

Coleção Ampelográfica Nacional: uma “ferramenta” indispensável à preservação e ao melhoramento de variedades autóctones de videira

Garantir a preservação das variedades de videira deixadas pelos nossos antepassados é alicerçar e satisfazer as gerações futuras. É sobre estas variedades que deve incidir o melhoramento genético de forma a acompanhar as tecnologias e modas que integram o sistema cultural. Caso contrário, haverá perdas de eficácia, competitividade e identidade própria!

Jorge Cunha, João Brazão, Francisco Baeta,
J.E. Eiras-Dias . INIAV, I.P.



Figura 1 – Preservação *ex situ*, de variedades autóctones, porta-enxertos, variedades internacionais de renome e outras espécies de *Vitis*, em coleção de campo (Coleção Ampelográfica Nacional)

A Coleção Ampelográfica Nacional (CAN, PRT051) é um banco de germoplasma para conservação das inúmeras variedades de videira autóctones, que outrora estiveram em risco de extinção e que hoje se encontram salvaguardadas e acessíveis a todos os setores da Vitivinicultura, nas instalações do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, em Dois Portos, ex-Estação Vitivinícola Nacional, no concelho de Torres Vedras [39°02'34,03"N, -9°10'57,41"W]. Acresce ainda dizer que este campo contempla, igualmente, um número considerável de plantas de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (C.C. Gmel.) Hegi provenientes de bosques ripícolas, assim como algumas variedades internacionais de renome, de porta-enxertos e de outras espécies *Vitis* com interesse para a vitivinicultura nacional e sistema científico. É a coleção de referência que suporta o Catálogo Nacional de Variedades de Videira (CNVV), publicado pela DGAV (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (<http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=23555&generico=3662422&cboui=3662422>), e também a lista de castas de uvas aptas à produção de vinho em Portugal (Portaria n.º 380/2012, de 22 de novembro) da responsabilidade do IVV (Instituto da Vinha e do Vinho, I.P., <https://www.ivv.gov.pt/np4/home.html>).

Desde a sua instalação, em 1988, que o objetivo principal visa resolver os problemas

de sinonímia e homonímia dispersos pelas diferentes regiões vitivinícolas, assim como a **preservação de todas as variedades de videira existentes em Portugal** (Figura 1). Nesta Coleção têm sido desenvolvidos numerosos trabalhos de caracterização preliminar de variedades de videira, ao nível agronómico e enológico, bem como de caracterização morfológica, com base nos descriptores da *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin* (OIV, 1983, 2009). Desta forma, foi possível identificar um número considerável de sinónimas e homónimas. Posteriormente, com o advento da biologia molecular, através da utilização de marcadores moleculares do tipo microssatélites (SSR) foram encontradas novas sinónimas e homónimas e foram comprovados todos os casos previamente identificados através das descrições morfológicas (Veloso et al., 2010). Desde 2012, a genotipagem das variedades autóctones portuguesas tem si-

do realizada recorrendo a marcadores do tipo polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP), marcadores estes de mais fácil interpretação e confirmação entre bases de dados (Cunha et al., 2016), em comparação com os microssatélites. Estes marcadores são facilmente utilizados em trabalhos de identidade (Cunha et al., 2016) e principalmente em estudos de filogenia de variedades (Cunha et al., 2015; Zinelabidine et al., 2015), pois têm permitido identificar com maior exatidão graus de parentesco entre as variedades Portuguesas e entre estas e outras internacionais.

Neste artigo procura dar-se a conhecer a diversidade de variedades de videira existentes na CAN (Figura 2) e simplificar a sua análise, recorrendo a todo o conhecimento sistematizado até à presente data, assim como os trabalhos em curso que surgem na sequência dos anteriormente realizados e que se enquadram nas linhas de trabalho



Figura 2 – Fenotipagem de variedades de videira conservadas na CAN, em relação à forma e compacidade do cacho, de acordo com os descriptores da OIV

definidas no Projeto PDR2020-784-042738 aprovado pela Operação 7.8.4., “Conservação e Melhoramento de Recursos Genéticos Vegetais” do Programa de Desenvolvimento Rural 2014-2020. Este projeto, iniciado em outubro de 2018, apresenta como objetivos principais conservar, caracterizar e melhorar as castas autóctones preservadas na CAN.

Origem das variedades de videira

Com a expansão da videira dos seus centros de origem (Cáucaso, Mar Cáspio, Afeganistão), passando pelas grandes civilizações como a Mesopotâmia e o Egito (Zohary e Hopf, 1993) até chegar aos países europeus produtores de vinho, a videira proliferou através de mecanismos de hibridação natural e propagação vegetativa, tendo-se diferenciado também através de mecanismos de adaptação às mais variadas situações ambientais. Assim, surgiu uma enorme diversidade com um largo espetro de aptidões (Negrul, 1938). As variedades que melhor se adaptaram conquistaram o mundo, enquanto outras, ditas regionais, tiveram sucesso em áreas geograficamente limitadas. A grande diversidade de variedades (diversidade intervarietal) que se desenvolveu durante milénios, resultado de hibridação natural (multiplicação sexuada) entre as diferentes variedades ou de propagação vegetativa (multiplicação assexuada), tem sofrido períodos de erosão genética, como foram os casos das grandes crises vitícolas provocadas pelos fungos mísio e oídio, de origem norte-americana. O período de maior erosão genética, praticamente incontrolável até à descoberta da utilização de porta-enxertos, e com reflexos atuais, surgiu na Europa na segunda metade do século XIX, tendo sido provocada pela filoxera. Este inseto picador-sugador das raízes revolucionou totalmente a vitivinicultura da Europa, provocando a destruição de vastas áreas de vinha e o abandono da cultura da vinha em pé-franco, conduzindo a uma re-

novação mais frequente das vinhas, fomentando o desaparecimento de um número considerável de variedades. A estas perdas podem juntar-se a ausência de diversidade em consequência do desaparecimento das *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (C.C.Gmel.) Hegi, destruídas pela filoxera e pelas doenças criptogâmicas introduzidas da América do Norte.

Ainda assim, muitas das variedades atuais portuguesas são pré-filoxéricas e terão sobrevivido devido à orografia de Portugal e, sobretudo, ao estabelecimento de “Coleções Ampelo-Phylloxericas” como a do Sul, sita em Torres Vedras, na Quinta da Viscondessa. Esta iniciativa de preservação tornou possível acompanhar muito do percurso evolutivo das variedades existentes em Portugal.

A título de exemplo, até há bem pouco tempo pensava-se que a variedade “Mourisco de Semente”, variedade cultivada no Douro, que devido às boas características culturais e enológicas foi multiplicada e preservada pelo Homem, seria provavelmente um dos casos de variedades provenientes de semente, via hibridação natural, tendo na sua designação a referência a essa origem remota. Em resultados obtidos mais recentemente, verificou-se que muitas outras variedades portuguesas, como a Castelão, a Moreto, a Malvasia Fina (Figura 3), entre outras, com grande impacto na vitivinicultura portuguesa, também tiveram origem a partir

de uma semente (grainha), via hibridação natural, tendo sido os seus progenitores já bem identificados e relatados (Cunha et al., 2015; Zinelabidine et al., 2015). A origem de muitas outras variedades está a ser estudada dentro das variedades portuguesas e em variedades provenientes de coleções da Argélia, Argentina, Austrália, Bélgica, Chile, Espanha, França, Irão, Itália, Montenegro, Marrocos, Roménia e Tunísia, num total de 1921 diferentes variedades, com origem desde o Próximo Oriente até aos países da Europa Ocidental.

Variedades novas versus variedades existentes!

Sempre que a ampelografia clássica não consegue associar o fenótipo de uma planta de videira a uma variedade registada, tendencialmente fica apelidada pelo nome que o viticulor lhe atribui e, consequentemente, classificada como uma nova variedade, e seguramente muito antiga (devido à antiguidade do fenótipo observado).

Atualmente, com o aparecimento da biologia molecular utilizando a técnica de microssatélites (SSR), surgiu um novo paradigma de identificação de variedades de videira. Com esta metodologia, quando conjugada com bases de dados extraídas de Coleções Ampelográficas de variedades de videira bem estudadas, quase sempre se consegue chegar à identidade da variedade. No entanto, essa identidade terá sempre de

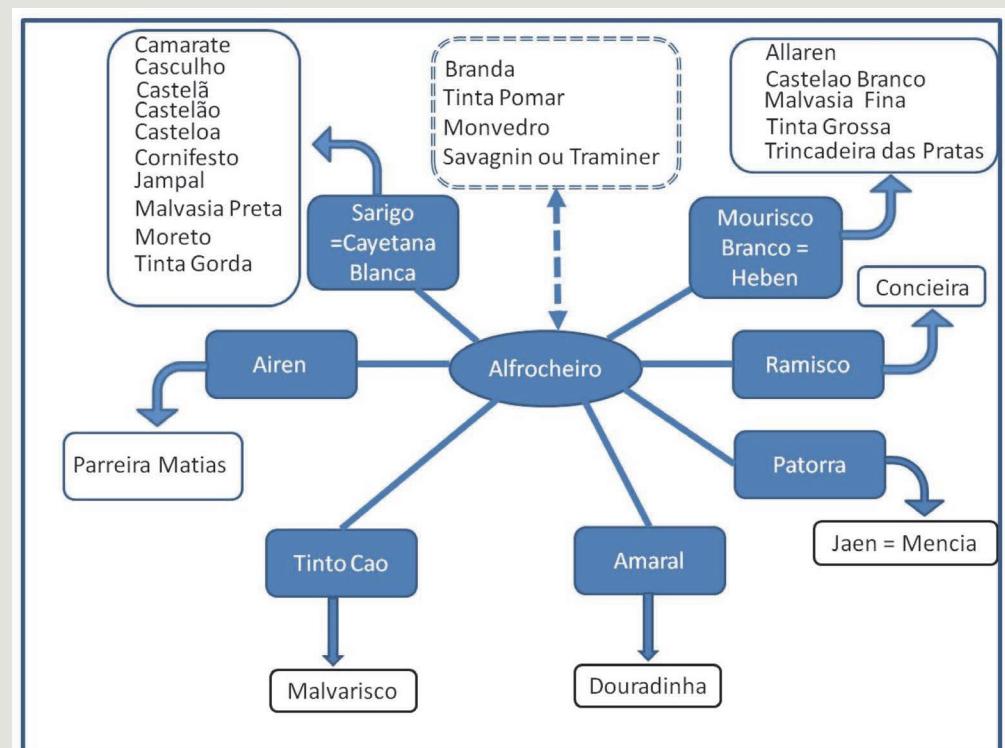


Figura 3 – Relação genética entre variedades. Fundo azul e fundo branco com linhas sólidas indicam linhagem completa (trio, pais e filhos), enquanto fundo branco e linhas tracejadas indicam cultivares que compartilham pelo menos um alelo por locus para 252 SNP analisados (possível relação de parentesco entre pais e filhos)

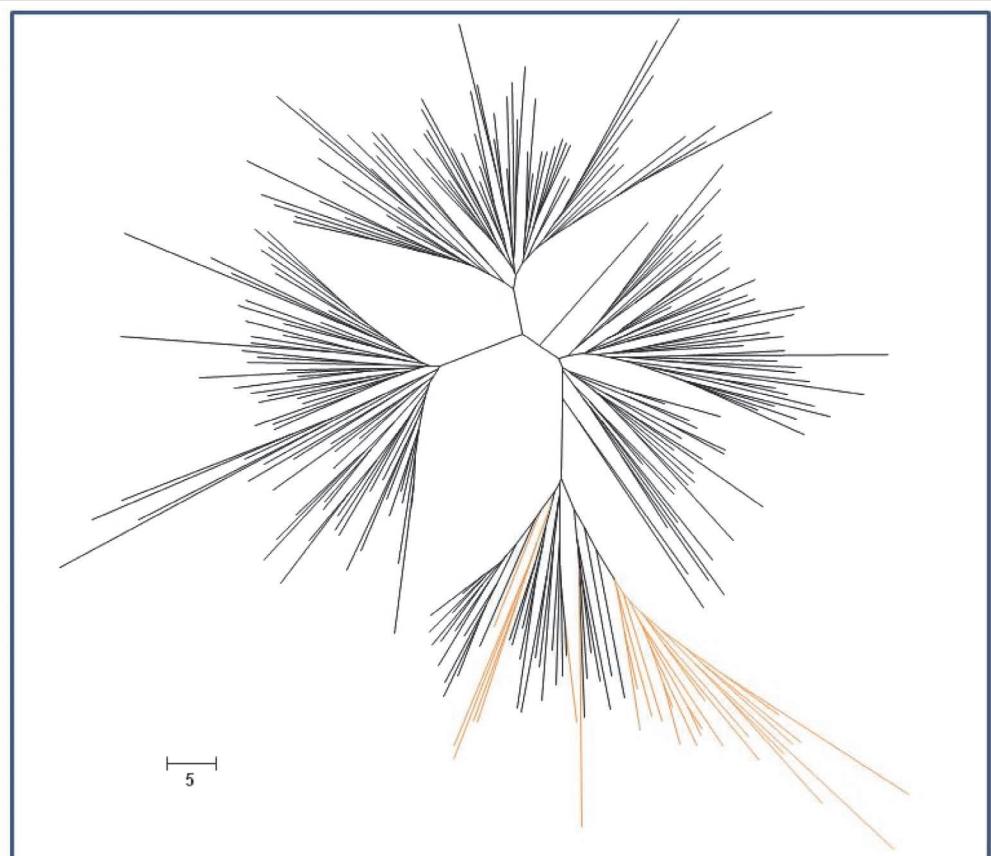


Figura 4 – Relações genéticas evolutivas para as diferentes 236 variedades (vetores pretos) e plantas de *Vitis vinifera sylvestris* (vetores castanhos), utilizando uma matriz de 48 SNP e aplicando o método de agregação Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987). As distâncias evolutivas foram calculadas pelo método de correção de Poisson (Zuckerkandl e Pauling, 1965). As análises evolutivas foram realizadas pelo MEGA7 (Kumar et al., 2016). No gráfico, a escala 5 corresponde à distância que permite identificar as diferenças entre as variedades.

ser validada a nível do fenótipo numa coleção ampelográfica, através da Ampelografia Clássica.

Uma das mais completas bases de dados de variedades de videira é a do *Vitis International Variety Catalogue* (VIVC, <http://www.vivc.de/index.php?r=cultivar-name%2Findex>), da qual a Coleção Ampelográfica Nacional é parceiro-fundador, contribuindo para a informação disponibilizada. Resultados obtidos mostram que, das 343 variedades autorizadas para produção de vinho em Portugal, 107 são variedades internacionais e 236 correspondem a variedades tradicionalmente cultivadas nas diferentes regiões vitivinícolas portuguesas (Figura 4), todas listadas na Portaria n.º 380/2012 e no banco de dados do VIVC. Das 236 variedades, 134 variedades são únicas em Portugal (Cunha et al., 2016), estando todas elas atualmente classificadas como variedades minoritárias e a existência da maioria delas é conhecida apenas em coleções regionais e municipais de variedades de videiras. Estes dados são claramente indicativos de que Portugal terá sido um centro secundário de domesticação da videira. As restantes 102 variedades são também variedades portuguesas, que se encontram difundidas por

outros países, como, por exemplo, a Verde-lho e a Touriga Nacional, por serem produtoras de vinhos de grande qualidade.

No que respeita aos parentes silvestres de variedades cultivadas, os 27 genótipos analisados, que foram recolhidos em seis populações silvestres, localizadas em três diferentes bacias hidrográficas do sul de Portugal (Tejo, Guadiana e Sado), e preservados na CAN (Figura 4), também apresentam perfis genéticos únicos (Cunha et al., 2016). Neste âmbito, com o projeto PDR2020-784-042738 propomo-nos caracterizar a nível morfológico e molecular, utilizando os 9 SSR propostos pela OIV, 283 acessos de outras variedades e 97 outros acessos de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* recolhidas por todo o País, nos últimos anos e igualmente conservados na CAN, para que sejam corretamente catalogados com a sua identidade. Se forem encontradas variedades não presentes nas bases de dados atuais, estaremos perante novas variedades que serão propostas para serem incluídas na legislação atualmente vigente (CNVV da DGAV e Portaria n.º 380/2012, de 22 de novembro) e, posteriormente, introduzidas na base de dados Nacional (em construção na plataforma GRIN-Global) e Internacional (VIVC).

Ampliação e valorização da biodiversidade das variedades autóctones por via do melhoramento sexuado

No âmbito do melhoramento sexuado (utilizando cruzamentos controlados), a vasta diversidade existente em Portugal permite conjugar a estratégia de melhoramento com os objetivos pretendidos: o ambiente envolvente e as necessidades do homem.

A necessidade em ampliar a diversidade autóctone para obtenção de variedades com mecanismos de tolerância às doenças do oídio, míldio, podridões, entre outras, está associada às normas impostas pela UE como: i) limites máximos de resíduos relativamente a determinadas substâncias ativas; ii) fim ou prazo de utilização de produtos fitofarmacêuticos contendo algumas substâncias ativas, ambas com o objetivo de aumentar a segurança alimentar do consumidor e também assegurar a sustentabilidade dos ecossistemas de todos os seres vivos na Terra. Também outros fatores, como a concorrência no mercado dos vinhos e a rentabilidade económica dos mesmos, são cada vez mais competitivos, em resultado do acréscimo de vinhos produzidos a partir de variedades resistentes (PIWI) e até do vinho produzido em modo biológico.

Assim, o estudo de adaptabilidade de variedades tolerantes, já existentes ou em processo de obtenção, é também um dos objetivos do projeto PDR2020-784-042738, em que, numa 1.ª fase, será avaliada a adaptabilidade da diversidade de variedades existentes na CAN e, numa 2.ª fase, serão avaliadas as variedades de uma geração F1 (*Touriga Nacional* × *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*) quanto à sua tolerância ao oídio e ao míldio, nas condições edafoclimáticas da região de Dois Portos. Paralelamente, este estudo será realizado em laboratório, para confirmação dos resultados de campo, através de inoculação dos fungos em folhas destacadas.

Com o mesmo objetivo, estão a ser realizados novos cruzamentos utilizando variedades autóctones de alto perfil enológico e variedades de *Vitis vinifera* com características poligénicas de resistência simultânea ao oídio e ao míldio. Estamos a falar de variedades que possuem até 5 genes de resistência.

Entre 2018 e 2022, será realizada a monitorização semanal para as variedades já instaladas em campo. Em cada observação, para cada variedade da população F1 considerada como tolerante e para a variedade *Touriga Nacional*, usada como testemunha sensível, serão registados: i) estados fenológicos de acordo com a escala de BBCH (Coombe,

1995); *ii) incidência e severidade do míldio e do ódio, e eventualmente da podridão-negra e cinzenta em folhas e cachos, respetivamente (Molitor et al., 2011).*

Em 2019, apesar das condições edafoclimáticas terem sido favoráveis ao desenvolvimento do míldio, duas a quatro variedades presentes na população F1 mostraram-se menos infetadas, quando comparadas com as restantes. Durante os próximos dois anos, serão colhidas folhas, nas quais diferentes componentes de resistência serão avaliados em ambiente controlado, a fim de se obter indicações precisas e detalhadas sobre os mecanismos de tolerância à doença, de forma a ser possível avaliar o nível de tolerância/resistência (expressa de acordo com a escala OIV 453 e OIV 455) e ou a duração do período de latência dessas variedades, que poderá ser consequência da presença de mecanismos específicos de autodefesa.

Conclusões

A análise conjunta de dados morfológicos e moleculares, efetuados durante as últimas décadas na Coleção Ampelográfica Nacional, têm permitido identificar sinônimas e homônimas que conduziram a uma identidade própria principal, como a referida na Portaria n.º 380/2012, de 22 de novembro, do Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território (MAMAOT) e nas bases de dados internacionais, como a do VIVC. Os mesmos dados têm também permitido identificar a origem de muitas das variedades exclusivamente portuguesas.

Por outro lado, estudos agronómicos e enológicos preliminares têm contribuído fortemente para a multiplicação de variedades minoritárias que, até então, se encontravam apenas circunscritas a coleções ampelográficas.

Relativamente ao melhoramento de variedades de videira, esta técnica deverá privilegiar sempre a utilização de variedades autóctones como progenitoras, para que o património vitivinícola português continue a ser único e perdure na tipicidade dos vinhos portugueses, principalmente no mercado internacional.

Para os mais céticos, recordamos que obter novas variedades portuguesas não implica abandonar as existentes, antigas e tradicionais, mas sim disponibilizar ao viticultor: *i) variedades melhor adaptadas às condições edafoclimáticas das diferentes regiões vitivinícolas; ii) variedades que satisfaçam as preferências do consumidor; iii) sobretudo variedades menos suscetíveis a stress ambientais.* ☺

Agradecimentos

Trabalho financiado por: "Fundação para a Ciência e Tecnologia" (PTDC /AGR-PRO/4261/2014 – VitisEry-Necator); Programa de Desenvolvimento Rural, PDR 2014-2020 (PDR2020-7.8.4.-042738- MAFDR) e Projeto COST (European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research) Action FA1003. Francisco Baeta foi suportado pelo INIAV/MAFDR, através de uma bolsa de Investigação de nível 1, Licenciado (PDR2020-7.8.4.-042738-MAFDR).

Bibliografia

- Coombe, B.G. (1995). Adoption of System for Identifying Grapevine Growth Stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **1**(2):104–110.
- Cunha, J.; Ibáñez, J.; Teixeira-Santos, M.; Brazão, J.; Fevereiro, P.; Martínez-Zapater, J. M. e Eiras-Dias, J.E. (2016). Characterisation of the Portuguese Grapevine Germplasm with 48 Single-Nucleotide Polymorphisms. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **22**(3):504-16.
- Cunha, J.; Zinelabidine, L.H.; Teixeira-Santos, M.; Brazão, J.; Fevereiro, P.; Martínez-Zapater, J.M.; Ibáñez, J. e Eiras-Dias, J.E. (2015). Grapevine Cultivar 'Alfrocheiro' or 'Bruñal' Plays a Primary Role in the Relationship among Iberian Grapevines. *Vitis – Journal of Grapevine Research*, **54**:59-65.
- Kumar, S.; Stecher, G. e Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**:1870-1874.
- Molitor, D.; Baus, O. e Berkelmann-Loehnertz, B. (2011). Protective and Curative Grape Black Rot Control Potential of Pyraclostrobin and Myclobutanil. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **118**:161-67.
- Negrul, A.M. (1938). Evolution of Cultivated Forms of Grapes. *Comptes Rendus (Doklady) de l'Academie Des Sciences de l'URSS*, **18**:585-588.
- OIV (1983). *Descriptor List for Grapevine Varieties and Vitis Species (Organisation Internationale de La Vigne et Du Vin)*. Paris, France.
- OIV (2009). *Descriptor List for Grapevine Varieties and Vitis Species, 2nd Edn (Organisation Internationale de La Vigne et Du Vin)*. Paris, France.
- Saitou, N. e Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**:406-425.
- Veloso, M.M.; Almandanis, M.C.; Baleiras-Couto, M.; Pereira, H.S.; Carneiro, L.C.; Fevereiro P. e Eiras-Dias, J. (2010). Microsatellite Database of Grapevine (*Vitis Vinifera L.*) Cultivars Used for Wine Production in Portugal. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **25**(2):53-61.
- Zinelabidine, L.H.; Cunha, J.; Eiras-Dias, J.E.; Cabello, F.; Martínez-Zapater, J.M.; e Ibáñez, J. (2015). Pedigree Analysis of the Spanish Grapevine Cultivar 'Hebén'. *Vitis – Journal of Grapevine Research*, **54**:81-86.
- Zohary, D. e Hopf, M. (1993). *Domestication of Of, Plants in the Old World: The Origin and Spread Cultivated Plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley (2nd Edn)*. Oxford, Oxford University.
- Zuckerkandl, E. e Pauling, L. (1965). Evolutionary divergence and convergence in proteins. Edited in *Evolving Genes and Proteins* by V. Bryson and H.J. Vogel, pp. 97-166. Academic Press, New York.

Cofinanciado por:



PUB

PUBLICIDADE

rodapé