose, a suspensão de ovos foi recolhida em béquer e teve a sua concentração estimada ao microscópio óptico, com o auxílio de uma câmara de Peters, e padronizada para 1000 ovos/mL.

Na avaliação, cada planta foi cuidadosamente retirada do vaso e teve o seu sistema radicular lavado sob jato forte de água, em peneira de 20 mesh acoplada sobre uma de 60, para a extração das fêmeas do nematoide. Em seguida, as fêmeas foram transferidas, em suspensão aquosa, para béquer devidamente identificado e, sob microscópio estereoscópio e com o auxílio de uma placa de acrílico quadriculada, foram quantificadas. No caso das famílias F_{2:3} com sementes amarelas, as plantas resistentes foram transplantadas, para que pudessem produzir sementes. Foram consideradas resistentes as plantas com índices de fêmeas (IF) inferiores a 10%, $IF (\%) = (\text{número médio de fêmeas no genótipo testado} / \text{número médio de fêmeas na cultivar 'Lee 73'}) \times 100$ (Golden *et al.*, 1970). Para a identificação da raça, foram adotados o esquema de Riggs e Schmitt (1998) e as sugestões de Dias *et al.* (1998).

Análise Genética dos Dados

Utilizando o *software* Excel, inicialmente foram construídos os gráficos de distribuição de frequências dos números de fêmeas do nematoide/planta, para cada uma das gerações.

Genética Quantitativa

Os dados de contagem das fêmeas foram organizados e analisados utilizando o Sistema de Genética Quantitativa (SGQ) da Embrapa Soja. Esse sistema permite determinar, para os parentais e gerações F_2 e $F_{2:3}$, os graus de liberdade, as médias, as variâncias totais e as variâncias entre e dentro das famílias.

As informações sobre a natureza dos efeitos genéticos envolvidos nos cruzamentos foram obtidas pelo ajuste de modelos genéticos para os componentes de médias e variâncias, utilizando o conjunto composto pelos parentais e as gerações segregantes F_2 e $F_{2:3}$.

Componentes Genéticos de Média

Inicialmente foi adaptado um modelo genético simples do tipo aditivo-dominante, envolvendo os componentes m , $[d]$ e $[h]$ (Tabela 1). Nesse modelo, m representa a média da distribuição genotípica de todas as linhagens puras extraídas, sem seleção, de um cruzamento (Van Der Veen, 1959), ou o valor médio entre os parentais; $[d]$ é a soma algébrica dos efeitos aditivos de todos os k locos para os quais P_1 e P_2 diferiram; e $[h]$ define a soma algébrica dos efeitos de dominância dos mesmos k locos. Os parâmetros genéticos dos componentes de médias foram estimados pelo teste conjunto de escala (Cavalli, 1952), com a utilização de um programa Fortran (Toledo, 1991). Esse teste proporciona uma avaliação da qualidade do ajuste do modelo genético obtido a partir de um teste de Qui-quadrado. O teste de (χ^2) possui um número de graus de liberdade igual ao número de gerações menos o número de parâmetros estudados. Quando o número de gerações é igual ao número de parâmetros genéticos, não sobram graus de liberdade para o teste de qualidade de ajuste do modelo genético.

Tabela 1 – Componentes genéticos aditivos e dominantes de média dos parentais e das gerações segregantes F_2 e $F_{2:3}$, segundo Mather e Jinks (1982).

Geração	M	[d]	[h]
P1	1	1	0
P2	1	-1	0
F2	1	0	½
F3	1	0	¼

O teste conjunto de escala utiliza o método dos quadrados mínimos ponderados (*Weigh Least Squaresm* - WLS) para estimar os parâmetros genéticos. Nesse método, é necessário fornecer os dados de média e variâncias observados em cada geração. O Peso (W_i), utilizado para ponderar a quantidade de informação fornecida por geração, é obtido a partir do inverso da variância das médias ($V_{\bar{x}}$) de cada geração. A variância das médias, por sua vez, é obtida pela divisão da variância de cada geração pelo número de indivíduos que a compõem (Oliveira, 1994). O Ajuste de um modelo genético envolve tão somente efeitos aditivos e dominantes (m , $[d]$ e $[h]$), que podem ser estimados a partir dos dados apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Informações necessárias para o teste conjunto de escala envolvendo dois parentais e as gerações segregantes F_2 e F_3 , conforme Souza (1992).

Geração	N	V_x^*	Peso (W_i)	Média Esperada			Média Obs. (Y_i)
				m	[d]	[h]	
P1	n1	VP1/n1	n1/VP1	1	1	0	P1
P2	n2	VP2/n2	n2/VP2	1	-1	0	P2
F2	n3	VF2/n3	n3/VF2	1	0	½	F2
F3	n4	VF3/n4	n4/VF3	1	0	¼	F3

* V_x : variância das médias

Tais dados fornecem as equações normais utilizadas na estimativa desses parâmetros que, em forma matricial, tomam a forma $S.b = R$, em que S é a matriz de informação, b é a matriz dos parâmetros a serem estimados e R é a matriz dos resultados.

$$S = \begin{Bmatrix} 1 & 2 & 3 \\ 2 & 4 & 5 \\ 3 & 5 & 6 \end{Bmatrix}, \quad b = \begin{Bmatrix} m \\ d \\ h \end{Bmatrix}, \quad e R = \begin{Bmatrix} 7 \\ 8 \\ 9 \end{Bmatrix}$$

Os elementos entre chaves são obtidos por:

- (1) - $\Sigma[(\text{coeficiente de } m)^2 \times W_i]$;
- (2) - $\Sigma(\text{coeficiente de } m \times \text{coeficiente de } [d] \times W_i)$;

- (3) - $\Sigma(\text{coeficiente de } m \times \text{coeficiente de } [h] \times W_i)$;
- (4) - $\Sigma[(\text{coeficiente de } [d])^2 \times W_i]$
- (5) - $\Sigma(\text{coeficiente de } [d] \times \text{coeficiente de } [h])$;
- (6) - $\Sigma[(\text{coeficiente de } [h])^2 \times W_i]$;
- (7) - $\Sigma(\text{coeficiente de } m \times y_i \times W_i)$;
- (8) - $\Sigma(\text{coeficiente de } [d] \times y_i \times W_i)$;
- (9) - $\Sigma(\text{coeficiente de } [h] \times y_i \times W_i)$.

A solução dessa equação matricial é dada por $b=S^{-1} R$, em que S^{-1} é o inverso da matriz de informação e, também, uma matriz de variância e covariância de b , fornecendo, em sua diagonal principal, as variâncias de cada um dos três estimadores (Oliveira, 1994).

As médias esperadas dos parentais e de seus descendentes são obtidas por meio desses estimadores. A qualidade do ajuste desse modelo genético (*goodness of fit*) é feita por meio de um teste de Qui-quadrado que adquire a seguinte forma:

$$\chi^2 (n-p) \text{ g.l.} = \sum_{i=1}^n [O_i - E_i]^2 W_i$$

Em que:

O_i = média observada da i -ésima população;

E_i = média esperada da i -ésima população;

W_i = peso da i -ésima população;

n = número de gerações;

p = números de parâmetros do modelo genético;

Quando algum parâmetro for não significativo, o mesmo é eliminado do modelo, os componentes remanescentes são novamente estimados e a qualidade do modelo, testada por um novo Qui-quadrado. Caso o teste seja não significativo ao nível de 5% de probabilidade, o modelo não pode ser rejeitado, sendo considerado suficiente para explicar a variabilidade genética encontrada. Essa sequência foi realizada para todos os conjuntos de gerações.

Quando o modelo genético mostrar-se insatisfatório pra explicar os mecanismos genéticos no controle dessas características, ou seja, apresentar um χ^2

significativo ao nível de 5% de probabilidade, é testado um novo modelo, com a presença de interação não alélica entre pares de locos, adicionando-se ao modelo genético o componente [i]. O componente [i] representa a interação dos locos em homozigose (epistasia do tipo aditivo x aditivo). Tais estimativas foram realizadas da mesma maneira pra todos os conjuntos de gerações referidos. As proporções dos componentes de m, [d], [h], [i] presentes nas gerações utilizadas para determinar o modelo são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Componentes genéticos aditivos, dominantes e epistáticos de médias dos parentais e das gerações segregantes, segundo Matter e Jinks (1982).

Geração	m	[d]	[h]	[i]
P1	1	1	0	1
P2	1	-1	0	1
F2	1	0	½	0
F3	1	0	¼	0

Componentes Genéticos e Ambientais de Variância

As gerações parentais e F₂ possuem apenas variâncias entre indivíduos dentro de geração ou simplesmente variância dentro, pois essas gerações não tem estrutura de famílias (Oliveira, 1994). As gerações F_{2,3} são compostas por famílias de progênies e as análises de variância realizadas com elas são constituídas por:

a) uma variância entre famílias que possui como quadrado médio esperado (QME) a composição $\sigma^2d + n\sigma^2e$, em que σ^2d é o componente de variância dentro de famílias, n é a média harmônica do número de indivíduos dentro das famílias e $n\sigma^2e$ é o componente de variância entre famílias; e

b) uma variância dentro de famílias, que possui como quadrado médio esperado (QMD) somente o componente σ^2d .

Essa análise é realizada devido ao fato de o método de derivação e condução das progênies não permitir a distinção das diversas variâncias dentro de grupos de famílias, que ficam incorporadas como variância entre famílias (Tabela 4).

Tabela 4 – Componentes do modelo genético simples presentes nas variâncias dos parentais e gerações segregantes F₂ e F₃, mostrando as variâncias entre famílias (QME) e as variâncias dentro de famílias (QMD).

Var./Equações	D	H	E	Varição de amostragem
VP1	0	0	1	0
VP2	0	0	1	0
V1F2	½	¼	1	0
V1F3	½	¼ ₁₆	0	(1/n*) V2F3
V2F3 = QMD	¼	¼ ₈	1	0

Os componentes de variância foram ajustados para o caráter número de fêmeas, utilizando os quatro conjuntos de gerações. Inicialmente foi testado um modelo incorporando componentes genéticos aditivos (representados por D), de dominância (H) e ambientais aditivos (E) das variâncias dessas gerações para o modelo restrito.

Para as estimativas dos componentes de variância das gerações estudadas foi adotado o método dos quadrados mínimos ponderados, segundo o modelo proposto por Hayman (1960) e relatado por Mather e Jinks (1982). Esse método foi utilizado para todos os modelos ajustados. A exemplo das médias, os cálculos foram realizados em programa Fortran (Toledo, 1991). Quando os parâmetros estimados revelaram-se não significativos, foram eliminados. Os componentes remanescentes foram reestimados e o ajuste do método foi novamente testado.

Não havendo o ajuste do modelo genético envolvendo os componentes D, H e E a essas gerações, foi adaptado outro modelo envolvendo interação genótipo micro-ambiente (Tabela 5). O termo interação genótipo x micro-ambiente citado está relacionado à interação diferenciada de cada genótipo com o ambiente ao qual foi submetido (Mather e Jinks, 1982), não havendo conotação com macro-ambientes contrastantes (anos, locais e outros). Esse modelo foi aplicado somente depois de analisado o teste de escala para detecção de interação genótipo x micro-ambiente. Nesse caso, os componentes E₁ e E₂ foram adaptados ao modelo, representando os erros do P₁ e P₂, respectivamente.

Tabela 5 – Componentes de variância genética aditiva, de dominância e de interação genótipo x micro-ambiente dos parentais e das gerações segregantes F₂ e F₃.

Geração	D	H	E1	E2
VP1	0	0	1	0
VP2	0	0	0	1
VF2	½	¼	½	½
VF3e	n/2+¼	n/16+⅛	½	½
VF3d	¼	⅛	½	½

Herdabilidade

Segundo Falconer (1981), alguns métodos podem ser utilizados para estimar a herdabilidade (h^2). Essa pode apresentar sentido restrito, referindo-se à proporção da variância total constituída pela variância genética aditiva, ou sentido amplo, referindo-se à contribuição de toda a variância herdável para a variância total. A herdabilidade com sentido restrito, que é aquele com maior interesse para programas de melhoramento, pode ainda ser ao nível de planta individual ou de média das famílias. Aqui, a herdabilidade foi estimada nos sentido restrito (h^2_r), ao nível de planta individual (h^2_p), e com base na média harmônica da família F₃ (h^2_m), a partir dos componentes de variação do conjunto de gerações, utilizando as equações:

$$h^2_r = 0,5D / (0,5D + 0,25H + E);$$

$$h^2_m = 0,5D / (0,5D + 0,25H + E/n);$$

D= variância aditiva; H= Variância de dominância; E= variância ambiental; n= média harmônica do número de indivíduos que compõem a família F₃.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da reação das plantas de soja à raça 4+ do NCS

O sucesso dos cruzamentos iniciais foi confirmado pelo marcador morfológico cor roxa de flor, que em soja, apresenta dominância completa sobre a branca.

Desta forma foram avançadas apenas plantas F₁, com flores roxas, uma vez que flores brancas eram oriundas de autofecundação.

Das 87 plantas F₂ originadas apenas 75 foi possível observar estágio reprodutivo, destas 16 apresentaram sementes com tegumento escuro (marrom ou preto) e 59 com cores claras (amarelo ou verde).

Foi testada quanto à reação a raça 4⁺ do NCS plantas provenientes do cruzamento BRQ95-799 x E99-1402. Sendo a BRQ95-799 o material suscetível e a linhagem E99-1402 derivada da PI 437654 considerada resistente a todas as raças de NCS.

Resultados da inoculação da população de *H. glycines* utilizada nos testes mostraram a quebra da resistência em quatro plantas diferenciadoras ('Pickett', 'Pecking', PI 88788 e PI 90763), além da 'Hartwig', sendo resistente apenas a PI 437654 (Tabela 6), comprovando ser uma população de NCS raça 4⁺ (Dias *et al.*, 1998).

Tabela 6 – Número médio de fêmeas (NMF), índices de fêmeas (IF) e reação de genótipos de soja à raça 4⁺ de *Heterodera glycines*.

Genótipos	NMF ¹	IF% ²	Reação ³
'Pickett'	155,00	82,59	S
'Pecking'	63,50	33,84	S
PI 88788	34,50	18,38	S
PI 90763	102,50	54,62	S
'Hartwig'	70,40	37,51	S
PI 437654	4,17	2,22	R
'Lee 74'	187,67	100,00	S

¹médias de seis repetições; ²IF (%) = (NMF na diferenciadora/NMF em 'Lee 74') x100; ³R = resistente (IF<10%), S = suscetível (IF≥10%).

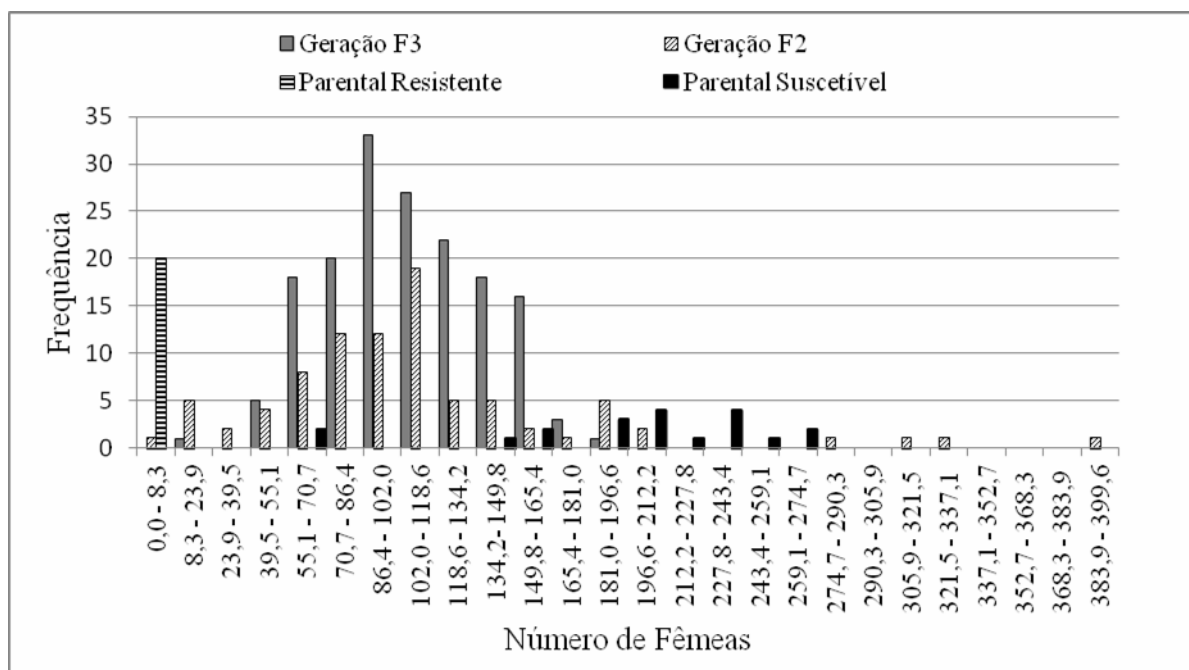
Análise genética dos dados

Os gráficos relativos à distribuição de frequências do número de fêmeas do nematoide, nas gerações obtidas a partir do cruzamento estão apresentados na Figura 1. Com base nas distribuições de frequências não foi possível o agrupamento das gerações em classes fenotípicas distintas, devido ao grande número de genes segregantes, o que não justifica a aplicação de análises qualitativas de agrupamentos, diferentemente dos dados observado por Dias (2003), na tentativa de transferir genes de resistência à raça 4⁺ da PI 437654 para a

linhagem E96-776 tipo ‘Hartwig’, onde houve o agrupamento de classes fenotípicas distintas e com padrão de segregação observado explicado por um gene com dominância parcial.

A partir de 164 famílias observadas, não houve genótipo com alto nível de resistência, comparável com o parental resistente. Apenas a família 47 (dados não apresentados), apresentou baixo número de fêmeas, entretanto superior à média do parental resistente. A baixa frequência de indivíduos (plantas) com médias de número de fêmeas baixo é um indicio de que há vários genes (3 ou mais) envolvidos na resistência ao NCS raça 4⁺. A população utilizada não foi suficiente para observar genótipos com altos níveis de resistência, isso indica a necessidade de uma população maior de plantas para obtenção de recombinantes de interesse, o que comprova a complexidade da herança de resistência a esta raça de nematoide. Dias (2003) sugere a existência de pelo menos dois genes ligados a resistência, entretanto dados deste estudo indicam a presença de pelo menos três genes envolvidos.

Figura 1 – Distribuição de frequências do número de fêmeas dos parentais e das gerações obtidas do cruzamento BRQ95-799 x E99-1402.



Parâmetros genéticos obtidos pelos componentes de médias e variância

Os graus de liberdade, médias e variâncias obtidos para o caráter número de fêmeas, nas gerações parentais F₂ e F₃ estão apresentadas na Tabela 7.

A inoculação resultou em alto número médio de fêmeas na BRQ95-799 considerada parental suscetível, o contrário do observado para o E99-1402 considerada

parental resistente (Tabela 7). O parental suscetível apresentou número médio de 196 fêmeas com números variando entre 60 e 270, esta variância é um indicativo da influencia ambiental sofrida pelo genótipo suscetível, ao contrário do que ocorre com o parental resistente onde o número médio de fêmeas é de aproximadamente 1,4 variando entre 0 e 5 fêmeas, com variância de 2,15 demonstrando a ausência de efeitos ambientais. Fica evidente a diferença quanto à reação dos parentais em relação ao parasitismo de *H. glycines*.

Tabela 7 – Graus de liberdade (g.l), médias e variâncias para o número de fêmeas em plantas de soja das gerações parentais, F₂ e F_{2:3}, inoculadas com *H. glycines*, raça 4⁺.

Geração	g.l	Média	Variância
Pai Suscetível	19	196,15 (60,0 – 270,0) ¹	3356,9
Pai resistente	19	1,40 (0,0 – 5,0)	2,15
F ₂	86	108,17 (4,0 – 396,0)	4611,4
F ₃ Entre	163	-	5745,57
F ₃ Dentro	767	-	2758,53
F ₃ Total	930	107,28 (2,0 – 356,0)	3311,2

¹variação nos números de fêmeas dos indivíduos parentais e F₂ ou das médias das famílias F_{2:3}

Os parâmetros genéticos ajustados para as médias e variâncias do número de fêmeas são mostradas na Tabela 8.

Os componentes de média revelaram a presença de efeito genético aditivo [d] significativo e de epistasia do tipo aditivo x aditivo [i], e ausência de efeitos de dominância [h]. Com relação aos componentes de variância, foram detectados efeitos aditivos significativos (D) e de interação genótipo x microambiente (E₁ e E₂). O modelo de média foi aceito a 95% de probabilidade e para o modelo de variância a 6% de probabilidade (Tabela 8).

No modelo de média, a significância do parâmetro [i] comprova a presença de pelo menos dois genes contribuindo para redução do número de fêmeas, dados que corroboram diversos estudos na literatura, onde já foi demonstrada a atuação de pelo menos 5 genes na determinação da resistência ao NCS (Matson e Williams, 1965; Rao-Arelli *et al.*, 1992; Rao-Arelli, 1994; Concibido *et al.*, 2004). Entretanto a ausência do efeito de dominância observada no modelo de médias contradiz o observado por Dias (2003), trabalhando com cruzamentos entre linhagens resistentes. Como a dominância [h] no modelo de médias é a soma algébrica dos efeitos de dominância de cada loco segregante individual, é possível que tenha ocorrido o cancelamento dos efeitos de dominância positivos e negativos

dos vários locos fazendo com que o saldo seja próximo de zero. No trabalho de Dias (2003) a dominância do loco segregante era parcial no sentido da resistência, portanto com sinal negativo, enquanto os demais alelos de resistência descritos são recessivos, portanto com dominância no sentido da suscetibilidade e com sinal positivo, produzindo o resultado observado.

Tabela 8 – Parâmetros genéticos ajustados para médias e variância do conjunto restrito de gerações, com relação ao caráter raiz quadrada do número de fêmeas.

	Modelo Média		Modelo Variância
M	9,96 ± 0,92	D	3,1 ± 0,65
[d]	6,27 ± 0,27	E1	12,55 ± 0,83
[h]	-	E2	0,27 ± 0,88
[i]	-2,40 ± 0,28	$\chi^2/g.l.$	5,58 / 2
$\chi^2/g.l.$	0,003 / 1	Probabilidade	0,06
Probabilidade	0,95		

Dados transformados $\sqrt{x+0,5}$

Herdabilidade

A herdabilidade (h^2) quantifica, na população, a proporção da variação fenotípica atribuída à causa genética. Em uma escala de 0 a 1 quanto mais próximo de 1, maior a natureza genética da variação expressa, caso contrário a variação consiste em efeitos ambientais (Cruz *et al.*, 2001).

Foi calculada a herdabilidade no sentido restrito (h^2_r), que considera apenas a variância genética aditiva (Ramalho *et al.*, 1993). Foi estimada ainda ao nível de planta (h^2_p) e de média (h^2_m) da família F_{2:3}. Estimativas de h^2 são consideradas baixas quando têm valores menores que 30%, médias quando situadas entre 30% e 60% e altas acima de 60%.

Estimativas de h^2_r ao nível de planta foram de 19,47%, indicando que a seleção de plantas individuais será pouco efetiva. A estimativa ao nível de médias de famílias foi de $h^2 = 59,19\%$ no sentido restrito, indicando maior efetividade na seleção baseado na média de família F_{2:3}.

A diferença entre a herdabilidade a nível de planta e de família é decorrente do maior controle sobre a variância ambiental, a qual é minimizada quando se trabalha com média de famílias, aumentando a herdabilidade.

CONCLUSÕES

Efeitos aditivos (predominantemente), e de epistasia do tipo aditivo x aditivo, estão envolvidos na resistência do nematoide de cisto da soja.

Não foi observado efeito de dominância neste cruzamento.

A estimativa de herdabilidade em nível de planta ($h^2 < 30\%$) indica baixa possibilidade de ganhos com seleção para resistência.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES pela concessão de bolsa de Doutorado à primeira autora. À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pela disponibilidade e apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

LITERATURA CITADA

CAVALLI, J. L. An analysis of linkage in quantitative inheritance. In: REEVE, E. C. R.; WADDINGTON, C. H. Quantitative inheritance. London: HMSO, 1952. p. 135-144.

CONCIBIDO, V. C.; DIERS, B. W.; RAO-ARELLI, P. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. *Crop Science*, v. 44, p. 1121-1131. 2004.

COSTA, J. A. Cultura da soja. Porto Alegre: Evangraf, 1996. p. 233.

CRUZ, C. D.; VIANA, J. M. S.; CARNEIRO, P. C. S. Genética volume II GBOL – Software para ensino e aprendizagem de genética. Viçosa: Editora UFV, 2001. 476p.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides em Soja: Identificação e Controle, Circular Técnica, 76, Londrina, 2010a.

DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides. In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. Soja - doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura. Londrina: Embrapa soja, 2010b.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S.; GARCIA, A.; ARIAS, C. A. A. Nematode de Cisto da Soja: Biologia e Manejo Pelo Uso da Resistência Genética. *Nematologia Brasileira*, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.

- DIAS, W. P. Genética da Resistência da Soja à Raça 4⁺ do Nematóide de Cisto, *Heterodera glycines*, Universidade Federal de Lavras – MG, Tese de Doutorado, 2003. 83p.
- DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; HIROMOTO, D. M.; KIIHL, R. A. S. Ocorrência de uma segunda população do nematóide de cisto da soja (NCS) “quebrando” a resistência da cv. Hartwig no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, I, Londrina (PR). Resumos... p.462, 1999.
- DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R. A. S.; HIROMOTO, D. M.; ABDELNOOR, R. V. Quebra da resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.33, p. 971-973. 1998.
- FALCONER, D. S. Introduction to quantitative genetics. Tradução de SILVA, M. A.; SILVA, J. C. Viçosa, MG: UFV. Imprensa Universitária, 1981. 279p.
- GOLDEN, A. M.; EPPS, J. M.; RIGGS, R. D.; DUCLOS, L. A.; FOX, J. A.; BERNARD, R. L. Terminology and identity of intra-specific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). Plant Disease, v. 54, p. 544-546. 1970.
- HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. Economic Botany, v. 23 p. 408-21, 1970.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. Biometrical genetics. 3. Ed. London: Chapman and Hall, 1982. 369p.
- MATSON, A. L.; WILLIAMS, L. F. Evidence of a fourth gene for resistance to the soybean cyst nematode. Crop Science, v. 5, p. 477. 1965.
- OLIVEIRA, M. F. Análise e previsão do potencial genético de um cruzamento de soja usando vários delineamentos em três épocas de semeadura. 1994. 114p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações no melhoramento do feijoeiro. Goiania: UFG, 1993. 271p.
- RAO-ARELLI, A. P. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* race 3 in soybean accessions. Plant Disease, v. 78, p. 898-900, 1994.
- RAO-ARELLI, A. P.; ANAND, S. C.; WRATHER, J. A. Soybean resistance to soybean cyst nematode race 3 is conditioned by an additional dominant gene. Crop Science, v. 32, p. 862-864. 1992.
- RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. Journal of Nematology, v. 20, n. 3, p. 393-395, 1988.
- SOUZA, R. F. Análise genética da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) sob infestação de percevejos. 1992. 80p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.
- TOLEDO, J. F. F. de. Programa de computador para estimar parâmetros genéticos, componentes de médias e variâncias, pelo método dos quadrados mínimos ponderados. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 26, n. 7, p. 1023-1039. 1991.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. World agricultural supply and demand estimates. WASDW-514. Janeiro, 2013. Disponível em: < <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf> > Acesso em: janeiro de 2013.

VAN DER VEEN, J. h. Test of non-allelic interaction and linkage for quantitative characters in generations derived from two diploid pure lines. *Genetics*, v. 30, n. 3, p. 201-232, 1959.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos genes estão envolvidos (três ou mais) na determinação da resistência da soja ao nematoide de cisto raça 4⁺ dificultando a obtenção de materiais comerciais a partir de cruzamentos do tipo resistente com suscetível. Cruzamentos entre genótipos com algum tipo de resistência devem aumentar a probabilidade de obtenção de novas linhagens resistentes. A predominância de efeitos gênicos aditivos mostram a importância de se reunir o maior número de genes de resistência para alcançar o mesmo nível de resistência expresso no parental fonte de resistência. A dificuldade na obtenção de um genótipo recombinante sem o loco *i* que confere cor escura ao tegumento das sementes e prejudica seu valor comercial continua sendo uma barreira para a obtenção de genótipos resistentes a essa raça pelos programas de melhoramento. O auxílio com técnicas de marcadores moleculares pode auxiliar nos programas de melhoramento, reduzindo mão-de-obra, espaço físico e tempo de obtenção de recombinantes com características genotípicas desejáveis nos cruzamentos com linhagens elite de soja.

ANEXOS

ANEXO A

Normas para submissão de artigos da Revista Nematropica

NEMATROPICA is an international scientific journal of tropical and subtropical nematology. Contributions describing nematological research in temperate regions, however, will be considered if they are of general interest. Articles on plant-parasitic, entomophilic, and free-living nematodes are equally welcome. Also, research notes and review articles will be considered. Manuscripts accepted for publication must be scientifically sound, suitable for the audience of the journal, and prepared according to the guidelines provided below. Manuscripts must not have been published previously or simultaneously submitted elsewhere. A checklist is provided to assist in manuscript preparation. **Please complete the Author Checklist and submit it with your manuscript.** The names of two colleagues who have reviewed the manuscript must be included on the checklist. Manuscripts should be written in English, Spanish, French, or Portuguese, and submitted to the Editor-in-Chief. All articles in Nematropica include abstracts in English and Spanish (or the language in which the article was written). Editors will translate abstracts for authors if necessary. Manuscripts may be submitted electronically or by mail. Authors of accepted articles will be asked to complete an order form for reprints and to accept page charges. Portions of articles in Nematropica may be reprinted without permission, provided that Nematropica is cited as the original source.

Submission Procedure

The Editor-in-Chief of Nematropica serves a three-year term. Please check the inside front cover of the most recent issue for the name and address of the current Editor-in-Chief. Submissions for 2005-2008 should be sent to the address below.

E-Mail Submissions

Submissions should be e-mailed as text and image file attachments to: Nancy Kokalis-Burelle
Editor-in-Chief
Nematropica
U.S. Horticultural Research Lab

2001 S. Rock Rd.
Ft. Pierce, FL 34945, USA
nburelle@ushrl.ars.usda.gov

Accompanying E-mail message should include the following information:

- Title of article.
- Type of article (Research Report, Research Note, Review Article, Symposium Proceeding, On- Line-Only submission).
- Name, affiliation, email and mailing addresses (including postal code), telephone and fax numbers of corresponding author.
- List of attached documents.
- A statement that all authors have reviewed the manuscript and approved its submission to Nematropica.
- Completed Author's Checklist for submitted manuscripts (see below).

Hard Copy Submissions

Submissions by mail should include a letter containing the information listed above for email submission, an Author's Checklist, one original print-out of the manuscript text and an electronic version of all files needed to complete the manuscript on either 1.4MB diskettes or CD-ROM. All files should be mailed to the Editor-in-Chief at the address above.

Manuscript Preparation

Microsoft Word for Windows is the preferred file format for text. However, Rich Text Format (.rtf), Word for Macintosh, and WordPerfect for Windows formats are acceptable.

Manuscript pages should be numbered in the upper right corner and lines of text on each page should be numbered.

Each table should be placed on a separate page following the references. Prepare tables in the table format with one data field per cell. Captions for figures should be provided in

a list at the end of the text, following the references and tables. Double-space the entire document (including tables), and use a 12 point font. Do not right justify and do not hyphenate at the ends of lines. Scientific binomials and other words, symbols, or punctuation marks that are italicized in *Nematropica* should be either italicized or underlined in the manuscript. **The two styles are not mixed.** Bold type is only used in the Title. A running head of no more than 60 characters is included under the author affiliations.

Illustration files should not be merged, imbedded, or linked to the text file, but kept completely separate; figure numbers placed within the body of the text will be used to determine the placement of illustrations. Appropriate formats for figures are JPEG, GIF, TIFF, or Photoshop (PSD) files. Manuscripts that do not conform to *Nematropica* format may be returned to the author to correct serious format difficulties before the review process.

Review Process

All manuscripts submitted to *Nematropica* are subjected to peer-review. Upon submission, the manuscript to be reviewed is distributed to 3 qualified reviewers. Authors will receive an acknowledgement email or letter with a reference number for the manuscript. Authors should refer to this number in all correspondence with the Editor. Reviewers have 2 weeks to review the submission and to recommend to the Editor-in-Chief acceptance, acceptance with modification, or rejection.

Authors who wish to publish in *Nematropica* must be willing to act on the recommendations of reviewers and editors. Suggested revisions that substantially change the author's intent or appear to be in error may be rebutted with a documented explanation in an e-mail or cover letter to the Editor-in-Chief when the revised manuscript is returned.

If the manuscript is accepted with revision, the Editor-in-Chief returns the manuscript to the corresponding author. Authors should then make any suggested changes in the article and return it to the Editor-in-Chief by email or on diskette, **fully formatted** with italics, subscripts, etc. within 6 weeks. The author must also return marked manuscripts

and reviewer's comments. In a cover letter or email message, the author should explain how criticisms were dealt with and why criticisms may not have been accepted. The revised article will be reviewed by the Editor-in-Chief and, if judged acceptable for publication, will be checked for formatting and final submission to the printer. Unless authors have permission from the Editor-in-Chief for a brief delay in revision, a manuscript requiring more than 6 weeks for revision should be sent to the Editor-in-Chief as a new submission. Authors will receive an acceptance letter and will be asked to complete an order form for reprints, and to accept page charges at the time that galley proofs are sent.

It is necessary to bill contributors to *Nematropica* for page charges to partially pay printing expenses. Printing of text and figures for full-length papers and research notes up to six printed pages costs \$115.00 U.S.; for papers longer than six pages, each additional page or less of text costs \$22.00. Photographs and graphs are an additional \$24.00, \$16.00, and \$12.00, respectively, for full-, half-, and quarter-page illustrations. Composition charges for printing tables are an additional \$40.00, \$20.00, and \$10.00, respectively, for tables that require a full, half, or quarter page. Online-only articles (see below) are published without page charges.

Types of Articles

Research Reports

Research Reports are full length articles. They should describe work that represents a significant advance in the understanding of a particular issue and that leads to practical solutions to existing problems. The work described must not have been published before (except in the form of an abstract or as part of a published lecture, review, or thesis). Data reported in *Nematropica* must be from scientifically valid, replicated plots or observations and subjected to appropriate statistical analysis.

Research Notes

Research Notes are short articles that report new findings relevant to readers of *Nematropica*. Notes are shorter than a Research Report and include an Abstract and

Resumen but do not include section headings (Materials and Methods, Results, and Discussion). Abstracts for Notes are limited to 200 words. Notes provide an outlet for science-based findings that are important to crop advisers, growers, diagnosticians, researchers, regulatory officials, and other practitioners. Notes are intended to stand alone and should not include preliminary reports of work that will later be presented in full-length papers. Notes are not abstracts and must not duplicate abstracts published or submitted elsewhere.

Review Articles

Reviews are articles that summarize and analyze a topic of importance to tropical nematology for those who are not specialists in the topic area of the review. Readers should be able to learn what is known and what questions remain unresolved about the subject. Reviews should include an introduction to the problem or issue including why the topic is of interest and a discussion of the issues or new information as it relates to tropical nematology. The body of the review may be subdivided using headings that describe the major ideas being discussed. Reviews should cite suitable references to document statements that are not considered general knowledge and may also provide a list of printed and/or electronic resources for further information.

Symposium Proceedings

Proceedings from a Symposium presented at an annual ONTA meeting may be published in *Nematropica*. However, it is important that one member of the symposium should act as overall organizer and ensure that: (1) every speaker agrees to submit a manuscript within 3 months of the symposium; (2) revisions are made in a timely manner following peer-review; (3) the organizer prepares an introduction to the symposium that sets the context for readers so they understand why the symposium is important; and (4) the organizer will be responsible for enforcing agreed-upon deadlines.

On-Line Only Publications

Nematropica allows the publication of Research Articles, Notes, Reviews, and Symposium Proceedings as available on-line only. These submissions are refereed and treated exactly like the other categories of submissions outlined above. This option lists the title of your paper in the table of contents for the issue both in print and on-line, but the article is available only on-line. No page charges are associated with on-line only publications. All other aspects of the preparation of manuscripts and the review process are identical to those for articles in print.

Manuscript Formatting Guide:

Research Reports should contain the following sections and appear as illustrated below. See the description of different types of publications provided above for formatting variation for Notes and Reviews articles.

ON THE FIRST PAGE OF THE MANUSCRIPT, THE TITLE SHOULD APPEAR SINGLE SPACED IN ALL CAPITAL, BOLD LETTERS AT THE TOP OF THE PAGE. *SCIENTIFIC BINOMIALS SHOULD BE ITALICIZED.*

Name(s) of the author(s) should appear under the title, centered on the page, with a designation *for the corresponding author.

Institutional addresses for all authors should be left justified. The corresponding author should include additional information including postal code, telephone and fax numbers, and an e-mail address.

Running Head: should be 60 characters or less and follow author affiliations

ABSTRACT

Author1, A. A., B. B. Author2, and C. C. Author3. 2006. Title of Manuscript in 12 pt. font double spaced. Nematropica 36:00-00.

The abstract should provide a summary of the main points of the article and why the research results should be viewed as important.

Key Words: Key words should follow the abstract and be in alphabetical order.

RESUMEN

Author1, A. A., B. B. Author2, and C. C. Author3. 2006. Title of Manuscript in 12 pt. font double spaced. Nematropica 36:00-00.

Abstract written in English will be translated into Spanish by the Editors if necessary. The Editors will also translate abstracts into English for manuscripts written in Spanish, French, or Portuguese if necessary.

INTRODUCTION

Briefly describe the problem and the reasons for conducting the research. Authors should establish the context of their research at the beginning of the article and then present objectives of the research.

MATERIALS AND METHODS

Materials and methods should describe the research methods used in enough detail that readers could duplicate the experiments or directly find the specific methods necessary for duplicating experiments in the referenced literature. Experimental designs should be fully described and the statistical analysis procedures used should be specified.

Subheadings for Materials and Methods, Results, and Discussion sections should be in upper and lower case letters and italicized.

RESULTS

Experimental results should be clearly described.

DISCUSSION

The discussion should relate work presented in the manuscript to other published material, and address the strengths and weaknesses of the presented research. Major conclusions should be supported by the results from experiments.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors should use this space to acknowledge people making significant contribution to the re- search presented, funding sources, etc.

LITERATURE CITED

Please note that beginning with Nematropica issue 36(1), author's names no longer appear in all capital letters.

Anonymous. 2003. 2003 Louisiana Agricultural Statistics. Louisiana Agricultural Statistics Service (2001-2003). Online.<http://www.nass.usda.gov/la/annbullmain.htm>.

Barker, K. R., J. F. Townshend, G. W. Bird, I. J. Thomason, and D. W. Dickson. 1986. Determining nematode population responses to control agents. Pp. 283-296 in K. D. Hickey, ed. Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society Press.

Davis, R. F., P. Bertrand, J. D. Gay, R. E. Baird, G. B. Padgett, E. A. Brown, F. F. Hendrix, and J. A. Baldson. 1996. Guide for Interpreting Nematode Assay Results. University of Georgia, Cooperative Extension Service Circ. 834, Athens, GA.

Jaffee, B. A. 2002. Soil cages for studying how organic amendments affect nematode-trapping fungi. *Applied Soil Ecology* 21:1-9.

Koenig, S. R., C. Overstreet, J. W. Noling, P. A. Donald, J. O. Becker, and B. A. Fortnum. 1999. Survey of crop losses in response to phytoparasitic nematodes in the United States for 1994. Supplement to the *Journal of Nematology* 31:587-618.

Orion, D., and G. Kritzman. 1991. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. *Revue de Nématologie* 14:481-483.

TABLES

Each table should be placed on a separate page following the references. They should be self-explanatory and numbered with Arabic numbers (i.e. 1, 2, 3). The title of the table should be placed at the top and notes at the bottom. Notes should be designated with lower case superscript letters (X, Y, Z, etc) with the last note of a table having the Zsuperscript. Prepare tables in the table format with one data field per cell.

Table 1. Effect of soil treatment on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) gall rating at 35 and 70 DAP^x in all trials.

Treatment	Gall rate ^y					
	Location 1		Location 2		Location 3	
	35 DAP	70 DAP	35 DAP	70 DAP	35 DAP	70 DAP
Untreated	0.75 ab ^z	3.17 b	2.56 a	7.03 a	1.97 a	3.81 a
Chemical 1	0.36 ab	3.53 b	0.00 c	3.64 b	0.00 b	0.00 b
Chemical 2	1.40 a	5.28 a	1.34 ab	7.30 a	1.67 a	3.08 a
Chemical 3	0.27 b	4.23 ab	0.83 bc	7.95 a	1.87 a	3.43 a
LSD (0.05)	1.08	1.74	1.29	1.40	1.21	1.55

^xDays after planting.

^yGall rate is a 1 to 10 scale with 1 = no galls and 10 = severe galling (Zeck, 1971).

^zMeans with the same letter are not significantly different.

FIGURES

Figures should be provided as separate files. Captions for figures should be provided in a list at the end of the text, following the tables.

Abbreviations and Symbols Abreviaturas y Símbolos

active ingredient	a.i.	i.a.	ingrediente activo
and others	<i>et al.</i>	<i>et al.</i>	y otros
Centimeter	cm	cm	centímetro
cubic centimeter	cm ³	cm ³	centímetro cúbico
Cultivar	cv.	cv.	cultivar
degree centigrade	°C	°C	grado centígrado
Diameter	diam	diam	diámetro
emulsifiable concentrate	EC	CE	concentrado emulsificable
Gram	g	g	gramo
Gravity	G	G	gravedad
Hectare	ha	ha	hectárea
Hour	hr	hr	hora

hydrogen ion concentration	pH	pH	concentración de iones H ⁺
liter	L	L	litro
median lethal dose meter	LD50	DL50	dosis letal media metro
meters above sea level	m.s.l.	m.s.n.m.	metros sobre el nivel del mar
Microgram	µg	µg	microgramo
Micrometer	µm	µm	micrómetro
Milliequivalent	meq	me	miliequivalente
Milligram	mg	mg	miligramo
Milliliter	ml	ml	mililitro
Minute	min	min	minuto
Molar	M	M	molar
Normal	N	N	normal
parts per million	ppm	ppm	partes por millón
Percent	%	%	por ciento
relative humidity	RH	HR	humedad relativa
Second	s	s	segundo
standard deviation	SD	DE	desviación estándar
standard error	SE	EE	error estándar
ton (1000 kg)	T	T	tonelada (1000 kg)

Checklist for Manuscripts (*Include with Submitted Manuscript*)

- Manuscript has not been published previously or simultaneously submitted elsewhere.
- Manuscript has been critically reviewed by 2 colleagues and their names are provided.
- Formatted as Microsoft Word for Windows or other acceptable format
- Manuscript are formatted and submitted for 8.5 × 11 inch (A4) paper.\
- All page margins are 1 set at inch (left, right, top and bottom).
- Manuscript is double-spaced (including tables), and 12 point font is used.
- Text is left hand justified **only**.
- Pages are marked with page numbers in the upper right corner, and line numbers restart on each page.
- Authors are listed under the title with full names and affiliation including department, institution, or company, and location.

[] Corresponding author is designated and an email address and complete mailing address (**including postal code, fax and telephone number**) is included for the corresponding author.

[] A running head of no more than 60 characters is included under the author affiliations.

[] Scientific binomials and other words, symbols that are italicized in *Nematropica* are either italicized or underlined in the manuscript. **The two styles are not mixed.**

[] Tables are cited in numeric order in the body of the manuscript; and any nonstandard abbreviations are explained in table footnotes.

[] Captions for figures are listed following “Literature Cited” and tables.

[] References are cited in the text by first author’s surname and year of publication.

[] All references are listed in alphabetical order by authors’ surnames and are in the style appropriate for *Nematropica* described in the guide to authors.

[] References are double-checked for the accuracy of each citation and that each is cited in the text.

All references cited in the text should also be listed in the “Literature Cited.”