

Validação de marcador molecular associado ao locus Rpv12 para seleção assistida em videira

Mariane R. Schuck¹; Marco A. Dalbó¹; Fabio R. de Freitas¹; Tassia K. Walter¹; Amanda do P. Mattos¹; Bruno Bonin¹; André L. K. de Souza¹

¹EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Rua João Zardo, 1660, Bairro Campo Experimental, Videira, SC. E-mail: marianeschuck@epagri.sc.gov.br.

O míldio da videira, causado por *Plasmopara viticola*, é uma das principais doenças da cultura, podendo ocasionar perdas significativas na produção e exigir elevado número de aplicações de fungicidas para seu controle. Nesse contexto, a utilização de cultivares resistentes associada à seleção assistida por marcadores (SAM) representa uma importante estratégia para o desenvolvimento de materiais geneticamente resistentes e mais sustentáveis. O Rpv12 consiste em um importante locus de resistência ao míldio da videira, localizado no cromossomo 14 e amplamente utilizado em programas de melhoramento genético associados à resistência a *P. viticola*. Associado a esse locus encontra-se o marcador microssatélite UDV343 (*Simple Sequence Repeat* – SSR), um marcador codominante empregado na seleção assistida devido à sua estreita ligação genética com a região de resistência. Além disso, por se tratar de um marcador SSR, sua utilização dispensa etapas de digestão enzimática para confirmação dos alelos associados à resistência, tornando as análises moleculares mais rápidas e simplificadas em comparação a marcadores do tipo CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*), como o Rpv12k. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo validar o marcador Rpv12UDV343d em 46 indivíduos de uma população segregante proveniente do cruzamento entre ‘Abigel’, portadora do locus Rpv12, e ‘Sibera’, suscetível ao míldio. A validação foi realizada por meio da comparação entre os padrões de amplificação obtidos com o marcador Rpv12UDV343d e os resultados previamente determinados com o marcador Rpv12k. O DNA genômico foi extraído a partir de folhas jovens seguindo protocolo baseado em Lemke et al. (2011), com purificação em colunas de sílica. As reações de PCR foram realizadas em volume final de 20 µL contendo tampão 1×, 0,075 mM de dNTPs, 0,2 µM de cada primer, 0,75 U de Taq DNA polimerase e DNA genômico diluído 1:10 em tampão TE. As amplificações foram conduzidas com desnaturação inicial a 95 °C por 3 min, seguida de 30 ciclos de 95 °C por 30 s, sendo avaliadas temperaturas de anelamento de 53, 55 e 57 °C por 30 s e extensão a 72 °C por 30 s, finalizando com extensão final a 72 °C por 5 min. Para o marcador Rpv12k, os produtos amplificados foram submetidos à digestão enzimática com EcoRI. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,2% corado com GelRed® e visualizados sob luz UV. A temperatura de anelamento de 53 °C proporcionou melhor definição das bandas amplificadas, maior intensidade da banda diagnóstica e redução de bandas inespecíficas em comparação às demais condições avaliadas. Os padrões de amplificação obtidos com o marcador Rpv12UDV343d apresentaram total concordância com os resultados previamente determinados utilizando o marcador CAPS Rpv12k em todos os indivíduos avaliados, demonstrando eficiência na identificação de indivíduos portadores do locus Rpv12. Os resultados demonstram o potencial de aplicação do marcador Rpv12UDV343d em programas de seleção assistida por marcadores, permitindo maior rapidez, simplificação e redução de etapas laboratoriais na identificação de indivíduos resistentes ao míldio em populações segregantes de videira.

Palavras-chaves: *Plasmopara viticola*, microssatélite, melhoramento genético.

Apoio: Fapesc