



Melhoramento genético preventivo para mal de Pierce em videira (*Vitis* spp.)

Patricia Ritschel¹

¹ Doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, Brasil, patricia.ritschel@embrapa.br

No Brasil, a videira é uma espécie exótica, porém cada vez mais importante na fruticultura brasileira, passando, nos últimos anos, de um cultivo exclusivo de zonas temperadas para uma grande alternativa da fruticultura também em regiões tropicais. A viticultura brasileira inclui também diversos segmentos como a produção de uvas para processamento, principalmente para elaboração de vinhos (finos e de mesa) e sucos, concentrada na região sul, e de uvas para o consumo in natura distribuídas em todas as regiões vitícolas do país. Nos últimos anos, observa-se uma tendência de expansão da atividade vitivinícola também para as regiões tropicais no Nordeste e no Centro-Oeste (CAMARGO, 2008).

A Embrapa Uva e Vinho vem desde 1977 conduzindo um programa de hibridações visando o desenvolvimento de novas cultivares de uvas de mesa e para elaboração de sucos e vinhos (Ritschel; Seben, 2008). O germoplasma básico usado neste trabalho inclui *V. vinifera*, *V. labrusca*, além de espécies tropicais silvestres e híbridos interespecíficos complexos criados na Europa após a disseminação de filoxera (BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE UVA, 2016)

Nos últimos anos, foram lançadas 18 novas cultivares de uva que atendem às demandas das diferentes cadeias produtivas de uva que formam o setor vitivinícola nacional. De maneira geral, estas cultivares se caracterizam por apresentar adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras, que se refletem em elevada produtividade e maior nível de resistência às principais doenças que atacam a cultura da videira, como o míldio [*Plasmopara viticola* (Berk e Curt) Berl], o oídio [*Uncinula necator* (Schw.) Burr.] a podridão cinzenta da uva (*Botrytis cinerea* Pers. Fr), a antracnose [*Elsinoe ampelina* (De Bary) Shear] e a podridão da uva madura *Glomerella cingulata* (Ston.) Sapulda e Schrenk, entre outras (RITSCHEL; MAIA, 2016).

O desenvolvimento de materiais resistentes a organismos quarentenários é uma atividade estratégica na antecipação de riscos futuros para a agricultura brasileira. O Programa Nacional de Melhoramento Genético Preventivo (Embrapa, 2016), do qual a Embrapa é membro executor, objetiva o desenvolvimento de variedades de plantas com resistência genética a organismos quarentenários de alto risco para a agricultura brasileira, antes da sua entrada efetiva em território nacional.

Vários patógenos causadores de doenças em videira são considerados organismos quarentenários no Brasil, como *Alternaria vitis*, *Flavescence doree* e *Physopella ampelopsidis*. Considera-se que a bactéria *Xylella fastidiosa*, patógeno que causa o mal de Pierce (Pierce Disease ou PD), representa grande ameaça à viticultura em vários países (MAPA, 2016).

PD é causado em videira pela bactéria *X. fastidiosa*, considerada comum nas Américas Central e do Norte, onde diferentes linhagens têm sido associadas com doenças que causam perdas econômicas em culturas importantes incluindo videira, alfafa, pêssego, ameixa, amêndoas, “maple” e citrus (Hopkins, 1989). Nos EUA, mesmo com a execução de programas públicos de controle, a ocorrência de PD impõe custos anuais de cerca de U\$ 100 milhões à indústria de uva na Califórnia (Alston, 2014). Além do continente americano, PD também foi relatado em Taiwan (SU et al., 2013).

No Brasil, a bactéria é conhecida pelos danos causados nas agroindústrias da laranja e do café, estimados também em valores de até 100 milhões de dólares por ano, e da ordem de 30% dos custos de produção, respectivamente (Giustolin et al., 2009). Tamanha é a importância da doença para a citricultura brasileira, que a bactéria foi o primeiro fitopatógeno a ter seu genoma sequenciado em nível mundial, pesquisa realizada por um grupo de pesquisadores brasileiros (SIMPSON et al., 2009).



Até o momento não se tem registro de estirpes da bactéria atacando parreirais no Brasil, embora inoculações artificiais cruzadas de isolados brasileiros de *X. fastidiosa* em plantas de laranjeira, videira, ameixeira e cafeeiro tenham sido realizadas com sucesso (Gottardi et al., 2004). Embora estirpes da bactéria não tenham sido registradas no Brasil em associação com a cultura da videira, causando PD, existe o risco de introdução nos vinhedos principalmente por meio da importação de mudas provenientes de países onde a doença está disseminada (AZEVEDO FILHO et al., 2008; KUHN, 2006; MORANDI FILHO et al., 2006; SCHNEIDER et al., 2012).

Visando antecipar e preparar a cadeia produtiva da videira para o ingresso de estirpes de *X. fastidiosa*, foi proposta a seguinte abordagem para desenvolvimento de estoques genéticos de videiras resistentes a um organismo quarentenário, como PD:

(i) Identificação de fontes de resistência em acessos conservados em Bancos de Germoplasma

Serão avaliados acessos de espécies silvestres e de espécies cultivadas de videira mantidos no Banco de Germoplasma de Videira do ARSUSDA com isolados de *X. fastidiosa*, em parceria com a Crop Diseases, Pests and Genetics Unit, ARSUSDA, Parlier, CA, EUA. A detecção e quantificação serão realizadas por ensaio imunoenzimático (ELISA) ou por PCR em tempo real (Fritschi et al., 2007; James et al., 2014). Será testado também o método baseado no índice de maturação dos ramos para quantificar o nível de resistência, método este que apresenta alta correlação com a performance em campo e pode ser facilmente usado em casa de vegetação (Krivanek et al., 2005). Este conjunto de técnicas garante a identificação precoce de acessos resistentes em casa de vegetação, cuja reação pode ser posteriormente confirmada a campo (VIANA et al., 2011).

(ii) Introgressão de resistência a PD em cultivares de uva de mesa adaptados a cultivo no Brasil

Serão desenvolvidas quatro populações através de cruzamento entre clones de genótipos sabidamente resistentes com duas cultivares comerciais de uva de mesa e de suco desenvolvidas pela Embrapa (BRS Vitória e BRS Magna, respectivamente). As populações serão estabelecidas para estudos futuros de seleção assistida por marcadores moleculares em experimentos de melhoramento genético preventivo para PD.

(iii) Desenvolvimento de painel multiplex de marcadores SNP (Sequenom) para uso no melhoramento preventivo para PD em videira

Marcadores SNP distribuídos ao longo dos 19 cromossomos de videira em regiões gênicas e inter-gênicas, serão selecionados e validados através da genotipagem em escala de acessos de videira em experimentos de genética e melhoramento. Os SNPs serão selecionados com base nos dados de sequenciamento de oito espécies de videira (*V. vinifera*, *V. labrusca*, *V. bourquina*, *V. riparia*, *V. amurensis*, *V. rupestris*, *V. aestivalis* e *V. cineria*), importantes na cadeia produtiva de uva por serem usadas na produção de vinho, sucos, passas e frutos para consumo in natura ou processados. Algumas das espécies selecionadas são tolerantes a estresses abióticos ou resistentes a importantes patógenos que ameaçam a produção de uva no Brasil e em outras partes do mundo. O sequenciamento do genoma de 34 acessos de videira será desenvolvido utilizando sequenciamento de alta performance (NGS) baseado na tecnologia Illumina, empregando sequenciador HiSeq 2500/1500.

(iv) Validação e uso do painel Sequenom para seleção de plantas com genes de resistência a PD em população segregante desenvolvida pela Embrapa

Marcadores microssatélites localizados na região de locos de resistência a PD (Doucleff et al., 2004; Ramming et al., 2012; Riaz et al., 2008; 2009; Walker et al., 2014) serão mapeados no genoma de *Vitis* e substituídos por marcadores SNP na mesma região para compor painel de genotipagem



multiplex Sequenom. O painel Sequenom contendo marcadores potencialmente associados a genes de resistência a PD será testado na mesma população usada para mapear os locos “PdR1a” e “PdR1b” (Riaz et al., 2008), em parceria com o ARSUSDA. Após a validação, o painel será empregado em seleção assistida para melhoramento preventivo para PD nas populações desenvolvidas pela Embrapa.

Com o desenvolvimento destas atividades, espera-se contribuir para a redução do impacto da entrada de estirpes de *X. fastidiosa* potencialmente perigosas para videira por meio da antecipação e preparação da cadeia produtiva da videira para o ingresso de estirpes de *X. fastidiosa*, minimizando as perdas econômicas, sociais e ambientais e evitando a perda de mercado internacional.

Referências

- ALSTON, J. M.; FULLER, K. B.; KAPLAN, J. D.; TUMBER, K. P. Assessing the returns to R&D on perennial crops: the costs and benefits of Pierce's disease research in the California winegrape industry. **Australian Journal of Agricultural and Resource Economics**, v. 59, p. 95–115, 2014.
- AZEVEDO FILHO, W. S.; RINGENBERG, R.; PALADINI, A.; CARVALHO, G. S.; PARANHOS, B. A. J.; LOPES, J. R. S.; BOTTEON, M. Cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae, Cercopidae) potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa* na cultura da videira em Pernambuco, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 27., 2008, Curitiba. [Resumos...] [Curitiba: UFPR, 2008]. Não paginado. 1 CD-ROM. Resumo P-banco262.
- BANCO Ativo de Germoplasma de Uva. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/prodserv/germoplasma/>>.
- DOUCLEFF, M.; JIN, Y.; GAO, F.; RIAZ, S.; KRIVANEK, A. F.; WALKER, M. A. A genetic linkage map of grape, utilizing *Vitis rupestris* and *Vitis Arizonica*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 109, p.1178–1187, 2004.
- EMBRAPA. Melhoramento Preventivo. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-melhoramento-preventivo/perguntas-e-respostas>. Consultado em 01 fev. 2016.
- FRITSCHI, F. B.; LIN, H. WALKER, M. A. *Xylella fastidiosa* population dynamics in grapevine genotypes differing in susceptibility to Pierce's disease. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 58, p. 326-332, 2007.
- GIUSTOLIN, T. A. et al. Diversidade de Hemiptera Auchenorrhyncha em Citros, Café e Fragmento de Floresta Nativa do Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 834-841, 2009.
- GOTTARDI, M. V. C. et al. Inoculação cruzada da bactéria *Xylella fastidiosa* em plantas de laranjeira, videira, ameixeira e cafeeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 488-493, 2004.
- HOPKINS, D. L. *Xylella fastidiosa*: xylem-limited bacterial pathogen of plants. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 27, p. 271-90, 1989.
- JAMES, M; BLAGDEN, T.; MONCRIEF, I; BURANS, J. P.; SCHNEIDER, K; FLETCHER, J. Validation of Real-time PCR Assays for Bioforensic Detection of Model Plant Pathogens. **J Forensic Sci**, v. 59, p. 463-469, 2014.
- KRIVANEK, A. F., STEVENSON, J. F., WALKER, M. A. Development and comparison of symptom indices for quantifying grapevine resistance to Pierce's disease. **Phytopathology**, v. 95, p.36-43, 2005.
- KUHN, G. B. Mal de Pierce – doença bacteriana da videira de importância quarentenária para o Brasil. Clube do Fazendeiro, 2006. Disponível em http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/mal_pierce.pdf. Consultado em 01 fev. 2016.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SISLEGIS. INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 59 , de 18 de



ESCOPOS/IN%2059-2013%20-20pragas%20quarenten%C3%A1rias%20para%20o%20Brasil.pdf. Consultado em 21 fev 2016

MORANDI FILHO, W. S. de et al. Viticultura em alerta. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, v. 7, n. 39, p. 18-22, 2006.

RAMMING, D. W.; WALKER, A.; LIN, H. Breeding Pierce's Disease Resistant Table and Raisin Grapes and the development of markers for additional sources of resistance. CALIFORNIA DEPARTMENT OF FOOD AND AGRICULTURE PD/GWSS - PROGRESS REPORT, p. 209-215, 2012.

RIAZ, S.; TENSCHER, A. C.; GRAZIANI, R.; KRIVANEK, A.F.; WALKER, M. A. Using marker assisted selection to breed for Pierce's disease resistant grapes. **Am. J. Enol. Viticult.**, v. 60, p.199-2, 2009.

RIAZ, S.; TENSCHER, A. C.; RUBIN, J.; GRAZIANI, R.; PAO, S. S; WALKER, M.A. (2008) Fine-scale genetic mapping of Pierce's disease resistance loci (PdR1a and PdR1b) and identification of major segregation distortion region along chromosome 14 in grape. **Theor. Appl. Genet.**, v. 117, p.671-681, 2008.

RITSCHHEL, P. S.; MAIA, J. D. G. (Coord.). Uvas do Brasil: Programa de Melhoramento Genético. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/pesquisa/pmu/>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

RITSCHHEL, P.; SEBEN, S. de S. (Ed.). Embrapa Uva e Vinho: novas cultivares brasileiras de uva. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 63 p.

SCHNEIDER, N. A. et al. Espécies de cigarrinhas (Cicadellidae: Cicadelinae) potenciais vetoras de *Xylella fastidiosa* em pomares de ameixeira no município de Videira, Santa Catarina, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., 2012, Curitiba. Anais web. Curitiba: SEB: UFPR, 2012.

SIMPSON, A. J. G. et al. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Nature**, v. 406, p. 151–57, 2000.

SU, C.-C. et al. Pierce's Disease of Grapevines in Taiwan: Isolation, Cultivation and Pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. **Journal of Phytopathology**, v. 161, p. 389–396, 2013.

VIANA, A.P.; RIAZ, S.; WALKER, M.A. Evaluating genetic diversity and optimizing parental selections in a segregating table-grape population. **Am J Enol Viticult**, v. 62, p. 285–90, 2011.

WALKER, A.; CANTU, D.; RIAZ, S.; AGÜERO, C. Molecular Breeding support for the development of Pierce's disease resistant winegrapes. PROCEEDINGS, 2014 PIERCE'S DISEASE RESEARCH SYMPOSIUM. California Department of Food and Agriculture, Sacramento, CA. p. 249-255, 2014.