

Ciências Biológicas

Otimização preliminar de um ensaio de PCR Duplex para detecção de alelos de resistência a viroses em *Solanum tuberosum* L.

Caroline Vitoriano Reis - 6º módulo de Ciências Biológicas Licenciatura, UFLA, bolsista FAPEMIG/ CNPq.

Rafael Pereira - Técnico do laboratório de Genética Molecular/UFLA- rafaell.pereira@ufla.br
Adelson Lemes da Silva Júnior, DBI, UFLA.

Adelson Lemes da Silva Júnior - Pesquisador de Pós-Doutorado do Departamento de Ciências Florestais, DBI, UFLA.

Tiago de Souza Marçal - Coorientador- Professor do Departamento de Biologia, DBI, UFLA.

Lucimara Cruz de Souza - Orientadora- Professora do Departamento de Biologia, DBI, UFLA. - Orientador(a)

Resumo

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das espécies alimentares mais importantes mundialmente, mas no Brasil, enfrenta desafios produtivos devido às condições tropicais e à alta incidência de pragas e doenças. As viroses, como o Potato virus Y (PVY) e o Potato virus X (PVX), podem causar perdas de até 80% na produção, tornando essencial o desenvolvimento de cultivares resistentes. Entretanto, a identificação molecular de clones com resistência múltipla a essas viroses de forma individual pode demandar muito tempo operacional e recursos. Uma alternativa é o desenvolvimento de reações multiplex que permitam a identificação simultânea dos locos de resistência em um único ensaio. O objetivo deste trabalho foi otimizar condições preliminares para desenvolver um ensaio de PCR duplex para a detecção simultânea dos alelos Ryadg e Ry1 que conferem resistência ao PVY e ao PVX, em 12 clones de batatas do Programa de Melhoramento da UFLA (PROBATATA), por marcadores moleculares. Inicialmente, os clones foram cultivados em casa de vegetação, e amostras de tecido foliar foram coletadas para a extração de DNA, utilizando o método CTAB. As amostras extraídas foram quantificadas por espectrofotometria no NanoDrop® para identificar a pureza e as concentrações do DNA. A seguir, testes de amplificação com o primer ISSR UBC 810 foram realizados para verificar a qualidade do DNA e garantir a ausência de falsos negativos. Posteriormente, efetuou-se os testes individuais para detectar os alelos que conferem resistência ao PVY (Ryadg) e ao PVX (Ry1) em suas respectivas concentrações e condições de amplificação individuais. Os clones Agatha (suscetível) e Atlantic (resistente) foram usados como controles negativo e positivo, respectivamente. Após a confirmação da amplificação de cada alelo, iniciou-se os testes para padronizar as concentrações de reagentes e a temperatura de amplificação comum a ambos os primers. Foi possível identificar uma concentração ideal para os primers (0,4 µM) e otimizar a ciclagem de reação utilizando a abordagem de PCR touchdown, com um gradiente de temperatura de anelamento decrescendo de 55°C para 46°C ao longo de 10 ciclos. O próximo passo será unir ambos os alelos em uma única reação de PCR duplex com o intuito de detectar os alelos simultaneamente. A implementação da PCR duplex permitirá reduzir o tempo e os custos laboratoriais, além de aumentar a eficiência na seleção de cultivares, acelerando o processo de melhoramento genético.

Palavras-Chave: Marcadores moleculares, Melhoramento de plantas, Viroses em batateira.

Instituição de Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais- FAPEMIG

Link do pitch: <https://youtu.be/LZ2kpAkjS4s?si=AhTgpRGBvwOu7N2B>