

## Identificação de QTL associados à fixação biológica do nitrogênio em soja

---

Maria Aparecida dos Santos<sup>1,4</sup>; Marisa Fabiana Nicolás<sup>2,4</sup>; Taila Carolina Santini Vedovati<sup>3,4</sup>; Mariangela Hungria<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Bolsista de mestrado da CAPES; <sup>2</sup>Bolsista de DTI do CNPq; <sup>3</sup>Bolsista de IC do CNPq; <sup>4</sup>Embrapa Soja.

### Introdução

Dentre os principais fatores bióticos que contribuem para a elevada produção de soja no Brasil, destaca-se a fixação biológica do nitrogênio (FBN). Estudos indicam que a FBN pode suprir todo o N que a soja necessita. A não utilização de fertilizantes nitrogenados na cultura da soja resulta em uma economia estimada em US\$ 3 bilhões, por safra, para o Brasil (Hungria et al., 2005). Todavia, os caracteres da FBN não têm sido contemplados diretamente nos programas de melhoramento genético da soja. Estes têm priorizado características relacionadas com a produção e a resistência à doenças. Diferenças, quanto à eficiência no processo de FBN, entre os genótipos comerciais de soja que são utilizados atualmente nos programas de melhoramento foram relatadas por Bohrer & Hungria (1998) e Hungria & Bohrer (2000).

Marcadores moleculares, identificados no mapa genômico da soja (Cregan et al., 1999; Song et al., 2004), vêm sendo utilizados para a identificação de QTL (locos de caráter quantitativo). Utilizando marcadores do tipo microssatélites seqüências simples repetidas (SSR), Meksem et al. (2001) identificaram regiões genômicas relacionadas com a produção de isoflavonóides. Marcadores de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) e SSR também foram utilizados para mapear QTL envolvidos com o incremento no teor de proteínas nos grãos (Sebolt et al., 2000). Diversos QTL para características relacionadas com o rendimento de grãos também foram descritos (Chung et al., 2003).

Com relação à FBN, Nodari et al. (1993) detectaram quatro QTL afetando o número de nódulos em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Na soja, Nicolás

et al. (2005) identificaram, em uma população de 160 famílias  $F_{2,3}$  do cruzamento BRS 133 (baixa capacidade de FBN) x Embrapa 20 (média capacidade de FBN), 16 associações significativas entre marcadores SSR e QTL para parâmetros de crescimento e nodulação das plantas.

## Objetivo

Identificar QTL relacionados à capacidade de fixação biológica do nitrogênio em soja.

## Material e Métodos

Cento e cinquenta e sete linhagens  $F_{2,7}$  endogâmicas recombinantes de soja, derivadas do cruzamento entre as cultivares Bossier (alta capacidade de FBN) e Embrapa 20 (média capacidade de FBN) foram avaliadas, em casa de vegetação, quanto às características relacionadas com o crescimento da planta (massa da parte aérea seca, MPAS) e à nodulação (massa de nódulos secos, MNS; número de nódulos, NN; e massa média de nódulos secos, MNS/NN). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com oito repetições de cada linhagem. Cada planta no estádio V2, recebeu 1 mL de inoculo misto (v:v 1:1) de *B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. elkanii* SEMIA 587. Trinta dias após a inoculação, as plantas foram coletadas individualmente e determinaram-se os parâmetros: MPAS, NN, MNS e a relação MNS/NN. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (Tabela 1). A herdabilidade para cada característica foi calculada pela fórmula:  $h^2 = \sigma^2g / [\sigma^2g + (\sigma^2e/r)]$ .

O DNA genômico das 157 linhagens  $F_{2,7}$  e dos parentais também foram amplificados com 24 pares de "primers" microssatélites, escolhidos a partir do mapa do genoma da soja (Cregan et al., 1999; Song et al., 2004).

A existência de ligação entre um loco marcador e um caráter quantitativo foi determinada por análise de regressão simples. A ligação foi admitida quando constatada diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre o valor fenotípico médio das linhagens  $F_{2,7}$  e o marcador (Tabela 2). A proporção da varia-

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para massa da parte aérea seca (MPAS), número de nódulos (NN), massa de nódulos secos (MNS) e relação MNS/NN, nas linhagens F<sub>2.7</sub> do cruzamento Bossier x Embrapa 20.

Variável	QM	GL	F	P	R <sup>2</sup>	CV (%)	H <sup>2</sup>
MPAS	17,1176	156	1,98	0,0001	0,2280	25,60	49
NN	16.831,6510	156	1,44	0,0008	0,1768	50,12	30
MNS	210.989,8000	156	1,49	0,0002	0,1822	49,85	33
MNS/NN	4,1040	156	1,37	0,0034	0,1695	45,60	27

**Tabela 2.** Marcadores SSR significativamente associados com as diferenças fenotípicas, (massa da parte aérea seca (MPAS), número de nódulos (NN), massa de nódulos secos (MNS) e relação MNS/NN).

Característica quantitativa	Marcador	Grupo de ligação <sup>1</sup>	Nível de significância do teste F	R <sup>2</sup> (%)	A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> <sup>2</sup> (Bossier)	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> <sup>2</sup> (Embrapa 20)
MPAS (mg.pl <sup>-1</sup> )	Satt332	LG B1	0,0100	3,70	11,19b	11,76a
	Satt434	LG H	0,0300	3,10	11,18b	11,72a
	Satt232	LG L	0,0050	5,00	11,84a	11,20b
NN (Nódulo.pl <sup>-1</sup> )	Satt197	LG B1	0,0500	2,50	207,47a	222,27b
	Satt509	LG B1	0,0040	5,25	203,19b	224,93a
	Satt307	LG C2	0,0025	6,20	228,58a	205,28b
	Satt325	LG F	0,0160	3,80	229,88a	209,67b
MNS (mg.planta <sup>-1</sup> )	Satt202	LG C2	0,0220	3,30	783,00a	718,30b
	Satt307	LG C2	0,0005	8,00	802,51a	706,90b
MNS/NN	Satt296	LG D1b	0,0300	3,00	3,71b	3,98a
	Satt192	LG H	0,0300	3,80	3,93a	3,68b
	Satt509	LG B1	0,0500	2,50	3,93a	3,69a

<sup>1</sup> Grupo de ligação como descrito em Cregan *et al.* (1999).

<sup>2</sup> Médias alélicas do marcador associadas aos parentais Bossier (A<sub>1</sub>A<sub>1</sub>) e Embrapa 20 (A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>). Nas linhas, os valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente, de acordo com o teste de Tukey P?0,05.

ção fenotípica explicada pelo marcador foi estimada, utilizando-se o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) (Edwards *et al.*, 1987).

## Resultados e Considerações Finais

Foram identificados sete marcadores (Satt192, Satt197, Satt202, Satt296, Satt307, Satt332 e Satt509) relacionados à nodulação e três (Satt232, Satt332 e Satt434) associados à produção de biomassa da planta. Desse marcadores, os Satt192, Satt197, Satt232, Satt296, Satt307, Satt332 e Satt509 já haviam sido identificados em uma população  $F_{2:3}$  originada do cruzamento Embrapa 20 (média capacidade de FBN) x BRS 133 (baixa capacidade de FBN) (Nicolás et al., 2005). Estes marcadores têm potencial para utilização em programas de melhoramento de soja visando o desenvolvimento de genótipos com maior FBN.

## Agradecimentos

Projeto financiado parcialmente pelo CNPq 400710/2004-8 e 301241/2004-0) e pelo PRONEX. A Rinaldo Benedito Conceição, Lígia Maria O. Chueire e Manuel P. da Silva, funcionários da Embrapa soja, pelo apoio técnico.

## Referências

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 937-953, 1998.

CHUNG, J.; BABKA, H.L.; GRAEF, G.L.; STASWICK, P.E.; LEE, D.J.; CREGAN, P.B.; SHOEMAKER, K.C.; SPECHT, J.E. The seed protein, oil, and yield QTL on soybean linkage group I. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 1053-1067, 2003.

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, J.; SPECHT, J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1464-1490, 1999.

EDWARDS, M.D.; STUBER, C.W.; WENDEL, J.F. Molecular-marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. I. Numbers,

genomic distribution and types of genes action. **Genetics**, Maryland, v. 116, p. 113-125, 1987.

HUNGRIA, M.; BOHER, T.R.J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 31, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C.; GRAHAM, P.H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in South America. In: SINGH, R.P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P.K., eds. **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston, Texas: Studium Press, LLC, 2005. (no prelo).

MEKSEM, K.; NJITI, V.N.; BANZ, W.J.; IQBAL, M.J.; KASSEM, M.A.; HYTEN, D.; YUAN, J.; WINTERS, T.A.; LIGHTFOOT, D.A. Genomic regions that underlie soybean seed isoflavone content. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Sylvania v. 1, p. 38-45, 2001.

NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M.; ARIAS, C.A.A. Identification of quantitative trait loci controlling nodulation and shoot mass in progenies from two Brazilian soybean cultivars. **Field Crops Research**, Amsterdam, 2005.

NODARI, R.O.; TSAI, S.M.; GUZMÁN, R.L.; GILBERTSON, R.L.; GEPSTS, P. Toward an integrated linkage map of common bean III. Genetics factors controlling host-bacteria interactions. **Genetics**, Maryland, v. 134, p. 341-350, 1993.

SEBOLT, A.M.; SHOEMAKER, R.C.; DIERS, B.W. Analysis of a quantitative trait locus allele from wild soybean that increases seed protein concentration in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1438-1444, 2000.

SONG Q.J.; MAREK, L.F.; SHOEMAKER, R.C.; LARK, K.G.; CONCIBIDO, V.C.; DELANNAY, X.; SPECHT, J.E.; CREGAN, P.B. A new integrated linkage map of the soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, Stuttgart, v 109, p. 122-128, 2004.