

## IDENTIFICAÇÃO DO GENE DE RESISTÊNCIA À BRUSONE *Pi-1* EM CULTIVARES DE ARROZ UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Mariluci Souza Disconzi <sup>(1)</sup>, João L. N. Maciel <sup>(2)</sup>, Klaus K. Scheurmann <sup>(1)</sup>, Marcelo Gravina de Moraes <sup>(1)</sup>. 1. Faculdade de Agronomia/UFRGS Caixa Postal 776, CEP 90001-970-Porto Alegre-RS, E-mail: disconzi@zipmail.com.br. 2. IRGA/EEA. Caixa Postal 29, CEP 94930-030-Cachoeirinha, RS.

Um dos graves obstáculos para a manutenção da produtividade do arroz reside na suscetibilidade das cultivares atualmente em uso à brusone. Considerada a doença mais importante da cultura devido ao seu grande potencial destrutivo, é causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, que ataca folhas, nós dos colmos e diferentes partes da panícula, podendo ocasionar perdas completas na colheita. O uso de cultivares resistentes é o método mais econômico e viável para o manejo da doença, entretanto a resistência das cultivares tem sido perdida devido a variabilidade genética de *P. grisea*. Além disso, há uma grande dificuldade para os programas de melhoramento genético em acompanhar mudanças nas frequências gênicas da população do patógeno, pois os métodos de seleção baseiam-se principalmente em características fenotípicas da planta. A pesquisa tem por objetivo a identificação de genes que confirmam uma resistência mais durável à brusone. Marcadores moleculares baseados em seqüências de DNA de microssatélites com localização cromossomal próximo a genes de resistência podem ser utilizados em programas de melhoramento para auxiliar o desenvolvimento de cultivares resistentes. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi a identificação do gene de resistência *Pi-1* em cultivares e linhagens do banco de germoplasma de arroz do IRGA utilizando o marcador microssatélite RM 254, que se encontra a uma distância genética de 0,3 (cM) do gene de resistência *Pi-1*.

Foram selecionadas 200 cultivares e linhagens de arroz com resposta diferencial à *P. grisea* nos viveiros de infecção conduzidos em Torres na safra 1999/2000. Cinquenta sementes de cada cultivar foram colocadas para geminar em caixas tipo gerbox e incubadas a 28°C. Após 7 dias, coleótilos e radículas foram coletados para extração do DNA utilizando o método "Plant DNAzol" (Gibco BRL). O DNA extraído foi submetido a uma reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificar a seqüência do microssatélite RM 254. As condições da PCR e a composição da reação foi elaborada conforme protocolo definido por McCouch (1994) e os produtos da PCR obtidos foram separados por eletroforese em gel de seqüenciamento. As cultivares que apresentaram o mesmo padrão molecular da linhagem quase-isogênica 6 (NIL6), que contém o gene de resistência *Pi-1*, foram submetidas ao teste de patogenicidade conforme Levy et al. (1993). Foram inoculados 10 isolados de *P. grisea*, que caracterizam os 5 padrões moleculares representativos da população do patógeno no Estado do Rio Grande do Sul e as reações foram avaliadas conforme a escala de severidade do IRRI (1996).

Entre as 200 cultivares e linhagens analisadas, 21 apresentaram padrão molecular da NIL6, sugerindo a presença do gene *Pi-1*. O teste de patogenicidade revelou 17 cultivares e linhagens resistentes a maioria dos isolados utilizados, e 3 cultivares suscetíveis (Tabela 1). A ocorrência de suscetibilidade nestes 3 casos pode ser devido a eventos de recombinação entre o marcador e o gene de resistência, mutações no gene ou ainda falta de especificidade entre o gene *Pi-1* e os isolados utilizados. A análise dos perfis eletroforéticos do microssatélite RM-254 apresentou 8 alelos diferentes nas 200 cultivares e linhagens analisadas demonstrando a variabilidade genética existente no banco de germoplasma do IRGA para a região próxima ao gene de resistência *Pi-1*.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o marcador microssatélite RM 254 pode ser utilizado em programas de melhoramento para a seleção de genótipos de arroz que contenham o gene de resistência *Pi-1*. A próxima etapa do trabalho constará da identificação de outros genes de resistência, tais como *Pi-2* e *Pi-11*, que em conjunto com o gene *Pi-1* contribuem para a resistência às diferentes linhagens do patógeno que são predominantes no sul do Brasil. O resultado esperado deste estudo, é a geração de um

método eficiente para determinar se uma linhagem de arroz contém os genes de resistência contra às raças específicas de *P. grisea* e a posterior incorporação destes genes em cultivares de elite através do melhoramento assistido por marcadores moleculares. Em decorrência disto, a pirimidização destes genes identificados tornar-se-ia uma estratégia viável na tentativa da manutenção da resistência nas cultivares lançadas pelo programa de melhoramento do IRGA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LEVI, M.; CORRÊA-VICTORIA, F.S.; ZEIGLER, R.S., et al. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. *Phytopathol.*, St. Paul, v.83, p.1427-1433, 1993.

McCOUCH, S.R.; NELSON, R.J.; TOHME, J., et al. Mapping of blast resistance genes in rice. In: ZEIGLER, R.S.; LEONG, S.A.; TENG, P.S. (Eds) Rice blast disease. Manila: Cab International, 1994. p.167-186.

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, Manila. Standard Evaluation System for Rice, Manila, 1996.

Tabela 1 - Avaliação da reação das cultivares e linhagens de arroz com relação aos diferentes isolados inoculados

Plantas selecionadas	Isolados utilizados									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
NIL 6	-*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fanny	+**	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Icta Quirigua	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irga 370-38-1-2-1F-2D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irga 421	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
IAC 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CT 10471-5-5I-5I-1I-3I-MI-6P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
368060-M (Guatemala)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IR 60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuiabana	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
Irga 653-7-3-F-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epagri 107	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
BG 1639	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epagri 106	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
CT 9145-4-21-5P-1-MI-F8-3P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irga 417	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AY 223	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CT 12376-22-1P-M-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irga 1572-2-2-2-4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irga 976-2-3-1F-3-2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
CT 9895-5-3-M-4-1P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CT 12572-4-M-3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

\* - Reação incompatível (resistente)

\*\* + Reação compatível (suscetível)