

Sintenia de duas regiões genômicas da soja contendo genes de resistência à ferrugem-asiática com outras plantas modelo

BARBOSA, E.G.G.¹; IWATA, M.¹; SILLA, P.R.¹;
ALMEIDA, A.M.R.²; ABDELNOOR, R.V.²; BINNECK, E.²
¹Universidade Estadual de Londrina - UEL; ²Embrapa Soja, binneck@cnpso.embrapa.br

Representando em torno de 50 % da produção de grãos no Brasil, a soja contribui para a economia nacional com mais de 15 bilhões de dólares a cada ano. Entretanto, há fatores de risco que podem comprometer a produtividades da cultura. Um dos mais sérios atualmente é a ferrugem-asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, que se alastrou no Brasil a partir de 2001 e rapidamente infectou todas as áreas de cultivo. Perdas anuais equivalentes a 2 bilhões de dólares têm sido atribuídas a essa doença (Sistema de Alerta; <http://www.cnpso.embrapa.br/alerta/>), sem mencionar o dano ambiental causado pelo massivo uso de fungicidas nas lavouras. Desenvolver cultivares resistentes é a maneira ideal de lidar com esse problema, e o primeiro passo para isso é a identificação de genes de resistência. Até o momento há pouco conhecimento a respeito da maquinaria molecular de defesa da planta à doença. Uma verificação interessante foi feita por Silva et al. (2008), mapeando os loci *Rpp2* e *Rpp4* nos cromossomos 16 e 18, respectivamente. Essas regiões genômicas são consideradas ricas em genes de resistência a várias doenças na soja (Silva et al., 2008; Laperuta et al., 2008). Este trabalho visa a fazer um estudo detalhado da microsintenia dessas duas regiões genômicas da soja, comparando-as com as sequências e informações genômicas de outras plantas-modelo, incluindo *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus* e *Arabidopsis*

thaliana. O objetivo é gerar uma gama de informações sobre os possíveis agrupamentos gênicos e a interdigitalização de sequências regulatórias existentes nessas regiões, buscando descrever com o máximo de detalhes as estratégias de defesa contra doenças que as plantas vêm mantendo ao longo da evolução.

As sequências das duas regiões genômicas foram obtidas fazendo-se uma busca com o BLASTn (Altschul et al., 1997) contra o genoma completo da soja em um servidor local (<http://bioinfo.cnpso.embrapa.br/blast>), utilizando como *query* as sequências dos marcadores SSR que flanqueiam as regiões mapeadas em Silva et al. (2008). O trecho Sat_255..Satt622 foi localizado no cromossomo 16 (Grupo de Ligação J) no intervalo 27589641..28837565 pb e o trecho Satt288..AF162283 foi localizado no cromossomo 18 (Grupo de Ligação G) no intervalo 55407204..57436905 pb. As sequências no formato FASTA das regiões de interesse foram extraídas no Gbrowse (Phytozome) para as análises de sintenia. As demais etapas do trabalho estão em andamento.

A sintenia entre as regiões genômicas da soja e das demais espécies usadas para comparação [*Medicago trunculata*, *Lotus japonicus*, feijão-caupi (*V. unguiculata*), feijão comum (*P. vulgaris*) e *Arabidopsis*] será avaliada pelo alinhamento múltiplo das regiões genômicas destacadas da soja e das sequências genômicas (BACs, supercontigs e/ou cromossomos completos) das demais espécies. Esse alinhamento múltiplo será feito usando-se o programa Mauve (Darling et al., 2004).

Alinhamentos par a par, mais detalhados, entre eventuais regiões de alta homologia serão feitos com o programa Mummer (Kurtz et al., 2004), permitindo a identificação de variações genômicas em menor escala, como a existência de diferentes elementos cis-controladores para genes similares em diferentes espécies.

Transcritos similares aos de soja, presentes nas demais espécies de leguminosas usadas para comparação, serão localizados por meio de BLASTx (Altschul et al., 1997), sendo que o conjunto será alinhado

utilizando-se o software ClustalX (Thompson et al., 1997). Essa análise permitirá avaliar alterações intragênicas entre as espécies, como mutações de ponto ou inserções e deleções. O software M-GCAT (Treagen & Messeguer, 2006) será utilizado para a visualização e inspeção dos dados.

Será utilizado também o Artemis Comparison Tool (ACT) (Carver et al., 2005), que permitirá uma visualização interativa das comparações entre as seqüências de DNA genômico de soja e de outras leguminosas. Os dados para comparação no ACT serão gerados com programas como BLASTn, tBLASTx (Altschul et al., 1997) e MUMmer (Kurtz et al., 2004). Assim, será possível identificar regiões de similaridade, inserções, deleções e rearranjos em qualquer nível, desde grandes regiões cromossômicas até diferenças em pares de bases.

A recente disponibilidade de grande quantidade de sequências genômicas (completas ou não) de algumas plantas tem possibilitado a comparação entre genomas relacionados, de modo que determinados genes e sequências promotoras em um genoma modelo, podem, por comparação, beneficiar a obtenção de conhecimento sobre o genoma de outra espécie relacionada filogeneticamente. A análise de sintenia é uma das técnicas usadas na genômica comparativa para fazer novas inferências sobre um genoma a partir de estudos feitos em genomas relacionados. Essas comparações podem revelar a manutenção de agrupamentos gênicos e sequências regulatórias importantes em determinadas regiões genômicas (Van Straalen & Roelofs, 2006).

Este é um estudo inicial abordando apenas duas regiões genômicas. Na sequênciã, pretende-se ampliar os estudos para outras regiões do genoma, na busca de conhecer ao máximo, toda a gama de possibilidades de defesa acumuladas no genoma da soja. Os conhecimentos gerados durante a execução deste trabalho serão úteis para elucidar os mecanismos complexos envolvidos na resistência/ tolerância da soja à ferrugem-asiática e a outras doenças, servindo para obter cultivares elites com alto potencial de rendimento, mesmo em condições de infecção por patógenos.

Referências

- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHAFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v.25, p.3389-3402, 1997.
- CARVER, T.J.; RUTHERFORD, K.M.; BERRIMAN, M.; RAJANDREAM, M.A.; BARRELL, B.G.; PARKHILL, J. ACT: the Artemis Comparison Tool. **Bioinformatics**, v.21, n.16, p.3422-3423, 2005.
- DARLING, A.C.; MAU, B.; BLATTNER, F.R.; PERNA, N.T. Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. **Genome Research**, v.14, n.7, p.1394-1403, 2004.
- KURTZ, S.; PHILLIPPY, A.; DELCHER, A.L.; SMOOT, M.; SHUMWAY, M.; ANTONESCU, C.; SALZBERG, S.L. Versatile and open software for comparing large genomes. **Genome Biology**, v.5, n.2, R 12, 2004.
- LAPERUTA, L.C.; ARIAS, C.A.A.; RIBEIRO, A.S.; RACHID, B.F.; PIEROZZI, P.H.B.; TOLEDO, J.F.F. de; PIPOLO, A.E.; CARNEIRO, G.E.S. New genes conferring resistance to Asian soybean rust: allelic testing for the Rpp2 and Rpp4 loci. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1741-1747, 2008.
- PHYTOZOME. Disponível em <<http://www.phytozome.net/>>. Acesso em: 01 jul. 2009.
- SILVA, D.C.G.; NAOKI, Y.; BROGIN, R.L.; ARIAS, C.A.A.; NEPOMUCENO, A.L.; DI MAURO, A.O.; PEREIRA, S.S.; NOGUEIRA, L.M.; PASSIANOTTO, A.L.L.; ABDELNOOR, R.V. Molecular mapping of two loci that confer resistance to Asianrust in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, v.117, p.57-63, 2008.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F; JEANMOUGIN F.; HIGGINS, D.G. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* v.25, n.24, p.4876-4882, 1997.

TREAGEN, T. J. & MESSEGUER, X. M-GCAT: interactively and efficiently constructing large-scale multiple genome comparison frameworks in closely related species. *BMC Bioinformatics* v.7, p.433, 2006.

Van STRAALLEN, N. M.; ROELOFS, D. An introduction to ecological genomics. Oxford University Press, 2006.