

Identidade posta à prova: uso prático de técnicas baseadas em dna para identificação de cultivares de uva e proteção intelectual

Luís Fernando Revers¹

A identificação de cultivares de uva tem sido tradicionalmente baseada na utilização de descritores morfológicos (ampelografia), analisando-se as características de folhas, tipo de brotos, cachos e tipo de baga, sendo os critérios aceitos para registro e proteção de cultivares pela UPOV (União Internacional para a Proteção de Novas Variedades de Plantas), da qual o Brasil é signatário (IPGRI, 1997). Atualmente, no entanto, a perícia em ampelografia da videira é restrita a um número pequeno e cada vez menor de especialistas. Além disso, a expressão das características morfológicas é influenciada por fatores ambientais, biologia, histórico de vida da planta, porta-enxerto; e plantas jovens são praticamente impossíveis de se identificar, porque ainda não exibem as características morfológicas típicas de plantas adultas.

Outro fator peculiar à cultura da videira é o número elevado de cultivares utilizadas, estimado em cerca de 10.000 em todo o mundo. Isso, aliado a propagação vegetativa e transferência de “mão em mão” entre viticultores, resulta em um número crescente de sinônimos (a mesma cultivar sendo identificada por nomes diferentes) e também de homônimos (cultivares diferentes tendo o mesmo nome).

Adicionalmente, em muitos casos, cultivares geneticamente próximas são morfológicamente muito similares e difíceis de diferenciar mediante comparação botânica (ARADHYAM *et al.*, 2003). Por outro lado, cultivares essencialmente derivadas ou clones da mesma cultivar, resultantes de um processo natural denominado de variação clonal, podem diferir consideravelmente nas suas características morfológicas, mesmo que tenham perfis de DNA praticamente idênticos (VIGNANI *et al.*, 1996; FRANKS *et al.*, 2002; RIAZ *et al.*, 2002).

Para contornar as limitações da ampelografia, marcadores moleculares baseados em DNA têm sido utilizados para diferenciar, caracterizar e identificar as cultivares de videira existentes mais plantadas. Apesar de ainda não serem utilizados para registro e proteção de cultivares, exames baseados em DNA tem permitido dirimir dúvidas entre cultivares semelhantes e auxiliado no manejo de coleções de germoplasma. Em outros países, testes de identificação baseados em DNA foram utilizados, inclusive, para resolver problemas de direitos de propriedade intelectual, utilizando amostras coletadas em supermercados e de produtores.

Como é realizado o teste de DNA

Todos os testes baseados em DNA, para finalidades de identificação ou exclusão de paternidade em animais, no homem e em plantas são baseados em segmentos do genoma chamados de microssatélites. Os marcadores moleculares do

¹ Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho. E-mail: luis@cnpuv.embrapa.br

tipo microssatélite, permitem explorar a variação do número de seqüências simples repetidas (1 a 6 pares de base) existentes em segmentos do genoma. Devido à sua distribuição regular no genoma das plantas, este tipo de marcador tornou-se amplamente utilizado e adequado para muitas aplicações genéticas, destacando-se os testes de identidade genética, onde há necessidade de discriminação de indivíduos e identificação de parentesco, além de serem os mais utilizados para obtenção de mapas genéticos (SEFC *et al.*, 2001).

Utilizando este tipo de marcador, as cultivares de videira são identificadas comparando-se o perfil genético de um determinado número de marcadores microssatélites de uma amostra desconhecida de videira com perfis conhecidos de cultivares de uva, avaliados paralelamente e armazenados em um banco de dados. A identificação pode ser realizada para cultivares de uva viníferas, cultivares de uvas de mesa, cultivares híbridas, cultivares de uva americanas e porta-enxertos.

Aplicação e uso prático de testes de DNA na videira

As principais aplicações da metodologia estão na identificação precisa de cultivares de videira, recuperação de genealogias e genotipagem de novas cultivares para auxiliar em processos de proteção intelectual. Conseqüentemente, estas práticas podem também ser utilizadas em procedimentos modernos de controle nas cadeias produtivas como: rastreabilidade, certificação de mudas por viveristas e de vinhedos visando atender requisitos de denominações de origem e indicações de procedência controladas.

O primeiro exemplo do uso prático de testes baseados em DNA para resolver problemas de identificação de cultivares de videira no Brasil ocorreu recentemente, envolvendo a sinonímia entre as cultivares Thompson Seedless e Catalunha no nordeste do Brasil. Catalunha é uma cultivar de uva sem semente que foi introduzida no Vale do Submédio São Francisco, entre 1980 e 1990, misturada em lotes de mudas de Red Globe, importadas da Califórnia - EUA. Não tendo sido identificada, foi regionalmente denominada com o nome da Fazenda Catalunha, onde fora plantada inicialmente. Mais tarde verificou-se a sua semelhança morfológica (ampelográfica) com Thompson Seedless, no entanto, dúvidas a respeito da confirmação da sinonímia permaneceram. Com o objetivo de padronizar a nomenclatura dessas cultivares, o Laboratório de Biologia Molecular Vegetal da Embrapa Uva e Vinho utilizando o teste de DNA baseado em microssatélites, confirmou, com uma probabilidade calculada de identidade de 99,9%, que Thompson Seedless e Catalunha, são a mesma cultivar.

Apesar de o teste baseado em DNA ser capaz de identificar precisamente cultivares de videira comparando perfis genéticos, como a tecnologia não explora as variações (mutações) acumuladas no genoma da planta na sua totalidade, o teste não tem o poder de distinguir variantes de uma mesma cultivar. Perfis genéticos de variantes referidas comumente como mutações somáticas, propagadas de forma clonal, terão alta probabilidade de serem idênticos, apesar das diferenças observadas durante o ciclo produtivo na planta e frutos serem significantes.

Outra aplicação não menos importante é a genotipagem de novas cultivares de videira. A partir do ano de 2003, a Embrapa Uva e Vinho tem anexado a todos os processos de registro e proteção de cultivares de uva, um perfil genético baseado em DNA, com o objetivo de auxiliar na resolução de questões futuras relativas à proteção

intelectual. Dessa forma a Embrapa pode assegurar os direitos de propriedade intelectual e rastrear o mau uso dos seus recursos genéticos.

A Embrapa Uva e Vinho oferece, desde 2005 um serviço de identificação varietal de cultivares de videira baseado em DNA. Para utilizar o serviço, deverá ser realizado um acordo entre o usuário (viticultor) e a Embrapa Uva e Vinho, no qual será discriminado o tipo de serviço a ser realizado, além de conter a identificação e o número de amostras submetidas. Mais informações técnicas sobre testes baseados em DNA podem ser acessados na página da Embrapa Uva e Vinho (<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/> - Comunicado Técnico 64).

Bibliografia

ARADHYAM, K.; DANGL, G. S.; PRINS, B. H.; BOURSQUOT, J. M.; WALKER A. M.; MEREDITH, C. P.; SIMON, C. J. Genetic structure and differentiation in cultivated grape *Vitis vinifera* L. **Genetical Research**, Cambridge, v. 81, n. 3, p. 179–192, 2003.

FRANKS, T.; BOTTA, R.; THOMAS, M. R.; FRANKS, J. Chimerism in grapevines: implication for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 104, n. 2-3, p. 192-199, 2002.

IPGRI. **Descripteurs de la vigne (Vitis spp.)**. Roma: IPGRI, UPOV, OIV, 1997. 62 p.

RIAZ, S.; DANGL, G. S.; EDWARDS, K. J.; MEREDITH, C. P. Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 127, n. 4, p. 508-514, 2002.

SEFC, K. M.; LEFORT, F.; GRANDO, M. S.; SCOTT, K. D.; STEINKELLNER, H.; THOMAS, M. R. Microsatellite markers for grapevine: a state of the art. In: ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. (Ed). **Molecular biology and biotechnology of grapevine**. Amsterdam: Kluwer, 2001. p. 433-463.

VIGNANI, R.; BOWERS, J. E.; MEREDITH, C. P. Microsatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* Sangiovese'. **Scientia horticultrae**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 163-169, 1996.

Artigo de mídia disponibilizado no site da Embrapa Uva e Vinho (<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos>)

REVERS, L. F. Identidade posta à prova: uso prático de técnicas baseadas em DNA para identificação de cultivares de uva e proteção intelectual. **Jornal da Fruta**, Lages, v. 15, n. 183, p. 15, abr. 2007.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rua Livramento, 515 – Caixa Postal 130 – 95700-000 Bento Gonçalves, RS
Telefone: 54 3455 8000 Fax: 54 3451 2792

<http://www.cnpuv.embrapa.br/>