

MAPEAMENTO DO LOCUS DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM ASIÁTICA NO GENÓTIPO PI 561356.

MAPPING OF RESISTANCE LOCUS OF ASIAN SOYBEAN RUST IN GENOTYPE PI 561356.

CAMARGO, P. C.^{1,2}; CATELLI, L. L.¹; RINCÃO, M. P.^{1,3}; PIOVEZANI, A. R.^{1,3}; ARIAS, C.A.A.¹; ABDELNOOR, R. V.¹

¹Embrapa Soja, Caixa Postal 231, CEP 86001-970 Londrina-PR, ²Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; e-mail: pcamargo@cnpsa.embrapa.br, ³Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, Campos Luiz Meneghel, CEP 86360-000, Bandeirantes-PR, ffalm@ffalm.br

Resumo

A ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow vem causando grandes perdas de produtividade em vários países como é caso do Brasil. O objetivo principal desse trabalho foi estudar a herança de um gene de resistência à ferrugem asiática da soja, e mapear através da utilização de marcadores microssatélites, utilizando uma população de plantas F₂ derivada do cruzamento entre o genótipo resistente PI 561356 com o genótipo suscetível Pintado. A população de mapeamento e os genótipos parentais foram inoculados com o isolado de *P. pachyrhizi*, e avaliada quanto ao tipo de lesão como, resistentes (lesões RB) ou suscetíveis (lesões TAN). Um total de 84 marcadores microssatélites foram testados para os genitores do cruzamento, sendo os polimórficos utilizados para genotipar as plantas da geração F₂, que foi inoculada e avaliada para resistência/suscetibilidade à ferrugem. A população F₂ foi mapeada no grupo de ligação G, em uma distância aproximada de 7 cM do gene *Rpp1*.

Palavras-chave: *Glycine max*, *Phakopsora pachyrhizi* e marcadores microssatélites

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui hoje um papel muito importante na economia do Brasil, destacando-se como o segundo maior produtor desta cultura no mundo. No entanto a doença causada pelo fungo da ferrugem asiática, é considerada hoje como a maior ameaça na produtividade e competitividade da soja nacional.

Pesquisas biotecnológicas utilizando marcadores moleculares microssatélites vêm sendo desenvolvidas para mapear genes de resistência à ferrugem asiática, muitos destes genes já foram identificados e mapeados.

Diante deste contexto o objetivo do trabalho foi estudar a herança do gene de resistência à ferrugem asiática da soja presente na PI 561356, e mapeamento genético utilizando marcadores moleculares microssatélites.

Material e métodos

A população F₂ segregante utilizada para as análises moleculares foi originada do cruzamento entre a cultivar Pintado (susceptível à ferrugem) e o genótipo PI 561356 (resistente à ferrugem).

Os genótipos parentais e a população F₂ (150 indivíduos) foram plantados em casa-de-vegetação sob um delineamento inteiramente casualizado. As plantas foram semeadas em vasos com 20 cm de diâmetro e 25 cm de altura, contendo de cerca de 4,5 kg de mistura de solo, areia e esterco bovino.

As plantas foram inoculadas com esporos do fungo *P. pachyrhizi* e avaliadas fenotipicamente quanto à resistência, sendo classificadas como resistentes e suscetíveis.

As amostras de tecido foliar dos genótipos parentais e dos indivíduos da geração F₂ foram coletadas e submetidas à extração de DNA, com base no procedimento descrito por Keim et al. (1988) com modificações. A amplificação dos locos de microssatélites foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Akkaya et al. (1995). A análise dos fragmentos amplificados foi realizada mediante eletroforese em géis de agarose/synergel (*Diversified*

Biotech, Boston, MA, USA) 3% ou acrilamida 10%. Os géis foram corados com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta. Os marcadores microssatélites que foram utilizados foram desenvolvidos e publicados por Cregan et al. (1999) e seu mapeamento está disponível em <http://soybase.agron.iastate.edu/>.

Para acelerar o mapeamento do gene de resistência, as análises de marcadores foram feitas inicialmente em dois bulks de 10 indivíduos resistentes e 10 indivíduos suscetíveis, para verificar uma possível ligação dos marcadores ao caráter. Posteriormente, marcadores com provável ligação ao gene de resistência foram utilizados para analisar o restante da população de plantas F_2 . A proporção de segregação para os marcadores e para a resistência a doença foi analisada pelo teste do χ^2 . A análise de ligação foi feita com o programa GQMOL 9.1 (Cruz & Schuster, 2006) com o valor de LOD score mínimo de 3,0 e opção de função de mapeamento de Kosambi, com distância máxima de 37,2 cM.

Resultados e Discussão

Os genótipos parentais PI 561356 e Pintado apresentaram reação de resistência e suscetibilidade, respectivamente, enquanto que na população F_2 foi verificado pelo teste de (χ^2) correspondência com a segregação de um único loco com ação dominante para resistência. Dos 144 indivíduos F_2 99 foram resistentes e 45 foram suscetíveis. Portanto, o modelo genético apresentando um gene dominante na proporção de 3 resistente:1 suscetível se adequou satisfatoriamente aos dados ($\chi^2=3$) (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado das análises de segregação e teste de Qui-quadrado para à ferrugem asiática e para os marcadores moleculares microssatélites, realizado na população segregante F_2 .

Marcadores	Observado ^a			Esperado ^c			Qui-quadrado ^d	Probabilidade(%)
	A	B	C	R/H	S			
<i>Rpp</i> (PI 561356)	45 ^b		99	108:	36		3 ^{n.s}	8.3265
Sat_117	37		106	108:	36		0.058 ^{n.s}	80.9243
Satt191	28	76	30	36:	72: 36		2.478 ^{n.s}	28.973
Satt472	24	75	39	36:	72: 36		4.304 ^{n.s}	11.6231

^aA, B e C: homozigoto resistente, heterozigoto e homozigoto recessivo, respectivamente

^bAvaliação dos indivíduos com sintomas (indivíduos resistentes)

^cSegregação dos indivíduos: R-resistentes, H-heterozigotos e S-suscetíveis

^dn.s= não significativo a 5% pelo teste de Qui-quadrado

Nas análises de mapeamento utilizando marcadores moleculares foram testados 84 marcadores microssatélites nos genótipos parentais, sendo que 42 foram polimórficos. Esses marcadores foram testados nos bulks resistentes e suscetível, e posteriormente na população F_2 , resultando no mapeamento do gene de resistência no grupo de ligação G. Este gene foi mapeado pelo marcador Sat_117, na mesma região onde se encontra o gene *Rpp1* (Hyten et al., 2007). Se este gene é um alelo de *Rpp1* ou se trata de um novo gene de resistência, ainda não é possível discriminar.

Diante destes resultados, análises com marcadores SNP's (*Single Nucleotide Polymorphism*), juntamente com outros marcadores microssatélites, serão realizadas visando um mapeamento mais fino para a região. Assim, trabalhos de introgressão desse locos de resistência à ferrugem da soja em cultivares elites será facilitado, beneficiando os programas de melhoramento da soja para resistência/tolerância a esse patossistema.

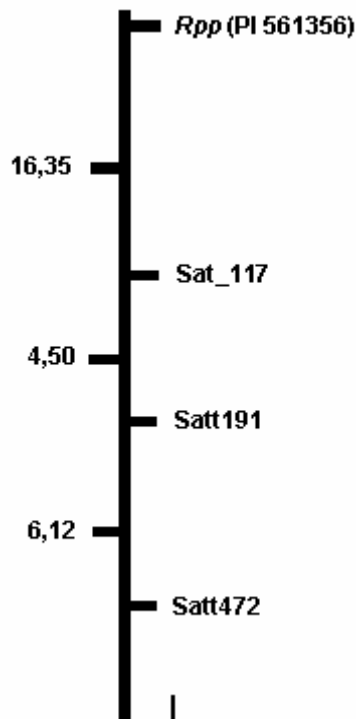


Figura 1. Representação do mapeamento do gene de resistência à ferrugem asiática da soja no grupo de ligação G em relação aos marcadores microsatélites identificados. As distâncias no mapa são dadas em centimorgan (cM).

Referências

- AKKAYA, M.S.; SHOEMAKER, R.C.; SPECHT, J.E.; BHAGWAT, A.A.; AND CREGAN, P.B. Integration of Simple Sequence Repeat Dna Markers Into a Soybean Linkage Map. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1439-1445, Feb. 1999.
- CREGAN, P. B.; JARVIK, T.; BUSH, A. L.; SHOEMAKER, R. C.; LARK, K. G.; KAHLER, A. L.; KAYA, N.; VANTOAI, T. T.; LOHNES, D. G.; CHUNG, L.; SPECHT, J. E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 5, p. 1464-1490, Set/Oct. 1999.
- CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL**: aplicativo computacional para análise de dados moleculares e de suas associações com caracteres quantitativos. Versão 2006.9.1. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/ggmol/ggmol.htm>. Acesso em: 7dez. 2008.
- HYTEN, D. L.; HARTMAN, G. L.; NELSON, R. L.; FREDERICK, R. D.; CONCIBIDO, V. C.; NARVEL, J. M.; CREGAN, P. B. Map location of the *Rpp1* locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 837-838, Mar/Apr. 2007.
- KEIM, P.; OLSON, T. C.; SHOEMAKER, R. C. A rapid protocol for isolating DNA. **Soybean Genetics Newsletter**, Baltimore, v. 15, n. 2-3, p. 150-152, Feb. 1988.