

MARCADOR SCAR MI23 NA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO RESISTENTES A *Meloidogyne incognita*

Natália Reis de Almeida¹, Ygor Inácio Dias Rosa¹, Marcos Paulo do Carmo Martins¹, Gabriel Mascarenhas Maciel¹, Ana Carolina Silva Siquieroli¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG (natalia.r.almeida@ufu.br)

RESUMO: O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça de elevada importância econômica e amplamente cultivada no Brasil. Entre os principais problemas fitossanitários da cultura, destacam-se os nematoides do gênero *Meloidogyne*, responsáveis por danos significativos ao sistema radicular e queda na produtividade. O melhoramento genético assistido por marcadores moleculares tem se mostrado uma ferramenta eficaz na identificação de genótipos resistentes. Este estudo teve como objetivo identificar genótipos de tomateiro resistentes a *M. incognita*, utilizando o marcador SCAR Mi23 ligado ao gene *Mi-1.2*. Foram avaliados dois híbridos e uma testemunha comercial de tomateiro resistente. Folhas jovens de três plantas de cada genótipo foram maceradas em N₂ líquido e submetidas à extração de DNA pelo método CTAB. O DNA foi quantificado em espectrofotômetro e as reações de PCR foram conduzidas em termociclador utilizando os primers Mi23F e Mi23R. Os produtos amplificados foram visualizados em gel de acrilamida corado com nitrato de prata. A análise dos perfis de bandas revelou fragmentos de aproximadamente 380 pb e 430 pb, padrão característico de indivíduos heterozigotos portadores do gene *Mi-1.2*. A identificação de alelos de resistência por meio do marcador Mi23 reforça a aplicabilidade de ferramentas moleculares na seleção de genótipos de interesse. Plantas heterozigotas podem ser utilizadas em programas de melhoramento, permitindo a combinação do gene *Mi-1.2* com outros genes de interesse, ampliando a base genética para resistência a *Meloidogyne* spp.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L.; marcador molecular; nematoides.

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas no mundo, com grande versatilidade no consumo (Zahoor *et al.*, 2025). No Brasil, segundo o IBGE (2023), em 2023 foram cultivados cerca de 59.010 hectares, com custo médio de produção em torno de R\$ 179 mil por hectare, refletindo os elevados custos da cultura.

Entre os fatores que afetam negativamente a produção estão as mudanças climáticas, pragas e doenças, com destaque para patógenos fúngicos e nematoides das galhas, que se agravam em condições ambientais favoráveis (Mortazavi *et al.*, 2025). Esses nematoides, do gênero *Meloidogyne*, atacam as raízes, comprometendo a absorção de água e nutrientes, reduzindo a produtividade e a qualidade dos frutos (Tapia-Vázquez *et al.*, 2022; Pinheiro, 2022). Em cultivos sucessivos e sem manejo adequado, as perdas podem chegar a 100% (Pinheiro; Melo; Ragassi, 2019).

O melhoramento genético é essencial para o desenvolvimento de cultivares com maior rendimento, qualidade e resistência a doenças (Chitwood-Brown *et al.*, 2021). A imunidade inata das plantas é uma solução duradoura contra patógenos e pode ser avaliada por meio de marcadores moleculares (Maurya *et al.*, 2023). Marcadores moleculares como RAPD, CAPS e SCAR têm sido utilizados para detectar genes de resistência, como o *Mi-1*, associado à resistência a *M. incognita*. Dentre eles, destaca-se o marcador SCAR *Mi23*, ligado ao gene *Mi-1.2*, por dispensar etapas de digestão enzimática, sendo útil na seleção assistida por marcadores (Basim *et al.*, 2022).

Assim, este trabalho tem como objetivo identificar genótipos de tomateiro resistentes a *M. incognita*, utilizando marcador molecular SCAR, visando contribuir com programas de melhoramento genético voltados à resistência e produtividade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Estação Experimental de Hortaliças e no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) da Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo – MG. Foram avaliados três genótipos de tomateiro, sendo dois híbridos (UFU11 e UFU21), provenientes do Programa de Melhoramento Genético de Tomateiro da UFU e a cultivar comercial Ozone.

As linhagens foram semeadas em fevereiro de 2025 em bandejas de poliestireno de 200 células preenchidas com substrato à base de fibra de coco. Após a semeadura, as bandejas permaneceram em estufa por 35 dias até serem transplantados para vasos de 15 litros preenchidos com substrato, permanecendo na mesma estufa. Após 60 dias foram coletadas folhas jovens de três plantas de cada genótipo e levadas ao LABIOTEC onde foram lavadas e maceradas em N₂ líquido.

A extração do DNA genômico foi realizada conforme o protocolo descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998), com modificações. Aproximadamente 300 mg de tecido foliar previamente macerado foram transferidos para tubos de microcentrífuga de 2,0 mL, aos quais foram adicionados 700 μ L de tampão de extração CTAB CTAB (NaCl 1,4M; Tris HCl pH 8,0 100 mM; EDTA 20 mM; CTAB 2%; β -Mercaptoetanol 0,2% e água Milli-Q) previamente aquecido a 65 °C. As amostras foram incubadas em banho-maria a 65 °C por um período de 60 minutos. Após esse período, foi adicionada uma mistura de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), seguida de agitação manual por aproximadamente cinco minutos. O material foi então centrifugado a 5.000 \times g por 10 minutos, sendo a fase aquosa (superior) cuidadosamente transferida para novos tubos de 2,0 mL previamente identificados.

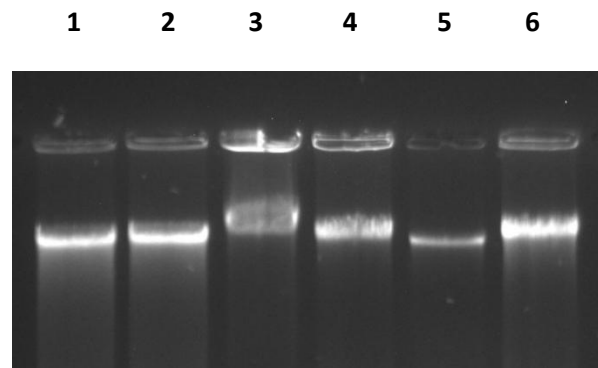
Para precipitação do DNA, foi adicionado isopropanol gelado à fase aquosa, com homogeneização suave. Os tubos foram mantidos a -20 °C por 24 horas. Após esse período, foram centrifugados a 8.000 \times g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado de DNA lavado com etanol absoluto gelado por três minutos. O etanol foi então removido, e os tubos foram deixados em temperatura ambiente até completa evaporação do solvente. O DNA obtido foi ressuspenso em 50 μ L de solução TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro UV5NANO (Mettler Toledo, Selangor, Malásia).

As reações de PCR foram realizadas em volume final de 10 μ L, contendo 2,4 Mmol/L de MgCl₂, 100 μ M de dATP, dCTP, dGTP e dTTP; 0,3 μ M de primer sense e antisense; 20 ng de DNA genômico; 1 unidade de Taq DNA polimerase e tampão de PCR 1X. As reações foram conduzidas em termociclador automático SLLB 036 (Scienlabor, São Paulo, Brasil) com as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 57°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto. A extensão final foi realizada a 72°C por 10 minutos. Os fragmentos amplificados foram separados em gel de acrilamida a 15% e corados com nitrato de prata, segundo Blum, Beier e Gross (1987).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de DNA extraídas dos genótipos de tomateiro apresentaram uma eficiência média de 4 mg de DNA/300 mg de folha fresca. O DNA extraído foi de boa qualidade, indicando baixo nível de degradação (Figura 1).

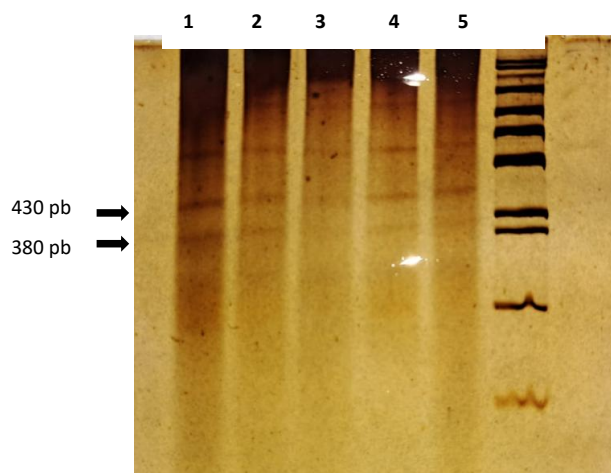
Figura 1 – DNA total extraído dos genótipos de tomateiro e visualizados em gel de agarose 1 % com corante fluorescente.



Amostras: 1 e 2 - UFU11, 3 e 4 - UFU21, 5 e 6 - cv. comercial Ozone.

A amplificação do DNA genômico dos três genótipos de tomateiro, utilizando o marcador SCAR Mi23, permitiu identificar perfis de bandas associados à presença do gene *Mi-1.2*, conhecido por conferir resistência a nematoides do gênero *Meloidogyne* (fragmento de 380 pb). Os fragmentos amplificados separados por eletroforese em gel de acrilamida a 15%, revelaram padrões semelhantes entre os híbridos (UFU11 e UFU21) e a cultivar comercial Ozone, conhecida por sua resistência a *M. incognita* (Figura 2).

Figura 2 – Produtos amplificados por PCR de genótipos de tomateiro com o marcador SCAR Mi-23 em gel de acrilamida a 15%, corado com nitrato de prata.



M: marcador de DNA de 100 pb; 1 e 2: UFU11; 3 e 4: UFU21; 5: cultivar comercial Ozone.

Por possuírem os fragmentos de 380 e 430 pb, todos os genótipos de tomateiro avaliados apresentaram serem heterozigotos para a característica em estudo. Identificar o gene de resistência a nematoides em variedades de tomate é essencial para os programas de melhoramento genético. A presença do alelo de resistência em diferentes combinações

genotípicas reforça a importância dos marcadores moleculares como ferramenta eficiente para a seleção assistida, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes a nematoides e com maior estabilidade produtiva.

Neste estudo foi possível identificar dois genótipos do Programa de Melhoramento Genético de Tomateiro da UFU portadoras de alelos de resistência a *M. incognita*, destacando a importância da seleção assistida por marcadores moleculares. Esses resultados podem contribuir para o melhoramento genético permitindo a combinação do gene de resistência *Mi-1.2* com outras características, aumentando a capacidade de resistências (Gabriel *et al.*, 2020; Mortazavi *et al.*, 2025).

4 CONCLUSÕES

Com a utilização do marcador molecular SCAR Mi23 foi possível identificar híbridos de tomateiro portadoras do gene *Mi-1.2*, responsável pela resistência a *M. incognita*. Todos os genótipos avaliados apresentaram perfil genético heterozigoto, evidenciando o potencial dessas plantas para o Programa de Melhoramento Genético de Tomateiro da UFU.

AGRADECIMENTOS: os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais da UFU, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e colaboração na realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

BASIM, H. *et al.* The Resistance of Some Tomato Lines against Tomato Spotted Wild Virus, Tomato Yellow Leaf Curl Virus and Root Knot Nematodes (*Meloidogyne spp.*) by Molecular Markers. **Black Sea Journal of Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 401-405, 2022.

BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H. J. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. **Electrophoresis**, v. 8, p. 93-99, 1987.

CHITWOOD-BROWN, J. *et al.* Breeding for resistance to Fusarium wilt of tomato: A review. **Genes**, v. 12, n. 11, p. 1673, 2021.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introducción al Uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético. Centro Nacional de Investigación de Brasilia. Brasil, 1998.

GABRIEL, M. *et al.* Reaction of a heterozygous tomato hybrid bearing the Mi-1.2 gene to 15 *Meloidogyne* species. **Plant pathology**, v. 69, n. 5, p. 944-952, 2020.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agropecuária 2023**: Tomate. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/tomate/br>. Acesso em: 09 jul. 2025.

MAURYA, D. *et al.* Marker assisted stacking of Ty3, Mi1. 2 and Ph3 resistance alleles for leaf curl, root knot and late blight diseases in tomato. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 29, n. 1, p. 121-129, 2023.

MORTAZAVI, P. *et al.* Molecular screening of diverse Tomato germplasm for root-knot nematode resistance using the Mi23 marker. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 136, p. 102607, 2025.

PINHEIRO, J. B. **Pimenta. Doenças. Nematoides** - Portal Embrapa, Brasília: Embrapa Hortaliça, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/doencas/nematoides>. Acesso em: jun. 2022.

PINHEIRO, J. B.; MELO, R. A. C.; RAGASSI, C. F. **Manejo de nematoides em hortaliças sob plantio direto**. Circular Técnica 171 –EMBRAPA. Brasília, DF, 2019.

TAPIA-VÁZQUEZ, I. *et al.* Root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) a threat to agriculture in Mexico: Biology, current control strategies, and perspectives. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 26, 2022.

ZAHOOR, A. *et al.* Assessment of tomato germplasms for Mi-1.2-mediated resistance to *Meloidogyne incognita*: Integrating in-silico dynamics and bioinformatic approaches. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, p. 102714, 2025.