

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

GUSTAVO TRISTÃO

**ESTUDO DA HERANÇA DE RESISTÊNCIA DO ACESSO LB005 DE *Lablab*
purpureus A *Phakopsora pachyrhizi***

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2016

GUSTAVO TRISTÃO

**ESTUDO DA HERANÇA DE RESISTÊNCIA DO ACESSO LB005 DE *Lablab*
purpureus A *Phakopsora pachyrhizi***

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Viçosa como parte das
exigências para a obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo. Modalidade: trabalho científico.**

Orientador: Sérgio Hermínio Brommonschenkel

Coorientadores: Flávio dos Santos Lopes

Thiago Andrade Maia

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2016

GUSTAVO TRISTÃO

**ESTUDO DA HERANÇA DE RESISTÊNCIA DO ACESSO LB005 DE *Lablab*
purpureus A *Phakopsora pachyrhizi***

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Viçosa como parte das
exigências para a obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo. Modalidade: trabalho científico.**

APROVADO: 30 de Novembro de 2016

Prof. Sérgio Hermínio Brommonschenkel
(orientador)
(UFV)

RESUMO

A ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) é um dos principais limitantes produtivos na cultura da soja. O controle da doença exige a integração de diversas técnicas de manejo a fim de minimizar seus danos e perdas. A utilização de variedades resistentes constitui uma das principais opções de controle, visto que reduz os custos de produção, facilita o manejo da doença e, além disso, diminui o risco de possíveis danos ambientais. Para o controle do patógeno, são limitadas as opções de fontes de resistência no germoplasma de soja, tendo como alternativa promissora para tal busca, a análise de genótipos de outras espécies hospedeiras do fungo. Assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar o padrão da herança de resistência do acesso LB005 de *Lablab purpureus* ao fungo *P. pachyrhizi*. Foram obtidas três subpopulações (CXLB010-S1, S2 e S4) a partir da autofecundação de plantas F1 oriundas do cruzamento entre LB005 e LB010, genótipos resistente e suscetível à ferrugem, respectivamente. As plantas constituintes das três subpopulações foram submetidas à inoculação com o isolado PPUFV02 e avaliadas após 15 dias quanto ao fenótipo apresentado. Como auxílio, foi utilizada uma escala de notas de severidade de 0 a 4, onde a nota 0 representa plantas sem sintomas visíveis e a nota 4, plantas com maior índice de sintomas. Plantas com notas de 0 a 2 foram consideradas resistentes e as que apresentaram notas 3 ou 4, suscetíveis. Em todas as subpopulações, as proporções de segregação dos fenótipos resistente e suscetível, se ajustaram à razão esperada de três plantas resistentes para uma planta suscetível. Este resultado indica que a resistência do acesso LB005 ao fungo é do tipo monogênica, com relação intra-alélica de dominância completa. Tal constatação possibilita o estudo desse gene em programas de melhoramento que visem à criação de cultivares de soja resistentes à ferrugem asiática.

Palavras-chave: *Phakopsora pachyrhizi*, soja, lab lab, resistência, ferrugem .

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 A Cultura da Soja	6
1.1.1 Evolução no Brasil	6
1.1.2 Produção e Importância econômica	6
1.1.3 Doenças presente na Soja	7
1.2 Ferrugem Asiática	8
1.2.1 Etiologia e distribuição mundial.....	8
1.2.2 Epidemiologia e ciclo de vida	9
1.2.3 Sintomas	10
1.2.4 Medidas de Controle	11
1.2.5 Controle Genético	12
2 MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 Materiais genéticos e vegetais	14
2.2 Inoculação e avaliação da resistência da população de plantas segregantes	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4 CONCLUSÃO	18
5 REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

1.1 A Cultura da Soja

1.1.1 Evolução no Brasil

A soja cultivada é uma planta pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae), Subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill (SEDYAMA et al., 2009).

O exato local do centro de origem da soja gera divergências entre diferentes autores, porém todos indicam o leste asiático como sendo a região mais provável. No Brasil, a introdução da cultura foi realizada em 1882, no estado da Bahia, em caráter experimental (BONATO & BONATO, 1987). Somente a partir da década de 60 a cultura ganhou expressiva importância no cenário nacional, principalmente em lavouras cultivadas na região sul, onde os cultivares disponíveis tiveram melhor adaptação, em grande parte devido a semelhança climática com as regiões tradicionalmente produtivas no mundo (PRIOLLI et al., 2004).

As décadas de 80 e 90 marcaram a expansão da cultura para as regiões tropicais do Brasil. Em 1970, apenas 2% da produção era derivada dessa região e no final de 1990 superou a marca de 40%. Dentre os fatores que contribuíram para tal crescimento, Dall'agnol (2002) lista: a boa infraestrutura regional, incentivos fiscais oferecidos pelo governo, topografia, condições climáticas favoráveis e, principalmente, a um conjunto de tecnologias desenvolvidas por programas de melhoramento genético brasileiros. Essas tecnologias permitiram ao Brasil ser o único país do mundo a produzir soja em grande escala em regiões tropicais, tornando-se o segundo maior produtor do grão (BEZERRA et al., 2015).

1.1.2 Produção e Importância econômica

A soja figura mundialmente como a principal oleaginosa em termos de produção e consumo, justificada pelo fato de ser utilizada tanto para consumo animal, através do farelo de soja, quanto para o consumo humano, através da utilização do óleo. O óleo extraído do grão é ainda utilizado na fabricação de diversos produtos, como biodiesel, desinfetantes, lubrificantes entre outros. Em termos econômicos a cadeia produtiva de soja é caracterizada por ser um sistema que abrange desde a produção voltada para a exportação do produto bruto,

até o processamento pela indústria esmagadora, que beneficia soja em farelo ou óleo para a exportação ou consumo interno (SILVA et al., 2010; BEZERRA et al., 2015).

Os principais países produtores de soja são Estados Unidos, Brasil e Argentina, correspondendo ao primeiro, segundo e terceiro maiores produtores respectivamente. Variações na produção desses países afetam todo complexo produtivo da soja em nível global, já que os três países juntos são responsáveis por cerca de 80% de toda produção (USDA, 2016).

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor de soja, tendo uma área plantada de 33,23 milhões de hectares e uma produção de 102,11 milhões de toneladas na safra 15/16. Além disso o país ocupa o posto de maior exportador de soja, chegando a marca de 54,32 milhões de toneladas exportadas no ano de 2015 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2016).

Os números da cadeia produtiva da soja associado a grande importância de utilização do grão na alimentação humana/animal e suas aplicações industriais, refletem o elevado valor econômico dessa atividade para o país. Entretanto, além desse aspecto, a quantidade de empregos gerados de forma direta ou indireta no complexo agroindustrial da soja gira em torno de 5 milhões, demonstrando também a importância social desse setor (ROESSING e LAZZAROTTO, 2004; BEZERRA et al., 2015).

1.1.3 Doenças presente na Soja

Existem alguns fatores que limitam o aumento da produção de soja, e dentre esses se destaca as doenças. As perdas geradas por doenças são estimadas entre 15 a 20 % da produção, visto que existem doenças que podem acarretar dano de até 100%. No mundo já foram identificadas em torno de 100 doenças que incidem na soja, destas, cerca de quarenta, de origem biótica, foram relatadas no Brasil. Devido ao risco de introdução de patógenos quarentenários, a constante expansão da soja para novas áreas e também pela intensa adoção da monocultura como sistema de cultivo, o número de doenças tende a aumentar (HENNING, 2009; EMBRAPA, 2011; MATSUO et al., 2015).

A importância de cada doença é variável de acordo com as condições climáticas de cada safra e de região para região, assim como depende também do estágio de desenvolvimento da cultura, já que determinadas doenças só ocorrem em fases específicas (HENNING, 2009; MATSUO et al., 2015). Segundo a EMBRAPA (2013), as doenças mais comuns na cultura da soja são: as ferrugens asiática e americana; manchas púrpura, parda, alvo e olho de rã; oídio;

mela da soja; cancro da haste; antracnose; seca da haste e vagem; podridão parda da haste; podridão de *Phytophthora*; mofo branco; podridão de carvão; crestamento bacteriano; mosaico comum da soja; necrose da haste, além das doenças causadas por nematóides.

A ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é considerada a mais importante doença para a cultura da soja, principalmente devido ao seu potencial de danos e ao elevado valor gasto no controle químico dessa doença. Segundo o CONSORCIO ANTIFERRUGEM, gira em torno de 2 bilhões de dólares por safra.

1.2 Ferrugem Asiática

1.2.1 Etiologia e distribuição mundial

Dois espécies fungicas, do gênero *Phakopsora*, causam a doença conhecida como ferrugem, a *P. meibomiae* (Arthur) Arthur, agente etiológico da ferrugem americana e a *P. pachyrhizi* Sydow & Syd, que é causadora da ferrugem asiática. A ferrugem americana é originária do continente americano e infecta diversas leguminosas em uma extensão que vai, desde Porto Rico até o Sul do Estado do Paraná. Dificilmente causa perdas excessivas e ocorre em temperaturas amenas, com média abaixo de 25°C e umidade relativa elevada. Já a ferrugem asiática, nativa do leste asiático, causa danos extremamente elevados e ocorre em locais com médias de temperaturas mais altas e que possuem período de molhamento foliar superior a 10 horas, abrangendo assim, a maioria dos países produtores de soja (YORINORI et al., 2004).

Além da soja, o fungo *P. pachyrhizi* possui como hospedeiros alternativos aproximadamente 95 espécies, em 42 gêneros da família Fabaceae, dentre eles se destacam variedades de leguminosas de intenso uso, como o feijão comum, Lab-lab, Caupi, Guandu, Fava, dentre outros (BENCHIMOL et al., 2005; RUPE E SCONYERS, 2008).

Desde os primeiros relatos de identificação, em 1899 na China e em 1902 no Japão, até o final do século passado, a ferrugem asiática permaneceu restrita a locais do continente asiático e à Austrália. Foi encontrada na África em 1997 e sua detecção no continente sul americano se deu em março de 2001 no Paraguai. Logo nos meses seguintes foi relatada sua ampla disseminação pelo Paraguai e divulgada sua identificação no Brasil, no estado do Paraná. Na safra de 2001/2002 já havia sido constatada a presença de ferrugem nas principais regiões produtoras, desde o Rio Grande do Sul, até o Mato Grosso. No ano agrícola seguinte,

a ferrugem foi relatada em praticamente todos locais produtores de soja no Brasil (YORINORI et al., 2004; RUPE E SCONYERS, 2008; EMBRAPA, 2014).

Após detectada no Paraguai e Brasil, a ferrugem teve rápida disseminação por diversos países sul americanos. Os Estados Unidos permaneceram até o ano de 2004 como o único país produtor onde não havia relatos da ferrugem, porém, nesta data, a USDA informou a identificação da doença no país (BAUMER, 2005).

1.2.2 Epidemiologia e ciclo de vida

Diferente da maioria das ferrugens, que formam mais de cinco estágios de esporos, o fungo *P. Pachyrhizi* produz apenas dois: uredósporos e teliósporos. Na ferrugem asiática, a forma repetitiva é a uredial, assim uredósporos podem infectar o mesmo hospedeiro dentro de uma mesma estação de cultivo. Teliósporos são produzidos em lesões mais antigas, entretanto não germinam nas condições naturais (RUPE E SCONYERS, 2008).

O fungo *P. pachyrhizi* é um patógeno biotrófico, dependendo assim da presença de plantas hospedeiras vivas para sobreviver e multiplicar, com isso a fonte de inóculo (uredospóros) para início de novas epidemias é formada a partir de plantas de soja de crescimento voluntário e hospedeiros alternativos. Após a dispersão dos uredósporos através do vento e sua deposição na superfície de um hospedeiro suscetível, a infecção e desenvolvimento do patógeno é extremamente dependente das condições ambientais. De forma geral, a infecção acontece quando as folhas estão úmidas e a temperatura ambiente se apresenta entre 8° e 28°C, sendo ótimo de 16° C a 28°C e a existência de um período de molhamento foliar de ao menos 6 horas (YORINORI, 2004; RUPE E SCONYERS, 2008).

A infecção tem início quando os uredósporos germinam e produzem um tubo germinativo que dá origem em sua extremidade ao apressório, que é responsável pela penetração, seja ela diretamente através da epiderme foliar, ou através de estômatos. Após a penetração, ocorre o crescimento intracelular e a formação dos haustórios. Aproximadamente 8 dias após o início da germinação, é possível visualizar as urédias, principalmente na face abaxial das folhas, e por fim a liberação dos uredósporos (NOGUEIRA, 2007).

1.2.3 Sintomas

Os sintomas da ferrugem se iniciam pelo terço inferior da planta de soja, como pequenas pontuações, cerca de 1 mm de diâmetro, mais escuras do que o tecido sadio, com uma coloração esverdeada a cinza-esverdeada. Como o fungo possui hábito biotrófico, em cultivares suscetíveis, as células infectadas pelo patógeno morrem somente após um período de tempo que permita a ocorrência de intensa esporulação. Essa característica faz com que as lesões sejam de difícil visualização logo no início da infecção. À medida que ocorre a morte dos tecidos infectados, as pontuações aumentam de tamanho, passando a manchas com 1 a 4 mm de diâmetro e adquirem coloração castanho-avermelhada (EMBRAPA, 2014).

Com o desenvolvimento da doença, nos locais das manchas (principalmente na face abaxial), observam-se minúsculas protuberâncias semelhantes a uma ferida, correspondendo a formação de frutificação do fungo, as urédias. Posteriormente, as protuberâncias adquirem coloração castanha, abrindo um poro em sua superfície, de onde são expelidos os uredósporos, que inicialmente possuem coloração cristalina e depois tornam-se bege (YORINORI et al., 2004).

Em consequência do progresso da esporulação, são formadas lesões ao redor das urédias iniciais. As lesões podem adquirir coloração castanhas (lesões do tipo TAN) ou marrom-avermelhadas (lesões do tipo RB). As lesões do tipo TAN, apresentam elevado número de urédias que produzem um grande número de uredósporos. Já lesões do tipo RB, possuem poucas urédias produzindo um pequeno número de esporos, mostrando serem características de plantas com resistência moderada em relação à doença (EMBRAPA, 2014; YORINORI et al., 2004; RUPE E SCONYERS, 2008).

Com o avanço das lesões nos folíolos, as áreas infectadas começam a amarelar, levando a queda dos mesmos. Quanto mais cedo ocorrer a ferrugem, maior será o índice de desfolha, acarretando em um menor tamanho dos grãos e maiores perdas na produtividade. A ferrugem inicia-se nas folhas mais baixas do dossel, porém, progride rapidamente para folhas mais alta, levando em casos extremos a plantas doentes completamente desfolhadas (RUPE E SCONYERS, 2008; YORINORI et al., 2004).

1.2.4 Medidas de Controle

A ferrugem asiática da soja exige a integração de diversas técnicas, visando um adequado controle e minimização de perdas de rendimento. Dentre as técnicas se destaca: uso de variedades precoces, semeio nas épocas recomendadas, evitar cultivos adensados, controle químico, uso de variedades resistentes e cumprimento do vazio sanitário (YORINORI & LAZZAROTTO, 2004; GRIGOLLI, 2015; CONSORCIO ANTIFERRUGEM, 2016).

O uso de variedades de ciclo precoce e o plantio na janela recomendada têm como finalidade escapar do período de maior presença de inoculo fúngico na área, já que em semeaduras tardias a pressão do fungo tende a ser maior devido ao fato de multiplicação do mesmo em cultivos anteriores (YORINORI & LAZZAROTTO, 2004; CONSORCIO ANTIFERRUGEM, 2016).

Cultivos instalados com densidade elevada dificultam a penetração de caldas de fungicidas nos terços médio e inferior das plantas, justamente os primeiros a serem infectados pelo fungo. Assim recomenda-se adoção de correta densidade de plantio para garantir melhor eficiência de aplicação (YORINORI & LAZZAROTTO, 2004).

Vistorias da lavoura e da região devem ser realizadas desde o início do desenvolvimento da cultura, possibilitando o controle químico com fungicidas logo após os primeiros sintomas ou de forma preventiva, sendo essa uma decisão técnica a ser tomada levando-se em consideração principalmente as condições para instalação da doença, como a presença do fungo na região, a idade das plantas, as condições climáticas, a logística de aplicação e a presença de outras doenças. A necessidade de repetições nas aplicações assim como sua época, irá variar de acordo com o estágio de desenvolvimento em que a doença for identificada, aliado ao poder residual do produto utilizado (CONSORCIO ANTIFERRUGEM, 2016).

O vazio sanitário consiste em um período de ausência de plantas vivas, seja cultivadas ou voluntárias, nas áreas de cultivo de soja. Nesse período, em cumprimento a normativas estaduais, todas as espécies hospedeiras do fungo devem ser eliminadas. Devido à dependência do fungo de plantas vivas para sua sobrevivência entre os cultivos de soja, o vazio sanitário tem como efeito a diminuição do inóculo inicial, minimizando ou retardando o aparecimento da doença nas lavouras comerciais de soja (BAUMGRATZ, 2015).

O uso de variedades resistentes é uma ferramenta útil na redução das perdas geradas pela ferrugem, sendo uma opção de manejo fácil de ser adotada, e minimizadora de possíveis impactos ambientais. Porém, devido a grande variabilidade genética de *P. pachyrhizi*, a

supressão da resistência, quando a variedade possui poucos genes de resistência se dá de forma rápida (ROSA, 2016).

1.2.5 Controle Genético

A transferência de genes de resistência através de programas de melhoramento, permite a obtenção de cultivares resistentes, sendo sua aplicação um método prático e eficiente para o controle da ferrugem da soja. A resistência específica à *P. pachyrhizi* é conhecida, e oito loci já foram devidamente mapeados, *Rpp1* (HYTEN et al. 2007), *Rpp2* (SILVA et al. 2008; YU et al. 2015), *Rpp3* (HYTEN et al. 2009), *Rpp4* (SILVA et al. 2008), *Rpp5* (BATISTA, 2008), *Rpp6* (LI et al. 2012), *Rpp1-b* (KIM et al. 2012) e *Rpp?* (Hyuuga) (MONTEROS et al. 2006). Alguns desses loci identificados foram utilizados por programas de melhoramento com certo sucesso, porém devido à natureza de transferência (de forma isolada) e a diversidade genética dos isolados de ferrugem presente nas lavouras, a supressão dessa resistência pelo patógeno se deu em curto espaço de tempo (ROSA, 2016).

Os genótipos de soja apresentam três fenótipos distintos em resposta à infecção por *P. pachyrhizi*. Existe a resposta classificada como imunidade ou resistência completa, onde não se observa nenhum sinal de infecção do fungo, nem mesmo presença de suas estruturas reprodutivas. A segunda resposta, é caracterizada pelas lesões RB, associadas à uma reação de resistência incompleta, sendo verificado a presença, em pequeno número, de urédias, produtoras de esporos nas lesões. E por último, a resposta associado a suscetibilidade, onde é constatado, após a infecção do fungo, lesões do tipo TAN, com presença de elevado número de urédias esporulantes (MILES et al., 2011).

A efetividade da resistência específica, muitas vezes é de curta duração, principalmente quando associada a patógenos com elevada variabilidade genética, caso de *P. pachyrhizi*. Cultivares elaboradas com somente um único gene de resistência tendem a ter sua resistência suplantada rapidamente. Para contornar tal situação, a elaboração de genótipos melhorados com genes de resistência piramidados deve ser preferida, por expressar um maior nível de resistência, gerando efetividade nas cultivares assim produzida (YORINORI, 2004; YAMANAKA et al., 2012).

Devido ao limitado número de genes de resistência existentes no germoplasma de soja, atualmente uma alternativa para tal questão, é a busca dos mesmos em genótipos de hospedeiros alternativos da cultura. Nogueira (2007), analisando a resistência de espécies hospedeiras a *P. pachyrhizi*, verificou a existência de genótipos de feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*) e feijão Guandu (*Cajanus cajan*) totalmente imunes ao fungo.

A transferência genica interespecífica ou mesmo intergenérica é possível, com a restrição de que as espécies e gêneros em questão sejam taxonomicamente relacionados (TAI et al., 1999). Kawashima et al. (2016) identificaram e clonaram um gene de resistência, CcRpp1, a partir de *Cajanus cajan*, capaz de conferir resistência quando expresso em plantas de soja, exemplificando o potencial das espécies hospedeiras como fonte de genes para criação de cultivares de soja resistente à *P. pachyrhizi*.

Lablab purpureus (L) sweet, é uma leguminosa de ciclo anual ou bianual. Originária da África, é encontrada principalmente em regiões tropicais. É característico dessa planta inflorescência de ráceros axilares pedunculados, com flores de cor branca, rosácea ou violeta. No Brasil é utilizada principalmente como adubo verde e forrageira em dieta animal, devido ao fato de produzir grande quantidade de massa verde e de sua ação de fixação biológica de nitrogênio (FAO, 2016).

Mesmo o Lablab sendo considerada uma planta rústica, com resistência a diversas doenças e pragas, é uma espécie hospedeira ao fungo *P. pachyrhizi*, sendo observado dentro da espécie, a existência de variedades resistentes e susceptíveis (VAKILI, 1979).

Badel et al. (2013; resultados não publicados) avaliaram a reação de 26 acessos de *L. purpureus* ao isolado monopustular PPUFV02 de *P. pachyrhizi* em casa de vegetação. As plantas desenvolveram sintomas caracterizados pela ocorrência de lesões necróticas, muitas vezes acompanhadas do amarelecimento das folhas inoculadas. Os acessos LB005 e LB001 apresentaram o fenótipo de imunidade, enquanto que o acesso LB010 apresentou maior severidade de sintomas em todas as plantas inoculadas. A existência desses fenótipos contrastantes de resistência e susceptibilidade demonstra o potencial desses três acessos para o desenvolvimento de populações segregantes e estudo da herança da resistência em *L. purpureus*.

Dessa forma, este trabalho teve por objetivo determinar o padrão da herança de resistência do acesso LB005 ao fungo *Phakopsora pachyrhizi*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais genéticos e vegetais

Visando obter a população segregante para estudo da herança de resistência à *P. pachyrhizi*, foram realizados cruzamentos com os genótipos LB005 e LB010 como genitores resistentes e suscetíveis, respectivamente. Das sementes originadas desses cruzamentos, 10 foram plantadas em vasos de 4 L de volume, os quais continham uma mistura de solo, substrato e esterco na proporção de 3:1:1.

A constatação da natureza híbrida das plantas foi realizada com auxílio de análise de marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) entres os parentais. Verificada a natureza híbrida, foram selecionadas três plantas para dar origem às populações segregantes para estudo da resistência. As plantas selecionadas foram denominadas CXLB010-S1, CXLB010-S2 e CXLB010-S4.

2.2 Inoculação e avaliação da resistência da população de plantas segregantes

As subpopulações oriundas da autofecundação das plantas CXLB010-S1, CXLB010-S2 e CXLB010-S4 foram plantadas em vasos de 0,5 L, sendo as mesmas constituídas de 268, 170 e 255 plantas respectivamente. Os vasos continham uma mistura de solo, substrato e esterco em uma proporção de 3:1:1.

As plantas foram inoculadas quando apresentaram o primeiro trifólio totalmente expandido, utilizando-se o isolado monopustular PPUFV02, correspondente a um isolado oriundo da mistura de amostras de campo. Uredósporos desse isolado haviam sido previamente multiplicados e armazenados a -80°C, sendo submetidos, visando à quebra da dormência, a um choque térmico de 10 minutos a 40°C em banho Maria, e reidratados por 24 horas.

As inoculações foram realizadas com auxílio de um atomizador de ar direto, utilizando-se uma suspensão de $1,0 \times 10^5$ uredósporos/mL do isolado PPUFV02 em água destilada e Tween 20 (0,01%). Posteriormente as inoculações, as plantas foram mantidas em câmaras de nevoeiro, a 25°C durante um período de 24 horas, sendo então transferidas para casas de vegetação junto com dez plantas de LB005 e dez plantas de LB010 que funcionaram como plantas controle para a inoculação.

A avaliação das subpopulações foi realizada aos quinze dias após inoculação, sendo as plantas classificadas qualitativamente quanto ao fenótipo apresentado nas folhas unifolioladas, usando uma escala de notas de severidade de 0 a 4 (Figura 01). As plantas com notas 0 a 2 foram consideradas resistentes e as plantas com notas 3 e 4 como suscetíveis.

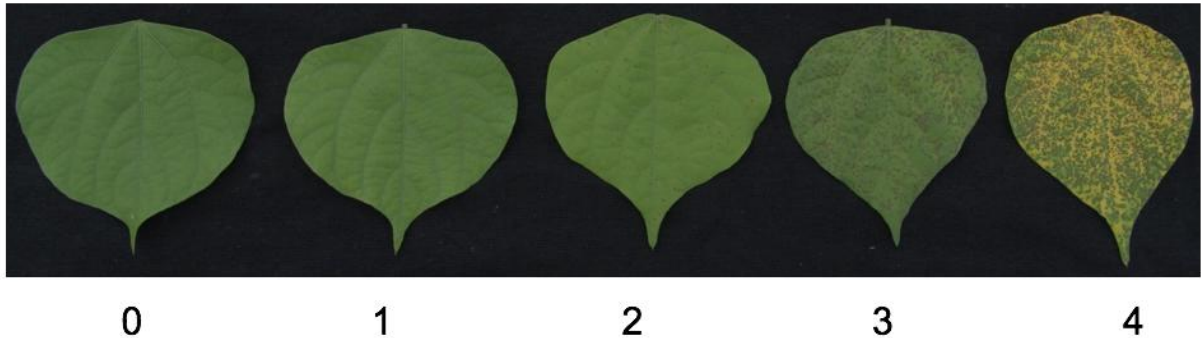


Figura 01 – Escala de notas utilizadas na avaliação da resistência de *L. purpureus* ao isolado PPUFV02 de *Phakopsora pachyrhizi* aos 15 dias após a inoculação

As proporções fenotípicas observadas nas três subpopulações foram submetidas a um teste de aderência ao modelo de segregação monogênica dominante pelo método de qui-quadrado (χ^2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as plantas do acesso suscetível LB010 apresentaram nota máxima de severidade aos 15 dias após a inoculação (Figura 02) e todas as plantas do acesso LB005 apresentaram nota 0, comprovando a eficiência da inoculação e fenótipo dos parentais utilizados na inoculação. Por outro lado, observou-se claramente a segregação da resistência nas três populações F2 avaliadas (Figura 03).



Figura 02 – Sintomas observados no acesso suscetível LB010, aos 15 dias após a inoculação com $1,0 \times 10^5$ uredósporos/mL do isolado monopustular PPUFV02 de *P. pachyrhizi*.



Figura 03 – Segregação da resistência à *P. pachyrhizi* na população F2 (CXLB010-S1) derivada do cruzamento LB005 x LB010, aos quinze dias após a inoculação com $1,0 \times 10^5$ uredósporos/mL do isolado monopustular PPUFV02. Seta vermelha indica folhas unifolioladas de planta suscetível e amarela, folhas unifolioladas de plantas resistentes.

Após constatação de segregação e avaliação fenotípica das subpopulações, os padrões encontrados foram testados visando a verificação de conformidade da proporção observada com a proporção mendeliana esperada para a segregação de um único gene dominante. Os valores de χ^2 obtidos de 0,497, 1,7647 e 2,1973 nas populações CXLB010- S1, S2 e S4 respectivamente, indicaram que a proporção observada não foi significativamente diferente da esperada pelo modelo genético proposto, assim as proporções de plantas resistentes e suscetíveis observadas nas três subpopulações F2 analisadas apresentaram aderência à razão 3:1, indicando que a resistência do acesso LB005 é governada por um gene dominante, aqui denominado *LpRpp01*.

Tabela 1: Análise da segregação da resistência ao isolado PPUFV02 de *Phakopsora pachyrhizi* nas subpopulações derivadas do cruzamento entre LB005 e LB010.

População	Fenótipo				χ^2	Probabilidade
	Observado		Esperado			
	Resistentes	Susceptíveis	Resistentes	Susceptíveis		
CXLB010-S1	196	72	201	67	0,4975*	48,06%
CXLB010-S2	120	50	127,5	42,5	1,7647*	18,40%
CXLB010-S4	181	74	191,25	63,75	2,1973*	13,82%

* Como $\chi^2_{Obs} < \chi^2(\alpha 5\%)$, aceita-se a hipótese de que a segregação está de acordo com a razão Mendeliana 3:1

4 CONCLUSÃO

O estudo da herança de resistência do acesso LB005 à *Phakopsora pachyrhizi* permitiu inferir que a resistência é regida por um único gene com característica dominante. O mapeamento, a clonagem e sua transferência para soja por meio da transformação genética permitirá avaliar se o mesmo é capaz de proporcionar em soja o mesmo nível de resistência observado em *L. purpureus*. Tal constatação possibilitaria o uso desse gene em programas de melhoramento que visem à criação de cultivares de soja resistentes à ferrugem asiática.

5 REFERÊNCIAS

- BATISTA, C E. A. **Mapeamento de genes associados à resistência da soja a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- BAUMER, J.; Ferrugem da soja assusta americanos. **Estado de São Paulo**, São Paulo, 3 jun 2005.
- BAUMGRATZ, C. A importância do vazio sanitário. **Agronegócio em foco**. Set. 2015. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/56/a-importancia-do-vazio-sanitario>. Acesso em: 10 de outubro de 2016.
- BENCHIMOL, R. L. et al. A Ferrugem asiática da soja no estado do Pará, safras de 2003/2004 e 2004/2005. **Comunicado Técnico 150**. Belém: EMBRAPA, 2005. 4 p.
- BEZERRA, A. R. G. et al. Importância Econômica. In: SEDYAMA, T et al. (Ed.); Soja do plantio à colheita. Viçosa – MG : Ed. UFV, 2015. P.9-26.
- BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. A soja no Brasil: história e estatística. Londrina: EMBRAPA CNPSo, **Documentos, 21** . 1987. 61 p.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, Janeiro 2016**. Brasília: CONAB, 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_01_12_09_00_46_boletim_graos_janeiro_2016.pdf.
- DALL'AGNOL, A. Sem medo de competir. **AgroANALYSIS**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 42-43, Fev. 2002.
- CONSÓRCIO NACIONAL ANTIGERRUGEM. Custo da ferrugem asiática da soja. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/#/conteudos/view/5> . Acesso em: 14 de novembro de 2016.
- CONSÓRCIO NACIONAL ANTIGERRUGEM. Práticas de manejo. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/#/conteudos/view/10> . Acesso em: 14 de novembro de 2016.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: EMBRAPA – Soja, **Sistemas de produção, 16**, 2013, 266p.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nation. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/gbase/data/pf000047.htm>. Acesso em: 24 de outubro de 2016.

GARCIA, A. et al. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**. V.117, p. 545–553, ago 2018.

GRIGOLLI, J. F. J.; Manejo de doenças na cultura da soja. In: LOURENÇÃO, A. L. F. (Ed.); Tecnologia e Produção: Soja 2014 / 2015. Curitiba : Midiograf, 2015. P. 134 – 156.

HENNING, A. A. Manejo de doenças da soja (*Glycinemax* L. Merrill). **Informativo ABRATES**, v.19, n.3, p.9-12, 2009.

HYTEN, D.L.et al. Bulked segregant analysis using the GoldenGate assay to locate the Rpp3 locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 49, p. 265-271, jan-fev 2009.

HYTEN, D. L. et al. Map location of the Rpp1 locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 837-838, mar-abr 2007.

KIM, K.S.et al. Molecular mapping of soybean rust resistance in soybean accession PI 561356 and SNP haplotype analysis of the Rpp1 region in diverse germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**. V.125, p. 1339–1352, out 2012.

LI, S., et al. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. **Theoretical and Applied Genetics**. V.125, p. 133–142, jun 2012.

MATSUO, E. et al. Botânica e Fenologia. In: SEDYAMA, T et al. (Ed.); Soja do plantio à colheita. Viçosa – MG : Ed. UFV, 2015. P.27-53.

MEYER, J.D.et al. Identification and analyses of candidate genes for rpp4 mediated resistance to Asian soybean rust in soybean. **Plant Disease**. V.150, p. 295-307, 2009.

MILES, M. R. et al. Characterizing resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in soybean. **Plant disease**, v.95, p. 577-581, 2011.

MONTEROS, M.J., et al. Mapping and confirmation of the ‘Hyyuga’ red-brown lesion resistance gene for Asian soybean rust. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 829-834, jul 2006.

NOGUEIRA, S. R. **Resistência de plantas hospedeiras e identificação de genes diferencialmente expressos na interação soja- *Phakopsora pachyrhizi***. 2007. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PHAM, T.A.; et al. Differential responses of resistant soybean entries to isolates of *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease**. V.93, n. 3, p. 224-228, mar 2009.

PRIOLLI, R. H. G. et al. Diversidade genética da soja entre períodos e entre programas de melhoramento no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 10, p. 967-975, out. 2004.

ROESSING, A. C.; LAZZAROTTO, J. J. Criação de empregos pelo complexo agroindustrial da soja. Londrina: Embrapa soja, **Documentos**, 233 2004. 50 p.

ROSA, C. R. E. Resistência genética da soja à ferrugem asiática. **Agronegócio em foco**. Set. 2015. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/114/resistencia-genetica-da-soja-a-ferrugem-asiatica> Acesso em: 5 de outubro de 2016.

RUPE, J.; SCONYERS. L. Ferrugem asiática da soja. **The Plant Health Instructor**. 2008. Portuguese translation by Rubens Cherubini Alves and Emerson M. Del Ponte, 2008. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/SoybeanRustPort.aspx> . Acesso em: 10 de outubro de 2016.

SEDIYAMA, T., et al. Origem, evolução e importância econômica. In: **Tecnologia de produção e usos da soja**. – [Editado por: Sedyama, T.] – Londrina, PR: Mecenias, 2009. p. 1-5.

SILVA, D.C.G.et al. Molecular mapping of two loci that confer resistance to Asian rust in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**. V.117, p. 57–63, jan 2008.

TAI, T. H., et al. Expression of the Bs2 pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. **PNAS**. v.96, p. 14153 – 14158, 1999.

USDA - United States Department of Agriculture, elaboração DEAGRO/FIESP - Departamento de Agronegócio .**Safra mundial de soja, quinto levantamento, Setembro 2016**. São Paulo: DEAGRO, 2016. Disponível em: http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-soja/attachment/boletim_soja_setembro2016/

VAKILI, N. G. Field survey of endemic leguminous hosts of *Phakopsora pachyrhizi* in Puerto Rico. **Plant Disease Reporter**. V. 63, p. 931-935, 1979.

YAMANAKA, N., et al. Resistance to Asian soybean rust in soybean lines with the pyramided three Rpp genes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. V. 13, p. 75-82, dez 2012.

YORINORI, J.T. et al. Ferrugem "asiática" da soja no Brasil: evolução, importância econômica e controle. Londrina PR. Embrapa Soja, **Documentos**, 247. 2004 .

YORINORI, J. T.; LAZAROTTO, J. J. Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul. **Documentos Embrapa**, 236. 2004

YU, N.et al. Fine mapping of the Asian soybean rust resistance gene Rpp2 from soybean PI 230970. **Theoretical and Applied Genetics**. V.128, p. 387–396, mar 2015.