



CONTRIBUTO PARA O CONHECIMENTO DA ORIGEM DAS VARIEDADES DE VIDEIRA CULTIVADAS EM PORTUGAL

A domesticação da videira na Península Ibérica resulta da coabitação da diversidade local entre plantas selvagens e variedades cultivadas. As relações genéticas, baseadas em estudos de ADN, revelam que ambas as subespécies apresentam o clorotipo A que é o mais frequente nas variedades autóctones da Península Ibérica. O estudo aprofundado desta origem comum tem permitido identificar os progenitores de muitas das nossas variedades autóctones.

J. Cunha^{1,2}, J. Brazão¹, M. Teixeira-Santos¹, F. Baeta¹, P. Fevereiro^{2,3}, J.E. Eiras-Dias^{1,2}

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.

² ITQB, Green-it Unit, UNL, Oeiras

³ Departamento de Biologia Vegetal, FCUL, Lisboa

Resenha história da domesticação da videira

A videira domesticada (*Vitis vinifera* subsp. *sativa*) é a fruteira mais cultivada do género *Vitis*, género este que contém cerca de 60 espécies selvagens interférteis (This *et al.*, 2006; Emanuelli *et al.*, 2013). O único táxon selvagem de *Vitis* nativo da Europa e do Próximo Oriente é a *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, acreditando-se que seja o progenitor selvagem de quase 10 000 variedades de videiras até hoje domesticadas (This *et al.*, 2006; Emanuelli *et al.*, 2013). Os cruzamentos genéticos entre plantas selvagens e entre variedades cultivadas e plantas selvagens tornam difícil desvendar a origem e a evolução das variedades atuais (Zohary e Hopf, 1994).

A domesticação da videira ocorreu pela seleção e propagação de plantas com características desejáveis, tendo originado mudanças notáveis na sua morfologia, nomeadamente nas flores hermafroditas, no maior tamanho e ampla gama de cores do bago, assim como no teor mais elevado de açúcar na uva (Olmo, 1995; Miller, 2008). Uma vez que as videiras selvagens são dioicas (apenas as plantas femininas produzem fruto) e muito heterozigóticas, considera-se provável que a propagação vegetativa tenha sido adotada precocemente na domesticação da videira (Zohary e Hopf, 1994), contribuindo, desse modo, para manter diferentes características desejáveis. Por exemplo, dado que as plantas autopolinizadoras melhoraram a frutificação e, por conseguinte, são mais produtivas (Miller 2008), a propagação vegetativa de plantas hermafroditas mostrou-se ser mais vantajosa, quando comparada com a das plantas dioicas (com flores femininas).

A cultura das videiras domesticadas espalhou-se ao longo da Bacia Mediterrânica, a partir do centro de domesticação primário no Próximo Oriente, onde ainda hoje se encontram as populações de *V. vinifera* subsp. *sylvestris* com a maior diversidade genética (Arroyo-García *et al.*, 2006; Imazio *et al.*, 2006). No entanto, recentemente surgiram evidências da ocorrência de introgressão e domesticação secundária ao longo da rota de disseminação da cultura da vinha (Arroyo-García *et al.*, 2006; Myles *et al.*, 2011).

Primórdios da cultura da videira em Portugal

As populações portuguesas de videiras selvagens situam-se no extremo sudoeste da distribuição da *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* na Europa, as quais durante o final da última glaciação ficaram isoladas do *continuum* vegetal que havia sido o anterior território das populações de videiras selvagens. No Holoceno, evidências palinológicas no sul de Portugal revelaram a presença de pólen de *Vitis vinifera* em várias bacias hidrográficas e lagoas (Leeuwarden e Janssen, 1985; Knaap e Leeuwen, 1995; Fletcher *et al.*, 2007; Vis e Kasse, 2009; Schneider *et al.*, 2016). Por volta de 2090 a.C. começam a registar-se fortes efeitos antropogénicos na vegetação, sugerindo a possibilidade de ocorrência da domesticação/cultura da videira nesses locais (Fletcher *et al.*, 2007). A partir do século VII a.C. e em comparação com estratos anteriores, as análises dos dados palinológicos do Paul dos Patudos, Alpiarça (Leeuwarden e Jansen, 1985) mostram, conjuntamente com outras evidências de alterações antropogénicas na estrutura palinológica dos depósitos, um aumento de 33% do pólen de *Vitis*, o que pode sugerir ter existido nesse tempo a cultura da videira. Os mais antigos vestígios arqueológicos de grainhas em Portugal datam do Calcolítico (cerca de 3350–2250 a.C.) e a sua presença é contínua até à conquista romana, abarcando as Idades do Bronze e do Ferro, incluindo as povoações de origem fenícia (Ramil Rego e Aira Rodríguez, 1993; Aira Rodríguez e Ramil Rego, 1995; Arruda, 2008). Também, um número suficiente de restos de grainhas, datadas da Idade do Ferro, foram encontradas em Castro Marim, no Algarve, possibilitando a sua caracterização morfológica e tendo demonstrado existirem uma mistura de grainhas das subespécies *sativa* e *sylvestris* (Queiroz e Mateus, 2007). A presença de grainhas de videira num local arqueológico em Almada, num contexto urbano de origem fenícia remontando ao século VII a.C. (Barros, 1998), vem comprovar a produção e consumo de uva. Entre 3200 a.C. e o século I a.C., ainda que seja reduzido o número de vestígios arqueológicos de grainhas na zona norte do país, estas apresentaram um índice de Stummer (relação largura/comprimento da grainha) entre 0,65 e 0,75 (Stummer, 1911), con-

siderando-se que já nessa altura existia uma mistura de grainhas das subespécies *sativa* e *sylvestris* (Ramil Rego e Aira Rodríguez, 1993; Queiroz e Mateus, 1994; Aira Rodríguez e Ramil Rego, 1995; Sanches, 1997).

No que diz respeito à produção de vinho na Península Ibérica, a sua atividade está bem documentada desde o século VII a.C. (Buxó, 2008). No contexto arqueológico fenício, alguns vestígios de cerâmica contendo resquícios de vinho foram também encontrados em Santarém, em Almada e em Lisboa (Barros, 1998; Sousa e Guerra, 2018). Políbio, autor grego no século II a.C., nas suas “*Histórias*” livro 34, capítulo 8, refere o baixo preço do vinho na Lusitânia: “*Uma metreta de vinho custa um dracma*” – cerca de 40 litros custariam o pagamento diário de um soldado. No século I a.C., o também autor grego Estrabão, na sua “*Geografia*” livro 3, capítulo 3, refere-se aos vinhedos do baixo vale do Tejo, assim como, no capítulo 2, às exportações de vinho da Turdetânia (região que abrangia o vale do Guadalquivir, do Algarve até Serra Morena). Os vestígios romanos, como restos de grainhas em sítios arqueológicos, equipamentos enológicos e ânforas usadas para armazenamento e transporte de vinho são omnipresentes do século I a.C. ao século V d.C. (Fabião, 1998; Tereso *et al.*, 2011; Savo *et al.*, 2016).

Posteriormente, constatou-se que a viticultura não foi abandonada após a derrota do reino visigodo por Tariq (711 d.C.) e, mais tarde, na Idade Média, um forte incremento da viticultura ocorreu em todo o país devido à Reconquista. O estabelecimento de várias ordens monásticas (especialmente beneditinos e cistercienses) com fortes tradições vitivinícolas contribuiu fortemente para o estabelecimento da vitivinicultura em todo o território (Fernandes, 1532; Martínez Tomé, 1991).

Evolução da caracterização das variedades de videira

A caracterização ampelográfica da videira surge como ferramenta imprescindível na identificação de variedades. A partir dos bem estabelecidos descritores ampelográficos da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV, 1983, 2009), foram identificados vários sinónimos e homónimos de varia-

des, mas a subjetividade das observações individuais, bem como a variabilidade gerada pelas condições de cultura das videiras, pelo estado sanitário e pelas épocas de crescimento, impedem de chegar a uma identificação inequívoca.

Com a evolução do estudo da biologia desenvolveram-se diversos tipos de marcadores moleculares de ADN, em particular os SSR (sequência simples repetitivas), que se podem encontrar quer no ADN nuclear (nSSR) quer no ADN cloroplastidial (cpSSR) (Bourquin *et al.*, 1993; Sefc *et al.*, 2000; Arroyo-García *et al.*, 2006) – e que foram usados na caracterização, no estudo da diversidade genética e na genealogia das variedades de videira. A maior parte das variedades portuguesas contém o clorótipo A, típico das variedades da Península Ibérica (Arroyo-García *et al.*, 2006; Cunha *et al.*, 2009; Castro *et al.*, 2013). Apenas no oeste da Europa, as plantas da subespécie *sylvestris* contêm este clorótipo A (Arroyo-García *et al.*, 2006; Cunha *et al.*, 2009) e, portanto, acredita-se que aqui tenha ocorrido a domesticação secundária dessas plantas selvagens. Os centros de domesticação secundários foram propostos por De Lorenzis *et al.* (2019) ao longo das rotas de disseminação da videira, tendo-se verificado que os valores encontrados para a heterozigosidade esperada (diversidade genética) aumentam à medida que se afastam da região do centro de origem de uma espécie. Os mesmos autores também encontraram uma origem genética diferente para o germoplasma da Península Ibérica. Ainda através destes marcadores, foi possível provar que a diversidade do germoplasma português aumentou graças às suas múltiplas origens, que incluem introduções provenientes do Próximo Oriente e do Magrebe, suportadas pela presença dos haplótipos C e D no cloroplasto.

Alternativos ou complementares e bem mais robustos, surgiram recentemente os marcadores de ADN do tipo Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP). Estes foram desenvolvidos para um grande número de aplicações no estudo da videira, incluindo identificação genética (Cabezas *et al.*, 2011; Cunha *et al.*, 2016), estudos de diversidade, estrutura genética e história da domesticação da videira (Myles *et al.*, 2011), e estudos de linhagem e filogenia (Ibáñez *et al.*, 2012; Zinelabidine *et al.*, 2012).



Figura 1 – Preservação ex situ, de plantas selvagens, variedades autóctones, porta-enxertos, variedades internacionais e outras espécies de *Vitis* na Coleção Ampelográfica Nacional (PRT 051).

Domesticação secundária da videira em Portugal: um caso de estudo

Estudos recentes realizados num grupo alargado de genótipos portugueses, utilizando um elevado número de SNP, permitiram identificar um conjunto de sinónimos, homónimos e erros existentes na identificação dos mesmos (Cunha *et al.*, 2016), assim como possibilitaram i) identificar as origens genéticas do germoplasma português e discriminar o *pool* genético que surgiu da domesticação local, analisando a diversidade genética e a estrutura genética do germoplasma português; ii) identificar também relações genéticas de primeiro grau, utilizando a base de dados de SNP do Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV) e iii) correlacionar os dados obtidos com resultados de clorótipos para integrar dados paleontológicos, arqueológicos e históricos (Cunha *et al.*, 2020).

Material e Métodos

No estudo que aqui reportamos de uma forma genérica, foram utilizados 288 genótipos que já haviam sido caracterizados por descritores morfológicos e por marcadores moleculares dos tipos nSSR e cpSSR. Os genótipos analisados, recorrendo a 261 marcadores SNP, encontram-se conservados na Coleção

Ampelográfica Nacional (CAN) – referência internacional PRT051 – que se encontra instalada na Estação Vitivinícola Nacional, localizada em Dois Portos, Torres Vedras, e é propriedade do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), do Ministério da Agricultura (Figura 1). Esta coleção preserva todas as variedades autorizadas em Portugal para a produção de vinho, os porta-enxertos mais utilizados na Europa, referências internacionais de variedades utilizadas em estudos de natureza científica e outras espécies de *Vitis*, assim como uma parte significativa das plantas selvagens antecessoras das nossas variedades autóctones. Os resultados obtidos foram comparados entre si e com a base de dados SNP do ICVV, localizado em Logroño, Espanha, que inclui cerca de 2000 genótipos não redundantes de variedades e plantas selvagens originárias desde o Próximo Oriente, passando por toda a bacia do Mediterrâneo, até à Península Ibérica.

A diversidade autóctone e a relação genética entre as videiras selvagens e as variedades portuguesas

A análise conjunta da diversidade genética das plantas selvagens e das variedades autóctones, utilizadas neste estudo, permitiu identificar 258 genótipos

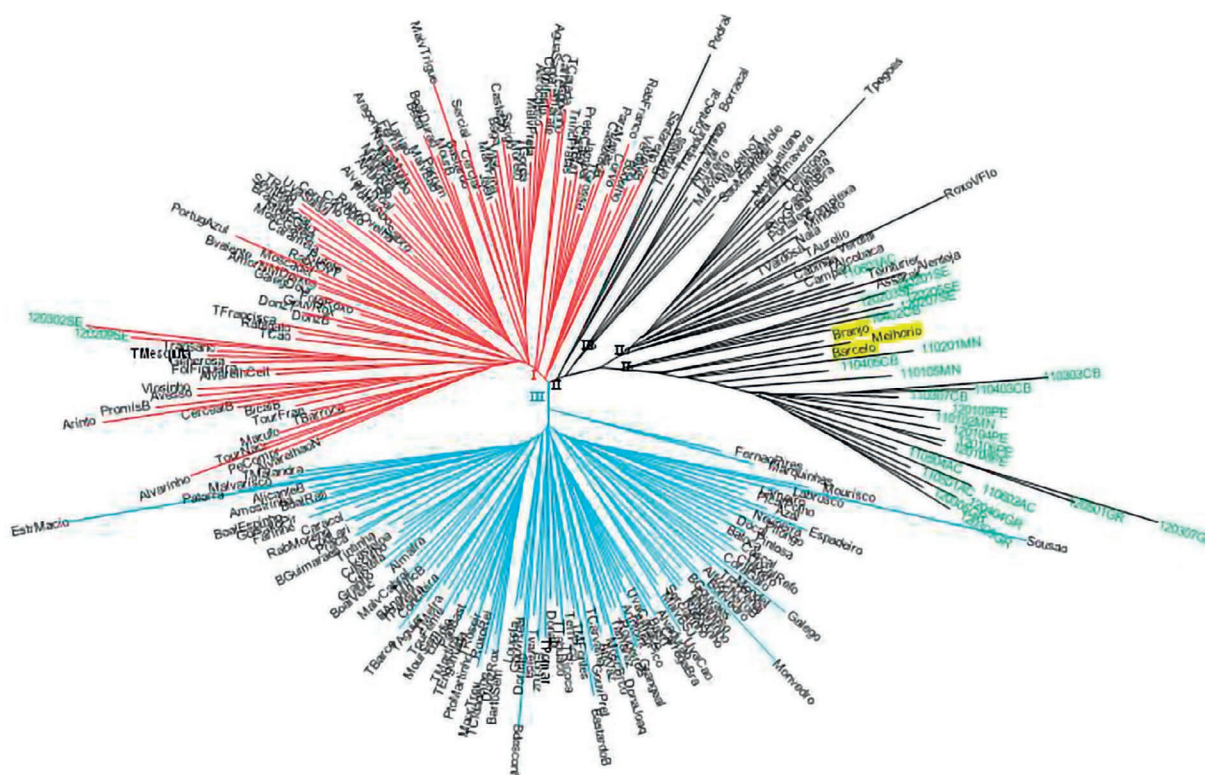


Figura 2 – Discriminação da diversidade genética de genótipos de videiras selvagens e variedades cultivadas portuguesas, utilizando 231 SNP através do método de agregação Neighbor-Joining (Saitou e Nei 1987). As distâncias evolutivas foram calculadas pelo método de correção de Poisson (Zuckerkanndl e Pauling 1965). As análises evolutivas foram realizadas pelo MEGA7 (Kumar et al., 2016). Grupo I, linhas sólidas de cor vermelha; Grupo II, linhas sólidas de cor preta; Grupo III, linhas sólidas de cor azul; códigos de videiras selvagens, cor verde; nomes de variedades, cor preta; variedades cultivadas no grupo de plantas selvagens, fundo amarelo.

não redundantes (27 genótipos de plantas selvagens e 231 genótipos de variedades cultivadas), tendo sido possível observar, nos parâmetros de diversidade genética, valores significativamente mais elevados ($P < 0,05$) nas variedades cultivadas do que no conjunto das plantas selvagens.

Ao compararmos os dados dos genótipos em estudo com a base de dados do ICVV, foi possível discriminar o pool genético das variedades portuguesas e das plantas selvagens, sendo de realçar a relação muito próxima das variedades Barcelo, Branjo e Melhorio, tradicionalmente cultivadas na região dos Vinhos Verdes, com as plantas selvagens (Figura 2).

Por outro lado, este estudo permitiu também identificar 32 relações genéticas de primeiro grau, ainda não conhecidas, entre variedades e/ou plantas selvagens, assim como confirmar os *pedigrees* de 15 variedades obtidas por Ferreira de Almeida, em 1950

(Figura 3). É de destacar o contributo das variedades Marufo e Castelão, como progenitoras de 14 variedades de origem natural (cruzamentos aleatórios não intencionais) e de 7 variedades obtidas por cruzamentos controlados, respetivamente.

Considerações Finais

O conhecimento das relações de parentesco tem permitido identificar os progenitores envolvidos no germoplasma português conservado na CAN e, em particular, a contribuição dos genótipos femininos. Apesar de algumas contribuições estrangeiras, exemplificadas pela descendência da casta Marufo (clorótipo D), cerca de metade das variedades portuguesas analisadas nestes estudo possui o clorótipo A, típico da Península Ibérica, e sem parentesco conhecido, enquanto um quarto dos genótipos tem algum tipo de parentesco com variedades portuguesas e/

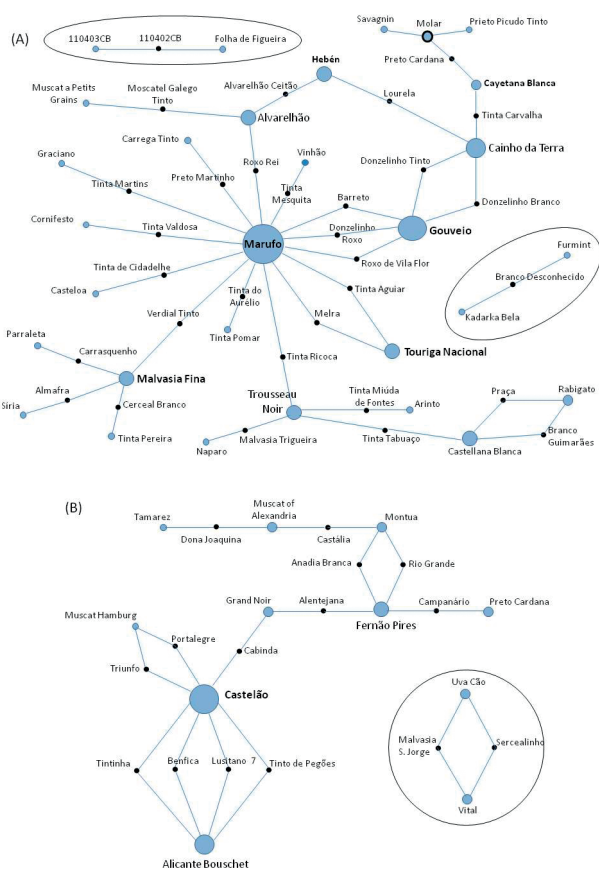


Figura 3 – Análise de parentesco (progenitores e descendentes) no germoplasma Português, usando 261 SNP. (A) relações genéticas entre variedades e/ou plantas selvagens; (B) pedigrees de variedades obtidas por Ferreira de Almeida, em 1950. Os círculos pretos sólidos representam a prole (descendência) e os círculos azuis representam os progenitores; o diâmetro do círculo é proporcional ao número de cruzamentos em que está envolvido; o círculo azul cercado por uma linha preta sólida representa uma variedade que é simultaneamente descendente e progenitor. A árvore não está desenhada à escala.

/ou ibéricas. O elevado número de variedades provenientes de diferentes progenitores parece refletir uma ampla utilização tradicional das grainhas na propagação da vinha em Portugal. A análise do germoplasma cultivado e selvagem português, através dos marcadores do tipo SNP, tem permitido detetar a existência de um “fluxo de genes” entre as duas subespécies, provavelmente desde tempos históricos e até quase ao presente. Esta hipótese é corroborada pela revelação de relações de parentesco selvagens,

especialmente no Sul de Portugal, onde as populações selvagens ainda estão presentes nas matas ciliares. Esta subespécie sofreu uma redução drástica da diversidade genética devido à crise filoxérica do século XIX e à pressão do Homem, dificultando o estudo da sua domesticação. A introgressão de genes nas plantas selvagens ilustra a magnitude do problema e reforça a necessidade de proteger, estudar e utilizar o germoplasma selvagem existente, que pode ser uma fonte de características úteis a incorporar no germoplasma português em futuros programas de melhoramento. As relações genéticas entre as variedades da região dos Vinhos Verdes e as videiras selvagens encontradas em Portugal evidenciam uma origem maternal idêntica (clorótipo A). Esta constatação é sustentada pelas semelhanças ampelográficas e pelas características do mosto e do vinho destes 2 grupos, videiras selvagens e variedades. Também, diferentes achados arqueológicos suportam a possível existência de eventos de domesticação secundária em Portugal, ou, pelo menos, de um processo de introgressão genética em videiras cultivadas. 🌿

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado por: “Fundação para a Ciência e Tecnologia” (PTDC /AGR-PRO/4261/2014 – VitisEryNecator); 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.

Referências Bibliográficas

As referências bibliográficas das citações da bibliografia consultada, encontram-se corretamente descritas nos artigos:

- Cunha, J.; Ibáñez, J.; Teixeira-Santos, M.; Brazão, J.; Fevereiro, P.; Martínez-Zapater, J.M. and Eiras-Dias, J.E. (2016). Characterisation of the Portuguese grapevine germplasm with 48 single-nucleotide polymorphisms. *Aust. J. Grape Wine Res.*, **22**(3):504–516. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12225>.
- Cunha, J.; Ibáñez, J.; Teixeira-Santos, M.; Brazão, J.; Fevereiro, P.; Martínez-Zapater, J.M. and Eiras-Dias, J.E. (2020). Genetic Relationships Among Portuguese Cultivated and Wild *Vitis vinifera* L. Germplasm. *Front. Plant Sci.*, **11**:127. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00127>.