

Desenvolvimento de Linhagens Endogâmicas Recombinantes para a Análise Genética da Tolerância à Ferrugem Asiática da Soja

SANTOS, J.V.M. DOS¹; YAMANAKA, N.²; SILVA, D.C.G. DA¹; PASSIANOTTO, A.L.L.¹; NOGUEIRA, L.M.¹; TOBITA, S.²; ARIAS, C.A.A.³; NEPOMUCENO, A.L.³; ABDELNOOR, R.V.³. ¹Universidade Estadual do Norte do Paraná, campus Faculdades Luiz Meneghel, , Bandeirantes, PR, CEP 86360-000, E-mail: jvitor@cnpso.embrapa.br, andre@cnpso.embrapa.br, livia@cnpso.embrapa.br; ²Japan International Research Center for Agricultural Sciences (Jircas), Japão. E-mail: naoki@jircas.affrc.go.jp; bita1-mon@jircas.affrc.go.jp. ³Embrapa Soja, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: arias@cnpso.embrapa.br, nepo@cnpso.embrapa.br, ricardo@cnpso.embrapa.br.

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, é a doença mais importante atualmente no cultivo da soja, podendo causar elevadas perdas de produção no Brasil. Em função da baixa durabilidade da resistência conferida por genes de efeito maior, a tolerância à ferrugem asiática é uma característica desejável em programas de melhoramento. Pesquisadores da Embrapa Soja identificaram duas cultivares de soja, a BRS 184 e a BRS 231, para as quais a severidade da doença foi considerada baixa e alta, respectivamente (Cláudia V. Godoy, comunicação pessoal). Apesar de as mesmas não possuírem qualquer gene de efeito maior de resistência à ferrugem, apresentaram, respectivamente, 50,6 % e 10,7 % de redução na produtividade devido à função da infecção por ferrugem em campo. Portanto, é esperado que a BRS 231 possua algum tipo de tolerância à ferrugem asiática. O objetivo deste trabalho é descrever o desenvolvimento de linhagens endogâ-

micas recombinantes (LERs), derivadas do cruzamento entre a BRS 184 e a BRS 231, demonstrando que podemos esperar que elas constituam bons materiais para a análise genética da tolerância à ferrugem asiática.

Para o desenvolvimentos das LERs foram utilizadas três plantas, originadas do cruzamento entre as cultivares BRS231 e BRS184, que geraram uma população de 197 plantas F_2 . A população F_2 foi avançada até a geração F_7 , utilizando o método de descendência de uma única semente. A população obtida ao final deste processo foi uma F_8 composta por 164 famílias. Amostras de folhas da população F_2 , dos genótipos parentais foram coletadas e armazenadas em freezer a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para posterior extração de DNA. O mesmo procedimento foi realizado para a população F_7 . A população F_7 será utilizada posteriormente para o mapeamento dos locos de caracteres quantitativos para a tolerância à ferrugem.

As cultivares BRS 184 e BRS 231 apresentam como características em comum a resistência ao cancro e à necrose da haste, porém divergem em relação a outras doenças de interesse agrônomico (TECNOLOGIAS, 2007). Além disso, divergem também em relação à pigmentação do hilo, da flor, da pubescência e tolerância à seca.

A pigmentação é conhecida por ser influenciada por fatores bióticos e abióticos e a relação entre cor da flor, dos cotilédones, da pubescência e a resistência à FAS foi previamente testada em cultivares chinesas de soja (Yamanaka et al., 2006). A presença de pigmento na flor e nos cotilédones foi positivamente relacionada à resistência, enquanto a cor da pubescência não apresentou relação. Entretanto, nada se sabe sobre a possível relação da cor do hilo com a resistência à ferrugem.

A cor do hilo para a BRS 184 e a BRS 231 é, respectivamente, marrom e preta. Entretanto, a geração F_1 apresentou cor do hilo cinza médio e a geração F_2 , segregação contínua para esta característica, variando do preto até o marrom. A característica foi também analisada na geração F_7 . Apesar das cores estarem aqui classificadas em cinco classes, foi possível observar sua segregação contínua. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Para identificar as características patológicas que contribuem para a resistência à FAZ, observada na BRS 231, os seguintes fatores quantitativos foram avaliados em cinco a seis repetições biológicas de cada genótipo: período de incubação, período de latência, número de urédias por lesão, frequência de lesões com urédias e o número de esporos por lesão (Tabela 2). Os parâmetros frequência de lesões com urédias e número de urédias por lesão foram avaliados com auxílio de lupa. Para a contagem do número de esporos, 1 mL de água foi submetido à agitação em contato com parte de uma folha infectada. A suspensão de esporos resultante foi avaliada em uma câmara de Neubauer e a contagem foi realizada sob microscópio óptico.

A cultivar avaliada BRS 231 apresentou resultados que puderam ser relacionados à resistência para todas as variáveis analisadas, exceto para o período de latência. Entretanto, de todas as características positivamente relacionadas, somente o período de incubação foi significativamente maior para a BRS 231 em relação à BRS 184 (Tabela 2). Essa característica pode estar ligada à habilidade da BRS 231 de sofrer pouco decréscimo em produtividade quando infectada com ferrugem asiática.

Tabela 1. Segregação da cor do hilo em F_2 e F_7 .

Classe	Preto	Cinza Escuro	Cinza Médio	Cinza Claro	Marrom
Segregação em F_2	93	57	30	7	10
Segregação em F_7	69	13	21	18	35

Tabela 2. Características relacionadas à tolerância à ferrugem asiática da soja nas duas variedades parentais.

	Caráter				Caráter			
	Período de incubação (dias)				Período de latência (dias)			
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)
BRS 184	6.0	6 - 6	0.00	0.00	10.0	10 - 10	0.0	0.145
BRS 231	6.8	6 - 7	0.40		9.7	9 - 10	0.5	
	Lesões com urédias (%)				Nº de esporos por lesão			
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)
BRS 184	94.00	90.7 - 100	4.50	0.246	84.6	36 - 149	44.135	0.330
BRS 231	93.20	79.6 - 100	7.71		62.0	29 - 107	31.172	
	Nº de urédias por lesão							
	Média	Amplitude	DP	P (teste-t)				
BRS 184	2.1	1.89 - 2.69	0.34	0.39				
BRS 231	1.9	1.54 - 2.59	0.37					

Para estimar a diversidade genética entre os parentais utilizados nesse cruzamento, as cultivares BRS 231 e BRS 184 foram comparadas a outras 19 cultivares brasileiras, previamente utilizadas para revelar a diversidade do germoplasma brasileiro (Yamanaka et al., 2007), utilizando 12 marcadores SSR. O polimorfismo entre os parentais também foi checado utilizando-se 320 marcadores SSR.

Ambas as cultivares pertencem a um de dois grandes clusters de cultivares brasileiras e foram geneticamente as mais próximas entre todas as 21 cultivares (Fig. 2). Entretanto, a distância genética entre os parentais foi relativamente grande, uma vez que 60 de todas as 420 possíveis combinações de cultivares foram estimadas tendo uma distância genética menor e, portanto, sendo menos polimórfica do que esta combinação. Foi encontrado um polimorfismo relativamente alto entre os parentais, ou seja, 94 dos 320 marcadores SSR testados (29,4 %) foram polimórficos. Portanto, é esperada uma grande diversidade ao nível de DNA para as progênie oriundas da combinação BRS 184 e BRS 231, o que facilitará o mapeamento dos QTLs para a resistência quantitativa à ferrugem.

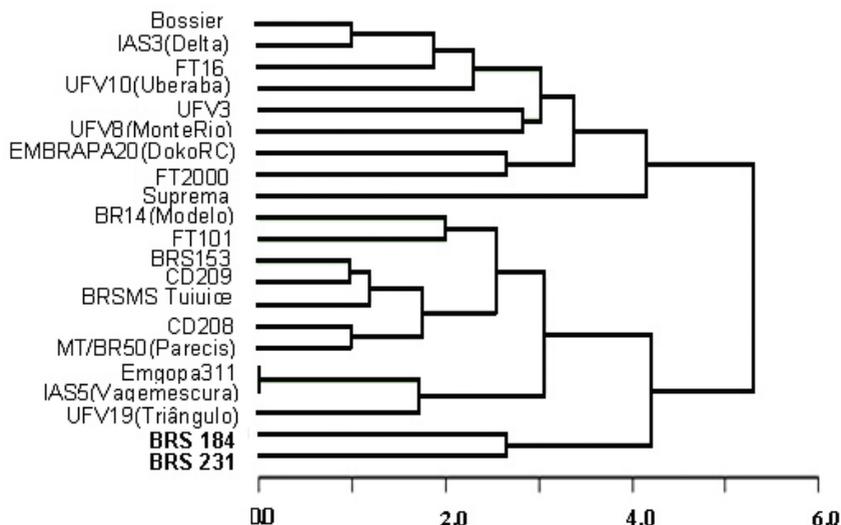


Fig. 1. Dendrograma UPGMA obtido da análise de 12 marcadores SSR e 21 variedades brasileiras de soja.

Conforme o esperado, essa população pode ser usada para a análise genética e mapeamento da resistência quantitativa à ferrugem asiática. Adicionalmente, poderá ser utilizada com os mesmos objetivos em relação à tolerância à seca. Avaliações para essa característica serão realizadas em F8.

Referências

EMBRAPA SOJA, EMBRAPA CERRADO, EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil, 2007, Cap.11, 196 – 210p.

YAMANAKA N, SATO H, YANG Z, XU D.H, CATELLI L.L, BINNECK E, ARIAS C.A.A, ABDELNOOR R.V AND NEPOMUCENO A.L. Genetic relationship between chinese, japanese, and brazilian soybean gene pools revealed by simple sequence repeat (SSR) markers, 2007, In Press, Genetics and Molecular Biology.

YAMANAKA N, OLIVEIRA MCN, YANG Z, ABDELNOOR R.V, NEUMAIER AL AND NEPOMUCENO A.L. Correlação entre 21 características observadas em 225 genótipos de soja do noroeste da China, 2006. IV Congresso Brasileiro de Soja, p. 103. Embrapa Soja, Londrina.