

Introgessão assistida por marcadores de genes de resistência às cercosporioses em linhagens de amendoim

Submetido - 21 jul. 2021

Aprovado - 01 out. 2021

Publicado - 22 out. 2021



[http://dx.doi.org/10.52755/sas.v.2i\(edesp1\)149](http://dx.doi.org/10.52755/sas.v.2i(edesp1)149)

Taís de Moraes Falleiro Suassuna

Programa de Melhoramento do Amendoim – Embrapa, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: tais.suassuna@embrapa.br.

Adriana Regina Custódio

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. E-mail: custodiosjs@gmail.com.

Jair Heuert

Programa de Melhoramento do Amendoim – Embrapa, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: jair.heuert@embrapa.br.

Nelson Dias Suassuna

Núcleo Cerrado – Embrapa Algodão, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: nelson.suassuna@embrapa.br.

Márcio de Carvalho Moretzsohn

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. E-mail: marcio.moretzsohn@embrapa.br.

Maxuel Fellipe Nunes Xavier

Discente de Agronomia do IFMT Campus São Vicente – Centro de Referência de Campo Verde, Campo Verde, MT. E-mail: maxuelfellipe90@gmail.com.

RESUMO

As cercosporioses estão entre as principais doenças foliares do amendoim, comprometendo a produtividade das lavouras. O controle químico com fungicidas é a principal tática de manejo desta doença, uma vez que a resistência, quando encontrada no amendoim cultivado, é apenas moderada. Entre as espécies silvestres com maiores níveis de resistência, *Arachis cardenasii* tem tido destaque, gerando linhagens e cultivares resistentes em diversos países, embora *A. batizocoi* e *A. magna* também possam contribuir para elevar os níveis atuais de resistência. Este trabalho teve como objetivo avaliar a resistência às cercosporioses de 45 progênies e linhagens derivadas de *A. batizocoi* e *A. magna* combinadas com *A. cardenasii*, sendo testemunhas as cultivares BRS 421 OL e IAC OL3. Foi empregado o delineamento em blocos incompletos, em dois ensaios: primeiro ensaio composto por 12 genótipos avaliados em blocos completos casualizados com três repetições; segundo ensaio sem delineamento, composto por 35 genótipos. A severidade foi avaliada em campo, sob alta pressão de cercosporioses, sem controle com fungicidas, por meio de escala de notas. Os dados foram analisados como delineamento em blocos incompletos-grupos de experimentos por meio de modelos mistos (REML/BLUP). Foi observada resistência completa às cercosporioses (nota 1) na linhagem F4 2020-3108. Outras seis linhagens tiveram valores de severidade inferiores ou iguais a 2. Todas estas linhagens de pré-melhoramento foram selecionadas na safra 2019-20 em progênies interespecíficas e genotipadas com marcadores moleculares ligados a QTLs associados à resistência oriunda de *A. cardenasii*. No entanto, características agrônomicas como tamanho das sementes, ciclo e hábito de crescimento ainda não são adequadas para o cultivo comercial, havendo a necessidade de novo ciclo de hibridação com cultivares e linhagens produtivas, visando ao desenvolvimento de cultivares com maiores níveis de resistência. Foram identificadas seis linhagens de pré-melhoramento com altos níveis de resistência às cercosporioses, provenientes das espécies *A. cardenasii*, *A. magna*, e *A. batizocoi*.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L.; resistência a doenças; pré-melhoramento; *A. cardenasii*.

Este é um trabalho de acesso aberto e distribuído sob os Termos da Creative Commons Attribution Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International.



Introgression of leaf spots resistance genes in peanut lines using molecular markers

ABSTRACT

Leaf spots are among the main foliar disease of peanut crop, leading to an expensive management with fungicides sprays to avoid yield losses. However, some wild species are source of resistance genes, as for example *Arachis cardenasii*. Here we describe the evaluation of 45 peanut progenies and lines and the selection of six peanut lines related to the wild species *Arachis batizocoi*, *A. magna* and *A. cardenasii*. The cultivars BRS 421 OL and IAC OL3 were used as susceptible checks. We evaluated two experiments: one with 12 genotypes, under complete random block design with three replications; another with 35 genotypes with incomplete block design. No fungicides were sprayed in the experimental area; the severity in the checks was very high. The leaf spots resistance was evaluated with a severity scale (1 to 9) and the data evaluated under incomplete block design-group of experiments using the mixed model (REML/BLUP). The F4 line 2020-3108 was evaluated with complete resistance (rate 1), and other six lines were evaluated with severity values under rate 3. All these lines were selected in interspecific progenies evaluated in 2019-20 for leaf spots resistance, genotyped with molecular markers to detect genes associated with resistance derived from *A. cardenasii*. Despite the resistance to leaf spots, all these lines need improvement for agronomic traits, and will be used as donor of leaf spots resistance in crossings with high yielding lines and cultivars, in order to select peanut cultivars with higher levels of resistance to leaf spots. Six pre-breeding strains with high levels of resistance to brown eye spot were identified, originating from the species *A. cardenasii*, *A. magna*, and *A. batizocoi*.

Keywords: *Arachis hypogaea* L.; disease resistance; pre-breeding; *A. cardenasii*.

Introgresión de genes de resistencia a la viruela en maní asociados a marcadores moleculares

RESUMEN

La viruela es la enfermedad de mayor impacto en maní en Brasil, lo que requiere, por lo tanto, un control químico con fungicidas para evitar pérdidas de producción. Algunas especies silvestres del género *Arachis* muestran resistencia a la viruela, siendo fuentes de genes de resistencia a la introgresión en el maní cultivado. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a la viruela de 45 progenies y líneas derivadas de *A. cardenasii* en combinación con cepas y monitorear segmentos genómicos de especies silvestres, posiblemente con genes de resistencia a la viruela. Fueron evaluados dos ensayos: uno con 15 genotipos dispuestos en un diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones; otro con 35 genotipos dispuestos en un diseño de bloques incompletos. Las progenies y líneas se probaron en condiciones de alta presión de inóculo de cercosporiosis, sin control con fungicidas y tenían un desarrollo vegetativo normal. La resistencia de los genotipos a la viruela fue evaluada de acuerdo a la escala de 1 (sin síntomas) a 9 (defoliación completa de las plantas). La línea F4 2020-3108 mostró resistencia completa a la viruela. Otras seis líneas obtuvieron resistencia con evaluación debajo de 3. Todas las líneas con mayores niveles de resistencia fueron seleccionadas en la safra 2019-20, in progenies con resistencia moderada y con marcadores moleculares asociados a genes de resistencia a viruela in homocigosis o heterocigosis. Se identificaron seis líneas con mayores niveles de resistencia a la viruela, pero non aptas al cultivo. Estas líneas serán usadas en cruzamientos como fuentes de genes de resistencia a viruela con líneas e cultivares de maní con alta producción para desenvolver cultivares con mayores niveles de resistencia a la viruela. Se identificaron seis cepas premejoras con altos niveles de resistencia a la mancha ocular marrón, originarias de las especies *A. cardenasii*, *A. magna* y *A. batizocoi*.

Palabras clave: *Arachis hypogaea* L.; resistencia a enfermedades; pre-mejoramiento; *Arachis cardenasii*.

Introdução

As cercosporioses são consideradas as principais doenças foliares do amendoim (*Arachis hypogaea* L.), ocorrendo de maneira generalizada em todas as áreas de produção e exigindo um rigoroso controle químico com fungicidas, para evitar a desfolha e a redução da produtividade (SUASSUNA *et al.*, 2015). A mancha castanha, causada por *Passalora arachidicola* (Hori) U. Braun (teleomorph: *Mycosphaerella arachidis* Deighton), e a pinta preta ou mancha preta, causada por *Passalora personata* (Berk. & M.A. Curtis) S.A. Khan & M. Kamal (teleomorph: *Mycosphaerella berkeleyi* W.A. Jenkins) ocorrem simultaneamente nas lavouras, com predomínio de mancha castanha no início do ciclo e de pinta preta ao final. A herança da resistência para estas doenças é complexa e os níveis de resistência encontrados na espécie cultivada são moderados (HOLBROOK *et al.*, 2014).

No entanto, o gênero *Arachis*, composto por mais de 80 espécies, possui espécies diploides relacionadas ao amendoim cultivado que são reconhecidas pelos maiores níveis de resistência às cercosporioses, em especial *A. cardenasii* (STALKER, 2017). Para viabilizar a hibridação entre a espécie cultivada, que é alotetraploide, e as espécies silvestres (diploides), são utilizados poliploides induzidos (SUASSUNA *et al.*, 2020), combinando duas espécies silvestres com genomas complementares aos genomas do amendoim cultivado. Ainda, marcadores moleculares associados aos genes de resistência à mancha preta oriundos de *A. cardenasii*, têm sido utilizados em seleção assistida por marcadores (SAM) pelos Programas de Melhoramento no Brasil e EUA para acelerar o processo de seleção de linhagens com elevados níveis de resistência às cercosporioses (CLEVENGER *et al.*, 2017; SUASSUNA *et al.*, 2020; LAMON *et al.*, 2020).

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a resistência às cercosporioses de progênies e linhagens derivadas das espécies *A. magna*, *A. batizocoi* e *A. cardenasii* em cruzamentos com linhagens desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento do Amendoim da Embrapa, bem como realizar SAM com marcadores moleculares associados aos putativos genes de resistência provenientes de *A. cardenasii*.

Material e métodos

Na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram desenvolvidos dois tetraploides induzidos, combinando as espécies *A. batizocoi* x *A. cardenasii* (batcar) e *A. magna* x *A. cardenasii* (magcar), por meio da via tetraploide (FÁVERO *et al.*, 2015). Os tetraploides induzidos foram utilizados em hibridação com cultivares e linhagens de amendoim do tipo “Runner”, com alto teor de ácido oleico. Os híbridos F₁ e algumas plantas F₂ e F₃ foram analisadas com marcadores microssatélites e/ou Kasp associados a locos de características quantitativas (QTLs) de resistência a pinta preta e ferrugem provenientes de *A. cardenasii* (dados não publicados). Plantas resultantes de autofecundação foram descartadas e as plantas contendo os locos de interesse em cada geração foram utilizadas para gerar populações das quais foram selecionadas as linhagens de pré-melhoramento avaliadas neste trabalho. Além disso, 14 plantas F₂ foram genotipadas usando o chip Axiom v.1 da Affymetrix com cerca de 58.000 marcadores SNPs (PANDEY *et al.*, 2017).

Na safra 2019/20, as progênies F₃ derivadas das plantas F₂ com marcadores associados aos genes de resistência às cercosporioses foram avaliadas em campo, sendo selecionadas as mais resistentes, bem como também foi realizado novo ciclo de seleção dentro das progênies, resultando na seleção de plantas que geraram novas progênies F₄.

Na safra 2020/21, 45 progênies e linhagens, em F₃ ou F₄, derivadas de *A. batizocoi* e *A. magna* combinadas com *A. cardenasii*, selecionadas na safra 2019/20, foram avaliadas quanto à resistência às cercosporioses, com as cultivares BRS 421 OL e IAC OL3 usadas como testemunhas. O experimento foi instalado na área experimental da Embrapa Arroz e Feijão, com semeadura manual realizada no dia 7 de dezembro de 2020. Foi empregado o delineamento em blocos incompletos, considerando dois ensaios formando um grupo de experimentos: o primeiro ensaio era composto por 12 genótipos avaliados em blocos completos casualizados com três repetições; o segundo ensaio, sem delineamento, era composto por 35 genótipos. As parcelas foram compostas por duas linhas de três metros

de comprimento, espaçadas em 0,90 metro, com intervalo de dois metros entre blocos. O manejo de plantas daninhas e a adubação seguiram as recomendações de cultivo do amendoim. Fungicidas não foram aplicados, visando favorecer a ocorrência de cercosporioses. O estande médio foi de 15 plantas por metro linear.

A avaliação foi realizada em campo, sob alta pressão de inóculo de cercosporioses, em 20 de maio de 2021, aos 163 dias. A severidade foi avaliada por meio de escala de notas de 1-sem sintomas a 9-desfolha completa (SUBRAHMANYAM *et al.*, 1982) e os dados avaliados como delineamento em blocos incompletos-grupos de experimentos por meio de modelos mistos (REML/BLUP) utilizando o software Selegen (RESENDE, 2016).

Resultados e discussão

As condições ambientais foram favoráveis ao desenvolvimento das plantas e a pressão de inóculo das cercosporioses foi alta, com predomínio de pinta preta. Houve diferença significativa entre os tratamentos para severidade de cercosporioses (**Tabela 1**), com acurácia elevada (0,95), CV = 16,9 e média geral 4,72.

Os valores genotípicos de severidade variaram de 7,15 (BRS 421 OL) a 1,4 (linhagem 3108 OL). Sete linhagens tiveram valores genotípicos de severidade inferiores a quatro, considerando o limite superior do intervalo de confiança (LSIC): 3108 OL, 3109, 3105, 3104 OL, 3103, 3102 e 3088 OL. Para fins de seleção para resistência, este valor equivale a selecionar genótipos com lesões nas folhas inferiores e intermediárias, havendo alta severidade nas folhas inferiores e desfolha evidente de folíolos na parte inferior.

A linhagem 3108 OL teve LSIC inferior a três, equivalendo à severidade descrita como predominância de lesões nas folhas inferiores com algumas lesões nas folhas intermediárias, havendo pouca desfolha na parte inferior da planta. Esta linhagem foi selecionada na safra 2019/20 na progênie 19-2671, tendo severidade inferior a cinco (lesões em todas as

folhas inferiores e intermediárias; mais de 50% de desfolha na parte inferior) e que possuía todos os marcadores associados aos genes de resistência, localizados nos cromossomos A02 e A03, oriundos de *A. cardenasii*, entretanto, em condição de heterozigose. Essa linhagem está sendo genotipada com marcadores Kasp, para avaliar a presença desses marcadores, que, agora em F₄, já podem estar fixados em homozigose, o que confere maior resistência.

Tabela 1 – Valor genotípico da severidade de cercosporioses (VG), limites inferior (LIIC) e superior (LSIC) do intervalo de confiança, e média fenotípica (M Fenot) em progênies e linhagens interespecíficas de amendoim, Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO, safra 2020-21.

Genótipo	VG	LIIC	LSIC	M Fenot	Genótipo	VG	LIIC	LSIC	M Fenot
3108 OL	1,40	-0,10	2,90	1,00	19-2677	4,98	3,71	6,25	4,67
3109	2,22	0,72	3,72	2,00	3090	5,50	4,00	7,00	6,00
3105	2,22	0,72	3,72	2,00	19-2687	5,50	4,00	7,00	6,00
3104 OL	2,22	0,72	3,72	2,00	19-2686	5,50	4,00	7,00	6,00
3103	2,22	0,72	3,72	2,00	19-2685	5,50	4,00	7,00	6,00
3102	2,22	0,72	3,72	2,00	19-2679	5,50	4,00	7,00	6,00
3088 OL	2,49	1,22	3,76	2,00	19-2678	5,50	4,00	7,00	6,00
19-2673	2,80	1,53	4,07	2,33	19-2675	5,60	4,33	6,87	5,33
3096	3,04	1,54	4,54	3,00	19-2674	5,91	4,64	7,18	5,67
19-2680	3,04	1,54	4,54	3,00	3099	6,22	4,95	7,49	6,00
3091	3,74	2,47	5,00	3,33	19-2689	6,22	4,95	7,49	6,00
19-2683	3,74	2,47	5,00	3,33	3101	6,32	4,82	7,82	7,00
19-2671	3,74	2,47	5,00	3,33	3098	6,32	4,82	7,82	7,00
3112	3,86	2,36	5,36	4,00	3094	6,32	4,82	7,82	7,00
3111	3,86	2,36	5,36	4,00	3093	6,32	4,82	7,82	7,00
3106	3,86	2,36	5,36	4,00	3092	6,32	4,82	7,82	7,00
19-2694	3,86	2,36	5,36	4,00	19-2693	6,32	4,82	7,82	7,00
3110	4,05	2,78	5,32	3,67	19-2692	6,32	4,82	7,82	7,00
3107	4,68	3,18	6,18	5,00	19-2690	6,32	4,82	7,82	7,00
3100	4,68	3,18	6,18	5,00	19-2688	6,32	4,82	7,82	7,00
3097	4,68	3,18	6,18	5,00	19-2676	6,32	4,82	7,82	7,00
3095	4,68	3,18	6,18	5,00	IAC OL3	6,93	5,74	8,12	7,50
19-2682	4,68	3,18	6,18	5,00	BRS 421 OL	7,15	5,88	8,42	7,00
19-2681	4,68	3,18	6,18	5,00	-	-	-	-	-
Acurácia					0,95				
CV					16,9				
Média Geral					4,72				

A linhagem 3088 OL também foi genotipada com esses marcadores e apresenta os alelos de resistência de *A. cardenasii* em homozigose no cromossomo A02 e em heterozigose, no A03.

A análise das 14 plantas F₂ com o chip Axiom mostrou que as três plantas descendentes do anfidiplóide *A. magna* x *A. cardenasii* possuíam os genes de resistência dos cromossomos A02 e A03, embora a maioria em heterozigose. Dentre as 11 plantas descendentes do anfidiplóide *A. batizocoi* x *A. cardenasii*, três possuíam os genes de A02 e seis, do A03, muitos também em heterozigose. Essa análise permitiu ainda monitorar os segmentos silvestres introgrididos nos demais cromossomos, visando à recuperação mais rápida e eficiente do genoma do amendoim cultivado.

A utilização dos poliploides sintéticos combinando as espécies *A. magna*, *A. batizocoi* e *A. cardenasii* viabilizou a seleção de linhagens de pré-melhoramento, com níveis elevados de resistência às cercosporioses, com várias características agronômicas semelhantes ao amendoim cultivado, mas ainda sem aptidão para uso como cultivar.

Este germoplasma será utilizado no programa de melhoramento do amendoim da Embrapa, para a geração de novas populações segregantes, visando ao desenvolvimento de cultivares resistentes com boas características agronômicas.

Conclusões

Foram identificadas seis linhagens de pré-melhoramento com altos níveis de resistência às cercosporioses, provenientes das espécies *A. cardenasii*, *A. magna*, e *A. batizocoi*.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte institucional e financeiro da Embrapa, vinculado ao Programa de Melhoramento do Amendoim da Embrapa (SEG 20.18.01.021.00).

Referências

CLEVENGER, J.; CHU, Y.; CHAVARRO, C.; AGARWAL, G.; BERTIOLI, D. J.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; PANDEY, M. K.; VAUGHN, J.; ABERNATHY, B.; BARKLEY, N. A.; HOVAV, R.; BUROW, M.; NAYAK, S.N.; CHITIKINENI, A.; ISLEIB, T. G.; HOLBROOK, C. C.; JACKSON, S. A.; VARSHNEY, R. K.; OZIAS-AKINS, P. Genome-wide SNP genotyping resolves signatures of selection and tetrasomic recombination in peanut. **Molecular Plant**, v. 10, p. 309–322, 2017.

FÁVERO, A. P.; SANTOS, R. F.; SIMPSON, C. E.; VALLS, J. F. M.; VELLO, N. A. Successful crosses between fungal-resistant wild species of *Arachis* (section *Arachis*) and *Arachis hypogaea*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, n. 3, p. 353-365, 2015.

HOLBROOK, C. C.; BRENNEMAN, T. B.; STALKER, H. T.; JOHNSON III, W. C.; OZIAS-AKINS, P.; CHU, Y.; VELLIDIS, G.; MCCLUSKY, D. Peanut. In: SMITH, S.; DIERS, B.; SPECHT, J.; CARVER, B. (Eds.). **Yield gains in major U.S. field crops**. CSSA Special Publication 33, Madison, 2014. p. 173-194.

LAMON, S.; CHU, Y.; GUIMARAES, L. A.; BERTIOLI, D. J.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; SANTOS, J. F.; GODOY, I. J.; CULBREATH, A. K.; HOLBROOK, C. C.; OZIAS-AKINS, P. Characterization of peanut lines with interspecific introgressions conferring late leaf spot resistance. **Crop Science**, v. 61, n. 3, p. 1724-1738, 2020.

PANDEY, M. K.; AGARWAL, G.; KALE, S. M.; CLEVENGER, J.; NAYAK, S. N. et al. Development and evaluation of a high-density genotyping array with 58K SNPs for accelerating genetics and breeding in groundnut. **Nature Scientific Reports**, v. 7, 40577, 2017.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 330-339, 2016.

STALKER, H. T. Utilizing wild species for peanut improvement. **Crop Science**, v. 57, n. 3, p. 1102-1120, 2017.

SUASSUNA, T. M. F.; SUASSUNA, N. D.; MARTINS, K.; MATOS, R.; HEUERT, J.; BERTIOLI, D.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; MORETZSOHN, M. C. Broadening the Variability for Peanut Breeding with a Wild Species-Derived Induced Allotetraploid. **Agronomy**, v. 10, p. 1917, 2020.

SUBRAHMANYAM, P.; MCDONALD, D.; GIBBONS, R. W.; NIGAM, S. N.; NEVILL, D. J. Resistance to rust and late leaf spot diseases in some genotypes of *Arachis hypogaea*. **Peanut Science**, v. 9, p. 9-14, 1982.