

Área Científica **Viticultura e Enologia**

Código PTDC/AGR-GPL/119298/2010 **Início** 2012/01/01 **Termo** 2015/04/30

Título VitisSEX- Controlo genético da evolução do sexo na vinha

Programa

FCT

Medida

Projetos de I&D em todos os Domínios Científicos

Instituição Líder Instituto Superior de Agronomia

Investigador Responsável INIAV José Eduardo Jorge Eiras Dias

Orçamento Total 160 777,00€

Orçamento INIAV 11 580,00€

Parceria

ISA	Instituto Superior de Agronomia	Nacional
UM	Universidade do Minho	Nacional
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.	Nacional
UPM	Universidad Politécnica de Madrid	Espanha

Equipa

José Eduardo Jorge Eiras Dias

Resumo

A videira (*Vitis vinifera* L.) é uma das culturas economicamente importante no mundo. A cultura da vinha e a vinificação têm feito parte da cultura humana durante milhares de anos. O aumento da eficiência da produção e melhoria da qualidade dos frutos tem sido tradicionalmente baseado na alteração de práticas culturais e das condições de crescimento de genótipos específicos, que têm sido mantidos constantes através de multiplicação vegetativa. Nos últimos 50 anos, a videira cultivada sofreu drástica redução da diversidade, devido à ao uso restrito de apenas algumas cultivares pelas empresas de vinhos. A videira é adequada para estudos genómicos pois possui um genoma com cerca de 500Mpb já sequenciado, e que pode ser explorado para realizar estudos comparativos assim como estudar a evolução. Uma estratégia viável para conseguir um rápido e completo entendimento da biologia da videira são os estudos genómicos que permitem descobrir e determinar a função de todos os seus genes.

As plantas de *Vitis* selvagens (referida como *V. sylvestris*) estão intimamente relacionadas com a videira cultivada (*V. vinifera*). Supõe-se que a primeira domesticação ocorreu 10.000 anos AC, na região do Mar Cáspio. A *V. sylvestris*, uma espécie dióica, é considerada um repositório de diversidade genética para a viticultura. Existem algumas evidências que sugerem a existência de uma população de plantas monóicas antes do aparecimento da *V. sylvestris*. A inconstância do sexo presente em plantas masculinas de *V. sylvestris* é consistente com a evolução da dioicia via ginodioicia. Para investigar os determinantes genéticos do sexo em populações selvagens de *Vitis* com flores dióicas e plantas de *Vitis* cultivada (Touriga Nacional) com flores hermafroditas, e avaliar uma possível evolução da dioicia via ginodioicia, realizaremos cruzamentos entre estes dois tipos de *Vitis* e analisaremos a segregação de alelos para o sexo. Touriga Nacional é uma variedade de uva que produz vinho tinto, considerado por muitos como o melhor de Portugal.

Com o objectivo de estudar/confirmar a inconstância do sexo, já temos um post-doc a trabalhar no INRB. No ano de 2011, e antes do projecto começar, realizará cruzamentos usando como progenitores plantas de *V. sylvestris* de modo a obter número suficiente de indivíduos na geração F1 para confirmar a reversão do sexo e estabelecer os estudos de genética clássica. Para além da abordagem clássica e para investigar que genes estão envolvidos no desenvolvimento de flores masculinas e femininas, iremos estudar a expressão genica através da hibridação em chip (microarray), uma poderosa técnica molecular que permite o estudo simultâneo da expressão de milhares de genes. A utilização de flores masculinas e femininas em diferentes estádios de desenvolvimento de *V. sylvestris* e flores hermafroditas de *V. vinifera* permitirá estabelecer uma análise comparativa de expressão genica. Pretendemos também efectuar uma hibridação de DNA genómico (gdDNA). Esta técnica é baseada na selecção sondas com base na eficiência de hibridação dos oligonucleotídeos com perfeita correspondência (PM) com o DNA de uma espécie-alvo, para o qual o GeneChip não foi projectado originalmente. Esta abordagem pode aumentar consideravelmente o número de potenciais genes anotados especialmente para espécies que não têm genomas caracterizados.

Os genes diferencialmente expressos serão validados por qRT-PCR e utilizados para caracterizar através de hibridação *in situ*, o desenvolvimento de plantas selvagens masculinas e femininas, em particular durante a transição do estado hermafrodita para unissexual. Os resultados observados na população F1 de cruzamentos entre *V. sylvestris* e *V. vinifera* (Touriga Nacional) juntamente com a informação molecular prévia irão ser usados para desenvolver mapas genéticos, um para cada progenitor e um mapa de consenso, com o objectivo de identificar os loci que explicam a hereditariedade do sexo em *Vitis*. Os marcadores que serão utilizados são: SSR (Simple Sequence Repeat) e SNP (Single Nucleotide Polymorphism), Estes mapas poderão ser utilizados num futuro próximo para selecção assistida por marcadores (MAS) e em técnicas de clonagem de genes mapeados.

A análise da diversidade de genes envolvidos na determinação do sexo será de grande valia para a análise de indivíduos selvagens e a definição do seu estatuto genético/ecológico. Além disso, como demonstrado no caso do milho, a comparação do nível de diversidade genética entre o ancestral selvagem e as formas cultivadas poderiam permitir a identificação de regiões do genoma que foram submetidos a uma selecção forte durante o processo de domesticação, e assim identificar os genes que controlam essas características.

Adicionalmente, este estudo produzirá genótipos com potenciais com características desejáveis para viticultor, como aconteceu anteriormente com as castas Syrah em França (Dureza X Mondeuse Blanche), Cardinal na Califórnia e Dona Maria, em Portugal.