

Área Científica **Viticultura e Enologia**

Código PTDC/AGR-PRO/118081/2010 **Início** 2012/03/01 **Termo** 2015/08/31

Título VITIS-GRAFTING: Uso da sequenciação em larga escala de pequenos RNAs e análise transcriptómica no estudo da incompatibilidade da enxertia em videira (vitis spp.)

Programa

FCT

Medida

Projetos de I&D em todos os Domínios Científicos

Instituição Líder Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Investigador Responsável INIAV José Eduardo Jorge Eiras Dias

Orçamento Total 173 973,00€

Orçamento INIAV 81 753,00€

Parceria

INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.	Nacional
ITQB	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	Nacional
PLANSEL	Viveiros PLANSEL - Plantas Seleccionadas, Lda	Nacional

Equipa

José Eduardo Jorge Eiras Dias
João Do Sacramento Andrade Brazão
Margarida Thierstein Romão Duarte Teixeira Santos
Sara Maria de Almeida Lopes Canas
Maria Saraiva Mendes Assunção
Sara Isabel de Almeida Cruz

Resumo

O enxerto é uma entidade biológica heterogénea que resulta da simbiose de plantas geneticamente distintas. Desde a crise filoxérica, no final do século passado, que o porta-enxerto desempenha um papel importante em vitivinicultura [1]. Problemas de incompatibilidade de enxertia em videira foram primeiramente documentados em 1942 por Jacob [2] baseando-se em observações feitas em diferentes combinações de castas e porta-enxertos. O grau de harmonia fisiológica entre a casta e o porta-enxerto é naturalmente variável podendo adquirir graduações que vão desde a afinidade ou compatibilidade perfeita até à incompatibilidade total [3]. Entretanto, nas relações entre a casta e o porta-enxerto é necessário considerar, além da afinidade do enxerto, as influências recíprocas entre os dois biontes geralmente associadas à presença de certas viroses [4]. Dada a dificuldade em generalizar os resultados obtidos em diferentes campos experimentais, deduz-se que o modo mais correcto de obter informações válidas consiste em estudar as relações recíprocas entre os porta-enxertos, as castas e as condições ambientais, mediante a experimentação regional.

Portanto, o objectivo do presente estudo será o de investigar a biologia do processo de soldadura de enxerto a nível celular, bioquímico e molecular. Utilizar-se-ão dois clones da casta Syrah, seleccionados por manifestarem diferentes níveis de susceptibilidade à incompatibilidade de enxertia [5], e dois clones da casta Touriga Nacional que apresentarem diferentes níveis de infecção por vírus. Estes clones serão enxertados nos porta-enxertos Ritcher 110 (R110, *V. berlandieri* x *V. riparia*) e SO4 (*V. berlandieri* x *V. riparia*), considerados prédisponíveis a manifestarem problemas de incompatibilidade de enxertia, de acordo com o catálogo do ENTAV-INRA®.

As mudanças que ocorrem durante o processo completo de soldadura do enxerto serão acompanhadas mediante análises histológicas. A biossíntese de determinados compostos fenólicos na zona de enxertia pode provocar uma série de disfunções vasculares entre casta e porta-enxerto [6] ou estar relacionada a mecanismos de defesa contra determinados agentes patogénicos [7]. Com o objetivo de identificar prováveis vias metabólicas responsáveis por este desequilíbrio, serão determinados os tipos e conteúdos dos compostos polifenólicos de baixo peso molecular, mediante o uso de metodologias já disponíveis e amplamente utilizadas no INIA Dois Portos.

A análise geral da transcriptómica mediante o uso do novo GeneChip (Affymetrix), recentemente desenvolvido para a videira [8], realizada ao longo do processo de enxertia e em várias combinações de enxerto e porta-enxerto, permitirá a identificação de um amplo número de genes com expressão diferenciada entre combinações de enxertia compatíveis e incompatíveis, os quais serão validados por qRT-PCR.

Actualmente, novas classes de pequenos RNAs (18 a 30 nucleótidos) de cadeia dupla não codificantes de proteínas têm sido descobertas e, a medida que os detalhes dos mecanismos de silenciamento génico guiados por essas moléculas são esclarecidos, crescem as expectativas da sua aplicação nas mais diversas áreas da biologia. Portanto, a descoberta destes pequenos RNAs, bem como a função regulatória, abre portas ao estudo da incompatibilidade da enxertia ao nível molecular. Por exemplo, a fase inicial do processo de soldadura de um enxerto incompatível é um evento extremamente complexo onde se observa uma má diferenciação do floema, ausência de lignificação ou, ainda, interações metabólicas de natureza mais complexa. Em *Arabidopsis*, foram identificados miRNA específicos responsáveis pela regulação da diferenciação vascular [9]. O uso de tecnologias robustas, como o sistema Illumina- Solexa que possibilita a sequenciação em larga escala destes microRNA, poderá ser uma mais-valia na identificação de processos de regulam a expressão genica e que potencialmente desencadeiam a incompatibilidade de enxertia em videira.

Dentre as espécies frutíferas, a videira é considerada uma das mais importantes, em termos económicos, tanto a nível mundial como nacional. A incompatibilidade da enxertia torna-se um sério problema quando detectada após a instalação da vinha, uma vez que as medidas disponíveis para evitar as conseqüentes perdas são praticamente inexistentes. Por isso, o presente estudo reveste-se de grande importância, na medida em que as metodologias mais recentes relacionadas com a sequenciação em larga escala dos pequenos RNAs e transcriptómica permitir-nos-ão identificar mecanismos-chave para elucidar as interações entre castas e porta-enxerto.

Devido a utilização de castas e porta-enxertos que apresentam diferentes graus de susceptibilidade aos problemas de incompatibilidade de enxertia e/ou níveis de infecção por viroses, espera-se poder discriminar os sintomas relacionados à incompatibilidade propriamente dita, devido a origem genética, daqueles relacionados a presença de determinadas viroses.