

MAPEAMENTO DO GENE DE RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE NA CULTIVAR ANDINA DE FEIJÃO COMUM JALO VERMELHO

Julia Flávia da Costa (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Prof^a Dr^a Maria Celeste Gonçalves Vidigal(Orientador), e-mail mcgvidigal@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / Maringá, PR.

Ciências Agrárias/ Agronomia/ Fitotecnia / Melhoramento vegetal.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., *C. lindemuthianum*, mapeamento.

Resumo

A antracnose, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* é considerado um dos problemas fitossanitários de maior relevância para a cultura de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). A adoção de cultivares resistentes às diversas raças de *C. lindemuthianum* é uma das estratégias mais eficientes para o controle da doença. Diante disso, o objetivo do trabalho foi identificar a posição do gene de resistência à antracnose presente na cultivar Jalo Vermelho, por meio da genotipagem com SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*). Foram desenvolvidas 84 famílias F_{2:3} do cruzamento Jalo Vermelho (R) × Crioulo 159 (S), as quais foram inoculadas com a raça 1545 de *C. lindemuthianum*. Enquanto a avaliação fenotípica foi realizada em famílias F_{2:3}, as respectivas plantas F₂ foram usadas para extração de DNA e genotipagem. DNA de cada genitor (Jalo Vermelho e Crioulo 159) e de plantas F₂ especificamente selecionadas foram genotipadas com marcadores SNPs. A segregação das 84 famílias F_{2:3} se ajusta a segregação 1RR:2RS:1SS, evidenciando a presença de um gene dominante condicionando resistência a raça 1545. Os resultados demonstram também que o gene *Co-12* presente na cultivar Jalo Vermelho está localizado no cromossomo Pv04 em uma região de 9247926 pb delimitado pelos marcadores SNP ss715649768 (11168 pb) e ss715646644 (9259094 pb). Esforços futuros serão destinados a refinar a região de 9247926 pb de forma a delimitar a região específica onde se localiza o gene de resistência *Co-12*.

Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada do gênero *Phaseolus*, sendo uma rica fonte de proteínas, micronutrientes, carboidratos, fibras, moléculas antioxidantes e ácidos fenólicos, compondo a base alimentar de milhões de pessoas (Broughton et al., 2003). No entanto, diversos microrganismos podem afetar a produtividade do feijão comum, causando relevantes perdas se não houver um sistema de manejo adequado. A antracnose é uma das principais doenças que afetam a cultura, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Os danos podem reduzir a produtividade dos grãos, afetar a qualidade e até mesmo

comprometer 100% da produção quando em condições favoráveis. A utilização de cultivares com amplo espectro de resistência às diversas raças de *C. lindemuthianum* é o método mais eficiente e econômico para o controle da doença (Pastor-Corrales 1991).

Ao total, 19 genes de resistência à antracnose de efeito dominante têm sido descritos, advindos tanto do conjunto gênico de feijão comum Andino, quanto Mesoamericano. A cultivar Andina de feijão comum Jalo Vermelho destaca-se entre as cultivares Andinas como uma importante fonte de resistência a várias raças de *C. lindemuthianum* (Gonçalves-Vidigal et al., 2008). A caracterização do gene *Co-12*, presente na cultivar Jalo Vermelho foi realizado por Gonçalves-Vidigal et al. (2008) através de testes de herança e de alélismo. Por outro lado, o mapeamento desse gene de resistência não foi realizado. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi conduzir análises para identificar a posição do gene de resistência à antracnose presente na cultivar Jalo Vermelho, por meio da análise genotípica utilizando marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*).

Materiais e Métodos

O presente estudo foi desenvolvido no Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (Nupagri) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Foram utilizadas plantas provenientes do cruzamento Jalo Vermelho × Crioulo 159. A extração de DNA foi realizada em plantas F_2 , sendo que as respectivas famílias $F_{2:3}$ foram utilizadas para avaliação fenotípica. Ao total, 84 famílias $F_{2:3}$ foram inoculadas com a raça 1545 de *C. lindemuthianum*, sabendo-se que o Jalo Vermelho apresenta resistência a esta raça e Crioulo 159 é suscetível.

Para o preparo do inóculo foi utilizada a metodologia proposta por Cárdenas et al. (1964). As avaliações fenotípicas foram realizadas no sétimo e décimo dia após a inoculação, utilizando a escala de severidade proposta por Pastor-Corrales (1991), em que as notas variam de 1 a 9, sendo as notas de 1 a 3 para plantas consideradas resistentes e notas de 4 a 9 para plantas consideradas suscetíveis. Os dados fenotípicos foram submetidos ao teste do qui-quadrado, sendo que para uma população $F_{2:3}$ a segregação esperada é de 1RR:2Rr:1rr. O teste qui-quadrado foi realizado no software Genes.

A extração de DNA genômico foi realizada utilizando o primeiro trifólio jovem de cada planta F_2 do cruzamento Jalo Vermelho × Crioulo 159. De posse dos dados fenotípicos foram selecionadas 17 famílias homocigotas resistentes e 18 famílias homocigotas suscetíveis para as análises genotípicas utilizando marcadores SNPs.

DNA de cada genitor (Jalo Vermelho e Crioulo 159) e DNA das plantas F_2 que originaram cada uma das 35 famílias selecionadas, como descrito acima, foram genotipados com 5.398 marcadores SNPs com o Illumina BeadChip BARCBEAN6K_3, seguindo o protocolo Infinium HD Assay Ultra. No programa GenomeStudio cada SNP foi checado manualmente para identificar aqueles significativamente associados com o gene *Co-12* presente em Jalo Vermelho. Um SNP foi considerado associado quando apresentou polimorfismo entre Jalo Vermelho (resistente) e Crioulo 159 (suscetível); quando as plantas F_2 resistentes

foram agrupadas ao parental resistente (Jalo Vermelho) e; quando as plantas F_2 suscetíveis foram agrupadas com o parental suscetível (Crioulo 159).

Após selecionar os SNPs potencialmente associados ao gene presente em Jalo Vermelho, os mesmos foram analisados e comparados ao genoma de referência do *Phaseolus vulgaris* V. 1.0 para determinar a posição física onde o gene está localizado.

Resultados e discussão

A cultivar Andina Jalo Vermelho é resistente à raça 1545 de *C. lindemuthianum*. Em contrapartida, a cultivar Mesoamericana Crioulo 159 apresentou suscetibilidade para a mesma raça. A segregação observada nas 84 famílias $F_{2:3}$ inoculadas com a raça 1545 se ajusta a segregação 1RR:2RS:1SS com um qui-quadrado igual a 0,285, evidenciando a presença de um gene dominante de resistência a raça 1545 de *C. lindemuthianum*.

A Figura 1 mostra uma representação gráfica do cromossomo Pv04 delimitado pelo marcador ss715649768 a 11168 pb no início do cromossomo e pelo marcador SNP ss715646644 no final do cromossomo na posição de 9259094 pb. Os resultados demonstram que o gene *Co-12* presente na cultivar Jalo Vermelho está localizado no cromossomo Pv04 em uma região de 9247926 pb delimitado pelos marcadores SNP ss715649768 (11168 pb) e ss715646644 (9259094 pb). Assim, verifica-se que o gene *Co-12* encontra-se no início do cromossomo.

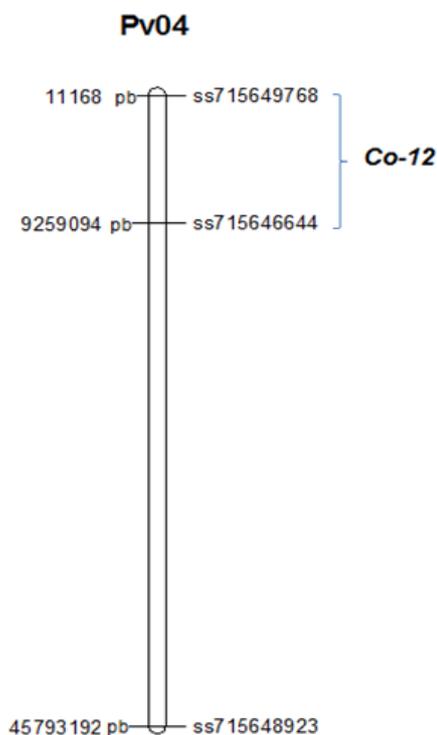


Figura 1 – Representação física do cromossomo Pv04 em pares de base do *Phaseolus vulgaris* mostrando a localização do gene *Co-12* da cultivar Jalo vermelho entre os marcadores SNP ss715649768 e ss715646644.

Vale salientar que a extremidade superior do Pv04 possui um dos *clusters* de resistência mais importantes no feijão comum, o qual reúne vários genes de resistência a antracnose de origem tanto Andina quanto Mesoamericana (Geffroy et al., 2009). Frente a isso, esforços futuros serão destinados a refinar a região de 9247926 pb identificada nesse trabalho, de forma a delimitar a região específica onde se localiza o gene de resistência *Co-12* e identificar marcadores moleculares potenciais que podem ser utilizados para seleção assistida de progênies resistentes.

Conclusões

Os resultados obtidos evidenciando a presença de um gene dominante (*Co-12*) condicionando resistência à raça 1545 na cultivar Jalo Vermelho. O gene *Co-12* presente na cultivar Jalo Vermelho está localizado no cromossomo Pv04 em uma região de 9247926 pb delimitado pelos marcadores SNP ss715649768 (11168 pb) e ss715646644 (9259094 pb).

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e ao Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (Nupagri) da Universidade Estadual de Maringá por possibilitar o desenvolvimento do presente estudo.

Referências

BROUGHTON, W.J. et al. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant and Soil**, 252:55-128, 2003.

CÁRDENAS, F. et al. The genetic system for reaction of field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to infection by three physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Euphytica**, 13:178-186, 1964.

GEFFROY, V. et al. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 12:774-784, 1999.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C. et al. A new gene conferring resistance to anthracnose in Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar “Jalo Vermelho.” **Plant Breeding**, 127:592–596, 2008.

PASTOR-CORRALES, M.A. Estandarización de cultivares diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, 81:694, 1991.