

PIRAMIDIZAÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA ÀS FERRUGENS EM CEREAIS

PYRAMIDING RESISTANCE GENES TO CEREAL RUSTS

Sandra Cristina Kothe Milach¹ Renata Pereira da Cruz²

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

As ferrugens são as moléstias mais danosas para os cereais, sendo capazes de provocar grandes perdas no rendimento de grãos. O melhoramento de cereais para resistência às ferrugens tem feito uso de um ou poucos genes de grande efeito. Contudo, o curto intervalo de tempo que o patógeno leva para superar este tipo de resistência tem suscitado a questão do uso de estratégias alternativas para aumentar a sua durabilidade. O objetivo desta revisão é discutir aspectos relacionados ao processo de piramidização de genes para prolongar a durabilidade da resistência às ferrugens. A piramidização e a resistência durável são discutidas em relação à efetividade dos genes utilizados e as limitações práticas para o uso desta estratégia. A atual disponibilidade de marcadores de DNA é apontada como uma ferramenta promissora para tornar viável a combinação de vários genes de resistência em um genótipo. Exemplos de resistência durável são apresentados e sua relação com a piramidização de genes de resistência é discutida.

Palavras-chave: *piramidização, resistência durável, marcadores moleculares, seleção assistida.*

SUMMARY

The rusts are the most damaging diseases of cereal crops, being capable of causing big yield losses. Cereal breeding for rust resistance has made use of resistance conditioned by one or few major genes. However, the short time which pathogens break this type of host resistance has raised the question of using alternative strategies to increase resistance durability. The objective of this review is to discuss aspects of the process of pyramiding genes as a way to increase rust resistance durability.

The pyramiding process and durable resistance are discussed in relation to the effectivity of the genes used and the practical limitations of this strategy. The use of DNA markers is pointed as a promising tool for combining several resistance genes in one genotype. Examples of durable resistance are presented and their relation with pyramiding is discussed.

Key words: *pyramiding, durable resistance, molecular markers, assisted selection.*

INTRODUÇÃO

A piramidização de genes de resistência tem sido sugerida como uma estratégia para proporcionar resistência durável a raças virulentas e avirulentas de um patógeno (NELSON, 1978). Piramidização é a acumulação de genes em uma linhagem ou cultivar. Segundo NELSON (1978), uma pirâmide poderia ser construída com genes maiores, menores, inefetivos (patógeno virulento), efetivos (patógeno avirulento), raça-específicos, raça não-específicos ou qualquer outro tipo de gene de resistência.

Apesar da combinação de genes para resistência mais durável não ser uma idéia nova, não há muitos exemplos na literatura de suas aplicações no melhoramento de cereais. Uma possível explicação para este fato é a dificuldade encontrada no processo de combinação de genes diferentes de resistência via

¹Engenheiro Agrônomo, Professor Adjunto, Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves 7712, Caixa Postal 776, 95501-970, Porto Alegre, RS. Autor para correspondência.

²Engenheiro Agrônomo, doutorando em Fitotecnia, Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS.

métodos tradicionais de melhoramento. Se vários genes estão sendo incorporados e todos eles conferem resistência completa ao mesmo patógeno, a presença de um fator de resistência mascara o efeito fenotípico dos demais. Entretanto, marcadores de DNA ligados a genes de resistência permitiriam a identificação das progênes com os genes de resistência desejados. Uma vez que os genes conferindo resistência ao mesmo patógeno são identificados através desta técnica, eles poderiam ser facilmente acumulados num genótipo via seleção assistida por marcadores moleculares. Uma alternativa ao uso da seleção assistida são séries de cruzamentos-teste para determinar a presença dos genes de resistência. Devido ao fato dos marcadores moleculares eliminarem a necessidade da realização de cruzamentos-teste e avaliação da segregação, eles devem beneficiar grandemente os esforços para piramidizar genes de resistência em várias culturas. O objetivo deste trabalho é revisar aspectos importantes referentes à piramidização de genes de resistência às ferrugens em cereais.

O VALOR DA RESISTÊNCIA ÀS FERRUGENS

As ferrugens são moléstias potencialmente danosas aos cereais e têm causado grandes perdas em culturas como o trigo, aveia, cevada e espécies relacionadas. Há muitos exemplos na literatura que ilustram as consideráveis perdas econômicas na produção de cereais devido à infecção por ferrugens. Segundo PRIESTLEY & BAYLES (1988), o valor da resistência a moléstias nas variedades populares de cereais plantadas no Reino Unido representou cerca de 12% do valor total da produção de cereais daquele país em 1983. Este fato decorreu da resistência à ferrugem amarela e ao oídio em trigos de inverno; ao *Rhynchosporium*, à *Pyrenophora*, e ao oídio em cevada de inverno; e ao oídio, à ferrugem amarela e à ferrugem marrom em cevada de primavera.

A ferrugem da folha (causada por *Puccinia coronata* cda. f. sp. *avenae*, Fraser & Led.) e a ferrugem do colmo (causada por *Puccinia graminis* Pers.: Pers. f. sp. *avenae* Eriks. & Henn.) têm sido, historicamente, as moléstias com maior amplitude de distribuição e mais destrutivas para a aveia cultivada (OHM & SHANER, 1992). Estas moléstias causam acamamento e redução no rendimento e na qualidade dos grãos e da forragem. Em cultivares suscetíveis de aveia, perdas acima de 30% no rendimento de grãos foram causadas pela ferrugem da folha em amplas áreas geográficas (ENDO & BOEWE, 1958; FREY *et al.*, 1973; SIMONS *et al.*, 1983). Na região sul do Brasil, MARTINELLI *et al.* (1994) constataram perdas de até 50%

no rendimento de grãos em cultivares de aveia suscetíveis à ferrugem da folha. O uso de variedades resistentes é um método mais favorável de controle sob o ponto de vista ambiental e uma boa alternativa ao uso do controle químico. Entretanto, o melhoramento para resistência às ferrugens está sujeito a vários impecilhos e representa um desafio aos melhoristas.

O DESAFIO DO MELHORAMENTO PARA RESISTÊNCIA ÀS FERRUGENS

Mudanças nas populações predominantes de cereais têm resultado em mudanças subseqüentes nas populações patogênicas associadas a elas, devido às interações gene-a-gene entre hospedeiro e patógeno. Os fungos causadores das ferrugens são parasitas obrigatórios que coexistiram e coevoluíram com seus hospedeiros como componentes de um sistema muito influenciado pelas condições ecológicas. O conceito de coevolução hospedeiro-parasita implica que qualquer constituinte desta associação seja decisivamente influenciado pelo outro (WAHL *et al.*, 1984).

A resistência explorada no melhoramento dos cereais contra os fungos causadores das ferrugens tem sido geralmente a do tipo raça-específica, a qual é caracterizada pela presença de interações genéticas entre genótipos do hospedeiro e do patógeno (PARLEVIET, 1989). Na maioria dos casos, a resistência tem sido atribuída a um ou poucos genes de grande efeito (JONES & CLIFFORD, 1978). Este tipo de resistência é de fácil utilização em programas de melhoramento de cereais, apesar de ser rapidamente superada pela adaptação do patógeno ao seu novo genótipo hospedeiro. Isto tem resultado numa curta vida útil para a maioria das cultivares resistentes e tem feito o melhoramento para resistência durável uma tarefa difícil.

PIRAMIDIZAÇÃO DE GENES PARA RESISTÊNCIA DURÁVEL

De acordo com JOHNSON (1984), a resistência durável a moléstias é aquela que permanece efetiva durante seu prolongado e amplo uso, em ambiente favorável ao desenvolvimento da moléstia.

Essencialmente, dois argumentos têm sido utilizados para explicar a maior estabilidade da resistência de uma pirâmide de genes ao longo do tempo. O primeiro argumento é com respeito a genes de resistência efetivos, ou seja, genes que condicionam resistência a todas as raças existentes. SCHAFER & ROELFS (1985) calcularam que a probabilidade de um patógeno superar a resistência de uma pirâmide

com quatro ou seis genes de resistência é muito baixa. Mutantes virulentos que surgem independentemente devem ser combinados, ou eles devem surgir simultaneamente ou sequencialmente no mesmo isolado. Por outro lado, GOULD (1986), através de modelos de simulação com insetos, sugere que a durabilidade da cultivar piramidizada é aumentada pela adição de algumas plantas totalmente suscetíveis ao sistema, o que reduziria a pressão de seleção sobre o inseto.

O segundo argumento refere-se ao efeito da piramidização de genes de resistência inefetivos, ou seja, que conferem alguma resistência residual. NELSON (1979) argumenta que a resistência decorrente dos efeitos parciais de numerosos genes, exerce pouca pressão de seleção sobre o patógeno e, assim, deve ser mais durável. Apesar deste conceito não ser universalmente aceito, há evidência experimental que suporta a existência de efeitos residuais de resistência em alguns sistemas hospedeiro/parasita (BRODNY *et al.*, 1986; PEDERSEN & LEATH, 1988). Assim, parece que a durabilidade de uma cultivar piramidizada dependerá do número de genes de resistência a ser vencido pelo patógeno (mais genes piramidizados, mais difícil será para o patógeno vencer a resistência) e da pressão de seleção no patógeno (uma maior pressão de seleção aumenta as chances de fixar uma nova mutação virulenta no patógeno).

LIMITAÇÕES DA ESTRATÉGIA DE PIRAMIDIZAÇÃO

Há várias limitações para o uso da estratégia de piramidização. Elas são relacionadas à dificuldade de incorporar muitos genes que conferem resistência ao mesmo patógeno em um genótipo.

De acordo com FEHR (1987), algumas das limitações são:

a) é uma estratégia trabalhosa, isto é, um esforço considerável é requerido para incorporar muitos genes em uma cultivar. Muitos testes são requeridos com diferentes raças para assegurar que cada um dos alelos desejados esteja presente. Uma série de cruzamentos-teste pode ser necessária para determinar a presença dos genes de resistência, o que torna o processo muito trabalhoso;

b) se o método de retrocruzamento é usado para incorporar genes de resistência em um genótipo, o desempenho agrônômico da cultivar piramidizada será restringido ao pai recorrente usado no processo;

c) a resistência da cultivar pode levar à evolução de novas raças virulentas do patógeno, particularmente se os mesmos genes são usados isoladamente em outras cultivares.

Estas limitações dificultaram, no passado, o uso da piramidização como uma alternativa ao melhoramento para resistência durável. Entretanto, a possibilidade de usar marcadores moleculares para monitorar a presença de genes de resistência em um genótipo, levantou novamente a questão do uso desta estratégia no melhoramento para resistência a moléstias. Além de facilitar a identificação dos genes de resistência que são incorporados num genótipo, os marcadores moleculares podem aumentar a velocidade de recuperação do fenótipo do pai recorrente no processo de retrocruzamento. Por estes motivos, o uso da piramidização pode crescer à medida que a seleção assistida por marcadores moleculares se torne parte dos programas de melhoramento.

MARCADORES MOLECULARES ASSOCIADOS A GENES DE RESISTÊNCIA EM CEREAIS

Em muitas espécies vegetais os avanços na biologia molecular possibilitaram o estabelecimento de mapas genéticos saturados com um grande número de marcadores moleculares (FERREIRA & GRATTA-PAGLIA, 1995). Estes mapas facilitaram a identificação de marcadores moleculares associados a genes que conferem resistência a moléstias.

Vários marcadores moleculares associados a genes de resistência têm sido descritos na literatura. Em trigo, marcadores associados a genes de resistência à ferrugem da folha foram relatados (AUTRIQUE *et al.*, 1995; SCHACHERMAYR *et al.*, 1995), assim como a genes de resistência à ferrugem do colmo (PAULL *et al.*, 1994) e ao oídio (MA *et al.*, 1994; HARTL *et al.*, 1995). Em aveia, foram encontrados marcadores para genes de resistência à ferrugem da folha (PENNER *et al.*, 1993; BUSH *et al.*, 1994; ROONEY *et al.*, 1994) e à ferrugem do colmo (HOWES *et al.*, 1992; PENNER *et al.*, 1993; CHONG *et al.*, 1994). Em cevada, foram encontradas associações entre marcadores moleculares e genes de resistência à ferrugem amarela (CHEN *et al.*, 1994) e resistência poligênica ao oídio (SAGHAI-MAROOF *et al.*, 1994).

Além do uso na seleção assistida, as associações entre genes de resistência e marcadores moleculares têm sido utilizadas no mapeamento destes genes em grupos de ligação específicos, como foi feito para genes de resistência à ferrugem da folha da aveia (ROONEY *et al.*, 1994; RAYAPATI *et al.*, 1994) e para resistência do tipo quantitativa ao oídio da cevada (HEUN, 1992). Isto é importante porque, o conhecimento da localização dos genes de resistência no genoma da planta, permite que mais marcadores

possam ser detectados em associação com o gene de interesse, aumentando a precisão na seleção assistida.

As vantagens do uso de marcadores moleculares na seleção assistida para resistência oligogênica e piramidização de genes de resistência foram discutidas por MELCHINGER (1990).

À medida que mais marcadores associados a genes de resistência sejam encontrados e aumente a saturação de mapas de ligação, o uso de marcadores moleculares na seleção assistida de genes de resistência será cada vez mais viável.

EXEMPLOS DE RESISTÊNCIA DURÁVEL

Os melhoristas têm lutado contra as ferrugens dos cereais por muitos anos. Pelo fato da maioria das variedades resistentes não ser durável, novas fontes de resistência têm sido identificadas e incorporadas em germoplasma elite. A seleção contínua de tipos de plantas resistentes tem levado ao desenvolvimento de variedades com um nível mínimo de resistência aos patógenos e que não são super-suscetíveis. Isto é evidente em ensaios para avaliação de moléstias onde o germoplasma exótico está presente e se mostra muito suscetível às raças disponíveis do patógeno. Na maioria dos casos, as linhagens elite suscetíveis plantadas na mesma época e local não parecem tão danificadas pela moléstia.

Há exemplos na literatura que sugerem que os melhoristas têm construído pirâmides de genes de resistência em variedades elite pela seleção das linhagens mais resistentes na presença do patógeno. Variedades de trigo incluindo Era, Chris, Kenya Plume e outras, têm sido identificadas como possuindo três ou mais genes para resistência à ferrugem do colmo e foram desenvolvidas para ser resistentes e não necessariamente para acumular as combinações gênicas específicas que possuem (McINTOSH, 1988). Se estas combinações multigênicas têm sido uma fonte durável de resistência é outra questão. Apesar deste não ser necessariamente o caso, parece que variedades com resistência durável possuem mais de um gene de resistência. Por exemplo: a) nas variedades americanas de trigo Gaines, Nugaines e Luke um mínimo de dois a três genes têm sido responsáveis pela resistência durável à ferrugem amarela (JOHNSON, 1992); b) resistência durável à ferrugem da folha nas variedades de trigo Chris e Era tem sido atribuída a três ou mais genes.

CONCLUSÕES

Apesar de ser um processo trabalhoso, o uso da piramidização para obter resistência durável é

atraente. A experiência do melhoramento de trigo para resistência à ferrugem do colmo, que gerou variedades piramidizadas com resistência a esta moléstia, é um exemplo encorajador para o uso desta estratégia.

A piramidização via melhoramento convencional é ainda difícil de ser implementada. Marcadores moleculares associados a genes de resistência poderão facilitar o uso desta. Contudo, a automatização de técnicas moleculares de custo acessível em programas de melhoramento de cereais, será fundamental para sua utilização. Mesmo assim, apenas a experiência prática de construção de pirâmides com três ou mais genes de resistência em diferentes espécies de cereais e para diferentes moléstias poderá recomendar ou condenar esta estratégia para o desenvolvimento de variedades com resistência mais durável. Até o presente momento, isto permanece por ser demonstrado na prática.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUTRIQUE, E., SINGH, R.P., TANKSLEY, S.D., *et al.* Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives. *Genome*, Ottawa, v. 38, p. 75-83, 1995.
- BRODNY, U., NELSON, R.R., GREGORY, L.V. The residual and interactive expression of "defeated" wheat stem rust resistance genes. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, p. 546-549, 1986.
- BUSH, A.L., WISE, R.P., RAYAPATI, P.J., *et al.* Restriction fragment length polymorphisms linked to genes for resistance to crown rust (*Puccinia coronata*) in near-isogenic lines of hexaploid oat (*Avena sativa*). *Genome*, Ottawa, v. 37, p. 823-831, 1994.
- CHEN, F.Q., PREHN, D., HAYES, P.M., *et al.* Mapping genes for resistance to barley stripe rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *hordei*). *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 88, p. 215-219, 1994.
- CHONG, J., HOWES, N.K., BROWN, P.D. *et al.* Identification of the stem rust resistance gene *Pg9* and its association with crown rust resistance and endosperm proteins in 'Dumont' oat. *Genome*, Ottawa, v. 37, p. 440-447, 1994.
- ENDO, R.M., BOEWE, G.H. Losses caused by crown rust of oats in 1956 and 1957. *Plant Dis Rep*, Beltsville, v. 42, p. 1126-1132, 1958.
- FEHR, W.R. *Principles of cultivar development*. New York: McGraw-Hill, Inc., 1987. v. 1. 536 p.
- FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p.
- FREY, K.J., BROWNING, J.A., SIMONS, M.D. Management of host resistance genes to control disease loss. *Indian J Genet Plant Breed*, Nova Delhi, v. 39, p. 10-21, 1973.
- GOULD, F. Simulation models for predicting durability of insect-resistant germplasm: a deterministic diploid, two-locus model. *Environ Entomol*, v. 15, p. 1-10, 1986.

- HARTL, L., WEISS, H., STEPHAN, U., *et al.* Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 90, p. 601-606, 1995.
- HEUN, M. Mapping quantitative powdery mildew resistance of barley using a restriction fragment length polymorphism map. *Genome*, Ottawa, v. 35, p. 1019-1025, 1992.
- HOWES, N.K., CHONG, J., BROWN, P.D. Oat endosperm proteins associated with resistance to stem rust of oats. *Genome*, Ottawa, v. 35, p. 120-125, 1992.
- JOHNSON, R. A critical analysis of durable resistance. *Ann Rev Phytopathol*, Palo Alto, v. 22, p. 309-330, 1984.
- JOHNSON, R. Past, present and future opportunities in breeding for disease resistance, with examples from wheat. *Euphytica*, Wageningen, v. 63, p. 3-22, 1992.
- JONES, D.G., CLIFFORD, B.C. *Cereal Diseases: Their Pathology and Control*. New York: John Wiley & Sons, 1978.
- MA, Z.Q., SORRELLS, M.E., TANKSLEY, S.D. RFLP markers linked to powdery mildew resistance genes *Pm1*, *Pm2*, *Pm3*, and *Pm4* in wheat. *Genome*, Ottawa, v. 37, p. 871-875, 1994.
- MARTINELLI, J.A., FEDERIZZI, L.C., BENNEDETTI, A.C. Redução do rendimento de grãos da aveia em função da severidade da ferrugem da folha. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 20, p. 116-118, 1994.
- McINTOSH, R.A. The role of specific genes in breeding for durable stem rust resistance in wheat and triticale. In: SIMMONDS, N.W., RAJARAM, S. (eds.) *Breeding Strategies for Resistance to the Rusts of Wheat*. CIMMYT, Mexico, D.F. 1988.
- MELCHINGER, A.E. Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breeding*, Berlin, v. 104, p. 1-19, 1990.
- NELSON, R.R. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. *Ann Rev Phytopathol*, Palo Alto, v. 16, p. 359-378, 1978.
- NELSON, R.R. The evolution of parasitic fitness. In: HORSFALL, J.G., COWLING, E.B. (eds.) *Plant Disease, An Advanced Treatise*. New York: Academic Press, 1979. p. 23-46.
- OHM, H.W., SHANER, G. In: MARSHALL, H.G., SORRELLS, M.E. (co-eds) *Oat Science and Technology*. Agronomy Monograph no. 33. Madison: American Society of Agronomy and Crop Science of America, 1992.
- PARLEVLIT, J.E. Identification and evaluation of quantitative resistance. In: LEONARD, K.J., FRY, W.E. (eds.) *Plant Disease Epidemiology*. 1989. p. 215-248.
- PAULL, J.G., PALLOTTA, M.A., LANGRIDGE, P., *et al.* RFLP markers associated with *Sr22* and recombination between chromosome 7a of bread wheat and the diploid species *Triticum boeoticum*. *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 89, p. 1039-1045, 1994.
- PEDERSEN, W.L., LEATH, S. Pyramiding major genes for resistance to maintain residual effects. *Ann Rev Phytopathol*. Palo Alto, v. 26, p. 369-378, 1988.
- PENNER, G.A., CHONG, J., WIGHT, C.P., *et al.* Identification of an RAPD marker for the crown rust resistance gene *Pc68* in oats. *Genome*, Ottawa, v. 36, p. 818-820, 1993.
- PRIESTLEY, R.H., BAYLES, R.A. The contribution and value of resistance cultivars to disease control in cereals. In: CLIFFORD, B.C., LESTER, E. (eds) *Control of Plant Diseases: Costs and Benefits*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988.
- RAYAPATI, P.J., GREGORY, J.W., LEE, M., *et al.* A linkage map of diploid *Avena* based on RFLP loci and a locus conferring resistance to nine isolates of *Puccinia coronata* var. *avenae*. *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 89, p. 831-837, 1994.
- ROONEY, W.L., RINES, H.W., PHILLIPS, R.L. Identification of RFLP markers linked to crown rust resistance genes *Pc 91* and *Pc 92* in oat. *Crop Sci*, Madison, v. 34, p. 940-944, 1994.
- SAGHAI MAROOF, M.A., ZHANG, Q., BIYASHEV, R.M. Molecular marker analyses of powdery mildew resistance in barley. *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 88, p. 733-740, 1994.
- SCHACHERMAYR, G.M., MESSMER, M.M., FEUILLET, C., *et al.* Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr 24* in wheat. *Theor Appl Genet*, Berlin, v. 90, p. 982-990, 1995.
- SCHAFFER, J.F., ROELFS, A.P. Estimated relation between numbers of urediniospores of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and rates of occurrence of virulence. *Phytopathology*, St. Paul, v. 75, p. 749-750, 1985.
- SIMONS, M.D., BROWNING, J.A., FREY, K.J. Modification of tolerance of oats to crown rust induced by chemical mutagens. In: *Induced mutations for disease resistance in crop plants*. Vol. II. Proc. Res. Coord. Meet., Riso, Denmark. 15-19 June 1981. STI/PUB/633. IAEA, Vienna, Austria. 1983.
- WAHL, I., ANIKSTER, Y., MANISTERSKI, J., *et al.* Evolution at the center of origin. In: BUSHNELL, W.R., ROELFS, A.P. (eds) *The Cereal Rusts*. New York: Academic Press, 1984.