

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VARIEDADES DE
VIDEIRA (*Vitis spp.*) DE SANTA CATARINA POR
MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSRs)

Mariane Ruzza Schuck

Florianópolis – SC

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VARIEDADES DE
VIDEIRA (*Vitis spp.*) DE SANTA CATARINA POR
MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSRs)

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Recursos Genéticos Vegetais,
Departamento de Fitotecnia, Centro de
Ciências Agrárias, Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para
a obtenção do título de Mestre em
Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientador: Prof. Dr. Aparecido Lima da Silva
Mariane Ruzza Schuck**

Florianópolis – SC

2007

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VARIEDADES DE
VIDEIRA (*Vitis spp.*) DE SANTA CATARINA POR
MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSRs)

MARIANE RUZZA SCHUCK

**Dissertação julgada e aprovada em sua
forma final pelo Orientador e membros
da Comissão Examinadora.**

Comissão Examinadora:

.....
Dr. Marco Antônio Dalbó
EPAGRI

.....
Dr. José Afonso Voltolini
FIT/CCA/UFSC

.....
Prof. Dr. Miguel Pedro Guerra
FIT/CCA/UFSC

.....
Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari
FIT/CCA/UFSC

Dedico

A meus pais por tudo e sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, proteção e por ter permitido mais esta vitória.

A toda minha família, meus irmãos Christian e Guilherme, aos meus pais, Enio e Jane, pelo amor, apoio e tanto incentivo.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao professor Aparecido Lima da Silva, pela orientação, incentivo, apoio, paciência e pelos grandes ensinamentos transmitidos, e, sobretudo pela oportunidade de realizar um trabalho gratificante e enriquecedor à minha formação profissional.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, pelos ensinamentos transmitidos e convivência amigável.

As amigas Fernanda, Natasha, Sandra e Samanta, pela grande amizade.

Aos colegas do curso de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, pelo excelente convívio e troca de experiências.

Aos produtores e funcionários da EPAGRI por me auxiliarem na coleta das amostras de videira.

À equipe do Laboratório de Morfogênese, em especial aos colegas Marcelo, Shana, Fábio e Carol pela amizade, e à equipe do Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, em especial a Josiane, Gustavo, Luisa, Maguida e Sara, pela amizade, convívio e idéias em que compartilhamos.

A Stella Grando, por disponibilizar o Laboratório de Genética Molecular, do Instituto Agrário di San Michelli all' Adige (IASMA) para o seqüenciamento das amostras de videira.

A Flávia pela disponibilidade em me ajudar com as amplificações e seqüenciamento das amostras de videira, e pela competência e dedicação demonstrada em todo o período que estive em Trento. Muito obrigado mesmo, você foi uma professora e amiga fundamental para a realização deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Genética Molecular do Instituto Agrário di San Michelli all' Adige (IASMA), pela compreensão, ensinamentos, paciência e amizade.

Ao José Afonso Voltolini pela disponibilidade e auxílio na indicação de onde residir em Trento e a sua prima Carla pela acolhida carinhosa com que me recebeu em sua casa.

A minha querida amiga Kelly e Mário, mestrandos do Curso de Informática (UFRGS), que me auxiliaram a criar o Banco de Dados informatizado das variedades de videira do Estado de Santa Catarina.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado e ao Projeto Pro-Goethe pelo apoio financeiro à execução do projeto.

A todos que não foram citados, mas nem por isso esquecidos, e que contribuíram de alguma maneira para o êxito desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1- Distribuição e Importância Econômica da Viticultura.....	7
2.2- Origem.....	9
2.3- Classificação Botânica.....	9
2.4- Marcadores Moleculares.....	10
2.5- Marcadores Moleculares baseados em PCR.....	15
2.5.1- Marcadores Microssatélites (SSRs).....	18
2.5.2- Reações Múltiplas de Microssatélites (Multiplex).....	23
2.5.3- Marcadores Microssatélites em Videira (<i>Vitis spp.</i>).....	25
3. JUSTIFICATIVA.....	28
4. OBJETIVOS.....	30
4.1- Objetivo Geral.....	31
4.2- Objetivos Específicos.....	31
5. METODOLOGIA.....	32
5.1- Material Vegetal.....	33
5.2- Extração e Quantificação do DNA.....	34
5.3- Quantificação do DNA em Gel de Agarose.....	35
5.4- Escolha dos <i>Primers</i> Microssatélites.....	36
5.5- Amplificação dos marcadores microssatélites fluorescentes...	37
5.6- Análise dos dados.....	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6.1- Extração e Quantificação do DNA.....	41
6.2- Genotipagem com multiplex de microssatélites.....	43
6.3- Perfil Genético e Identificação das Variedades.....	47
6.3.1- Comparação do perfil genético das variedades coletadas em Santa Catarina entre si.....	49

6.3.2- Agrupamento das amostras por perfil genético.....	52
6.3.3- Comparação com os perfis genéticos de bancos de dados <i>online</i> e dados da literatura internacional.....	63
6.3.4- Identificação de variabilidade intravarietal.....	69
6.3.5- Genótipos Idênticos.....	71
6.3.6- Sinonímias, erros de identificação e identificação de amostras de origem desconhecida.....	74
7. CONCLUSÕES.....	77
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
ANEXOS.....	108
Anexo1.....	109
Anexo 2.....	110
Anexo 3.....	120

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem	Nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius	OD	Densidade Óptica
µg	Micrograma	pB	Pares de Base
µl	Microlitro	PCR	Polymerase Chain Reaction
µM	Micromolar	PE	Porta-enxerto
λ	Lambda	pH	Potencial Hidrogeniônico
AFLP	<i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>	P2 [R]	Primer reverse
bp	Pares de bases	QTLs	Quantitative Trait Loci
CCA	Centro de Ciências Agrárias		
CIA	Clofórmio Álcool-Isoamílico	RAPD	Random Amplified Polymorphic
CTAB	Cetyltrimethylammonium Bromide	RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
DNA	Ácido Desoxirribonucleico	RNase	Ribonuclease
dNTPs	Deoxyribonucleoside Triphosphates	Rpm	Rotações por minuto
EDTA	Acido Etileno Diamono Tetracético	SC	Santa Catarina
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A	SCAR	Sequence Characterized Amplified Regions
ha	Hectare	SSR	Simple Sequence Repeats
g	Gramas	Taq	Thermus Aquaticus
GENRES	European Network for Grapevine Genetic Resources Conservation and Characterization	TBE	Tris Base
IASMA	Instituto Agrario di San Michelli all' Adige	TE	Tris – EDTA
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística	Tris	Tris-(hidroximetil)-aminometano
kV	KiloVolts	Tris-Cl	Tris HCl
L	Litro	U	Unidade
LFMGV	Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal	UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
M	Molar	UV	Radiação Ultravioleta
mg	Miligramo	VNTR	Variable Number of Tandem Repeats
mM	Milimolar		
MgCl ₂	Cloreto de magnésio		
N	Normal		
Na Cl	Cloreto de sódio		
ng	nanogramas		

LISTA DE TABELAS

1. Área plantada de videiras no Brasil, em hectares, 2005 e 2006.....	7
2. Produção de uvas no Brasil, em toneladas, 2005 e 2006.....	8
3. Análise comparativa entre os marcadores.....	21
4. Descrição sucinta dos demais marcadores existentes na literatura.....	22
5. Relação dos primers apresentando a seqüência, temperatura de anelamento e tamanho do alelo. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.	36
6. Tamanho dos alelos (bp) em 10 locos das 181 variedades de <i>Vitis sp.</i> Identificadas neste estudo, agrupadas por perfil genético. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.....	53
7. Comparação dos perfis genéticos encontrados das variedades mais conhecidas de <i>vitis sp.</i> de Santa Catarina com aqueles das variedades encontradas em bancos de dados <i>online</i> e dados da literatura. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.....	65
8. Perfil genético de outras variedades encontradas no GENRES 081 (<i>European Vitis Database</i>) e dados da literatura. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.....	66
9. Variedades com variabilidade intravarietal e tamanho dos alelos (bp) microssatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.....	69
10. Variedades clonais de videira com genótipos idênticos caracterizados pela análise molecular através de 10 marcadores microssatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.....	72
11. Casos de sinonímias encontradas durante a análise molecular através de 10 marcadores microssatélites das variedades de videira de Santa Catarina. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.....	75
12. Variedades de videira de origens genéticas desconhecidas identificadas pela análise molecular através de 10 marcadores microssatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.....	76
13. Composição do gel de agarose para eletroforese horizontal. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	109

14. Reagentes utilizados na reação de polimerase em cadeia (PCR-MIX). Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.....	109
15. Marcadores microssatélites marcados com fluorescência utilizados nos cinco painéis múltiplos (multiplex-sequenciador). Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.....	109
16. Variedades de Nova Trento, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006..	110
17. Variedades de Urussanga, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	111
18. Variedades de Rodeio, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	112
19. Variedades de Tangará e Videira, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	113
20. Variedades de Campos Novos, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	114
21. Variedades de Água Doce, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	116
22. Variedades de São Joaquim, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	117
23. Variedades de porta-enxertos de Florianópolis, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	119
24. Tamanho dos alelos (bp) em 10 locos das 246 amostras de videira coletadas em Santa Catarina. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.....	120

LISTA DE FIGURAS

1. Microsatélites com repetições em tandem de dinucleotídeos CT/GA.....	18
2. Mapa das principais regiões onde foram coletadas as variedades para análises e caracterização molecular através de microsatélites (SSRs) no Estado de Santa Catarina, 2006.....	33
3. Eletroferograma mostrando o genótipo da variedade Standard com 10 marcadores microsatélites analisados com 5 painéis múltiplos. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.....	45
4. Exemplo de eletroferograma - perfil genético do loco VVMD5. O primeiro perfil genético corresponde ao tamanho dos fragmentos da variedade Standard (Chardonnay). O eixo horizontal representa as estimativas do tamanho em pares de bases e o eixo vertical indica a intensidade de fluorescência medida pelo seqüenciador de DNA ABI Prism. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.....	46
5. Eletroforese capilar (ABI 3100) dos fragmentos de DNA amplificados com os primers VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VRZAG62 e VRZAG79 das variedades estudadas. O eixo horizontal representa as estimativas do tamanho em pares de bases e o eixo vertical indica a intensidade de fluorescência medida pelo seqüenciador de DNA ABI Prism. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.....	47
6. Quantificação de DNA das variedades de Nova Trento. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	110
7. Quantificação de DNA das variedades de Urussanga. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	110
8. Quantificação das variedades de Rodeio. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	112
9. Quantificação de DNA das variedades de Tangará e Videira. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	113
10. Quantificação de DNA das variedades de Campos Novos. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	114

11. Quantificação de DNA das variedades de Água Doce. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	115
12. Quantificação de DNA das variedades de São Joaquim. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	117
13. Quantificação de DNA das variedades de porta-enxertos de Florianópolis. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.....	119

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE VARIEDADES DE VIDEIRA (*Vitis spp.*) DE SANTA CATARINA POR MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSRs)

Autor: Eng. Agr. Mariane Ruzza Schuck
Orientador: Prof. Aparecido Lima da Silva

RESUMO

A videira é a frutífera economicamente mais importante no mundo e é cultivada para que seus frutos produzam uvas de mesa, suco, uvas passas e vinhos. A espécie *Vitis vinifera* L. é cultivada pelo mundo todo e muitas variedades importantes têm sido selecionadas durante os séculos. O inventário das variedades de videira descritas na literatura revela a existência de mais de 14000 variedades. Esta grande diversidade genética foi originada pela antiga prática da propagação vegetativa. A dispersão das variedades de videira ou populações de diferentes origens por meio da migração e do comércio conduziu a um grande número de sinônimos, homônimos e ambigüidades na identificação das variedades. Deste modo, a análise genética molecular, baseada no polimorfismo de DNA detectado em locos marcadores tem sido útil no estudo de diversidade genética das coleções de germoplasma facilitando a classificação correta de amostras, bem como a identificação de sinônimos e homônimos. A coleção de germoplasma de videira do Estado de Santa Catarina mantém plantas de videiras que necessitam ser identificadas e caracterizadas corretamente a fim de evitar duplicatas ou sinonímias. Este trabalho objetivou caracterizar e identificar as variedades de videira, das coleções públicas e privadas de Santa Catarina, por marcadores microssatélites. Foram utilizados cinco painéis de marcadores microssatélites (multiplex-seqüenciador) constituídos por primers marcados com fluorocromos para a genotipagem semi-automática em seqüenciador de DNA de 246 amostras de videira, coletados em 7 regiões do Estado de Santa Catarina. Dez locos marcadores distribuídos no genoma da videira foram genotipados utilizando os painéis multiplex e os dados utilizados para identificar variedades sinônimas, de origem desconhecida e erros de identificação, e criar um banco

de dados referencial informatizado das variedades de videira (*Vitis spp.*) de Santa Catarina. Das 246 amostras genotipadas, 181 foram identificadas com segurança e o restante (n=65) por terem amplificado em menos de 6 locos SSRs, não foram identificadas, pois pouco ou nenhum dado referente ao tamanho dos alelos foi suficiente para identificá-las com segurança. A análise com microssatélites das 181 amostras identificadas resultou em 68 perfis moleculares únicos (68 variedades diferentes), 10 casos de variedades sinônimas (entre as variedades coletadas em Santa Catarina quando comparadas com aquelas encontradas nos 'database' e literatura internacional), identificação de 10 amostras de origem genética desconhecida, 7 casos de erro de identificação e 7 casos de variabilidade intravarietal. Um grande número de alelos pôde ser detectado, o que comprovou a natureza multialélica deste tipo de marcador e a alta eficiência na caracterização e discriminação do germoplasma de *Vitis sp.* a nível de variedade, gerando *fingerprintings* únicos para um grande número de genótipos. A metodologia de genotipagem utilizando painéis de microssatélites marcados com fluorescência e genotipados em seqüenciador automático de DNA apresentada mostrou ser um procedimento eficiente, rápido e simples na detecção de polimorfismo SSRs.

**“MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GRAPEVINE (*Vitis spp.*)
VARIETIES OF SANTA CATARINA ANALYSED BY MICROSATELLITE
MARKERS (SSRS)”**

**Author: Eng. Agr. Mariane Ruzza Schuck
Major Professor: Dr. Aparecido Lima da Silva**

ABSTRACT

Grape is the most important perennial crop of the world and is cultivated to produce table grapes, juice, grapes raisins and wines. *Vitis vinifera* L. is cultivated world wide and many important varieties have been selected during the centuries. The inventory of the described grape varieties in literature reveals the existence of more than 14000 varieties. This great genetic diversity was originated by the old practical of vegetative propagation. The dispersion of grapevine varieties or populations of different origins by migration and commerce leads to a great number of synonymous, homonyms and ambiguities in varieties identification. Thus, the molecular genetic analysis, based in DNA polymorphism detected in marking locus, has been useful in the study of genetic diversity of germplasm collections facilitating the correct classification of samples as well as the identification of synonymous and homonyms. The grapevine collections of Santa Catarina State keeps grapevines plants that need to be identified and characterized correctly in order to prevent duplicates or synonyms. In the study presented here our purpose was to characterize and to identify grape varieties, of the public and private collections of Santa Catarina, by using microsatellites markers. Five panels of microsatellites markers (multiplex-sequencer) composed by primers labeled with fluorochromes were used in a semi automated DNA sequencer for genotyping of 246 grapevine samples collected in 7 regions of Santa Catarina State. Ten marked locus distributed in the grapevine genome had been genotyped using the multiplex panels and the data utilized to identify varieties of unknown origin, errors of identification and synonyms, and to create an informatized referencial data base of grapevine (*Vitis spp.*) varieties of Santa Catarina State.

Of the 246 samples genotyped, 181 had been identified with security. The remaining (n=65) for having amplified less than 6 locos SSRs had not been identified, because little or no referring data of the allele sizes were not enough to identify them with security. The analysis of the 181 samples identified with the microsatellites, resulted in 68 unique molecular profiles (68 different varieties), 10 cases of varieties synonyms (between the varieties collected in Santa Catarina when compared with that found in `database' and international literature), identification of 10 samples of unknown genetic origin, 7 cases of miss-identification and 7 cases of intravarietal variability. A great number of allels could be detected, which proved the multialelic nature of this type of marker and the high efficiency in the characterization and discrimination of *Vitis* sp. germplasm at the variety level, generating unique fingerprintings for a great number of genotypes. The genotyping methodology using panels of microsatellites labelled with fluorescence and genotyped using an automated DNA sequencer showed to be an efficient, fast and simple procedure in the detention of SSRs polymorphism.

INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

A videira foi introduzida no Brasil, em 1532, pelos colonizadores portugueses da expedição de Martim Afonso de Sousa, na Capitania de São Vicente, e por um longo período de tempo permaneceu sem grande importância devido à falta de adaptação das variedades europeias às condições ambientais brasileiras. A partir da segunda metade do século XIX foram trazidas para o Brasil as primeiras variedades americanas, de maior resistência a doenças fúngicas e com acentuadas características de adaptação ao ambiente brasileiro, e com o advento da imigração italiana no final do século XIX a viticultura brasileira adquiriu importância comercial, principalmente nos Estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo (Sousa e Martins, 2002).

Em Santa Catarina, a videira foi introduzida no sul do Estado por volta de 1878, e na região norte em 1893. No Alto Vale do Rio do Peixe somente começou a ser cultivada em 1913 com a vinda ao Sul, dos imigrantes italianos (Sousa e Martins, 2002). As regiões do Vale do Rio do Peixe e a Carbonífera são responsáveis por 90% da produção de uva e vinho do Estado de Santa Catarina (Rosier e Losso, 1997). Em 2006, a área cultivada de uvas em Santa Catarina foi de 4.986 ha com uma produção de 47.971 toneladas de uva (IBGE, 2006).

O gênero *Vitis* L. é diverso, compreendendo 29 espécies na Ásia, cerca de 34 na América do Norte e uma única espécie na Europa – *Vitis vinifera* L. Esta última é a espécie mais cultivada atualmente. As outras espécies de *Vitis* são geralmente utilizadas como porta-enxertos e cultivares resistentes a fungos. Estima-se existirem cerca de 6000 variedades de *V. Vinifera* L. (Alleweldt and Dettweiler, 1994), das quais menos de 400 são de importância comercial. Atualmente, a maioria dos recursos genéticos de *Vitis vinifera* L. são mantidos em coleções de germoplasma (Galet, 2000).

A videira tem sido cultivada a cerca de 5000 anos (Zohary and Hopf 2000) e a prática da propagação vegetativa favoreceu a dispersão de muitas variedades para as diversas regiões do mundo (Dion 1977; Fregoni 1991). Como consequência, algumas variedades têm hoje mais de 100 sinônimos (diferentes

nomes para a mesma variedade), e vários homônimos (diferentes variedades com o mesmo nome) (Borrego et al., 2002; <http://www.genres.de/idb/vitis/>). A presença de sinônimos, homônimos, e variedades sem nomes são problemas significativos nas 130 coleções de videira existentes no mundo (Dettweiler et al., 2000a). Deste modo, a identificação dos acessos é um requisito básico para o correto manejo e uso do gemoplasma da videira.

A identificação e caracterização das variedades de videira são também de considerável interesse para os viveiristas, agricultores, empresas vinícolas e gestores dos bancos de germoplasma, pois a qualidade e a quantidade da produção são determinadas pela variedade cultivada (Asensio et al., 2002). Além disso, a caracterização de variedades, linhagens ou híbridos tem sido de grande importância na proteção do direito intelectual do melhorista, sendo utilizada como prova legal em processos jurídicos nos países em que já vigoram as leis de proteção de cultivares. No caso específico do germoplasma brasileiro de videira, a falta de conhecimento sobre a diversidade genética mantida tem constituído um entrave à utilização e integração de outras formas de conservação de germoplasma (por exemplo, *in vitro*), além de dificultar a produção e o gerenciamento das informações demandadas pelos usuários.

O estudo da diversidade genética das coleções de germoplasma de videira pode facilitar a classificação correta dos acessos, a seleção de amostras representativas que capturem a diversidade genética da coleção e a detecção de padrões de diferenciação em toda a coleção.

O desenvolvimento e aplicação de tecnologias baseadas em marcadores moleculares fornecem ferramentas únicas capazes de identificar a variação genética existente entre e dentro de populações, em função do alto grau de precisão e informação que pode ser obtido pelo “fingerprinting” molecular. O “fingerprinting” ou genotipagem molecular é a impressão digital de um determinado genótipo, que permite a obtenção de seu perfil genético e sua diferenciação inequívoca de outro genótipo (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Bredemeijer et al., 2002; Magalhaes et al., 2003; Vijayan et al., 2004). Os métodos que utilizam diretamente o DNA apresentam grandes vantagens, por não serem

afetados pelo ambiente e por apresentarem um elevado poder de discriminação. Além disso, o polimorfismo de DNA pode ser muito útil na definição de um grupo de acessos (coleção nuclear) que pode geneticamente representar a grande coleção de germoplasma do qual ela é originada. Uma coleção nuclear representa um subgrupo derivado de uma coleção inteira que é composta de um pequeno número de acessos que juntos devem representar o máximo possível da diversidade genética existente em toda a coleção (Frankel & Brown, 1984).

Dentre os marcadores moleculares, os microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) tem sido a ferramenta molecular mais utilizada em *Vitis sp* para a identificação e caracterização de variedades copa e porta-enxerto, avaliação da variabilidade genética, estudos de pedigree, mapeamento genético e confirmação de sinônimos e homônimos (Thomas & Scott 1993; Thomas et al. 1994; Bowers et al. 1996, 1999; Bowers and Meredith 1997; Sefc et al. 1997; 1998a, 1998b, 1998c, 1999; Ulanovsky et al., 2002; Cipriani et al., 1994; Botta et al., 1995; Sanchez-Escribano et al., 1999; Dalbo et al., 2000; Sefc et al., 2000; Grando et al., 2003; Riaz et al., 2004; Boccacci et al., 2005; Martin et al., 2006). Os marcadores microssatélites são multialélicos, altamente polimórficos, de natureza co-dominante, o que os torna marcadores ideais para análise genética de populações, estruturas genéticas e diferenciações em coleções de germoplasmas e populações naturais (Thomas & Scott, 1993; Bowers et al., 1996; Sefc et al., 1999; Zulini et al., 2002; Magalhaes et al., 2003).

Com os dados obtidos na identificação molecular de genótipos de plantas de *Vitis* com marcadores moleculares, vários bancos de referências foram desenvolvidos para as variedades de *Vitis* de todo mundo (Dettweiller et al., 1998a, 1998b; Lefort et al., 2000; Grape Microsatellite Collection, <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>; Greek Vitis Database, <http://www.biology.uch.gr/gvd> e Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMMD, <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>). O acesso aos bancos de referência permite que as informações sejam compartilhadas aumentando significativamente os esforços internacionais para a correta identificação do germoplasma das variedades (Lefort et al., 2000).

O presente trabalho teve por finalidade utilizar marcadores obtidos por amplificação do DNA via PCR com primers de seqüências repetidas (SSR) desenvolvidos para *Vitis sp.*, para caracterizar geneticamente as variedades de videira existentes nas coleções públicas e privadas do Estado de Santa Catarina e construir um banco de dados referência das variedades analisadas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Distribuição e Importância Econômica da Viticultura

A videira é a frutífera economicamente mais importante no mundo e é cultivada para que seus frutos produzam uvas de mesa, suco, e uvas passas. As bagas da videira são também a base para o alto valor agregado dos vinhos e outras bebidas alcoólicas (Lund & Zapater, 2005).

A viticultura mundial ocupa uma área de aproximadamente, 8,7 milhões de hectares, sendo a Europa responsável por mais de 4,8 milhões de hectares. Os principais países que se destacam em áreas plantadas são: Espanha, França e Itália, com respectivamente, 1.100, 858 e 836 mil ha (FAO, 2005).

A viticultura no Brasil ocupa uma área de 87.792 hectares e está situada, principalmente, nos estados do: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco e Bahia (**Tabela 1**) (IBGE, 2006).

Tabela 1. Área plantada de videiras no Brasil, em hectares, 2005 e 2006.

Estado\Ano	2005	2006
Pernambuco	4.952	6.471
Bahia	3.071	3.150
Minas Gerais	963	929
São Paulo	13.780	18.772
Paraná	5.603	5.900
Santa Catarina	4.224	4.986
Rio Grande do Sul	42.450	47.584
Brasil	75.043	87.792

Fonte: IBGE

O Brasil, apesar de apresentar uma grande diferença, em termos de área destinada à viticultura, quando comparado com os países da Europa, apresenta produtividade superior a muitos países com mais tradição na cultura da uva, ocupando o quarto lugar mundial de produtividade, 15,3 mil kg. ha⁻¹; sendo que a produção média do mundo é de 8,1 mil kg.ha⁻¹ (FAO, 2005).

Em 2006, a produção brasileira de uvas foi de aproximadamente 1,3 milhões de toneladas. O Rio Grande do Sul, maior produtor nacional, produziu

623.847 toneladas. Santa Catarina produziu 47.787 toneladas de uva, sendo o segundo maior produtor nacional de vinhos (**Tabela 2**) (IBGE, 2006).

Tabela 2. Produção de uvas no Brasil, em toneladas, 2005 e 2006.

Estado\Ano	2005	2006
Pernambuco	150.827	155.783
Bahia	90.988	89.738
Minas Gerais	14.389	12.294
São Paulo	231.680	194.461
Paraná	99.253	104.480
Santa Catarina	47.971	47.787
Rio Grande do Sul	611.868	623.847
Brasil	1.246.976	1.228.390

Fonte:IBGE

Em Santa Catarina, os principais municípios produtores de uva estão localizados no Alto Vale do Rio do Peixe com uma área de 1.677,7 ha segundo ICEPA (2005), onde a produção de uvas representa em torno de 60% da produção estadual e concentra as principais indústrias vinícolas do Estado. A produção catarinense corresponde a cerca de 4% da produção nacional, ocupando o segundo lugar na produção de vinhos e mosto (Epagri, 2005).

Contudo, nos últimos anos, em função dos bons preços praticados para uva e seus derivados, principalmente para as cultivares viníferas, está ocorrendo uma reversão das expectativas. Novos pólos vitivinícolas estão surgindo em todas as regiões de Santa Catarina, inclusive em áreas não tradicionais para o cultivo da videira, como as regiões de elevada altitude (acima de 950 m) no Planalto Serrano, Campos de Água Doce e Campos Novos. Na Serra Catarinense, a cidade de São Joaquim, já concentra mais de 180 ha de uvas viníferas, para produção de vinhos finos (Epagri, 2006).

A vitivinicultura no Sul do Brasil vem apresentando um crescimento em área cultivada, investimentos por parte das indústrias vinícolas e introdução de novas variedades de *Vitis vinifera*. Novos pólos estão surgindo no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, onde variedades européias estão sendo plantadas para a produção de vinhos finos, o que vem a melhorar a qualidade do produto. As

perspectivas para a viticultura no Sul do Brasil são muito boas, com um crescimento sólido e tecnificado (Protas, 2000).

2.2 - Origem

Estudos arqueológicos revelaram fósseis de folhas de videira anteriores à última era glacial. Registros históricos sobre a uva e o vinho desde tempos remotos são retratados na Bíblia e em outras formas de comunicação. A videira difundiu-se e adaptou-se paulatinamente a diversas regiões do globo terrestre. Sua difusão ocorreu em duas principais direções, uma Américo-asiática e outra Euro-asiática, originando respectivamente as cultivares de uvas chamadas americanas e outra chamada européia ou *Vitis vinifera* (Pommer, 2003).

A partir da segunda metade do século XIX foram trazidas para o Brasil as primeiras variedades americanas, que possuíam características de adaptação ao ambiente brasileiro. A viticultura brasileira somente adquiriu importância comercial com a imigração italiana, que se estabeleceu nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (Souza e Martins, 2002).

Em Santa Catarina, crê-se, que a viticultura tenha mais de 200 anos. No entanto o primeiro registro data de 1807, descrevendo a existência de videiras na região do porto de São Francisco. De modo geral, a viticultura de Santa Catarina teve a mesma evolução da viticultura de todo o Brasil, firmando-se como atividade econômica a partir da segunda metade do século XIX, com o aparecimento da variedade Isabel e com o incremento da colonização européia (Pommer, 2003).

2.3- Classificação Botânica

A videira é uma planta pertencente à família *Vitaceae*, a qual abrange mais de mil espécies, incluídas em dezenove gêneros. O gênero *Vitis* é o único da família com importância econômica, e conta com 107 espécies, sendo 29 de

origem asiática, 34 norte-americanas, 1 européia, 28 fósseis e 15 espécies cuja origem é ainda indefinida (Souza e Martins, 2002).

Foex (1895 apud Pommer, 2003) dividiu o gênero *Vitis* em dois subgêneros, Euvitis e Muscadinia, devido às diferenças anatômicas e morfológicas que suas espécies apresentam. A seção Muscadinia agrupa plantas com 40 cromossomos e engloba as espécies *V. rotundifolia*, *V. munsoniana* e *V. popenoei*, destacando-se a primeira como mais importante do ponto de vista de resistência a stress biótico e abiótico (Pommer, 2003). A seção Euvitis agrupa plantas com 38 cromossomos, onde se encontram duas espécies de importância econômica para a agricultura (*V. labrusca* e *V. vinifera*), seja para a produção de vinho, seja para o consumo *in natura* das frutas. A primeira é uma espécie de origem americana e apresenta características mais rústicas quanto à suscetibilidade a doenças; a segunda é uma espécie de origem européia, responsável por mais de 90% dos vinhos fabricados no mundo (Pommer, 2003).

Em Santa Catarina aproximadamente 100 variedades são cultivadas, com predomínio das videiras americanas (Isabel, Niágara, Bordô e Goethe), híbridas (Couderc 13 e Moscato Bailey-A) e européias (Cabernet Sauvignon, Merlot, Chardonnay, Malbec, Pinot Noir e Cabernet Franc) (Souza e Martins, 2002).

2.4- Marcadores Moleculares

Os marcadores são definidos como elementos capazes de prever, mapear e caracterizar um fenótipo. Inicialmente até meados da década de 60, os estudos genéticos eram realizados utilizando-se marcadores morfológicos de fácil identificação no organismo e geralmente regidos por um único gene. Apesar dos marcadores morfológicos terem contribuído significativamente para o estabelecimento dos princípios teóricos do mapeamento genético e das análises de ligação gênica (Knapp, 1991), o pequeno número de marcadores morfológicos diferentes em uma mesma linhagem diminui a probabilidade de se encontrar associações significativas entre esses marcadores e caracteres de importância

para programas econômicos ou para estudos teóricos (Borém, 1998). Além disso, esses marcadores freqüentemente são afetados pela ação gênica de dominância, efeito ambiental, pleiotropia e epistasia (Paterson et al., 1991).

A identificação de variedades de videira tem sido tradicionalmente baseada na ampelografia que é a análise e comparação de características morfológicas das folhas, ramos, cachos e bagas (Galet, 1991; Boursiquot and This, 1996; IPGRI UPOV OIV, 1997; Galet, 2000). Entretanto, o número de especialistas em ampelografia é restrito e o tempo de formação nesta área é enorme. Adicionalmente, a expressão das características morfológicas é influenciada por fatores ambientais e pela biologia individual da planta. Além disso, plantas jovens com 4 a 5 anos de vida são impossíveis de identificar, pois elas não apresentam as típicas características de plantas adultas. Algumas variedades geneticamente relatadas são morfológicamente similares e difíceis de diferenciar por comparação visual (Aradhya et al., 2003). Por outro lado, clones intravarietais podem diferir consideravelmente no fenótipo apesar de terem o mesmo perfil genético (Vignani et al., 1996; Franks et al., 2002; Riaz et al., 2002).

O primeiro grande passo para resolver estes problemas foi o desenvolvimento de marcadores isoenzimáticos, que são baseados na análise do produto da expressão de genes (Moss, 1982). Isoenzimas foram definidas como diferentes formas moleculares de uma mesma enzima (variantes), apresentando função idêntica ou similar presente num mesmo indivíduo. Eles revelaram-se como uma nova fonte de marcadores genéticos com inúmeras vantagens sobre os marcadores morfológicos como co-dominância e insensibilidade a pleiotropia e epistasia (Paterson et al., 1991). Desde a sua resolução pelos métodos histoquímicos, as isoenzimas têm sido extremamente importantes para as investigações sobre variação intra-específica, genética de populações, evolução e mapeamento genético. Em plantas, as isoenzimas têm sido utilizadas principalmente em genética de populações, evolução, e caracterização de germoplasma (Gottlieb, 1981; Tanksley & Orton, 1983; Soltis & Soltis, 1989; Pasteur et al., 1991; Hill et al., 1996).

Os marcadores isoenzimáticos foram testados para identificar e classificar variedades de videira, porém o grau de polimorfismo obtido limitou sua utilização na identificação de clones e na estimativa da diversidade genética. Outro fator limitante na utilização das isoenzimas para identificação de variedades é que a expressão das enzimas depende do estágio de desenvolvimento da planta (Sefc et al., 2001; Asensio et al., 2002). Por essa razão, somente sistemas enzimáticos que não apresentam variações sob diferentes condições podem ser considerados marcadores enzimáticos. Isto limita o número de marcadores disponíveis, e conseqüentemente restringe o grau de polimorfismo, afetando diretamente a diferenciação conseguida com análise isoenzimática (Sefc et al., 2001; Ortiz et al., 2004).

As técnicas de biologia molecular foram aprimorando-se e o DNA passou a ser o ponto focal no desenvolvimento de novos marcadores (Borém, 1998). As tecnologias de análise molecular da variabilidade do DNA permitem determinar pontos de referência nos cromossomos, tecnicamente denominados “marcadores moleculares” (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Marcador Molecular é todo e qualquer fenótipo molecular proveniente de um segmento específico de DNA correspondente a regiões expressas ou não do genoma. O desenvolvimento de marcadores moleculares veio dar um impulso maior à pesquisa genética, propiciando a detecção de polimorfismo de DNA com comportamento Mendeliano, passível de ser utilizado em diferentes áreas da genética e do melhoramento de plantas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os distintos tipos de marcadores moleculares hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade no DNA, polimorfismo molecular, expressão gênica, distribuição no genoma, custo de implementação e operação (Griffith et al., 2000). O uso desses marcadores é uma metodologia muito utilizada para complementar a ampelografia, identificar sinônimos e estabelecer relações genéticas entre as variedades de videira (Bowers et al. 1993; Sefc et al., 1999).

Para Ferreira & Grattapaglia (1998), os marcadores moleculares se caracterizam pela:

a) Unicidade: cada indivíduo tem um perfil de DNA único com exceção de clones de uma planta ou gêmeos univitelinos no caso de animais;

b) Imutabilidade: ou melhor, mutabilidade extremamente baixa (da ordem de 10^{-4} a 10^{-6} /geração); o DNA de um indivíduo é o mesmo em todas as células e este é estável ao longo de sua vida;

c) Estabilidade física: moléculas de DNA podem ser recuperadas, purificadas e analisadas com sucesso a partir de praticamente todo e qualquer material biológico da planta, independentemente do tecido, idade, condição fisiológica;

d) Variabilidade: apesar do fato de que a maior parte do genoma é muito conservada entre indivíduos, algumas regiões genômicas específicas são altamente variáveis permitindo uma discriminação altamente precisa, quantificável e reproduzível com alta precisão entre laboratórios distintos.

Inicialmente, a utilização de enzimas de restrição no estudo direto do DNA permitiu a análise e a comparação do comprimento de fragmentos gerados pela clivagem do material genético através da detecção por hibridização da seqüência clonada (Griffith et al., 2000). As variações nos nucleotídeos do DNA devido à mutação, deleção, inserção e inversão, podem ser detectadas se ocorrerem num sítio de corte das enzimas de restrição, gerando fragmentos de diferentes tamanhos, portanto polimórficos (Lander et al., 1989). A técnica que se baseia nestes fragmentos é denominada de RFLP (*Restriction Fragment Length Polimorphism* – polimorfismo de restrição de DNA) e foi desenvolvido por Botstein e colaboradores (1980). A grande vantagem dos marcadores RFLPs é a sua ampla distribuição no genoma, permitindo uma cobertura adequada e proporcionando a construção de densos mapas genéticos de ligação, que possibilitam a realização de análises genéticas e moleculares e várias aplicações no melhoramento de plantas, como clonagem de genes e mapeamento de QTLs (*Quantitative trait loci* – locos controladores de características quantitativas), além de ter expressão co-dominante (Nodari et al., 1993). Os marcadores RFLPs foram utilizados para diferenciar, caracterizar e identificar os acessos de videira (Striem et al., 1990; Bourquin et al., 1993; Bowers and Meredith, 1996). Entretanto o

elevado custo, instalações apropriadas ao manuseio e descarte de material radioativo e o tempo necessário na geração destes marcadores restringe drasticamente seu uso de forma freqüente (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Com os avanços nos estudos sobre o genoma dos organismos, surgiram marcadores moleculares baseados nas seqüências repetitivas do DNA. Jeffreys e colaboradores (1985) mostraram que muitos RFLPs eram causados por minisatélites ou VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*, Wyman & White, 1980 apud Leoi, 2003), que são regiões dispersas no genoma que contém um número variável de seqüências repetidas com tamanhos intermediários entre 0,5 a 30 Kb e enfileiradas em tandem de DNA com comprimento variável entre 10 a 100 pb, altamente variáveis (Armour et al., 1999). Os VNTRs podem ser analisados tanto através de RFLPs ou PCR. O processo de detecção de VNTR é bastante semelhante ao RFLP, contudo o polimorfismo depende da freqüência de pequenas regiões repetitivas entre os sítios de restrição no genoma (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A vantagem deste tipo de marcador é a grande quantidade de informação que pode ser obtida em um único teste, devido o cruzamento de informações produzidas simultaneamente pelo RFLP com as sondas VNTR, gerando um complexo padrão de bandas abrangendo todos os locos hipervariáveis do genoma concomitantemente (Armour et al., 1999). Outra vantagem desta técnica é a possibilidade de utilização de uma mesma sonda para a detecção de locos hipervariáveis em uma larga variedade de espécies (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Em contrapartida, devido à complexidade do perfil gerado de bandas, nem todos os alelos correspondentes a cada loco podem ser identificados. Adicionalmente, por ser uma técnica baseada em RFLP, compartilham as mesmas limitações (Ferreira & Grattapaglia, 1998). O uso destes marcadores está concentrado no melhoramento de plantas para identificação de variedades e clones, na análise de diversidade genética e determinação de paternidade (Dallas, 1988; Nybom & Hall, 1991; Rogstad et al., 1988; Broun et al., 1992).

2.5- Marcadores Moleculares baseados em PCR

Mais recentemente, o advento de técnicas baseadas em PCR (*Polymerase Chain Reaction* – Reação de Polimerase em Cadeia) apresentou uma nova opção ao uso de marcadores moleculares. Esta técnica (PCR) foi concebida em 1983 por Kary Mullis (Prêmio Nobel em 1993), publicada em 1987, sendo utilizada de forma rotineira em diversas áreas da biologia, tanto em pesquisa básica como na aplicada a partir de 1988 (Saiki et al., 1988).

A reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) foi um dos passos revolucionários na genética molecular, pois possibilitou a produção de múltiplas cópias de seqüências específicas de DNA sem a necessidade de clonar esses segmentos (Alberts et al., 1994). A PCR explora as características da duplicação do DNA e consiste em desnaturar o DNA genômico, submetendo-o a uma alta temperatura e, desse modo, permitindo que as duas fitas simples originárias sejam duplicadas. Nesse ponto reside um dos trunfos dessa técnica, que é a utilização de uma enzima extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, a *Taq* polimerase. Essa bactéria habita em locais quentes e sua enzima suporta temperaturas de até 94 °C, sendo que sua temperatura ótima é de 72 °C. Essa peculiaridade permite que o processo seja realizado em aparelho termociclador com programas pré-estabelecidos que alterem a temperatura. Além da *Taq* polimerase, são necessários dois iniciadores de seqüência conhecida conhecidos como primers, que irão anelar-se às fitas simples do DNA com seqüências complementares em suas extremidades 3' e 5', e direcionar a polimerase na síntese da seqüência desejada. Ambas as fitas servem como moldes e o resultado de “n” ciclos de PCR é a formação de 2^n duplas fitas de DNA, que são cópias da seqüência flanqueada pelos iniciadores (Alberts et al., 1994).

As vantagens dessa técnica são muitas, entre elas a quantidade de DNA necessária para a reação, na ordem de dezenas de nanogramas. Entre as principais utilidades da reação em cadeia da polimerase estão os estudos de evolução molecular, diferenciação de grupos taxonômicos, identificação de genes específicos, entre outras (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Com a PCR e as novas técnicas de genética molecular, os marcadores moleculares de DNA (marcadores genéticos baseados na variabilidade de DNA) têm contribuído como ferramenta para incrementar a eficiência do melhoramento de plantas, seleção assistida e mapeamento genético (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Na década de 80, surgiu um novo tipo de marcador molecular denominado de RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA* – DNA Polimórfico Amplificado ao Acaso, Williams et al., 1990). O RAPD foi praticamente o primeiro marcador criado a ser baseado em PCR e utiliza como iniciadores oligonucleotídeos curtos, comumente com 10 nucleotídeos, com seqüência nucleotídica arbitrária. A reação de amplificação procede em condições de baixa estringência, permitindo que ocorra o pareamento entre os iniciadores e o DNA – alvo, mesmo que não haja complementaridade total entre as duas seqüências. Os produtos resultantes da amplificação podem ser visualizados como bandas em géis de agarose ou poliacrilamida. Diferenças ao nível de DNA são inferidas pela presença ou ausência de um determinado fragmento amplificado que produzem um padrão de bandas específico conhecido como impressão digital genômica (*DNA fingerprint*). Os *fingerprints* permitem distinguir diferentes espécies e até mesmo populações distintas da mesma espécie. As principais vantagens deste marcador estão na simplicidade e rapidez na obtenção dos resultados, além da mínima quantidade de DNA necessária para análise genotípica de um indivíduo. Sendo o RAPD um marcador com característica dominante, sua principal limitação está justamente no baixo conteúdo informativo por loco (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Em videira, os marcadores RAPDs têm sido utilizados principalmente na caracterização e identificação de variedades (Defontaine, 1992; Gogorcena et al., 1993; Büscher et al., 1994; Botta et al., 1995a; Grando et al., 1995, 1996; Loureiro et al., 1998; Ye et al., 1998; Fanizza et al., 1999; Tessier et al., 1999; Pinto-Carnide et al., 2003). O primeiro mapa genético de videira foi desenvolvido por Lodhi et al. (1995) utilizando marcadores RAPDs.

Em 1993, os dois pesquisadores Zabeau e Vos, desenvolveram e divulgaram outro marcador molecular denominado AFLP (*Amplified Fragment*

Length Polymorphism – Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados). Esta técnica combina os alvos para estudo do polimorfismo pelos marcadores RFLP e RAPD: a distribuição aleatória de sítios de restrição entre genomas e a amplificação aleatória de fragmentos empregando-se primers de seqüências arbitrárias. A característica fundamental desta técnica é a capacidade de revelar simultaneamente muitas regiões diferentes distribuídas aleatoriamente ao longo do genoma (Mueller & Wolfenbarger, 1999). A análise de AFLP é baseada na amplificação seletiva via PCR de um subconjunto de fragmentos genômicos gerados após digestão com uma enzima de corte raro combinada com uma enzima de corte freqüente. A principal vantagem desta tecnologia é o grande número de fragmentos que são gerados simultaneamente, aumentando o poder de detecção de variabilidade genética. Por esta razão, ela tem sido utilizada principalmente no estudo da diversidade genética entre indivíduos (Muluvi et al., 1999; Loh et al., 2000) e na construção de mapas genéticos e mapeamento de genes de interesse em diferentes espécies (Hart et al., 1999). A desvantagem é que estes marcadores por não serem dirigidos a uma região particular do genoma são inespecíficos, revelando o polimorfismo presente em dezenas de locos concomitantemente. Os dados revelados têm natureza binária (ausência ou presença), portanto, marcadores AFLP são marcadores dominantes e com baixo conteúdo de informação genética por loco.

Em videira, no caso específico da identificação clonal e seleção assistida das variedades, faz-se necessário à construção de mapas altamente saturados. Nestes casos, os AFLPs são ferramentas poderosas devido ao grande número de marcadores que podem ser gerados por indivíduo (Cervera et al., 1998; Dalbo et al., 2000, 2001). Além disso, marcadores AFLPs têm sido utilizados para diferenciar, caracterizar e identificar acessos de *Vitis* (Sensi et al., 1996; Cervera et al., 1998).

Outra técnica também muito utilizada como marcador molecular baseia-se nas seqüências repetidas em tandem presentes no genoma dos seres vivos, sendo denominada de marcadores microsatélites (SSRs).

2000). Por outro lado às repetições do tipo CA/GT são as mais comuns em *Drosophila melanogaster* (Schug et al., 1998). Os procariotos têm poucos microssatélites quando comparados com o genoma de eucariotos (Hancock, 1995; Field & Wills, 1998) e possuem repetições do tipo poly A/T em sua maioria, seguidas das repetições AT/TA (Belkun et al., 1998; Gur – Arie et al., 2000).

Os marcadores microssatélites são marcadores co-dominantes, são amplificados via PCR (o que facilita a sua obtenção mesmo com pouca quantidade de DNA), estão amplamente distribuídos pelo genoma de eucariotos, são multialélicos, de menor custo, não demandam de radioatividade, além de serem geralmente muito polimórficos. Possuem ainda a vantagem de serem facilmente compartilhados entre pesquisadores ou centros de pesquisa (pois cada loco é definido por um par de seqüências de primer, mantendo o mesmo resultado independente de onde o pesquisador esteja trabalhando). Os ensaios com microssatélites são mais robustos do que com RAPDs e mais versáteis do que com AFLPs. A natureza co-dominante dos microssatélites é uma vantagem sobre os marcadores RAPD e AFLP (dominantes), principalmente para mapeamento genético (Toth et al., 2000). Além disso, primers marcados com fluorescência possibilitam sistemas múltiplos de detecção (multiplex), e conseqüentemente, permitem a avaliação de um grande número de locos por indivíduo (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Akagi et al., 1996; McCouch et al., 1997).

A detecção dos marcadores microssatélites, a determinação do tamanho dos seus fragmentos e conseqüentemente do polimorfismo pode ser feita por eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida ou ainda por sistema de capilares em seqüenciadores automáticos. A coloração com brometo de etídio é comumente utilizada para detectar produtos de PCR em géis não desnaturantes, i.e., géis de agarose. A resolução em agarose é, no entanto, limitada em comparação com poliacrilamida. Vale comentar que géis de agarose MetaPhor 2% e UltraPura 1% possibilitam maior distinção de diferenças alélicas (Becker & Heun, 1995). A resolução de nucleotídeos simples requer o uso de géis de poliacrilamida desnaturante ou por capilaridade utilizando coloração de prata, marcação radioativa ou fluorescência.

Tipicamente locos microssatélites são altamente polimórficos, fazendo deles marcadores genéticos muito potentes (Schlötterer, 2000; Balloux and Lugon-Moulin, 2002) e com uma grande habilidade para resolver diferenças genéticas quando comparados a outras classes de marcadores genéticos (Mueller and Wolfenbarger, 1999; Sunnucks, 2000). Por estas razões, eles são rotineiramente usados para identificação forense (Olaisen et al., 1997; Mukaida et al., 2000), análises de pedigree (McCouch et al., 1997; Itokawa et al., 2003), e determinação da estrutura da população (Goldstein and Schlötterer, 1999; Schlötterer, 2000). Devido à natureza co-dominante estes marcadores podem ser usados em estudos de parentesco e de proteção e identificação de variedades de plantas em bancos de germoplasma (Lopes et al., 1999; Diwan & Cregan, 1997; Marklund et al., 1994). Esses marcadores podem contribuir também para conservação, já que permitem a obtenção de informações cruciais sobre a biologia de populações naturais, tais como: fluxo gênico, migração, tamanho efetivo, sistema de cruzamento, etc.

O grande poder de discriminação dos microssatélites justifica seu uso quando se pretende obter uma boa representação da diversidade genética existente, conduzindo a estudos de diversidade inter e intra-específicos e promovendo a compreensão do genoma. Além disso, o conhecimento da quantidade e da distribuição da variabilidade genética é um ponto central para o desenvolvimento de estratégias de conservação e para o uso efetivo do germoplasma de videira (Aradhya et al., 2003).

Recentemente, vários microssatélites foram isolados e caracterizados em diversas espécies de plantas frutíferas, incluindo a pêra (Testolin et al., 2000), maçã (Liebhard et al., 2002) e videira (Bowers e Meredith, 1997; Sefc et al., 1999; Ulanovsky et al., 2002; Ortiz et al., 2004).

Os cinco tipos de marcadores citados anteriormente (Isoenzimas, RFLP, RAPD, AFLP e SSR) são os mais utilizados atualmente no estudo do genoma de plantas, animais e humanos. Para facilitar a diferenciação destes marcadores, a **Tabela 3** traz uma breve análise comparativa entre eles. Entretanto, na literatura

existem outros marcadores, que muitas vezes apresentam apenas uma pequena modificação em relação a alguns desses já comentados (**Tabela 4**).

Tabela 3. Análise comparativa entre os marcadores.

Atributos	Isoenzimas	RFLPs	RAPDs	AFLPs	Microssatélites
Nível de Polimorfismo	baixo	baixo-alto	baixo-alto	muito-alto	muito-alto
Estabilidade Ambiental	moderada	Alta	alta	Alta	Alta
Número de locos	moderada<50	Alto	alto	Alto	Alto
Expressão Gênica	co-dominante	co-dominante	dominante	dominante	co-dominante
Números de alelos por loco	2-5	multialélico	2	2	Multialélico
Distribuição no genoma	regiões de cópia única	Várias	ao acaso	ao acaso	ao acaso
Acessibilidade tecnológica	muito alta	Média	muito alta	Média	muito baixa
Aplicabilidade	rápido, custo baixo	lento, custo médio	rápido, custo baixo	rápido, custo baixo	lento, custo alto
Identificação de genótipos	baixa	Alta	muito alta	muito alta	muito alta
Avaliação de germoplasma	média	Alta	alta	muito alta	Alta
Mapeamento genético	baixa	Alta	alta	Alta	muito alta
Mapeamento de regiões específicas	baixa	Média	muito alta	muito alta	Média
Mapeamento comparativo	baixa	muito alta	baixa	baixa	Alta
Genética de autógamias	baixa	Média	alta	muito alta	muito alta
Genética de alógamas	média	Média	alta	muito alta	muito alta
Análise filogenética	média	muito alta	média	alta	Média

Adaptado de Gepts, 1993; Ferreira & Grattapaglia, 1995.

Tabela 4. Descrição sucinta dos demais marcadores existentes na literatura

Tipo	Descrição
AP-PCR <i>Arbitrary Primer PCR</i>	Semelhante ao RAPD, constitui-se por ampliações ao acaso utilizando primer com 20 bases, empregando-se temperaturas de anelamento inferiores à TM exigida pelo primer. Característica dominante, detecção em gel de agarose (Welsh & McClelland, 1990)
CAPS <i>Cleaved Amplified Polymorphic Sequence</i>	Constitui-se da digestão com enzimas de restrição de fragmentos polimórficos amplificados com um primer específico. Função: revelar o polimorfismo presente nos sítios de restrição do fragmento. Co-dominante e detecção em gel de agarose ou prata (Konieczny & Azubel, 1993).
DAF <i>DNA Amplified Fingerprinting</i>	Mesmo princípio que o RAPD, utilizando primers mais curtos (entre 5 a 10 bases). Os perfis eletroforéticos dos produtos amplificados são extremamente complexos, apresentando um grande número de bandas (Caetano-Anóles et al., 1991).
DGGE <i>Differential Gradient Gel Electrophoresis</i>	Visa à detecção de fragmentos com polimorfismo na seqüência de bases, após eletroforese em gel de acrilamida contendo um gradiente do produto desnaturante (Myers et al., 1987).
IMA <i>Inter Microsatellite Amplification</i>	Amplificação do DNA genômico com primers cuja seqüências de bases é constituída de um motivo repetitivo (geralmente dinucleotídeos) seguido de 2 a 6 bases definidas ao acaso (Zietkiewicz et al., 1994). Este marcador também é conhecido por Inter-SSR PCR; ISA ou IRA.
SCAR <i>Sequence Characterized Amplified Region</i>	Fragmento de DNA genômico amplificado por PCR por primers específicos (14 a 20 bases). Estes primers são definidos após o conhecimento da seqüência de bases do fragmento. Esta técnica originou-se a partir do isolamento seguido de seqüenciamento de fragmentos amplificados por RAPD (Paran & Michelmore, 1993). Na literatura científica existe uma plenitude de marcadores SCARs desenvolvidos principalmente para características de resistência a doenças (Julio et al. 2006).
SSCP <i>Single Strand Conformation Profile</i>	Análise da conformação de fragmentos especificamente amplificados, desnaturados e migrados em gel de acrilamida. As fitas simples assumirão uma conformação estrutural diferente conforme a seqüência de bases que elas apresentam, a qual modificará a mobilidade eletroforética da mesma. Através da comparação de migração das fitas simples de um mesmo fragmento amplificado em diferentes indivíduos, é possível determinar aqueles que apresentam polimorfismo na seqüência de bases (Orita et al., 1989).
STS <i>Site Tagged Sequence</i>	Corresponde a qualquer seqüência genômica amplificada com primers específicos (Olso et al., 1989).

Adaptado: Souza, 2001.

2.5.2- Reações Múltiplas de Microssatélites (Multiplex)

PCR múltiplo ou multiplex é uma variante da PCR na qual dois ou mais locos são simultaneamente amplificados na mesma reação ou, ainda, amplificados em reações distintas, mas genotipados simultaneamente. O desenvolvimento de um sistema multiplex requer: 1) seleção de marcadores de acordo com a variação de tamanho de alelos em cada loco, evitando sobreposição de faixas de alelos em marcadores marcados com o mesmo fluorocromo; 2) PCR de cada marcador sob as mesmas condições de amplificação; 3) PCR múltiplo numa mistura equimolar dos primers; 4) ajuste do tempo e temperatura de extensão; 5) ajuste do tempo e temperatura de anelamento; 6) ajuste da quantidade de marcadores em multiplex; e 7) ajuste da concentração do tampão. Esta técnica tem permitido a ampliação simultânea de vários locos na mesma reação e tornou-se um meio rápido e conveniente para a pesquisa laboratorial (Henegariu et al., 1997). A técnica de PCR múltiplo tem sido também aplicada com sucesso em análises de deleção (Henegariu et al., 1994), mutações (Shuber et al., 1995) e polimorfismos ou em ensaios quantitativos (Mansfield et al., 1994) e PCR-Transcrição Reversa (Crisan, 1994).

A capacidade de montar uma PCR com vários pares de primers em uma única reação é necessária para reduzir o tempo, trabalho e custo da genotipagem (Olivo, et al., 2000). A otimização das condições da PCR múltipla pode ser entediante e demorada visto que os primers interagem e afetam a quantidade e qualidade dos produtos, produzem bandas inespecíficas, e produzem dímeros de primers (Jordan et al., 1999). Em compensação, a mistura de vários marcadores pode melhorar o rendimento final permitindo a visualização em cada linha de um gel de muitos fragmentos polimórficos de DNA, aumentando a informação produzida pela eletroforese (Armour et al., 2002).

A montagem de painéis de reações múltiplas impõe que microssatélites marcados com a mesma fluorescência possuam variação de tamanho de alelos diferentes e aqueles com faixa de tamanho em sobreposição sejam marcadores com fluorescência diferente (Ziegle et al., 1992). A mistura dos microssatélites

pode ser feita após amplificação ou locos microssatélites podem ser amplificados juntos numa mesma reação de PCR (Mitchell et al., 1997).

Em videira, Pinto-Carnide et al. (2003) reportou o uso de 6 marcadores SSR marcados com fluorescência organizados em 2 painéis para a caracterização de 12 variedades de videira (*Vitis vinifera* L.) do Norte de Portugal. A combinação dos pares de primers foi feita de forma tal a acomodar a análise de variedades geneticamente diferentes, permitindo um método robusto e flexível para a identificação de variedades de videira.

O sistema automatizado de determinação do tamanho dos alelos SSR marcados com fluorescência é um sistema em que um dos primers PCR para um loco SSR (geralmente o primer forward) é marcado com um marcador fluorescente colorido. Os produtos da PCR carregando diferentes marcadores fluorescentes são separados em eletroforese capilar. O uso de microssatélites marcados com fluorescência para a genotipagem automática em seqüenciadores de DNA oferece muitas vantagens em relação à análise usando técnicas de detecção com prata. Uma das vantagens é a possibilidade de analisar vários locos ao mesmo tempo em uma única coluna de gel. Um segundo benefício é o significativo aumento na acurácia na mensuração do tamanho do alelo, obtido pelo uso de um padrão interno em cada coluna de gel e analisado com o uso de algoritmo automatizado ("allele calling"). De um modo geral, a automatização aumenta a velocidade e a acurácia da coleta de dados e o processamento da informação. A alta sensibilidade da detecção também reduz o volume necessário (e, sobretudo, o custo) da reação de PCR e permite a detecção dos locos que apresentam amplificação mais difícil, além de eliminar o uso de radioatividade (Mitchell et al., 1997; Coburn et al., 2002).

O uso da análise de fragmentos de restrição automática baseada na fluorescência foi primeiro reportado por Carrano et al. (1989). Este método foi adaptado e melhorado para a análise com microssatélites (Edwards et al., 1991; Ziegel et al., 1992). Os métodos automáticos de genotipagem com SSR estão gradualmente substituindo os sistemas manuais de genotipagem no melhoramento de plantas e na pesquisa genética.

Marcadores SSR constituem uma ótima ferramenta para a identificação de cultivares, combinando o alto conteúdo informativo com a precisão de definição automática de tamanho de alelos. Esta combinação oferece um sistema eficiente e econômico para a identificação de genótipos como alternativa à identificação convencional de alelos microssatélites usando outros tipos de marcação (Diwan & Cregan, 1997).

Em plantas, a técnica de detecção fluorescente de microssatélites tem sido aplicada em *Arabidopsis* (Bell & Ecker, 1994; Ponce et al., 1999), em soja (Akaya et al., 1995; Diwan & Cregan, 1997; Morgante & Olivieri, 1993, Cregan et al., 1994, Rongwen et al., 1995, Maughan et al., 1995), em milho (Senior et al., 1996; Smith et al., 1997), *Brassica* sp. (Kresovich et al., 1995), em tomate (Bredemeijer et al., 1998), em uva (Thomas & Scott, 1993; Pinto-Carnide et al. 2003; Constantini et al., 2005) e em arroz (McCouch et al., 1997; Akagi et al., 1996; Brondani, 2001, 2002; Beló, 2001; Pessoa Filho, 2004), mostrando que a genotipagem de homozigotos e heterozigotos é rápida e que os SSR são herdados de forma Mendeliana.

2.5.3 - Marcadores Microssatélites em Videira (*Vitis spp.*)

Thomas & Scott (1993) foram os primeiros pesquisadores a usar os microssatélites para identificar variedades de videira. Estes autores mostraram que os microssatélites foram abundantes e continham polimorfismo genético capaz de caracterizar e identificar as variedades de *Vitis vinifera*. Além disso, os microssatélites se mantiveram conservados para outras espécies de *Vitis* e *Muscadinia* (Thomas & Scott, 1993). Eles também demonstraram através de análises filogenéticas que os microssatélites são co-dominantes e comportam-se de acordo com a herança mendeliana simples, confirmando sua adequação para o mapeamento genético (Thomas & Scott, 1993). A partir daí, outros grupos relacionados à videira iniciaram pesquisas com microssatélites, resultando no desenvolvimento de primers específicos para *Vitis* (Browers et al., 1996, 1999; Sefc et al., 1999; Lefort et al., 2002). A identificação de variedades de videira e

sua origem (Secf et al., 2000), seus parentais (Bowers e Meredith, 1997; Secf et al., 1997; Bowers et al., 1999; Vouillamoz et al., 2006) e seus nomes regionais em diferentes áreas de produção tem despertado grande interesse entre os pesquisadores e produtores, pois em muitos países as normas de regulamentação para comercialização ou proteção de cultivares requerem acurada identificação. Por exemplo, nos países europeus com viticultura tradicional, o uso da terminologia vinhos regionais é estritamente regulamentada: somente variedades específicas e registradas podem ser cultivadas em determinada região geográfica.

Nos últimos 15 anos, os microssatélites têm sido aplicados à videira para genotipagem (Botta et al., 1995; Secf et al., 1998), estudos de pedigree (Cipriani et al., 1994; Vignani et al., 1996; Bowers e Meredith, 1997; Secf et al., 1997, 2000; Crespan et al., 2001; Imazio et al., 2002; Lefort et al., 2002; Siret et al., 2002; Ulanovsky et al., 2002; Ortiz et al., 2004), identificação de QTLs e seleção assistida e mapeamento genético (Dalbo et al., 2000; Doligez et al., 2002; Riaz et al., 2002, 2004; Grando et al., 2003; Adam - Blondon et al., 2004; Moreira, 2006) e, definição de sinônimos e homônimos (Boccaci et al., 2005; Constantini et al., 2005; Vouillamoz et al., 2006).

A análise de microssatélites pode favorecer a confirmação e definição de sinônimos, ou seja, podem identificar genótipos iguais conhecidos por diferentes nomes. Por exemplo, no perfil dos microssatélites de uvas viníferas italianas foram encontrados sinônimos entre as variedades Refosco di faedis e Refoscone (Cipriani et al., 1994), assim como entre as variedades Favorita, Pigato e Vermentino (Botta et al., 1995). Na parte Oriental-Sul da Áustria, uma variedade denominada de Morillon foi considerada um sinônimo da Chardonnay, pois o perfil dos microssatélites das duas variedades mostrou-se idêntico (Secf et al., 1998a). Thomas et al. (1994), estudando os porta-enxertos 5A Teleki e 5BB Kober demonstraram que eles possuem o mesmo perfil de DNA, indicando que os dois diferentes nomes foram equivocadamente dados ao mesmo porta-enxerto no passado. Martin et al. (2006) analisando 56 tradicionais variedades da Espanha e Portugal, detectou que a variedade Tinta Roriz de Portugal é um sinônimo da Tempranillo da Espanha.

No caso de estudos de pedigree de variedades viníferas, o primeiro e o mais surpreendente dos resultados foi a descoberta da origem da variedade Cabernet Sauvignon através dos marcadores microssatélites (Bowers e Meredith, 1997; Sefc et al., 1997). No exame da variedade conhecida como Petit Syrah na Califórnia, foi demonstrado que a maioria dos acessos com este nome é idêntico ao da variedade Durif (Meredith et al., 1999). Estudos com microssatélites em 25 locos confirmaram e identificaram a variedade Syrah como uma provável parente da variedade Durif. Boccaci et al. (2005) analisando 8 locos microssatélites identificou graus de parentesco entre as variedades Fortana e Lambrusco Maestri e entre Uva Tosca e Lambrusco Montericco.

Com os dados obtidos na identificação molecular de genótipos de plantas de *Vitis* com marcadores moleculares, vários bancos de referências foram desenvolvidos em todo mundo (Dettweiler et al., 1998a, 1998b; Lefort et al., 2000; Grape Microsatellite Collection, <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>; Greek Vitis Database, <http://www.biology.uch.gr/gvd> e Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMD, www.unine.ch/nccr/svmd/; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>).

JUSTIFICATIVA

3- JUSTIFICATIVA

Este trabalho é parte de um projeto geral que busca tecnologias para o desenvolvimento da vitivinicultura catarinense, que envolve a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), a Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), Instituto Agrário di San Michele All' Adige (ISMAA) e que tem o apoio da Província Autônoma de Trento e do Governo do Estado de Santa Catarina. Para este trabalho foi proposto à caracterização e a identificação dos acessos de videira por marcadores microssatélites (SSRs) e a criação de um banco de dados referencial informatizado das variedades de videira (*Vitis spp.*) das coleções públicas e privadas do Estado de Santa Catarina. Os benefícios das informações geradas do trabalho com marcadores microssatélites (SSRs) para a cultura da videira poderão ser o aumento da precisão da identificação varietal, proteção de cultivar, certificação de mudas e do melhoramento da viticultura via estabelecimento de correlações entre características moleculares e características de interesse agrônomo. Espera-se que a caracterização e identificação dos acessos de videira das coleções existentes permitam o credenciamento e reconhecimento como Banco de Germoplasma Ativo para o Estado de Santa Catarina.

Além disso, a caracterização molecular em grande escala possibilita a análise rápida e eficiente de coleções inteiras de germoplasma, proporcionando a definição de coleções nucleares. Neste sentido, os resultados obtidos neste trabalho contribuirão para a criação de uma coleção nuclear baseada em características moleculares, morfológicas e de interesse agrônomo, e que representem toda coleção de germoplasma de videira do Estado de Santa Catarina.

O trabalho Caracterização Molecular das Variedades de Videira (*Vitis spp.*) de Santa Catarina por Marcadores Microssatélites (SSRs) foi financiado pelo Projeto Pro-Goethe.

OBJETIVOS

4- OBJETIVOS

4.1- Objetivo Geral

Caracterizar geneticamente os acessos públicos e privados de videira (*Vitis spp.*) existentes nas coleções do Estado de Santa Catarina por marcadores microssatélites (SSRs).

4.2- Objetivos Específicos

Selecionar e estabelecer uma série de marcadores microssatélites com capacidade de caracterização de variedades de videira viníferas, americanas e híbridas;

Proceder a genotipagem automática de uma coleção de germoplasma de videira utilizando painéis múltiplos de marcadores microssatélites;

Criar o banco de dados referência informatizado com informações geradas no trabalho, com intuito de implementar projetos de proteção de cultivares, certificação de mudas e manter intercâmbios com outras instituições ligadas à viticultura.

METODOLOGIA

5- METODOLOGIA

5.1- Material Vegetal

Foram coletados folhas jovens e ramos de plantas de Videira (*Vitis spp.*) de 246 variedades produtoras e as principais variedades de porta-enxertos, mantidas nas coleções de germoplasma, de coleções públicas e privadas, do Estado de Santa Catarina, nas regiões de: Urussanga (Sul do Estado), Nova Trento (Vale do Rio Tijucas), Rodeio (Médio Vale do Itajaí), São Joaquim (Planalto Serrano), Campos Novos, Videira, Tangará e Água Doce (Meio-oeste) e Florianópolis (Litoral) (**Figura 2**).



Figura 2. Mapa das principais regiões onde foram coletadas as variedades para análises e caracterização molecular através de microssatélites (SSRs) no Estado de Santa Catarina, 2006.

5.2- Extração e Quantificação do DNA

A extração do DNA das folhas e ramos de videira foi realizada, com algumas modificações, de acordo com o protocolo Doyle & Doyle (1990), utilizando cerca de 150 mg de material vegetal (folhas e ramos) por tubo (2,0 ml) para extração do DNA genômico total. Para o rompimento das paredes e membranas celulares do tecido foi realizada maceração em cadinho de porcelana após o congelamento do tecido em nitrogênio líquido. Ao tecido macerado foram adicionados 1000 µl de tampão de extração de DNA (3% acetyldimethyl tiethylammonium bromide – CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8,0, 100 mM Tris-HCL pH 8.0, 1% polyvinylpyrrolidone - PVP, 0.2% β-mercaptoetanol) previamente aquecido a 65°C. Após a completa ressuspensão das amostras na solução, iniciou-se a etapa de incubação por 45 min a 60 - 65°C em banho-maria, com leve agitação a cada 10 minutos.

Os tubos foram retirados do banho-maria e, após atingirem temperatura ambiente, foi realizada a primeira extração (em uma capela de exaustão) pela adição de 1000 µl de CIA (clorofórmio - álcool isoamílico 24:1), para formar uma emulsão. Em seguida, os tubos foram homogeneizados e centrifugados a 10.000 g por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e transferido para novos tubos de 2,0 ml, aos quais foram adicionados 1000 µl de CIA e uma gota de 10% CTAB, 1,4 M NaCl e, em seguida foram agitados manualmente por 5 minutos e centrifugados a 10.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi retirado e transferido novamente para novos tubos de 1,5 ml, aos quais foram adicionados 1500 µl de etanol absoluto resfriado (-20°C). Esses tubos foram homogeneizados e colocados para descansar por uma noite a temperatura de -20°C para precipitação dos ácidos nucléicos.

Os tubos foram então centrifugados a 10.000 g por 15 minutos a 4°C (para formação do *pellet*). Após a formação do *pellet*, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado com 1 ml de etanol 76% e 10 mM de acetato de amônio e gentilmente agitados, e colocados no freezer a -20°C por 20 minutos. Após, os *pellets* foram centrifugados a 10.000g por 10 minutos e então, o sobrenadante foi descartado novamente e os tubos deixados secar ao ar ambiente por 30 minutos.

Após, foi adicionado ao precipitado 200 µl TE (Tris-HCL 10 mM + EDTA 1mM pH 8,0) + RNase. Nesta etapa, os tubos ficaram overnight a temperatura ambiente para ocorrer a diluição do DNA.

Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (UFSC).

5.3- Quantificação do DNA em Gel de Agarose

A visualização do DNA extraído foi feita em eletroforese com gel de agarose (0,8%) (**ANEXO 1**).

O gel foi preparado com agarose (0,8%) em 1X TBE e fundidos em microondas. Deixou-se esfriar até aproximadamente 60°C, adicionando-se em seguida o brometo de etídio. Foi vertido ainda quente em uma cuba de mini-gel com o pente posicionado e deixado solidificar por aproximadamente 20 minutos, à temperatura ambiente. Após este período, as amostras de DNA foram carregadas com 3 µl de tampão de carregamento (20 ml de TE, pH 8,0; 8 g de sacarose; 50 mg de azul de bromofenol; 400 µl de brometo de etídio e 1 µl de água mili-Q autoclavada) e aplicadas no gel. Foi aplicado no mesmo gel um marcador de peso molecular padrão (20, 50, 100 e 200 ng fago λ), e em seguida se prosseguiu com a migração do DNA por eletroforese. O DNA foi visualizado com trans-iluminador com luz ultravioleta/365 nm. A determinação da concentração do DNA extraído se deu por comparação visual com os padrões utilizados. Após, o DNA foi diluído em água mili-Q e PVP (2%) para a concentração final de 20 ng/µl, para serem utilizadas nas reações de amplificação.

As diluições de DNA foram calculadas através da fórmula: $C1.V1=C2.V2$, onde C1 corresponde a leitura no gel da concentração do DNA; V1 a incógnita; C2 a concentração desejada (20 ng) e V2 o volume desejado (100 µl).

Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (UFSC).

5.4- Escolha dos *Primers* microssatélites

Foram genotipadas 246 variedades em 10 locos microssatélites: VVS2 (Thomas & Scott 1993), VVMD5, VVMD7 (Bowers et al., 1996), VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31 e VVMD32 (Bowers et al., 1999b), VrZAG62 e VrZAG79 (Sefc et al., 1999) (**Tabela 5**). No sentido de facilitar a comparação com os dados da literatura e com outros bancos de dados, neste estudo foi utilizado o ‘**core set**’ de microssatélites do projeto GENRES 081 (Dettweiler et al. 2000b; This et al. 2003; <http://www.genres.de/vitis/>), além de outros amplamente utilizados na genotipagem da videira. O ‘**core set**’ de microssatélites são marcadores (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 e VrZAG79) utilizados para o *screening* das coleções de videira da Europa.

Tabela 5. Relação dos primers apresentando a seqüência, temperatura de anelamento e tamanho do alelo. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

Primers	Seqüência	Referência	Temperatura de Anelamento (°C)	Tamanho do alelo (bp)
VVS2	[F]cagccgtaaatgtatccatc [R]aaattcaaaattctaattcaactgg	Thomas & Scott (1993)	50	129-155
VVMD5	[F]ctagagctacgccaatccaa [R]tataccaaaaatcatattcctaaa	Bowers et al. (1996)	56	226-246
VVMD7	[F]agagttgcggagaacaggat [R]cgaaccitcacacgcttgat	Bowers et al. (1996)	50	232-263
VVMD25	[F]ttccgittaagcaaaaagaaaagg [R]ttgatttgaatttattgagggg	Bowers et al. (1999b)	56	243-275
VVMD27	[F]gtaccagatctgaatacatccgtaagt [R]acgggtatagagcaaacggtgt	Bowers et al. (1999b)	50	173-194
VVMD28	[F]aacaattcaatgaaaagagagagaga [R]tcatcaatttcgtatctctatttgctg	Bowers et al. (1999b)	56	221-279
VVMD 31	[F]cagtgtttttctaaagttcaagg [R]ctctgtgaaagaggaagagacgc	Bowers et al. (1999b)	56	196-224
VVMD32	[F]tatgatttttaggggggtgagg [R]ggaaagatgggatgactcgc	Bowers et al. (1999b)	56	239-273
VRZag62	[F]ggtgaaatgggcaccgaacacacgc [R]ccatgtctctcctcagcttctcagc	Sefc et al. (1999)	50	185-203
VRZag79	[F]agattgtggagggaacaaaccg [R]tgccccattttcaaacctcctcc	Sefc et al. (1999)	50	236-260

5.5- Amplificação dos marcadores microssatélites fluorescentes

A reação de amplificação das seqüências correspondentes aos microssatélites constou de um volume final de 12.5 µl (**ANEXO 1**) contendo 20 ng de DNA genômico. Em cada par de primer microssatélite um deles (Primer forward [F]) foi marcado com as seguintes fluorescências: FAM ou HEX (**ANEXO 1**).

As reações de amplificação foram conduzidas em um Termociclador 9600 (Applied Biosystems), e com duas diferentes temperaturas de anelamento:

- 50°C (Programa Gold 50 - 35): (i) um “hot start” de 95°C durante 7 minutos; (ii) 35 ciclos de amplificação distribuídos em 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 50°C, 1 minuto e 30 segundos a 72°C; e (iii) uma etapa de extensão final de 7 minutos a 72°C. Este programa foi utilizado para os primers VVS2, VVMD7, VVMD27, VRZag62 e VRZag79.
- 56°C (Programa Bio 56 - 35): (i) um “hot start” de 95°C durante 3 minutos; (ii) 35 ciclos de amplificação distribuídos em 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 56°C, 1 minuto e 30 segundos a 72°C; e (iii) uma etapa de extensão final de 7 minutos a 72°C. Este programa foi utilizado para os primers VVMD5, VVMD25, VVMD28, VVMD31 e VVMD32.

Foram utilizadas duas diferentes temperaturas de anelamento, de acordo com as características dos primers. Além disso, os programas de amplificação se distinguiram em função do tipo de enzima Taq polimerase utilizada. No Mix-PCR dos primers VVS2, VVMD7, VVMD27, VRZag62 e VRZag79 foi adicionada a enzima GOLD Taq polimerase que requer um tempo de ativação maior (5'), enquanto no Mix – PCR dos primers VVMD5, VVMD25, VVMD28, VVMD31 e VVMD32 foi usada a BIO Taq polimerase, que requer um período de ativação menor (3').

Neste estudo, cinco painéis de marcadores microssatélites (painel multiplex-seqüenciador) constituídos por 10 marcadores marcados com fluorescência foram utilizados para a genotipagem semi-automática em seqüenciador de DNA. Os painéis multiplex-seqüenciador foram montados de acordo com a cor do marcador e do tamanho dos alelos (**ANEXO 1**).

Uma alíquota de 0.5 ul do produto amplificado foi misturada a 9.5 ul de tampão de carregamento (98% formamida, 10 mM EDTA-blue dextran) e 0.3 ul de um padrão de tamanho conhecido (Genescan-500 ROX, Applied Biosystems), seguido de desnaturação a 94°C por 3 minutos para separação por eletroforese capilar a 15 kV por 45 minutos em um seqüenciador de DNA ABI 3100 (Applied Biosystems).

Esta etapa do projeto foi realizada no Instituto Agrário di San Michelli all' Adige – IASMA (Trento/Itália), no Laboratório de Genética Molecular.

5.6- Análise dos dados

A separação dos fragmentos microssatélites foi realizada utilizando o programa GeneScan versão 3.7 (Applied Biosystems). Os tamanhos dos alelos amplificados foram determinados utilizando o programa Genotyper versão 3.7 (Applied Biosystems). Todas as análises foram realizadas utilizando uma variedade “standart” (Chardonnay). A variedade Chardonnay serve como referência tanto da qualidade da amplificação como do tamanho dos alelos, já que o seu perfil alélico é conhecido, permitindo a comparação do tamanho dos alelos com outros germoplasmas. Esta etapa do projeto também foi realizada no Instituto Agrário di San Michelli all' Adige – IASMA (Trento/Itália), no Laboratório de Genética Molecular.

A chamada dos alelos foi realizada por arredondamento dos valores atribuídos aos genótipos para valores próximos do número de pares de bases inteiro para resultar numa estimativa de par de bases para cada alelo. Como a maioria dos locos utilizados neste estudo possui repetições dinucleotídicas, o processo de chamada resultou algumas vezes em valores intermediários para os alelos indicados. Uma correção foi efetuada de tal forma que todos os valores seguem o tamanho esperado para locos com motivo dinucleotídeo. Para esse fim, o fragmento alélico mais freqüente de cada loco foi considerado como referência para os valores esperados dos outros alelos no loco marcador.

Os genótipos de todos os acessos estudados foram comparados/analísados juntamente com (a) banco de dados *online* (Grape Microsatellite Collection: <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>; Greek Vitis Database: <http://www.biology.uch.gr/gvd>; Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMD: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>) e (b) com dados da literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6- RESULTADOS

6.1- Extração e quantificação do DNA

Foram quantificados os DNAs de 246 amostras de diferentes variedades de videira, sendo 9 amostras de Nova Trento, 37 de Urussanga, 22 de Rodeio, 7 de Tangará, 14 de Videira, 43 de Campos Novos, 34 de Água Doce, 68 de São Joaquim e 12 de Florianópolis. Verificou-se, através da literatura, que a quantidade suficiente para uma reação adequada é de 20 ng/μl de DNA. Volume este recomendado por Crespan et al. (1999), Crespan (2004) e Walker et al. (2006).

Para as 9 amostras de Nova Trento a quantidade de DNA extraída foi suficiente. Das amostras de Urussanga 36 apresentaram quantidade de DNA suficiente para a reação, apenas para a amostra U11 (Benifugi – EPAGRI) foi insuficiente. Das 22 amostras de Rodeio, 3 não apresentaram quantidade suficiente de DNA (R14, R15 e R18) e 1 apresentou DNA de baixa qualidade (R19). Para as amostras da Região de Tangará e Videira 9 apresentaram quantidades insuficientes de DNA, 3 amostras (Dona Zilá, Riesling Renano e Vênus) apresentaram DNA de baixa qualidade e 9 obtiveram quantidades suficientes de DNA. Já das 43 amostras de Campos Novos um grupo de 9 amostras não apresentou uma quantidade de 20 ng de DNA. Das amostras de Água Doce 15 apresentaram uma quantidade de 20 ng de DNA, 12 de 50 ng e do restante (7) a quantidade foi insuficiente para uma reação. Das 68 amostras da Região de São Joaquim um grupo de 7 amostras não apresentou uma quantidade de 20 ng, sendo que destas 5 foram insuficiente e 2 apresentaram DNA de baixa qualidade. Nas amostras de Florianópolis (12) apenas os porta-enxertos Paulsen 1103 e Gravesac apresentaram quantidades insuficientes de DNA, sendo impossível à leitura.

A quantificação e a concentração do DNA extraído das amostras de videira encontram-se no **ANEXO 2**.

No geral, os produtos obtidos da extração do DNA das amostras de videira apresentaram-se de boa qualidade e quantidade (**ANEXO 2**), livres de polissacarídeos e proteínas, dessa forma prontos para as reações de PCR.

De acordo com os dados de quantificação e qualidade do produto de extração, foi observada uma variação entre 20 a 200 ng/μl de DNA. Esta quantidade de DNA extraída está dentro da faixa esperada quando se utiliza este protocolo para a videira (Doyle & Doyle, 1990; Constantini et al., 2005). Além disso, a concentração de DNA das amostras analisadas é alta quando comparada a outros procedimentos utilizados para extração de DNA de videira como os apresentados por Bourquin et al. (1991), de 5 a 20 ng DNA/μl; Collins & Symons (1992), de 10 a 30 ng DNA/μl; Thomas et al. (1993), de 25 a 150 ng DNA/μl. A extração pelo método de Doyle e Doyle (1990) está sendo bastante utilizada em frutíferas, como maracujazeiro (Aukar et al., 2001), cajueiro e mamoeiro (no prelo – experimentos em andamento no LBPM).

Para algumas amostras (42) o método de extração não foi eficiente. Tal fato pode ser devido tanto a problemas relacionados a manualidade no processo de extração em si (dificuldades na recuperação do sobrenadante, perda de pellet, etc) ou ao material vegetal utilizado. A extração de DNA de videira é bastante delicada, devido à presença de contaminantes, tais como: polifenóis e polissacarídeos, encontrados principalmente no tecido foliar maduro, apresentando dificuldade de extração destes de um DNA de boa qualidade (Sefc et al., 2001; Silva, 2005). Estes compostos também foram relatados como causadores de dificuldade na purificação do DNA em outras espécies de plantas, os polissacarídeos (Murray & Thompson, 1980; Fang et al., 1992) e os compostos polifenólicos (Couch & Fritz, 1990; Collins & Symons, 1992). Estes compostos, freqüentemente, estão ausentes ou encontram-se em baixas concentrações, em folhas jovens e em sementes ou pólen (Mitton et al., 1979, citado por Mazza et al., 2000).

Para Mauro et al. (1992) e Lodhi et al. (1994) os tecidos foliares em desenvolvimento são os melhores materiais para se obter um DNA de boa qualidade.

Cabe salientar que o material vegetal utilizado para extrair o DNA das amostras de São Joaquim foram ramos. Das 68 amostras desta região 5 obtiveram quantidades de DNA insuficiente e 2 apresentaram o DNA de baixa qualidade. Estas amostras de tecido lenhoso apresentaram menor viscosidade do que as demais amostras de tecido foliar. Conforme Thomas et al. (1993) o tecido lenhoso de videira apresenta menos polifenóis. Estes autores obtiveram quantidades de 50 a 100 ng de DNA utilizando como material vegetal o tecido lenhoso. Outros autores tais como: Vignani et al. (1996), Bowers et al. (1999), Zulini et al. (2005) também obtiveram um DNA de boa qualidade e quantidade utilizando tecido lenhoso para extração.

6.2- Genotipagem com multiplex de microssatélites

Neste trabalho, cinco painéis de marcadores microssatélites (painel multiplex-seqüenciador) constituídos por 10 marcadores marcados com fluorescência foram utilizados para a genotipagem semi-automática de 246 amostras de videira em seqüenciador de DNA ABI 3100 (Applied Biosystems). A genotipagem semi-automática destes cinco painéis múltiplos de marcadores microssatélites fluorescentes está representada na **Figura 3**. A separação dos fragmentos microssatélites foi realizada utilizando o programa GeneScan versão 3.7 (Applied Biosystems). O arquivo gerado pelo programa Genescan permitiu a análise no programa Genotyper 3.0 dos eletroferogramas (**Figuras 4 e 5**) de cada loco com a determinação dos tamanhos dos alelos em pares de base (bp). Os dados gerados pelos eletroferogramas foram então transferidos para uma Tabela excel, e a partir daí se deu início a construção do banco de dados.

Para os autores Sefc et al. (2001); This et al. (2004) e Constantini et al. (2005) está técnica que utiliza painéis de microssatélites marcados com fluorescência e genotipados em seqüenciador de DNA é a mais eficaz em relação àquelas baseadas em PAGE/coloração com prata ou resolução em agarose corada com brometo de etídio. A grande vantagem é a maior quantidade de informação genotípica em cada gel analisado pela a possibilidade de analisar o

produto de várias PCRs ou o produto da PCR de vários primers simultaneamente. Outra vantagem desse sistema de genotipagem é a significativa melhoria da determinação do tamanho dos alelos, pois uma variedade “standart” é genotipada junto com as amostras a serem analisadas como referência/padrão. Neste trabalho utilizamos como “standard” a variedade Chardonnay por ela ter o seu perfil alélico conhecido, permitindo assim a comparação do tamanho dos alelos com outros germoplasmas (Grape Microsatellite Collection: <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>; Greek Vitis Database: <http://www.biology.uch.gr/gvd>; Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMD: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>).

Vários estudos de caracterização e identificação de variedades de videira foram realizados utilizando-se esta técnica por Grando et al. (1998, 1999, 2000^a, 2000b, 2000c). Constantini et al. (2005) caracterizaram 114 amostras de videira da Campania-Itália, em uma semana, utilizando 8 marcadores SSRs marcados com fluorescência organizados em 4 painéis. Pinto-Carnide et al. (2003) reportaram o uso de 6 marcadores SSR marcados com fluorescência organizados em 2 painéis para a caracterização de 12 variedades de videira (*Vitis vinifera* L.) do Norte de Portugal. Neste trabalho, a combinação dos pares de primers foi feita de forma tal a acomodar a análise de variedades geneticamente diferentes, permitindo um método robusto e flexível para a identificação de variedades de videira.

Neste trabalho, como se utilizou um grande número de amostras (n=246), esta técnica nos permitiu a ampliação simultânea de vários locos na mesma reação, reduzindo o tempo, trabalho e custo da genotipagem. Além disso, a utilização de seqüenciador automático combinado com os primers marcados com fluorescência permitiu uma genotipagem rápida e precisa das variedades coletadas em Santa Catarina.

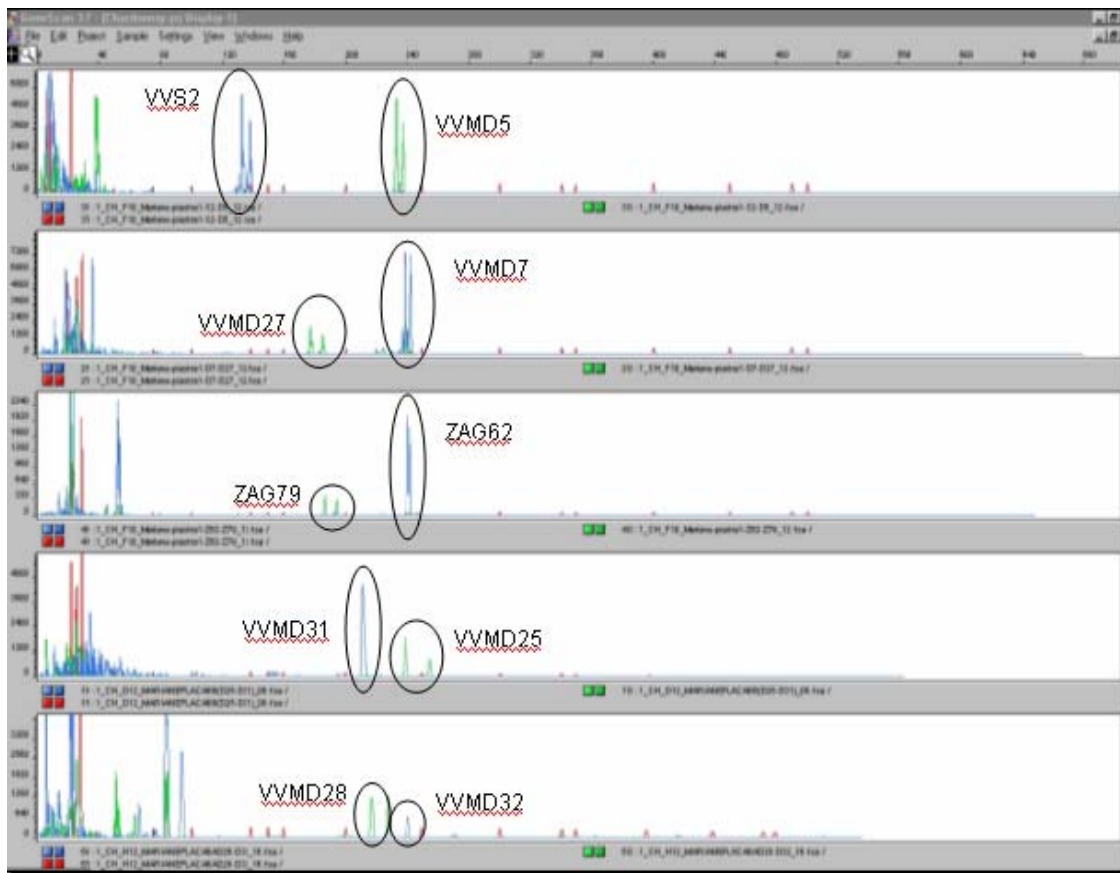


Figura 3. Eletroferograma mostrando o genótipo da variedade Standard com 10 marcadores microssatélites analisados com 5 painéis múltiplos. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

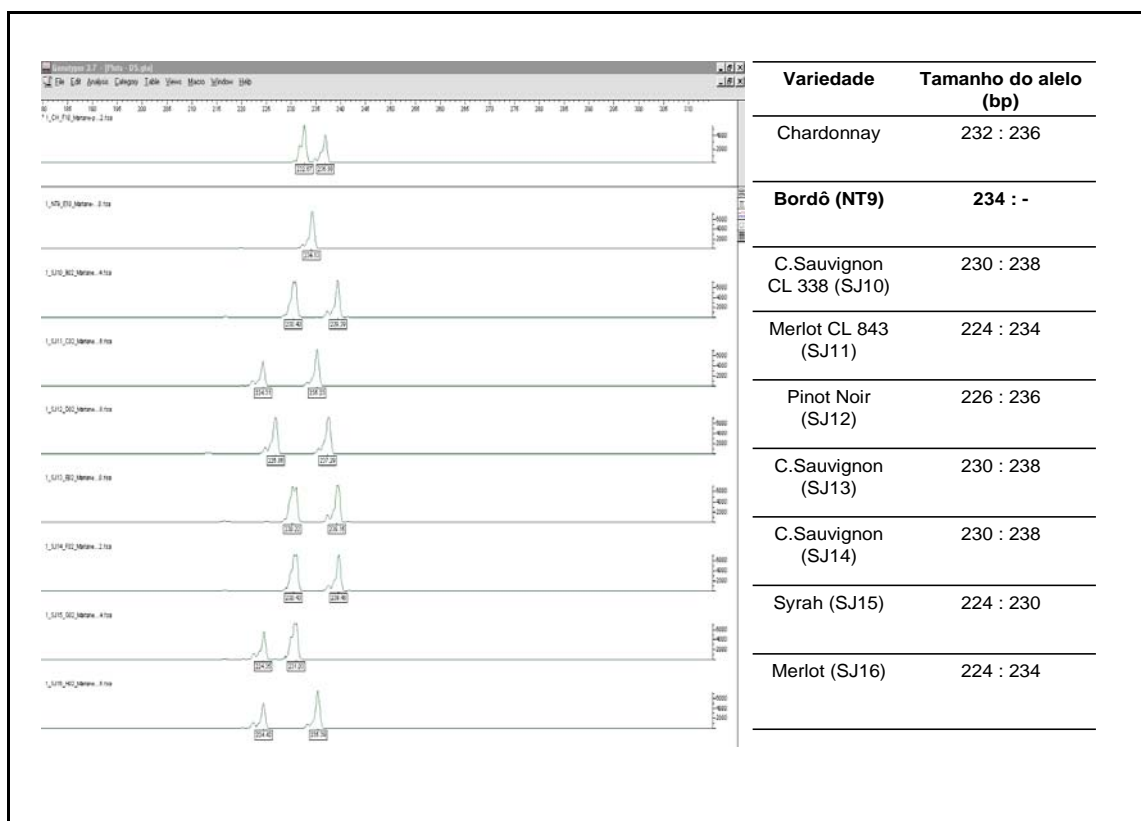


Figura 4. Exemplo de eletroferograma - perfil genético do loco VVMD5. O primeiro perfil genético corresponde ao tamanho dos fragmentos da variedade Standard (Chardonnay). O eixo horizontal representa as estimativas do tamanho em pares de bases e o eixo vertical indica a intensidade de fluorescência medida pelo seqüenciador de DNA ABI Prism. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

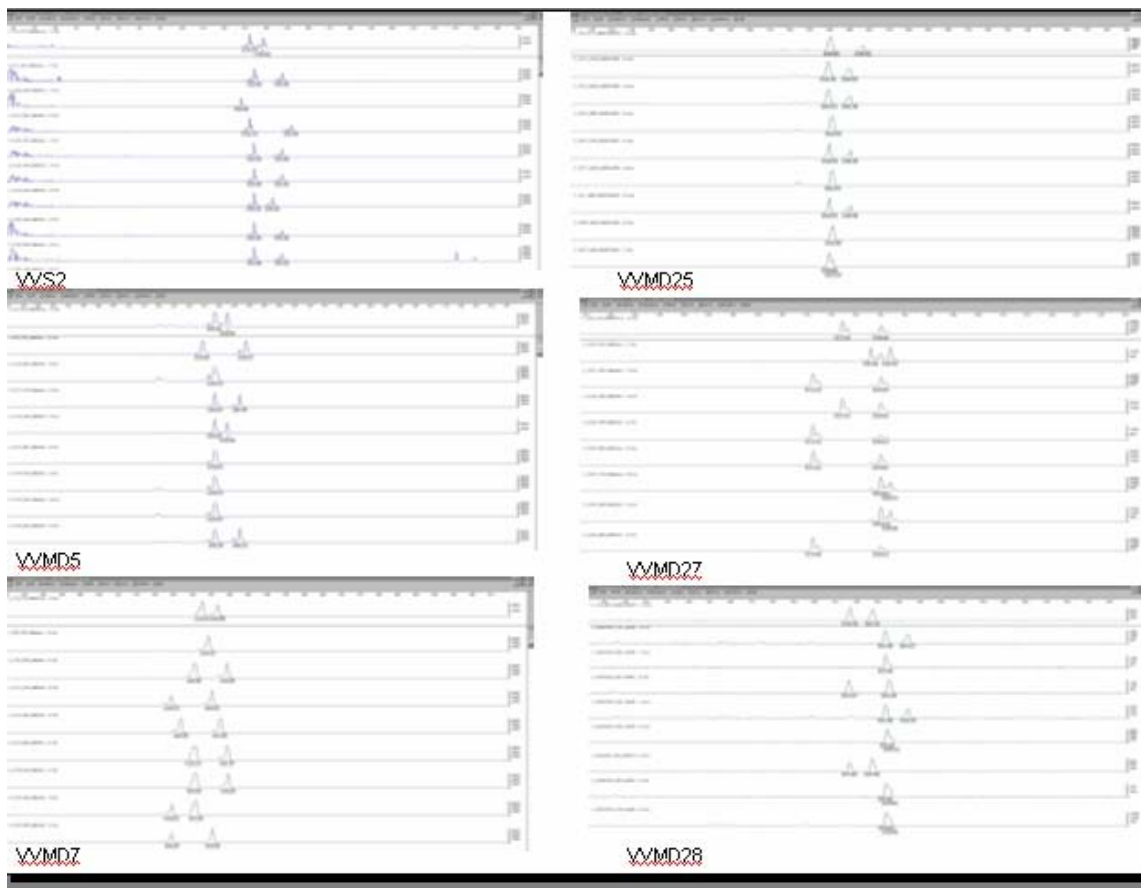


Fig 5. Eletroforese capilar (ABI 3100) dos fragmentos de DNA amplificados com os primers VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VRZAG62 e VRZAG79 das variedades estudadas. O eixo horizontal representa as estimativas do tamanho em pares de bases e o eixo vertical indica a intensidade de fluorescência medida pelo seqüenciador de DNA ABI Prism. Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

6.3- Perfil Genético e Identificação das Variedades

Das 246 amostras de videira genotipadas nos 10 locos microssatélites, 176 amplificaram com sucesso em todos os locos utilizados, 3 amplificaram com 9, 1 com 8 e 1 com 7 e o restante (n=65) amplificou menos de 6 locos ou não amplificou (**ANEXO 3**).

No caso de ausência de amplificação, tentou-se otimizar as condições da PCR, incluindo aumento ou redução da temperatura de anelamento, ajuste da

concentração de $MgCl_2$, dos primers ([F] e [R]) e da água mili-Q. Apesar dos ajustes, em alguns casos não foi observada amplificação. Esta ausência de amplificação pode ser explicada pela qualidade do DNA extraído, uma vez que nem sempre se consegue extrair a molécula de DNA íntegra. Como já relatado anteriormente a extração do DNA da videira é bastante delicada, devido à presença de contaminantes, como polifenóis e polissacarídeos, encontrados principalmente no tecido foliar maduro, sendo difícil a extração de um DNA de boa qualidade (Sefc et al., 2001; Silva et al., 2005).

As amostras que amplificaram em menos de 6 locos SSRs (n=65) ou não amplificaram foram desconsideradas para as demais etapas deste trabalho, pois pouco ou nenhum dado referente ao tamanho dos alelos foi suficiente para identificá-las com segurança. As demais amostras que amplificaram com 10 (n=176), 9 (n=3), 8 (n=1) e 7 (n=1) locos foram identificadas, totalizando assim 181 amostras identificadas a partir do tamanho dos alelos.

Na caracterização genética de videira diversos autores e banco de dados *on line* (Dettweiler et al., 2000b; This et al., 2003, 2004; Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMMD: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>) recomendam o uso de 6 locos microssatélites (VVVS2, VVMD5, VVMD2, VVMD27, VrZAG62 e VrZAG79) com 97,5% de probabilidade de segurança na identificação varietal.

Neste trabalho utilizou-se 10 marcadores microssatélites, incluindo os 6 locos citados acima mais 4 outros amplamente utilizados na genotipagem da videira, no sentido de aumentar o polimorfismo, reduzir a probabilidade de falsa identificação e elevar o grau de confiabilidade do teste. Para Thomas et al. (1993); Bowers et al. (1996, 1999b) e Sefc et al. (1999) estes 10 locos microssatélites possuem elevado grau de polimorfismo e poder de discriminação genética, sendo capazes de caracterizar e identificar variedades de videira.

A maioria das amostras analisadas (n=181) pôde ser caracterizada e identificada geneticamente (70%), com exceção daquelas amostras em que menos de 6 locos amplificaram (27,5%).

A análise e a comparação dos alelos revelados nos 10 locos microssatélites nas 181 variedades de videira identificadas permitiram: 1) verificar se o material identificado com o mesmo nome em regiões diferentes correspondia realmente ao mesmo material genético; 2) verificar casos de sinônimos; 3) verificar a presença de variabilidade intravarietal; e 4) identificar algumas amostras onde não era claro a origem genética.

6.3.1- Comparação do perfil genético das variedades coletadas em Santa Catarina entre si

Num primeiro momento comparou-se o perfil genético das 181 amostras entre si para verificar se as amostras identificadas com o mesmo nome correspondiam realmente à mesma variedade. Isto foi possível, pois algumas amostras identificadas como o mesmo nome foram coletadas mais de uma vez na mesma região ou em regiões diferentes. A seguir são relatadas por região o número de amostras que foram coletadas e identificadas, os erros de identificação, as variedades identificadas com nomes diferentes e que após a caracterização revelaram o mesmo perfil genético, a identificação de amostras de origem genética desconhecida e a variabilidade intravarietal. Nos itens 6.3.2, 6.3.3, 6.3.4, 6.3.5 e 6.3.6 estes casos estão relatados mais detalhadamente. As demais amostras identificadas que não estão citadas abaixo apresentaram o mesmo perfil genético das variedades de origem **(Tabela 6)**.

Na região de Nova Trento foram coletadas 9 amostras, deste total (n=9) 6 variedades foram identificadas e 3 ficaram sem identificação, pois não amplificaram em nenhum loco microssatélite. Das variedades identificadas verificou-se que a Bordô e a Gran D'Oro apresentaram o mesmo perfil genético. A amostra (NT4) de origem genética desconhecida também foi caracterizada e identificada como sendo a variedade Tinturina, apresentando o mesmo perfil genético que a variedade Tinturina de Urussanga.

Para a Região de Urussanga 37 amostras foram coletadas, sendo a maioria dos acessos da variedade Goethe. Verificou-se que o número de variedades com

perfil genético definido foram 34 e que todas as variedades de Goethe (Clássica e Primo) possuem o mesmo genótipo, assim como a amostra Clone GP (U52) de origem não conhecida até aquele momento. Outra amostra de origem desconhecida, denominada de São João, apresentou perfil genético idêntico as amostras (U45, U49 e U54), todas as três amostras de variedade Bordô. A amostra (U26) denominada de Família Moscatel também foi caracterizada e identificada como pertencente ao grupo da variedade Itália, pois seu genótipo mostrou-se igual ao das variedades da uva Itália de São Joaquim, Campos Novos e Videira. As amostras (U49 e U54), ambas Gran D'Oro apresentaram o mesmo perfil genético da Bordô (U45).

Na Região de Rodeio foram coletadas 22 amostras, sendo que apenas 10 foram identificadas. Destas, 2 amostras de origem genética não conhecida (R16 e R18) foram caracterizadas e posteriormente identificadas. A amostra (R16) denominada de Bizaraqui revelou perfil genético idêntico ao das variedades Isabel de Campos Novos e Nova Trento, e a amostra R18 (Uva pêra ou Moscatel) foi identificada como sendo a variedade Goethe. A amostra R12 denominada como Trincadeira apresentou o mesmo perfil genético que a variedade Pinot Noir de Campos Novos (CN26), demonstrando ser um característico erro de introdução. A amostra R21 (Bordô) diferiu apenas no loco VVMD31 das demais variedades de Bordô analisadas neste trabalho, demonstrando ser, possivelmente, uma nova mutação da Bordô. A amostra Isabel (R10), não apresentou nenhum alelo em comum nos 10 locos microssatélites com as variedades Isabel de Campos Novos, Nova Trento e Rodeio, demonstrando ser outra variedade e, portanto, identificada de forma incorreta. Já a amostra (R13), Merlot CL R3, apresentou o mesmo genótipo da variedade Merlot de origem.

No Meio-Oeste Catarinense (Água Doce, Campos Novos, Tangará e Videira) foram coletadas 98 amostras de videira, destas 75,5% amplificaram com os 10 marcadores microssatélites.

Em Água Doce foram identificadas 24 amostras (67,7%) das 34 coletadas. A amostra (G6) de origem genética desconhecida foi identificada como a variedade Malbec, pois o seu genótipo foi idêntico ao da Malbec coletada em São

Joaquim e Videira. As amostras (AD23 e AD2) clones da variedade Chardonnay apresentaram o mesmo genótipo da variedade de origem. A amostra (AD12) Cabernet Franc VCR 80, também apresentou o mesmo genótipo da variedade de origem. A Pinot Noir (AD25) apresentou genótipo similar às demais Pinot diferindo apenas no loco VVS2. A variedade denominada até então de Trincadeira (AD36) apresentou perfil genético igual ao da amostra Viognier de Videira. O clone Nebiollo 111 (AD16) apresentou o mesmo genótipo da variedade Nebiollo de São Joaquim (SJ32).

Em Campos Novos foram coletadas 43 amostras e 93% delas foram identificadas. As amostras CN32 (clone de Cabernet Sauvignon), CN33 e CN36 (clones de Merlot) todas diferiram das suas respectivas variedades apenas no loco VVMD28. Os demais clones de Cabernet Sauvignon (CN42, CN8, CN23, CN27 e CN29) e de Merlot (CN43) apresentaram o mesmo perfil das suas respectivas variedades. As amostras CN4 (Itália Export), CN13 (Itália Koga), CN9 (Rubi Itália), CN22 (Red Meire) e CN18 (Benitaka) apresentam o mesmo perfil genético da variedade Itália (CN3, V25, SJ35). Como já relatado anteriormente, a Gran D'Oro (CN16) também apresentou o seu genótipo igual ao da variedade Bordô. As 2 amostras de Niágara (Branca-CN19 e Rosada-CN7) também apresentaram os mesmos tamanhos de alelos nos 10 locos. As amostras Moscato Giallo (CN17), Moscato Embrapa (CN30) e Lorena (CN5) apresentaram o mesmo perfil genético, caracterizando um erro de introdução.

Da Região de Tangará e Videira foram coletadas 21 amostras, sendo que 52,4% delas foram identificadas. De Videira, as amostras Brasil (V14) e Red Meire (V20) apresentaram o mesmo perfil genético que a variedade Itália.

Na Região de São Joaquim foram coletadas 68 amostras, sendo que 48 (70,6%) foram identificadas e 20 (29,4%) não foram possíveis de identificar, pois pouco ou nenhum loco amplificou. A maioria das amostras coletada nesta região foi de variedades pertencentes à espécie *Vitis vinifera*, principalmente a variedade Cabernet Sauvignon. Esta variedade, seus clones e as amostras SJ13 e SJ14 (ambas de origem genética desconhecida até o momento) todas apresentaram o mesmo perfil genético, com exceção da amostra SJ45 que diferiu apenas no loco

VVS2 das demais. A amostra SJ1 (Pinot Noir) apresentou o mesmo perfil genético da variedade Cabernet Sauvignon caracterizando um erro de introdução. A amostra SJ12 de origem genética desconhecida foi identificada como sendo a variedade Pinot Noir e as amostras SJ15 e SJ17 também de origens desconhecidas como sendo a variedade Syrah. Esta amostra SJ17 diferiu apenas no loco VVMD31 das demais amostras de Syrah. A amostra SJ51 (Trincadeira) apresentou o mesmo genótipo da variedade Pinot Noir de Campos Novos, erro de introdução também verificado na Região de Rodeio com amostra (R12). A amostra SJ50 (Tinta Roriz) apresentou o genótipo igual ao das variedades Tempranillo (CN37, AD29 e SJ5) coletadas neste trabalho. Todos os clones de Merlot (SJ11, SJ22 e SJ28) apresentaram o mesmo genótipo da variedade Merlot.

6.3.2- Agrupamento das amostras por perfil genético

Após, está primeira etapa as amostras que amplificaram nos 10, 9, 8 e 7 locos microssatélites (181) foram agrupadas por perfil genético, ou seja, as amostras que apresentavam perfil genético similar foram agrupadas e separadas das demais. Destas 181 amostras identificadas, 68 genótipos foram distintos, gerando perfis genéticos únicos nesses 10 locos microssatélites, ou seja, 68 variedades diferentes foram identificadas. A **Tabela 6** mostra o tamanho dos alelos das 181 amostras identificadas neste trabalho, agrupadas pelo perfil genético.

Tabela 6. Tamanho dos alelos (bp) em 10 locos das 181 variedades de *Vitis sp.* identificadas neste estudo, agrupadas por perfil genético. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.

VARIEDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32												
Chardonnay CL R8	AD2	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	---	^a	240	272	
Chardonnay CL 95	AD23	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	---	^a	240	272	
Chardonnay	SJ3	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	---	^a	240	272	
Chardonnay	SJ43	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	---	^a	240	272	
Cabernet Franc VCR 80	AD12	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258		
Cabernet Franc	AD15	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258		
Cabernet Franc	SJ24	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258		
Sangiovese	AD20	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256		
Sangiovese	CN28	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256		
Sangiovese	SJ20	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256		
Sangiovese	SJ44	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256		
Sangiovese	R6	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256		
Teroldego	SJ21	132	152	224	226	239	247	181	---	^a	192	---	^a	243	255	240	242	227	235	209	213	240	262
Teroldego	R14	132	152	224	226	239	247	181	---	^a	192	---	^a	243	255	240	242	227	235	209	213	240	262
Catawba	U7	118	130	238	238	235	247	165	181	192	200	239	247	242	256	229	---	^a	201	209	246	272	
Catawba	U14	118	130	238	238	235	247	165	183	192	200	239	247	250	256	229	---	^a	201	209	246	272	

Tabela 6. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Cabernet Sauvignon CL 341	CN42	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 337	CN8	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL R5	CN23	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 685	CN27	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 170	CN29	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
* Cabernet Sauvignon CL 169	CN32	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	235	237*	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 339	CN40	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CS 18A	SJ4	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 015	SJ9	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 338	SJ10	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 685	SJ23	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 339	SJ25	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 169	SJ26	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 343	SJ29	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL R5	SJ30	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 107	SJ31	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	239	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon CL 337	SJ33	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
* Cabernet Sauvignon	SJ45	136*	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon	SJ47	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Cabernet Sauvignon	SJ38	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Quadra 6 Clone A	SJ13	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Quadra 5 Clone B	SJ14	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a
Pinot Noir	SJ1	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	--- ^a

Tabela 6. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
G6	AD14	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	--- ^a	207	209	240	252
Malbec	CN39	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	--- ^a	207	209	240	252
Malbec	SJ27	128	146	226	236	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	--- ^a	207	209	240	252
Malbec	V7	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	--- ^a	207	209	240	252
* Merlot CL5	CN33	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	233	235*	209	213	240	240
* Merlot CL343	CN36	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	233	235*	209	213	240	240
Merlot CL181	CN38	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot	SJ7	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot CL 843	SJ11	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot	SJ16	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot CL 343	SJ22	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot CL181	SJ28	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot	SJ41	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Merlot CL R3	R13	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
Sauvignon Blanc	AD30	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Sauvignon Blanc	AD32	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Sauvignon Blanc	CN25	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Sauvignon Blanc	SJ2	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Sauvignon Blanc	SJ36	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256

Tabela 6. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Montepulciano	R22	128	140	224	226	249	--- ^a	185	191	188	198	251	--- ^a	240	--- ^a	233	243	207	209	258	272
Montepulciano	CN24	128	140	224	226	249	--- ^a	185	191	188	198	251	--- ^a	240	--- ^a	233	243	207	209	258	272
Montepulciano	AD28	128	140	224	226	249	--- ^a	185	191	188	198	251	--- ^a	240	--- ^a	233	243	207	209	258	272
Syrah	CN43	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	209	213	240	272
Syrah	SJ6	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	209	213	240	272
Syrah	SJ48	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	209	213	240	272
Quadra 5 fila 28	SJ15	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	209	213	240	272
* Quadra 7 fila 23	SJ17	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	213	217*	240	272
* Pinot Noir	AD25	132	150*	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
Pinot Noir	CN26	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
Quadra 7 fila 14	SJ12	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
Trincadeira	SJ51	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
Trincadeira	R12	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
Tempranillo	CN37	138	140	234	--- ^a	239	253	179	--- ^a	194	198	247	251	242	254	227	233	207	209	250	--- ^a
Tempranillo	SJ5	138	140	234	--- ^a	239	253	179	--- ^a	194	198	247	251	242	256	227	233	207	209	250	--- ^a
Tempranillo	AD29	138	140	234	--- ^a	239	253	179	--- ^a	194	198	247	251	242	256	227	233	207	209	250	--- ^a
Tinta Roriz	SJ50	138	140	234	--- ^a	239	253	179	--- ^a	194	198	247	251	242	256	227	233	207	209	250	--- ^a
Concord Precoce	CN20	120	128	234	--- ^a	235	241	181	--- ^a	200	204	247	259	240	--- ^a	229	243	185	199	250	272
Concord	CN21	120	128	234	--- ^a	235	241	181	--- ^a	200	204	247	259	240	--- ^a	229	243	185	199	250	272

Tabela 6. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32											
Itália	CN3	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Itália Export	CN4	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Itália Koga	CN13	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Itália	V25	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Itália	SJ35	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Rubi Itália	CN9	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Brasil	V14	128	144	230	238	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Red Meire	CN22	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Red Meire	V20	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Benitaka	CN18	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	254	233	243	209	211	252	272	
Familia Moscatel	U26	128	144	230	236	239	263	175	181	192	194	255	257	240	254	233	243	209	211	252	272	
* Bordô	R21	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 240	---	^a 225	229	209*	213	248	---	^a
Bordô	NT9	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 240	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Gran D' Oro	U54	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 242	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Gran D' Oro	U49	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 242	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Bordô	U45	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 240	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Gran D' Oro	CN16	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 242	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Bordô	CN6	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 240	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Gran D' Oro	NT6	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 240	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
São João	U51	118	130	234	---	^a 235	249	179	181	200	202	247	---	^a 242	---	^a 225	229	201	213	248	---	^a
Moscato Giallo	CN17	128	138	226	238	239	249	175	---	^a 184	186	249	255	240	256	235	245	207	---	^a 258	272	
Moscato Embrapa	CN30	128	138	226	238	239	249	175	---	^a 184	186	249	255	240	256	235	245	207	---	^a 258	272	
Lorena	CN15	128	138	226	238	239	249	175	---	^a 184	186	249	255	240	256	235	246	207	---	^a 258	272	

Tabela 6. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Goethe Clássica	U1	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U3	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U6	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U9	120	130	230	236	235	247	181	183	186	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U11	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U17	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U21	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U22	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U28	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U47	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U48	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U50	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Clone GP	U52	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U53	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Uva pêra ou Moscatel	R18	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Niágara Rosada	CN7	118	128	234	--- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	--- ^a	229	235	201	--- ^a	248	272
Niágara Branca	CN19	118	128	234	--- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	--- ^a	229	235	201	--- ^a	248	272
Niágara Branca	NT2	118	128	234	--- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	--- ^a	229	235	201	--- ^a	248	272
Isabel	CN10	118	146	236	--- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Isabel Precoce	CN14	118	146	236	--- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Isabel	NT5	118	146	236	--- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Bizaraqui	R16	118	146	236	--- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272

Tabela 6. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Marta	R15	120	146	234	236	235	249	179	181	200	202	247	264	250	--- ^a	225	229	201	213	248	--- ^a
Marta	NT3	120	146	234	236	235	249	179	181	200	202	247	264	250	--- ^a	225	229	201	213	248	--- ^a
Marta	U19	120	146	234	236	235	249	179	181	200	202	247	264	250	--- ^a	225	229	201	213	248	--- ^a
Viognier	V1	128	134	224	230	239	249	181	187	186	198	251	--- ^a	240	242	215	243	209	--- ^a	262	272
Trincadeira	AD36	128	134	224	230	239	249	181	187	186	198	251	--- ^a	240	242	215	243	209	--- ^a	262	272
BRS Morena	CN2	130	--- ^a	234	236	239	249	175	--- ^a	186	194	255	257	240	256	217	233	209	213	264	272
BRS Morena	V21	130	--- ^a	234	236	239	249	175	--- ^a	186	194	255	257	240	256	217	233	209	213	264	272
Alphonse Lavallée	CN5	128	130	224	236	249	255	181	--- ^a	184	202	239	251	240	256	243	--- ^a	207	213	252	272
Alphonse Lavallée	V18	128	130	224	236	249	255	181	--- ^a	184	202	239	251	240	256	243	--- ^a	207	213	252	272
Alphonse Lavallée	SJ39	128	130	224	236	249	255	181	--- ^a	184	202	239	251	240	256	243	--- ^a	207	213	252	272
Primitivo	SJ62	128	138	224	234	247	249	177	--- ^a	198	202	237	259	240	--- ^a	247	257	209	211	256	264
Primitivo	SJ46	128	138	224	234	247	249	177	--- ^a	198	202	237	259	240	--- ^a	247	257	209	211	256	264
Gewstraminer	AD9	146	--- ^a	230	238	243	257	185	--- ^a	186	192	245	251	250	--- ^a	233	235	201	213	240	272
Gewstraminer	SJ42	146	--- ^a	230	238	243	257	185	--- ^a	186	192	245	251	250	--- ^a	233	235	201	213	240	272
Nebiollo CI 111	AD16	152	--- ^a	230	234	247	249	181	185	192	198	243	251	240	242	235	--- ^a	209	--- ^a	240	262
Nebiollo	SJ32	152	--- ^a	230	234	247	249	181	185	192	198	243	251	240	242	235	--- ^a	209	--- ^a	240	262
Tinturina	U23	128	156	232	264	239	253	185	--- ^a	186	192	245	257	240	266	217	235	203	211	240	--- ^a
1 planta só (sem identificação)	NT4	128	156	232	264	239	253	185	--- ^a	186	192	245	257	240	266	217	235	203	211	240	--- ^a

Tabela 6. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Fantasya	U12	130	148	232	236	239	249	189	---	184	190	257	259	224	254	243	---	209	213	252	272
Isabel	R10	120	136	234	---	235	241	179	181	200	---	247	259	242	---	225	229	201	---	252	---
Ancellota R2	AD7	128	152	230	---	239	263	181	185	192	---	245	247	242	---	235	245	209	213	240	272
Gros Manseng	AD8	134	---	232	238	237	239	185	---	192	---	251	---	240	250	227	233	213	---	240	---
Villenave	AD11	122	128	230	232	237	249	177	185	182	---	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Castelão	AD21	138	140	234	236	243	257	177	---	186	---	247	251	242	256	235	---	201	207	252	---
Refosco	AD22	128	---	224	230	239	247	177	185	192	---	251	259	242	256	233	---	209	213	250	262
Tannat	AD24	138	152	236	238	249	---	181	185	192	198	239	251	256	---	233	---	209	---	240	256
Marzemino	AD26	128	---	224	230	239	263	181	185	186	202	243	251	240	256	233	235	209	213	240	262
Mourvedre	AD33	128	146	224	238	249	---	185	---	186	202	251	261	240	262	241	257	203	209	240	256
Carmenere	AD17	134	142	224	238	239	263	171	185	186	202	247	---	240	256	235	249	203	207	240	---
Touriga Nacional	AD18	138	146	224	234	239	---	177	185	186	192	245	---	246	252	233	267	201	213	240	272
Touriga Francesa	AD4	138	146	X	X	239	243	177	---	190	---	X	X	240	---	241	---	213	---	240	272

Tabela 6. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
Gamay	AD34	128	132	232	238	239	249	177	185	192	202	243	245	240	-- ^a	241	--- ^a	211	--- ^a	240	272
BRS Clara	CN1	128	130	224	236	239	253	175	191	186	--- ^a	247	255	240	--- ^a	217	225	209	213	252	272
BRS Linda	CN12	130	146	234	236	239	249	191	--- ^a	186	202	247	257	254	--- ^a	217	233	213	217	248	252
Poloeske Muskataly	CN11	138	--- ^a	230	234	237	243	177	--- ^a	178	186	255	--- ^a	240	250	233	243	207	211	257	--- ^a
BRS Rubea	CN31	118	--- ^a	234	--- ^a	241	249	181	--- ^a	200	202	247	259	240	254	229	--- ^a	201	213	248	272
Marselan	V5	134	140	224	230	243	247	175	191	190	202	255	257	240	242	233	243	203	207	240	--- ^a
Alicante Bouschet	V6	128	140	224	--- ^a	X	X	179	191	186	--- ^a	243	257	X	X	X	X	209	--- ^a	250	272
Petit Verdot	V2	138	152	224	230	239	263	175	185	192	202	239	247	250	256	217	235	209	213	240	--- ^a
Barbera	SJ34	128	130	224	--- ^a	249	253	181	185	190	198	243	259	240	--- ^a	233	239	209	--- ^a	252	272
Riesling Renano	SJ37	138	146	224	232	249	257	177	185	192	202	243	245	250	256	227	233	201	211	252	272
Magic Black	SJ40	130	--- ^a	224	234	249	--- ^a	181	--- ^a	184	--- ^a	251	255	256	--- ^a	243	253	209	213	252	272
Vidal Blank	U2	128	146	226	230	237	247	177	185	184	186	251	259	238	-- ^a	233	243	201	211	256	272
Centenial Seedless	U5	130	--- ^a	236	238	239	--- ^a	175	-- ^a	178	192	245	261	240	-- ^a	217	235	209	213	264	272
Muscat de Alexandria	V22	133	149	228	232	249	251	--- ^a	--- ^a	185	203	246	254	253	253	247	271	216	244	265	273

Tabela 6. Continuação

VARIEDADE	CODE	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		ZAG62		ZAG79		VVMD25		VVMD28		VVMD31		VVMD32	
Prima	U15	128	130	224	234	243	249	177	181	184	187	251	259	224	243	217	244	201	213	263	272
Ora	U18	128	130	224	234	239	249	181	187	186	198	251	259	242	255	217	244	201	213	263	272
Vilamar	U20	128	140	236	242	239	249	175	191	186	194	259	261	242	256	229	243	201	---	252	272
Regente	U24	128	150	224	236	243	247	175	191	190	202	251	259	238	266	233	257	199	209	240	272
Cristal	U27	138	148	238	---	235	257	179	191	186	200	237	247	238	248	225	233	201	209	248	252
VR 043-43	U33	138	142	226	248	235	249	181	191	200	202	247	264	248	266	243	---	203	209	244	272
101-14	U35	132	140	250	264	239	251	181	185	186	192	259	261	238	252	213	243	197	209	236	238
Paulsen 1103	U37	132	144	234	264	257	265	181	183	190	204	239	247	236	246	X	X	201	209	260	---
SO4	U38	140	144	234	---	239	253	185	---	186	192	245	257	238	246	251	---	X	X	260	---
Pesc 2	U40	134	136	262	---	251	--	185	207	190	202	255	257	238	--	235	241	197	203	238	246
Gravesac	U29	136	158	262	264	245	251	183	207	188	190	257	---	238	--	239	---	197	---	266	---
IAC 313 'Tropical'	U4	132	138	238	---	245	251	183	207	188	190	257	---	240	---	219	253	203	209	240	---
IAC 766 'Campinas'	U8	128	132	230	236	235	---	195	203	198	---	243	255	240	---	213	251	197	---	238	---
Red Globe	U13	130	146	234	236	239	249	177	---	184	186	247	259	250	256	257	---	207	---	252	272

* em negrito (variabilidade Intravarietal); X: não amplificou; ^a: O "----" símbolo indica que a variedade pode ser ou homozigota ou heterozigota com alelo nulo

6.3.3- Comparação com os perfis genéticos de bancos de dados *online* e dados da literatura internacional

A etapa sucessiva consistiu em comparar os perfis genéticos encontrados com aqueles das variedades disponibilizadas em bancos de dados *online* (Grape Microsatellite Collection: <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>; Greek Vitis Database: <http://www.biology.uch.gr/gvd>; Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMMD: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>) e com dados da literatura internacional. Os perfis genéticos encontrados em ‘database’ ou na literatura internacional nem sempre se mostraram idênticos aos das variedades deste trabalho. Foram observadas em alguns casos diferenças de um a seis pares de bases e que se um alelo era maior, por exemplo, em 2 pares de bases o outro também era existindo uma coerência dentro do mesmo loco. Segundo This et al. (2004), estas diferenças no tamanho dos alelos são normais, pois nos laboratórios são utilizados diferentes métodos e equipamentos. Na maioria dos casos, o incremento foi de 2 pares de bases, estando de acordo com a natureza dinucleotídea destes marcadores (Thomas et al., 1993; Bowers et al., 1996, 1999b; Sefc et al., 1999). A magnitude da diferença variou conforme o loco microssatélite.

Em alguns casos não foi possível fazer a comparação dos 10 locos microssatélites, visto que a maioria dos ‘database’ *online* e dados da literatura utilizam de 6 a 8 locos para a caracterização e identificação genética das variedades de videira (Dettweiler et al., 2000b; This et al., 2003, 2004; Swiss Vitis Microsatellite Database – SVMMD: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>; e GENRES: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>). No nosso trabalho utilizou-se 10 marcadores microssatélites, incluindo os 6 locos mais recomendados para a caracterização e identificação das variedades de videira (VVS2, VVMD5, VVMD2, VVMD27, VrZAG62 e VrZAG79) e mais 4 outros amplamente utilizados na genotipagem da videira (VVMD25, VVMD28, VVMD31 e VVMD32) no sentido de aumentar o polimorfismo, reduzir a probabilidade de falsa identificação e elevar o grau de confiabilidade do teste.

Algumas das variedades identificadas não foram encontradas nos ‘database’ e literatura internacional, são elas: as variedades-copa Marta, Ora, Prima, BRS Morena, Catawba, Rubia, Isabel (amostra R10, visto que seu perfil genético não foi o mesmo das demais variedades Isabel coletadas neste trabalho), Villenave, BRS Clara, BRS Linda, Poloeske Muskataly, Marselan, Fantasya, Regente, Vilamar, Cristal, Gros Manseng e os porta-enxertos Pesc 2, ‘IAC 313 Tropical’ e ‘IAC 766 Campinas’. Os porta-enxertos VR

043-43, 101-14, Paulsen 1103 e SO4 analisados neste trabalho foram encontrados nos 'database' *online*, mas o perfil genético dos mesmos não correspondeu aos da literatura internacional. Com relação a estes porta-enxertos, deve-se fazer um estudo mais aprofundado, pois certamente ocorreu erro de coleta ou introdução incorreta ou troca de material.

As variedades-copa Marta (EUA) e Catabwa (EUA) são variedades americanas (*Vitis labrusca*) e não foram encontradas nos bancos de dados que apresentam somente variedades de *Vitis vinifera*. No caso da variedade Isabel (R10), identificada erroneamente como Isabel não foi encontrada nenhuma variedade com o mesmo perfil genético.

As variedades Ora (INRA, Bordeaux, França), Prima (INRA, Bordeaux, França), Villenave (INRA, Bordeaux, França) e Marselan (INRA, Montpellier, França) são variedades criadas recentemente pelo Institut Nationale de Recherches Agronomiques (INRA, França), apresentando pouca expressão econômica e, possivelmente, não foram ainda disponibilizadas *on line*.

As variedades-copa BRS Morena, BRS Clara, BRS Linda, BRS Rubea são genótipos brasileiros desenvolvidos pela equipe de pesquisadores da Embrapa Uva e Vinho, os porta-enxertos 'IAC 313 Tropical' e 'IAC 766 Campinas' pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e conseqüentemente dificilmente encontraríamos o perfil genético destas variedades em bancos de dados internacionais e na literatura internacional. De qualquer maneira este é um aspecto muito positivo, já que estas variedades serão pela primeira vez descritas e colocadas a disposição da comunidade científica. O mesmo ocorre com o porta-enxerto PESC 2 que é um genótipo antigo de uso restrito a Região de Rodeio. Este porta-enxerto é de origem desconhecida, possivelmente, uma introdução dos Trentinos no início do século XX.

Nas **Tabelas 7 e 8** encontram-se as variedades e o tamanho dos alelos (bp) encontrados em bancos de dados *online* e na literatura internacional. Conforme estas tabelas verifica-se que existe diferença no tamanho dos alelos (pb) entre as variedades identificadas com o mesmo nome. Esta diferença no tamanho dos alelos provavelmente se deve pelo fato dos diversos laboratórios utilizarem diferentes métodos e equipamentos para identificar e caracterizar geneticamente as amostras de DNA.

Tabela 7. Comparação dos perfis genéticos encontrados das variedades mais conhecidas de *vitis sp.* de Santa Catarina com aqueles das variedades encontradas em bancos de dados *online* e dados da literatura. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.

VARIEDADE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
^a Chardonnay	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211		240	272
^b Chardonnay	134	140	231	235	238	241	179	186	188	195	241	243	243	259	221	231	214	216	241	273
^b Chardonnay	136	142	232	236	236	240									218	228			239	271
^a Cabernet Franc	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258
^b Cabernet Franc	138	146	224	238	236	260			193	203	246	258			228	236			239	257
^b Cabernet Franc	136	144	222	237	238	261	176	184	194	203	245	257								
^b Cabernet Franc	138	146	224	238	236	260			193	203	246	258								
^a Cabernet Sauvignon	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	
^b Cabernet Sauvignon	138	150	230	238	236	236			187	193	246	246			234	236			239	239
^b Cabernet Sauvignon							175	189							237	239	206	210	241	241
^a Merlot	134	146	224	234	239	247	185	187	192	192	259	259	240	250	227	233	209	213	240	240
^b Merlot	136	149	222	233	238	245	186	191	194	194	257	257	243	253	228	234	212	216	239	239
^b Merlot	138	150	224	234	236	244			193	193	258	258								
^b Merlot	151	139	236	226	247	239	191	189	195	195	259	259								
^a Syrah	128	128	224	230	239	239	185	187	186	192	245	251	242	242	217	227	209	213	240	272
^b Syrah	133	133	226	232	239	239	189	191	189	195	245	251	245	245	221	231	212	216	241	273

Tabela 7. Continuação

VARIEDADE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
a Pinot Noir	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	213	240	272
b Pinot Noir	136	150	226	236	236	240			187	193	238	244			218	236			239	271
b Pinot Noir	137	151	228	238	239	243	185	189					243	253	221	239	216	216	241	273
a Sangiovese	128	128	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	242	233	243	209	209	252	256
b Sangiovese							179	185					245	245	237	247	212	212	253	257
b Sangiovese	133	133	226	236	239	263			193	195	242	258	259	253	237	247	212	212	253	257
b Sangiovese	133	133	226	236	239	263	179	185	197	199	243	259	245	245	237	247	212	212	253	257

^a : Variedades de *vitis sp.* de Santa Catarina.

^b : Variedades de *vitis sp.* de Banco de dados e da literatura.

Tabela 8. Perfil genético de outras variedades encontradas no GENRES 081 (*European Vitis Database*) e dados da literatura. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.

GENRES 081	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		ZAG62		ZAG79	
Barbera	133	135	226		250	254	185	189	192	200	244	260
Goethe	137	161	262	264	252	266	186	219	202	202	262	
Muscat blanc	133		228	236	234	250	179	194	186	196	252	256
Muscat of Alexandria	133	149	228	232	250	252	179	194	186	204	248	256
Pinot Noir	137	151	228	238	240	244	185	189	188	194	240	246
Toriga Nacional	143	151	226	236	240		181	189	188	194	246	
Gewstraminer	151		232	238	244	258	189		188	194	246	252

LITERATURA	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		ZAG62		ZAG79	
Barbera	128	130	224		249	253	181	185	190	198	243	259
Barbera	128	130	224		249	253	181	185	190	198	243	259

Tabela 8. Continuação

LITERATURA	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		ZAG62		ZAG79	
Muscat Blanc	128		226	234	233	249	175	190	184	194	251	255
Muscat of Alexandria	128	144	226	230	249	251	175	190	184	202	247	255
Toriga nacional	138	146	224	234	239		177	185	186	192	245	
Gewstraminer	146		230	236	243	257	185		186	192	245	251
Bordo	118	130	233		234	248	180	182	200	202	246	
Goethe	120	130	229	235	234	246	182	184	190	204	238	246
Tempranillo	139	141			240	254			196	200	247	
Marzemino	130		222	228	237	261	183	187	194		241	249
Carmenere	135	144	222	234	237	261	173	187	188	203	245	
Malbec			228	238	239	263						
Sauvignon blanc	132	150	226	230	236	254			187	193	244	246
Teroldego	134	154	223	225	237	245	177	183	194		241	253
Montepulciano	130	143	223	225	247		187	191			249	
Italia	132	148	230	236	240	244					254	256
Trincadeira preta	132	150	232	236	236	246			187	203	246	250
Nebiollo Lampia	154		230	234	244	246			193	199	242	250
Goethe	132	156	260	262	251	265	182	215	200	200	261	
Tannat	140	154	235	237	237	247	183	187	193	199	238	249
Gamay	132	136	232	236	236	246			193	203	242	244
Vidal	142	151	227		251	259						
Gravesac - Ismaa	136	158	x	x	246	252	<u>183</u>	207	188	190	257	
Gravesac - France	136	158	x	x	246	252	<u>183</u>	207	188	190	256	
101-14 - Ismaa	133	137	x	x	231	257	<u>199</u>	213	193	209	253	
101-14 - France	128	139	x	x	244	252	<u>192</u>	202	172	188	255	
Kobber	141	149	236	266	234	266	<u>191</u>	211	200	214	252	260
SO4	146		234	264	230	262	-					

Tabela 8. Continuação

LITERATURA	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD27		ZAG62		ZAG79	
3309	118		250	262	245	259	181	207	179	188	254	256
Kobber	136	145	223	264	232	251	199	207	190	213	251	258
101-14	132	136	259	264	230	257	199	213	193	209	251	253
SO4	143		234	264	232	264	199	207	198	213	251	254
P1103	132	138	242	264	230	256	185	200	194	212	242	258
039-16 EUA	142	144	229	239			194				252	256
043-43 EUA	138	142	225	247			190	212	186	202	254	258

6.3.4- Identificação de variabilidade intravarietal

A variabilidade genética intravarietal tem sido atribuída a duas razões: (i) uma provável origem policlonal natural (origem de seedlings distintos); (ii) um acúmulo de mutações somáticas. Uma variedade policlonal é formada por clones relacionados, mas diferentes, que procedem do mesmo ou de cruzamentos próximos, e o acúmulo de mutações durante os séculos aumenta a variabilidade (Ulanovsky et al., 2002).

Neste trabalho, verificou-se a presença de variabilidade intravarietal nas amostras que apresentaram perfil genético similar diferindo apenas em um dos 10 locos microsatélites. Neste único loco foi observada uma mudança no tamanho dos alelos. Esta mudança ocorreu apenas em um dos dois alelos do par de base. Estas variações observadas no tamanho dos alelos ocorreram por meio de mutações (Crespan et al., 2004 e Zulini et al., 2005).

Na **Tabela 9** estão relacionadas estas amostras, o loco microsatélite e o tamanho dos alelos que sofreram esta mudança.

Tabela 9. Variedades com variabilidade intravarietal e tamanho dos alelos (bp) microsatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.

Variedades	VVS2		VVMD28				VVMD31			
Bordô*								201	213	
Bordô (R21)									213	209
Pinot Noir*	132	148								
Pinot Noir (AD25)	132		150							
Cabernet Sauvignon*	134	146								
Cabernet Sauvignon (SJ45)	136	146			233	235				
Cabernet Sauvignon CL 169 (CN32)						235	237			
Merlot*				227	233					
Merlot CL5 (CN33)					233	235				
Merlot CL 343 (CN36)					233	235				
Syrah*								209	213	
Syrah (SJ17)									213	217

* Variedade original.

Número em negrito: alelo mutante.

Foram encontrados sete casos de mutações: duas aumentaram o tamanho do alelo em 2 bp, uma em 4 bp e quatro em 8 bp.

As amostras da variedade Bordô analisadas neste estudo apresentaram o tamanho dos alelos no loco VVMD31 de 201:213 bp, enquanto que na amostra R21 foi de 209:213 bp, havendo um aumento de 8 bp em um dos alelos.

O acesso AD25 (Pinot Noir) apresentou uma mutação no loco VVS2 de 132:148 para 132:150 bp (+2 bp).

Nas 17 amostras de Cabernet Sauvignon analisadas foi encontrada uma com uma mutação no loco VVMD28 (CL 169-CN32) e 1 no loco VVS2 (SJ45). No clone 169 foi observada uma mudança de 233:235 para 235:237 bp (+4 bp). Na amostra SJ45 foi observada uma mudança de 134:146 para 136:146 bp (+2 bp).

Nas 15 amostras de Merlot identificadas, duas (CN33 e CN36) apresentaram mutação no loco VVMD28. Nas variedades originais de Merlot o genótipo no loco VVMD28 foi de 227:233, enquanto nas amostras CN33 e CN36 foi de 233:235 bp (+8 bp).

A amostra SJ17, identificada neste estudo como a variedade Syrah, apresentou uma mutação no loco VVMD31 de 209:213 para 213:217 bp (+ 8 bp).

Os dados obtidos por Frank et al. (2002) podem ser adicionados e comparados ao nosso caso. Estes autores verificaram que dois dos alelos que sofreram mutação exibiram um aumento no tamanho, sendo de 186 bp para 188 bp no loco VVS19 na variedade Primitivo di Gioia; e de 121 para 123 no loco VVS5 na Pinot Meunier). Os resultados através do seqüenciamento confirmaram a adição de 2 bp. Riaz et al. (2002) obtiveram resultados similares analisando os clones de Pinot Nero e Chardonnay.

Modificações no tamanho dos alelos são, portanto processos freqüentes e contínuos e, quando as variações são na ordem de 2 a 6 bp, como nos casos descritos acima, eles tendem a ser sem direção e o tamanho do alelo original aumenta pela adição de um ou mais pares de bases. Ibáñez et al. (2000) trabalhando com dois acessos de videira conhecidas por serem sinônimas, Black Currant e Mavri Corinthianki, verificou uma diferença de 2 bp no tamanho de um dos alelos do loco VVMD7. Infelizmente, apenas dois acessos foram comparados, de maneira que foi impossível saber se o alelo mutante foi o menor ou o maior.

Mutações similares a estas descritas, foram observadas em diferentes espécies de animais e vegetais (Ramakrishna et al., 1998; Karhu et al., 2000; Zhu et al., 2000; Neff et al., 2001). Entretanto, os estudos com animais relatam que as mutações se originam de gametas, em videira elas se originam de células somáticas e são eventualmente fixadas e transmitidas para novos indivíduos através da propagação

vegetativa. Assim, elas são dependentes da condição e posição da célula mutante: se a mutação ocorre em uma célula meristemática, ela tem o potencial de prolongar-se aos tecidos derivados daquela célula, e permanecer estável através dos anos em pelo menos uma camada da mesma planta e nos seus clones após a propagação vegetativa (Crespan, 2004).

Mutações do tipo “mais 2 pares de bases” (+ 2bp) no tamanho do alelo parecem ser mais freqüente em variedades de *Vitis vinifera*. O aumento de mais de 2 bp, mesmo sendo menos comum, podem também ocorrer como resultado de um evento individual (Primmer et al., 1996; Di Rienzo et al., 1994; Crespan et al., 2003).

A comparação do tamanho dos alelos microssatélites que sofreram mutação com os das variedades originais mostrou em todos os casos um aumento de 2 bp ou mais.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que mutações em locos microssatélites ocorrem em diferentes variedades viníferas. Portanto, isto deve ser considerado um fenômeno geral que ocorre por acaso e é relativamente freqüente no genoma de plantas. Isto significa que para ser mais confiável a genotipagem molecular baseada em marcadores microssatélites requer a análise de diferentes acessos da mesma variedade, especialmente no caso de variedades antigas em que a probabilidade de mutações acumuladas e fixadas é completamente elevada (Crespan et al., 2004). Uma sugestão é aproximar o uso de marcadores moleculares no ‘fingerprinting’ varietal escolhendo o loco polimórfico menos propenso a mutação, como é o caso de SNPs e AFLPs que são baseados na variabilidade molecular presente em uma única ou em poucas posições nucleotídeas (Franks et al., 2002).

6.3.5- Genótipos idênticos

Das 181 amostras identificadas foram encontrados 68 genótipos distintos e destes (n=68) foram observados 36 casos de genótipos idênticos entre as variedades de videira coletadas em Santa Catarina. No caso destes 36 genótipos idênticos, 19 foram encontrados em clones varietais, 11 em amostras identificadas com nomes semelhantes ou diferentes e 7 são prováveis casos de erro de identificação. Os casos de erro de identificação estão relatados no item 6.4.6.

No caso das 11 amostras identificadas com nomes semelhantes ou diferentes pode-se afirmar através dos 10 marcadores moleculares, que elas também são clones, e que são a progênie vegetativa das suas variedades originais. Então, somando-se as

19 variedades clonais mencionadas anteriormente com as 11 novas, temos 30 genótipos clones de variedades de videira neste trabalho (**Tabela 10**).

Os clones intravarietais podem diferir fenotipicamente entre si em alguma característica quantitativa e/ou qualitativa, mesmo que tenham perfis de DNA praticamente idênticos (Vignani et al., 1996; Franks et al., 2002; Riaz et al., 2002; Walker et al., 2006). Estas características fenotípicas que as diferenciam das suas variedades de origem podem ser explicadas pela ocorrência de variações somáticas da mesma variedade, ou seja, por tipos “sports” de mutações (Bowers et al., 1996; Sefc et al., 1998; Crespan et al., 1999; Ibáñez et al., 2003). Estas mutações genéticas controlam diversas características quantitativas e/ou qualitativas, como cor e forma da baga, aspectos fenológicos, vigor, rendimento, teor de açúcares, acidez, antocianinas, etc.

Tabela 10. Variedades clonais de videira com genótipos idênticos caracterizados pela análise molecular através de 10 marcadores microssatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.

Genótipos Idênticos

Bordô (SC)/Gran D'Oro (SC)

Cabernet Franc (SC)/Cabernet Franc VCR 80 (SC)

Cabernet Sauvignon (SC)/C. Sauvignon Clones 341, 337, R5, 685, 170, 169, 339, 015, 338, 343 e 107 (SC)

Chardonnay (SC)/Chardonnay Clones R8 e 95 (SC)

Concord (SC)/Concord Precoce (SC)

Goethe Primo (SC)/Goethe Clássica (SC)

Isabel (SC)/Isabel Precoce (SC)

Itália (SC)/Itália Export (SC)/Itália Koga (SC)/Rubi (SC)/Benitaka (SC)/Brasil (SC)/Redmeire (SC)

Merlot (SC) /Merlot Clones 5, 343, 181 e R3 (SC)

Nebiollo (SC)/Nebiollo CL 111 (SC)

Niágara Branca (SC)/Niágara Rosada (SC)

(SC): Variedade coletada em Santa Catarina

Segundo Pommer et. al (2003), mutações na cor da baga ou na forma das bagas são de ocorrência muito freqüente e seus produtos tem sido usados com sucesso na viticultura brasileira. Como exemplos podemos citar algumas amostras analisadas neste trabalho. As variedades Niágaras (branca e rosada) apresentaram o mesmo perfil

genético, visto que a Niágara Rosada surgiu de uma mutação somática natural da Niágara Branca. Da variedade Itália de bagas brancas surgiram as mutações:

- Rubi, sendo a coloração rosada da baga a única diferença da cultivar que lhe deu origem.
- Benitaka, apresenta como diferença fenotípica a coloração das bagas rosadas-escuras.
- Brasil que difere da uva Itália por ser de cor roxa escura, quase preta e principalmente pela polpa, que também é colorida de vermelho intenso.
- Redimeire que surgiu a partir de uma mutação somática da Itália.

A Niágara e a Itália, ambas variedades de bagas brancas, deram origem a clones com bagas vermelhas. Caso parecido foi relatado por Boss et al. (1996) em que as variedades Chardonnay e Sultana (ambas de bagas brancas) produziram clones de bagas vermelhas denominados respectivamente de Red Chardonnay e Pink Sultana. Segundo Walker et al. (2006) mutações do tipo “sports” cor da baga são controladas por dois genes reguladores similares *MYB*, sendo que qualquer um dos dois é suficiente para produzir a cor na fruta.

Os resultados também mostraram que as duas variedades analisadas (Bordô e Gran D’Oro) são geneticamente idênticas, indicando ser a variedade Grano D’Oro uma mutação da Bordô. Esta variedade, Gran D’Oro difere fenotipicamente da Bordô no aspecto vigor, produtividade e rusticidade, demonstrando boas perspectivas para produção ecológica (Schuck et al., 2005; Schuck et al., 2007 no prelo). Além disso, técnicos da EPAGRI de Nova Trento constataram que a uva em questão possui um maior teor de açúcar e um nível de acidez satisfatório (Ruberti, 2004).

As análises moleculares realizadas com as variedades Goethe Clássica e Goethe Primo, uvas típicas da Região de Urussanga, produtoras de vinhos brancos e espumantes, mostraram que as duas variedades são geneticamente idênticas, e que a Goethe Clássica sofreu uma mutação dando origem ao clone Goethe Primo (Schuck et al., 2007 no prelo). Esta afirmação pode ser comprovada quando se compara a Goethe Clássica com a Goethe encontrada nos bancos de dados ampelográficos, ambas possuem a coloração das bagas rosáceas, enquanto a Goethe Primo possui a baga de cor verde/branca. Além disso, em estudos realizados por Aparecido Lima da Silva e Jean Pierre Rosier (Comunicação Oral, Seminário Vales da Uva Goethe, maio de 2007) demonstraram diferenças marcantes na acidez total, com superioridade para a Goethe Clássica, tanto no mosto como do vinho.

Os clones das variedades Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Chardonnay e Malbec também apresentaram o mesmo perfil genético das suas variedades originais. Os pesquisadores Cipriani et al. (1994), Botta et al. (1995) e Ye et al. (1998) também examinaram a variedade Chardonnay e seus clones devido a sua ampla importância mundial na produção de vinhos varietais e nenhum polimorfismo foi detectado entre os clones e a variedade original. Botta et al. (1995) analisando clones da variedade Cabernet Sauvignon da Itália e Austrália concluíram que clones crescidos em diferentes ambientes apresentaram o mesmo perfil de DNA.

Apesar das diferenças observadas na planta e frutos serem marcantes, os marcadores microssatélites, por serem normalmente localizados em regiões anônimas do genoma (não codificantes) não possuem o poder de distinguir variantes de uma variedade de videira (clones). Variantes referidas comumente como mutações somáticas, que geralmente ocorrem em regiões funcionais do genoma (codificantes, genes), propagadas de forma clonal, serão idênticos quanto ao perfil genético produzido pelos microssatélites (Sefc et al., 1998; Lopes et al., 1999; Crespan et al., 2001; Martín et al., 2003; Ibáñez et al., 2003; Zulini et al., 2005).

Além disso, variações clonais são difíceis de serem caracterizadas pela análise de alguns locos microssatélites, mas a extensão no número de marcadores utilizados na genotipagem aumenta a chance de se encontrar clones mutantes. Isto foi demonstrado por Riaz et al. (2002), que encontrou diferenças dentro de clones de Pinot Noir e Chardonnay genotipando 100 locos SSRs. No nosso trabalho utilizamos apenas 10 locos microssatélites, que demonstrou ser um número insuficiente, para caracterizar variações clonais. Os marcadores moleculares AFLPs, embora menos confiáveis devido a inconstância de algumas bandas 'fantasmas', podem também ajudar a identificar variações clonais, como foi demonstrado recentemente (Cervera et al., 2000; Scott et al., 2000; Bellini et al., 2001; Zulini et al., 2005).

6.3.6- Sinonímias, erros de identificação e identificação de amostras de origem desconhecida

Foram observados entre as variedades coletadas em Santa Catarina, seis casos de variedades identificadas com nomes diferentes, mas que apresentaram o mesmo perfil genético e uma variedade em que o perfil genético não foi o mesmo da sua

variedade original. Estes sete casos são prováveis erros de identificação. Além disso, quando o perfil genético das variedades de Santa Catarina foi comparado aos das variedades encontradas nos 'database' e literatura internacional, foi observado que 10 variedades apresentavam o mesmo perfil genético das variedades internacionais, mas diferiam no nome (**Tabela 11**).

Tabela 11. Casos de sinonímias encontradas durante a análise molecular através de 10 marcadores microsatélites das variedades de videira de Santa Catarina. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.

Sinonímias

Castelão (SC)/Periquita (UC Davis e Sefc et al., 2000)

Isabel (SC)/Isabel Precoce (SC)/ Isabella (Suíça)/Fragolla (Itália e Austrália)

Magic Black (SC)/Exotic(Sanchez et al., 1999)/ Cardinal (Suíça)

Mouvédre (SC)/Monastrell (Sefc et al., 2000)

Muscat of Alexandria (SC)/ Chasselas Musque (França)/Muscat Gordo Blanco ou Lexia (Austrália)/Hanepoot (África do Sul)

Refosco (SC)/ Refosco dal pedunculo rosso (IASMA, Sefc et al, 2000)

Pinot Noir (SC)/Pinot Gris (Suíça)/Pinot Blanc (Suíça)/ Blauburgunder (Suíça)

Tinta Roriz (SC)/Tempranillo (Espanha)

Tinturina (SC)/Usellina (Berna/Suíça)

Toriga Francesa (SC)/Touriga Franca (Pinto-Carinde et al., 2003)

(SC): Variedade coletada em Santa Catarina

No caso de erro de identificação, foram observados seis casos que não se apresentam adequados com os resultados obtidos. A variedade Pinot Noir (SJ1) apresentou o mesmo genótipo que a variedade Cabernet Sauvignon. As amostras da variedade Trincadeira (SJ51 e R12) apresentaram o mesmo genótipo da variedade Pinot Noir. As variedades Moscato Embrapa (CN30) e Lorena (CN15) apresentaram o mesmo perfil genético da variedade Moscato Giallo. A variedade Trincadeira (AD39) apresentou o mesmo perfil genético que a variedade Viognier (V1). Certamente estes casos são equívocos de identificação ou erro de introdução ou mistura varietal, visto que todas são variedades conhecidas e seguramente de origens genéticas diferentes (**Tabela 6**). No caso da variedade identificada erroneamente como Isabel (R10), nenhuma referência quanto ao seu perfil genético foi encontrado nos 'database' e literatura internacional, demonstrando ser outra variedade.

Das amostras de origem genética desconhecida 10 foram identificadas, conforme a **Tabela 12**.

Tabela 12. Variedades de videira de origens genéticas desconhecidas identificadas pela análise molecular através de 10 marcadores microssatélites. CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2007.

Região	Localidade/Proprietário	Variedade de origem genética desconhecida	Variedade identificada
Água Doce	Fazenda Villagio Grando	G6 (AD14)	Malbec
São Joaquim	Sanjo - Sanvitis	Quadra 6 Clone A (SJ13)	Cabernet Sauvignon
	Sanjo - Sanvitis	Quadra 5 Clone B (SJ14)	Cabernet Sauvignon
	Sanjo - Sanvitis	Quadra 5 fila 28 (SJ15)	Syrah
	Sanjo - Sanvitis	Quadra 7 fila 23 (SJ17)	Syrah
	Sanjo - Sanvitis	Quadra 7 fila 14 (SJ12)	Pinot Noir
Rodeio	San Micheli	Bizaraqui (R16)	Isabel
	Solare	Uva pêra ou Moscatel (R18)	Goethe
Nova Trento	Nova Trento	1 planta só (sem identificação) (NT4)	Tinturina
Urussanga	EPAGRI	São João (U51)	Bordô

Os resultados demonstram que as análises com marcadores microssatélites podem favorecer a confirmação e definição de sinônimos, erros de identificação e identificação de variedades de origem genética não clara (Lopes et al., 1999; Martín et al., 2003; Constantini et al., 2005; Vouillmoz et al., 2006).

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

O material vegetal utilizado neste estudo constituiu-se de variedades de videira das coleções públicas e privadas do Estado de Santa coletadas em 7 Regiões do Estado. O recurso à caracterização molecular, envolvendo marcadores moleculares microssatélites, permitiu estabelecer com maior clareza os vínculos genéticos entre os diferentes acessos ou variedades e, conseqüentemente, uma melhor organização da Coleção de Germoplasma. Permitiu ainda enriquecer o conhecimento para melhorar a estratégia de coleção futura de germoplasma, e possibilitar mais eficazmente a utilização desse material em programas de criação de variedades, proteção de cultivares, produção e certificação de mudas.

Os painéis múltiplos de marcadores microssatélites mostraram-se úteis para a genotipagem em escala de amostras/variedades de videira conservadas nas Coleções de Germoplasma de Santa Catarina. Um total de 246 amostras foram utilizadas para as análises genéticas, e destas 181 foram identificadas com um número de 10 marcadores genotipados. A obtenção dos genótipos foi realizada eficientemente em seqüenciador automático de DNA.

A análise com microssatélites das 181 amostras identificadas resultou em 68 perfis moleculares únicos (68 variedades diferentes), 10 casos de variedades sinônimas (entre as variedades coletadas em Santa Catarina quando comparadas com aquelas encontradas nos 'database' e literatura internacional), identificação de 10 amostras de origem genética desconhecida, 7 casos de erro de identificação e 7 casos de variabilidade intravarietal.

A genotipagem, utilizando dez marcadores microssatélites, é adequado para identificação de variedades, mas não é efetivo para distinguir variações clonais.

A utilização de marcadores microssatélites para a construção de um banco de dados molecular pode simplificar a identificação de equívocos e sinônimos nas coleções de germoplasma de videira. A associação deste tipo de marcador, altamente confiável e informativo, com um sistema automático de análise das amostras, pode ser uma ferramenta para o desenvolvimento de eficientes protocolos para proteção e certificação de variedades de videira.

Os dados gerados neste trabalho pretendem contribuir para a discussão sobre a caracterização e intensificação do uso de recursos genéticos depositados em bancos de germoplasma, em especial a métodos de amostragem de coleções para definição de

acessos apropriados a uso específico em estudos genéticos e programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM-BLONDON, A-F; ROUX, C; CLAUX, D; BUTTERLIN, G; MERDINOGLU, D; THIS, R. Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. **Theoretical Applied Genetics**, 109:1017–1027. 2004.

AKAGI, H.; YOKOZEKI, Y.; INAGAKI, A.; FUJIMURA, T. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. **Theoretical Applied Genetics**, v.93, p.1071-1077, 1996.

AKAGI, H.; YOKOZEKI, Y.; INAGAKI, A.; FUJIMURA, T. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. **Theoretical Applied Genetics**, v.93, p.1071-1077, 1996.

AKKAYA, M. S.; SHOEMAKER, R. C.; SPECHT, J. E.; BHAGWAT, A. A.; CREGAN, P. B. Integration of simple sequence repeat (SSR) DNA markers into soybean linkage map. **Crop Science**, 35: 1439-1445. 1995.

ALBERTS, B., D. BRAY, J. LEWIS, M. RALF, K. ROBERTS & J.D. WATSON. 1994. (eds.) **Molecular Biology of The Cell**. 3 ed. New York, Garland Publishing, 1294p

ALLEWELDT, G.; DETTWEILER, E. **The genetic resources of Vitis: world list of grapevine collection**, 2nd edn. BAZ IRZ Geilweilerhof, Siebeldingen. 1994.

ARADHYA, M. K.; DANGL, G.S.; PRINS, B.H.; BOURSQUOT, J.M.; WALKER, M.A.; MEREDITH, C.P.; SIMON, C.J. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. **Genetical Research**, 81 (3): 179-192. 2003.

ARMOUR, J. A. L.; ALEGRE, S. A.; MILES, S.; WILLIAMA, L.; BADGE, R. **Minnisatellites and mutation processes in tandem repetitive DNA**. In *Microsatellites: Evolution and Application*. Edited by D. Goldsteins & Christian Schötterer. Oxford University Press, New York. 1999.

ARMOUR, J. A. L.; BARTON, D. E, COCKBURN, D. J. AND TAYLOR, G. R. The detection of Large Deletions or Duplications in Genomics DNA. **Human Mutation**, 20: 325-337. 2002

ASENSIO, M.L.; VALDES, E.; CABELLO, F. Characterisation of some Spanish White grapevine cultivars by morphology and aminoacid analysis. **Scientia Horticulturae**, 93: 289-299. 2002.

AUKAR, A.P.A.; ZAIN DAN, H.A.; FREITAS, M.L.; LEMOS, E.G.M. F-AFLP analysis of genetic diversity within and between *Passiflora* spp. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 47., 2001, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** 1 CD Rom. 2001.

BACHMANN, O.; BLAICH, R. Isoelectric focusing of grapevine peroxidase as a tool for ampelography. **Vitis** 27, 147-155. 1988.

BALLOUX, F. and LUGON-MOLIN, N. The estimation of population differentiation with microsatellites markers. **Molecular Ecology** 11 (2): 155-165. 2002.

BECKER, J. & HEUN, M. Barley microsatellites allele variation and mapping. **Plant Molecular Biology**, 27 (8): 35- 45. 1995.

BECKMANN, J. S. & WEBER, J. L. Survey of human and rat microsatellites. **Genomics**, 12: 627-631. 1992.

BELKUN, A.; SCHERER, S.; ALPHEN, L.; VERBRUGH, H. Shot-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 62 (2): 275-293.

BELL, C. J.; ECKER, J. R. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of Arabidopsis. **Genomics**, 19: pp 137-144. 1994.

BELLIN, D.; VELASCO, R.; GRANDO, M. S. Intravarietal DNA polymorphisms in grapevine (*Vitis Vinifera* L.). **Acta Horticulturae**, 546: 343-349. 2001.

BELÓ, A. **Avaliação de Recursos Genéticos para produção de híbridos de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 104p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Ecologia. Universidade de Florianópolis. Brasil. 2001.

BOCCACCI, P.; MARINONI, D.T.; GAMBINO, G.; BOTTA, R.; SCHNEIDER, A. Genetic Characterization of Endangered Grape Cultivars of Reggio Emilia Province. **American Journal of Enology and Viticulture**, 56 (4): 411-416. 2005.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 2º edição, Viçosa: Editora UFV, p. 453. 1998.

BORREGO, J. ; ANDRÉS, M. T. ; GOMÉZ, J. L.; IBÁÑEZ, J. Genetic Study of Malvasia and Torrontes Groups through Molecular Markers. **American Journal of Enology and Viticulture**, 53:2. 2002.

BOSS, P. K.; DAVIES, C.; ROBINSON, S. P. Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry skin colour. **Australian Journal Grape Wine Research**, 2:163–170. 1996.

BOTTA, R.; SCOOT, N.S.; EYNARD, I. & THOMAS, M.R. Evaluation of microsatellite sequence-tagged site markers for characterizing *Vitis vinifera* cultivars. **Vitis**, 34 (2): 99-102. 1995.

BOTTA, R.; SCHNEIDER, A.; MANNINI, F.; AKKAK, A.; THOMAS, M. R.; SCOTT, N. S. **Impiego di marcatori molecolari per la caratterizzazione di vitigni**. Convegno Nuovi Metodi di Identificazione delle Varietà di Vite, Gorizia. 1995a.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNIC, K. M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, 32: 314–331. 1980.

BOURQUIN, J. C; OTTEN, L. & WALTER, B. Identification of grape vine rootstocks by RFLP. **Comptes Rendus de l'académie des Sciences**, 312 Série III: 593-598. 1991.

BOURQUIN, J-C.; SONKO, A. OTTEN, L ; WALTER, B. Restriction fragment length polymorph and molecular taxonomy in *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 87:431-438. 1993.

BOURSIQUOT, J. M. AND THIS, P. Les nouvelles techniques utilisées en ampélographie: informatique et marquisge. In: La viticulture à laube du III^{ème} Millénaire. **Journal international des sciences de la vigne et du vin**, pp. 13-23. 1996.

BOWERS J.E., BANDMAN E.B. AND MEREDITH C.P. DNA fingerprinting characterization of some wine grape cultivars. **American Journal of Enology and Viticulture**, 44: 266–274. 1993.

BOWERS, J. E. & MEREDITH, C. P. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. **Nature Genetics**, 16: 84-87. 1996.

BOWERS, J.E.; DANGL, G.S.; VIGNANI, R. & MEREDITH, C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). **Genome**, 39 (4): 628-633. 1996.

BOWERS, J.E. & MEREDITH, C.P. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. **Nature Genetics**, 16 (1): 84-87. 1997.

BOWERS, J.E.; DANGL, G.S. & MEREDITH, C.P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. **American Journal of Enology and Viticulture**, 50 (3): 243-246. 1999.

BOWERS, J. E.; DANGL, G. S.; MEREDITH, C. P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. **American Journal of Enology and Viticulture**, 50:243–246. 1999b.

BREDEMEIJER, G. M. M.; ARENS, P.; WOUTERS, D.; VISSER, D. AND VOSMAN, B. The use of semi-automated fluorescent analysis for tomato cultivar identification. **Theoretical and Applied Genetics**, 97:584–590. 1998.

BREDEMEIJER, G. M. M.; COOKE, R. J.; GANAL, M. W.; PEETERS, R.; ISAAC, P.; NOORDIJK, Y.; RENDELL, S.; JACKSON, J.; RÖDER, M. S.; WENDEHAKE, K.; DIJCKS, M.; AMELAINE, M.; WICKAERT, V.; BERTRAND, L.; VOSMAN, B.

Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, 105:1019–1026. 2002.

BRONDANI, R. P. V. AND GRATTAPAGLIA, D. Cost-effective method to synthesize a fluorescent internal DNA standard for automated fragment sizing. **BioTechniques**, 31: 793-800. 2001.

BRONDANI, C.; RANGEL, N.; BRONDANI, V.; FERREIRA, E. QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 104 (6-7)1192-1203. Epub 2002 Apr 06. 2002.

BROUN, P.; GANAL, M. W.; TANKSLEY, S. D. Telomeric arrays display high levels of heritable polymorphism among closely related plant varieties. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 89: 1354-1357.

BÜSCHER, N.; ZYPRIAN, E.; BACHMANN, O.; BLAICH, R. On the origin of the grapevine variety Müller-Thurgau as investigated by the inheritance of random amplified polymorphic DNA (RAPD). **Vitis**, 33: 15-17. 1994.

CARRANO, A.V.; J. LAMERDIN, ASHWORTH, L.K.; WATKINS, B.; BRANSCOMB, E.; SLEZAK, T.; RAFF, M.; DE JONG, P.J.; KEITH, D.; MCBRIDE, L.; MEISTER, S. AND KRONICK, M. A high resolution, fluorescence-based, semi-automated method for DNA fingerprinting. **Genomics**, 4: 129–136. 1989.

CERVERA, M. T.; CABEZAS, J. A.; SANCHA, J. C.; MARTINEZ, DE TODA F.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). **Theoretical and Applied Genetics**, 97:51–59. 1998.

CIPRIANI, G.; FRAZZA, G.; PETERLUNGER, E.; TESTOLIN, R. Grapevine application of microsatellite marker fingerprinting using microsatellite repeats. **Vitis**, 33 (4): 211-215. 1994.

COBURN J. R., TEMNYKH S. V., PAUL E. M., MCCOUCH S. R. Design and panels for semiautomated genotyping of rice (*Oryza sativa* L.). **Crop Science**, 42: 2092-2099. 2002.

COLLINS, G. G. & SYMONS, R. H. Extraction of nuclear DNA from grape vine leaves by a modified procedure. **Plant Molecular Biology Reporter**, 10: 233-235. 1992.

CONSTANTINI, L.; MONACO, A.; VOUILLAMOZ, J. F.; FORLANI, M. AND GRANDO, M. S. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campânia (Italy). **Vitis**, 44 (1), 25-34. 2005.

COUCH, J. A. & FRITZ, P. J. Isoation of DNA from plants high in polyphenolics. **Plant Molecular Biology Reporter**, 8: 8-12. 1990.

CREGAN, P.B., BHAGWAT, A.A., AKKAYA, M.S., JIANG, R. Microsatellite fingerprinting and mapping of soybean. **Methods of Molecular Cell Biology**, 5: 49-61. 1994.

CRESPAN, M.; BOTTA, R.; MILANI, N. Molecular characterization of 20 seeded and seedless table cultivars (*Vitis vinifera* L.). **Vitis**, 38:87–92. 1999.

CRESPAN, M.; MILANI, N. The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. **Vitis**, 40 (1):23-30. 2001.

CRESPAN, M. Evidence on the evolution of polymorphism of microsatellite markers in varieties of *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 108:231–237. 2004.

CRISAN, D. Molecular diagnostic testing for determination of myeloid lineage in acute leukemias. **Annals Clinical Laboratory Science**, 24: 355-363. 1994.

DALBO, M. A.; YE, G.N.; WEEDEN, N.F.; STEINKELLNER, H.; SEFC, K. M. & REICH, B.I. A gene controlling sex in grapevines placed on a molecular marker-based genetic map. **Genome**, 43(2): 333-340. 2000.

DALBO, M. A.; YE, G.N.; WEEDEN, N.F. WILCOX, W.F. & REICH, B.I. Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 126 (1): 83-89. 2001.

DALLAS, J. F. Detection of DNA “fingerprints” of cultivated rice by hybridization with a human minisatellite DNA probe. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 85: 6831-6835.

DEFONTAINE, A. La PCR: un outil original pour caractériser les variétés. **Viticulture**, 47-48. 1992.

DETTWEILER, E.; KRAUSE, D. J. and HARRER, S. **The European Vitis Database** ([http:// www.dainet.de/eccdb/vitis/](http://www.dainet.de/eccdb/vitis/)). 1998a.

DETTWEILER, E.; KRAUSE, D. J. and HARRER, S. **The Vitis International Variety Catalogue** (<http://www.dainet.de/genres/idb/vitis/index.htm>). 1998b.

DETTWEILER, E.; JUNG, A.; ZYPRIAN, E.; TÖPFER, R. Grapevine cultivar Müller-Thurgau its true to type descent. **Vitis**, 39: 63-65. 2000a.

DETTWEILER, E.; THIS, P.; EIBACH, R. The European network for grapevine genetic resources conservation and characterization. In: **XXVth World Congress on Grape and Wine**, Paris, June 2000, pp 1–10. 2000b.

DION, R. **Histoire de la vigne et du vin en France des origins au XIX^{graveeme} siècle**. Flammarion, Paris, p. 768. 1977.

DIWAN, N. AND CREGAN, P.B.. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, 95: 723–733. 1997.

DI RIENZO, A.; PETERSON, A. C.; GARZA, J. C.; VALDES, A. M.; SLATKIN, M.; FREIMER, N. B. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. **Genetics**, 91:3166–3170. 1994.

DOLIGEZ A, BOUQUET A, DANGLLOT Y, LAHOGUE F, RIAZ S, MEREDITH CP, EDWARDS KJ, THIS P Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. **Theoretical and Applied Genetics**, 106:1213–1224. 2002.

DOUCLEV, M; JIN, Y; GAO, F; RIAZ, S; KRIVANEK, AF; WALKER, MA. A genetic linkage map of grape utilizing *Vitis rupestris* and *Vitis arizonica*. **Theoretical and Applied Genetics**, 109:1178–1187. 2004.

DUDLEY, J.W.; SAGHAI-MAROOF, M.A. e RUFENER, G.K. 1992. Molecular marker information and selection of parents in corn breeding programs. **Crop Science**, 32:301-304.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, 12:13–15. 1990.

DWEIKAT, I.; MACKENZIE,S.; LEVY, M.; OHM, H. Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. **Theoretical and Applied Genetics**, v.85, p.497-505, 1993.

EDWARDS, A.; CIVITELLO, A.; HAMMOND, H.A. AND CASKEY, C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. **American Journal of Human Genetics**, 49: 746–756. 1991.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Procedimentos e Métodos utilizados no Intercâmbio e Quarentena de Germoplasma Vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 40p. (Documento nº103). Web site at [http:// www.cenargen.embrapa.br](http://www.cenargen.embrapa.br)
Acesso em: agosto/2005.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Produção e Comercialização de Uvas e Vinhos – Panorama 2004**. Embrapa Uva e Vinho. Web site at <http://www.cnpuv.embrapa.br>
Acesso em: agosto/2005.

EPAGRI – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA. **Normas Técnicas para o cultivo da videira em Santa Catarina**. Florianópolis, 2005. 67p. (EPAGRI, Sistemas de produção, 33). 2005.

EPAGRI – CEPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA S.A./ CENTRO DE ESTUDOS DE SAFRAS E MERCADOS. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2005/2006**. Florianópolis, SC 2005. p. 114. 2006.

FANG, G., HAMMAR, S. & REBECCA, R. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. **BioTechniques**, 13: 52-56. 1992.

FANIZZA, G.; COLLONA, G.; RESTA, P.; FERRARA, G. The effect of the number of RAPD markers on the evaluation of genotypic distances in *Vitis vinifera*. **Euphytica**, 107: 45-50. 1999.

FAO. **FAOSTAT database**. Web site at: <http://apps.fao.org>. 2005.
Acesso em: dezembro/2006.

FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília. EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 221p. 1995.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3^{ed}. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220 p. 1998.

FISCHER, BM; SALAKHUTDINOV, I; AKKURT, M; EIBACH, R; EDWARDS, KJ; TOPFER, R; ZYPRIAN, EM. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. **Theoretical and Applied Genetics**, 108: 501–515. 2004.

FRANKEL, O.H.; BROWN, A.H.D. AND BURDON, J.J.. The conservation of plant biodiversity. **Cambridge Univ Press**, Cambridge, England. 1995.

FRANKS, T.; BOTTA, R.; THOMAS, M. R. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. **Trends Applied Genetics** 104:192–199. 2002.

FREGONI, M. **Origines de la vigne et de la viticulture**. Musumeci, Quart Italie, p 160. 1991.

GALET, P. **Précis d'ampélographie pratique**. In: Galet P (ed) Imprimerie Dé han, 6^{ème} edn. Montpellier, p 257. 1991.

GALET, P. **Dictionnaire encyclopédique des cépages**. Paris: Hachette. 2000.

GENRES. **European Vitis Database**. Web site at: <http://www.genres.de/eccdb/vitis/>)

GEPTS, P. The use of molecular and biochemical markers in crop evolution studies. In: **Evolutionary Biology**, v. 27. Edited by: MK Hecht, et al. Plenum Press, NY, NY. 1993.

GOLDSTEIN, D. B.; SCHLFTTERER. C. **Microsatellites: Evolution and Applications**. **Oxford University Press**, New York. 1999.

GORGOCENA, Y.; ARULSEKAR, S.; DANDEKAR, A. M.; PARFITT, D. E. Molecular markers for grape characterization. **Vitis**, 32: 183-185. 1993.

GOTTLIEB, L. D. **Electrophoretic evidence and plant populations**. *Progr Phytochem*, 7: 1-46. 1981.

GRANDO, M. S.; DE MICHELI, L.; BIASETTO, L.; SCIENZA, A. RAPD markers in wild and cultivated *Vitis vinifera*. **Vitis**, 34: 37-39. 1995.

GRANDO, M. S.; De MICHELI, L.; SCIENZA, A. Characterization of Vitis germplasm using random amplified polymorphic DNA markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 43: 187-192. 1996.

GRANDO, M. S. AND FRISINGHELLI, C. Grape microsatellite markers-sizing of DNA alleles and genotype analysis of some grapevine cultivars. **Vitis**, 37 (2): 79-82. 1998.

GRANDO, M. S.; TOMASI, F.; IACONO, F. AND STEFANINI, M. Caratterizzazione e polimorfismo di nuovi loci SSR del genoma di vite, IN: **Proc. XLIII Convegno Annuale SIGA**, Molveno (Italy) 22-25 September 1999.

GRANDO, M. S.; MALOSSINI, U.; RONCADOR, I. AND MATTIVI, F. Genotyping of local grapevine germplasm. **Acta Horticulturae**, 528 (1): 183:187. 2000a.

GRANDO, M. S.; FRISINGHELLI, C. AND STEFANINI, M. Polymorphism and distribution of molecular markers in a segregating population derived from the cross Moscato bianco X *Vitis riparia*. **Acta Horticulturae** 528 (1): 209-213. 2000b.

GRANDO, M. S.; BELLIN, D.; MADINI, A.; STEFANINI, M.; POZZI, C. AND VELASCO, R. Construction of an AFLP and SSR genetic map of *Vitis* from an interspecific hybrid population. **Proceedings Plant & Animal Genome VIII**, San Diego, CA January 9-12, 2000. 2000c.

GRANDO, M. S.; BELLIN, D.; EDWARDS, K. J.; POZZI, C.; STEFANINI, M.; VELASCO, R. Molecular linkage maps of *Vitis vinifera* L. and *Vitis riparia* Mchx. **Theoretical and Applied Genetics**, 106: 1213–1224. 2003.

GRAPE MICROSATELLITE COLLECTION. **GRAPE MICROSATELLITE COLLECTION – GMC**. Web site at: <http://www.ismaa.it/areabioav/gmc.html>
Acesso em: fevereiro/2007.

GREEK VITIS DATABASE. **GREEK VITIS DATABASE**. Web site at: <http://www.biology.uch.gr/gvd>
Acesso em: fevereiro/2007.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M. **An Introduction to Genetic Anaysis**. 7th ed. New York: W H Freeman &Co. 2000.

GUR – ARIE, r.; COHEN, C.; EITAN, Y.; SHELEF, L.; HALLERMAN, E.; KASHI, Y. Simple sequence repeats in *Escherichia coli*: Abundance, distribution, composition and polymorphism. **Genome Research**, 10: 62-71. 2000.

HANCOCK, J. **Microsatellites and the other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms**. In *Microsatellites: Evolution and Applications*. Edited by: Goldsteins & Christian Schötterer. Oxford University Press, New York. 1999.

HARTL, L.; MOHLER, V.; ZELLER, F. J.; HSAM, S. L. K.; SCHWEIZER, G. Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes Pm1c and Pm1a in common wheat markers (*Triticum aestivum*L.). **Genome**, 42: 322-329. 1999.

HENEGARIU, O.; HIRSCHMANN, P.; KILIAN, K. Rapid screening of the Y chromosome in idiopathic sterile men, diagnostic for deletions in AZF, a genetic factor expressed during spermatogenesis. **Andrologia**, 26, 97–106. 1994.

HENEGARIU, O.; HEEREMA, N.A.; DLOUHY, S.R.; VANCE, G.H.; AND VOGT, P.H. Multiplex PCR Critical Parameters and step-by-step protocol. **Biotechniques**, 23: 504–511. 1997.

HOPKINS, M. S.; CASA, A. M.; WANG, T.; MITCHELL, S. E.; DEAN, R. E.; KOCHERT, G.; KRESOVICH, S. Discovery and characterization of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in peanut. **Crop Science**, 39: 1243-7. 1999.

HOSHINO, A. A.; PALMIERI, D.A.; BRAVO, J.P.; PERREIRA, T. E. B.; LOPES, C. R. & GIMENES, M.A. Marcador Microssatélite na Conservação de Germoplasma Vegetal. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, 29: 146-150. 2002.

HILL, D. M.; MORTIZ, C.; MABLE, B. K. **Molecular Systematics**, 2nd Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 1996.

IBÁÑEZ, J. **Estudio genético de variedades de uva de mesa sin semillas (*Vitis vinifera*) mediante marcadores moleculares y su aplicación a lá protección legal**. Thesis, Universidad Complutense. 2000.

IBGE – BANCO DE DADOS AGREGADOS. Web site at: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. 2005
Acesso em: agosto/2005

IBGE – BANCO DE DADOS AGREGADOS. Web site at: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. 2006
Acesso em: fevereiro/2007.

ICEPA – INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. **Levantamento Agropecuário de Santa Catarina 2002/03**. Florianópolis: Instituto Cepa/SC, 2005. Dados Preliminares fev. 2005. p. 249. 2005.

IMAZIO, S.; LABRA, M.; GRASSI, F.; WINFIELD, M.; BARDINI, M. & SCIENZA, A. Molecular tools for clone identification: the case of the grapevine cultivar "Traminer". **Plant Breeding**, 121: 531-535. 2002.

IPGRI UPOV AND OIV. **Descriptores para la Vid (Vitis spp.)** Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, Gêneve, Switzerland; Oficina Internacional de la Vinã y del Vino, Paris, France; Internacional Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1997.

ITOKAWA, M.; YAMADA, K.; IWAYAMA-SHIGENO, Y.; ISHITSUKA, Y.; DETERA-WADLEIGH, S.; YOSHIKAWA, T. Genetic analysis of a functional GRIN2A promoter (GT)_n repeat in bipolar disorder pedigrees in humans. **Neuroscience Letters**, 345: 53–56. 2003.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. **Nature**, 316: 76-79. 1998.

JUAN, P. M.; JOSE, L. S.; OLINDA, P.-C.; FERNANDA, L.; MARA, D. C. M. & JESUS, M. O. Determination of relationships among autochthonous grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) in the Northwest of the Iberian Peninsula by using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 53: 1255–126. 2006.

JORDAN, H.; DARFLER, M.; SOLUS, J. A thermostable DNA polymerase for genotyping of dinucleotide repeat polymorphisms without nontemplated nucleotide addition . **Plant & Animal Genome, VII Conference**. Town & Country Hotel, San Diego, CA, January 17-21, 1999. 1999.

KARIN, M; JOSE, L. S; ROBERT, H; ADEL, F. & FERDINAND, R. A genetic map of Welschriesling × Sirius for the identification of magnesium-deficiency by QTL analysis. **Euphytica**, 149: 133–144, 2006.

KARHU, A.; DIETERICH, J. H.; SAVOLAINEN, O. Rapid expansion of microsatellite sequences in pines. **Molecular Biology Evolution**, 17:259–265. 2000.

KNAPP, P. E. Studies of glial lineage and proliferation in vitro using an early marker for committed oligodendrocytes. **Journal Neuroscience Research**, 30 (2): 336-345. 1991.

KRESOVICH, S.; SZEWC-MCFADDEN, A.K.; BLIEK, S.M. Abundance and characterization of simple sequence repeats (SSRs) isolated from a size-fractionated genomic library of *Brassica napus* L. (Rapeseed). **Theoretical and Applied Genetics**, 91: 206-211. 1995.

LANGERCRANTZ, U.; ELLENGREN, H.; ANDERSON, L. The abundance of various polymorphic Microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. **Nucleic Acids Research**, 21: 1111-1115. 1993.

LANDEGREN, U.; KAISER, R.; CASKEY, C.T.; HOOD, L. DNA diagnostics. Molecular techniques and automation. **Science**, v.242, p.229-237, 1980.

LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v.121, p.185-199. 1989.

LEFORT, F. & ROUBELAKIS-ANGELAKIS, A. The Greek *Vitis* database: A multimedia Web-backed Genetic Database for Germplasm Management of *Vitis* Resources in Greece. **Journal of Wine Research**, vol. 11, n°3, p. 233-242. 2000.

LEFORT, F.; KYVELOS, J.; ZERVOU, M.; EDWARDS, K. J. & ROUBELAKIS-ANGELAKIS, A. Characterization of new microsatellite loci from *Vitis vinifera* and their conservation in some species and hybrids. **Molecular Ecology Notes**, 2: 20-21. 2002.

LEOI, L. C. T. **Desenvolvimento de Marcadores Microssatélites (SSR) *Arachis hypogaea***. Dissertação de Mestrado. Ciências Genômicas e Biotecnologia. Universidade Católica de Brasília. 2003.

LEMES M.R., BRONDANI R.P.V. AND GRATTAPAGLIA D. Multiplexed systems of microsatellite markers for genetic analysis of mahogany, *Swietenia macrophylla* king (Meliaceae), a threatened neotropical timber species. **Journal Heredity**, 93(4): 287–291. 2002.

LI, Y. C.; KOROL, A. B.; FAHIMA, T.; BEILES, A. e NEVO, E. Microsatellites genomic distribution putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, 11: 2453-2465, 2002.

LIEBHARD, R.; GIANFRANCESCHI, L.; KOLLER, B.; RYDER, C. D.; TARCHINI, R.; VAN De WEG, E. and GESSLER, C. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus domestica* Borkh.). **Molecular Breeding**, 2002, 10, 217–241. 2002.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 44, n. 3, p. 397-401. 1989.

LIVINI, C.; AJMONE-MARSAN, P.; MELCHINGER, A.E.; MESSEMER, M.M. e MOTTO, M. 1992. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic groups revealed by RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, 84:17-25.

LODHI, M. A.; YE, G. N.; WEEDEN, N.F. & REICH, B.I. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. **Plant Molecular Biology Reporter**, 12: 6-13. 1994.

LODHI, MA; YE, GN; WEEDEN, NF; REISCH, BI. A molecular marker-based linkage map of *Vitis*. **Genome**, 38: 786–794. 1995.

LOH, J. P.; KIEW, R.; HAY, A.; KE, A.; GAN, Y. Y. Intergeneric and interspecific relationships in Araceae tribe Caladieae and development of molecular markers using amplified fragment length polymorphism (AFLP). **Annals of Botany**, 85: 371-378. 2000.

LOPES, M. S.; SEFC, K. M.; DIAS, E. D.; STEINKELLNER, H.; LAIMER, DA CAMARA MACHADO M. AND DA CAMARA MACHADO, A. The use of microsatellites for gemplasm management in a Portuguese grapevine collection. **Theoretical and Applied Genetics**, 99 (3-4):733-739. 1999.

LOUREIRO, M. D.; MARTINEZ, M. C.; BOURSQUOT, J. M. AND THIS, P. Molecular markers analysis of *Vitis vinifera* “Albarino” and some similar grapevine cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 123: 842-848. 1998.

LUND & ZAPATER. GRAPEGENE - A GENOMIC APPROACH TO THE IDENTIFICATION OF THE GENETIC AND ENVIRONMENTAL COMPONENTS UNDERLYING BERRY QUALITY IN GRAPEVINE.

Published on the NRC Research Press Web site at <http://genome.nrc.ca>, on 13 January 2004.

Acesso em: agosto/2005.

MAGALHAES, R.; FARIA, M.A.; NUNES, E. BOWERS, J.E.; MARTINS, A.; MEREDITH, C.P.; FERREIRA MONTEIRO, F. SSR characterization and identification of Portuguese *Vitis vinifera* cultivars used in Port wine production. **Livro de resumos da conferência "Plant & Animal Genome VI Conference"**, San Diego, California. P67. 1998.

MAGALHAES, R., FARIA, M. A., SANTOS, N. M. M., EIRAS DIAS, J. E., MAGALHAES, N., MEREDITH, C. P. and FERREIRA MONTEIRO, F. Verifying the identity and parentage of Cruzado de Rabo de Ovelha with microsatellite markers. **American Journal of Enology and Viticulture**, 54: 56–8. 2003.

MANSFIELD, D. C.; BROWN, A. F.; GREEN, D. K.; CAROTHERS, A. D.; MORRIS S. W.; EVANS H-J. Automation of genetic linkage analysis using fluorescent microsatellite markers. **Genomics**, 24: 225-233. 1994.

MARKLUND, S.; ELLEGREN, H.; ERIKSSON, S.; SANDBERG, K.; ANDERSON, L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. **Animal Genetics**, 25: 19-23. 1994.

MARTÍN J.P., BORREGO J., CABELLO F. AND ORTIZ J.M. Characterization of the Spanish diversity grapevine cultivars using sequence-tagged microsatellite site markers. **Genome**, 46: 10–18. 2003.

MARTIN, J. P; SANTIAGO, J. L.; PINTO-CARNIDE, O; LEAL, F.; MARTINEZ, M. DEL C.; ORTIZ, J. M. Determination of relationships among autochthonous grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) in the Northwest of the Iberian Peninsula by using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 53: 1255–1261. 2006.

MASI P., SPAGNOLETTI ZEULI P.L. AND DONINI P. Development and analysis of multiplex microsatellite markers sets in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, 11: 303–313. 2003.

MAUGHAN, P.J.; SAGHAI MAROOF, M.A.; BUSS, G.R. Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. **Genome**, 38: 715-723. 1995.

MAURO, M. C.; STREFELER, M.; WEEDEN, N. F. & REISCH, B. I. Genetic analysis of restriction fragment length polymorphisms in *Vitis*. **Journal of Heredity** 83: 18-21. 1992.

MAZZA, M. C. M.; BITTENCOURT, J. V. M. Extração de DNA de tecido vegetal de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Boletim de Pesquisa FI.**, Colombo, n. 41, jul./dez. 2000 p.12-17. 2000.

MCCOUCH, S. R.; CHEN, X.; PANAUD, O.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; HUANG, N.; ISHII, T.; BLAIR, M. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. **Plant Molecular Biology**, 35: 89– 99. 1997.

MEREDITH, C. P.; BOWERS, J. E. RIAZ, S.; HANDLEY, V.; BANDMAN, E. B. AND DANGL, G. S. The identity and parentage of the variety known in California as Petite Syrah. **American Journal of Enology and Viticulture**, 50: 236-242. 1999.

MICHELMORE, R.W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.88, p.9828-9832, 1991.

MILACH, S. C. K. **Uso de marcadores moleculares na caracterização de cultivares**. Borém, Giudice, Sakiyama, Sedyama, Moreira, Portugal (eds.). Biossegurança, proteção de Cultivares, Acesso aos Recursos Genéticos e Propriedade industrial na Agropecuária. Viçosa, 1998. 182p. Disponível *online* em <http://www.embrapa.br>. Acessado em 24/08/05.

MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S.; JESTER, C. A.; HERNANDEZ, C. J.; SZEWC-MCFADDEN, A. K. Application of multiplex PCR and fluorescence-based, semi-automated allele sizing technology for genotyping plant genetic resources. **Crop Science**, 37: 617-624. 1997.

MITTON, J.B.; LINHART, Y.B.; STURGEON, K.B.; HAMRICK, J.L. Allozyme polymorphism detected in mature needle tissue of Ponderosa pine. **Journal of Heredity**, v.70, n.2, p.86-89, 1979.

MOREIRA, F.M. **Identificazione di QTL per la resistenza a *Plasmopara viticola* e *Uncinula necator* in vite**. Tesi di dottorato di ricerca in Biologia Vegetale e Produttività delle Piante Coltivate, Università degli Studi di Milano. 2005.

MORETZSOHN, M.C. de C.; VALLS, J.F.M. **Análise da variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por meio de marcadores microssatélites**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 27p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 13). Fol. 2221.

MORGANTE, M & OLIVIERI, A. M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**, 3: 175-182. 1993.

MOSS, D. W. **Isoenzymes**. Capman & Hall, London & New York. 1982.

MUELLER, U. G.; WOLFENBARGER, L. L. AFLP genotyping and fingerprinting. **Tree**, 14: 389-394. 1999.

MUKAIDA, M.; KIMURA, H.; TAKADA, Y.; MASUDA, T.; NAKATA, Y. The personal identification of many samples recovered from under the sea. **Forensic Science International**, 113: 79-85. 2000.

MULUVI, G. M.; SPRENT, J. I.; SORANZO, N.; PROVAN, J.; ODEE, D.; FOLKARD, G.; MCNICOL, J. W.; POWELL, W. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa oleifera* Lam. **Molecular Ecology**, 8: 463-470. 1999.

MURRAY, M. G. & THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight DNA. **Nucleic Acids Research**, 20: 2381. 1980.

NODARI, R. O.; TSAI, S. M.; GILBERTSON, R. L.; GEPTS, P. Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. **Theoretical and Applied Genetics**, 85: 513-520. 1993.

NEFF, B. D.; GROSS, M. R. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. **Evolution**, 55:1717– 1733. 2001.

NYBOM, H.; HALL, H. K.; Minisatellite DNA “fingerprint” can distinguish *Rubus* for physical mapping of the human genome. **Science**, 254: 1434-1435. 1991.

OLAISEN, B.; STENERSEN, M.; MEVAG, B. Identification by DNA analysis of the victims of the August 1996 Spitsbergen civil aircraft disaster. **Nature Genetics**, 15, 402– 405. 1997.

OLIVO, C.; BARRAGÁN, M. C.; CASTELLAANOS, C.; RODRÍGUEZ, M. C.; SILIÓ & TORO, M.A. **Application of molecular markers (RAPD, AFLP and Microsatellites) to Iberian pig genotype characterization**. Departamento de Mejora Genética y biotecnología, INIA, Ctra. Coruna. Spain. 2000.

ORTIZ, J. M.; MARTIN, J. P.; BORREGO, J.; CHAVEZ, J.; RODRIGUES, I.; MUNOZ, G. & CABELLO, F. Molecular and morphological characterization of a *Vitis* gene bank for the establishment of a base collection. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 51: 403-409. 2004.

PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. **Practical isozyme genetics**. Ellis Horwood, Chichester, UK. 1988.

PATERSON, A.H.; DAMON, S.; HEWITT, J.D.; ZAMIR, D.; RABIONOWITCH, H.D.; LINCOLN, S.E.; LANDER, E.S.; TANKSLEY, S.D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. **Genetics**, v 127, p.181-197, 1991.

PESSOA FILHO, M. A. C. P. **Análise Genética de Variedades Tradicionais do Banco de Germoplasma de Arroz (*Oryza sativa* L.) com Marcadores Moleculares**. Tese de Mestrado. Departamento de Biologia Molecular. Universidade de Brasília. 2004.

PINTO-CARNIDE, O.; MARTIN J.P.; LEAL, F.; CASTRO, I.; GUEDES-PINTO, H. AND ORTIZ, J.M.. Characterization of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars from northern Portugal using RAPD and microsatellite markers. **Vitis** 42(1): 23–25. 2003.

POMMER, C. V. **Uva Tecnologia de produção, Pós-colheita, Mercado**. Ed. por C. V. POMMER. Porto Algre: Cino Continentes, 2003.

PONCE, M.R.; ROBLES, P.; AND MICOL, J.L. High-throughput genetic mapping in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular and General Genetics**, 26 (1): 408–415. 1999.

PROTAS, J. F. S. **Pólos Emergentes**. Cultivar HF, v. 4, p. 32, out./nov. 2000.

POWELL, W.; MACHRAY, G. C.; PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends Plant Science**, 1: 215–222. 1996.

PRIMMER, C. R.; SAINO, N.; MOLLER, A. P.; ELLEGREN, H. Unravelling the processes of microsatellite evolution through analysis of germ line mutations in barn swallows *Hirundo rustica*. **Molecular Biology Evolution**, 15:1047–1054. 1998.

RAMAKRISHNA, W.; DAVIERWALA, A. P.; GUPTA; V. S.; RANJEKAR, P. K. Expansion of a (GA) dinucleotide at a microsatellite locus associated with domestication in rice. **Biochemical Genetics**, 36:323– 327. 1998.

RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites, and machines. **Trends in Genetics**, v.9, p.275-280, 1993.

RIAZ, S.; GARRISON, K. E.; DANGL, G. S.; BOURSQUOT, J. M.; MEREDITH, C. Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 127:508– 514. 2002.

RIAZ, S; DANGL, GS; EDWARDS, KJ; MEREDITH, CP. A microsatellite marker based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 108: 864–872. 2004.

ROGSTAD, S. H.; PATTON, J. C.; SCHAAI, B. A. M13 repeat probe detects DNA minisatellite-like sequences in gymnosperms and angiosperms. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 85: 9176-9178. 1988.

RONGWEN, J.; AKKAYA, M. S.; BHAGWAT, A. A.; LAVI, U. & CREGAN, P. B. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. **Theoretical and Applied Genetics**, 90 43-48. 1995.

ROSIER, J. P. e LOSSO, L. **Cadeias Produtivas do Estado de Santa Catarina: Viticultura**. Florianópolis: EPAGRI, 41p. (EPAGRI, Boletim Técnico nº 83). 1997.

ROSSETO, M. **Sourcing of SSRs markers from related plant species**. In: Plant Genotyping: the DNAs fingerprinting of plants. Cap. 14. Ed. R. J. Henry. Austrália. 373p. 2001.

RUBERTI, V. A descoberta dos grãos de ouro. Neotrentino cultiva uva cuja muda por acaso e que agora surpreende técnicos e agricultores pelo seu vigor, qualidade, produtividade e beleza. **Jornal Município do Dia-a-dia**, Brusque, 16 de dezembro de 2004, p. 12-13. 2004.

RUSSELL, J.; FULLER, J.; YOUNG, G.; THOMAS, B.; TARAMINO, G.; MACAULAY, M.; WAUGH, R. and POWELL, W. Discrimination between barley genotypes using microsatellite markers. **Genome**, 40: 442-450. 1997.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOEFFEL, S.; SHCARF, S. J.; HIGUCHI, G.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, 239: 487-491. 1988.

SANCHEZ-ESCRIBANO, E. M.; MARTIN, J. P.; CARRENO, J. AND CENSIS, J. L. Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. **Genome**, 42: 87-93. 1999.

SCHLFTTERER. C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma** 109, 365– 371. 2000.

SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromossoma**, 109: 365-371. 2000.

SCHUCK, M. R. S.; MOREIRA, F. M.; SILVA, M. F. da; BRENDLER, A. R.; VELLOSO, C. Q.; BORGHEZAN, M.; VOLTOLINI, J. A.; SILVA, A. L. da. Uso de marcadores moleculares “microsatélites” na identificação da variedade ‘Grano

d'Oro' de Nova Trento em Santa Catarina. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10., 2005, Bento Gonçalves. **Anais...** p. 300. 2005.

SCHUCK, M. R. S.; SILVA, A. L. da; VOLTOLINI, J. A.; BRENDLER, A. R.; MOREIRA, F. M.; GRANDO, S. Caracterização das variedades de videira Grano d'oro e Bordô de Nova Trento por meio de marcadores moleculares microssatélites. In: IX ENFRUTE - ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 2007, Fraiburgo. **Anais, Vol. II Resumos...** p. 59. 2007.

SCHUCK, M. R. S.; SILVA, A. L. da; VOLTOLINI, J. A.; MOREIRA, F. M.; GRANDO, S. Identificação molecular da variedade Goethe de Urussanga (SC) por marcadores microssatélites. In: IX ENFRUTE - ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 2007, Fraiburgo. **Anais, Vol. II Resumos...** p. 42. 2007.

SCHUG, M. D.; WETTERSTRAND, K. A.; GAUDETTE, M. S. The distribution and frequency of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*. **Molecular Ecology**, 7: 57-70. 1998.

SCOTT, K.D.; EGGLE, P.; SEATON, G.; ROSSETTO, M.; ABLETT, E.M.; LEE L.S. AND HENRY, R.J. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. **Theoretical and Applied Genetics**, 100: 723-726. 2000.

SEFC, K. M.; STEINKELLNER, H.; WAGNER, H. W.; GLOSSL, J.; REGNER, F. Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. **Vitis**, 36 (4): 179-183. 1997.

SEFC, K. M.; GUGGENBERGER, S.; REGNER, F.; LEXER, C.; GLOSSL, J.; STEINKELLNER, H. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. **Vitis**, 37 (3): 123-125. 1998.

SEFC, K. M.; REGNER, F.; GLÖSSI, J. AND STEINKELLNER, H. Genotyping of grapevine and rootstock using microsatellite markers. **Vitis**, 37: 15-20. 1998a.

SEFC, K. M.; REGNER, F.; TURETSCEIK, E.; GLOSSL, J.; STEINKELLNER, H. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. **Genome**, 42 (3): 367-373. 1999.

SEFC, K. M.; LOPES, M. S.; MENDONÇA, D.; SANTOS, M. R.; MACHADO, L. C. & MACHADO, A. C. Identification of microsatellite loci em olive (*olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees. **Molecular Ecology**, 9: 1171-1173. 2000.

SEFC, K. M.; LEFORT, F.; GRANDO, M. S.; SCOOT, K. D.; STEINKELLNER, H. & THOMAS, M.R. Microsatellites markers for grapevine: a state of the art. **Molecular Biology & Biotechnology of Grapevine**. Cap. 17. 1-30p. 2001.

SENIOR, M. L.; CHIN, E. C. L.; LEE, M.; STUBER, C.W.; SMITH, J. S. C. Simple sequence repeat markers developed from maize sequences found in the Genbank database: map construction. **Crop Science**, 36: 1676-1683. 1996.

SENSI, E.; VIGNANI, R.; RODHE, W. AND BIRICOTTI, S. Characterization of genetic biodiversity with *Vitis vinifera* L. Sangiovese and Colorino genotypes by AFLP and ISTR DNA marker technology. **Vitis**, 35: 183-188. 1996.

SHUBER, A. P.; GRONDIN, V. J. AND KLINGER, K. W. A simplified procedure for developing multiplex PCRs. **Genome Research**, 5: 488-493. 1995.

SILVA, A. V. C. Metodologias de extração de DNA em videiras para análise RAPD e AFLP. **Revista de ciências agrárias**, Belém, 2005.

SILVA, A. L. da; ROSSIER, J. P. Comunicação Oral, Seminário Vales da Uva Goethe, Urussanga – SC, maio de 2007.

SIRET, R.; GIGAUD, O.; ROSEC, J. P. e THIS, P. Analysis of grape *Vitis vinifera* L. DNA in must mixtures and experimental mixed wines using microsatellites markers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50: 3822-3827. 2002.

SMITH, A.M.; DENYER, K. AND MARTIN, C. The synthesis of the starch granule. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Molecular Biology**, 48: 67-87. 1997.

SOLTIS, D. E. & SOLTIS, P. S. **Isozymes in plant biology**. Discordies. Porthland, OR. 1989.

SOUZA, A. P. **Biologia Molecular Aplicada ao Melhoramento**. Em: Plantas: Recursos Genéticos & Melhoramento. Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S. de; Valadares-Inglis, M. C.; Fundação M. T. Rondonópolis. 940-945. 2001.

STRIEM, M. J.; SPIEGEL-ROY, P.; BEN-HAYYIM, G.; BECKMANN, J.; GIDONI, D. Genomic DNA fingerprinting of *Vitis vinifera* by the use of multi-loci probes. **Vitis** 29, 223-227. 1990.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Tree**, 15, 199–203. 2000.

SWISS VITIS MICROSATELLITE DATABASE. **SWISS VITIS MICROSATELLITE DATABASE – SVM D**. Web site at: <http://www.unine.ch/nccr/svmd/>
Acesso em: março/2007.

TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Part A Elsevier, New York. 516 pp. 1983.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, 17: 6463-6471. 1989.

TESSIER, C.; DAVID, J.; THIS, P.; BOURSQUOT, J. M. AND CHARRIER, A. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 89: 171-177. 1999.

TESTOLIN, R.; MARRAZZO, T.; CIPRIANI, G.; QUARTA, R.; VERDE, I.; DETTORI, M.T.; PANCALDI, M.; SANSAVINI, S. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. **Genome**, 43: 512–520. 2000.

THIS, P.; DETTWEILER; E. EU-project GENRES ct96 no81: European Vitis database and results regarding the use of a common set of microsatellite markers. **Acta Horticulturae**, 603:59–66. 2003.

THIS, P.; JUNG, A.; BOCCACCI, P.; BORREGO, J.; BOTTA, J.; COSTANTINI, L.; CRESPIAN, M.; DANGL, G. S.; EISENHELD, C.; FERREIRA-MONTEIRO, F.; GRANDO, S.; IBÁÑEZ, J.; LACOMBE, T.; LAUCOU, V.; MAGALHÃES, R.; MEREDITH, C. P.; MILANI, N.; PETERLUNGER, E.; REGNER, F.; ZULINI, L.;

MAUL, E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, 109: 1448–1458. 2004.

THOMAS, M. & SCOTT, N. S. Microsatellites repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysis as sequenced-tagged sites (STSs). **Theoretical and Applied Genetics**, 86: 985-990. 1993.

THOMAS, M. & SCOTT, N. S. Microsatellite sequence tagged site markers: simplified technique for rapidly obtaining flanking sequences. **Plant Molecular Biology**, 12: 58-64. 1994.

TOMMASINI L., BATLEY J., ARNOLD G.M., COOKE R.J., DONINI P., LEE D., LAW J.R., LOWE C., MOULE C., TRICK M. AND EDWARDS K.J. The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, 106: 1091–1101. 2003.

TÓTH, M.; GÁSPARI, Z. & JURKA, J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. **Genome Research**, 10: 967-981. 2000.

TROYER, A. F.; ROCHEFORD, T.R. Germplasm ownership: related corn inbreds. **Crop Science**, v. 42, p. 3-9, 2002.

ULANOVSKY, S. GOGORCENA, Y.; TODA de, F. M.; ORTIZ, J. M. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 92, p. 241-245. 2002.

VIGNANI, R.; BOWERS, J. E. e MEREDITH, C. P. Microsatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* “Sangiovese”. **Scientia Horticulturae**. 65: 163-169. 1996.

VIJAYAN, K.; KAR, P. K.; TIKADER, A.; SRIVASTAVA, P. P.; AWASTHI, A. K.; THANGAVELU, K. AND SARATCHANDRA, B. Molecular evaluation of genetic variability in wild populations of mulberry (*Morus serrata* Roxb.). **Plant Breeding**, 123: 568-572. 2004.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, p.4407-4414, 1995.

VOUILLAMOZ; J. F.; SCHNEIDER; A.; GRANDO, M. S. Microsatellite analysis of Alpine grape cultivars (*Vitis vinifera* L.): alleged descendants of Pliny the Elder's Raetica are genetically related. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 2006.

WALKER, A. R.; LEE, E.; ROBINSON, S. P. Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus. **Plant Molecular Biology**, 62: 623-635. 2006.

WANG, Z.; WEBER, J. L.; ZHONG, G.; TANKSLEY, S. D. Survey of plant short tandem DNA repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, 88: 1-6. 1994.

WEBER, J. L.; MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v.44, p.388-396. 1989.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data**. Sinauer: Sunderland, p. 377. 1990.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIC, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535, 1990.

WYMAN, A. R.; WHITE, R. A highly polymorphic locus in human DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 77: 6754-6758. 1980.

YE, G. N.; SOYLEMEZOGLU, G.; WEEDEN, N. F.; LAMBOY, W. F.; POOL, R. M.; REISCH, B. I. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. **Vitis**, 37:33-38. 1998.

ZABEAU, M.; VOS, P. Selective restriction fragment length amplification: a general method for DNA fingerprinting. In: **European Patent Application EP 534858A1**. 1993.

ZIEGLE, J. S.; SU, Y.; CORCORAN, K. P.; NIE, L.; MAYRAND, P. E.; HOFF, L. B.; MCBIDE, L. J.; KRONICK, M. N. AND DIEHL, S. R. Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. **Genomics**, 14: 1026–1031. 1992.

ZHANG L.S., BECQUET V., LI S.H. AND ZHANG D. Optimization of multiplex PCR and multiplex gel electrophoresis in sunflower SSR analysis using infrared fluorescence and tailed primers. **Acta Botanica Sinica**, 45(11): 1312–1318. 2003.

ZHU, Y.; QUELLER, D. C.; STRASSMANN, J. E. A phylogenetic perspective on sequence evolution in microsatellite loci. **Journal of Molecular Evolution**, 50:324–338. 2000.

ZOHARY D.; HOPF, M. **The domestication of the plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and Nile Valley**, 3rd edn. Oxford University Press, Oxford. 2000.

ZULLINI, L.; RUSSO, M.; PETERLUNGER, E. Genotyping wine and table grapevine cultivars from Apulia (Southern Italy) using microsatellite markers. **Vitis**, 44: 183-187. 2002

ZULLINI, L.; FABRO, E. & PETERLUNGER, E. Characterisation of the grapevine cultivar Picolit by means of descriptors and molecular markers. **Vitis**, 44 (1): 35-38. 2005.

ANEXOS

Anexo 1

Tabela 13. Composição do gel de agarose para eletroforese horizontal. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

Componentes	Concentrações
Agarose	0,8%
TBE	1X
Brometo de Etídio	1,5 µg.ml ⁻¹

Tabela 14. Reagentes utilizados na reação de polimerase em cadeia (PCR-MIX). Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

Componentes	Volume 1X (1 µl)	Concentração Final
Água mili-Q	5.05	
10X Buffer	1.25	1X
MgCl ₂	0.75	1.5 mM
dNTP	2.5	25 µM
P1 (F)	0.2	0.5 µM
P2 (R)	0.2	0.5 µM
Taq DNA polimerase	0.05	0.5 U
DNA	2.5	25-50 ng
Total	12.5 µl	

Tabela 15. Marcadores microssatélites marcados com fluorescência utilizados nos cinco painéis múltiplos (multiplex-sequenciador). Laboratório de Genética Molecular, IASMA, Trento.

Painel	Locus	Fluorocromo	Cor	Varição de tamanho esperada (pb)
A	VVS2	FAM	Blue	129-155
A	VVMD5	HEX	Green	226-246
B	VVMD7	FAM	Blue	232-263
B	VVMD27	HEX	Green	173-194
C	Zag62	HEX	Green	185-203
C	Zag79	FAM	Blue	236-260
D	VVMD25	HEX	Green	236-260
D	VVMD31	FAM	Blue	196-224
E	VVMD28	HEX	Green	221-279
E	VVMD32	FAM	Blue	239-273

ANEXO 2

1- Variedades: Nova Trento

Figura 6. Quantificação de DNA das variedades de Nova Trento. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

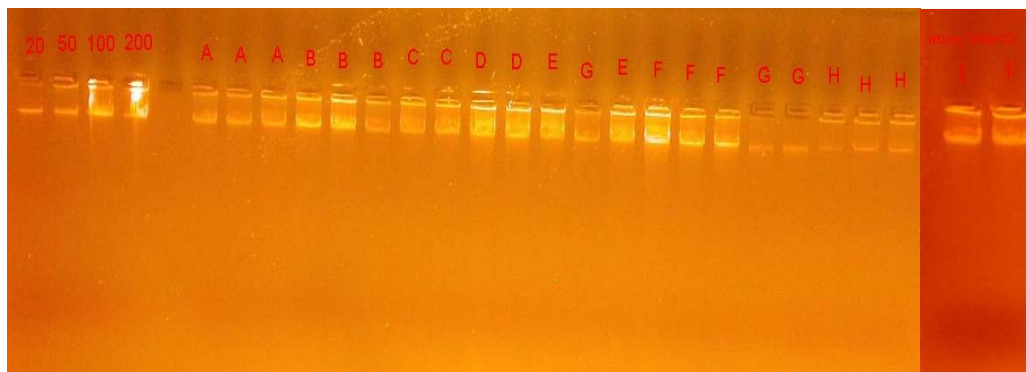


Tabela 16. Variedades de Nova Trento, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A*	B**	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
A	NT1	Goethe	Nova Trento	50
B	NT2	Niágara Branca	Nova Trento	100
C	NT3	Marta	Nova Trento	50
D	NT4	1 planta só (sem identificação)	Nova Trento	200
E	NT5	Isabel	Nova Trento	200
F	NT6	Gran D'Oro	Nova Trento	100
G	NT7	Niágara Rosada	Nova Trento	20
H	NT8	Concord	Nova Trento	20
I	NT9	Bordô	Nova Trento	100

A* : Código quantificação, **B**** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

2 – Variedades: Urussanga

Figura 7. Quantificação de DNA das variedades de Urussanga. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.





Tabela 17. Variedades de Urussanga, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
U54	U54	Gran D'Oro	EPAGRI	50
U45	U45	Bordô	Felippe	200
U49	U49	Gran D'Oro	EPAGRI	100
U51	U51	São João	EPAGRI	200
U47	U47	Goethe Primo	Damiani	20
U48	U48	Goethe Primo	Damiani	100
U50	U50	Goethe Clássica	Damiani	200
U52	U52	Clone GP	EPAGRI	100
U53	U53	Goethe Clássica	EPAGRI	20
U1	U1	Goethe Clássica	Quarezemin	200
U2	U2	Vidal Blank	Possamai	200
U3	U3	Goethe Primo	Quarezemin	20
U4	U4	IAC 313 'Tropical'	EPAGRI	200
U5	U5	Centenial Seedless	EPAGRI	200
U6	U6	Goethe Clássica	Felippe	200
U7	U7	Catawba	Trevisol	200
U8	U8	IAC 766 'Campinas'	EPAGRI	200
U9	U9	Goethe Clássica	Felippe	200
U10	U10	Benifugi	EPAGRI	-
U11	U11	Goethe Clássica	Trevisol	200
U12	U12	Fantasia	EPAGRI	200
U13	U13	Red Globe	EPAGRI	200
U14	U14	Catawba	Soreto	200
U15	U15	Prima	EPAGRI	200
U16	U16	IAC Jales	EPAGRI	100
U17	U17	Goethe Clássica	Mazon	200
U18	U18	Ora	EPAGRI	200
U19	U19	Marta	Trevisol	100
U20	U20	Vilamar	Possamai	200
U21	U21	Goethe Primo	Felippe	100
U22	U22	Goethe Clássica	Possamai	100
U23	U23	Tinturina	EPAGRI	200
U24	U24	Regente	EPAGRI	200
U25	U25	Bordô	João Pignatel	200
U26	U26	Família Moscatel	Possamai	200
U27	U27	Cristal	Felippe	200
U28	U28	Goethe Cristal	EPAGRI	200

A : Código quantificação, **B** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

3 – Variedades: Rodeio

Figura 8. Quantificação de DNA das variedades de Rodeio. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

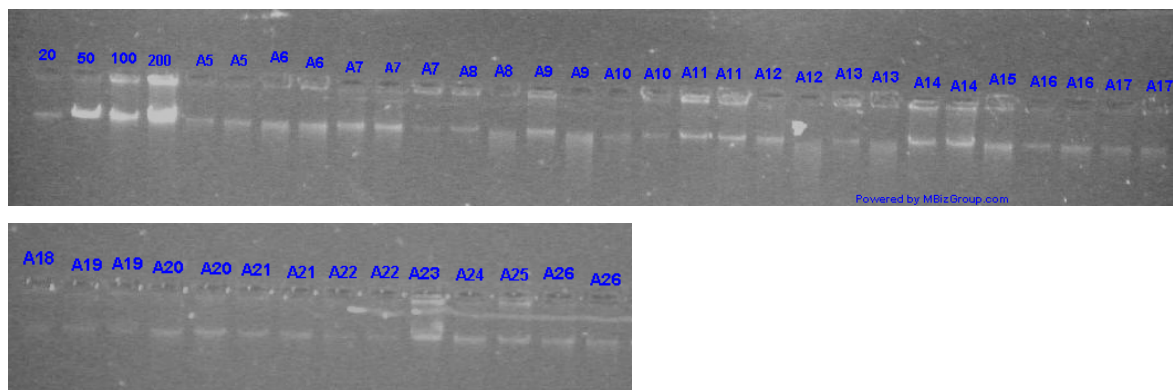


Tabela 18. Variedades de Rodeio, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
A5	R1	Seibel	San Micheli	20
A6	R2	Chardonnay	San Micheli	30
A7	R3	Vênus	San Micheli	30
A8	R4	Tinta Roriz	Rodeio	20
A9	R5	Sauvignon Blanc	Rodeio	30
A10	R6	Sangiovese	Rodeio	20
A11	R7	Cabernet Sauvignon CL R5	San Micheli	50
A12	R8	Porta – enxerto (sem identificação)	Ascurra – Mondini	30
A13	R9	Pinot Noir	Rodeio	20
A14	R10	Isabel	San Micheli	50
A15	R11	Touriga Nacional	Rodeio	30
A16	R12	Trincadeira	Rodeio	20
A17	R13	Merlot CL R3	San Micheli	20
A18	R14	Teroldego	San Micheli	-
A19	R15	Marta	San Micheli	10
A20	R16	Bizaraqui	San Micheli	20
A21	R17	Niágara Rosada	San Micheli	20
A22	R18	Uva pêra ou Moscatel	Solare	10
A23	R19	Niágara Branca	San Micheli	sujo
A24	R20	Couderc	San Micheli	20
A25	R21	Bordô	Rodeio	20
A26	R22	Montepulciano	Rodeio	20

A : Código quantificação, **B** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

4 – Variedades: Tangará e Videira

Figura 9. Quantificação de DNA das variedades de Tangará e Videira. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

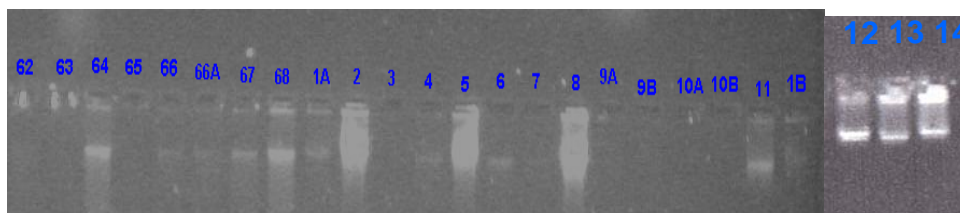


Tabela 19. Variedades de Tangará e Videira, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A *	B **	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
62	V1	Viognier	Tangará-Pancieri	-
63	V2	Petit Verdot	Tangará-Pancieri	-
64	V22	Muscat de Alexandria	Tangará-Pancieri	50
65	V4	Arimonoa	Tangará-Pancieri	-
66	V5	Marselan	Tangará-Pancieri	-
67	V6	Alicante Bouschet	Tangará-Pancieri	20
68	V7	Malbec	Tangará-Pancieri	50
1	V8	Bailey	Videira-EPAGRI	20
2	V9	Dona Zilá	Videira-EPAGRI	sujo
3	V10	Patrícia	Videira-EPAGRI	-
4	V11	Teroldego	Videira-EPAGRI	-
5	V12	Riesling Renano	Videira-EPAGRI	sujo
6	V13	Tardia de Caxias	Videira-EPAGRI	20
7	V14	Brasil	Videira-EPAGRI	-
8	V15	Vênus	Videira-EPAGRI	sujo
9	V16	Seibel 9	Videira-EPAGRI	-
10	V17	Couderc	Videira-EPAGRI	-
11	V18	Alphonse Lavallée	Videira-EPAGRI	50
12	V25	Itália	Videira-EPAGRI	200
13	V20	Red Meire	Videira-EPAGRI	100
14	V21	BRS Morena	Videira-EPAGRI	100

A * : Código quantificação, B ** : Código genotipagem

Sq: amostras sem quantificação

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

5 – Variedades: Campos Novos

Figura 10. Quantificação de DNA das variedades de Campos Novos. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.



Tabela 20. Variedades de Campos Novos, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
CN1	CN1	BRS Clara	EPAGRI	200
CN2	CN2	BRS Morena	EPAGRI	-
CN3	CN3	Itália	EPAGRI	100
CN4	CN4	Itália Export	EPAGRI	100
CN5	CN5	Alphonse Lavallée	EPAGRI	100
CN6	CN6	Bordô	EPAGRI	200
CN7	CN7	Niágara Rosada	EPAGRI	100
CN8	CN8	Cabernet Sauvignon CL337	EPAGRI	-
CN9	CN9	Rubi Itália	EPAGRI	100
CN10	CN10	Isabel	EPAGRI	100
CN11	CN11	Ploeske Muskataly	EPAGRI	100
CN12	CN12	BRS Linda	EPAGRI	100
CN13	CN13	Itália Koga	EPAGRI	100
CN14	CN14	Isabel Precoce	EPAGRI	100
CN15	CN15	Lorena	EPAGRI	100
CN16	CN16	Gran D'Oro	EPAGRI	-
CN17	CN17	Moscato Giallo	EPAGRI	100
CN18	CN18	Benitaka	EPAGRI	200
CN19	CN19	Niágara Branca	EPAGRI	100
CN20	CN20	Concord Precoce	EPAGRI	100
CN21	CN21	Concord	EPAGRI	200
CN22	CN22	Red Meire	EPAGRI	100
CN23	CN23	Cabernet Sauvignon CL R5	EPAGRI	-
CN24	CN24	Montepulciano	EPAGRI	100
CN25	CN25	Sauvignon Blanc	EPAGRI	100
CN26	CN26	Pinot Noir	EPAGRI	100
CN27	CN27	Cabernet Sauvignon CL685	EPAGRI	100
CN28	CN28	Sangiovese	EPAGRI	100
CN29	CN29	Cabernet Sauvignon CL170	EPAGRI	-
CN30	CN30	Moscato Embrapa	EPAGRI	100
CN31	CN31	BRS Rubea	EPAGRI	200
CN32	CN32	Cabernet Sauvignon CL169	EPAGRI	100

Tabela 20. Continuação

A *	B **	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
CN33	CN33	Merlot CL5	EPAGRI	200
CN34	CN34	Chardonnay	EPAGRI	-
CN35	CN35	Cabernet Franc	EPAGRI	-
CN36	CN36	Merlot CL 343	EPAGRI	200
CN37	CN37	Tempranillo	EPAGRI	200
CN38	CN38	Merlot 181	EPAGRI	100
CN39	CN39	Malbec	EPAGRI	-
CN40	CN40	Cabernet Sauvignon CL 339	EPAGRI	-
CN41	CN41	Cabernet Sauvignon CL 341	EPAGRI	200
CN42	CN42	Carmenere	EPAGRI	200
CN43	CN43	Syrah	EPAGRI	200

A * : Código quantificação, **B **** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

6 – Variedades: Água Doce

Figura 11. Quantificação de DNA das variedades de Água Doce. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

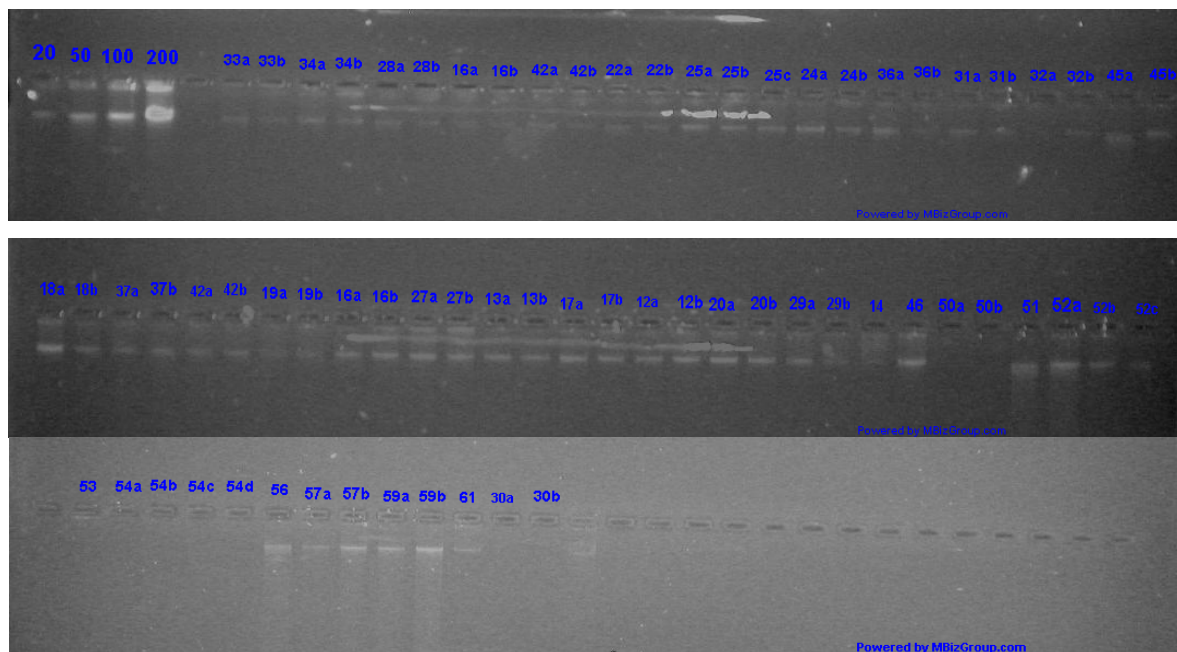


Tabela 21. Variedades de Água Doce, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
33	AD1	Riesling Renano	Fazenda Villagio Grando	20
34	AD2	Chardonnay CL R8	Fazenda Villagio Grando	20
28	AD3	Jaen	Fazenda Villagio Grando	20
16	AD4	Touriga Francesa	Fazenda Villagio Grando	10
42	AD5	Nebiollo R6	Fazenda Villagio Grando	10
22	AD6	Marselan	Fazenda Villagio Grando	20
25	AD7	Ancellota R2	Fazenda Villagio Grando	50
24	AD8	Gros Manseng	Fazenda Villagio Grando	50
36	AD9	Gewstraminer	Fazenda Villagio Grando	30
31	AD10	Villenave	Fazenda Villagio Grando	-
32	AD12	Cabernet Franc VCR 80	Fazenda Villagio Grando	10
45	AD13	Trebbiano	Fazenda Villagio Grando	20
18	AD14	G6	Fazenda Villagio Grando	50
37	AD15	Cabernet Franc	Fazenda Villagio Grando	20
42	AD16	Nebiollo CL 111	Fazenda Villagio Grando	20
19	AD17	Carmenere	Fazenda Villagio Grando	10
16	AD18	Touriga Nacional	Fazenda Villagio Grando	50
27	AD19	Pinot Gris	Fazenda Villagio Grando	50
13	AD20	Sangiovese	Fazenda Villagio Grando	50
17	AD21	Castelão	Fazenda Villagio Grando	50
12	AD22	Refosco	Fazenda Villagio Grando	50
20	AD23	Chardonnay CL 95	Fazenda Villagio Grando	50
29	AD24	Tannat	Fazenda Villagio Grando	50
14	AD25	Pinot Noir	Fazenda Villagio Grando	-
46	AD26	Marzemino	Fazenda Villagio Grando	50
50	AD27	Trebbiano	Fazenda Villagio Grando	-
51	AD28	Montepulciano	Fazenda Villagio Grando	20
52	AD29	Tempranillo	Fazenda Villagio Grando	20
53	AD30	Sauvignon Blanc	Fazenda Villagio Grando	-
54	AD31	Nebiollo	Fazenda Villagio Grando	-
57	AD33	Mourvèdre	Fazenda Villagio Grando	30
59	AD34	Gamay	Fazenda Villagio Grando	50
61	AD35	Viognier	Fazenda Villagio Grando	20
30	AD36	Trincadeira	Fazenda Villagio Grando	-

A : Código quantificação, **B** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

7 – Variedades: São Joaquim

Figura 12. Quantificação de DNA das variedades de São Joaquim. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

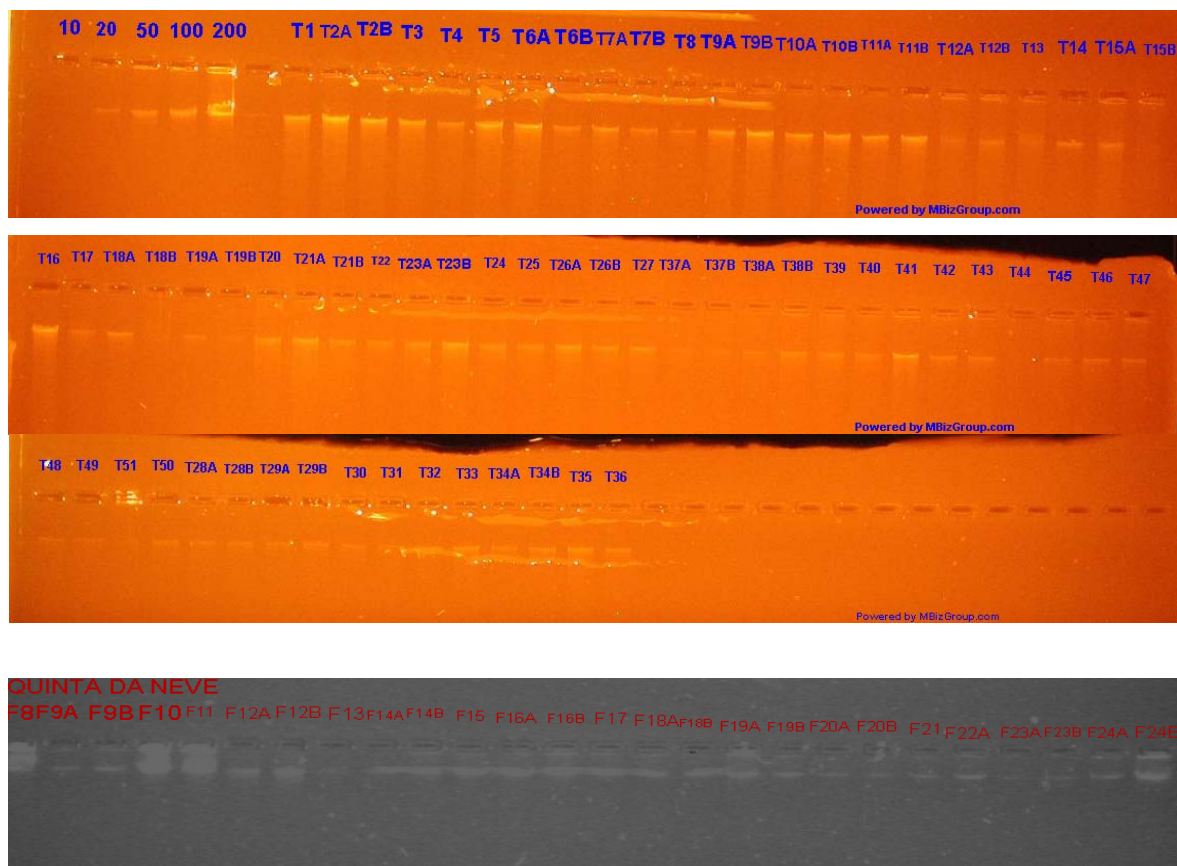


Tabela 22. Variedades de São Joaquim, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
T1	SJ1	Pinot Noir	Terras Altas	100
T2	SJ2	Sauvignon Blanc	Terras Altas	200
T3	SJ3	Chardonnay	Terras Altas	100
T4	SJ4	Cabernet Sauvignon	Terras Altas	50
T5	SJ5	Tempranillo	Terras Altas	100
T6	SJ6	Syrah	Terras Altas	100
T7	SJ7	Merlot	Terras Altas	50
T8	SJ8	Branca	Terras Altas	20
T9	SJ9	Cabernet Sauvignon CL 015	Terras Altas	100
T10	SJ10	Cabernet Sauvignon CL 338	Terras Altas	50
T11	SJ11	Merlot CL 843	Terras Altas	50
T12	SJ12	Quadra 7 fila 14	Sanjo – Sanvitis	20
T13	SJ13	Quadra 6 Clone A	Sanjo – Sanvitis	-
T14	SJ14	Quadra 5 Clone B	Sanjo – Sanvitis	20

Tabela 22. Continuação

A	B	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
T15	SJ15	Quadra 5 fila 28	Sanjo – Sanvitis	20
T16	SJ16	Merlot	Sanjo – Sanvitis	100
T17	SJ17	Quadra 7 fila23	Sanjo – Sanvitis	20
T18	SJ18	Cabernet Sauvignon	Sanjo - Furihata	20
T19	SJ19	Quadra 6 fila 34	Sanjo – Sanvitis	-
T20	SJ20	Sangiovese	Villa Francioni	50
T21	SJ21	Teroldego	Villa Francioni	50
T22	SJ22	Merlot CL 343	Villa Francioni	20
T23	SJ23	Cabernet Sauvignon CL 685	Villa Francioni	50
T24	SJ24	Cabernet Franc	Villa Francioni	50
T25	SJ25	Cabernet Sauvignon CL 339	Villa Francioni	20
T26	SJ26	Cabernet Sauvignon CL 169	Villa Francioni	50
T27	SJ27	Malbec	Villa Francioni	50
T28	SJ28	Merlot181	Villa Francioni	20
T29	SJ29	Cabernet Sauvignon CL 343	Villa Francioni	20
T30	SJ30	Cabernet Sauvignon CL R5	Villa Francioni	-
T31	SJ31	Cabernet Sauvignon CL 107	Villa Francioni	-
T32	SJ32	Nebiollo	Villa Francioni	50
T33	SJ33	Cabernet Sauvignon CL 337	Villa Francioni	50
T34	SJ34	Barbera	Suzin	50
T35	SJ35	Itália	Suzin	50
T36	SJ36	Sauvignon Blanc	Suzin	50
T37	SJ37	Riesling Renano	Suzin	20
T38	SJ38	Cabernet Sauvignon	Suzin	20
T39	SJ39	Alphonse Lavallée	Suzin	20
T40	SJ40	Magic Black	Suzin	20
T41	SJ41	Merlot	Suzin	50
T42	SJ42	Gewstraminer	Suzin	20
T43	SJ43	Chardonnay	Quinta da Neve	20
T44	SJ44	Sangiovese	Quinta da Neve	-
T45	SJ45	Cabernet Sauvignon	Quinta da Neve	20
T46	SJ46	Primitivo	Quinta da Neve	20
T47	SJ47	Cabernet Sauvignon	Quinta da Neve	20
T48	SJ48	Syrah	Quinta da Neve	-
T49	SJ49	Pinot Blanc	Quinta da Neve	-
T50	SJ50	Tinta Roriz	Quinta da Neve	20
T51	SJ51	Trincadeira	Quinta da Neve	-
F8	SJ52	Pinot Griggio	Quinta da Neve	20
F9	SJ53	Touriga Francesa	Quinta da Neve	Sujo
F10	SJ54	Touriga Nacional	Quinta da Neve	20
F11	SJ55	Montepulciano	Quinta da Neve	Sujo
F12	SJ56	Sangiovese	Quinta da Neve	Sujo
F13	SJ57	Tinta Roriz	Quinta da Neve	20
F14	SJ58	Pinot Blanc	Quinta da Neve	10
F15	SJ59	Trincadeira	Quinta da Neve	50
F16	SJ60	Cabernet Sauvignon	Quinta da Neve	50
F17	SJ61	Syrah	Quinta da Neve	50
F18	SJ62	Primitivo	Quinta da Neve	50
F19	SJ63	Merlot	Quinta da Neve	50
F20	SJ64	Nebiollo	Quinta da Neve	20

Tabela 22. Continuação

A *	B **	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
F22	SJ65	Tempranillo	Quinta da Neve	20
F23	SJ66	Nebiollo	Quinta da Neve	20
F24	SJ67	Chardonnay	Quinta da Neve	20
F25	SJ68	Pinot Noir	Quinta da Neve	-

A * : Código quantificação, B ** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

8 – Variedades: Florianópolis

Figura 13. Quantificação de DNA das variedades de porta-enxertos de Florianópolis. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

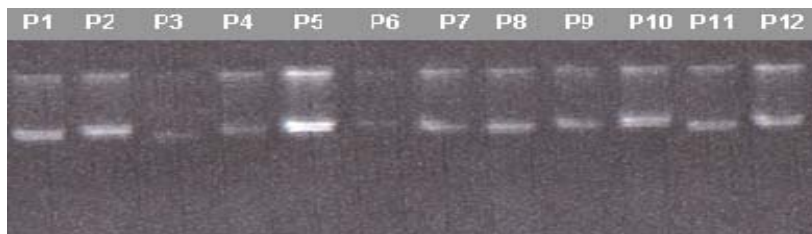


Tabela 23. Variedades de porta-enxertos de Florianópolis, incluindo código de quantificação, código de genotipagem, nome do acesso, localidade/proprietário e a concentração do DNA. LFDGV/CCA/UFSC, Florianópolis – SC, 2006.

A *	B **	NOME DO ACESSO	LOCALIDADE/ PROPRIETÁRIO	CONCENTRAÇÃO DO DNA (ng)
P1	U33	VR 043-43	UFSC - CCA	100
P2	U35	101-14	UFSC – CCA	100
P3	U37	Paulsen 1103	UFSC – CCA	-
P4	U38	SO4	UFSC – CCA	20
P5	U40	Pesc 2***	UFSC – CCA	200
P6	U29	Gravesac	UFSC – CCA	-
P7	U30	Kobber	UFSC – CCA	20
P8	U31	3309	UFSC – CCA	100
P9	U32	Pesc 2***	UFSC – CCA	50
P10	U34	VR 039-16	UFSC – CCA	100
P11	U36	110-R	UFSC – CCA	100
P12	U39	Branco Rasteiro	UFSC - CCA	100

A * : Código quantificação, B ** : Código genotipagem

NOME DO ACESSO: O nome das variedades está descrito conforme a identificação dada pelo proprietário.

***Pesc: Porta-enxertos de Santa Catarina; PE = Porta-enxerto, UFSC = Universidade Federal de Santa Catarina, CCA = Centro de Ciências Agrárias.

Anexo 3

Tabela 24. Tamanho dos alelos (bp) em 10 locos das 246 amostras de videira coletadas em Santa Catarina. CCA/UFSC, Florianópolis-SC, 2007.

VARIETADE/REGIÃO	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
ÁGUA DOCE																					
Chardonnay CL R8	AD2	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	-- ^a	240	-- ^a
Chardonnay CL 95	AD23	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	-- ^a	240	272
Toriga Francesa	AD4	138	146	X	X	239	243	177	-- ^a	190	-- ^a	X	X	240	-- ^a	241	-- ^a	213	-- ^a	240	272
Touriga Nacional	AD18	138	146	224	234	239		177	185	186	192	245	-- ^a	246	252	233	267	201	213	240	272
Cabernet Franc VCR 80	AD12	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258
Cabernet Franc	AD15	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258
Sangiovese	AD20	128	-- ^a	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	-- ^a	233	243	209	-- ^a	252	256
G6	AD14	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	-- ^a	207	209	240	252
Sauvignon Blanc	AD30	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Tempranillo	AD29	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Montepulciano	AD28	128	140	224	226	249	-- ^a	185	191	188	198	251	-- ^a	240	-- ^a	233	243	207	209	258	-- ^a
* Pinot Noir	AD25	132	150*	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	-- ^a	240	272
Trincadeira	AD36	128	134	224	230	239	249	181	187	186	198	251	-- ^a	240	242	215	243	209	-- ^a	262	272
Carmener	AD17	134	142	224	238	239	263	171	185	186	202	247	-- ^a	240	256	235	249	207	-- ^a	240	-- ^a
Gewstraminer	AD9	146	-- ^a	230	238	243	257	185	-- ^a	186	192	245	251	250	-- ^a	233	235	201	213	240	272
Nebiollo CI 111	AD16	152	-- ^a	230	234	247	249	181	185	192	198	243	251	240	242	235	-- ^a	209	-- ^a	240	262
Ancellota R2	AD7	128	152	230	-- ^a	239	263	181	185	192	-- ^a	245	247	242	-- ^a	235	245	209	213	240	272
Gros Manseng	AD8	134	-- ^a	232	238	237	239	185	-- ^a	192	-- ^a	251	-- ^a	240	250	227	233	213	-- ^a	240	-- ^a
Villenave	AD10	X	X	231	237	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pinot Gris	AD19	X	X	227	238	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Riesling Renano	AD1	X	X	224	237	X	X	190	204	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabela 24. Continuação

VARIEDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
ÁGUA DOCE																					
Villenave	AD11	122	128	230	232	237	249	177	185	182	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Castelão	AD21	138	140	234	236	243	257	177	-- ^a	186	-- ^a	247	251	242	256	235	-- ^a	201	207	252	-- ^a
Refosco	AD22	128	-- ^a	224	230	239	247	177	185	192	-- ^a	251	259	242	256	233	-- ^a	209	213	250	262
Tannat	AD24	138	152	236	238	249	-- ^a	181	185	192	198	239	251	256	-- ^a	233	-- ^a	209	-- ^a	240	256
Marzemino	AD26	128	-- ^a	224	230	239	263	181	185	186	202	243	251	240	256	233	235	209	213	240	262
Mourvede	AD33	128	146	224	238	249	-- ^a	185	-- ^a	186	202	251	261	240	262	241	257	203	209	240	256
Gamay	AD34	128	132	232	238	239	249	177	185	192	202	243	245	240	-- ^a	241	-- ^a	211	-- ^a	240	272
Trebbiano	AD27	X	X	231	237	X	X	X	X	186	192	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Nebiollo	AD31	X	X	230	237	X	X	172	185	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Viognier	AD35	X	X	236	-- ^a	X	X	200	202	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Jaen	AD3	X	X	224	235	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Nebiollo CL R6	AD5	X	X	231	235	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Marselan	AD6	X	X	234	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabela 24. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
SÃO JOAQUIM																					
Cabernet Sauvignon CL 015	SJ9	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 338	SJ10	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 685	SJ23	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 339	SJ25	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 169	SJ26	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 343	SJ29	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL R5	SJ30	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 107	SJ31	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	239	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 337	SJ33	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
* Cabernet Sauvignon	SJ45	136*	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon	SJ47	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	230	238	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon	SJ38	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	-- ^a	230	238	203	207	240	-- ^a
Quadra 6 Clone A	SJ13	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Quadra 5 Clone B	SJ14	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Pinot Noir	SJ1	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Malbec	SJ27	128	146	226	236	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	-- ^a	207	209	240	252
Merlot	SJ7	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Merlot CL 843	SJ11	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Merlot	SJ16	134	146	224	234	239	247	183	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Merlot CL 343	SJ22	134	146	224	234	239	247	183	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	-- ^a	240	-- ^a
Merlot181	SJ28	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Merlot	SJ41	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Sauvignon Blanc	SJ2	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Chardonnay	SJ3	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	-- ^a	240	272
Chardonnay	SJ43	132	138	232	236	239	243	177	185	186	194	243	245	240	256	217	227	211	-- ^a	240	272
Cabernet Franc	SJ24	134	142	224	238	239	263	177	185	192	202	247	259	240	256	227	235	203	213	240	258
Sangiovese	SJ20	128	-- ^a	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	-- ^a	233	243	209	-- ^a	252	256
Sangiovese	SJ44	128	-- ^a	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	-- ^a	233	243	209	-- ^a	252	256
Cabernet Sauvignon CS 18A	SJ4	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a

Tabela 24. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
SÃO JOAQUIM																					
Sauvignon Blanc	SJ36	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	256
Teroldego	SJ21	132	152	224	226	239	247	181	-- ^a	192	-- ^a	243	255	240	242	227	235	209	213	240	262
Syrah	SJ6	128	-- ^a	224	230	239	-- ^a	185	187	186	192	245	251	242	-- ^a	217	227	209	213	240	272
Syrah	SJ48	128	-- ^a	224	230	239	-- ^a	185	187	186	192	245	251	242	-- ^a	217	227	209	213	240	272
Quadra 5 fila 28	SJ15	128	-- ^a	224	230	239	-- ^a	185	187	186	192	245	251	242	-- ^a	217	227	209	213	240	272
* Quadra 7 fila 23	SJ17	128	-- ^a	224	230	239	-- ^a	185	187	186	192	245	251	242	-- ^a	217	227	213	217*	240	272
Quadra 7 fila 14	SJ12	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	-- ^a	240	272
Trincadeira	SJ51	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	-- ^a	240	272
Tempranillo	SJ5	138	140	234	-- ^a	239	253	179	-- ^a	194	198	247	251	242	256	227	233	207	209	250	-- ^a
Tinta Roriz	SJ50	138	140	234	-- ^a	239	253	179	-- ^a	194	198	247	251	242	256	227	233	207	209	250	-- ^a
Itália	SJ35	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Alphonse Lavallée	SJ39	128	130	224	236	249	255	181	-- ^a	184	202	239	251	240	256	243	-- ^a	207	213	252	272
Primitivo	SJ62	128	138	224	234	247	249	177	-- ^a	198	202	237	259	240	-- ^a	247	257	209	211	256	264
Primitivo	SJ46	128	138	224	234	247	249	177	-- ^a	198	202	237	259	240	-- ^a	247	257	209	211	256	264
Gewstraminer	SJ42	146	-- ^a	230	238	243	257	185	-- ^a	186	192	245	251	250	-- ^a	233	235	201	213	240	272
Nebiollo	SJ32	152	-- ^a	230	234	247	249	181	185	192	198	243	251	240	242	235	-- ^a	209	-- ^a	240	262
Barbera	SJ34	128	130	224	-- ^a	249	253	181	185	190	198	243	259	240	-- ^a	233	239	209	-- ^a	252	272
Riesling Renano	SJ37	138	146	224	232	249	257	177	185	192	202	243	245	250	256	227	233	201	211	252	272
Magic Black	SJ40	130	-- ^a	224	234	249	-- ^a	181	-- ^a	184	-- ^a	251	255	256	-- ^a	243	253	209	213	252	272

Tabela 24. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32
SÃO JOAQUIM											
Cabernet Sauvignon	SJ18	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Quadra 6 fila 34	SJ19	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pinot Blanc	SJ49	135	148	226	237	X	X	X	X	X	X
Pinot Griggio	SJ52	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Touriga Francesa	SJ53	X	X	231	236	X	X	X	X	X	X
Touriga Nacional	SJ54	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Montepulciano	SJ55	X	X	231	238	X	X	X	X	X	X
Sangiovese	SJ56	X	X	230	237	X	X	X	X	X	X
Tinta Roriz	SJ57	X	X	226	239	X	X	X	X	X	X
Pinot Blanc	SJ58	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Trincadeira	SJ59	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cabernet Sauvignon	SJ60	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Syrah	SJ61	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Merlot	SJ63	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Nebiollo	SJ64	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tempranillo	SJ65	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Nebiollo	SJ66	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Chardonnay	SJ67	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pinot Noir	SJ68	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Branca	SJ8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabela 24. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
CAMPOS NOVOS																					
Sangiovese	CN28	128	-- ^a	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	-- ^a	233	243	209	-- ^a	252	256
Cabernet Sauvignon CL 337	CN8	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL R5	CN23	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 685	CN27	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 170	CN29	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
* Cabernet Sauvignon CL 169	CN32	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	235	237*	203	207	240	-- ^a
Cabernet Sauvignon CL 339	CN40	134	146	230	238	239	-- ^a	171	185	186	192	247	-- ^a	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
Malbec	CN39	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	227	233	207	209	240	252
* Merlot 3	CN33	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	233	235*	209	213	240	-- ^a
* Merlot 343	CN36	134	146	224	234	239	247	183	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	233	235*	209	213	240	-- ^a
Merlot 181	CN38	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
BRS Clara	CN1	128	130	224	236	239	253	175	191	186	-- ^a	247	255	240	-- ^a	217	225	209	213	252	272
BRS Linda	CN12	130	146	234	236	239	249	191	-- ^a	186	202	247	257	254	-- ^a	217	233	213	217	248	252
Poloeske Muskataly	CN11	138		230	234	237	243	177	-- ^a	178	186	255		240	250	233	243	207	211	257	-- ^a
Chardonnay	CN34	X	X	X	X	238	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cabernet Franc	CN35	X	X	X	X	239	262	177	185	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cabernet Sauvignon CL 341	CN41	X	X	227	238	X	X	X	X	186	192	247		X	X	X	X	X	X	X	X
Sauvignon Blanc	CN25	128	146	226	230	239	257	171	185	186	192	245	247	240	250	233	235	207	213	240	-- ^a
Montepulciano	CN24	128	140	224	226	249	-- ^a	185	191	188	198	251	-- ^a	240	-- ^a	233	243	207	209	258	272
Syrah	CN43	128	-- ^a	224	230	239	-- ^a	185	187	186	192	245	251	242	-- ^a	217	227	209	213	240	272
Pinot Noir	CN26	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	-- ^a	240	272
Tempranillo	CN37	138	140	234	-- ^a	239	253	179	-- ^a	194	198	247	251	242	254	227	233	207	209	250	-- ^a
Itália	CN3	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272

Tabela 24. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
CAMPOS NOVOS																					
Itália Export	CN4	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Itália Koga	CN13	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Rubi Itália	CN9	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Red Meire	CN22	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Benitaka	CN18	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	254	233	243	209	-- ^a	252	272
Gran D' Oro	CN16	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	242	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Bordô	CN6	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	240	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Isabel	CN10	118	146	236	-- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Isabel Precoce	CN14	118	146	236	-- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Niágara Rosada	CN7	118	128	234	-- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	-- ^a	229	235	201	-- ^a	248	272
Niágara Branca	CN19	118	128	234	-- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	-- ^a	229	235	201	-- ^a	248	272
Moscato Giallo	CN17	128	138	226	238	239	249	175	-- ^a	184	186	249	255	240	256	235	245	207	-- ^a	258	272
Moscato Embrapa	CN30	128	138	226	238	239	249	175	-- ^a	184	186	249	255	240	256	235	245	207	-- ^a	258	272
BRS Lorena	CN15	128	138	226	238	239	249	175	-- ^a	184	186	249	255	240	256	235	246	207	-- ^a	258	272
BRS Morena	CN2	130	-- ^a	234	236	239	249	175	-- ^a	186	194	255	257	240	256	217	233	209	213	264	272
Alphonse Lavallée	CN5	128	130	224	236	249	255	181	-- ^a	184	202	239	251	240	256	243	-- ^a	207	213	252	272
Cabernet Sauvignon CL 341	CN42	134	146	230	238	239	239	171	185	186	192	247	247	240	250	233	235	203	207	240	-- ^a
BRS Rubea	CN31	118	-- ^a	234	-- ^a	241	249	181	-- ^a	200	202	247	259	240	254	229	-- ^a	201	213	248	272
Concord Precoce	CN20	120	128	234	-- ^a	235	241	181	-- ^a	200	204	247	259	240	-- ^a	229	243	185	199	250	272
Concord	CN21	120	128	234	-- ^a	235	241	181	-- ^a	200	204	247	259	240	-- ^a	229	243	185	199	250	272

Tabela 24. Continuação

VARIEDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32											
VIDEIRA E TANGARÁ																						
Malbec	V7	128	146	226	238	239	263	185	187	186	200	245	259	240	250	233	-- ^a	207	209	240	252	
Itália	V25	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Brasil	V14	128	144	230	238	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Red Meire	V20	128	144	230	236	243	247	175	191	190	202	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272	
Viognier	V1	128	134	224	230	239	249	181	187	186	198	-- ^a	-- ^a	240	242	215	243	209	-- ^a	262	272	
BRS Morena	V21	130	-- ^a	234	236	239	249	175	-- ^a	186	194	-- ^a	-- ^a	240	256	217	233	209	213	264	272	
Alphonse Lavallée	V18	128	130	224	236	249	255	181	-- ^a	184	202	239	251	240	256	243	-- ^a	207	213	252	272	
Muscat de Alexandria	V22	133	149	228	232	249	251	-- ^a	-- ^a	185	203	246	254	253	253	247	271	216	244	265	273	
Marselan	V5	134	140	224	230	243	247	175	191	190	202	255	257	240	242	233	243	203	207	240	-- ^a	
Alicoute Bouchet	V6	128	140	224	-- ^a	X	X	179	191	186	-- ^a	243	257	X	X	X	X	209	-- ^a	250	272	
Petit Verdot	V2	138	152	224	230	239	263	175	185	192	202	239	247	250	256	217	235	209	213	240	-- ^a	
Patrícia	V10	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Riesling Renano	V12	X	X	239	-- ^a	X	X	186	200	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Tardia de Caxias	V13	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Vênus	V15	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Couderc	V17	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Petit Verdot	V2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Arimonoa	V4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bailey	V8	X	X	231	238	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Dona Zilá	V9	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	181	-- ^a	184	202	181	X	X	

Tabela 24. Continuação

VARIETADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
RODEIO																					
Sangiovese	R6	128	-- ^a	224	234	239	263	175	181	192	194	243	259	242	-- ^a	233	243	209	-- ^a	252	256
Merlot CL R3	R13	134	146	224	234	239	247	185	187	192	-- ^a	259	-- ^a	240	250	227	233	209	213	240	-- ^a
Teroldego	R14	132	152	224	226	239	247	181	-- ^a	192	-- ^a	243	255	240	242	227	235	209	213	240	262
Montepulciano	R22	128	140	224	226	249	-- ^a	185	191	188	198	251	-- ^a	240	-- ^a	233	243	207	209	258	272
Trincadeira	R12	132	148	226	236	239	243	181	185	186	192	239	245	240	250	217	235	213	-- ^a	240	272
* Bordô	R21	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	240	-- ^a	225	229	209*	213	248	-- ^a
Bizaraqui	R16	118	146	236	-- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	-- ^a
Uva pêra ou Moscatel	R18	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Marta	R15	120	146	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	264	250	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Isabel	R10	120	136	234	-- ^a	235	241	179	181	200	-- ^a	247	259	242	-- ^a	225	229	201	-- ^a	252	-- ^a
Touriga Nacional	R11	X	X	237	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Niágara Rosada	R17	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Niágara Branca	R19	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Seibel	R1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Couderc	R20	X	X	X	X	235	257	183	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Chardonnay	R2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Vênus	R3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tinta Roriz	R4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sauvignon Blanc	R5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cabernet Sauvignon CL RS	R7	X	X	230	237	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Porta – enxerto (sem identificação)	R8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pinot Noir	R9	160	-- ^a	230	-- ^a	239	254	-- ^a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabela 24. Continuação

VARIEDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
NOVA TRENTO																					
Bordô	NT9	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	240	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Gran D' Oro	NT6	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	240	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Isabel	NT5	118	146	236	-- ^a	235	249	175	179	200	202	237	247	240	250	225	235	201	213	248	272
Niágara Branca	NT2	118	128	234	-- ^a	235	241	175	181	200	202	237	259	240	-- ^a	229	235	201	-- ^a	248	272
Marta	NT3	120	146	234	236	235	249	179	181	200	202	247	264	250	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
1 planta só (sem identificação)	NT4	128	156	232	264	239	253	185	-- ^a	185	192	245	257	250	-- ^a	217	235	203	211	240	-- ^a
Goethe	NT1	X	X	224	237	X	X	181	183	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Niágara Rosada	NT7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Concord	NT8	X	X	226	230	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
URUSSANGA																					
Bordô	U45	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	240	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
São João	U51	118	130	234	-- ^a	235	249	179	181	200	202	247	-- ^a	242	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Goethe Clássica	U1	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U3	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U6	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U9	120	130	230	236	235	247	181	183	186	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U11	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U17	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252

Tabela 24. Continuação

VARIIDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32										
URUSSANGA																					
Goethe Primo	U21	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Clássica	U22	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	253
Goethe Clássica	U28	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	253
Goethe Primo	U47	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Goethe Primo	U48	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	253
Goethe Clássica	U50	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	253
Clone GP	U52	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	253
Goethe Clássica	U53	120	130	230	236	235	247	181	183	190	204	239	247	242	254	229	235	203	209	246	252
Marta	U19	120	146	234	236	235	249	-- ^a	-- ^a	200	202	247	264	250	-- ^a	225	229	201	213	248	-- ^a
Familia Moscatel	U26	128	144	230	236	239	263	175	181	192	194	255	257	240	250	233	243	209	211	252	272
Prima	U15	128	130	224	234	243	249	177	181	184	187	251	259	224	242	217	243	201	213	262	272
Ora	U18	128	130	224	234	239	249	181	187	186	198	251	259	242	256	217	243	201	213	262	272
Tinturina	U23	128	156	232	264	239	253	185	-- ^a	192	202	251	255	242	256	217	235	211	-- ^a	240	-- ^a
Vidal Blank	U2	128	146	226	230	237	247	177	185	184	186	251	259	238	-- ^a	233	243	201	211	256	272
Centenial Seedless	U5	130	-- ^a	236	238	239	-- ^a	175	-- ^a	178	192	245	261	240	-- ^a	217	235	209	213	264	272
Catawba	U7	118	130	238	-- ^a	235	247	165	181	192	200	239	247	242	256	229	-- ^a	201	209	246	272
Fantasia	U12	130	148	232	236	239	249	189	-- ^a	184	190	257	259	224	254	243	-- ^a	209	213	252	272
Red Globe	U13	130	146	234	236	239	249	177	-- ^a	184	186	247	259	250	256	257	-- ^a	207	-- ^a	252	272
Catawba	U14	120	152	236	238	235	247	181	183	192	200	239	247	250	256	229	-- ^a	201	209	246	272
Vilamar	U20	128	140	236	242	239	249	175	191	186	194	259	261	242	256	229	243	201	-- ^a	252	272
Regente	U24	128	150	224	236	243	247	175	191	190	202	251	259	238	266	233	257	199	209	240	272
Cristal	U27	138	148	238	-- ^a	235	257	179	191	186	200	237	247	238	248	225	233	201	209	248	252
IAC 313 'Tropical'	U4	132	138	238	-- ^a	245	251	183	207	188	190	257	-- ^a	240	-- ^a	219	253	203	209	240	-- ^a
IAC 766 'Campinas'	U8	128	132	230	236	235	-- ^a	195	203	198	-- ^a	243	255	240	-- ^a	213	251	197	-- ^a	238	-- ^a

Tabela 24. Continuação

VARIEDADE	CODE	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	ZAG62	ZAG79	VVMD25	VVMD28	VVMD31	VVMD32
-----------	------	------	-------	-------	--------	-------	-------	--------	--------	--------	--------

URUSSANGA

Gran D' Oro	U54	118	130	234	--- a	235	249	179	181	200	202	247	--- a	242	--- a	225	229	201	213	248	--- a
Gran D' Oro	U49	118	130	234	--- a	235	249	179	181	200	202	247	--- a	242	--- a	225	229	201	213	248	--- a
Benifugi	U10	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
IAC Jales	U16	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Bordô Híbrido	U25	128	145	230	237	244	248	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

FLORIANÓPOLIS

VR 043-43	U33	138	142	226	248	235	249	181	191	200	202	247	264	248	266	243	-- ^a	203	209	244	272
101-14	U35	132	140	250	264	239	251	181	185	186	192	259	261	238	252	213	243	197	209	236	238
Paulsen 1103	U37	132	144	234	264	257	265	181	183	190	204	239	247	236	246	X	X	201	209	260	-- ^a
SO4	U38	140	144	234	-- ^a	239	253	185	-- ^a	186	192	245	257	238	246	251	-- ^a	X	X	260	-- ^a
Pesc 2	U40	134	136	262	-- ^a	251	-- ^a	185	207	190	202	255	257	238	-- ^a	235	241	197	203	238	246
Gravesac	U29	136	158	262	264	245	251	183	207	X	X	X	X	238	-- ^a	239	-- ^a	197	-- ^a	266	-- ^a
3309	U31	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pesc 2	U32	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
VR 039-16	U34	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	190	205	240	248
110-R	U36	X	X	X	X	235	247	181	183	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Branco rasteiro	U39	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	192	202	251	259
Kobber	U30	X	X	X	X	243	247	X	X	X	X	X	X	X	X	185	187	186	200	X	X

* variedade e alelo em negrito: variabilidade intravarietal

^a: O “--” símbolo indica que a variedade pode ser ou homocigota ou heterocigota com alelo nulo

X: não amplificou

