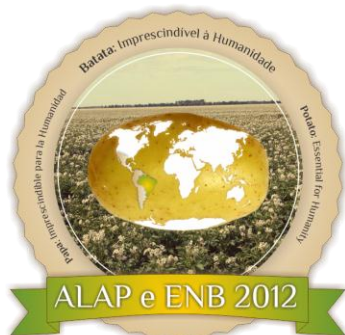




17 e 20 de setembro de 2012
Uberlândia-MG-Brasil

XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa - ALAP
XIV Encontro Nacional de Produção e Abastecimento de Batata - ENB

CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BATATA QUANTO À PRESENÇA DE GENES DE RESISTÊNCIA AO VÍRUS Y DA BATATA (PVY)

Terres, Laerte R.¹; Rohr, Angela¹; Cerioli, Murilo de F.¹; Rocha, Dediel A.¹; Lima, Natércia L.P.²; Castro, Caroline M.²; Pereira, Arione da S.²

¹Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Fitomelhoramento, Campus UFPel Capão do Leão, e-mail: laerte_terres@yahoo.com.br; angelbio10@hotmail.com; murilo.cerioli@hotmail.com; dedielrocha@hotmail.com.

²Embrapa Clima Temperado, 96001-970 Pelotas, RS, Brasil, e-mail: natercia.lobato@cpact.embrapa.br; arione@cpact.embrapa.br; caroline.castro@cpact.embrapa.br

Introdução

As viroses em batata (*Solanum tuberosum* L.) são um grave problema para cultura, por causarem drásticas reduções de produção e qualidade dos tubérculos. O vírus Y da batata (*Potato Virus Y*; PVY) é um dos mais importantes em termos de redução na produtividade da cultura, causando perdas de até 80% (Valkonen, 2007). Este vírus também afeta outras espécies de importância econômica, como tomate (*Solanum lycopersicum* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) e pimenta (*Capsicum annuum* L.) (Brunt *et al.*, 2001). A disseminação do vírus ocorre pelo uso de tubérculos-sementes contaminados, contato mecânico e por vetores, principalmente por afídeos como *Myzus persicae*. A propagação vegetativa da batata também favorece a disseminação do vírus, obrigando o produtor a renovar a semente, a qual representa uma parte significativa do custo de produção. Fontes de resistência para PVY foram reportadas em várias espécies de *Solanum* (Brown e Corsini, 2001; Simko *et al.*, 2007). Genes de resistência para PVY (*Ry*) foram identificados e mapeados em batata e espécies silvestres como *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* (*Ry_{adg}*), *S. chacoense* (*Ry_{chs}*) e *S. stoloniferum* (*Ry_{sto}*). Como estratégia para o controle do PVY, programas de melhoramento têm interesse em incorporar estes genes de resistência no desenvolvimento de cultivares. O melhoramento para resistência ao PVY é facilitado pelo fato do controle deste caractere ser monogênico, com herdabilidade elevada e durável. O objetivo deste estudo foi detectar a presença de genes *Ry* em genótipos de batata utilizados como genitores no programa de melhoramento da Embrapa.

Material e métodos

Foram analisados neste estudo 79 genótipos utilizados como genitores no bloco de cruzamento do programa de melhoramento da Embrapa, sendo 29 cultivares (Agata, BRS Ana, Anajé, Aram, Asterix, Atlantic, Baronesa, Caesar, Catucha, Chieftain, Chipsona, BRS Clara, Cota, Cristal, Cristina, Cupido, BRS Eliza, Iporá, Macaca, Markies, Monalisa, Pampeana, Puã, Rioja, Shepody, Todo Ano, Voyager, White Lady e Yapira) e 50 clones avançados do programa de melhoramento. Tubérculos de cada genótipo foram plantados em saco plástico contendo cinco litros de turfa em telado. Após 30 dias da emergência foram coletadas folhas jovens para extração do DNA, realizado conforme o protocolo de DarT[®]. Foram empregados marcadores moleculares para estudar a presença dos genes *Ry_{adg}* e *Ry_{sto}*, utilizando-se o marcador SCAR RYSC3 para detecção de *Ry_{adg}* (Kasai *et al.*, 2000) e M45 para *Ry_{sto}* (Brigneti *et al.*, 1997). Para o marcador RYSC3 as condições de PCR foram: 93°C por 9', seguidos de 35 ciclos de 94°C por 45", 60°C por 60" e 72°C 60", com uma extensão final a 72°C por 5'. O volume da reação foi de 20 µl contendo buffer de PCR 1X, 0,1 mM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl, 0,25 de cada *primer*, 2 U de *Taq* DNA polimerase e 50 ng de DNA. Para o marcador M45, as condições de PCR foram: 94°C por 60", seguidos de 30 ciclos de 94°C por 20", 61°C por 20" e 72°C por 20", com uma extensão final a

72°C por 20'. O volume da reação foi de 25 µl contendo buffer de PCR 1X, 0,4 mM de dNTPs, 1,2 mM de MgCl₂, 0,25 de cada *primer*, 2 U de *Taq* DNA polimerase e 50ng de DNA. Os produtos das reações de PCR foram separados em eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% revelado com nitrato de prata. A partir da leitura dos fragmentos amplificados foi gerada uma matriz binária (presença / ausência) a qual foi usada para o cálculo da similaridade genética entre os genótipos utilizando o coeficiente de coincidência simples. Com base na matriz de similaridade foi construído um dendrograma por meio do método de agrupamento UPGMA. As análises foram realizadas com o auxílio do programa computacional NTSYS.

Resultados e Discussão

Com o marcador RYSC3, 16 dos 79 genótipos amplificaram o fragmento ADG2. Já o marcador M45 identificou como resistente os mesmos genótipos que o RYSC3, e ainda acrescentou a lista dos genótipos com resistência ao PVY os clones avançados C2372-02-02 e F63-01-06. Em estudo efetuado por Rizza *et al.* (2006), o marcador M45 apresentou resultado similar ao encontrado neste trabalho, amplificando para os mesmos genótipos que o RYSC3, indicando que este marcador é eficiente tanto para a identificação de *Ry_{sto}* como para *Ry_{adg}*. Os genótipos que foram positivos para ambos marcadores se consideraram com resistência proveniente de *S. tuberosum* ssp. *andigena* e *S. stoloniferum*. Já os clones C2372-02-02 e F63-01-06 foram os únicos positivos para o M45 e negativos para RYSC3, o que se atribui a uma resistência mediada somente por *Ry_{sto}* (*S. stoloniferum*). O dendrograma agrupou os genótipos em três grupos distintos. O grupo I foi formado pelos genótipos que apresentaram apenas o gene *Ry_{sto}*, que são os clones C2372-02-02 e F63-01-06, sendo que o primeiro clone é proveniente de uma população de sementes botânicas do Centro Internacional da Batata (CIP) e o segundo é um clone avançado do programa de melhoramento da Embrapa. O grupo II foi composto pelos genótipos com ambos os genes de resistência ao PVY, *Ry_{sto}* e *Ry_{adg}*, sendo composto pelas cultivares Iporá (INIA Uruguai), Cristina e Cupido, os clones C-1883-22-97, C-2080-03-00, C2387-03-02, C2388-01-02, C-2389-01-02, provenientes de populações de sementes botânicas do CIP, os clones C2392-03-02, C2635-05-06 e C2635-09-06, 2197-15 e MB 9846-01, clones avançados do programa de melhoramento da Embrapa, sendo este último com resistência a murcha bacteriana (Lima Neto, 2005), e o clone R82263-3, do INIA-Chile. O grupo III foi formado pelas cultivares e clones que não apresentaram genes de resistência ao PVY. Os resultados encontrados mostraram a eficiência dos marcadores RYSC3 e M45 na detecção da presença de genes de resistência ao PVY, sendo uma importante ferramenta para auxiliar programas de melhoramento no direcionamento de cruzamentos, visando o desenvolvimento de cultivares com resistência a esse importante patógeno.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Capes e ao CNPq pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

Referências

- Brigneti, G.; Garcia Mas J.; Baulcombe, D.C. Molecular mapping of the Potato virus Y resistance gene *Rysto* in potato. **Theor. Appl. Genet.** v.94, p.198-203. 1997.
- Brunt, A.A. Potyviruses. In: **Virus and Virus-like Diseases of Potato and Potato Seed Production**, ed. P. Berger, A.A. Brunt, G. Loebenstein, and R.H. Lawson. p. 323–340. 2001.
- Brown, C.R.; Corsini, D. Breeding for resistance to viruses: Traditional methods. In: **Virus and Virus-like Diseases of Potato and Potato Seed Production**, ed. P. Berger, A.A. Brunt, G. Loebenstein, and R.H. Lawson. Boston. p. 323–340. 2001.
- Kasai, K.; Morikawa, Y.; Sorri, V.A.; Valkonen, J.P.T.; Gebhardt, C.; Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry_{adg}* based on a common feature of plant disease resistance genes. **Genome** v.43, p.1-8. 2000.
- Lima Neto, A.F. Avaliação de resistência de clones e cultivares de batata à murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*). Brasília. 108f. 2005.
- Rizza, M.D.; Vilaró, F.L.; Torres, D.G. Maeso, D. Detection of PVY extreme resistance genes in potato germplasm from the uruguayan breeding program. **America Journal of Potato Research.** v.83. p.297-304. 2006.
- Simko, I.; Jansky, S.; Stephenson, S.; Spooner, D. Genetics of resistance to pests and disease. In: **Potato biology and biotechnology**. Vreugdenhil D. (ed.), Elsevier. p.117–155. 2007.
- Valkonen J. Viruses: economical losses and biotechnical potential. In: **Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives**. Vreugdenhill D. (ed.) Elsevier. p. 619-641. 2007.