



IDIES Edición 2016-2017

Caracterización molecular con SSRs de nuevos híbridos de uva de vinificación

Ángel Iniesta Sánchez y Miguel Sánchez-Campillo Martínez Tutores: Celia Martínez Mora¹ y Carlos Lopesino Vega²

¹ Departamento de Viticultura. Equipo de Mejora Genética Molecular, IMIDA. ² IES Infante Don Juan Manuel (Murcia)





INTRODUCCIÓN

La uva de vinificación tiene gran importancia económica en la Región de Murcia, siendo Monastrell la variedad preferente adaptada a las condiciones climáticas de la zona.

IMIDA desarrolla un programa de mejora genética de Monastrell mediante cruzamientos dirigidos con otras variedades de vid que le confieran resistencia a plagas y enfermedades, adaptación a la sequía o mejora de calidad y diversidad en los vinos. Los marcadores moleculares microsatélite son parte esencial de este programa para identificar y caracterizar el material vegetal, reduciendo los tiempos de espera y los costes asociados.

OBJETIVOS

- Genotipar las variedades comerciales de Vitis vinífera empleadas mayoritariamente en la Región de Murcia.
- heredabilidad de los alelos paternos y maternos obteniendo su "huella genética" y autofecundaciones descartando polinizaciones con polen no deseado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cruzamientos dirigidos



EMASCULACIÓN



POLINIZACIÓN



EMBOLSADO



PLANTACIÓN

Análisis Molecular

1. Extracción ADN

DNeasy Plant Mini Kit (QUIAGEN)



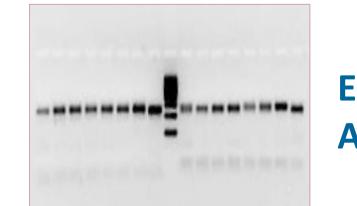
4 Vitis vinífera y 12 nuevos híbridos

2. PCR-Electroforesis

Vf 20µl y 20 ng ADN: 1X Buffer; 1,5mM MgCl2; 0,2 mM/dNTP (Bioline); 0,4U Taq polimerasa (Bioline)



Termociclador; GeneAmp-9600



Electroforesis; Agarosa 2%

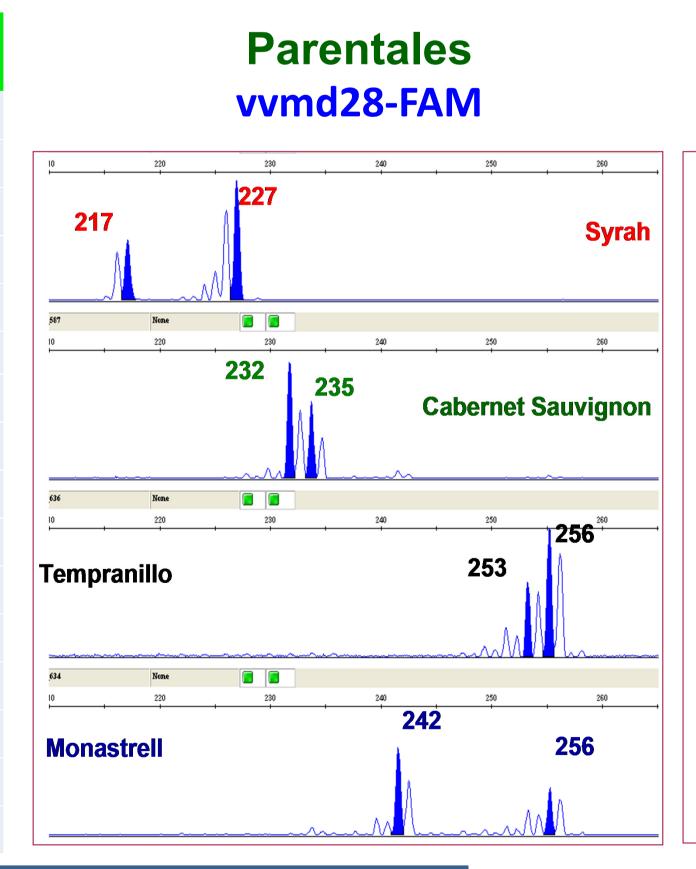
3. Visualización y análisis

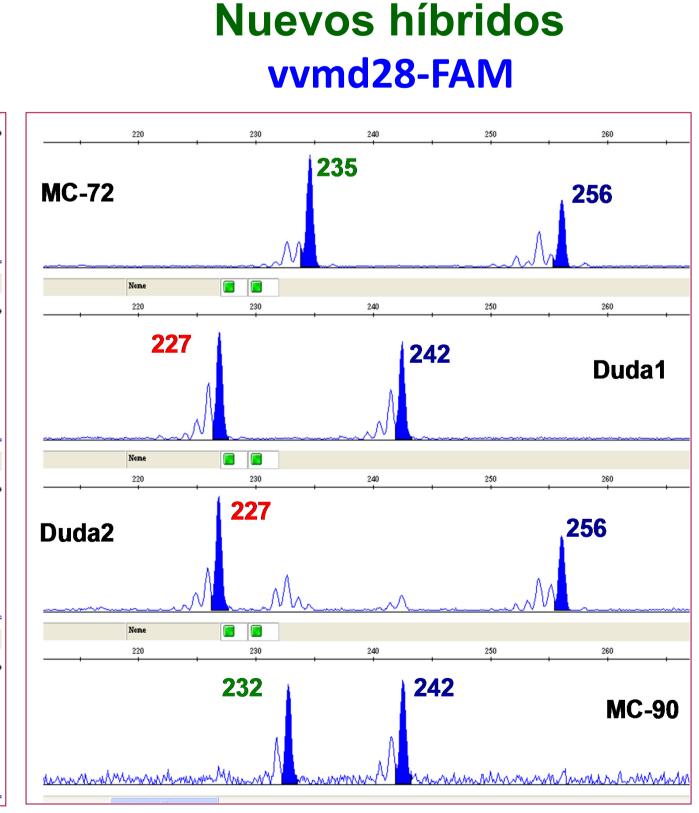
- 8 SSRs polimórficos; Genebank (http://ncbi.nlm.nih.gov) marcados con fluorescncia (FAM, PET, NED).
- Separación de fragmentos PCR; secuenciador de capilares ABI 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)
- Análisis de tamaños alelélicos: Programa GeneMapper v3.7

RESULTADOS

- •El genotipado de las 4 variedades de Vitis vinífera y 12 híbridos con 8 SSRs polimórficos ha permitido la identificación de sus tamaños alélicos para cada marcador y la verificación de su procedencia.
- •10 híbridos resultaron ser cruces de Monastrell por Cabernet Sauvignon y dos de ellos son cruces de Monastrell por Syrah.

Individuo	vmc1a12	vmc1e11	vvmd5	vmc2h10	vvmd28	vmc5e9	vmc8g6	vvmd27
SYRAH	138 151	183 195	223 229	104 128	217 227	218 222	169 173	187 189
TEMPRANILLO	147 151	195 197	233 233	106 113	253 256	199 214	139 150	181 181
CABERNET	122 151	191 195	229 237	104 128	232 235	195 218	161 165	173 187
MONASTRELL	119 138	187 193	223 237	106 116	242 256	214 227	139 173	177 187
MC19	138 151	187 195	237 237	104 106	232 242	214 218	161 173	177 187
MC16	119 151	191 193	229 237	116 128	232 256	218 227	139 165	187 187
MC49	119 122	187 191	229 237	104 116	232 242	195 214	165 173	173 187
MC38	119 151	187 195	237 237	104 116	232 242	195 227	139 165	173 187
MC59	119 122	187 195	223 237	104 106	232 256	195 214	139 161	173 187
MC56	119 122	191 193	237 237	116 116	235 256	218 227	161 173	187 187
MC84	122 138	187 191	237 237	104 116	235 256	214 218	161 173	187 187
MC72	122 138	193 195	223 229	104 116	235 256	195 227	139 165	173 177
DUDA1	138 151	183 187	229 237	116 128	227 242	214 218	169 173	187 187
MC18	122 138	187 193	223 229	104 116	232 224	195 227	165 173	173 187
DUDA2	119 151	193 195	223 237	104 116	227 256	218 227	169 173	187 187
MC90	122 138	187 195	237 237	106 128	232 242	195 227	139 165	173 187





Conclusiones

Los SSRs en programas de mejora de Vitis vinífera son una técnica efectiva y complementaria para identificar y caracterizar el material vegetal de cara a nuevas obtenciones, certificaciones de material y bancos de germoplasma.







