

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS FRUTOS,
DIVERSIDADE GENÉTICA E DETECÇÃO DE MARCAS
MOLECULARES ASSOCIADAS AO GENE DA APIRENIA, EM
VARIEDADES DE VIDEIRA**

FELIPE CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO-UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JULHO – 2006**

AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS FRUTOS,
DIVERSIDADE GENÉTICA E DETECÇÃO DE MARCAS
MOLECULARES ASSOCIADAS AO GENE DA APIRENIA, EM
VARIEDADES DE VIDEIRA

FELIPE CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro, como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em Genética e
Melhoramento de Plantas

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JULHO – 2006

AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS FRUTOS,
DIVERSIDADE GENÉTICA E DETECÇÃO DE MARCAS
MOLECULARES ASSOCIADAS AO GENE DA APIRENIA, EM
VARIEDADES DE Videira

FELIPE CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas

Aprovada em 27 de julho de 2006

Comissão Examinadora:

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF

Prof. Gonçalo Apolinário de Souza Filho (Doutor, Biotecnologia e Biotecnologia) – UENF

Prof. Jurandi Gonçalves de Oliveira (Doutor, Biologia Vegetal) – UENF

Prof. Sergio Yoshimitsu Motoike (PhD., Natural Resources and Environmental Sciences) – UFV

Prof. Alexandre Pio Viana (Doutor, Produção Vegetal) – UENF
Orientador

A Deus, por tanto me abençoar, à minha noiva Denise, meus pais Walter e Kica e meus avós.

AGRADECIMENTO

A toda minha família (meus irmãos Paula e Daniel, minha mãe Kica e meu pai Walter), que sempre me apoiou e tanto me incentivou.

Ao meu orientador Prof. Alexandre Pio Viana, que depositou sua confiança em mim.

Aos professores Messias, Jurandi, Gonçalo e Ricardo Smith, pelas valiosas sugestões.

Aos amigos Ramon, Ana Paula, Luciléia, Mirella, Renata, Patrícia, Marília, Wellington, Gustavo, Chico, Willian, Silvério e, especialmente ao Chico e Pedro, que tanto me ajudaram.

À UENF e CAPES, pela bolsa de estudos e à FAPERJ e CNPQ, pelo apoio financeiro.

A Deus.... porque como disse Ele mesmo:

“Eu sou a videira, vós, os ramos. Quem permanece em Mim, e Eu, nele, esse dá muito fruto; porque sem Mim nada podeis fazer.”

João 15:5

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Origem da videira.....	4
2.2. Classificação botânica.	4
2.3. Aspectos reprodutivos	5
2.3.1. Biologia floral	5
2.3.2. Modo de reprodução.....	5
2.4. Aspectos químicos e fenológicos.....	6
2.5. Potencialidades do melhoramento assistido por marcadores de DNA.....	10
2.6. Perspectivas de utilização de variedades apirênicas.....	12
2.7. Hipóteses para a herança da apirenia	14
2.8. RAPD na viticultura e diversidade genética	17
3. TRABALHOS	19
3.1. ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM DOZE CULTIVARES DE VIDEIRAS E DETECÇÃO DE MARCAS MOLECULARES ASSOCIADAS AO GENE DA APIRENIA.....	19
RESUMO	20
ABSTRACT	22

3.1.1. INTRODUÇÃO.....	23
3.1.2. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1.2.1. Material genético.....	25
3.1.2.2. Extração de DNA.....	26
3.1.2.3. Reação da polimerase em cadeia para RAPD	28
3.1.2.4. Reação da polimerase em cadeia para SCAR	28
3.1.2.5. Enzima de restrição.....	28
3.1.2.6. Teste de eficiência do marcador molecular SCAR ligado ao gene da apirenia em videiras.....	29
3.1.2.7. Análises estatísticas.....	29
3.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.1.3.1. Seleção de iniciadores para análise de RAPD	30
3.1.3.2. Marcador SCAR ligado ao gene da apirenia	35
3.1.4. CONCLUSÕES.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
3.2. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DOS ESTÁDIOS FENOLÓGICOS DE VARIEDADES DE VIDEIRAS CULTIVADAS NO NORTE FLUMINENSE	41
RESUMO	42
ABSTRACT.....	43
3.2.1. INTRODUÇÃO.....	44
3.2.2. MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.2.2.1. Material genético.....	46
3.2.2.2. Determinação do ciclo reprodutivo	47
3.2.2.3. Composição química dos frutos	48
3.2.2.4. Delineamento experimental e análises estatísticas.....	49
3.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.2.3.1. Estádios fenológicos das variedades de videiras	50
3.2.3.2. Características químicas de frutos de videiras	53
3.2.3.2.1. Teores de sólidos solúveis, acidez total titulável e relação SST e ATT.....	53
3.2.3.2.2. Teor de vitamina C	57
3.2.3.2.3. Teores de antocianinas	58
3.2.4. CONCLUSÕES.....	61

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
3.3. RESUMOS E CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

RESUMO

SILVA, Felipe Cavalcanti Carneiro da; M. Sc.; Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; julho, 2006; Avaliação de características químicas, diversidade genética e detecção de marcas moleculares associadas ao gene da apirenia, em variedades de videira. Professor orientador: Alexandre Pio Viana. Co-orientadores: Jurandi Gonçalves de Oliveira, Messias Gonzaga Pereira e Sergio Yoshimitsu Motoike.

O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização molecular da coleção de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Para tanto, realizou-se o estudo da diversidade genética de 12 variedades elite por meio de marcadores RAPD. Através da dissimilaridade genética baseada no índice de complemento de Jaccard foi obtida a matriz de distância entre cada par de genótipo, sendo as variedades Niágara Rosada e Itália as mais distantes geneticamente e as variedades Rubi e Itália as mais próximas. Com os métodos de agrupamento de otimização de Tocher e hierárquico do vizinho mais distante, foi possível determinar 3 grupos distintos. O método de Tocher agrupou a variedade apirênica UFV 01 num grupo separado, enquanto que, pelo método do vizinho mais distante, a variedade UFV 01 formou um grupo com a variedade Romana, também apirênica. O marcador SCAR SCC8 mostrou-se bastante eficiente para discriminar genótipos apirênios de genótipos com semente. As variedades apirênicas Romana e UFV 01 revelaram-se

indivíduos heterozigotos em relação à característica de apirenia. Objetivando avaliar o comportamento de variedades de videiras introduzidas na região Norte Fluminense, realizaram-se a determinação do ciclo reprodutivo e composição química de seis variedades de videiras. Os resultados obtidos permitiram as seguintes observações: as condições climáticas, no ano de 2006, garantiram uma considerável redução do período de poda à colheita para todas as variedades estudadas. Pela análise química dos frutos, todas as variedades apresentaram resultados satisfatórios quanto aos teores de SST e acidez, à relação SST/ATT, vitamina C e antocianinas. A variedade Romana obteve excelentes resultados quanto ao teor de sólidos solúveis, acidez e vitamina C.

ABSTRACT

SILVA, Felipe Cavalcanti Carneiro da; M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; July, 2006; Evaluation of chemical characteristics of the fruits, genetic diversity and detection of molecular marks linked to Seedless, in grapes. Orienting Professor: Alexandre Pio Viana. Co-orientings: Jurandi Gonçalves de Oliveira, Messias Gonzaga Pereira and Sergio Yoshimitsu Motoike.

The objective of this work was a molecular characterization of the basic grape germplasm collection of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. The genetic diversity of 12 elite varieties was evaluated by means of RAPD markers. Through the genetic dissimilarity based on the complement of Jaccard's index a distance matrix of each genotype pair was established. The varieties Niágara Rosada and Itália were genetically the most distant and Rubi and Itália the closest. With the grouping methods of Tocher optimization and hierarchical most distant neighbor three distinct groups were discriminated. The Tocher method grouped the seedless variety UFV 01 into a separate group, while by the method of the most distant neighbor UFV 01 formed a group with variety Romana, also seedless. SCAR marker SCC8 appeared effective to discriminate genotypes with from genotypes without seeds. The seedless varieties Romana and UFV 01 seemed heterozygous individuals in relation to the trait seedlessness. The performance of grapevine varieties introduced into the Região Norte Fluminense were evaluated based on the reproductive cycle and chemical

composition of six grapevine varieties. Results allowed the following observations: climatic conditions in 2006 reduced the pruning - harvest period considerably in all study varieties. In the chemical fruit analysis, all varieties presented satisfactory results regarding SST contents, acidity, SST/ATT ratio, vitamin C, glucose, fructose, sucrose and anthocyanins. The contents of soluble solids, acidity and vitamin C in variety Romana were considered excellent.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de videiras é uma arte relativa à antiguidade. Há registros sobre a viticultura e enologia que datam de 5.000 a 6.000 anos atrás. A produção mundial excede as 66 milhões de toneladas, ultrapassando a produção de todas as outras frutas temperadas, ficando atrás somente do Citrus e da Banana (FAO, 2005). A videira é cultivada em mais de 9 milhões de hectares ao redor do mundo, sendo seu fruto consumido principalmente na forma de vinhos, *in natura*, sucos e uva-passa.

A produção brasileira de uvas finas de mesa desenvolveu-se com base em uvas com sementes, especialmente da cultivar Itália e de suas mutações (Rubi, Benitaka e Brasil). Atualmente, a Região Sul é a principal área produtora no Brasil, responsável por mais de 600 mil toneladas por ano, sendo a maior parte reservada à produção de vinhos. Nas Regiões Sudeste e Nordeste, predominam as variedades destinadas ao consumo *in natura* (uvas de mesa), principalmente a Itália e a Rubi (IBGE, 2003). A expansão da viticultura tropical com essas cultivares proporcionou ao país a grande oportunidade de exportar uvas frescas nos períodos de entressafra, em que a oferta diminuía consideravelmente. Na década de 80, o Brasil conseguiu exportações em volumes razoáveis no Vale do São Francisco, porém logo se percebeu que o mercado internacional era ocupado por uvas sem sementes, que, até então, não eram cultivadas no país. A partir de 1993, depois de muita pesquisa, atingiram-se níveis satisfatórios de produtividade com as cultivares sem sementes importadas, chegando a 37.000 toneladas em

2003. Todavia, a produção das cultivares tradicionais sem sementes apresentava elevados custos de produção e riscos consideráveis devido à sua inconstância produtiva, sensibilidade a doenças e ao rachamento de bagas pela ocorrência de chuvas. Esta situação obrigou o setor produtivo a desenvolver cultivares de uvas sem sementes adaptadas às condições das regiões produtoras do país e com qualidade para competir no mercado externo. Diante disso, em 2003, a Embrapa lançou as primeiras cultivares de uvas sem sementes do país, a BRS Morena, BRS Clara e BRS Linda.

As regiões mais quentes do Brasil produzem uva de mesa de qualidade superior, quando comparadas com as regiões tradicionalmente produtoras, devido ao baixo índice de precipitação, alta luminosidade e temperatura, como a região Noroeste de São Paulo. Neste caso, a região Norte Fluminense apresenta potencial climático para a viticultura de mesa. Entretanto, a competitividade da viticultura depende do uso de cultivares adaptadas, cuja produção atenda às demandas do mercado. Em geral, as cultivares comerciais são oriundas de zonas temperadas, onde a precipitação pluviométrica nos meses de verão é baixa. A introdução destas cultivares nas condições brasileiras, em regiões onde o verão é quente e chuvoso, tem apresentado como principal problema a ocorrência de doenças, sobretudo míldio e oídio (Camargo, 1997).

O mercado de uvas de mesa é um dos mercados hortifrutícolas que mais crescem no Brasil. O consumo per capita deste produto no país subiu de 0,4 Kg/hab/ano no início da década de 80 para quase 2,7 Kg/hab/ano em 2001 (Sentelhas, 1998).

O Estado do Rio de Janeiro constitui o segundo maior mercado consumidor do país, totalizando 10% da população do Brasil (Campo, 1998). Esse Estado apresenta 90% de seus habitantes concentrados na área urbana; apesar disso, mesmo alguns municípios apresentando ótimas condições climáticas, localização geográfica e infra-estrutura para investimentos, não se observam plantios comerciais expressivos de videiras dentro do estado.

Nesses últimos anos, os viticultores têm-se preocupado em diversificar a produção vitícola com a introdução de novas variedades não somente para evitar a saturação do mercado com a oferta exclusiva de uva Itália mas também para adaptação às novas exigências do mercado interno e principalmente do mercado externo.

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a divergência genética da coleção do banco de germoplasma de videiras da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, detectar marcas moleculares associadas ao gene de apirenia em videiras, determinar as características químicas de frutos e os estádios fenológicos de variedades elite de videiras nas condições do Norte Fluminense.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem da videira

A região entre o Mar Negro e o Mar Cáspio, no Velho Mundo é considerada por taxonomistas como o local original das videiras, onde ainda hoje se encontram na forma silvestre. No leste europeu, a videira se propagou inicialmente ao redor da região mediterrânea, estendendo-se para o interior e atingindo os vales da França, no tempo dos romanos. Em 1.500, a viticultura estabeleceu-se nas ilhas da madeira e canárias. Mais tarde difundiu-se na África do Sul, Austrália e América do sul. Ainda hoje são encontradas novas espécies em regiões inexploradas, como, por exemplo, no México (Reisch e Pratt, 1996).

2.2. Classificação botânica

As videiras pertencem à classe dicotyledoneae, ordem rhamnales, família Vitaceae, são compostas de 14 gêneros e mais de 1.000 espécies. O gênero de grande interesse econômico e o único que fornece alimento é o *Vitis*. Outros gêneros, como *Parthenocissus*, *Ampelopsis* e *Cissus*, fornecem importantes espécies ornamentais. O gênero *Vitis* é subdividido em duas seções: Muscadínea, com todas as espécies diplóides $2n=2X=40$ cromossomos, e Euvitis, também com espécies diplóides $2n=2X=38$ cromossomos.

A espécie *Vitis vinifera* faz parte da seção Euvitis, sendo a espécie que apresenta as melhores qualidades de frutos e que deu origem a mais de 14.000 cultivares por todo o mundo (Reisch e Pratt, 1996).

2.3. Aspectos reprodutivos

2.3.1. Biologia floral

O conhecimento da biologia floral tem grande valor na exploração econômica de uma espécie (Oliveira e Lima, 2000). Em videiras, existem três principais tipos de flor: flores hermafroditas, cujos estames são eretos e com anteras produzindo pólen funcional, e pistilo, também funcional; flores pistiladas, encontradas em plantas femininas de espécies dióicas, em que o pistilo é bem desenvolvido e funcional, porém os estames são recurvados e o pólen geralmente estéril; e flores estaminadas, encontradas em plantas masculinas com estames eretos, pólen viável e um pistilo que sofre um aborto após o estágio de óvulos imaturos (Gerrath e Posluszny, 1988). A grande maioria das espécies cultivadas para produção de fruto é hermafrodita.

De acordo com Reisch e Pratt (1996), os cachos de flores são formados em gemas desenvolvidas durante o verão, antes do florescimento, mas as flores se desenvolvem principalmente na primavera. As partes das flores diferenciam-se na seguinte ordem: cinco sépalas, uma pétala e um estame unidos emergem de cada um dos cinco primórdios e, por último, o pistilo aparece, com um anel, dos lados centrais nos quais a placenta se desenvolve. Depois de formado, o pistilo apresenta um curto estilete que termina no estigma. As pétalas são livres no início, porém, mais tarde, elas se juntam para formar a caliptra, que vai cobrir o botão floral. O ovário possui dois óvulos que contêm dois lóculos cada um.

A antese ocorre freqüentemente entre 6 e 9 h da manhã com o aumento da temperatura, ocorrendo também entre 2 e 4 h da tarde.

2.3.2. Modo de reprodução

A polinização consiste na transferência do grão de pólen da antera e sua deposição no estigma da flor, com conseqüente fertilização. O método de

polinização em videiras tem sido motivo de grandes debates. Souza (1996) e Borém (1999) afirmam que as variedades cultivadas são alógamas e sua polinização é principalmente realizada por insetos. Para Reisch e Pratt, (1996), as plantas com flores hermafroditas provavelmente são autopolinizadas.

Com programas de melhoramento em que se utilizam métodos de hibridação, deve-se levar em consideração que a receptividade do estigma é uma etapa muito importante da maturação da flor porque pode influenciar grandemente na taxa de fertilização. Em videiras, Reisch e Pratt (1996) afirmam que o estigma encontra-se receptivo quando seu tecido epidérmico secreta uma solução de açúcar do canal estilar formando uma pequena gotícula na ponta do estigma. Flores que não secretam essa solução não se fecundam e, mais tarde, secam e caem. Um fato importante que se deve levar em conta, durante o período de polinização, é o uso inadequado de defensivos agrícolas que podem causar efeitos deletérios sobre a biologia floral (Couto e Nacif, 1999).

2.4. Aspectos químicos e fenológicos

O número de cachos de fruto por gema pode variar consideravelmente de ano para ano, para qualquer cultivar de uva. A variação sazonal na capacidade de frutificação de gemas pode ser devida a fatores climáticos, práticas culturais ou doenças. Entre os aspectos climáticos mais estudados estão a luz, temperatura, estresse hídrico e fotoperíodo. As práticas culturais de maior influência na capacidade de frutificação de gemas incluem a poda, sistema de condução, adubação (especialmente com nitrogênio) e irrigação (Kliewer, 1981).

A luz é um fator importante na fertilidade das gemas; as “raios de sol”, que crescem em quase toda estação em plena luz solar, são superiores às sombreadas, que crescem no interior do dossel da videira, sendo que, naquele caso, o número de gemas frutíferas e os cachos são quase invariavelmente maiores (Kliewer, 1981).

De acordo com Kliewer (1981), o efeito do déficit hídrico na formação de gemas frutíferas da videira tem relatos conflitantes, com alguns indicando melhoria e outros, uma diminuição. Sabe-se que, com o déficit de água, há um decréscimo na taxa de crescimento do ramo. No período de iniciação floral, a fertilidade das gemas pode ser melhorada, por desvio de assimilados, para o

desenvolvimento dos primórdios, mas se o déficit é severo, os estômatos se fecham, a fotossíntese é reduzida, assim como a acumulação de carboidratos (Smart et al., 1964).

A avaliação qualitativa de videiras está relacionada com os teores de sólidos solúveis totais (SST), o pH, a acidez total titulável (ATT), a relação SST/ATT, conteúdo de Vitamina C e açúcares.

Açúcares são os principais sólidos solúveis no suco da fruta; por esta razão os sólidos solúveis podem ser utilizados para estimar o conteúdo de açúcares. Ácidos orgânicos, aminoácidos, componentes fenólicos e pectinas solúveis também contribuem para os sólidos solúveis (Mitcham et al., 1996). O teor de SST caracteriza-se por um crescente aumento em função do tempo; este comportamento em videiras, a partir da maturação das bagas, deve-se ao aumento da concentração de açúcares, sendo que o valor mínimo recomendado pelas normas internacionais de comercialização para uvas de mesa é de 17 °Brix. (Barros et al., 1995). De acordo com as normas brasileiras, a uva é considerada imatura somente com valores de SST inferiores a 14 °Brix.

No Vale do São Francisco, a colheita de dois ciclos da variedade Superior Seedless, entre 1999 e 2000, apresentou uma média de 17,3 °Brix no teor de sólidos solúveis, ficando acima do valor mínimo recomendado (Grangeiro et al. 2002). No submédio do Vale do São Francisco, as variedades Superior Seedless e Crimson Seedless apresentaram valores de 17,3 e 19,2 °Brix, respectivamente, (Souza Leão, 2001).

A acidez total titulável representa a concentração de ácidos orgânicos presentes nas bagas e é expressa em porcentagem de ácido tartárico. Sabe-se que a ATT decresce a partir do início do amolecimento das bagas devido a diversos fatores e, mais tarde, sofre uma diluição pelo aumento do volume das bagas. Possner e Kliwer (1985) afirmam que o conteúdo de ácido tartárico se mantém constante, porém, durante a maturação, a concentração do ácido tartárico diminui devido ao efeito do aumento de volume da baga. Fernandez (1991) atribui a diminuição da acidez, durante o processo da maturação, a dois fatores: à diluição em função da grande quantidade de água que é absorvida durante a maturação e à diminuição dos ácidos málico e tartárico durante a respiração dos frutos. No Vale do São Francisco, a ATT, no período de 1999 a 2000 da variedade Superior Seedless, foi de 0,456 g/100 ml de suco (Grangeiro et

al., 2002). Souza Leão (2001) encontrou na região do submédio do Vale do São Francisco, para as variedades Fantasy Seedless e Crimson Seedless, valores inferiores a 1 g /100ml de suco.

A determinação da relação SST/ATT é o melhor indicativo do grau de maturação das uvas, e a variação de suas concentrações são influenciadas por fatores genéticos e ambientais. A Associação de Exportadores do Chile (1997) adota normas de qualidade, para uvas de mesa, com base nas normas dos países importadores. A amostragem inicial para avaliar a maturação mínima do lote é determinada pelo teor de sólidos solúveis totais, podendo ser determinada também pela relação SST/ATT, não podendo ser inferior a 20. Recomenda-se que essa relação seja determinada sempre que os SST não atinjam o requisito mínimo .

Grangeiro et al. (2002), no Vale do São Francisco, encontraram uma relação SST/ATT de 38,21, bem maior que o mínimo recomendado, que é de 20 (Bleinroth, 1993; Choudhury, 2000).

Antocianinas são os principais agentes responsáveis pela coloração vermelha das uvas. Elas se localizam na casca das videiras, nos vacúolos das três primeiras camadas de células da hipoderme. O clima influencia diretamente o conteúdo de antocianinas nas uvas; temperatura e luminosidade excessivamente baixa ou elevada não são favoráveis, além disso, as composições químicas e físicas dos solos também afetam o acúmulo de antocianinas. Solos arenosos são mais favoráveis que os solos argilosos, e o pH ácido é propício à coloração roxa das bagas. Segundo Nunez et al. (2004), a concentração e perfil das antocianinas em videiras vermelhas variam entre espécies, variedades, grau de maturação, área de produção, práticas culturais e produtividade. De acordo com Hilbert et al. (2003), altas concentrações de nitrogênio são capazes de inibir a síntese de antocianinas. Estes autores ainda afirmam que a síntese de antocianinas pode aumentar quando os teores de açúcares intracelulares estão altos.

A composição de antocianinas tem sido estudada por muitos autores com o intuito de caracterizar variedades e estabelecer a origem das videiras (Nunez et al., 2004). Nunez et al. (2004), trabalhando com as variedades Graciano, Cabernet-Sauvignon e Tempranillo cultivadas na estação de Navarra, na Espanha, puderam diferenciá-las de forma bem clara, por meio da variação nos teores de antocianinas, através da técnica de cromatografia líquida.

Os açúcares da uva são representados principalmente pela glicose e frutose sendo esta última a de maior quantidade no fruto maduro. O depósito de açúcar nas bagas é um fenômeno de caráter osmótico e hormonal, e o teor começa a aumentar na polpa a partir da viragem, continuando por toda a maturação até que na fase de sobrematuração, torne-se parcialmente oxidado. Baixas temperaturas são nocivas ao acúmulo de açúcar, entretanto, uma variação na amplitude térmica diária favorece o aumento da concentração de açúcar (Pommer, 2003). Chinnici et al. (1999) afirmam que as infestações das folhas de videiras por fungos podem interferir na concentração de açúcares, uma vez que ocorre a redução da área foliar e conseqüente queda da fotossíntese.

As frutas e vegetais são responsáveis por 95% das fontes de ácido ascórbico da alimentação humana, sendo a vitamina C um dos mais importantes nutrientes encontrados nesses alimentos (Henshall, 1981).

De acordo com Nakasone et al. (1966) e Henshall (1981), citados por Matsuura et al., (2001), a quantidade de vitamina C encontrada na acerola apresenta diferenças de acordo com a variedade, maturação do fruto, época de colheita, práticas culturais, fertilidade e disponibilidade de nutrientes do solo e clima (temperatura, precipitação pluvial, insolação). Asenjo e Guzmán (1946) relataram valores entre 1.000 e 3.300 mg de ácido ascórbico por 100 g de polpa de acerola

Segundo Mievaska (1984), o teor de vitamina C em videiras aumenta durante o amadurecimento, atingindo seu pico na fase de maturação fisiológica. Este autor afirma que o teor de vitamina C em frutos maduros varia de 1,15 a 6,5 mg/100 g polpa.

A caracterização fenológica do ciclo produtivo da videira fornece o conhecimento das prováveis datas da colheita, indicando o potencial climático das regiões para o cultivo da videira. As principais vantagens do estudo da fenologia da videira são: redução dos tratamentos fitossanitários, que passam a ser realizados de maneira mais racional, de acordo com as principais pragas e doenças; melhoria na qualidade dos frutos, economia de insumos e colheita na entressafra brasileira (Murakami et al., 2002).

As condições climáticas têm grande influência na fenologia e fisiologia das plantas, de forma que a videira de clima tropical semi-árido apresenta um comportamento totalmente distinto daquele apresentado nas regiões subtropicais

e temperadas (Murakami et al., 2002). De acordo com Grangeiro et al. (2002), no Vale do São Francisco, a época da poda influenciou a duração do ciclo fenológico, sendo que a poda realizada no primeiro semestre (16/02/2000) ocasionou uma antecipação de 14 dias na colheita. Isto, provavelmente, deve-se às condições climáticas, principalmente à temperatura. Neste período, as temperaturas máxima e mínima são maiores em relação às do segundo semestre, proporcionando uma antecipação na maturação dos frutos (Pommer, 2003).

Segundo Murakami et al. (2002), na região de Cardoso Moreira (RJ), o ciclo da videira Itália é de aproximadamente 138 dias com poda em abril e, na região de Jales (SP), é de 150 dias com poda em março e colheita em julho.

De acordo com Eichhorn e Lorenz (1977), os estádios de desenvolvimento de todo o ciclo da videira, da poda à colheita, são os seguintes:

- 1) Período da poda ao início da brotação;
- 2) Início da brotação ao pleno florescimento;
- 3) Período do pleno florescimento ao início da maturação;
- 4) Início da maturação à plena maturação.

2.5. Potencialidades do melhoramento assistido por marcadores de DNA

Milach (1998), citado por Costa (2004), descreve que os marcadores moleculares são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente. Esses marcadores são utilizados para o aumento da eficiência de seleção, para o melhor conhecimento e caracterização do germoplasma e maximização dos ganhos genéticos.

O melhorista pode ser auxiliado pelo uso de marcadores moleculares, que permitem quantificar a variabilidade genética existente em termos de DNA e correlacioná-la com a expressão fenotípica em procedimentos de mapeamento genético (Ferreira e Grattapaglia, 1995). As técnicas moleculares são também importantes ferramentas no melhoramento para resistência a doenças, sobretudo em espécies perenes, pelo uso da seleção assistida por marcadores.

Desde o surgimento da reação em cadeia da polimerase (PCR), pesquisadores reconheceram a sua grande utilidade na caracterização genética de organismos. Os marcadores moleculares foram adaptados para resolver vários problemas (Vidal et al., 2000). No caso de videiras, têm sido de grande valia na

identificação das variedades, relação genética entre elas e mapeamento dos genes.

A técnica conhecida como RAPD utiliza-se de um oligonucleotídeo sintético como iniciador do processo de amplificação, que produz um polimorfismo detectado na presença ou ausência de bandas discretas de DNA, de expressão dominante, o que, de certa forma, dificulta a detecção de indivíduos heterozigotos. Esta técnica é vantajosa por requerer pequenas quantidades de DNA, não envolver o uso de sondas radioativas e demandar pouca mão-de-obra (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

A técnica de RAPD tem tido muito sucesso na diferenciação de cultivares de várias espécies. Jean-Jaques et al. (1993) testaram esse método para caracterização interespecífica de *Vitis vinifera* em 8 cultivares, utilizando um total de 50 iniciadores que produziram de 2 a 15 fragmentos de DNA. Dois iniciadores permitiram a obtenção de 5 fenótipos entre os 8 testados. Os autores ainda afirmam que clones de certas variedades podem ser caracterizados por marcadores RAPD.

Striem et al. (1994) utilizaram 78 iniciadores, que revelaram polimorfismo entre Early-Muscat e Flame-Seedless em 82 indivíduos da progênie resultante do cruzamento dessas duas variedades. Com esses iniciadores, foi possível identificar correlações com cor de baga, sabor e apirenia. Para apirenia, foi identificado um *primer* (OPE-10) presente na variedade sem semente Flame-Seedless e numa mistura de DNA de 10 indivíduos apirênios da progênie, estando ausente na variedade com semente.

O uso de marcadores tipo SCAR aumenta a utilidade dos marcadores RAPD por serem altamente específicos e muitas vezes dispensarem a corrida em gel de eletroforese. Sua principal vantagem é a grande especificidade de pareamento com o DNA. Esses marcadores representam *loci* únicos geneticamente definidos, identificados por amplificação de PCR de DNA genômico com pares de *primers* específicos de oligonucleotídeos (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

Lahouge et al. (1998), tentando identificar marcadores ligados ao gene I, responsável pela expressão da apirenia, utilizaram cento e quarenta marcadores RAPD e identificaram dois marcadores ligados bem próximos ao referido gene. O

marcador mais próximo, ligado a 0,7 cM do gene I, foi transformado num marcador SCAR.

Vidal et al. (2000), trabalhando com oito iniciadores RAPD, conseguiram transformar dois deles em marcadores SCAR, que auxiliam na identificação de cultivares específicos.

Seqüências simples repetidas (SSR), mais comumente chamadas de microsatélites, consistem de pequenas seqüências, com um a quatro nucleotídeos de comprimento, repetidas que geram regiões menores de 100 pares de bases repetidas *em tandem*. Essas seqüências formam locos genéticos muito polimórficos, são abundantes e uniformemente distribuídas no genoma a cada 10 kb; são marcadores de expressão co-dominante e multialélicos, possuindo o mais elevado conteúdo de informação de polimorfismo.

Estudos prévios demonstraram que o genoma de uva tem diferentes classes de microsatélites, (GT), (GA), (GAC), (GACA), sendo os dois primeiros os mais comuns (Thomas et al., 1993).

Em análise de polimorfismo de cinco diferentes *loci* de vinte e seis cultivares de *Vitis vinifera*, com o auxílio de SSRs, foram encontrados 13, 12, 8, 5 e 4 diferentes comprimentos alélicos, totalizando 42 marcas polimórficas (Thomas e Scott, 1993).

Diante do exposto, verifica-se a grande potencialidade da introdução de seleção de indivíduos assistida por marcadores de DNA. Em se tratando de espécies frutíferas com longo ciclo de vida e alta exigência de recursos e mão-de-obra para implantação de ensaios de campo, tal metodologia poderá reduzir em muito o tempo necessário para obtenção de cultivares melhoradas.

2.6. Perspectivas de utilização de variedades apirênias

O mercado de uvas *in natura* apresenta tendência de aumento de consumo de uvas sem semente, substituindo as tradicionais uvas com semente. Nos Estados Unidos, as uvas apirênias já dominam o mercado com mais de 80% da produção total e, na Europa, é crescente a demanda por uvas sem sementes (Lahouge et al., 1998 e Margarita et al., 2004). Certamente em outros mercados, os consumidores estarão susceptíveis a mudanças de hábito de consumo, dando preferência às uvas apirênias.

Consoante com as demandas de mercado, atualmente a criação de cultivares de uva de mesa sem semente é uma das grandes prioridades dos programas de melhoramento da videira em todo mundo (Camargo et al., 2000).

Existem dois sistemas com determinação genética para a apirenia, a partenocarpia e a estenoespermocarpia. A partenocarpia caracteriza-se pela ausência total de sementes. Nesse caso, não ocorre fecundação. O fruto é desenvolvido exclusivamente a partir de tecidos maternos. Na estenoespermocarpia, ocorre a fecundação para a formação do fruto, seguida do aborto do embrião ainda imaturo devido à ausência ou má formação do endosperma. Desse processo, originam-se frutos maduros com sementes-traço pouco desenvolvidas e macias, imperceptíveis ao consumidor (Camargo et al., 2000).

Para o desenvolvimento de novas variedades apirênias, o tradicional método de melhoramento é baseado no cruzamento de indivíduos com sementes atuando como genitor feminino e indivíduos apirênios como genitores masculinos, sendo Thompson seedless a principal fonte apirênia (Camargo et al. 2000, Lahogue et al. 1998). Este modelo de cruzamento é considerado de baixa eficiência porque não se pode esperar que mais de 25% das progênies sejam portadoras de apirenia (Ramming, 1990). Diante dessa baixa frequência, torna-se necessária a formação de grandes populações para aumentar as chances de seleção de um indivíduo apirênio. Por outro lado, também exige maior tempo uma vez que um mínimo de oito anos é necessário para reunir as características de dois progenitores apirênios. Considerando-se ainda as demais etapas do programa de melhoramento, a criação de uma nova cultivar pode exigir um período total de 20 anos. Nesse processo, o melhoramento assistido por marcadores de DNA pode e muito contribuir para a seleção precoce de indivíduos apirênios. Com o surgimento da cultura *in vitro*, embriões viáveis puderam ser resgatados de cruzamentos entre variedades apirênias, e a proporção de genótipos apirênios obtidos desses cruzamentos aumentou para 50%-80% de acordo com o grau de apirenia dos parentais (Lahogue et al., 1998).

A necessidade de ampliação da variabilidade genética, através de cruzamentos, para a seleção de indivíduos apirênios superiores determinou o abandono da partenocarpia e a adoção da estenoespermocarpia por todos os

programas de melhoramento empenhados na obtenção de cultivares de uvas apirênias (Camargo et al., 2000).

2.7. Hipóteses para a herança da apirenia

Apesar dos progressos obtidos pelos melhoristas nesses últimos 70 anos, a herança da apirenia em videiras ainda não está bem clara. Nenhuma das hipóteses propostas até agora satisfaz completamente a herança da estenoespermocarpia.

Baseado em exames histológicos de bagas com semente e sem semente, Stout (1936) concluiu que a apirenia não era condição fisiológica anormal, mas uma característica herdável controlada por genes segregantes. Este autor acreditava que um único gene dominante "S" e vários fatores modificantes afetavam a herança da estenoespermocarpia.

Mais tarde, novos estudos surgiram discrepando bastante do modelo proposto por Stout (1936). Para Constantinescu (1975), Dudnik e Moliver (1976), a herança de progênies de cruzamentos entre variedades apirênias e com sementes era controlada por um gene recessivo. Já para Khachatryan e Martirsyán (1971), a herança seria controlada por um único gene dominante. Spiegel-Roy et al. (1990), avaliando progênies durante cinco anos consecutivos, variando de 483 a 1988 indivíduos, verificaram que a apirenia era um caráter recessivo e que se tratava de uma herança controlada por dois genes recessivos, em que os parentais doadores de pólen eram heterozigotos (AaSs) produzindo uma F1 na razão de 3:1 em cruzamentos entre variedades sem semente doadoras de pólen e variedades com semente receptoras de pólen.

Para Weinberger e Harmon (1964), Loomis e Weinberge (1979) e Pospisilova e Patenik (1988), a apirenia tratava-se de uma herança governada por um complexo de vários genes recessivos, ou ainda, segundo Sandhu et al., (1984) e Golodriga et al., (1978), por fatores quantitativos.

Dentre essas inúmeras hipóteses levantadas, a que melhor explica a herança da apirenia trata-se do modelo proposto por Bouquet e Danglot (1996), o qual diz que a herança é baseada num sistema complexo, em que a expressão de três genes recessivos independentes é controlada por um gene regulador dominante. Bouquet e Danglot (1996), trabalhando com a progênie MTP3140,

obtida pelo cruzamento de dois parentais sem sementes provenientes de cruzamentos entre variedades com semente e sem sementes, obtiveram 136 descendentes que foram distribuídos em quatro classes fenotípicas de acordo com a percentagem total de peso seco da semente e matéria seca, onde as classes 1, 2 e 3 eram caracterizadas como videiras sem sementes, sendo agrupadas de acordo com o grau de desenvolvimento das sementes, mas nunca completamente desenvolvidas e sementes completamente desenvolvidas (classe 4). Bouquet e Danglot (1996) testaram seus resultados no sistema de três complementares genes recessivos independentes com dominância incompleta dos alelos levando a expressão do caráter com semente. Este sistema está sob controle de um gene completamente dominante conhecido como gene I. Quando esse gene é homozigoto recessivo ii , a expressão dos genes menores é inibida e todos os fenótipos são da classe 4. Quando esse mesmo gene maior está em heterozigose ou homozigose dominante tem-se a expressão de genes apirênios e os fenótipos observados correspondem aos diferentes genótipos possíveis. Para a expressão do fenótipo da classe 1, é necessário o mínimo de dois genes homozigotos recessivos ($a_1a_1 a_2a_2 _3 _3$). Quando somente um gene é homozigoto recessivo haverá a presença de traços de sementes, e a diferenciação entre as classes 2 e 3 ocorrerá de acordo com a homozigose ou heterozigose dos outros dois genes. Se nenhum dos três genes estiver em homozigose recessiva, os indivíduos serão da classe 4 (Quadro 1).

Quadro 1- Classes fenotípicas e genótípicas envolvidas na hipótese da apirenia em videiras

Fenótipos	Genótipos Ii ou II	
Classe 1	a1a1 a2a2 a3a3	A1A1 a2a2 a3a3
	a1a1 A2a2 a3a3	a1a1 A2A2 a3a3
	a1a1 a2a2 A3a3	a1a1 a2a2 A3A3
	A1a1 a2a2 a3a3	
Classe 2	a1a1 A2a2 A3a3	
	A1a1 a1a1 A3a3	
	A1a1 A2a2 a2a2	
Classe 3	a1a1 A2A2 A3a3	A1A1 a2a2 A3a3
	a1a1 A2A2 A3A3	A1A1 a2a2 A3A3
	a1a1 a2A2 A3A3	A1A1 A2a2 a3a3
	A1a1 A2A2 a3a3	A1A1 A2A2 a3a3
	A1a1 a2a2 A3A3	
Classe 4	A1a1 A2a2 A3a3	A1A1 A2a2 A3a3
	A1a1 A2A2 A3a3	A1A1 A2A2 A3a3
	A1a1 A2A2 A3A3	A1A1 A2a2 A3A3
	A1a1 A2a2 A3A3	A1A1 A2A2 A3A3

Desta forma, Bouquet e Danglot (1996) avaliaram suas progênes considerando que os parentais que originaram a progênie MTP3140 possuíam os genótipos A1a1 A2a2 a3a3 (Ii), fornecendo a proporção de 21: 12: 15: 16.

Qualquer hipótese a respeito da herança da apirenia deve levar em conta o fato de que o caráter sem semente ou com semente está sujeito à mutação. Bagas sem sementes foram observadas em mutantes pelo menos nove vezes no último século. Do mesmo modo, há pelo menos duas ocorrências documentadas de uvas com sementes em variedades apirênias. A ocorrência de mutações, que modificam uma forma em outra, tende a quebrar a regra proposta por fatores quantitativos. Na estenospermocarpia baseada em genes recessivos, se esse for o caso, o cruzamento entre variedades sem semente e com semente nunca poderia ultrapassar 50% de progênes sem semente no melhor dos casos, contrariando assim os resultados obtidos por Ledbetter e Burgos (1994). Também

não explicaria a ocorrência de fenótipos com semente em cruzamentos de variedades apirênias.

As heranças baseadas em genes dominantes não podem explicar a baixa percentagem de uvas apirênias geralmente observadas em cruzamentos entre variedades com semente e sem semente, nem a ocorrência de fenótipos apirênios em progênies obtidas pela autopolinização de videiras com semente tendo o caráter apirênio em seu parentesco.

2.8. RAPD na viticultura e diversidade genética

O estudo da diversidade genética em *Vitis vinifera* assim como noutras fruteiras é importante não só para efeitos evolucionários mas também para melhoramento e conservação de germoplasma (Fanizza et al., 1999).

Marcadores RAPD ganharam popularidade como técnica molecular em espécies frutíferas incluindo as videiras, pois, diferentemente de marcadores morfológicos, eles não são afetados por variações ambientais, além de terem um baixo custo e oferecerem baixa dificuldade de utilização (Fanizza et al., 1999 e Gorgocena et al., 1993). Gorgocena et al. (1993) afirmam que a técnica de RAPD evita problemas de baixa concentração de DNA e DNA não digeridos. Apesar da reprodutibilidade de RAPDs ser bastante questionada, eles podem ser considerados excelentes para estudos de diversidade no caso de métodos padronizados (Fanizza et al., 2000).

Fanizza et al., (2000) avaliaram quatorze variedades Moscatéis em Apulia, na Itália. Foram selecionados 158 *primers* RAPD, produzindo 263 bandas monomórficas e 484 bandas polimórficas. Verificou-se que a maioria das variedades moscatéis de Apulia formou grupos com baixos valores de similaridade, variando de 0,56 a 0,78.

Vidal et al. (1999) avaliaram a diversidade genética entre 32 variedades de uvas viníferas obtidas de quatro bancos de germoplasma, cultivadas nas principais regiões da França e Espanha. Foram obtidas, no total, 208 marcas de DNA, com uma média de 6,3 marcas por iniciador utilizado, sendo 64 marcas monomórficas e 144 bandas polimórficas. Com uma similaridade acima de 0,8, puderam ser diferenciados 3 grupos bem definidos, demonstrando concordância com suas origens.

Zoghiami et al. (2001) estudando 33 variedades de uvas pertencentes ao banco de germoplasma da Tunísia, obtiveram 54 bandas polimórficas e 27 bandas monomórficas, totalizando 81 bandas provenientes de 11 iniciadores RAPD. A relação genética foi estabelecida pelo método de agrupamento UPGMA, identificando 5 grupos (A, B, C D e E) diferentes, com 8, 8 ,8, 5 e 3 acessos, respectivamente.

Marcadores moleculares de DNA têm sido muito utilizados para caracterizar uma ampla variedade de espécies vegetais. Herrera et al. (2002), por meio de marcadores RAPD, identificaram um iniciador, denominado P2, capaz de diferenciar as variedades de videira Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Carmenere e Merlot, com padrões bem distintos, obtendo quatro marcas polimórficas e duas monomórficas.

3. TRABALHOS

3.1. ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM DOZE CULTIVARES DE VIDEIRAS E DETECÇÃO DE MARCAS MOLECULARES ASSOCIADAS AO GENE DA APIRENIA

RESUMO

O conhecimento da diversidade genética entre um grupo de genitores é importante para o melhoramento, sobretudo para identificar combinações híbridas de maior heterozigose e de maior efeito heterótico. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a divergência genética entre 12 cultivares de videiras através de marcadores moleculares RAPD e identificar marcas moleculares associadas ao gene da apirenia com o marcador molecular SCAR, denominado SCC8, em videiras sem sementes. Observou-se, no estudo de diversidade, uma ampla divergência genética entre os 12 acessos, com a formação de três grupos distintos, tanto pelo método de Tocher quanto pelo método hierárquico do vizinho mais distante. As cultivares mais divergentes foram Niágara Rosada e Itália e as menos divergentes foram as variedades Itália, com seu mutante somático Rubi, e a variedade Patrícia, com seu mutante somático Rosalinda. Para se detectar indivíduos apirênios, foi utilizado um marcador molecular co-dominante do tipo SCAR, chamado SCC8, em quatro variedades de videiras, sendo dois genótipos apirênios (Romana e UFV 01) e dois genótipos com semente (Niágara Rosada e Itália). Para detecção do polimorfismo, o produto da amplificação foi digerido com a enzima de restrição Bgl II, que produziu de uma a três bandas entre os indivíduos. Os genótipos apirênios apresentaram um sítio de restrição em somente um dos alelos, produzindo um total de três fragmentos, sendo dois deles de menor tamanho, confirmando assim sua heterozigose ($SCC8^+ / scc8^-$) em relação ao gene para apirenia, enquanto que os genótipos com semente

confirmaram sua homozigose recessiva ($scc8^- / scc8^-$) apresentando um sitio para a enzima nas duas formas alélicas, produzindo dois fragmentos de menor tamanho.

ABSTRACT

Knowledge on the genetic diversity in a group of parents is important in improvement, above all for the identification of hybrid combinations with high heterozygosity levels and strong heterotic effects. Objective of the present study was an evaluation of the genetic divergence in 12 grapevine cultivars through RAPD markers and the identification of molecular markers associated to the seedlessness gene with the SCAR marker, designated SCC8, in seedless grapevine. Wide genetic divergence was observed in the 12 accessions and three groups distinct groups were formed by the Tocher as well as by the hierarchical most dissimilar neighbor method. Most divergent cultivars were Niágara Rosada and Itália and the least divergent the varieties Itália with the somatic mutant Rubi and Patrícia with Rosalinda. A codominant molecular marker of the SCAR type SCC8 detected seedless individuals in four grapevine varieties - two genotypes with (Romana and UFV 01) and two without seeds (Niágara rosada and Itália). To detect polymorphism, the amplification product was digested with the restriction enzyme Bgl II that produced three bands in the individuals. The seedless genotypes presented one restriction site in only one of the alleles, producing a total of three fragments, two of which were small and confirmed heterozygosity ($SCC8^+ / scc8^-$) regarding the seedlessness gene, while the genotypes with seed confirmed recessive homozygosity ($scc8^- / scc8^-$) by presenting one site for the enzyme in the two allele forms, producing two smaller fragments.

3.1.1. INTRODUÇÃO

Ocupando atualmente uma área de 7,5 milhões de hectares, a videira é uma das principais fruteiras cultivadas no mundo, com uma produção anual de 62 milhões de toneladas (FAO, 2004), das quais 8,5 milhões são de uva para mesa. Segundo a FAO (2004), o Brasil apresenta área plantada em torno de 68 mil hectares, com produção média de 1.065 milhões de toneladas, representando cerca de 2% da produção mundial.

Analisando o mercado brasileiro de frutas de mesa, é possível perceber uma exigência cada vez maior dos consumidores por uvas de melhor qualidade, não somente em relação ao aspecto visual mas também, ao sabor, aroma e consistência, além de uma preferência por uvas do tipo sem sementes ou apirênias. Estima-se que 80% da produção mundial de uva de mesa sejam de variedades apirênias (Margarita et al., 2004).

O conhecimento da diversidade genética entre um grupo de genitores é importante para o melhoramento, sobretudo para identificar combinações híbridas de maior heterozigose e de maior efeito heterótico, proporcionando indivíduos mais vigorosos e produtivos.

Existem varias técnicas baseadas em PCR que são utilizadas na análise da distância genética através da geração de polimorfismos; dentre elas, a técnica de *simple sequence repeat* (SSR), *Cleaved amplified polymorphism sequences* (CAPS), AFLPs e a técnica de *Random amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Vidal et al., 2000). A grande vantagem desta última é que demanda pouca

mão-de-obra, não exige conhecimento prévio de seqüências do DNA e tem baixo custo (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

O uso de marcadores moleculares de DNA para detectar polimorfismos entre cultivares de videira, através da técnica de reação em cadeia da DNA polimerase (PCR), revelou a possibilidade do uso desta metodologia para a identificação de várias marcas moleculares correlacionadas à ausência de sementes como nos trabalhos demonstrados por Striem et al. (1990), Lahogue et al. (1998) e Silva e Martins (2006). O desenvolvimento de *Sequence characterized amplified regions* (SCARs) derivados de fragmentos de RAPD possibilitou a obtenção de cópias únicas de marcas moleculares ligadas a genes de interesse em diversas culturas, dentre elas, as videiras (Vidal et al., 2000). Em programas de melhoramento de videiras apirênias, a avaliação de uma progênie pode levar de 3 a 5 anos, visto que antes disso ela ainda não é capaz de produzir cachos. Dessa maneira, a descoberta de marcadores moleculares ligados ao gene de apirenia em videiras tem sido de grande interesse, pois cria a possibilidade de excluir progênies com sementes em estádios iniciais de desenvolvimento, reduzindo consideravelmente os custos (Lahogue et al., 1998).

O objetivo deste trabalho é avaliar a diversidade genética dos acessos de videiras da coleção do banco de germoplasma, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, para a escolha de genitores mais apropriados para cruzamentos, e também testar a eficiência do marcador molecular SCAR ligado ao gene de apirenia, desenvolvido por Lahogue et al. (1998), em videiras cultivadas no Norte Fluminense.

3.1.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi montado no Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes - RJ, seguindo um delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições, com a unidade experimental composta por quatro plantas, cujo espaçamento é de 4 x 3 m, com sistema de condução em latada.

3.1.2.1. Material genético

Camargo (1998) apresenta breves descrições desses materiais, e que serão resumidas a seguir:

Quadro 1: Genótipos utilizados

Genótipos	Espécies	Procedência	Características
1- Roberta	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Susceptível a doenças, de cachos grandes e bagas globulosas verde-amareladas.
2- UFV 01	-	Viçosa	Variedade apirênia, com cachos pequenos verde-amarelados.
3- Kyoho	Híbrido de <i>Vitis vinifera</i> e <i>Vitis labruscana</i>	IAC	Cultivar tetraplóide, com cachos grandes e coloração preta.
4- Niágara Rosada	<i>Vitis labruscana</i>	IAC	Mutação somática natural da Niágara Branca de cachos de coloração rosada.
5- Patrícia	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos grandes, bagas médias, globulosas e pretas.
6- Rosalinda	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Mutação somática da Patrícia, de baga branca.
7- Moscatel de Hamburgo	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos cônicos, baga preta, obtida do cruzamento de Alexandria x Frankental.
8- Romana	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Variedade apirênia, cachos médios a grandes, de bagas esverdeadas.
9- Rubi	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Mutante somático da Itália, com bagas vermelho-clara.
10- Isabel	<i>Vitis labruscana</i>	IAC	Boa resistência à antracnose, cachos médios, bagas médias e arredondadas, de cor preto-azulada.
11- Red Globe	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos médios a grandes, bagas muito grandes e rosadas com polpa descolorida.
12- Itália	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Bagas grandes, formato ovóide e coloração verde-clara. Muito produtiva.

3.1.2.2. Extração de DNA

Foram coletadas do campo cerca de cinco folhas de cada um dos doze genótipos, embaladas em papel alumínio e congeladas em nitrogênio líquido. Em laboratório, foram maceradas com nitrogênio líquido e armazenadas em tubos de 15 ml a -70 °C. A extração de DNA foi realizada conforme o protocolo para espécies do gênero *Vitis* e *Ampelopsis*, de Lodhi et al. (1994) (Quadro 2).

Aproximadamente 500 mg de tecido macerado de lâminas foliares, sem as nervuras, foram transferidos para tubos com capacidade de 15 ml e imersos em nitrogênio líquido. Em seguida, foram ressuspensos com 6 ml de tampão de extração. Neste ponto, os tubos foram “vortexados” para garantir a atuação melhor do tampão. Os tubos foram encubados a 65 °C durante 30 minutos, sendo invertidos suavemente durante esse processo e esfriados à temperatura ambiente. Foram, então, adicionados 6 ml de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1). Após serem agitados até se formar uma emulsão, os tubos foram centrifugados a 5.500 rpm durante 25 minutos. Quatro ml do sobrenadante foram transferidos para novos tubos de 15 ml e adicionados 2 ml de NaCl 5 M e 8 ml de etanol 95%. Logo após, foram bem agitados e refrigerados a -20° C por um período de 2 horas.

Os tubos foram centrifugados em temperatura ambiente por 5 minutos a 5.000 rpm. Neste momento, o precipitado branco que havia se formado no fundo foi transferido para tubos de 2 ml e centrifugado com etanol 70% e etanol 95% por 6 minutos. Em seguida foi seco no banho seco, ressuspendido com 100 µl de solução de TE/RNAse a uma concentração de 40 mg/ml e incubado em banho- maria a 37 °C por 30 minutos. Ao final deste passo, o DNA já estava ressuspenso.

Quadro 2- Preparo da solução de tampão de extração de DNA de videiras:

Estoque	Concentração final	p/ 15 ml
CTAB 5%	2%	6 ml
NaCl 5 M	1,4 M	4,2 ml
EDTA 0,5 M	20 mM	0,6 ml
Tris-HCl (ph 8) 1M	100 mM	1,5 ml
PVPP sólido	1%	0,15 g
B-Mercaptoetanol	0,2%	30 µl
H ₂ O	-	q.s.p. 15 ml

3.1.2.3. Reação da polimerase em cadeia para RAPD

As reações de amplificação, para o estudo da diversidade genética, entre doze cultivares de videiras foram realizadas num volume de 20 µl, no termociclador de gradiente Ependorff programado por 1 minuto a 95 °C, seguindo 45 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 36 °C e 1 minuto a 72 °C e um passo final para extensão de 7 minutos a 72°. Para o coquetel de reagentes, foram utilizados tampão pcr 1X, MgCl (2mM), Dntp's (200µM), taq polimerase (1u), iniciadores operon technologies (0,4µM) e água ultrapura. O produto da amplificação foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 1,2%, em tampão de TAE 0,5X a 0,21 ampères.

3.1.2.4. Reação da polimerase em cadeia para SCAR

As reações de amplificação foram realizadas conforme Lahogue et al. (1998) com modificações, em um volume final de 24 µL, contendo os reagentes nas seguintes concentrações: Tris-HCl a 10 mM, pH 8,3, MgCl₂ a 2 mM, dATP, dCTP, dGTP e dTTP a 200 µM, primers SCC8-S e SCC8-AS a 1 pmol cada um, 20 ng de DNA genômico e uma unidade de taq DNA polimerase (Pharmacia Biotech). Utilizou-se o termociclador (Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9700) programado por 4 minutos a 94 °C, seguindo 35 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 64,4 °C e 1 minuto a 72 °C e um passo final para extensão de 6 minutos a 72 °C, utilizando-se o modo de transmissão de temperatura rápida disponível (1 °C/1s). Os produtos de amplificação (bandas) foram obtidos por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,6% e visualizados após coloração por brometo de etídio.

3.1.2.5. Enzima de restrição

O produto de amplificação com o marcador SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) foi precipitado com 15 µl de acetato de sódio 3 M e 100 µl de etanol absoluto. Após o período de três horas a -20 °C, realizou-se uma centrifugação por 20 minutos a 12.000 rpm; em seguida, efetuou-se uma

lavagem com etanol 70% para retirada de sais em excesso e, depois, foi colocado em banho seco por 10 minutos.

O precipitado foi então ressuspendido em 10 μ l de água ultrapura e bem vortexados. Aos 10 μ l da amplificação, foram adicionados 2 μ l do tampão da enzima bgl II, 0,5 μ l da enzima de restrição Bgl II e água ultrapura suficiente para completar 20 μ l. Logo após, os tubos foram deixados em banho-maria por duas horas a 37 °C para garantir a ação da enzima. Após este período, efetuou-se a eletroforese a 0,21 ampères em gel de agarose a 1,4%.

3.1.2.6. Teste de eficiência do marcador molecular SCAR ligado ao gene da apirenia em videiras

Para tal, foram utilizados 2 progenitores de videiras com reconhecida presença de apirenia, sendo elas Romana e UFV 01, e duas variedades com semente, Niágara rosada e Kyoho, do programa de introdução de cultivares realizado no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal. Para a detecção do gene de apirenia foram utilizados marcadores do tipo SCAR distantes 0,7 cM do gene I (ligado à apirenia), denominado SCC8, com as seqüências GGTGTCAA GTTGAAGATGG para o primer SCC8-S e TATGCCAAAACATCCCC para o primer SCC8- AS.

3.1.2.7. Análises estatísticas

A matriz de dados binários foi formada, de maneira que, na presença de bandas, foi atribuído 1 e na ausência destas, atribuído 0. A distância genética foi calculada aos pares entre os genótipos pelo Complemento Aritmético do Índice de Jaccard. Com base nesse índice, foi empregado o método de otimização de Tocher. Para a obtenção do dendograma, foi empregado o método do vizinho mais distante. Para o cálculo do Complemento Aritmético do Índice de Jaccard utilizou-se o programa computacional Genes (Cruz, 2001). O dendograma foi obtido pelo programa Estatística.

3.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.3.1. Iniciadores para análise de RAPD

Foram utilizados 26 *primers*, gerando um total de 120 marcas polimórficas e 27 marcas monomórficas (Quadro 3). A partir dos dados foi gerada a matriz de dados binários para obtenção da matriz de dissimilaridade através do índice de complemento aritmético de Jaccard.

Quadro 3- Relação de iniciadores utilizados:

Iniciadores	Marcas polimórficas	Marcas monomórficas
1- OPA-02	05	02
2- OPA-08	08	-
3-OPA-10	10	01
4-OPC-07	05	-
5-OPC-10	04	-
6-OPC-13	05	-
7-OPD-11	07	01
8-OPD-15	03	01
9-OPF-11	03	02
10-OPF-20	06	01
11-OPG-16	04	01
12-OPI-01	03	02

Quadro 3- Continuação

	Marcas polimórficas	Marcas monomórficas
13-OPI-07	10	01
14-OPI-20	06	02
15-OPL-12	04	02
16-OPO-02	03	01
17-OPO-05	04	-
18-OPO-07	02	01
19-POR-04	03	02
20-OPAB-01	05	-
21-OPAB-019	03	02
22-OPAC-05	04	-
23-OPAD-04	03	02
24-OPAF-14	04	01
25-OPAF-20	04	01
26-OPAH-01	02	01
TOTAL	120	27

No quadro 4, pode-se verificar que os genótipos mais dissimilares gerados pela matriz de dissimilaridade foram as espécies *Vitis labruscana*, representada pela cultivar Niágara Rosada, e a Itália (*Vitis vinifera*) com uma distância de 0,5840 entre elas, o que já se esperava por se tratarem de espécies de origens diferentes. As cultivares Itália e Rubi mostraram-se bastante similares (0,0470), visto que a variedade Rubi é uma mutação somática da Itália, assim com as cultivares Patrícia e Rosalinda, que também apresentaram uma alta similaridade (0,03226), em que esta é uma mutação somática daquela.

Costa (2004), trabalhando com 55 marcas polimórficas, com todas essas variedades, obteve a distância genética de 0,3472 entre as variedades Niágara Rosada e Itália. Esta autora ainda obteve resultados muito semelhantes aos observados neste trabalho entre as variedades Itália e Rubi, com uma distância genética de 0,048 entre elas.

Quadro 3- Matriz obtida pelo índice aritmético do complemento de Jaccard, com base em marcadores RAPD

Roberta	UFV 01	N. Rosada	Kyoho	Rosalinda	Patrícia	Moscatel	Romana	Rubi	Isabel	Red Globe	Itália
0											
0,5104	0										
0,4947	0,5420	0									
0,4742	0,4953	0,3052	0								
0,3404	0,4444	0,5263	0,4414	0							
0,3191	0,4311	0,5258	0,4561	0,0322	0						
0,3478	0,4862	0,5652	0,4821	0,3142	0,2857	0					
0,4111	0,3979	0,5463	0,4859	0,3904	0,3619	0,4038	0				
0,3626	0,5137	0,5789	0,4955	0,3584	0,3457	0,2551	0,4174	0			
0,5238	0,5263	0,32	0,4128	0,5245	0,5122	0,525	0,5304	0,5737	0		
0,3	0,4574	0,53	0,4747	0,375	0,3608	0,2809	0,3595	0,3516	0,5142	0	
0,3666	0,5046	0,5840	0,4722	0,3619	0,3490	0,2210	0,4215	0,0470	0,5666	0,3555	0

Utilizando a matriz gerada pelo índice de Jaccard, foi possível fazer o agrupamento das cultivares através do método de agrupamento proposto por Tocher, gerando três grupos bem distintos entre si (Quadro 5). O primeiro grande grupo formado foi representado pelas variedades viníferas. O segundo grupo ficou representado pelas duas variedades da espécie *Vitis labruscana*, Isabel e Niágara Rosada, além da variedade Kioho, o que está bem de acordo com a literatura, que afirma que esta variedade trata-se de um híbrido entre *Vitis labruscana* e *Vitis vinifera*, sendo que sua maior proximidade com as variedades labruscanas, através deste método, pode estar associada à sua maior semelhança física em relação à característica da folha com as variedades labruscanas. O terceiro grupo gerado foi representado somente pela variedade sem semente denominada UFV 01 originária de programas de melhoramento dos EUA, mas sem informações de sua genealogia.

Quadro 5 - Agrupamento dos 12 genótipos pelo método de Tocher com base na dissimilaridade pelo complemento aritmético do índice de Jaccard

Grupos	Genótipos
I	Rosalinda, Patrícia, M. Hamburgo, Itália, Rubi, Red Globe, Roberta e Romana.
II	N. Rosada, Kioho e Isabel.
III	UFV 01.

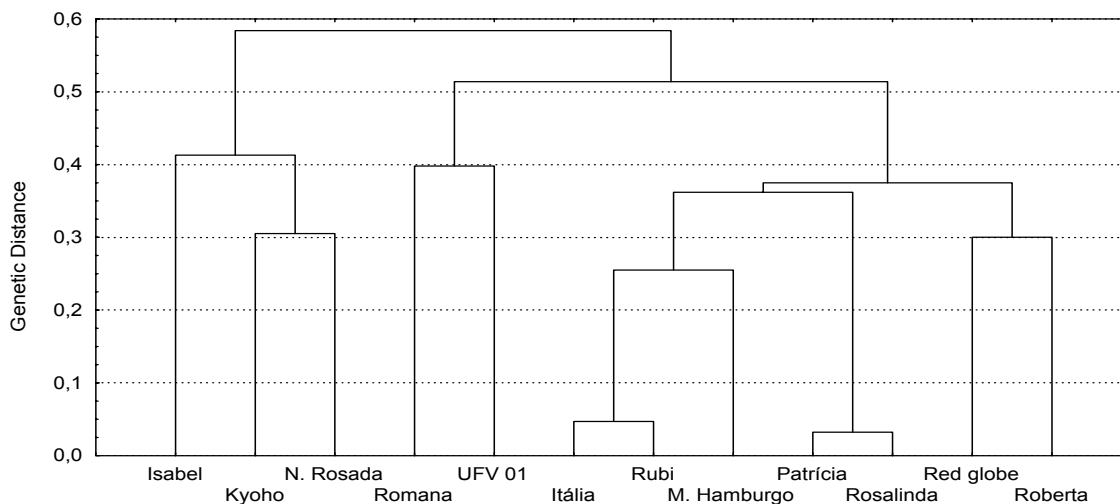
O dendograma gerado foi obtido pelo método hierárquico aglomerativo do vizinho mais distante, sendo escolhido esse método por fornecer grupos mais homogêneos e capazes de favorecer a discussão e interpretação dos resultados obtidos (Dal Col Lúcio et al., 2006). Os resultados obtidos foram bem semelhantes aos resultados do método de Tocher (Quadro 6). Também se formaram três grupos distintos, sendo que um dos grupos foi formado pelas duas variedades apirênias, Romana e UFV 01, o que levanta a hipótese dessas variedades serem espécies correlacionadas, visto que as duas têm sua origem nos EUA. O outro grupo formado, assim como no método de Tocher, por variedades viníferas

mostrou que a variedade Patrícia assim como seu mutante somático, a variedade Rosalinda, agruparam-se bem próximas do grupo formado pela variedade Itália, Rubi e Moscatel de Hamburgo (Quadro 6). Segundo Pommer e Ferri (1995), a variedade Patrícia, introduzida pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC), possui em sua genealogia grandes atributos herdados principalmente da Moscatel de Hamburgo e da Itália.

Diante do exposto, as melhores recomendações para se iniciar um programa de hibridações, entre os indivíduos envolvidos no presente trabalho, seriam a utilização das variedades Itália e Niágara Rosada, por serem os indivíduos mais contrastantes e que forneceriam o maior efeito heterótico. Entretanto, é necessário que se conheçam as condições de campo de cada variedade antes de se iniciar qualquer programa de hibridações. Neste contexto, Costa (2004), avaliando as características de produtividade e suscetibilidade a doenças, verificou que a variedade Itália se mostrou bastante vulnerável a doenças e, em decorrência disto, apresentou baixa produtividade. Sendo assim, seria incoerente indicar a variedade Itália, uma vez que a resistência a doenças e a produtividade são características muito importantes.

Com o intuito de iniciar um programa de melhoramento com a introdução de variedades apirênias, pela análise de agrupamento de Tocher, verificou-se que as variedades apirênias Romana e UFV 01, aproveitando ainda as boas características agronômicas da variedade Romana que, de acordo com Costa (2004) possui uma menor suscetibilidade a doenças e uma alta produção de frutos (42 Kg/planta), poderiam ser indicadas para cruzamento entre elas, aumentando as chances de obtenção de indivíduos apirênios na progênie, ou também ser utilizadas em cruzamentos com cultivares com sementes, como as variedades Niágara Rosada, Isabel e Kioho que, além de terem formado um grupo separado (grupo II) pelo método de Tocher, foram bem produtivas segundo Costa (2004), com 11, 36 e 11 kg/planta, respectivamente.

Quadro 6 - Dendograma de dissimilaridade entre os 12 genótipos de videira estabelecido pelo método do vizinho mais distante



3.1.3.2. Marcador SCAR ligado ao gene da apirenia

O marcador SCAR SCC8 revelou um único fragmento de 988pb em ambos os indivíduos com sementes e apirênios, confirmando a presença de uma seqüência de cópia única (Figura 1A). Para revelar o polimorfismo entre as variedades apirênias Romana e UFV 01 e as variedades Niágara Rosada e Kyoho, ambas pirênias, utilizou-se a enzima de restrição Bgl II no produto da amplificação, produzindo de 1 a 3 bandas (Figura 1B). Uma análise mais profunda revelou que há duas formas alélicas neste loco, chamado de SCC8, sendo que somente o alelo $scc8^-$ apresentou um sítio para a enzima, produzindo dois fragmentos de menor tamanho. Bouquet e Danglot (1996), avaliando a progênie MTP 3140 de videiras, verificaram que a distribuição 1:2:1 estava de acordo com a hipótese de um marcador co-dominante, permitindo distinguir o homozigoto do heterozigoto no loco SCC8. As variedades UFV 01 e Romana demonstraram ser heterozigotas ($SCC8^+/scc8^-$), apresentando somente um sítio para a enzima em um dos alelos deste loco, dando origem a três bandas, enquanto que as variedades Niágara Rosada e Kyoho, ambas variedades com semente, demonstraram ser homozigotas recessivas ($scc8^-/scc8^-$), apresentando sítio para

a enzima nos dois alelos do loco, dando origem a duas bandas de menor tamanho. Apesar da utilização de poucas variedades na análise da apirenia, o marcador se mostrou eficiente, porém, para se obter uma maior confiabilidade, é necessário que se aumente o número de indivíduos na análise. Para confirmar esses resultados, já estão em andamento as análises de progênies provenientes de cruzamentos entre variedades apirênias e com sementes. Esse marcador aparenta ser muito útil num programa de seleção assistida por marcadores moleculares para o caráter apirênio, porém é importante salientar que essa técnica é baseada na hipótese de um gene dominante que regula a expressão de três genes complementares recessivos, conforme Bouquet e Danglot (1996).

Do exposto, a obtenção de indivíduos F_1 apirênios, originados dos cruzamentos de genitores com semente e apirênios, pode ser monitorada pelo referido marcador, o que trará grande economia de tempo e recursos financeiros em um futuro programa de melhoramento genético de videiras, visando obter variedades apirênias e adaptadas às condições do Norte e Noroeste Fluminense.

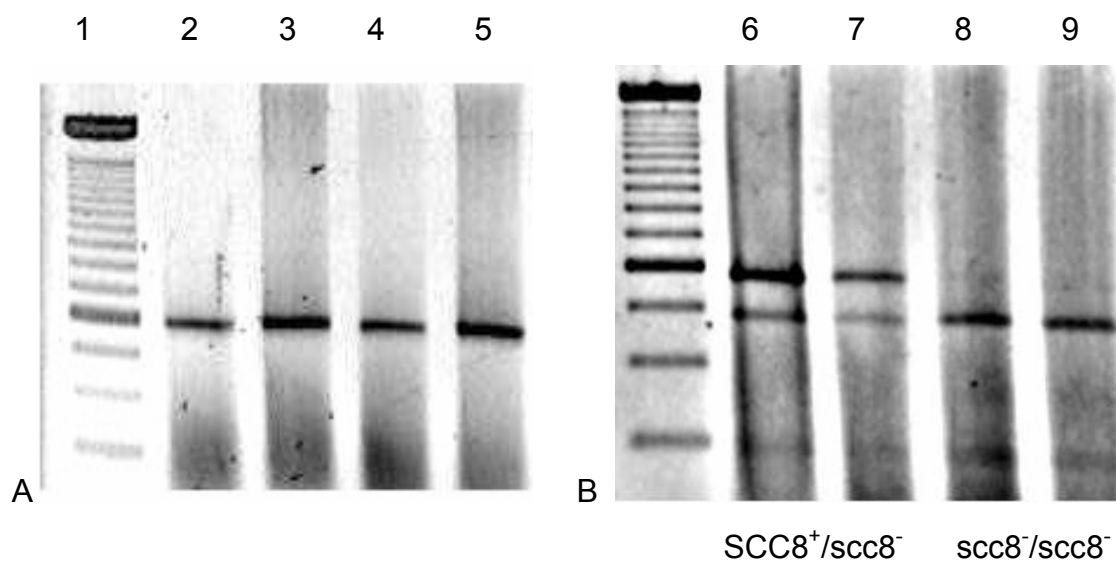


Figura 1 - Análise das variedades de videira. A: Linhas 2-5: amplificação de fragmentos de DNA de variedades sem semente (2: UFV 01, 3: Romana) e com sementes (4: Niágara Rosada, 5: Kyoho). Linha 1: marcador molecular de tamanho 250 pb. B: Linhas 6-9: polimorfismo obtido após digestão com Bgl II- Indivíduos heterozigotos SCC8⁺/scc8⁻: UFV 01 e Romana (6 e 7) e indivíduos homozigotos recessivos scc8⁻/scc8⁻: Niágara Rosada e Kyoho (8 e 9) .

3.1.4. CONCLUSÕES

Pela análise de divergência genética via marcadores RAPD, observou-se uma ampla divergência genética entre os genótipos estudados, antevendo resultados promissores em programa de hibridação para obtenção de indivíduos apirênios e adaptados às condições do Norte Fluminense.

O marcador SCAR SCC8 mostrou-se eficiente para detecção de indivíduos apirênios, distinguindo as variedades apirênias Romana e UFV 01 de genótipos com semente, sendo essas variedades consideradas heterozigotas para a característica sem semente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barticevic, M.R., Zavala, K.M., De Felice, S., Valenzuela, J.B., Muñoz, C.S., Hinrichsen, P.R. (2004) Caracterización fenotípica de segregantes identificados con marcadores de microsatélites, con énfasis en apirenia y respuesta a ácido giberélico en crecimiento de bayas de uva. *Agricultura Técnica*. Chile, 64 (1):3-16.
- Bouquet, A., Danglot, Y. (1996) Inheritance of seedlessness in grapevine, *Vitis vinifera* L. *Vitis* 35 (1):35-42.
- Camargo, U.A. (1998) O melhoramento genético da videira na EMBRAPA uva e vinho. Simpósio Brasileiro de Melhoramento de Fruteiras, Jaboticabal.
- Costa, A.F. (2004) *Avaliação de Características Agronômicas em Variedades e de Diversidade Molecular em Variedades, Híbridos e Espécies de Videira*. Tese (Mestrado em Produção vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 95p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows), aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.

Dal col Lúcio, A., Fortes, F.O., Storck. L., Filho, A.C. (2006) Abordagem multivariada em análise de sementes de espécies florestais exóticas. *Cerne*, Lavras, 12 (1): 27-37.

Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. EMBRAPA-CENARGEN: Brasília, 220p.

Food And Agriculture Organization Of The United Nations. FAOSTATAgriculture; <<http://faostat.fao.org>> em: 08/03/2004.

Lahouge, F., This, P., Bouquet, A. (1998) Identification of a codominant scar marker linked to the seedless character in grapevine. *Theoretical Applied Genetics* 97:950-959.

Lodhi, M.A., Ye, G.N., Weedes, N.F., Reisch,B.I. (1994) A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. *Plant Molecular Biology Reporter* 12 (1): 6-13.

Vidal, J.R., Delavault, P., Coarer, M., Defontaine, A. (2000) Design of grapevine (*Vitis vinifera*) cultivar-specific SCAR primers for PCR fingerprinting. *Theoretical Applied Genetics* 101:1194-1201.

**3.2. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DOS ESTÁDIOS
FENOLÓGICOS DE VARIEDADES DE VIDEIRAS CULTIVADAS NO NORTE
FLUMINENSE**

RESUMO

O experimento foi conduzido no município de Campos dos Goytacazes-RJ, durante os anos de 2005 e 2006, utilizando-se plantas das variedades Romana, Isabel, Kioho, Moscatel de Hamburgo, Roberta, Niágara Rosada e UFV 01. Para a determinação do ciclo fenológico das sete variedades em questão, realizaram-se podas em 20/03/2005 e 15/02/2006. Para a poda realizada em fevereiro, verificou-se uma redução do período de poda à colheita em todas as variedades, sendo a variedade Isabel a mais tardia, com um ciclo médio de 124 dias para os dois anos. A variedade Niágara Rosada, na média, foi a mais precoce, com 109 dias. A variedade UFV 01, avaliada somente no período de 2006, juntamente com a variedade Kyoho foram as cultivares que obtiveram o menor ciclo, 91 dias, durante o ano de 2006. Realizou-se a determinação dos componentes químicos sólidos solúveis totais, acidez total titulável, relação SST/ATT, vitamina C e antocianinas. A variedade Isabel apresentou os maiores índices de acidez, com 1,5%, enquanto que a variedade Moscatel de Hamburgo foi a cultivar de menor acidez. Para a relação sólidos solúveis totais e acidez total titulável, a variedade Isabel apresentou o menor valor, 11,08, enquanto que a variedade Kioho foi a melhor, com 24,11. A variedade Romana obteve os melhores resultados para os teores de sólidos solúveis totais.

ABSTRACT

The experiment was conducted in the county of Campos dos Goytacazes-RJ, in 2005 and 2006, with plants of the varieties Romana, Isabel, Kioho, Moscatel de Hamburgo, Roberta, Niágara Rosada and UFV01. The seven study varieties were pruned on 20/03/2005 and 15/02/2006 to determine the phenological cycle. Pruning in February evidenced a reduction of the pruning-harvest period in all varieties. Isabel was the latest variety, with a mean cycle of 124 days in both years. In the mean, Niágara Rosada was the earliest variety (109 days). UFV 01, evaluated only in the period of 2006, had, together with Kyocho, the shortest cycle (91 days) in 2006. The chemical components total soluble solids, total titrable acidity, SST/ATT ratio, vitamine c, glucose, fructose, sucrose and anthocyanins were determined. Variety Isabel attained the highest acidity indices (1.5%) and Moscatel de Hamburgo the lowest. For the ratio total soluble solids by total titrable acidity variety Isabel presented lowest values (11.08) and Kioho the best (24.11). Variety Romana obtained best results for total soluble solids, acidity and vitamin C contents.

3.2.1. INTRODUÇÃO

Atualmente a videira é cultivada sob uma enorme diversidade de condições climáticas, exceto em alguns locais que não se oferecem o mínimo de condições climáticas para seu desenvolvimento. No Brasil, ela é cultivada de Norte a Sul do país. Com o emprego da irrigação, regiões anteriormente consideradas inaptas tornaram-se grandes produtoras de uva.

Na introdução de novas variedades, a fenologia desempenha importante função, pois permite a caracterização da duração das fases do desenvolvimento da videira em relação ao clima, especialmente às variações estacionais, além de ser utilizada para interpretar como as diferentes regiões climáticas interagem com a cultura (Terra et al., 1998).

A fenologia varia em função do genótipo e das condições climáticas de cada região produtora ou em uma mesma região devido às variações estacionais do clima ao longo do ano. Em condições de clima tropical, como aquelas predominantes no Vale do São Francisco, a videira vegeta continuamente, não apresentando fase de repouso hibernar. O momento da poda passa a ser a referência para o início do ciclo fenológico da videira, que sofre a influência das condições climáticas predominantes durante aquele período.

O clima tem sido um fator preponderante na duração do ciclo, qualidade do fruto, fitossanidade e produtividade da videira. A videira cresce e desenvolve-se melhor em regiões com verões longos e secos e com invernos frios, para satisfazer suas necessidades de repouso. Temperaturas elevadas durante a

brotação influenciam positivamente na emissão de cachos, além de antecipar a maturação da uva e repercutir no aumento do teor de açúcares nas bagas. A videira é uma planta exigente em relação à luz solar, sendo que a falta dela pode ocasionar inúmeros problemas durante a floração e maturação da uva.

A caracterização dos estádios fenológicos do ciclo produtivo da videira fornece informações de grande utilidade para o agricultor, uma vez que o conhecimento de cada etapa do desenvolvimento pode reduzir muito os custos de produção da videira, tornando mais racionais os gastos com defensivos agrícolas, economia de insumos, além de possibilitar a produção de uvas em épocas diferenciadas das grandes regiões produtoras, garantindo a oferta de uva durante todo o ano (Murakami et al. 2002).

O valor nutritivo é um atributo de qualidade muito importante. Os componentes responsáveis pela qualidade nutricional dos produtos são vitaminas, minerais, açúcares solúveis, amido, fibras, hemiceluloses e lignina (Kays, 1991, citado por Mota et al., 2005). Adicionalmente, algumas substâncias químicas que conferem valor nutritivo ao produto hortícola são também responsáveis pelo sabor, como sólidos solúveis, açúcares e ácidos orgânicos.

As características de uma cultivar e a maturidade por ocasião da colheita são fatores críticos que influenciam os atributos de qualidade dos produtos frescos. A maturidade fisiológica é utilizada para definir o ponto ideal de colheita, sendo o estágio de crescimento e desenvolvimento em que os frutos atingem o nível ideal de maturação, estando então apropriados para consumo *in natura* (Suojala, 2000, citado por Mota et al., 2005).

O objetivo deste trabalho é realizar a caracterização fenológica e química de variedades de videiras cultivadas no Norte Fluminense

3.2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes- RJ, durante dois ciclos de produção um 1º semestre de 2005 (poda em 20/03/2005) e outro no 1º semestre de 2006 (poda em 15/02/2006). Todas as plantas das sete variedades avaliadas foram enxertadas sobre o porta-enxerto IAC 572, seguindo um delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições, com a unidade experimental composta por quatro plantas, cujo espaçamento era de 4 x 3 m, com sistema de condução em latada. Após a poda todas as gemas foram pulverizadas com cianamida hidrogenada (2,5%) para quebra de dormência e uniformização da brotação.

3.2.2.1. Material genético

Camargo (1998) apresenta breves descrições desses materiais, e que serão resumidas a seguir:

Quadro 1 - Genótipos utilizados

Genótipos	Espécies	Procedência	Características
1- Roberta	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Susceptível a doenças, de cachos grandes e bagas globulosas verde-amareladas.
2- UFV 01	-	Viçosa	Variedade apirênia, com cachos pequenos verde-amarelados.
3- Kyoho	Híbrido de <i>Vitis vinifera</i> e <i>Vitis labruscana</i>	IAC	Cultivar tetraplóide, com cachos grandes e coloração preta.
4- Niágara Rosada	<i>Vitis labruscana</i>	IAC	Mutação somática natural da Niágara Branca de cachos de coloração rosada.
5- Patrícia	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos grandes, bagas médias, globulosas e pretas.
6- Rosalinda	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Mutação somática da Patrícia, de baga branca.
7- Moscatel de Hamburgo	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos cônicos, baga preta, obtida do cruzamento de Alexandria x Frankental.
8- Romana	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Variedade apirênia, cachos médios a grandes, de bagas esverdeadas.
9- Rubi	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Mutante somático da Itália, com bagas vermelho-clara.
10- Isabel	<i>Vitis labruscana</i>	IAC	Boa resistência à antracnose, cachos médios, bagas médias e arredondadas, de cor preto-azulada.
11- Red Globe	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Cachos médios a grandes, bagas muito grandes e rosadas com polpa descolorida.
12- Itália	<i>Vitis vinifera</i>	IAC	Bagas grandes, formato ovóide e coloração verde-clara. Muito produtiva.

3.2.2.2. Determinação do ciclo reprodutivo

O ciclo fenológico das variedades foi caracterizado por meio de avaliações semanais, registrando-se a data das seguintes fases fenológicas, conforme classificação de Eichorn e Lorenz (1977): 1) Período da poda a início da brotação,

2) Início da brotação ao pleno florescimento, 3) Período do pleno florescimento ao início da maturação, 4) Início da maturação à plena maturação.

3.2.2.3. Composição química dos frutos

Foram realizadas coletas de três cachos de plantas selecionadas previamente de cada variedade, feitas semanalmente desde o período de início da maturação até a colheita, para se avaliar o teor da acidez total titulável, dos sólidos solúveis totais, antocianinas e açúcares solúveis, totalizando sete coletas durante o 1º semestre de 2005. Foram utilizadas para análises somente seis variedades de videiras: Romana, Isabel, Kyoho, Moscatel de Hamburgo, Roberta e Niágara Rosada.

O teor de sólidos solúveis totais foi obtido por refratometria, utilizando refratômetro portátil ATAGO N1, com leitura na faixa de 0 a 32 °Brix. As leituras foram feitas em amostras de suco da polpa, extraída por prensagem manual.

Para a determinação da acidez total titulável, 5,0 g de polpa foram macerados em um almofariz, contendo 50 ml de água destilada. À amostra adicionaram-se três gotas do indicador fenolftaleína a 1%, procedendo-se em seguida a titulação, sob agitação, com solução de NaOH 0,1 N previamente padronizada com biftalato de potássio até ocorrer a viragem, ou seja, no momento que atinge o pH 8,1. Os resultados foram expressos em grama equivalente de ácido tartárico (100 g de polpa)⁻¹ calculados pela seguinte equação:

$$TA = (\text{ml NaOH gasto} \times N (\text{NaOH}) \times 0,075 (\text{fator de correção ac. tartárico}) \times 100) / 5$$

g (peso amostra).

A relação entre sólidos solúveis e acidez titulável foi obtida pela divisão dos resultados obtidos de teor de sólidos solúveis e de acidez total titulável. A expressão dos resultados foi feita por meio dos valores absolutos encontrados.

Para a determinação do teor de vitamina C, seguiu-se a metodologia de Tillmans (1927), modificada por Bezerra Neto et al. (1994). A mesma consta da titulação do ácido ascórbico presente no suco da fruta, utilizando-se uma solução de 2,6-diclorofenolindofenol; usou-se a solução de ácido oxálico como solvente e estabilizadora da vitamina C (que se comporta como um composto bastante instável) em substituição ao ácido metafosfórico, tradicionalmente utilizado neste método.

Para o conteúdo de antocianinas, realizou-se a maceração de 5 g de casca homogeneizados com solução de etanol/HCl 1,5N (85:15). A solução foi deixada em repouso, sob refrigeração, durante toda noite. O conteúdo foi determinado por espectrofotometria ao comprimento de onda de 535 nm. Após a leitura, os valores foram convertidos para mg/100 g de peso fresco através da seguinte equação: Antocianina = (ABS 535 x volume de extração em ml x 100)/(peso fresco x 98,2).

3.2.2.4. Delineamento experimental e análises estatísticas

As variedades foram dispostas seguindo o delineamento em blocos casualizados de parcela subdividida, com o fator da parcela constando de quatro variedades para a característica de antocianinas e seis para as demais características, sendo o fator da subparcela composto pelos sete subperíodos de avaliação, conforme o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + G_j + E_{ij}(a) + P_k + P_k G_j + E_{ijk}(b)$$

μ = Constante geral

B_i = Efeito do bloco

G_j = Efeito do genótipo j

$E_{ij}(a)$ = Erro a (efeito da interação bloco x genótipo)

P_k = Efeito do período k

$P_k G_j$ = Efeito da interação entre a k-ésimo período e o j-ésimo genótipo.

$E_{ijk}(b)$ = Erro b (resíduo geral)

Os dados foram submetidos à análise de variância e às interações entre os fatores, assim como seus efeitos isolados foram desdobrados via análise de regressão polinomial.

3.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.3.1. Estádios fenológicos das variedades de videira

Acerca do subperíodo, em relação à poda ao início da brotação (E1), no 1º semestre de 2005, houve pequenas variações na duração do período para as diferentes variedades, porém, a variedade Niágara Rosada foi a que apresentou um período mais longo, com 10 dias, enquanto que as outras variedades ficaram entre 4 e 6 dias (Quadro 3). Já, no 1º semestre de 2006, as variedades apresentaram menores diferenças em relação ao tempo, sendo que a variedade UFV 01 apresentou um período mais curto, com 9 dias, enquanto que todas as outras ficaram em 10 dias (Quadro 4). Essa maior uniformidade, neste período, deve-se, provavelmente, à aplicação da cianamida hidrogenada para quebra de dormência, que ocorreu logo após a poda em todas as variedades, enquanto que em 2005 a aplicação do produto levou cerca de sete dias para cobrir todas as variedades. É importante dizer que as variedades que não estiverem presentes nos quadros não tiveram produção, inviabilizando a determinação do ciclo. No subperíodo, início da brotação à plena floração (E2), durante 2005, variou entre 24 e 29 dias, enquanto que em 2006, variou entre 15-25 dias. Neste subperíodo, comparando os anos de 2005 e 2006, a variedade Kioho foi a que apresentou uma maior redução no número de dias (10 dias). O subperíodo compreendido entre a plena floração e o início da maturação (E3) variou, em 2005, entre 45 e 58 dias, apresentando pouca diferença em relação ao ano de 2006, que variou entre

45-54 dias. O subperíodo referente ao intervalo entre o início da maturação à plena maturação foi o mais contrastante dentre as variedades. Em 2005, verificou-se uma variação entre 30 e 54 dias, enquanto que, em 2006, ficou entre 15 e 30 dias, destacando-se a variedade Kyoho, que reduziu este período em 39 dias, seguido pela variedade Romana (19 dias), variedade Isabel (18 dias), variedade Niágara Rosada (15 dias) e Moscatel de Hamburgo (9 dias).

Para a poda realizada em março de 2005, o ciclo das variedades foi consideravelmente mais longo, variando de 121 a 135 dias. Para a poda realizada em fevereiro de 2006, o ciclo completo das variedades ficou entre 91 e 109 dias, com destaque para a variedade Kyoho, que obteve uma redução de 44 dias em seu ciclo.

A variedade Isabel foi considerada a mais tardia, com um ciclo médio, poda à colheita, de 124 dias para os dois anos. A variedade Niágara Rosada na média, foi a variedade mais precoce, com 109 dias. A variedade UFV 01, avaliada somente no período de 2006 juntamente com a variedade Kyoho, foram as cultivares que obtiveram o menor ciclo, 91 dias, durante o ano de 2006.

Essa grande variação, na duração do ciclo das videiras, encontrada durante os anos de 2005 e 2006 pode estar relacionada às condições climáticas dos diferentes anos. O período de 2005, da poda à colheita, foi marcado por intensas chuvas e pouca incidência solar, ocasionando perdas substanciais e aparecimento de doenças fúngicas. Já, no ano de 2006, com poda no mês de fevereiro, durante todos os estádios fenológicos, não ocorreram chuvas, verificando-se um período seco, bem característico da região (Quadro 2). Além disso, durante o dia, ocorreram dias bem ensolarados e, durante a noite, temperaturas bem amenas. Segundo Pommer (2003), a temperatura elevada durante o ciclo vegetativo antecipa a maturação da uva, e uma maior amplitude térmica diária acelera o acúmulo de açúcares.

Quadro 2 - Índice de precipitação média, temperaturas máxima e mínima e radiação solar durante os ciclos fenológicos das videiras

	Precipitação média		Temperatura Máx. e Mín.		Radiação solar	
	2005	2006	2005	2006	2005	2006
Março	159,7	49,3	31,2 / 21,8	31,9 / 22,2	227	239
Abril	54,7	83,8	30,8 / 20,6	29,5 / 20,1	196	183
Maio	94,6	14,2	28 / 18,6	26,9 / 16,5	157	161
Junho	75,8	0	27,2 / 17	25,8 / 15,6	170	152
Julho	57,5	-	25,1 / 15,5	-	152	-
Média	88,4	36,8	28,4 / 18,7	28,5 / 18,6	180	184

Quadro 3 - Duração dos subperíodos fenológicos, expressos em dias, em função da data da poda

Variedades	Data de poda	Estádios fenológicos				Total
		E1	E2	E3	E4	
N. Rosada	20/03/2005	10	25	58	30	123
Isabel	20/03/2005	4	24	58	48	134
M. Hamburgo	20/03/2005	6	25	53	35	119
Romana	20/03/2005	4	28	45	44	121
Kyoho	20/03/2005	5	28	48	54	135
Roberta	20/03/2005	6	29	46	41	122
Média		6	26	47	42	126

E1: poda ao início da brotação, E2: início da brotação ao pleno florescimento, E3: pleno florescimento ao início da maturação, E4: início da maturação à plena maturação.

Quadro 4 - Duração dos subperíodos fenológicos, expressos em dias, em função da data da poda.

Variedades	Data de poda	Estádios fenológicos				Total
		E1	E2	E3	E4	
N. Rosada	15/02/2006	10	18	51	15	94
Isabel	15/02/2006	10	15	54	30	109
M. Hamburgo	15/02/2006	10	20	49	26	105
Romana	15/02/2006	10	25	49	25	109
Kyoho	15/02/2006	10	18	48	15	91
UFV 01	15/02/2006	09	16	45	21	91
Média		10	19	49	22	100

E1: poda ao início da brotação, E2: início da brotação ao pleno florescimento, E3: pleno florescimento ao início da maturação, E4: início da maturação à plena maturação.

3.2.3.2. Características químicas de frutos de videiras

3.2.3.2.1. Teor de sólidos solúveis (SST), acidez total titulável (ATT) e relação SST/ATT

Houve efeito significativo para o fator período e também para a interação genótipo x período (Quadro 5). O teor de sólidos solúveis sofreu um aumento linear nas variedades Romana, Isabel e Niágara Rosada; enquanto que, nas variedades Moscatel de Hamburgo, Kyoho e Roberta, o aumento teve resposta quadrática (Figura 1). Pôde-se verificar que a variedade Romana foi a cultivar que atingiu o maior Brix, chegando a 18 °Brix, seguida pela variedade Isabel, com 17,5 °Brix. Nota-se na Figura 1 que a variedade Romana teve o maior incremento no teor de sólidos solúveis, durante o período de maturação, variando de 8 a 18 °Brix. A variedade Niágara Rosada apresentou o menor incremento de sólidos solúveis, variando de 10,7 a 16,2 °Brix. A variedade kyoho, durante o início da maturação, apresentou uma queda na sua concentração de sólidos solúveis totais (Figura 1). Isto pode ser explicado pelo período de intensas chuvas entre o intervalo de coletas, provocando um aumento do volume das bagas e conseqüente diluição dos açúcares no interior das bagas.

Quadro 5 - Resumo da análise de variância para teor de sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), relação SST/ATT e vitamina C, em seis variedades de videira

FV	GL	QM			
		SST	ATT	SST/ATT	VIT. C
Rep	2	0.3648ns	0.0265ns	0.0175ns	0.8956ns
Genótipo	5	5.6846*	6.0795**	243.4495**	3.9586**
Erro A	10	1.1293	0.0188	0.0052	0.3535
Período	6	111.8842**	5..5408**	656.1546**	23.7155**
Gen*per	30	6.0507**	0.2634**	27.6323**	0.7473**
Erro B	72	1.8193	0.0261	6.038685	0.3143
CV%		9.98	10.88	20.17	24.69

** Significativo a 1% pelo teste F.

* Significativo a 5% pelo teste F.

CV= Coeficiente de variação, em porcentagem

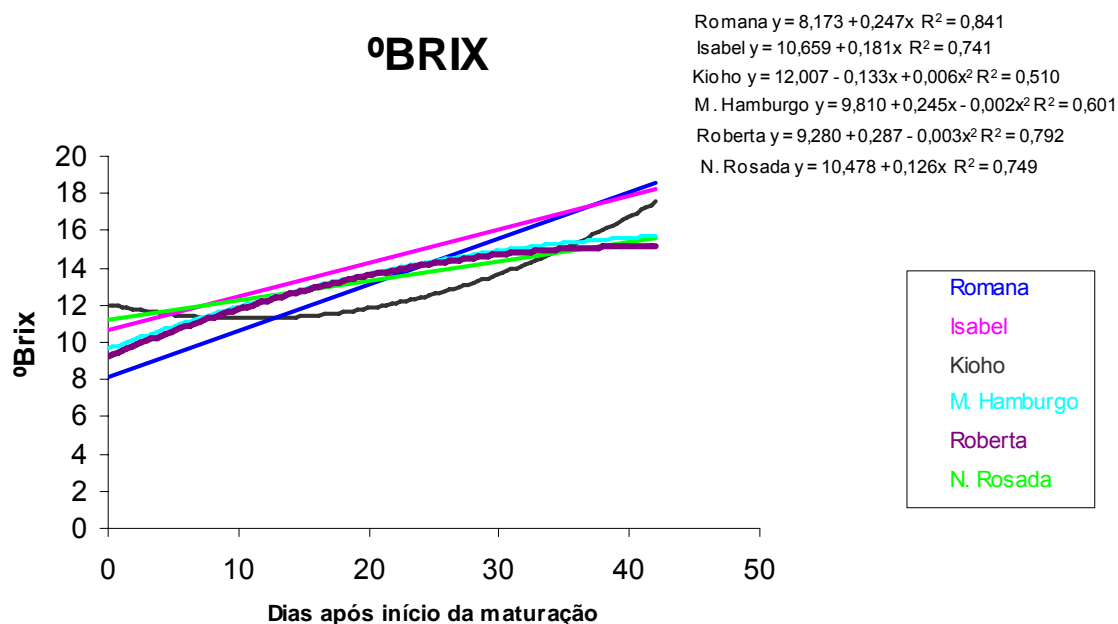


Figura 1 - Teores de sólidos solúveis totais medidos em °Brix, em seis variedades de videiras, em função dos períodos de amostragem

A acidez total titulável foi influenciada pelos genótipos e pelos períodos. Verificou-se efeito da interação genótipo x período (Quadro 5). Os teores de acidez tiveram decréscimos lineares em cinco variedades, exceto na variedade Roberta, que demonstrou uma resposta quadrática (Figura 2). A variedade Isabel foi a cultivar que apresentou os maiores teores de acidez. No início da maturação, na primeira coleta, o valor médio de acidez para esta variedade foi 3,29 g/100 ml, atingindo na colheita, na sétima coleta, teores de 1,5 g/100 ml, valores considerados limitantes para resultar em sabores agradáveis em variedades comerciais (Carvalho e Chitarra, 1984). É importante ressaltar que as análises de acidez foram realizadas em frutos com casca que, segundo Possner et al. (1985), apresenta altos níveis de ácido málico. A variedade Niágara Rosada foi a cultivar que apresentou menores índices de acidez, variando de 1,45 g/100 ml suco no período 1 a 0,68g / 100 mL no ponto de colheita. Observa-se que o coeficiente de variação para acidez total titulável foi baixo (10,88%), podendo-se inferir que ocorreu uma boa precisão experimental.

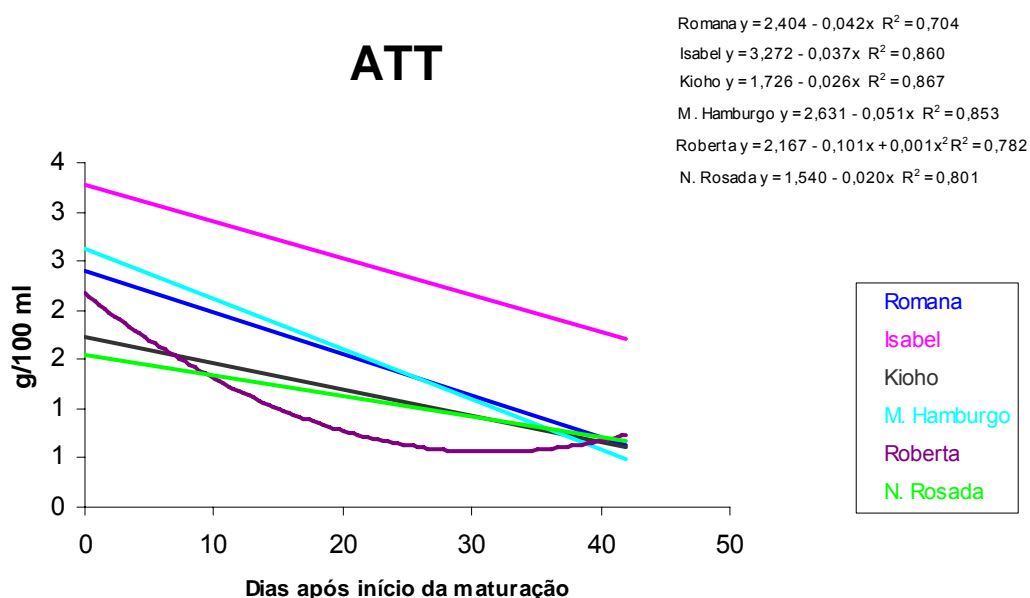


Figura 2- Teores de acidez total titulável, em seis variedades de videiras, em função dos períodos de amostragem

Para a relação SST/ATT, houve influência dos genótipos e dos períodos. Verificaram-se diferenças significativas na interação genótipos x períodos (Quadro 5). Dessa forma, os dados indicam que existem diferenças entre os genótipos para relação SST/ATT. Pôde-se verificar que somente a variedade Romana apresentou um incremento linear na relação SST/ATT, enquanto que as variedades Kioho, Isabel, Moscatel de Hamburgo, Roberta e Niágara Rosada tiveram acréscimo quadrático. Nota-se, na Figura 3, que a variedade Isabel obteve os piores valores para essa característica, atingindo seu ponto máximo no último período, com o valor médio de 11,08 (dados não mostrados), bem abaixo do mínimo de 20, que é recomendado por Bleinroth (1993) e Choudhury (2000). Este resultado pode ser explicado pelo alto índice pluviométrico observado nos meses de junho e julho do ano de 2005 (Quadro 2). Segundo Simão (1971), em condições de baixa precipitação pluviométrica, ocorre a formação de frutos com menor teor de umidade e, conseqüentemente, maior concentração de componentes químicos, inclusive de açúcares e ácidos orgânicos. Vale ressaltar que, apesar da média dos valores das variedades Isabel, Romana e Moscatel de Hamburgo (11,08, 18,56, 19,54, respectivamente) estarem abaixo do recomendado, de acordo com a Associação de Exportadores do Chile (1977), a relação SST/ATT tem caráter secundário, devendo ser avaliada somente quando os valores de sólidos solúveis totais, não atingirem o mínimo recomendado. Para a característica sólidos solúveis totais todas as variedades apresentaram valores satisfatórios, ficando dentro das normas exigidas para comercialização de uvas.

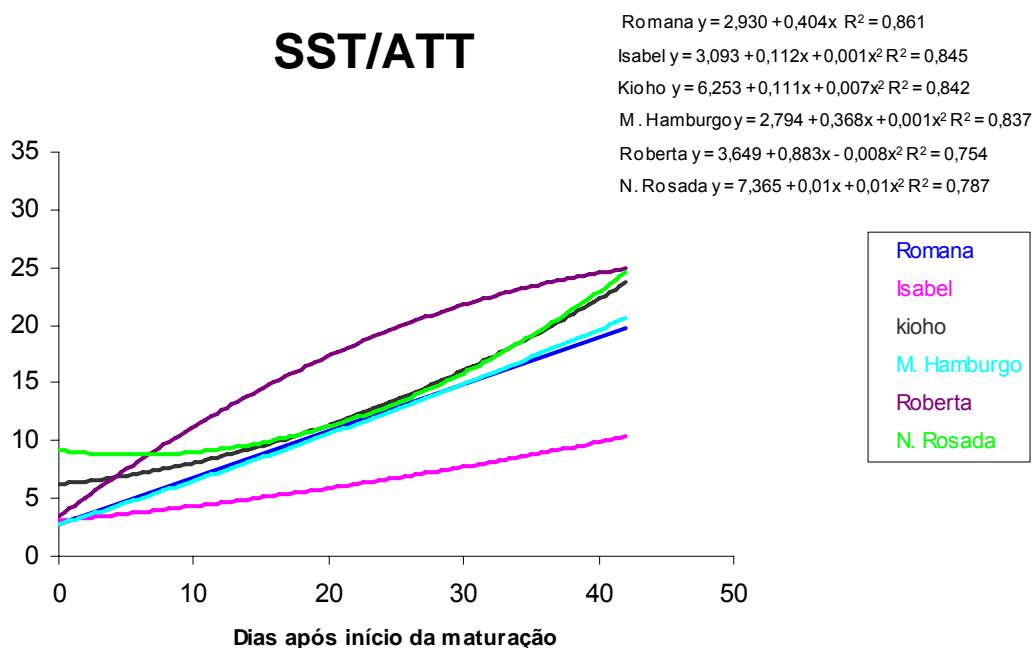


Figura 3 - Relação SST/ATT, em seis variedades de videiras, em função dos períodos de amostragem.

3.2.3.2.2. Teor de vitamina C

Com base no Quadro 5, pode-se observar que houve diferenças significativas para genótipos, para períodos e também para a interação genótipos x períodos. O coeficiente de variação foi moderado (24,69%), indicando boa precisão experimental. As variedades Moscatel de Hamburgo e Niágara Rosada não apresentaram aumentos significativos no teor de vitamina C, mantendo uma média de 2,59 e 1,84 mg/100 g, respectivamente. Nas variedades Romana e Isabel, o teor variou segundo equação linear, com acúmulo de vitamina C ao longo da maturação. A variedade Kioho obteve os maiores valores para vitamina C, com média de 5,33 mg/100 g na época de colheita, seguida pelas variedades Romana e Isabel, com 4,66 e 4,33 mg/100 g, respectivamente. Os valores encontrados, nestas variedades, foram bem superiores ao valor de 3 mg/100 g PF, da cultivar Niágara Rosada. Nogueira et al. (2002), avaliando teores de vitamina C em frutos de acerola, encontraram teores de 1.797 mg/100 ml de suco e 1.561 mg/100 ml de suco. Butt (1980), citado por Nogueira et al. (2002) afirma que o conteúdo de vitamina C, na maioria dos frutos, tende a diminuir durante o

processo de maturação, atribuindo esse decréscimo à atuação da enzima denominada ácido ascórbico oxidase. Segundo Mievska (1984), os teores de vitamina C em uvas aumentam significativamente durante o amadurecimento, atingindo o seu conteúdo máximo na fase de maturidade fisiológica. Segundo este autor, os teores de vitamina C variam entre 1,15 e 6,05 mg %, dependendo das cultivares. Dessa forma, todas as variedades apresentaram teores de vitamina C dentro do padrão esperado, segundo Mievska (1984).

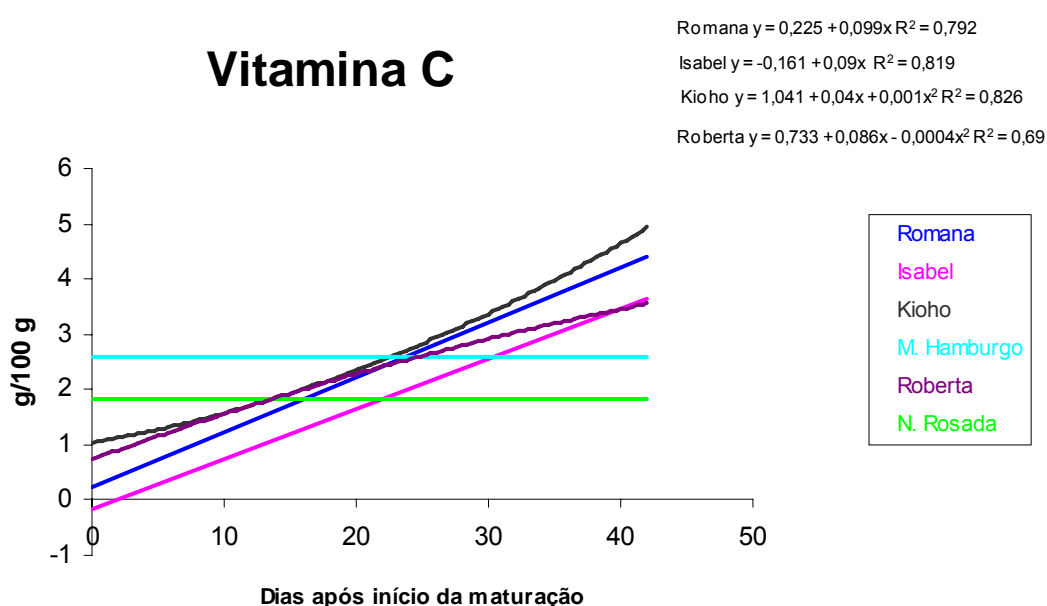


Figura 4 - Teores de Vitamina C em seis variedades de videiras em função dos períodos de amostragem

3.2.3.2.3. Teores de antocianinas

Pela análise do Quadro 5, verificam-se diferenças significativas para genótipos e períodos. O efeito da interação genótipos x períodos também mostrou diferenças significativas. As variedades N. Rosada e Kioho apresentaram um acréscimo com resposta quadrática, enquanto que nas variedades M. Hamburgo e Isabel, o aumento foi linear (Figura 5). O coeficiente de variação foi considerado moderado a baixo (24,22%), indicando boa precisão experimental. A variedade

Isabel, por possuir bagas de coloração preta-azulada intensa, apresentou os maiores teores de antocianinas, atingindo 374,88 mg/100 g PF, valores bem superiores aos encontrados para as outras variedades. A variedade Niágara Rosada obteve os menores índices (80 mg/100 g PF), resultado este já esperado por se tratar de uma variedade de coloração mais avermelhada. É importante lembrar que a análise de antocianinas só foi realizada com as variedades de coloração vermelha (Isabel, Kioho, Niágara Rosada e Moscatel de Hamburgo).

Quadro 6 - Resumo da análise de variância para teores de Antocianinas em quatro variedades de videiras

		QM
FV	GL	
Rep	2	3986.45*
Genótipo	3	123646.95**
Erro A	6	1329.84
Período	6	29754.80**
Genótipo x período	18	8823.88**
Erro B	39	892.26
CV%		24.22

** Significativo a 1% pelo teste F.

* Significativo a 5% pelo teste F.

CV= Coeficiente de variação em porcentagem.

Antocianinas

$$\begin{aligned} \text{Isabel } y &= 105,329 + 6,667x \quad R^2 = 0,706 \\ \text{Kioho } y &= 154,971 - 9,329x + 0,267x^2 \quad R^2 = 0,763 \\ \text{M. Hamburgo } y &= 48,374 + 3,259x \quad R^2 = 0,695 \\ \text{N. Rosada } y &= 27,967 - 2,213x + 0,087x^2 \quad R^2 = 0,898 \end{aligned}$$

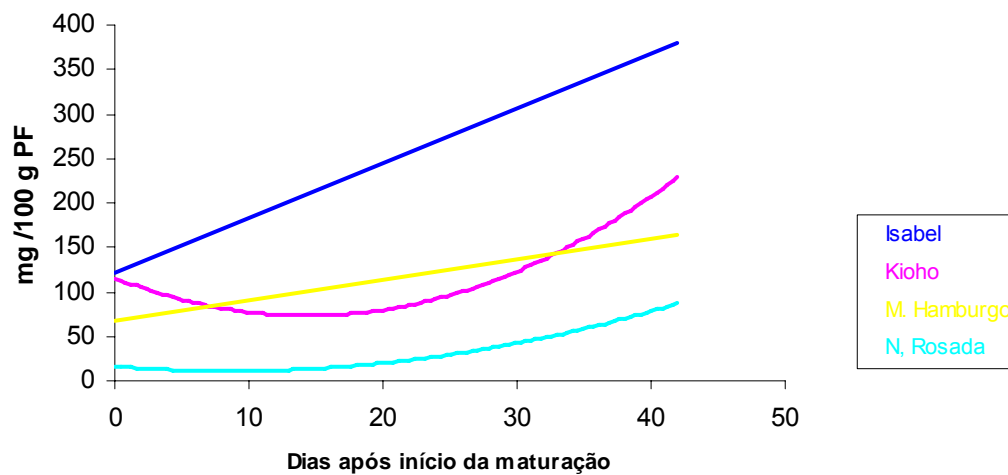


Figura 5 - Teores de antocianinas, em quatro variedades de videiras, em função dos períodos de amostragem.

3.2.4. CONCLUSÕES

Em todas as variedades estudadas, observou-se uma clara variação entre os estádios fenológicos e ciclos de produção, o que será de grande valia para estudos fitotécnicos e ajustes na tecnologia de produção de videira para as condições do Norte Fluminense.

Na caracterização qualitativa das variedades, observaram-se ótimos resultados evidenciando o potencial de produção de uvas de qualidade na região supracitada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Associação de Exportadores do Chile (1997) Fruta fresca chilena de exportación- uva de mesa - manual de produtos. Santiago, p. 2-13
- Bleinroth, E.W. (1993) Determinação do ponto de colheita. *In: Gorgattineto, A., Gayet, J.P., Bleinroth, E.W. (eds.) Uva para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita.* Brasília: EMBRAPA-SPI/FRUPEX, p. 20-21. (Publicações Técnicas).
- Bezerra Neto, E., Andrade, A.G. de, Barreto, L.P. (1994) *Análise química de tecidos e produtos vegetais.* Recife: UFRPE, 80p.
- Camargo, U.A. (1998). O melhoramento genético da videira na EMBRAPA uva e vinho. *Simpósio Brasileiro de Melhoramento de Fruteiras*, Jaboticabal.
- Choudhury, M.M. (2000) Colheita, manuseio pós-colheita e qualidade mercadológica de uvas de mesa. *In: Souza Leão, P.C., Soares, J.M. (eds.) A viticultura no semi-árido brasileiro.* Petrolina: Embrapa Semi-árido, 366p.
- Cruz, C.D. (1997) Programa GENES (Versão Windows) Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Imprensa Universitária 442p.

- Eichorn, K.W., Lorenz, H. (1977) *Phaenologische Entwicklungsstadien der Rebe. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, Stuttgart, (29):119-120.
- Matsuura, F.C.A.U., Cardoso, R.L., Folegatti, M.I., Oliveira, J.R.P., Oliveira, J.A.B., Santos, D.B. (2001) Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 23(3):602-606.
- Mievska T.S.(1984) Dynamics of vitamine C in berries of several table grape cultivars. *Gradinarska I Lozarska Nauka*,Sofia. 21 (5):59-64.
- Mitcham, B., Cantwell, M., Kader, A. (1996) Methods for Determining quality of fresh comodities. *Perishables Handling Newsletter*. 85. 5p.
- Murakami, K.R.N., Carvalho, A.J.C., Cereja, B.S., Barros, J.C.S.M., Marinho, C.S. (2002) Caracterização fenológica da videira cv. Itália (*Vitis vinifera* L.) sob diferentes épocas de poda na região de norte do estado do rio de janeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24 (3): 615-617.
- Nogueira, R.J.M.C., Moraes, J.A.P.V., Burity, H.A., Junior, J.F.S. (2002) Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, 37(4):463-470.
- Pommer, C.V. (2003) *Uva: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. Porto Alegre: Cinco continentes, 778p.
- Possner, D.R.E., Kliwer, W.M. (1985) The localisation of acids, sugars, potassium and calcium in developing grapes berries. *Vitis* 24:229-240.
- Tais, L., Zieger, E. (2004) *Fisiologia vegetal*. Tradução de Eliane Romanato Santarém. Porto Alegre: Artmed, 719p.

Terra, M.M., Pires, E.J.P., Nogueira, N.A.M. (1998) *Tecnologia para produção de uva Itália na região Noroeste do Estado de São Paulo*. 2. ed. Campinas: CATI, 58p. (Documento Técnico, 97).

3.3. RESUMOS E CONCLUSÕES

Para caracterização molecular da coleção molecular de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, realizou-se o estudo da diversidade genética de 12 variedades elite por meio de marcadores RAPD.

Através da dissimilaridade genética baseada no índice de complemento de Jaccard, foi obtida a matriz de distância entre cada genótipo, sendo as variedades Niágara Rosada e Itália as mais distantes geneticamente e as variedades Rubi e Itália as mais próximas.

Com os métodos de agrupamento de otimização de Tocher e hierárquico do vizinho mais distante foi possível discriminar 3 grupos. O método de Tocher agrupou a variedade apirênia UFV 01 num grupo separado, enquanto que, pelo método do vizinho mais distante, a variedade UFV 01 formou um grupo com a variedade Romana, também apirênia.

O marcador SCAR SCC8 mostrou-se bastante eficiente para discriminar genótipos apirênios de genótipos com semente. As variedades apirênias Romana e UFV 01 mostraram-se indivíduos heterozigotos em relação à característica de apirenia.

Objetivando avaliar o comportamento de variedades de videiras introduzidas na região Norte Fluminense, realizou-se a determinação do ciclo reprodutivo e composição química de seis variedades de videiras. Os resultados obtidos permitiram as seguintes observações:

As condições climáticas, no ano de 2006, garantiram uma considerável redução do período de poda à colheita para todas as variedades estudadas. Esses resultados podem ser explicados pelo baixo índice pluviométrico registrados no ano de 2006, permitindo assim um incremento acelerado dos componentes químicos do fruto. É importante ressaltar que essa redução do ciclo é benéfica, pois reduz consideravelmente os custos de produção e garante a oferta de uvas fora de época.

Pela análise química dos frutos, todas as variedades apresentaram resultados satisfatórios quanto aos teores de Brix, acidez, SST/ATT, vitamina C e antocianinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asenjo, C.F., Guzmán, S.F. (1946) The high ascorbic acid content of the West Indian Cherry. *Science*, 103:219.

Associação de Exportadores de Chile (1997). *Fruta fresca chilena de exportación- uva de mesa* - Manual de produtos. Santiago, p. 2-13.

Barros, J.C.S.M., Ferri, C.P., Okawa, H. (1995) Qualidade da uva fina de mesa comercializada na Ceasa de Campinas. *Informações Econômicas*, São Paulo, 25(7):53-61.

Barticevic, M.R., Zavala, K.M., De Felice, S., Valenzuela, J.B., Muñoz, C.S., Hinrichsen, P.R. (2004) Caracterización fenotípica de segregantes identificados con marcadores de microsatélites, con énfasis en apirenia y respuesta a ácido giberélico en crecimiento de bayas de uva. *Agricultura Técnica*. Chile, 64 (1):3-16.

Bleinroth, E.W. (1993) Determinação do ponto de colheita. In: Gorgattineto, A., Gayet, J.P., Bleinroth, E.W. (eds.) *Uva para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita*. Brasília: EMBRAPA-SPI/FRUPEX, p. 20-21. (Publicações Técnicas).

- Bouquet, A., Danglot, Y. (1996) Inheritance of seedlessness in grapevine, *Vitis vinifera* L. *Vitis* 35 (1):35-42.
- Borém, A. (1999) *Melhoramento de espécies cultivadas*. Editora UFV, 817p.
- Borém, A. (2001) *Melhoramento de plantas*. Editora UFV, 453p.
- Bezerra Neto, E., Andrade, A.G., Barreto, L. P. *Análise química de tecidos e produtos vegetais*. Recife: UFRPE, 1994. 80p.
- California Table Grape Commission (1995) The distribution and per capita consumption of California table grapes by major varieties in the United States and Canada. *Califórnia Table Grape Commission*, Califórnia, EUA.
- Camargo, U.A. (1998) O melhoramento genético da videira na EMBRAPA uva e vinho. In: *Simpósio Brasileiro de Melhoramento de Fruteiras*, Jaboticabal.
- Camargo, U.A., Amaral, A.L., Oliveira, P.R.D. (2000) Uvas sem sementes. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* (Encarte Especial).
- Campo (1998) - Cia de Promoção Agrícola. *Estudo da variabilidade de um pólo de fruticultura na região Norte-Noroeste Fluminense*. Brasília: FIRJAN, 29p.
- Chinnici, F., Antonelli, A., Amati, A., Piva, A. (1999) Composition of grapes from cv. Trebbiano romagnolo affected by Esca, *Vitis* 38 (4):187-188.
- Choudhury, M.M. (2000) Colheita, manuseio pós-colheita e qualidade mercadológica de uvas de mesa. In: Souza Leão, P.C., Soares, J.M. (eds.) *A viticultura no semi-árido brasileiro*. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 366p.
- Constantinescu, G.A., Pena, A., Indreas, A. (1975) Inheritance of some Qualitative and quantitative characters in the progeny of crosses between functionally female (Gynodynamic) and apyrene (Androdynamic) varieties. (Romanian) *Probl. Genetics Teoretical Applied*, 7:213-241.

- Costa, A.F. (2004) *Avaliação de Características Agronômicas em Variedades e de Diversidade Molecular em Variedades, Híbridos e Espécies de Videira*. Tese (Mestrado em Produção vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 95p.
- Couto, F. A. D., Nacif, S. R. (1999) *Hibridação em mamão*. In: Borém, A. (org.) Hibridação artificial de plantas. Viçosa, MG: UFV, 307-329p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows), aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Dal col lúcio, A., Fortes, F.O., Storck. L., Filho, A.C. (2006) Abordagem multivariada em análise de sementes de espécies florestais exóticas. *Cerne*, Lavras, 12 (1):27-37.
- Dudnik, N. A., Moliver, M. G. (1976) Inheritance of seedlessness in grape in the South of Ukrainian SSR. Ref. *Zhurnal* 5.55.118:105-113.
- Eichorn, K.W., Lorenz, H. (1977) Phaenologische Entwicklungstadien der Rebe. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, Stuttgart, 29:119-120.
- Fanizza, G., Colonna, G., Resta, P., Ferrara, G. (1999) The effect of the number of markers on the evaluation of genotypic distances in *Vitis vinifera*. *Euphytica* 107]: 45-50.
- Fanizza, G., Corona, M.G., Resta, P. (2000) Analysis of genetic relationships among Muscat grapevines in Apulia (South Italy) by RAPD markers. *Vitis*. 39:4: 159-161.
- Fernandez, M.T. 1991 *Biología de la vid*: fundamentos biológicos de la viticultura. Madrid: Mundi, 349 p.

- Ferreira, M.A.S.V., Braga, J.P., França, C.D., Uesugi, C.H., Lima, M.F. (2000) Caracterização bioquímica de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. *Fitopatologia Brasileira*, n. 25, Suplemento, p. 459.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. EMBRAPA-CENARGEN: Brasília, 220p.
- Food And Agriculture Organization Of The United Nations. FAOSTATAgriculture; <<http://faostat.fao.org>> em: 08/03/2004.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTATAgriculture. <<http://faostat.fao.org>> em: 28/06/2006.
- Gerrath, J. M., Posluszny, U. (1988) Morphological and anatomical development in the Vitaceae, II: Floral development in *Vitis Riparia*. *Can. J. Bot.* 65:1334-1351.
- Golodriga, P., Troshin, L. P., Frolava, L. I. (1978) Inheritance of the character of seedlessness in the hybrid generation of *Vitis vinifera*. *Tsitol. Genetics* 19:372-376.
- Gorgocena, Y., Arulsekar, S., Dandekar, A. M., Parfitt, D. E. (1993) Molecular markers for grape characterization. *Vitis*. 32:183-185.
- Grangeiro, L.C., Leão, P.C.D., Soares, J.M.(2002) Caracterização fenológica e produtiva da variedade de uva Superior seedless cultivada no Vale do São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 24(2): 552-554.
- Henshall, J.D. (1981) Ascorbic acid in fruit juices and beverages. In: Counsell, J.N., Horning, D.H. eds. *Vitamin C (Ascorbic Acid)*. London: *Applied Science*.
- Herrera, R., Cares, V., Wilkinson M.J., Caligari, P.D.S. (2002) Characterisation of genetic variation between *Vitis vinifera* cultivars from central Chile using RAPD and Inter Simple Sequence Repeat markers. *Euphytica*, 124:139–145.

- Hilbert, G., Soyer, J.P., Molot, C., Giraudon, J., Milin, S., Gaudillere, J.P. (2003). Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot. *Vitis*, 42 (2):69–76.
- IBGE. Banco de dados agregados - SIDRA. Produção agrícola municipal (PAM)<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp> > em: 08/2005.
- Jean-Jaques, I., Defontaine, A., Hallet, J.N. (1993) Characterization of *Vitis vinifera* cultivars by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis*, 32:189-190.
- Khachatryan, S.S., Martirosyan, E.L. (1971) Nature of inheritance of large fruit and size and number of seeds per fruit in hybrid progenies of vinifera. Ref. *Zhurnal*, 7.55.119.
- Kliwer, W.N. (1981) *Fisiologia da videira: como produz açúcar uma videira?* Trad. por Celso V. Pommer e Ilene R.S. Passos. Campinas, Instituto Agrônomo, 20p.
- Lahouge, F., This, P., Bouquet. A. (1998) Identification of a codominant scar marker linked to the seedless character in grapevine. *Theoretical applied genetics* 97:950-959.
- Leedbetter, C.A., Burgos, L (1994). Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L. *Journal of Heredity*, 85: 157-160.
- Lodhi, M.A., YE, G.N., Weedes, N.F., Reisch, B.I. (1994) A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. *Plant Molecular Biology Reporter* 12 (1):6-13.
- Loomis, N.H., Weinberger, J.H. (1979) Inheritance Studies of seedlessness in grapes. *Journal Of American Soc. Hort. Sci.*, 104:181-184.

- Matsuura, F.C.A.U., Cardoso, R.L., Folegatti, M.I., Oliveira, J.R.P., Oliveira J.A.B., Santos D.B. (2001) Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) *Revista Brasileira Fruticultura*, Jaboticabal, 23 (3):602-606.
- Mievska, T.S. (1984) Dynamics of vitamine C in berries of several table grape cultivars. *Gradinarska I Lozarska Nauka*, Sofia, 21 (5):59-64.
- Mitcham, B., Cantwell, M., Kader, A. (1996) Methods for determining quality of fres comoditiies. *Perishables Handling Newsletter*. 85. 5p.
- Murakami, K.R.N., Carvalho, A.J.C., Cereja, B.S., Barros, J.C.S.M.,Marinho, C.S. (2002) Caracterização fenológica da videira cv. Itália (*Vitis vinifera* L.) sob diferentes épocas de poda na região de norte do estado do rio de janeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(3):615-617.
- Nogueira, R.J.M.C., Moraes, J.A.P.V., Burity, H.A., Junior, J.F.S. (2002) Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. *Pesquisa agropecuária brasileira*., Brasília, 37 (4):463-470.
- Núñez, V., Monagas, M., Gomez-Cordovés, M.C., Bartolomé, B. (2004) *Vitis vinifera* L. cv. Graciano grapes characterized by itsanthocyanin profile. *Postharvest Biology and Technology* 31:69–79.
- Oliveira, V.H., Lima, R.N. (2000) Influência da irrigação e da localização da inflorescência sobre a expressão do sexo em cajueiro-anão precoce. *Pesquisa Agropecuária*, 35:1751-1758.
- Pommer, C.V. (2003) *Uva: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. Porto Alegre: Cinco continentes, 778p.
- Pospilova, D., Palenik, V. (1988) Heredity of seedlessness in grapes. *Genetics*, Sletchteni, 24:325-332.

- Possner, D.R.E., Kliewer, W.M. (1985) The localisation of acids, sugars, potassium and calcium in developing grapes berries. *Vitis*, 24:229-240.
- Ramming, D.W. (1990) The use of embryo culture in fruit breeding. *HortScience*, Alexandria, 25(4):393-398.
- Reisch, B.I., Pratt, C. (1996) Grapes. In: Janick, J., Moore, J.N. (eds.) *Fruit breeding, Vine and small fruit crops*. v. 2. John Wiley & Sons, p. 287-360.
- Sandhu, A.S., Jawanda, J.S., Uppal, D.K. (1984) inheritance of seed characters in hybrid populations of intercultural crosses of grapes (*Vitis vinifera* L.). *J. Res. Punjab. Agricult. Univ.* 21:39-44.
- Sentelhas, P.C. (1998) Aspectos climáticos para a viticultura Tropical. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 19(194):9-14.
- Smart, R.E., Tukington, C.R., Evans, C.J. (1964) Grapevines response to furrow and trickle irrigation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25:62-68.
- Souza Leão, P.C. (2001) *Comportamento das variedades de uva sem sementes Crimson Seedless e Fantasy Seedless no submédio Sao Francisco*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 18p.
- Sousa, J.S.I. (1996) *Uvas para o Brasil*. Piracicaba: Fealq, 791p.
- Spiegel- Roy, P., Baron, Y., Sahar, N. (1990) Inheritance of seedlessness in seeded x seedless progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis* 29:79-83.
- Stout, A.B. (1936) Seedlessness in grapes. *N. Y. State Agricultural Expt. Stat. Tech. Bull.* 238p.
- Striem, M.J., Ben-hayyim, G., Spiegel-Roy, P. (1994) Developing molecular genetic markers for grape breeding, using polymerase chain reaction procedures. *Vitis*, 33:53-54.

- Tais, L., Zieger, E. (2004) *Fisiologia vegetal*. Tradução de Eliane Romanato Santarém. Porto Alegre: Artmed, 719p.
- Terra, M.M., Pires, E.J.P., Nogueira, N.A.M. (1998) *Tecnologia para produção de uva Itália na região Noroeste do Estado de São Paulo*. 2. ed. Campinas: CATI, 58p. (Documento Técnico, 97).
- Thomas, M.R., Scott, N.S. (1993) Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theoretical Applied Genetics*, 86:985-990.
- Weinberger, J.H., Harmon, F.N. (1964) Seedlessness in *Vitis vinifera* grapes. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 85:270-274.
- Vidal, J.R., Coarer, M., Defontaine, A. (1999) Genetic relationships among varieties grown in different French and Spanish regions based on RAPD markers. *Euphytica*, 109:161-172.
- Vidal, J.R., Delavault, P., Coarer, M., Defontaine, A. (2000) Design of grapevine (*Vitis vinifera*) cultivar-specific SCAR primers for PCR fingerprinting. *Theoretical Applied Genetics* 101:1194-1201.
- Winkler, J. (1965) *General Viticulture*. University of California Press, Berkeley: p.137-162.
- Zoghalmi, N., Miliki, A., Ghorbel, A. (2001) Evaluation of genetic diversity among Tunisian grapevines by RAPD markers. *Vitis*, 40:31-37.