

Reação a Patógenos e Diversidade Genética dos Genitores da População de RILs Rudá x AND 277, uma Opção como População de Mapeamento Consenso para o Feijoeiro Comum

Thiago Lívio P. O. de Souza¹, Leonardo C. da Silva², Everaldo G. de Barros³, Maurilio A. Moreira⁴, José Eustáquio de S. Carneiro⁴, Ana Paula S. Mota⁵, Rosana P. Vianello⁶

Resumo

O grupo de melhoramento do feijoeiro da Universidade Federal de Viçosa desenvolveu uma população composta por 500 linhagens endogâmicas recombinantes a partir de cruzamentos entre as variedades Rudá (Mesoamericana) e AND 277 (Andina). Estes genitores apresentam considerável contraste fenotípico para várias características agrônômicas e morfológicas. No presente trabalho, a variabilidade genética entre eles foi confirmada com base em testes de reação a patógenos e também por marcadores moleculares. Estas RILs apresentam-se como uma interessante população a ser utilizada para o desenvolvimento de um mapa genético consenso suficientemente robusto e saturado para o feijoeiro comum. Isso porque a maioria das populações atualmente disponíveis para esse fim possui tamanho reduzido, o que afeta drasticamente a acurácia das estimativas das frequências de recombinação e, conseqüentemente, a precisão dos mapas genéticos desenvolvidos. Sementes desta população estão disponíveis para intercâmbio com outros grupos de pesquisa que possuam interesse em utilizá-la, podendo ser solicitadas junto à Embrapa Arroz e Feijão.

Introdução

A população mais amplamente utilizada em todo o mundo para mapeamento genético em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a população de RILs (*Recombinant Inbred Lines*, ou linhagens endogâmicas recombinantes) obtida a partir de cruzamentos entre as variedades BAT 93 x Jalo EEP 558. Esta população, detalhadamente descrita por Nodari et al. (1993) e Freyre et al. (1998), é atualmente composta por 75 linhagens. BAT 93 e Jalo EEP 558 pertencem, respectivamente, aos pools gênicos Mesoamericano e Andino do feijoeiro, sendo contrastantes para muitas características de interesse agrônômico, como resistência a doenças e pragas, qualidade nutricional dos grãos, além de outras. Estes genitores também contrastam para várias características morfológicas.

Outra importante população de mapeamento que tem sido mundialmente utilizada são as RILs desenvolvidas pelo CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colômbia) a partir de cruzamentos entre as variedades DOR 346 (Mesoamericana) e G 19833 (Andina). Esta população é atualmente composta por 87 linhagens (Blair et al. 2003, Galeano et al. 2009). Várias outras populações de mapeamento também têm sido desenvolvidas e utilizadas por diferentes grupos pesquisa que trabalham com feijão. Contudo, uma séria limitação comumente observada na maioria delas é o seu tamanho reduzido, o que afeta drasticamente a acurácia das estimativas das frequências de recombinação e, conseqüentemente, a precisão dos mapas genéticos desenvolvidos.

Segundo Silva et al. (2007), de forma ideal, o tamanho mínimo populacional para a obtenção de mapas genéticos com boa confiabilidade usando populações de RILs deveria ser de 200, 300 e 500 indivíduos, considerando, respectivamente, os seguintes níveis de saturação genômica: alto – distância média de 5,0 cM entre marcadores; médio – distância de 10,0 cM; e baixo – distância de 20,0 cM. Desta forma, nota-se que há demanda por uma população de mapeamento consenso com tamanho adequado para a espécie *P. vulgaris*.

Visando solucionar este problema, o grupo de melhoramento do feijoeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa, MG) desenvolveu uma população de RILs a partir de cruzamentos entre as variedades Rudá (Mesoamericana) e AND 277 (Andina) (Sanglard et al. 2013). Assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar os genitores Rudá e AND 277 quanto à reação a alguns dos principais patótipos dos

¹ Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: thiago.souza@embrapa.br

² Mestrando em Fitotecnia - Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

³ Professor da Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF.

⁴ Professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

⁵ Graduanda em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

⁶ Pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

fungos *Pseudocercospora griseola*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Uromyces appendiculatus*, agentes causais da mancha-angular, antracnose e ferrugem do feijoeiro, respectivamente. Além disso, estimar a diversidade genética entre estes genitores com base em marcadores microssatélites e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*, ou polimorfismos ao nível de um único nucleotídeo).

Material e Métodos

Rudá é uma linhagem com grãos do tipo carioca desenvolvida pelo CIAT e lançada como cultivar no Brasil em 1995 pela Embrapa Arroz e Feijão. Obtida a partir de cruzamentos entre as linhagens Carioca e Rio Tibagi, Rudá é altamente produtiva, porém é suscetível a maioria das doenças de importância econômica para o feijoeiro que ocorrem no Brasil. AND 277 possui grãos do tipo manteigão, sendo também desenvolvida pelo CIAT a partir de cruzamentos múltiplos [(Cargabello x (Pompadour Checa x Linea 17) x (Linea 17 x Red Cloud))]. Este genitor possui os genes *Phg-1* e *Co-1⁴*, os quais conferem, respectivamente, resistência à mancha-angular e à antracnose. Estes genitores apresentam considerável contraste fenotípico para várias características agrônomicas e morfológicas.

As variedades Rudá e AND 277 foram avaliadas, em condições controladas, quanto à reação aos patótipos 7-15, 15-7, 23-23, 31-7, 47-39, 63-6, 63-7, 63-23, 63-31, 63-47 e 63-63 do fungo *P. griseola*, 7, 8, 9, 55, 64, 65, 71, 72, 73, 77, 81, 87, 89, 453, 1609 e 2047 de *C. lindemuthianum*, e 21-3, 29-3 e 53-19 de *U. appendiculatus*. Em todos os casos, os patótipos foram selecionados com base nos critérios virulência e prevalência. Plantio e condução das plantas em casa de vegetação, preparo de inóculo, inoculações e avaliações de sintomas das doenças foram realizados conforme descrito por Ragagnin et al. (2009). A variabilidade genética entre Rudá e AND 277 foi estimada com base em um conjunto de 126 marcadores microssatélites desenvolvidos pela Embrapa Arroz e Feijão, seguindo a metodologia descrita por Grisi et al. (2007), e com um grupo de 677 marcadores SNPs desenvolvidos por Souza et al. (2012), conforme metodologia descrita por estes autores.

Resultados e Discussão

As reações apresentadas por Rudá e AND 277 aos patótipos de *P. griseola*, *C. lindemuthianum* e *U. appendiculatus* são apresentadas na Tabela 1. AND 277 confirmou-se como uma variedade resistente à mancha-angular, sendo resistente a todos os patótipos testados. Este genitor também mostrou ser uma importante fonte de resistência à antracnose e à ferrugem, sendo suscetível apenas aos patótipos 7, 55 e 87 de *C. lindemuthianum*, e 29-3 de *U. appendiculatus*. Já a variedade Rudá foi suscetível a maioria dos patótipos com os quais foi testada, sendo resistente apenas ao patótipo 71 de *C. lindemuthianum*. As análises moleculares também evidenciaram a existência de ampla variabilidade genética entre Rudá e AND 277. A distância genética entre estes genitores, estimada com base no conjunto de 126 marcadores microssatélites, foi de 78,6%, e de 71,3% com base nas análises usando os 677 marcadores SNPs. As reações diferenciais apresentadas frente aos diferentes patógenos avaliados corroboram o contraste fenotípico que estes genitores apresentam para várias características agrônomicas e morfológicas. Além disso, demonstram a possibilidade de mapeamento genético dos genes de resistência às três doenças estudadas presentes em AND 277.

Em virtude da recente disponibilização dos dados de sequenciamento do genoma do feijão, um grande número de marcadores moleculares, sobretudo marcadores microssatélites e SNPs, está sendo desenvolvido e disponibilizado para a comunidade científica (Barros & Souza, 2012). Neste sentido, o mapeamento fino de genes e QTLs candidatos se tornará um processo cada vez mais rápido, viável e altamente demandado, tornando premente a necessidade de se desenvolver e disponibilizar um mapa genético adequado para o feijoeiro comum.

Sementes das RILs Rudá x AND 277 estão disponíveis para intercâmbio com outros grupos de pesquisa que possuam interesse em utilizá-las, podendo ser solicitadas junto à Embrapa Arroz e Feijão. Espera-se que o uso cooperativo destas RILs como uma população de mapeamento consenso possa fomentar o desenvolvimento de um mapa genético robusto e suficientemente saturado para a espécie *P. vulgaris*.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Viçosa e à Embrapa Arroz e Feijão, por oportunizarem o desenvolvimento do presente trabalho, ao CNPq, à CAPES e à Fapemig, pelo apoio financeiro na forma de fomento a projetos de pesquisa e bolsas de iniciação científica, mestrado, doutorado e produtividade.

Tabela 1. Reação das variedades de feijoeiro comum Rudá e AND 277 a patótipos dos fungos *Pseudocercospora griseola*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Uromyces appendiculatus*, agentes causais da mancha-angular, antracnose e ferrugem, respectivamente

Doença	Patógeno	Patótipo	Reação ^a	
			Rudá	AND 277
Mancha-angular	<i>Pseudocercospora griseola</i>	7-15 ^b	S	R
		15-7 ^b	S	R
		23-23 ^b	S	R
		31-7 ^b	S	R
		47-39 ^b	S	R
		63-6 ^b	S	R
		63-7 ^b	S	R
		63-23 ^b	S	R
		63-31 ^b	S	R
		63-47 ^b	S	R
		63-63 ^b	S	R
Antracnose	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	7 ^c	S	S
		8 ^c	S	R
		9 ^c	S	R
		55 ^c	S	S
		64 ^c	S	R
		65	S	R
		71 ^c	R	R
		72 ^c	S	R
		73	S	R
		77	S	R
		81	S	R
		87 ^c	S	S
		89	S	R
453 ^c	S	R		
1609	S	R		
2047 ^c	S	R		
Ferrugem	<i>Uromyces appendiculatus</i>	21-3	S	R
		29-3	S	S
		53-19	S	R

^aResistente (R) e suscetível (S). ^bResultados obtidos por Balbi et al. (2009). ^cResultados obtidos por Arruda (2009).

Referências

- Arruda KMA (2009) **Piramidação de genes de resistência à antracnose, ferrugem e mancha-angular e estudos de alelismo em feijão comum**. Universidade Federal Viçosa, Viçosa (Tese D.Sc.), 129p.
- Balbi BP et al. (2009) Characterization of *Pseudocercospora griseola* isolates collected in the state of Minas Gerais, Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 52**: 56-57.
- Barros EG, Souza TLPO (2012) Biotecnologia na cultura do feijoeiro. In: Cançado GMA, Londe LN (Org.) **Biotecnologia aplicada à agropecuária**. Epamig, Caldas, p. 351-370.
- Blair MW et al. (2003) Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics 107**: 1362-1374.
- Freyre R et al. (1998) Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. **Theoretical and Applied Genetics 97**: 847-856.
- Galeano CH et al. (2009) Single strand conformation polymorphism based SNP and Indel markers for genetic

- mapping and synteny analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Genomics** **10**: 629-642.
- Grisi MC et al. (2007) Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (*Phaseolus vulgaris*) population BAT93 x Jalo EEP558. **Genetics and Molecular Research** **6**: 691-706.
- Nodari RO et al. (1993) Toward an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. **Genetics** **134**: 341-350.
- Ragagnin VA et al. (2009) Development and agronomic performance of common bean lines simultaneously resistant to anthracnose, angular leaf spot and rust. **Plant Breeding** **128**: 156-163.
- Sanglard et al. (2013) Rudá x AND 277 RILs: a potential new core mapping population for common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative** **56**: 23-24.
- Silva LC et al. (2007) Simulation of population size and genome saturation level for genetic mapping of Recombinant Inbred Lines (RILs). **Genetics and Molecular Biology** **30**: 1101-1108.
- Souza TLPO et al. (2012) Single nucleotide polymorphism discovery in common bean. **Molecular Breeding** **30**: 419-428.