

SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES PARA RESISTÊNCIA AO VÍRUS Y EM BATATA

VINICIUS FLORES DE SOUZA¹; VANESSA HÜBNER²; ADRIANO UDICH BEASTER³; TATIANE CORREA FRANÇA⁴; CAROLINE MARQUES CASTRO⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas – viniciusflores68@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – vufpel@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – adriano.udich.bester@gmail.com*

⁴*Embrapa Clima Temperado – tatiane.correa@embrapa.br*

⁵*Embrapa Clima Temperado – caroline.castro@embrapa.br*

1. INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é o terceiro principal alimento produzido no mundo (FAOSTAT, 2024). Foi introduzida no Brasil por imigrantes europeus no final do século XIX, e as pesquisas para desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas nacionais iniciaram em 1940 (Pereira et al., 2016). Entre os objetivos de um programa de melhoramento genético de batata destaca-se a resistência às viroses. Por ser uma espécie de propagação vegetativa, o vírus é perpetuado de uma geração para outra, via tubérculos contaminados. Vários tipos de vírus ocorrem no cultivo de batata. Entre estes, o PVY (*Potato Virus Y*), é um dos mais danosos ao cultivo, causando degenerescência dos tubérculos-sementes, diminuição no tamanho e número de tubérculos colhidos, ocasionando perdas de até 90% no rendimento (Novy et al. 2002).

O método mais eficiente no controle de doenças viróticas é através do desenvolvimento de cultivares com resistência genética ao patógeno. Nesse sentido, são realizados cruzamentos entre pares de genitores com características complementares, incluindo genitores resistentes ao patógeno. Genes de resistência ao PVY foram identificados em espécies silvestres de batata. Em *S. tuberosum* ssp. *andigena*, foi identificado o gene *Ry_{adg}* o qual controla um tipo de resistência extrema, durável e de alta herdabilidade (Gadum et al. 2003). Kasai et al. (2000) desenvolveram um marcador molecular do tipo SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*), denominado RYSC3, para a detecção do gene *Ry_{adg}*.

O uso de marcadores moleculares é uma ferramenta valiosa para aumentar a eficiência na seleção de genótipos de interesse, reduzindo o tempo necessário para o desenvolvimento de novas cultivares (Kooyer et al., 2010). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar e selecionar genótipos de batata com resistência genética ao vírus Y, através do uso do marcador RYSC3.

2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Foram avaliadas progêniess de quatro cruzamentos envolvendo genitores com resistência genética ao PVY (Tabela 1). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação no primeiro semestre de 2024. Para a extração de DNA foram coletadas folhas jovens de cada clone e a extração foi realizada de acordo com protocolo DarT®. O DNA foi quantificado em gel de agarose 1% tendo como padrão de peso molecular o marcador λ DNA/HindIII. As concentrações de DNA foram ajustadas em 20 ng/µL.

Tabela 1. Identificação das famílias avaliadas quanto à resistência ao PVY.

| Família | Mãe | Pai |
|---------|-----------|--------------|
| B | MB9846-1* | C1883-22-97* |
| C | MB9846-1* | Monalisa |
| J | Panda | C1883-22-97* |

*genótipos resistentes ao PVY.

A genotipagem foi realizada com base no marcador SCAR RYSC3 (Kasai et al. 2000) para a detecção do gene *Ry_{adg}*. As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 20 µl contendo buffer de PCR 1X, 0,1 mM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 de cada primer, 1 U de Taq DNA polimerase e 50 ng de DNA. O programa de amplificação foi realizado de acordo com as seguintes condições: ciclo inicial de desnaturação a 93 °C por 9 min, seguido de 30 ciclos a 94 °C por 45 s; 55 °C por 45 s para anelamento do primer; extensão a 72 °C por 1 min; e extensão final a 72 °C por 5 min. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% e visualizados em fotodocumentador. O tamanho dos alelos foi dimensionado com o marcador de peso molecular 1 kb Plus. A presença de fragmento de 321pb indica a presença do gene de resistência *Ry_{adg}*. As cultivares Iporá e Newen foram utilizadas respectivamente como controle positivo e negativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as famílias avaliadas o marcador RYSC3 amplificou fragmentos de 321pb (Figura 1), confirmando a presença do gene *Ry_{adg}* em pelo menos um dos genitores de cada família avaliada.

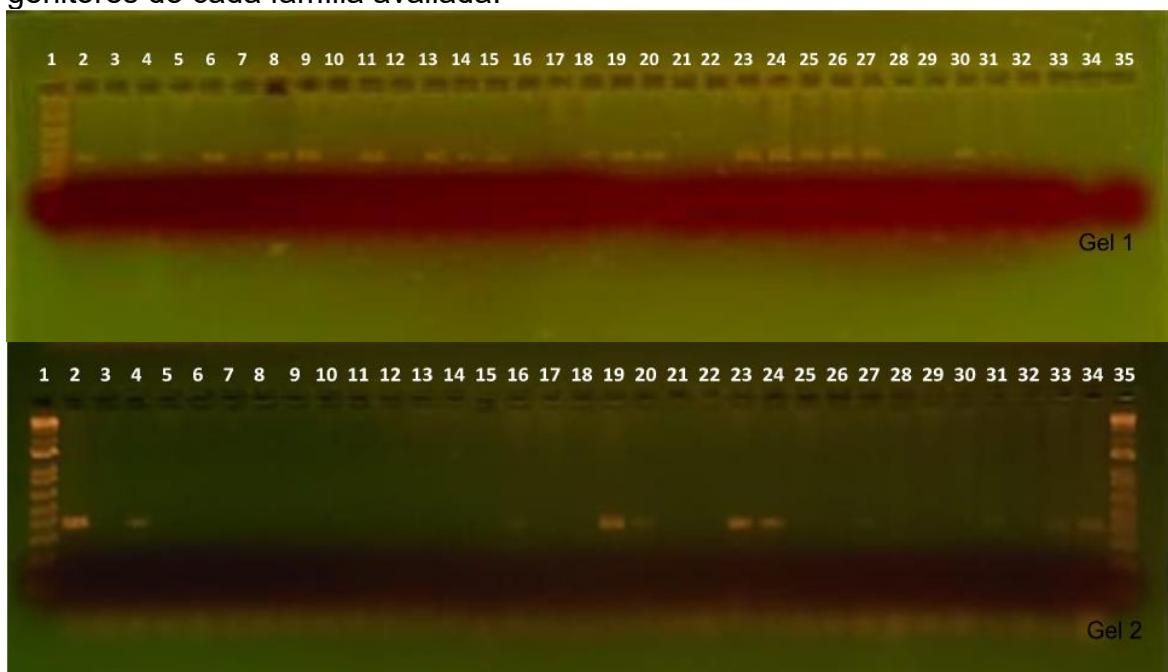


Figura 1. Gel de agarose 2% com produtos da caracterização molecular com o marcador SCAR RYSC3 de progêneres oriundas de cruzamentos entre genitores com resistência ao PVY. (1) marcador de peso molecular 1Kb Plus (Invitrogen); (2) Iporá, controle positivo; (3) Newen, controle negativo. Gel 1: (4 a 32) Família B; (33) MB9846-1 e (34) C1883-22-97. Gel 2: (4 a 24) Família C; (25 a 30) Família

J; (31) MB9846-1; (32) cultivar Monalisa; (33) Panda e (34) C1883-22-97; (35) marcador de peso molecular 1Kb Plus (Invitrogen).

A proporção de indivíduos por família com a presença do gene de resistência ao PVY variou entre 59,37% a 27,08% (Tabela 2). Esses percentuais foram semelhantes aos encontrados por Kneib et al. (2017).

Tabela 2. Percentual de indivíduos por família com a presença do gene de resistência ao PVY *Ry_{adg}*. N: número total de indivíduos avaliados por família.

| Família | N | % de indivíduos com a presença do gene <i>Ry_{adg}</i> |
|---------|----|--|
| B | 32 | 59,67 |
| C | 48 | 29,16 |
| J | 48 | 27,08 |

Os resultados encontrados mostram que cada genitor com resistência ao PVY gera, em média, cerca de 30% da progênie com o gene de resistência. Ao passo que, quando são cruzados dois genitores resistentes, esse percentual sobe para de 60%. Essas informações são bastante importantes, uma vez que, em um programa de melhoramento genético da batata, mais de 40 características distintas estão envolvidas no processo de seleção (Pereira et al. 2016). A combinação de dois genitores portadores do gene de resistência PVY aumenta a probabilidade de sucesso na seleção de um clone com resistência ao vírus Y associada às características comerciais de interesse.

4. CONCLUSÕES

O marcador SCAR RYSC3 mostra-se como uma excelente ferramenta para ser usada pelos programas de melhoramento de batata visando acelerar o processo de desenvolvimento de cultivares com resistência ao PVY.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KASAI, K.; MORIKAWA, Y.; SORRI, V.A.; VALKONEN, J.P.; GEBHARDT, C.; WATANABE, K. N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ryadg based on a common feature of plant disease resistance genes. **Genome**, v. 43, p.1-8, 2000.

KNEIB, R.B.; KNEIB, R.B.; PEREIRA, A.S.; CASTRO, C.M. Allele dosage of PVY resistance genes in potato clones using molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 306-3012, 2017.

KOEYER, D.; DOUGLASS, K.; MURPHY, A.; WHITNEY, S.; NOLAN, L.; SONG, Y.; JONG, W.D. Application of high-resolution DNA melting for genotyping and variant scanning of diploid and auto tetraploid potato. **Molecular Breeding**, v. 25, p.67-90, 2009.

NOVY, R.G.; NASRUDDIN, A.; RAGSDALE, D.W.; RADCLIFFE, E.B. Genetic resistances to potato leafroll virus, potato virus Y and green peach aphid in progeny of *Solanum tuberosum*. **American Journal of Potato Research**. v. 79, p. 9-18, 2002.

PEREIRA, A. da S. ; Silva, G. O. ; CASTRO, C. M. . Melhoramento de batata. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Org). **Melhoramento de hortaliças**. 1 ed. Viçosa: UFV, 2016, v. 1, p. 128-157.