

# Simpósio de Integração Acadêmica

## Inteligência Artificial: A Nova Fronteira da Ciência Brasileira

### SIA UFV Virtual 2020



## SELEÇÃO DE MARCADORES SSR PARA RESISTÊNCIA DA SOJA AO NEMATOIDE DO CISTO PARA GENOTIPAGEM POR HRM EM RT-PCR

Universidade Federal de Viçosa - *Campus Rio Paranaíba*

Modalidade: Pesquisa | Área do conhecimento: Ciências Agrárias | Área temática: Agronomia

Raquel Aime Louroza Ribeiro<sup>1</sup>; Prof. Pedro Ivo Vieira Good God<sup>2</sup>; Mayumi Furuya de Assis<sup>3</sup>; Agnes de Oliveira Maciel<sup>4</sup>; Paloma Vitória Felix Duarte<sup>5</sup>; Vinícius Guimarães Nasser<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia Agrônoma - UFV/CRP, Bolsista do PIBIC/CNPq, raquel.ribeiro@ufv.br; <sup>2</sup>Professor adjunto do Instituto de Ciências Agrárias (IAP)- UFV/CRP, pedro.god@ufv.br; <sup>3</sup>Mestre em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias (IAP)- UFV/CRP, mayumi.assis@gmail.com; <sup>4</sup>Graduanda em Ciências Biológicas (IBP) - UFV/CRP, agnes.maciel@ufv.br; <sup>5</sup>Graduanda em Engenharia Agrônoma (IAP) - UFV/CRP, paloma.felix@ufv.br; <sup>6</sup>Doutorando em Química, Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação (DBG) - UFV/CRP, viniciusnasser@gmail.com

*Heterodera glycines*, RT-PCR, HRM

### Introdução

Um dos maiores desafios para o melhoramento da soja é incorporar a resistência eficiente ao nematoide de cisto da soja (NCS). Dois loci de resistência majoritários foram identificados, denominados Rhg1 (cr.18) e Rhg4 (cr.8) e as variações/interações destes, junto com número de cópias determinam o nível de resistência do genótipo e a raça especificidade em relação ao NCS. Alguns estudos têm sido realizados para validação do método *High Resolution Melting* (HRM), via RT-PCR, com marcadores SSR para detectar polimorfismos em diferentes espécies vegetais

### Objetivo

Selecionar de marcadores SSR para os locus de resistência da soja ao NCS Rhg1, Rhg4 e outros QTL previamente estabelecidos pela literatura para futuras genotipagens de genótipos de soja via HRM

### Material e Métodos

O DNA de 20 genótipos de soja foi extraído pelo método CTAB. A qualidade da extração foi avaliada em gel de agarose (1%) e a quantificação do DNA realizada por espectrofotometria (A260/280). Os principais marcadores para os loci Rhg1 e Rhg4, Satt309 e sat\_162, respectivamente, foram submetidos a um teste de gradiente com 8 temperaturas de anelamento (Ta) diferentes em PCR. As reações foram realizadas em volume final de 15µL com 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2mM de dNTP, 0,3mM para cada primer, 1U de Taq Polimerase e 30ng de DNA com inclusão de controle negativo para teste de contaminação. A melhor Ta para os dois primers foi selecionada para a triagem do tamanho dos amplicons de outros 24 marcadores SSR.

### Apoio Financeiro



### Agradecimentos



### Resultados e Discussão

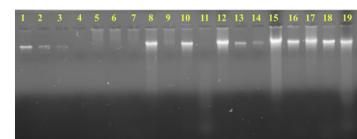


Figura 1. Gel de agarose (1%), 20 amostras de DNA extraídas com método CTAB.

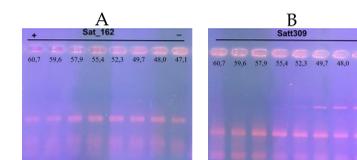


Figura 2. a) Gel de agarose (3%) de reações de gradiente de temperatura de anelamento para Sat\_162 (cr.8). b) reações de gradiente de temperatura de anelamento para Satt 309 (cr.18)

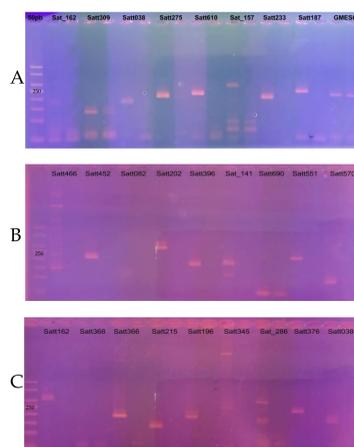


Figura 3. Gel de agarose (3%) de reações para triagem dos tamanhos dos fragmentos amplificados por a) sat\_162, satt309, satt038, satt275, satt610, sat\_157, satt233, satt187 e GMES6186. b) satt466, satt452, satt082, satt202, satt396, sat\_141, satt690, satt551 e satt570. c) satt162, satt368, satt366, satt215, satt196, satt345, sat\_286 e satt376

Entre os SSR testados, os sat\_157, satt345, satt286 e satt466, amplificaram bandas inespecíficas. Os SSR satt082, satt690, satt570 e satt368 não amplificaram ou apresentaram bandas fracas. O GMES6186 apresentou contaminação, pois apareceu banda no poço negativo.

### Conclusões

- GMES6186 necessita de testes adicionais para otimização das condições de PCR
- Foram identificados 16 microssatélites, possíveis candidatos para validação de genotipagem de genótipos quanto a resistência ao NCS via SSR-HRM em RT-PCR.

### Bibliografia

AN, J. et al. (2017). Genome Survey Sequencing of *Luffa Cylindrica* L. and Microsatellite High Resolution Melting (SSR-HRM) Analysis for Genetic Relationship of *Luffa* Genotypes. *International Journal of Molecular Sciences*.

DRUML, B.; CICHNA-MARKL, M. (2014). High resolution melting (HRM) analysis of DNA - Its role and potential in food analysis. *Food Chemistry*, v. 158, p. 245-254.