



AVALIAÇÃO DE MARCADORES SSR COM POTENCIAL PARA SELEÇÃO ASSISTIDA DE VIDEIRAS APIRÊNICAS E RESISTENTES AO MÍLDIO

JAIANA MALABARBA¹; ANDRIELE WAIRICH²; VANESSA BUFFON²; ANA BEATRIZ COSTA CZERMAINSKI³; LUIS FERNANDO REVERS³

INTRODUÇÃO

A compreensão dos mecanismos genéticos e moleculares controladores da apirenia em uvas de mesa é justificada pela sua relevância econômica e muitos programas de melhoramento tem mantido o foco na geração de novas cultivares de uva de mesa, combinando apirenia com outros caracteres do fruto, como aumento do tamanho, sabor moscatel e crocância (LOOMIS; WEINBERGER, 1979). Como *Vitis vinifera* não possui nenhuma resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*), as aplicações de fungicidas tornam-se indispensáveis, representando um custo significativo para a produção (CADLE-DAVIDSON, 2008). Desta forma, o melhoramento da videira combinando resistência a doenças, provenientes de espécies americanas de *Vitis*, com outras características de qualidade dos frutos de *Vitis vinifera*, tornou-se uma importante estratégia para combater doenças fúngicas em videira através de uma viticultura de menor custo e ambientalmente menos impactante (FISHER et al. 2004).

Para investigar o controle genético da resistência ao míldio e da ausência de sementes simultaneamente, Revers et al. (2010) analisaram uma progênie gerada do cruzamento entre a cultivar sem semente *Vitis vinifera* ‘Crimson Seedless’ e o híbrido complexo resistente ao míldio ‘Villard Blanc’. Os resultados obtidos revelaram a colocação de QTLs para resistência ao míldio e ausência de sementes na extremidade do cromossomo 18.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi genotipar uma população segregante para resistência à doenças e ausência de sementes com quatro marcadores SSR associados aos QTLs colocalizados no cromossomo 18, encontrados por Revers et al. (2010), e avaliar a sua possível utilização como ferramenta auxiliar na seleção de videiras apirênicas e resistentes ao míldio em programa de melhoramento genético.

MATERIAL E MÉTODOS

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, UNISINOS -RS, bolsista CNPq, e-mail: jaianamalabarba@yahoo.com.br

² Graduanda em Eng. de Biopro. e Biotec., UERGS- RS, bolsista CNPq, e-mail: andriwairich@hotmail.com

² Analista Embrapa Uva e Vinho -RS, e-mail: vanessa@cnpuv.embrapa.br

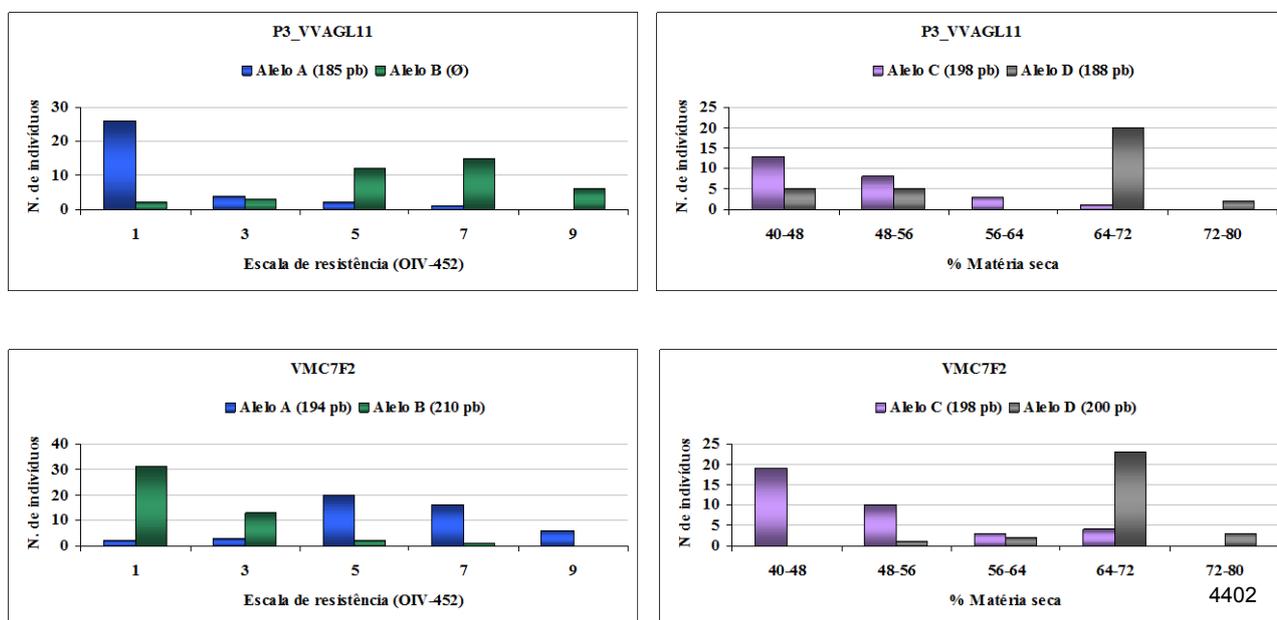
³ Pesquisador Embrapa Uva e Vinho -RS, e-mail: ana@cnpuv.embrapa.br; luis@cnpuv.embrapa.br

Noventa e quatro genótipos de videira segregando para resistência ao míldio e ausência de sementes, resultantes do cruzamento CNPUV692 entre as cultivares Villard Blanc e Crimson Seedless, foram utilizados. O DNA de cada indivíduo desta população foi purificado conforme descrito por Lefort e Douglas (1999) e utilizado em reações de PCR para cada *locus* conforme descrito por Revers et al. (2010). Os marcadores SSR utilizados foram P2_VVAGL11, P3_VVAGL11 (MEJÍA et al., 2011), UDV108 (GenBank BV097037), VMC7F2 (GenBank BV005171) e VVIN16 (GenBank BV140662). Os *amplicons* foram resolvidos em gel de poliacrilamida 6% e corados com prata conforme descrito por CRESTE et al. (2001).

Os critérios de classificação fenotípica descritos por Lahogue et al. (1998) foram utilizados para definição das categorias fenotípicas de classificação da apirenia. A resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*) foi determinada conforme o descritor OIV-452 (ANONYMOUS, 1983). Desvios entre as segregações genotípicas observadas e esperadas e as possíveis associações entre os fenótipos estudados e os alelos dos *loci* avaliados, foram testadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cinco *loci* localizados na extremidade do cromossomo 18 e associados aos QTLs previamente identificados por Revers et al. (2010) foram analisados na população segregante. Após realização dos testes de ajustamento χ^2 , UDV108 e P2_VVAGL11 não apresentaram a segregação esperada e foram excluídos das análises. Para os *loci* VMC7F2, VVIN16 e P3_VVAGL11 foram observados 4 alelos segregando na população genotipada. A análise da distribuição fenotípica dos caracteres avaliados *versus* a frequência de alelos dos marcadores SSR genotipados, mostram claramente ($p < 0,0001$) a associação entre os alelos P3_VVAGL11-198 pb (χ^2 calc= 28,72.), VVIN16-157 pb (χ^2 calc= 26,64) e VMC7F2-198 pb (χ^2 calc= 40,96) com apirenia e os alelos P3_VVAGL11-185 pb (χ^2 calc= 28,9), VVIN16-154 pb (χ^2 calc= 26,81) e VMC7F2-210 pb (χ^2 calc= 36,93) com resistência ao míldio (Figura 1).



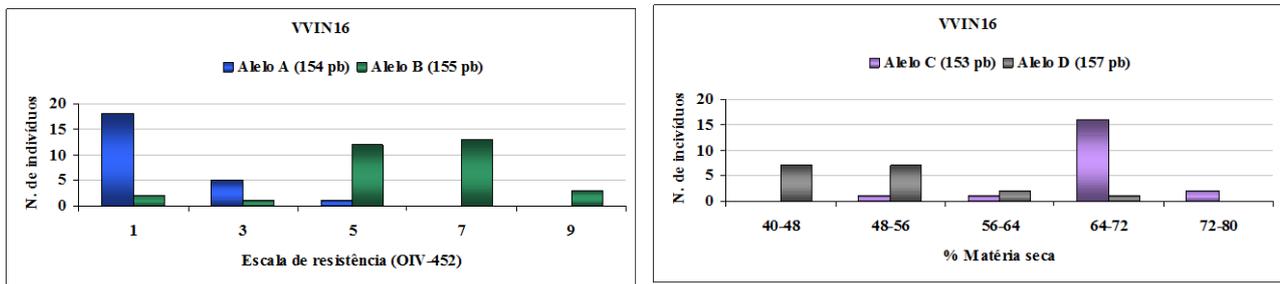


Figura 1 - Frequência de indivíduos com os alelos dos marcadores SSR relacionados à apirenia, através da % de matéria seca, e à resistência à *P. viticola*, através da escala de resistência OIV-452, na população CNPUV692.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos confirmaram que os marcadores P3_VVAGL11, VVIN16 e VMC7F2, parecem estar suficientemente próximos do *loci SDI (Seed Development Inhibitor)* para permitir a sua utilização em uma estratégia de seleção assistida por marcadores moleculares, possuindo dupla finalidade de utilização, na diagnose do caráter da apirenia e na avaliação da resistência ao míldio. Adicionalmente, a validação deste marcador em populações diferentes, poderá ampliar as possibilidades de sua utilização para melhoramento assistido por marcadores de apirenia e de resistência ao míldio na videira.

REFERÊNCIAS

- ANONYMOUS. Descriptor list for grapevine varieties and *Vitis* species. Office **Internacional de la Vigne et du Vin** (OIV), Paris. 1983.
- CADLE-DAVIDSON L. Variation within and between *Vitis ssp.* for foliar resistance to the downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. **Plant Disease**, v. 92, p. 1577-1584, 2008.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, 19: 299-306, 2001.
- FISCHER, B. M.; SALAKHUTDINOV, I.; AKKURT, M.; EIBACH, R.; EDWARDS, K. J.; TÖPFER, R.; ZYPRIAN, E. M. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, p. 501-515, 2004.

- LEFORT, F.; DOUGLAS, G.C. An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species Acer, Fraxinus, Prunus and Quercus. **Annals of Forest Science**, 56:259-263. 1999.
- LAHOUE, F.; THIS, P.; BOUQUET, A. Identification of a codominant marker linked to the seedlessness character in grapevine. . **Theoretical and Applied Genetics** 97:1638-1649. 1998.
- LOOMIS, N. H. and WEINBERG, J. H. Inheritance studies of seedlessness in grape. **J. Am. Soc. Horticulture Science**. 104:181-184. 1979.
- MEJÍA, N.; SOTO, B.; GUERRERO, G.; CASANUEVA, X.; HOUEL, C.; MICCONO, M. L. A.; RAMOS, R.; LE CUNFF, L.; BOURSIQUO, J. M.; HINRICHSEN, P. ADAM-BLONDO, A. F. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine. **BMC Plant Biology**, v.11, n.57, 2011.
- REVERS, L. F.; WELTER, L. J.; IRALA, P. B.; SILVA, D. C.; LAMPE, V. S.; OLIVEIRA, P. R.D.; GARRIDO, L. R. Co-Localization of QTLs for Seedlessness and Downy Mildew Resistance in Grapevine. In: **International Conference on Grapevine Breeding and Genetics**. v. 10, p. 58, 2010.