

## Saturação com marcadores de microssatélites dos grupos *J* e *G* nas regiões de ligação dos genes de resistência à ferrugem asiática da soja

Selma dos Santos Pereira<sup>1,2,5</sup>; D. C. G. da Silva<sup>1,2,3\*</sup>; N. Yamanaka<sup>1,4</sup>; L. M. Nogueira<sup>1,2</sup>; A. L. de L. Passianotto<sup>1,2</sup>; J. V. M. dos Santos; Carlos Alberto Arrabal Arias<sup>1</sup>; Alexandre Lima Nepomuceno<sup>1</sup>; Ricardo Vilela Abdelnoor<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Embrapa Soja, selma@cnpso.embrapa.br; <sup>2</sup>Fundação Faculdades Luiz Meneghel - FFALM; <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, UNESP-Jaboticabal; <sup>4</sup>Japan International Research Center for Agricultural Sciences - JIRCAS; <sup>5</sup>Universidade Estadual de Londrina.

### Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja e um dos poucos com potencial para aumentar a produção no futuro, dado a existência de áreas ainda não cultivadas e a crescente demanda mundial por produtos de soja. Entre os problemas que afetam a produção de soja no Brasil, a ferrugem asiática, doença causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd & Syd., tem causado enormes danos econômicos. Perdas de produtividade maiores que 75% já foram observadas quando nenhuma medida de controle da doença foi aplicada (Yorinori et al., 2005).

Até o momento, não existem cultivares de soja resistentes a ferrugem asiática e, o que torna é imprescindível a identificação e o desenvolvimento de cultivares resistentes. Quatro genes de resistência à ferrugem asiática foram descritos na literatura: *Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3* e *Rpp4* (Hartwig e Bromfield, 1983; Hartwig, 1986). Genes de resistência também foram identificados em outros genótipos, como a FT-2, uma cultivar brasileira (Arias et al., 2004). Quando a doença foi primeiramente detectada no Brasil todos estes genes eram efetivos. Entretanto, em 2003, um isolado de *P. pachyrhizi* infectou plantas portadoras dos genes *Rpp1*, *Rpp3* e pelo locus identificado na cultivar FT-2. Atualmente, dos genes descritos na literatura, somente o *Rpp2* e o *Rpp4* permanecem efetivos (Arias et al., 2004). Em trabalho

desenvolvido na Embrapa Soja, os genes *Rpp2* e *Rpp4* foram mapeados nos grupos de ligação J e G, respectivamente (Silva et al., 2006a; Silva et al., 2006b). Entretanto, os marcadores que foram descobertos flanqueando esses genes estão a distâncias muito altas dos respectivos *loci* para serem utilizados na seleção assistida por marcadores (SAM), em programas de melhoramento. O objetivo deste trabalho foi saturar com marcadores microssatélites os grupos de ligação J e G nas regiões de localização dos genes *Rpp2* e *Rpp4*, possibilitando utilizá-los na SAM.

## Materiais e Métodos

Para o mapeamento dos genes *Rpp2* e *Rpp4* foram utilizados cruzamentos entre a cultivar “BRS-184” e as PIs 230970 e 459025, respectivamente. Das plantas  $F_1$ , foram obtidas populações segregantes  $F_{2,3}$ , compostas por 130 e 80 indivíduos, para o mapeamento dos genes *Rpp2* e *Rpp4*, respectivamente. Tais populações foram inoculadas com o fungo *P. pachyrhizi* e avaliadas fenotipicamente quanto à resistência, mediante a identificação de lesões RB, características de genótipos resistentes, e de lesões TAN, características de genótipos suscetíveis.

Trifólios dos genótipos parentais e dos indivíduos das populações segregantes foram submetidos à extração de DNA, amplificação de microssatélites e à análise dos fragmentos amplificados (Cervigni 2004). Inicialmente, os *primers* de microssatélites foram testados nos parentais para verificar polimorfismo. Foi utilizada a estratégia de *bulks* segregantes. Os marcadores polimórficos entre os *bulks* foram testados nas populações  $F_2$  e a informação genotípica gerada foi cruzada com a informação fenotípica oriunda da avaliação de resistência para a confirmação da ligação.

A proporção de segregação para os marcadores e para a resistência a doença foi analisada pelo teste do  $\chi^2$ . Para a análise de ligação, o programa QMOL.

## Resultados

Para a saturação do grupo de ligação J na região de localização do gene *Rpp2* foram testados entre os parentais os *primers* Sat\_366, Satt244, Satt620, Satt621, Sct\_001, Sat\_255 e Sat\_361, dos quais foram polimórficos os *primers* Sat\_366, Satt620, Sct\_001, Sat\_255. No grupo de ligação G na região de localização do *Rpp4*, foram testados os marcadores Sct\_199, Satt472, Satt612, AF162283 e Sat\_143, sendo polimórfico apenas o marcador AF162283. Não houve distorção de segregação significativa para nenhum dos loci de microssatélites, analisados de acordo com o teste do  $\chi^2$  ( $P > 0,05$ ). A análise de ligação mapeou o locus *Rpp2* a 7,3 cM do marcador Satt255 e a 5,6 cM do marcador Satt620, no grupo de ligação J. O locus *Rpp4* foi mapeado a 1,3 cM e 12,3 cM dos microssatélites Satt288 e AF162283, respectivamente, no grupo de ligação G.

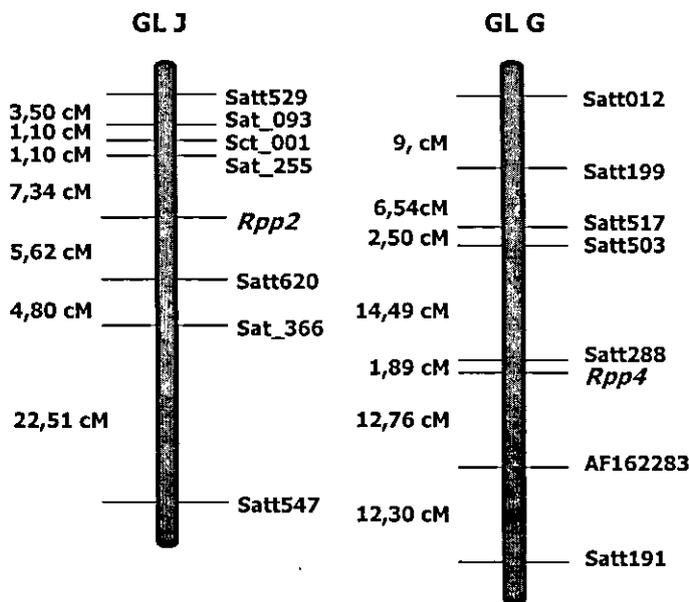


Figura 1. Mapas dos grupos de ligação (GL) J e G evidenciando as regiões de localização dos genes *Rpp2* e *Rpp4*. (lado esquerdo: distâncias em cM e lado direito: marcadores microssatélites identificados).

## Considerações Finais

Os marcadores identificados neste estudo apresentaram distâncias menores dos respectivos genes de resistência do que as encontradas anteriormente, sendo estas satisfatórias para a utilização dos mesmos em programas de melhoramento. O próximo passo será a análise destas populações com outros marcadores, como RFLP, SCAR e AFLP, para a obtenção de um mapa mais saturado. Outros genes de resistência à ferrugem asiática foram recentemente identificados pela equipe de Melhoramento da Embrapa Soja os quais estão sendo mapeados. Com o mapeamento desses genes de resistência, a introdução conjunta dos mesmos em cultivares comerciais será grandemente facilitada pelo uso da SAM.

Apoio: Japan International Research Center for Agricultural Sciences-JIRCAS; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Financiadora de estudos e Projetos - FINEP e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja.

## Referências

- ARIAS, C. A. A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L., OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J. F. F. 2004. Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow). In: F. Moscardi *et al.* (Ed.), Abstracts of Contributed Papers and Posters, VII World Soybean Research Conference, Embrapa Soybean, Londrina, p. 100.
- CERVIGNI, G. D. L.; SCHUSTER, I.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. 2004. Two microsatellite markers flanking a dominant gene for resistance to soybean cyst nematode race 3. *Euphytica* 135, 99-105.
- HARTWIG, E. E.; BROMFIELD, K. R., 1983. Relationships among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. *Crop Science* 23: 237-239.
- HARTWIG, E. E., 1986. Identification of a fourth major gene conferring resistance to soybean rust. *Crop Science* 26: 1135-1136.
- SILVA, D. C. G.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R. L.; ARIAS, C. A. A.; NEPOMUCENO, A. L.; DI MAURO, A. O.; NOGUEIRA, L. M.; PASSIANOTTO,

A. L.; PEREIRA, S. dos S.; ABDELNOOR, R. V. Mapeamento do gene *Rpp4* que confere resistência à ferrugem asiática da soja. In: IV Congresso Brasileiro de Soja. Documentos - Embrapa p. 45. 2006a.

SILVA, D. C. G.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R. L.; ARIAS, C. A. A.; NEPOMUCENO, A. L.; DIMAURO, A. O.; NOGUEIRA, L. M.; PASSIANOTTO, A. L.; PEREIRA, S. dos S.; ABDELNOOR, R. V. Mapeamento do gene *Rpp2* que confere resistência à ferrugem asiática da soja. In: IV Congresso Brasileiro de Soja. Documentos - Embrapa p. 45. 2006b.

YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; FREDERICK, R. D.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLI, P. F.; HARTMAN, G. L.; GODOY, C. V.; NUNES, J. J., 2005. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. Plant Disease 89: 75-677.