

La tracciabilità genetica di mosti e vini mediante *SNP genotyping*

Paolo Boccacci, Chiara Pagliarani, Irene Perrone, Giorgio Gambino

Laboratorio di Genomica Funzionale ed Ecofisiologia

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Strada delle Cacce 73, 10135 Torino

Parole chiave: identificazione varietale, marcatori molecolari, SNP, DNA

Negli ultimi anni la qualità e la sicurezza dei prodotti agroalimentari sono diventate un requisito essenziale a garanzia dei consumatori. In accordo con la Direttiva europea 2000/13/EC, tutte le fasi relative alla produzione di prodotti destinati all'alimentazione umana devono essere monitorabili, tracciabili e rintracciabili al fine di garantire l'autenticità e l'origine delle materie prime. La tracciabilità genetica delle uve utilizzate nella produzione di vini DOC e DOCG è uno dei temi maggiormente sentiti, poiché il vino è tra i prodotti agroalimentari maggiormente suscettibili di adulterazioni e l'origine geografica delle uve è il parametro più importante della qualità del vino. Infatti, le caratteristiche finali del vino sono fortemente influenzate dalla composizione varietale del mosto, soprattutto nei vini monovarietali, per i quali viene utilizzata una sola cultivar. Pertanto, la qualità e il valore del vino possono essere fortemente modificati se vengono utilizzate varietà diverse da quelle consentite dai disciplinari di produzione. A tale riguardo, lo sviluppo di metodi che consentano l'autenticazione delle varietà di vite utilizzate nei mosti e nei vini sarebbe di grande valore per il controllo della qualità e dell'autenticità, nonché per la protezione dell'origine. Attualmente, i principali metodi di caratterizzazione di mosti e di vini si basano sull'analisi di parametri chimici e biochimici, come profili proteici e amminoacidici, oligoelementi e isotopi, terpeni ed altri composti aromatici (Versari et al. 2014). Tuttavia, tali metodi richiedono molto tempo e, sebbene possano essere efficaci nel determinare le varietà d'uva utilizzate nei mosti, generalmente non danno risultati definitivi e affidabili nei vini. Pertanto, la certificazione delle produzioni DOC e DOCG, in cui il vitigno o i vitigni da utilizzare sono stabiliti in modo rigoroso dai disciplinari di produzione, è ancora principalmente basata sulla sola documentazione cartacea e seguendo precisi passaggi amministrativi.

L'analisi del DNA si è affermata come tecnica preziosa per identificare le cultivar di vite, grazie al suo alto potere discriminante ed a costi relativamente bassi. Tra i marcatori molecolari disponibili, i microsatelliti o *simple sequence repeats* (SSRs) rappresentano la classe di marcatori ideali per il *fingerprinting* della vite e sono stati largamente utilizzati nella

costruzione di banche dati contenenti i profili genetici di migliaia di cultivar. Grazie al loro largo impiego, sono stati testati al fine di identificare i vitigni utilizzati in mosti e vini. In generale, tutti i gruppi di ricerca hanno ottenuto risultati positivi nell'ambito dell'analisi del solo mosto e hanno concluso che i principali fattori limitanti relativi all'autenticazione del DNA nei vini (sperimentali e commerciali) erano la ridotta quantità ed il livello di degradazione del DNA residuo estratto. Inoltre, questa tipologia di marcatori non è in grado di quantificare eventuali tagli fraudolenti, in quanto fornisce un risultato esclusivamente qualitativo.

I recenti sviluppi della genomica, grazie soprattutto alle sempre più evolute tecniche di sequenziamento massivo, hanno permesso di selezionare e caratterizzare una nuova generazione di marcatori molecolari: i *single nucleotide polymorphism* (SNP). In vite, è stato sviluppato un array contenente 18.000 SNPs (<https://urgi.versailles.inra.fr/Projects/Achieved-projects/GrapeReSeq>) che ha permesso di genotipizzare molte cultivar e di creare dei database anche per questi marcatori. In 'Nebbiolo', per esempio, sono sufficienti solo due marcatori SNP per discriminare questa cultivar tra oltre 1150 genotipi diversi (Bocacci et al., 2020) e risultati simili sono facilmente ottenibili fin da subito per i principali vitigni diffusi al mondo. La disponibilità di database *ad hoc* per gli SNP associati alla loro capacità di superare i limiti di degradazione del DNA estratto, consentendone l'amplificazione mediante tecniche più sensibili, come la PCR quantitativa (qPCR), ne fanno dei marcatori interessanti per la tracciabilità dei vini. Gli SNP sono stati recentemente testati su vini sperimentali e commerciali utilizzando sonde TaqMan® specifiche (*SNP genotyping*) o mediante approccio *high-resolution melting* (HRM). In particolare, il protocollo di genotipizzazione basato sulle sonde TaqMan® ha dimostrato di essere semplice e altamente promettente per l'identificazione varietale nei vini a base 'Nebbiolo' (Bocacci et al., 2020). I vantaggi della tecnica sono: (i) alta sensibilità e specificità nella rilevazione del DNA; (ii) quantificazione di eventuali tagli fraudolenti (fino all' 1% in mosti e 10–20% in vini sperimentali); (iii) tempo di analisi estremamente ridotto; e (iv) interpretazione diretta dei risultati, anche in laboratori non specializzati. Nei vini commerciali sono stati ottenuti risultati incoraggianti, ma sarà necessario ottimizzare le tecniche di estrazione degli acidi nucleici dal vino. Con alcuni miglioramenti e la standardizzazione dei metodi, la tecnica potrà trovare facilmente applicazione nel settore enologico per la tracciabilità dei vini più importanti.

Bibliografia

Boccacci, P., Chitarra, W., Schneider, A., Rolle, L., Gambino, G. Single-nucleotide polymorphism (SNP) genotyping assays for the varietal authentication of 'Nebbiolo' musts and wines. (2020). Food Chemistry, 312, 126100.

Versari, A., Laurie, V. F., Ricci, A., Laghi, L., & Parpinello, G. P. (2014). Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. Food Research International, 60, 2-18

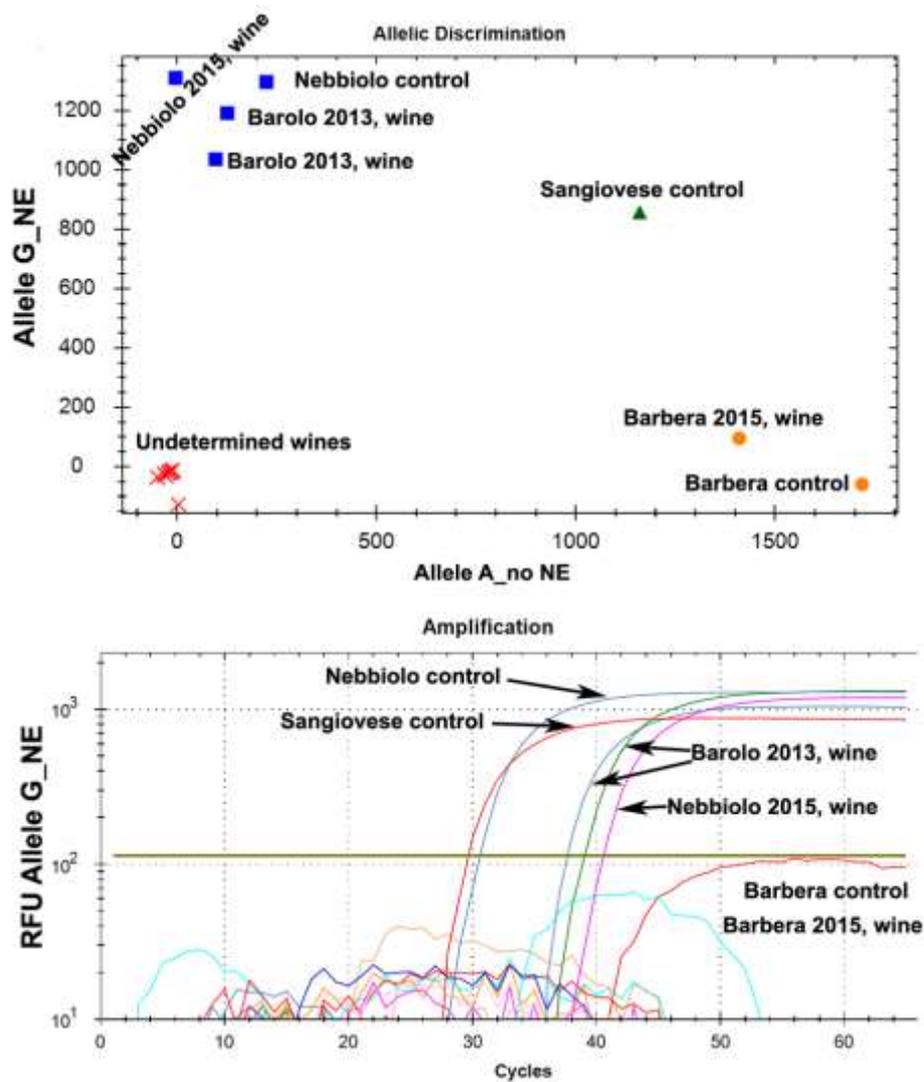


Immagine da: Boccacci et al., 2020. Food Chemistry, 312, 126100.