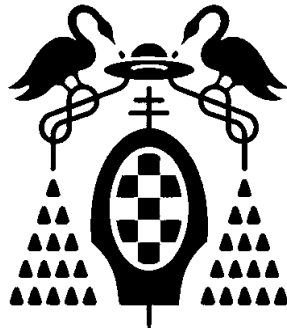


UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

Departamento de Biología Vegetal



**ESTUDIO DE DIVERSIDAD EN VARIEDADES DE UVA DE
MESA (*Vitis vinifera* L.) Y SU APLICACIÓN AL ANÁLISIS
DE ASOCIACIÓN PARA CARACTERES DE CALIDAD**

Alba María Vargas Osorio

Alcalá de Henares, 2009

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE DIVERSIDAD EN VARIETADES DE UVA DE MESA (*Vitis
vinifera* L.) Y SU APLICACIÓN AL ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN PARA
CARACTERES DE CALIDAD



ALBA MARÍA VARGAS OSORIO

Alcalá de Henares, febrero de 2009

A Nono

Agradecimientos

Me gustaría comenzar esta tesis expresando mi gratitud a todas aquellas personas y entidades que de algún modo, han contribuido durante estos años a la realización de este trabajo.

En primer lugar, muchísimas gracias a mis directores de tesis, la Dra. M^a Teresa de Andrés y el Dr. Javier Ibáñez Marcos, por la gran cantidad de tiempo y esfuerzo dedicado y por todo lo que me han enseñado.

Al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) de la Comunidad de Madrid, por la concesión de la Beca Predoctoral que me permitió llevar a cabo esta tesis doctoral, y a Genome Canada y Genoma España por la financiación del proyecto GrapeGen, en el cual se enmarca este trabajo.

A mi tutor en la Universidad de Alcalá, el Dr. Gabriel Moreno Horcajada, por el interés y apoyo demostrado en la realización de este proyecto.

La caracterización agronómica habría sido imposible sin el trabajo llevado a cabo principalmente por Carmen, Carlos, Joaquín y Javier, sin olvidarme de las becarias Finnova y los estudiantes en prácticas.

A todos aquellos que han colaborado en este trabajo enseñándome el manejo de diversas técnicas o programas informáticos: José Miguel Martínez Zapater, Diego Lijavetzky y José Antonio Cabezas (Centro Nacional de Biotecnología, CSIC); Patrice This, Loïc Le Cunff, Alex Fournier-Level, Valerie Laucou y Jean Michel Boursiquot (DGPC-Diversité et Génomes des Plantes Cultivées, INRA, Francia).

A quienes, de una manera u otra, me motivaron en el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Alcalá para iniciarme en la investigación: Olivia, Marieta, Mayra, Gustavo, Alberto, Fernando y José María.

Una obligada y merecida mención es para mis compañeros del Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Agroalimentación del IMIDRA. Gracias por los buenos momentos que hemos compartido, por vuestra ayuda, apoyo, ánimo,

comprensión...Gracias a Mariló, Silvia, Paz, Carmen, Carlos, Maite, José Antonio, Javier y Joaquín.

Tengo que agradecer a mis amigos la paciencia, los ánimos y los buenos ratos, especialmente a Eva, Luis, Marimar, Luisillo, Oli, Ana y Belén.

Quiero dar las gracias a mi familia: a Pablo, a David y mi tía por acogerme en Madrid, a Rocío por sus ánimos enérgicos y, especialmente, a mis padres por estar siempre ahí.

Y, por último y las más importantes: a mi Peri, por ser quien realmente ha sufrido el calvario.

A todos y cada uno,

GRACIAS

1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1. LA VID	7
1.1.1. Detalles taxonómicos, biológicos, históricos y genéticos de la vid	7
1.1.1.1. Encuadre taxonómico y clasificación de las variedades cultivadas	7
1.1.1.2. Ciclo biológico de la vid	10
1.1.1.3. Revisión histórica del origen y expansión de la vid cultivada	12
1.1.1.4. Importancia económica del cultivo de la vid	16
1.1.1.5. Diversidad genética de la vid	17
1.1.1.5.1. Variedad-población, sortogrupo, variedad, sport y clon.....	17
1.1.1.5.2. Sinonimias y homonimias	19
1.1.1.5.3. Colecciones de variedades de vid	19
1.1.1.6. El genoma de la vid	21
1.1.2. Caracterización de variedades de vid.....	23
1.1.2.1. Ampelografía: descripción de caracteres morfológicos y fenológicos .	23
1.1.2.2. Ampelometría: métodos morfométricos	25
1.1.2.3. Técnicas moleculares bioquímicas	25
1.1.2.4. Técnicas moleculares basadas en el análisis de ADN	25
<i>Marcadores microsatélite</i>	27
1.2. ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN	30
1.2.1. Genes candidatos	33
<i>VvGAI1</i>	34
<i>VvPel</i>	39
1.2.2. Marcadores SNP.....	42
1.2.3. Análisis de estructura genética de la colección	43
1.2.4. Desequilibrio de ligamiento.....	44
1.2.5. Evaluación de la existencia de selección.....	44
2. OBJETIVOS.....	49
3. MATERIALES Y MÉTODOS	51
3.1. MATERIALES	51
3.1.1. Caracterización molecular	51
3.1.2. Caracterización agronómica	52
3.2. METODOLOGÍA.....	68
3.2.1. CARACTERIZACIÓN.....	68
3.2.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR	68
3.2.1.1.1. Extracción de ADN.....	68

3.2.1.1.2. Obtención de datos STMS	69
3.2.1.1.3. Análisis de STMS	74
3.2.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA	75
3.2.1.3. APLICACIONES DEL ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN.....	84
3.2.1.3.1. Estudio de pedigríes	84
3.2.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN	85
3.2.2.1. Construcción de colecciones nucleares	85
3.2.2.2. Análisis de estructura genética de cada colección	89
3.2.2.2.1. Análisis de estructura mediante un método Bayesiano.....	89
3.2.2.2.2. Análisis de agrupamientos	91
3.2.2.3. Obtención de secuencias	92
3.2.2.3.1. Diseño de primers	92
3.2.2.3.2. Amplificación	93
3.2.2.3.3. Purificación del producto de PCR.....	94
3.2.2.3.4. Secuenciación	94
3.2.2.4. Análisis de secuencias y detección de SNPs.....	95
3.2.2.5. Obtención de haplotipos.....	95
3.2.2.6. Análisis de diversidad.....	97
3.2.2.7. Estudio de evolución molecular.....	98
3.2.2.8. Análisis de asociación	100
3.2.2.9. Análisis de la estructura proteica.....	101
4. RESULTADOS	103
4.1. CARACTERIZACIÓN	103
4.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.....	103
4.1.1.1. Obtención de datos STMS	103
4.1.1.2. Análisis de diversidad.....	111
4.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA	115
4.1.3. APLICACIONES DE LA CARACTERIZACIÓN	125
4.1.3.1. Estudio de posibles sinonimias, homonimias y sports	125
4.1.3.2. Estudio de pedigríes.....	128
4.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN.....	133
4.2.1. Evaluación de las colecciones objeto de estudio	133
4.2.1.1. Diversidad y representatividad de la colección para el estudio del gen VvGAI1 (CN127).....	133
<i>Construcción de la CN127.....</i>	133

<i>Evaluación de la diversidad alélica existente en la CN127</i>	134
<i>Evaluación de la diversidad agronómica en la CN127</i>	135
4.2.1.2. Diversidad y representatividad de la colección para el estudio del gen VvPel (CN96)	137
<i>Construcción de la CN96</i>	137
<i>Evaluación de la diversidad alélica en la CN96</i>	140
<i>Evaluación de la diversidad agronómica en la CN96</i>	141
4.2.1.3. Análisis de estructura genética	146
4.2.1.4. Análisis de agrupamientos	159
4.2.2. Análisis de secuencias	163
<i>VvGAI1</i>	163
<i>VvPel</i>	164
4.2.3. Análisis de diversidad	165
4.2.3.1. Análisis de diversidad nucleotídica	165
<i>VvGAI1</i>	165
<i>VvPel</i>	167
4.2.3.2. Análisis de diversidad haplotípica	169
<i>VvGAI1</i>	169
<i>VvPel</i>	172
4.2.4. Detección de posible selección sobre los genes estudiados	173
<i>VvGAI1</i>	173
<i>VvPel</i>	175
4.2.5. Desequilibrio de ligamiento	176
<i>VvGAI1</i>	176
<i>VvPel</i>	180
4.2.6. Análisis de asociación	184
4.2.6.1. <i>VvGAI1</i>	184
4.2.6.2. <i>VvPel</i>	191
4.2.7. Análisis de la estructura proteica	200
4.2.7.1. Estructura primaria: Secuencia de aminoácidos	200
4.2.7.2. Predicción de la estructura secundaria	205
4.2.7.3. Predicción de la estructura terciaria	207
5. DISCUSIÓN	209
5.1. CARACTERIZACIÓN	209
5.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR	209

5.1.1.1. Obtención de datos STMS	209
<i>Desarrollo y optimización de un sistema de análisis con PCR múltiple</i>	209
<i>Detección de terceros alelos: Posibles quimeras</i>	210
5.1.1.2. Análisis de diversidad	212
<i>Análisis de diversidad alélica</i>	212
<i>Análisis de diversidad genotípica</i>	214
<i>Diversidad clorotípica</i>	217
5.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA	217
5.1.3. APLICACIONES DE LOS STMS	221
5.1.3.1. Estudio de posibles sinonimias y sports	221
<i>Posibles nuevas sinonimias detectadas</i>	222
<i>Posibles nuevos sports</i>	225
<i>Posibles errores en la colección</i>	226
5.1.3.2. Estudio de pedigrís	230
<i>Confirmación de pedigrís previamente descritos</i>	231
<i>Posibles errores bibliográficos</i>	232
<i>Nuevos pedigrís propuestos</i>	235
5.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN	240
5.2.1. Evaluación de las colecciones objeto de estudio	241
<i>Redundancia en las colecciones de partida</i>	241
<i>Construcción de colecciones nucleares</i>	242
<i>Evaluación de la diversidad alélica en las colecciones CN127 y CN96</i>	246
<i>Evaluación de la diversidad agronómica en las colecciones CN127 y CN96</i>	247
5.2.2. Estructura genética de las colecciones objeto de estudio	248
5.2.3. Análisis de secuencias	256
5.2.4. Análisis de diversidad	257
<i>Diversidad nucleotídica</i>	257
<i>Diversidad haplotípica</i>	259
5.2.5. Estudio de evolución molecular	261
5.2.6. Análisis de asociación	265
<i>VvGAI1</i>	267
<i>VvPel</i>	276
6. CONCLUSIONES	285
7. BIBLIOGRAFÍA	287
8. ANEXOS	309

Anexo 1. Genotipos para la colección de 352 accesiones de uva de mesa de El Encín y para las 36 accesiones de vinificación y de otros centros empleadas en el estudio de pedigríes.	309
Anexo 2. Secuencia analizada de <i>VvGAI1</i> y polimorfismos detectados.	321
Anexo 3. Secuencia analizada de <i>VvPel</i> y polimorfismos detectados.	322
Anexo 4. Alineamiento de <i>VvGAI1</i> con sus proteínas homologas en otras cinco especies vegetales.	323
Anexo 5. Alineamiento de <i>VvPel</i> con sus proteínas homólogas en otras siete especies vegetales.	325
Anexo 6. Lista de software empleados en este trabajo.	327
9. SUMMARY	329

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA VID

1.1.1. Detalles taxonómicos, biológicos, históricos y genéticos de la vid

1.1.1.1. Encuadre taxonómico y clasificación de las variedades cultivadas

La especie *Vitis vinifera* L., se encuadra dentro de la familia *Vitaceae*, que pertenece al orden *Rhamnales*, superorden *Celastranae*, subclase *Rosidae*, clase *Magnoliopsida*, subdivisión *Magnoliophytina*, división *Spermatophyta*. Recientes estudios filogenéticos basados en el genoma cloroplástico de plantas apuntan a una divergencia temprana de la familia *Vitaceae* del resto de familias principales de la subclase *Rosidae* (Jansen et al. 2006).

Dicha familia está compuesta por casi mil especies, agrupadas en 17 géneros. La mayoría de ellos se encuentran ubicados en regiones intertropicales, siendo muchas de sus especies empleadas ornamentalmente. El único género de importancia agronómica lo constituye el género *Vitis*, formado aproximadamente por 60 especies interfértiles, representadas casi todas en el Hemisferio Norte. Entre ellas, *V. vinifera* es casi la única especie empleada en la producción mundial de vino, mientras que las variedades de uva de mesa, aunque también en su mayoría *V. vinifera*, comprenden algunos híbridos interespecíficos como, por ejemplo, la variedad Isabella (*V. vinifera* x *V. labrusca*).

Las plantas de la familia *Vitis* son generalmente arbustos trepadores, con tallo vivaz y leñoso, y con zarcillos opuestos a las hojas. Estas últimas son alternas y con estípulas, Las inflorescencias paniculáceas, opuestas también a las hojas, contienen flores pequeñas, regulares, con estambres epipétalos (superpuestos a los pétalos), corola concrescente en el ápice y un pistilo con dos carpelos casi bilobulados. Los frutos son bayas oligospermas.

De acuerdo a Galet (1967), dentro del género *Vitis* hay dos subgéneros o secciones:

Sección *Muscadinia*: Tienen zarcillos simples, $2n=40$ cromosomas, corteza adherente, nudos sin diafragma, bayas poco azucaradas y con una maduración escalonada. Son vides situadas en zonas cálidas y templadas del sudeste de América del Norte (EEUU y México). Incluye tres especies: *V. rotundifolia* Michx, *V. munsoniana* Simpson y *V. popenoeii* Fen.

Sección Euvitis: Presentan zarcillos bifurcados o compuestos, $2n=38$ cromosomas, corteza exfoliable y nudos con diafragma. El grupo se divide en 11 series que, dependiendo de los autores, engloban entre 30 y 60 especies, incluyendo entre ellas *V. vinifera*. Hidalgo (1999) describe a la vid como un arbusto sarmentoso trepador, que se fija a tutores naturales o artificiales mediante órganos (zarcillos) de los que está provisto. Cuando faltan estos tutores se extiende sobre la superficie del terreno en una posición más o menos erguida ocupando extensiones de alguna consideración. En la planta se distingue una parte enterrada, formada por las raíces, cuyas extremidades se conocen con el nombre de “cabellera”, y una parte aérea en la que se reconocen el tronco, los brazos y los sarmientos, que duran varios años y en ellos se expanden las hojas, frutos y zarcillos, cuya duración normalmente no pasa de un año. La zona que une la parte subterránea y aérea se denomina “cuello”. La subespecie silvestre (*V. vinifera* ssp. *sylvestris*) es dioica, con plantas de flores masculinas y plantas de flores femeninas (Srinivasan y Mullins 1976), y la subespecie cultivada (*V. vinifera* ssp. *sativa* o *V. vinifera* ssp. *vinifera*) posee en general flores hermafroditas, aunque algunas variedades poseen flores femeninas con estambres no funcionales denominados estambres reflejos. Los frutos, bayas oligospermas agrupadas en racimos, están constituidos por una capa exterior (el epicarpio) que se denomina hollejo, la pulpa que rellena toda la uva (mesocarpio), un máximo de cuatro pepitas situadas dentro del endocarpio, y el pincel (prolongación de los vasos conductores del pedicelo a través de los que se nutre la uva durante su formación).

Dentro de la subespecie cultivada se han establecido diferentes clasificaciones de las variedades atendiendo a diferentes criterios, de entre los cuales destacan dos:

- Atendiendo a los grupos ecológico-geográficos establecidos por Negru (1938), citado en Aradhya *et al.* (2003), se distinguen tres grupos:

- *Orientalis*, que incluye las variedades de Armenia, Azerbaijón, Irán y Afganistán, con bayas gruesas y ovales, destinadas generalmente a su consumo en fresco.

- *Occidentalis*, que incluye a las variedades del oeste europeo (Francia, Italia, Portugal y España), cuyas bayas son pequeñas y jugosas, destinadas principalmente a vinificación.

- *Pontica*, que agrupa las variedades de Grecia, Rumanía, Hungría, Georgia y Asia Menor, y presentan bayas con características intermedias.

- Una clasificación de las variedades de vid más extendida actualmente se basa en el destino de sus productos. Así, se pueden distinguir tres tipos de variedades (Hidalgo 1999):

Uvas para mesa

Comprende aquellas variedades que se aprecian más por las condiciones físicas y estructurales de sus frutos que por las características de sus mostos. En general son deseables los racimos grandes, bien conformados, de aspecto hermoso, con bayas sueltas de gran tamaño, pulpa crujiente, piel resistente, difícil desgrane, sabor fresco y no excesivamente dulces. Habitualmente, las uvas de mesa tienen un gran desarrollo de las pepitas en tamaño y número, factor que si bien es negativo en cuanto a la calidad, está íntimamente ligado al crecimiento de la baya.

Uvas para pasificación

Generalmente se utilizan variedades apirenas, aunque no en exclusiva. La apirenia o ausencia de semillas puede ocurrir por dos mecanismos: partenocarpia y estenospermocarpia (Hidalgo 1999).

La pasificación es el destino más probable para las uvas sin semillas producidas por partenocarpia (tipo corinto), debido al pequeño tamaño de sus bayas. Este tipo de apirenia requiere que dos sucesos independientes se produzcan en el mismo individuo: el aborto de todos los óvulos y el desarrollo partenocárpico del fruto.

Las variedades apirenas estenospermocárpicas (tipo sultanina) pueden, en principio, utilizarse tanto para mesa como para pasificación. La mayoría de las variedades de interés comercial son de este tipo, y no son estrictamente variedades sin semillas: en ellas se produce fecundación, aunque el posterior desarrollo del embrión y/o del endospermo es incompleto y se interrumpe unas semanas después de la floración [Barrit, 1970, citado por (Carreño *et al.* 1997)]. Las bayas poseen esbozos de semillas rudimentarias, de tamaño muy pequeño, no lignificadas y, por tanto, no perceptibles por el consumidor.

Uvas para vino o mosto

El interés de la variedad se centra fundamentalmente en las características y la calidad de su mosto y las del vino a que da lugar. En general, son variedades con racimos de

tamaño medio a pequeño, apretado, con bayas de dimensiones reducidas o pequeñas, piel fina, elevado contenido en azúcar y pepitas escasas en número y tamaño.

En todo caso, esta clasificación no puede ser rigurosa puesto que muchas variedades pueden servir para varios usos según las circunstancias. Por ejemplo, la variedad Moscatel de Alejandría (Muscat of Alexandria) se utiliza para los tres fines citados. Con la excepción del grupo de variedades para pasificación, existe una elevada correspondencia entre la clasificación basada en los grupos ecológicos-geográficos y la clasificación basada en el uso de las variedades.

1.1.1.2. Ciclo biológico de la vid

La vid muestra un patrón de desarrollo diferente al de otras especies herbáceas anuales y plantas leñosas policárpicas, especialmente en cuanto a su ciclo reproductivo. Una revisión reciente y bastante completa de la biología reproductiva de *V. vinifera* es la elaborada por Carmona *et al.* (2008).

Las plantas de vid procedentes de semillas desarrollan una fase juvenil corta, durante la que producen de 6 a 10 nudos con hojas en espiral. En la transición de esta fase a la siguiente, la mayoría de las variedades sufren variaciones en la forma y tamaño de la hoja, pasan de una filotaxis en espiral a alterna y el meristemo apical del brote produce meristemas laterales que, aunque en principio alternan con la hoja, tras una elongación desigual del internodo, se sitúan opuestos a las hojas. Estos meristemas laterales se diferenciarán en zarcillos o inflorescencias.

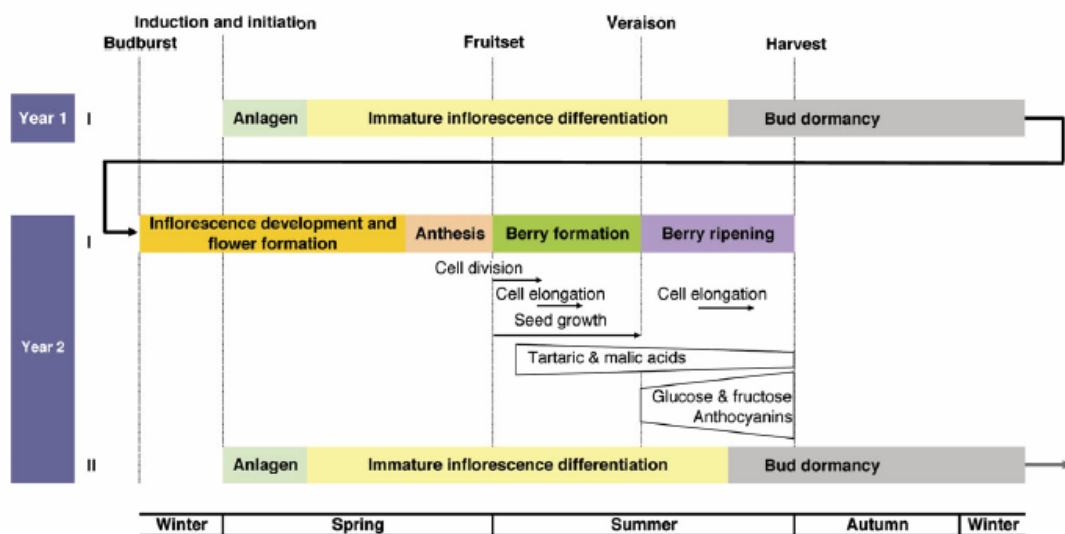
La diferenciación en inflorescencias no tiene lugar hasta entre los dos y cinco años del desarrollo de la planta, o, en caso de plantas silvestres, hasta que alcanzan la copa del bosque. Los estímulos ambientales que inducen la floración son una alta temperatura y una alta intensidad lumínica. No obstante, en determinadas variedades sometidas a luz, buena irrigación y fertilización, las plantas pueden producir inflorescencias en el segundo año de vida, lo que indica la importancia del estado nutricional. Tratamientos hormonales han mostrado que las citoquininas promueven el desarrollo de las inflorescencias, mientras que las giberelinas, aunque se requieren para la iniciación del meristemo lateral, inhiben su diferenciación en inflorescencias, favoreciendo el desarrollo de zarcillos.

En regiones templadas, el ciclo reproductivo de la vid se completa en dos sesiones de crecimiento separadas por un periodo de dormancia entre otoño y primavera (Figura 1). En primavera, a partir de la yema, se produce una rama con inflorescencias en su parte

basal y zarcillos en la zona media y apical, opuestos a las hojas. Cada hoja contiene una yema axilar que dará lugar a una rama lateral, que será la que brote en la siguiente primavera.

El meristemo de la inflorescencia se divide en un racimo de tres o cuatro meristemas de flores. Primero se desarrollan las flores terminales, después las laterales y por último las basales. El tamaño y la estructura de la inflorescencia madura, y por tanto del racimo, es determinada por el tiempo de desarrollo meristemático.

Figura 1. Ciclo reproductivo de la vid en dos años [figura tomada de Carmona *et al.* (2008)].



Los tejidos de la baya derivan de la pared del ovario y comprenden, de fuera a dentro, un exocarpo (hollejo), un mesocarpo con células parenquimáticas externas e internas (pulpa) y un endocarpo. El exocarpo en la madurez está compuesto por una epidermis formada por una sola capa de células y una hipodermis compuesta por aproximadamente 10 capas celulares; en él se acumulan antocianinas y polifenoles en vacuolas. El mesocarpo se desarrolla como resultado de múltiples divisiones celulares seguidas por un crecimiento de dichas células, que están especializadas en la acumulación de azúcares (principalmente glucosa y fructosa), ácidos orgánicos (ácido tartárico y málico sobre todo) y agua. En él se pueden reconocer dos capas diferenciadas por la forma de las células. El endocarpo contiene las semillas y en él también se pueden diferenciar dos capas, una interna formada por unas pocas capas celulares y una externa. En bayas maduras resulta difícil distinguir el endocarpo del resto de la pulpa.

El desarrollo de la baya sigue una curva de crecimiento doble sigmoideal con dos fases de crecimiento separadas por una fase estacionaria. La primera fase o fase verde se caracteriza por la división celular, que da lugar al crecimiento de la baya, y la diferenciación de las semillas. La fase estacionaria finaliza con el envero, proceso caracterizado por la iniciación del ablandamiento de la baya y de su coloración, marcando los grandes cambios fisiológicos y metabólicos que se producen durante la maduración de la baya. La segunda fase o fase de maduración se caracteriza también por un crecimiento exponencial de la baya, pero debido principalmente a un aumento del tamaño celular.

La uva es considerada un fruto no climatérico, en el que la maduración no es inducida por etileno o, al menos, éste no juega un papel principal, pero hasta la fecha, no se sabe demasiado acerca de los mecanismos que regulan la maduración.

1.1.1.3. Revisión histórica del origen y expansión de la vid cultivada

En la actualidad, la vid es uno de los mayores cultivos hortícolas del mundo, el cual ha estado estrechamente relacionado con el desarrollo de la cultura humana. Su principal producto, el vino, fue considerado como una bebida de los dioses, jugando también un papel muy importante en la cultura mediterránea. En This *et al.* (2006) se recoge una revisión histórica reciente acerca de este cultivo, resumida a continuación.

V. vinifera es la única especie del género *Vitis* nativa de Eurasia y se ha sugerido que su primera aparición podría haber ocurrido hace aproximadamente 65 millones de años. Hoy en día coexisten dos formas en Eurasia y en el Norte de África (*V. vinifera* ssp. *sativa* y *V. vinifera* ssp. *sylvestris*), aunque esta clasificación en subespecies, basada en diferencias morfológicas, podría no ser válida, ya que es probable que dichas diferencias morfológicas se deban más al proceso de domesticación de la vid por los humanos a lo largo del tiempo que al aislamiento geográfico. Actualmente, existen miles de variedades pertenecientes a las formas cultivadas de *V. vinifera*, pero las formas silvestres de *V. vinifera* son escasas, extendiéndose desde Portugal hasta Turkmenistán, y desde las riberas del Rin hasta los bosques del norte de Túnez. Se piensa que estas formas silvestres son los antepasados de las variedades cultivadas en la actualidad.

La domesticación de la vid parece estar muy ligada al descubrimiento del vino, aunque no está muy claro qué acto sucedió primero. Durante la domesticación de la vid, su biología sufrió cambios muy drásticos, dirigidos a asegurar un mayor contenido de azúcar en las uvas para una mejor fermentación, un mayor rendimiento y una producción más regular.

En este proceso, los cambios sufridos en el tamaño de los racimos y las bayas, y el cambio de plantas dioicas (en las formas silvestres) a hermafroditas (en las formas cultivadas) fueron cruciales. También ocurrieron cambios en la morfología de las semillas, y aunque su importancia biológica es desconocida, son de gran utilidad para el estudio de restos arqueológicos, pudiéndose diferenciar si las semillas proceden de vides silvestres o cultivadas. Se desconoce si esos cambios ocurrieron lentamente mediante cruzamientos sexuales, naturales o artificiales (selección humana), o por el contrario ocurrieron rápidamente a través de mutaciones, llevándose a cabo posteriormente los procesos de selección y propagación mediante reproducción vegetativa.

Todavía existe incertidumbre acerca de cuándo y dónde tuvo lugar la primera domesticación y de si existieron domesticaciones secundarias independientes. Aunque las especies silvestres estuvieron probablemente presentes en muchos lugares de Europa durante el Neolítico, pruebas arqueológicas e históricas sugieren que la primera domesticación ocurrió en Oriente Próximo. La primera evidencia de la producción de vino fue encontrada en Irán, exactamente en el yacimiento neolítico de Hajji Firuz Tepe, situado al norte de los Montes Zagros hace entre 7.000 y 7.400 años. En Georgia y Turquía se encontraron semillas de vides domesticadas con 8.000 años de antigüedad. Sin embargo, restos de semillas del Neolítico halladas en Europa Occidental, sugieren la explotación de la vid en esta época y región.

Un estudio que apoya que pudo existir más de un evento de domesticación de la vid es el llevado a cabo por Arroyo-García *et al.* (2006), que estudiaron el ADN cloroplástico tanto de muestras pertenecientes a *V. vinifera* ssp. *sativa* como a *V. vinifera* ssp. *sylvestris*. Éstas correspondían a distintos lugares geográficos: Península Ibérica, Europa Central, Norte de África, Italia, Balcanes, Europa del Este, Oriente Próximo y Oriente Medio. Los resultados obtenidos en este estudio, apuntan a la existencia de al menos dos posibles eventos de domesticación, uno en Oriente Próximo y otro en la región del Mediterráneo Occidental, el cual dio lugar a muchas de las variedades presentes actualmente en Europa Occidental.

Grassi *et al.* (2003) ya habían sugerido la existencia de un centro de domesticación secundario al detectar que dos variedades cultivadas italianas eran muy similares genéticamente a algunas variedades silvestres de la zona. En trabajos posteriores sobre el origen y diversificación de *V. vinifera* ssp. *sylvestris*, Grassi *et al.* (2006; 2008) sugirieron la región Caucásica como posible centro de origen y, dicha región más la Península Itálica, como las dos principales áreas de refugio durante las glaciaciones. A partir de estas dos áreas, según dichos autores, habrían existido dos rutas migratorias

principales hacia el norte de Europa: desde Italia atravesando los Alpes y desde el Cáucaso hacia el oeste a través de Ucrania y Turquía. Tampoco excluyeron los Balcanes como otro posible centro de origen, puesto que es un centro de recolonización para la mayoría de las especies, y aunque hoy en día no existen poblaciones de la subespecie silvestre en esta región, podría deberse a la drástica reducción de diversidad tras la introducción de los patógenos norteamericanos.

Imazio *et al.* (2005) observaron, también mediante el análisis de STMSs cloroplásticos, una marcada ausencia de haplotipos en Oriente con respecto a Occidente. No obstante, el influjo genético de poblaciones silvestres autóctonas sobre las variedades cultivadas en las diferentes regiones geográficas a lo largo del tiempo (Aradhya *et al.* 2003; Grassi *et al.* 2003) dificulta alcanzar una conclusión firme en este aspecto. Otra hipótesis diferente explica que pudo ocurrir un único evento de domesticación en Oriente Próximo, de manera que, tras extenderse la vid cultivada por Occidente, hubiera en Oriente una extinción masiva de variedades de vinificación debido a la prohibición del vino por el Islam, mientras en occidente habrían alcanzado una mayor diversificación gracias a dicha mezcla genética entre variedades cultivadas y silvestres autóctonas (Aradhya *et al.* 2003). De hecho, existe cierta diferenciación entre variedades de mesa y de vino que, aunque podría deberse a que proceden de diferentes orígenes, lo más probable es que se deba a la intensa selección de variedades de mesa en Oriente y de vino en Occidente. Desde los primeros lugares donde se llevó a cabo la supuesta primera domesticación, Oriente Próximo, hubo una extensión gradual facilitada por la multiplicación vegetativa a regiones adyacentes tales como Egipto y Baja Mesopotamia (hace 5.500-5.000 años), y otra más dispersa alrededor del Mediterráneo siguiendo las principales civilizaciones (asirios, fenicios, griegos, etruscos, romanos, y cartagineses). Posteriormente, el cultivo de la vid se extendió hasta Japón (hace 3.200 años) y China (siglo II). Bajo la influencia de los romanos, *V. vinifera* alcanzó muchas regiones templadas de Europa, llegando incluso hasta el norte de Alemania. Esta expansión a menudo seguía las principales rutas del comercio, como, por ejemplo, a través de los ríos Rin, Ródano, Danubio y Garona. Al final del Imperio Romano, los lugares europeos donde se cultivaba la vid coinciden en su mayoría con los de hoy en día. Los romanos fueron los primeros en dar nombre a las variedades de vid, aunque es difícil relacionarlos con los nombres de las variedades actuales, y en esa época, probablemente ya se distinguiría entre variedades de uva de mesa y de vino, así como los distintos colores que éstas pueden presentar.

En la Edad Media, la iglesia Católica reemplazó a los romanos en la difusión del cultivo de la vid hacia nuevas regiones, y facilitó el intercambio de material vegetal a través de

las cruzadas y con la expansión de su religión hacia el Norte de Europa. La extensión del Islam al Norte de África, España y Oriente Medio también jugó un importante papel en el esparcimiento de la vid, aunque en este caso, especialmente en las variedades de uva de mesa. Durante la Edad Media aparecieron nombres de variedades que todavía se siguen utilizando en la actualidad.

Siguiendo al Renacimiento (siglo XVI), *V. vinifera* colonizó los países del Nuevo Mundo a través de los misioneros, primero como semillas (fáciles de transportar) y después mediante esquejes desde sus países de origen (Francia, Alemania, España, Italia y Europa Oriental). Dichos esquejes fueron también introducidos en el siglo XIX en Sudáfrica, Australia y Nueva Zelanda, y un poco más tarde en el Norte de África.

Al final del siglo XIX, después de varios milenios de expansión geográfica de la vid, se extendieron desde América hasta Europa nuevos agentes causantes de enfermedades, tales como el mildiu, el oidio o la filoxera, provocando la destrucción de muchos viñedos europeos y cambiando radicalmente la diversidad de esta especie, tanto en vides cultivadas como en vides silvestres. La diversidad presente hoy en día podría ser un pálido reflejo de la que existía antes de la llegada de la filoxera. La viticultura europea se libró de su extinción gracias a la introducción de otras especies del género *Vitis* originarias de América, que fueron utilizadas como portainjertos y para la producción de híbridos interéspecíficos resistentes a enfermedades. Esos híbridos productores directos fueron ampliamente utilizados hasta la mitad del siglo XX, siendo hoy en día muy escasos.

Por otro lado, desde hace varias décadas, la globalización del mercado del vino y, en menor medida, de la uva de mesa, ha favorecido la expansión de determinadas variedades de vinificación como Chardonnay, Cabernet sauvignon, Syrah y Merlot, y de variedades de mesa apirenas o con sabor moscatel. Esto ha contribuido a la desaparición de antiguas variedades locales, dando lugar a otra drástica reducción de la diversidad de la especie.

De este modo, la diversidad de las variedades de vid presente en la actualidad ha estado estrechamente influenciada por el ser humano. Hoy en día existen varios miles de variedades, pero la mayoría se encuentran solamente en colecciones de variedades de vid.

1.1.1.4. Importancia económica del cultivo de la vid

La superficie mundial de viñedo ha ido disminuyendo desde la década de los años 70, con más de 10 millones de hectáreas entre 1976 y 1980, hasta llegar a una cierta estabilización en los últimos años, con cerca de 8 millones de hectáreas (ha) (Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), Estadística de 2005). Según las estadísticas de la OIV presentadas por su director general en el XXIX Congreso Mundial de la Viña y el Vino celebrado en Logroño en Junio del 2006, el 59% de la superficie vitivinícola está en Europa, el 22% en Asia, el 12% en América, el 5% en África y el 2% en Oceanía. España, con cerca de 1,2 millones de hectáreas en 2005, representa el 15% de la superficie mundial; seguida de Francia, con 894.000 ha (11%); Italia, 842.000 ha (10%); Turquía, 555.000 ha (7%); China, 485.000 ha (6%); Estados Unidos, 399.000 ha (5%); Irán, 338.000 ha (3%); Portugal, 248.000 ha (3%); Argentina, 219.000 ha (2,7%); y Rumanía, 217.000 ha (2,7%).

El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), según su Anuario de Estadística Agroalimentaria de 2007, correspondiente a datos del año 2006, indica que España, con más de un millón de hectáreas (1.135.229 ha), es el país del mundo con mayor superficie cultivada. De ellas, 20.014 ha (1,8%) se dedican a la producción de uva de mesa, 1.112.678 ha (98%) a la producción de uva para vinificación, 1.920 ha (0,17%) a la producción de uva para pasificación y 617 ha (0,05%) para viveros de viñedo. El total de la producción de uva en España está representado por 6.595.056 Tm. De ellas, 331.198 Tm (5%) pertenecen a uva de mesa, 6.259.058 Tm (94,9%) a uva para vinificación y 4.800 Tm (0,07%) a uva para pasificación. Como se puede observar, el porcentaje de uva de mesa aumenta cuando se refiere a producción. Ello se debe al mayor rendimiento de la superficie en producción dedicada a la uva de mesa, por las condiciones de cultivo de cada tipo de explotación.

Comparando con datos de 1996 de la OIV, la producción total de uva en España contaba con casi 5 millones de Tm, mientras que en 2006 presentaba más de 6 millones, a pesar de mostrar ambos años prácticamente las mismas hectáreas de superficie de cultivo (cerca de 1,2 millones de ha). En 1996 las hectáreas dedicadas en España a la producción de uva de mesa eran 34.000 ha, mientras que en 2006 el valor era de 20.014 ha. Aún presentando menos hectáreas de cultivo, en 2006 hay un mayor rendimiento en cuanto a la producción, debido principalmente, a la mejora de las condiciones de cultivo. Con respecto a la producción de uva destinada para pasificación, en 1996, 3.764 ha estaban dedicadas a este fin, decreciendo su cultivo en gran medida en 2006 (1.920 ha).

El mercado de la uva de vino es mucho más importante económicamente y estable con respecto a las variedades usadas, porque en muchos casos los productores de vino de un determinado lugar tienen que usar ciertas variedades para conseguir una determinada etiqueta de “calidad”. Así, los esfuerzos de mejora genética en variedades de vinificación se han centrado generalmente en la selección clonal. Sin embargo, el mercado de la uva de mesa es mucho más dinámico, y la mayoría de las variedades que están siendo cultivadas en la actualidad son diferentes con respecto a las cultivadas hace 30 años. El cruzamiento entre diferentes variedades está mucho más extendido en la uva de mesa, y las nuevas obtenciones de interés son rápidamente distribuidas a otros países productores. Como consecuencia de ello, la protección legal de variedades de vid (similar a una patente o a una propiedad intelectual) afecta principalmente a las variedades de uva de mesa. La comercialización de ciertas variedades con rasgos característicos, junto con las restricciones impuestas por los obtentores de nuevas variedades, da lugar actualmente a una alta competencia de mercado que promueve que las grandes empresas productoras se planteen la necesidad de disponer de variedades propias, evitando la dependencia de variedades foráneas y diferenciándose del resto de productores, favoreciendo así sus beneficios económicos. Estos productores están iniciando programas de mejora, bien individualmente o mediante convenios con Organismos Públicos de Investigación, basados en cruzamientos controlados. Algunos caracteres de considerable interés de cara al mercado, en los que se centra la mejora genética de las variedades de uva de mesa en la actualidad, son la apirenia, el sabor amoscotelado y las bayas crujientes y de gran tamaño.

En los últimos años, España ha experimentado un cambio en cuanto al cultivo de variedades de uva de mesa, disminuyendo la superficie cultivada con variedades autóctonas, como Aledo u Ohanes, y aumentando la de variedades internacionales como Italia, y, sobre todo, la de variedades apirenas.

1.1.1.5. Diversidad genética de la vid

1.1.1.5.1. Variedad-población, sortogrupo, variedad, sport y clon

Hasta no hace mucho tiempo, atendiendo a su origen, se podían distinguir dos tipos de variedades:

Variedades de origen policlonal: son aquellas que, aunque incluyen plantas que proceden de embriones diferentes, mantienen caracteres comunes, responsables de que

sean reconocidas como pertenecientes a la misma variedad. Estas variedades, tradicionalmente se han denominado con el término de “variedad-población”. Según Cervera *et al.* (2001), el origen policlonal de una variedad probablemente corresponda a variedades pobremente caracterizadas, genética y morfológicamente y que, como consecuencia, incluyen distintas homonimias (variedades distintas designadas con el mismo nombre).

Variedades de origen monoclonal: en la actualidad, todas las nuevas variedades de vid presentan un origen monoclonal. Están constituidas por individuos procedentes de un mismo embrión, con un genotipo original, y son por tanto genéticamente idénticos, salvo por las mutaciones somáticas, las cuales pueden ser estables en el tiempo y transmitirse a la descendencia a través de la reproducción vegetativa. Debido a estas mutaciones, no siempre todos los individuos procedentes de un mismo embrión pertenecen a la misma variedad. Las variantes somáticas pueden corresponderse con quimeras periclinales, que son heterocigóticas para mutaciones espontáneas en una de las dos capas meristemáticas existentes en vid (L1 o L2) (Franks *et al.* 2002).

La selección clonal dentro de estas variedades monoclonales en su origen se basa en las mutaciones somáticas; consiste en la búsqueda de plantas con pequeñas diferencias genéticas, en un fondo esencialmente idéntico, que pueden provocar grandes diferencias agronómicas. A partir de esas plantas se establecen distintos clones de una variedad. En ocasiones, mutaciones somáticas evidentes, como las que afectan al color o al tamaño de la baya, la forma del racimo, o al tiempo de maduración, dan lugar a clones que, por su importancia, se constituyen en nuevas variedades. Utilizando un término anglosajón, son los denominados “sports”, que son genéticamente idénticos a la variedad inicial excepto en uno o unos pocos caracteres. Este hecho es antiguo en viticultura, Negrul en 1946, citado por Bourquin *et al.* (1993) propuso el concepto de “sortogrupo”, donde se incluyen una variedad dada junto a todas las originadas a partir de un mismo embrión. Así, por ejemplo, pertenecen al mismo sortogrupo las variedades Pinot gris, Pinot noir, Pinot blanc y Pinot meunier (Regner *et al.* 2000a).

Cuando los “sports” derivan de una variedad inicial protegida legalmente, se denominan variedades esencialmente derivadas (EDV). Este concepto se introdujo en el Convenio de la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) por el Acta de 1991, para mantener un sólido sistema de protección, con el fin de promover la obtención de nuevas variedades vegetales.

1.1.1.5.2. Sinonimias y homonimias

La extensión del cultivo de la vid en el espacio y en el tiempo ha generado una gran confusión en las denominaciones de las variedades, resultando muy común la existencia de sinonimias y homonimias. La palabra “sinonimia” hace referencia a que una misma variedad puede presentar diversos nombres o sinónimos. La variedad en cuestión es denominada en general con el nombre más antiguo o extendido, llamándose al resto de los nombres, sinónimos de esa variedad. Así, por ejemplo, los nombres de Tempranillo, Tinto fino, Cencibel, Tinta de Toro, Tinta del País y Ull de Llebre corresponden a la misma variedad en distintas localizaciones geográficas españolas (Rioja y Alicante, Madrid, La Mancha, Zamora, Ribera de Duero y Penedés, respectivamente) (Ibáñez *et al.* 2006a).

En ocasiones, a variedades distintas se las conoce con el mismo nombre (“homonimias”), debido a errores o denominaciones populares. Así por ejemplo, en Guadalajara y en Madrid, a veces se denomina Malvar a la variedad Airén. También la variedad Marfal, cultivada en Extremadura, se ha confundido en ocasiones con Malvar, debido a la similitud ortográfica (Ibáñez *et al.* 2006b).

Debido a la gran confusión existente en la denominación de las variedades de vid tanto en el territorio nacional como en el internacional, resulta extremadamente difícil en la actualidad, conocer el número real de variedades diferentes de vid. Por este motivo, entre otros, resulta fundamental la existencia de colecciones de variedades de vid, donde se conserva y estudia el máximo de diversidad genética de las especies cultivadas y sus afines silvestres.

Actualmente, existe un catálogo internacional de variedades de vid (<http://www.vivc.bafz.de/index.php>), en el que se ha adjudicado un nombre principal (“prime name”) a cada grupo de variedades sinónimas. En este catálogo se pueden encontrar las variedades conservadas en las colecciones de vid más importantes del mundo.

1.1.1.5.3. Colecciones de variedades de vid

Según Alleweldt y Possingham (1988), existen aproximadamente unas 10.000 variedades distintas, de las cuales, la mayoría se encuentran recogidas en colecciones de variedades de vid distribuidas por todo el mundo. En cambio, This *et al.* (2006), basándose en resultados obtenidos mediante perfiles de ADN, especulan que

actualmente, el número más acertado de variedades diferentes de vid sería 5.000, estando muchas de ellas estrechamente relacionadas.

En especies de importancia agrícola, como la vid, es primordial el mantenimiento de colecciones vegetales en Bancos de Germoplasma, que constituyen a la vez material de distribución y de investigación. Dichas colecciones surgieron como consecuencia de la necesidad de preservar la diversidad genética de las especies, sometida a una intensa erosión genética en los últimos siglos debida a diversos factores sociales y agrícolas, tales como la importación de variedades más productivas, el monocultivo, y, en el caso de la vid, la penetración de la filoxera en el siglo XIX, por lo que los primeros Bancos de Germoplasma de Vid se iniciaron a finales de dicho siglo.

La Colección de Variedades de Vid de La Finca El Encín cuenta actualmente con 3.303 accesiones, de las cuales 1.065 corresponden a accesiones de vinificación, 649 a accesiones de mesa, 848 a portainjertos, 600 a silvestres, 75 a híbridos productores directos y 66 a diferentes especies del género *Vitis*. Es el segundo banco de germoplasma de *Vitis* en importancia de Europa, (el primero es el de Vassal, perteneciente al INRA, Montpellier, con más de 7.000 entradas).

Dado el elevado número de accesiones existentes en las colecciones vegetales, resulta complicado llevar a cabo la caracterización y el análisis de la colección completa para determinados estudios, especialmente mediante descriptores agronómicos. A este respecto, Frankel (1984) propuso el establecimiento de colecciones nucleares, y las definió como “un conjunto limitado de accesiones que, empleando un mínimo de repeticiones, representa la diversidad genética de una especie cultivada y de sus parientes silvestres”. Desde entonces, las colecciones nucleares han sido aceptadas como herramientas eficaces para mejorar la conservación y el uso de las colecciones de recursos genéticos.

En los últimos años, se han descrito diversas estrategias para la construcción de colecciones nucleares dependiendo de si se trata de una colección estratificada o no. En una colección estratificada se han empleado diferentes criterios tales como:

- El tamaño de cada grupo (Brown 1989), para el que se han descrito tres estrategias:
 - Estrategia constante (C), que asigna un número igual de entradas a cada grupo, sin tener en cuenta el número de accesiones del grupo.

- Estrategia proporcional (P), que asigna las entradas a un grupo manteniendo una relación proporcional con el número de accesiones de cada grupo.
- Estrategia logarítmica (L), que asigna las entradas a cada grupo manteniendo una relación proporcional con el logaritmo del número de accesiones del grupo.
- La distancia de Gower entre accesiones en cada grupo, basada en caracteres fenotípicos (Estrategia D) (Franco *et al.* 2005).
- La diversidad genética o la heterocigosidad esperada en cada grupo (Estrategia H) (Schoen y Brown 1993).

En una colección no estratificada, una opción es una selección de accesiones al azar (Estrategia R), aunque el criterio actualmente más extendido consiste en la maximización alélica (Estrategia M), que maximiza el número de alelos observados en todos los loci (Schoen y Brown 1993). Esta estrategia, a diferencia de la Estrategia H, no emplea la información de los marcadores de un modo estadístico, sino como criterio determinístico, atendiendo a cada alelo. Esta estrategia, no sólo define el número de accesiones que debe conformar la colección nuclear, también identifica las accesiones que se deben incluir. Bataillon *et al.* (1996) observaron que esta estrategia, frente al resto, presenta la capacidad de capturar la riqueza alélica de loci tanto neutrales como sujetos a selección, los cuales deben presentar, *a priori*, grandes diferencias en sus frecuencias.

Independientemente del método empleado para obtenerla, una colección nuclear siempre será sustancialmente más pequeña que la colección de la cual deriva. En la práctica, la mayoría de estas colecciones constan de entre el 5% y el 20% del tamaño de las colecciones de las cuales se extrajeron (van Hintum *et al.* 2003).

1.1.1.6. El genoma de la vid

El genoma de la vid, distribuido en 19 cromosomas ($2n=38$), es pequeño en comparación con el de otras especies. Lodhi y Reisch (1995) estimaron, mediante citometría de flujo, un tamaño aproximado de entre 415 y 483 Mb/C (C=genoma haploide en estado cromatídeo), lo que ha sido confirmado recientemente, tras la secuenciación del genoma completo de *V. vinifera* en 2007. Por un lado, el Consorcio Público Franco-Italiano para la Caracterización del Genoma de Vid secuenció una variedad altamente homocigótica derivada de Pinot noir y estimó un tamaño de 487 Mb (Jaillon *et al.* 2007), y por otro lado,

Velasco *et al.* (2007), mediante la secuenciación de Pinot noir, estimaron un tamaño de 504,6 Mb. Esto representa aproximadamente cuatro veces el tamaño del genoma de *Arabidopsis thaliana*, con 125 Mb (Dennis y SurrIDGE 2000), aunque es muy similar al de *Oryza sativa*, con 430 Mb, (Goff *et al.* 2002), *Populus trichocarpa*, con 465 Mb, (Tuskan *et al.* 2006) y *Medicago truncatula*, con ~500 Mb (www.genome.ou.edu/medicago.html). De acuerdo al trabajo publicado por Jaillon *et al.* (2007), un 46,3% del total del genoma corresponde a genes, aunque sólo el 6,9% son exones. Tanto en el trabajo de Velasco *et al.* (2007) como en el de Jaillon *et al.* (2007), se anotaron en torno a 30.000 genes que codifican proteínas, algo más que para *A. thaliana* (26.819 genes), aunque bastante menos que los descritos para *P. trichocarpa* (45.555 genes) e incluso que para *O. sativa* (41.046 genes). Según Velasco *et al.* (2007), el 6,7% del genoma correspondía a factores de transcripción, similar a las otras especies aquí comparadas.

Por otra parte, ambos trabajos coinciden en que gran parte del genoma está compuesto por elementos repetitivos y por transposones [el 41,4% según Jaillon *et al.* (2007)], correspondiendo la mayoría a elementos transponibles de clase I (o retrotransposones). Velasco *et al.* (2007) sugieren que, debido en parte a la actividad de estos elementos, el genoma de la vid se encuentra en un estado dinámico.

Mediante el estudio del genoma de vid y su comparación con otras especies, Jaillon *et al.* (2007) observaron que la mayoría de las regiones génicas de *Vitis* presentaban dos regiones parálogas. Concluyeron que el genoma haploide de vid existente hoy en día se originó a partir de la contribución de tres genomas ancestrales, es decir, durante una evolución temprana en las dicotiledóneas debió ocurrir un evento de hexaploidización, de manera que actualmente los genomas de *A. thaliana*, *P. trichocarpa* y *V. vinifera*, pertenecientes a distintas subclases de dicotiledóneas, comparten diferentes regiones parálogas. En arroz no se detectó una clara correspondencia de estas regiones, debido probablemente a la antigüedad de su línea evolutiva. No obstante, Velasco *et al.* (2007) plantea una hipótesis alternativa, asumiendo tres duplicaciones del genoma, una compartida por todas las dicotiledóneas (y posiblemente también por las monocotiledóneas), otra compartida por *A. thaliana* y *P. trichocarpa*, pero no por *Vitis*, y otra específica de *A. thaliana* y de *P. trichocarpa* independientemente. Para explicar la aparición de regiones génicas por triplicado en *Vitis*, proponen un posible evento de hibridación poco después de su divergencia respecto al linaje que daría lugar a *Arabidopsis* y *Populus*.

Al igual que el genoma nuclear, también ha sido secuenciado completamente el genoma cloroplástico de vid (Jansen *et al.* 2006). Este cuenta con 160.928 pb totales, que

incluyen dos repeticiones invertidas (IR) de 26.358 pb separadas por una región de copia única pequeña de 19.065 pb y otra grande de 89.147 pb. El 57,55% del genoma corresponde a región codificante, conteniendo 131 genes totales, aunque 18 de ellos están duplicados en la IR. El orden de dichos genes es idéntico al del genoma cloroplástico de tabaco. El uso del cloroplasto en transformación genética resulta interesante debido a que presenta determinadas ventajas frente al genoma nuclear, tales como el alto nivel de expresión transgénica, la herencia de transgenes exclusivamente por vía materna, la ausencia de silenciamiento del gen o el efecto de posición (Jansen *et al.* 2006).

1.1.2. Caracterización de variedades de vid

Como resultado de la larga historia del cultivo de la vid y de su reproducción vegetativa asistida por el hombre, la estructura genética poblacional de *V. vinifera* es muy compleja, con un elevado número de variedades, entre las que se da una considerable proporción de sinonimias y homonimias. Por ello, es primordial la correcta identificación de las distintas variedades. Hasta hace relativamente poco tiempo, la ampelografía (del griego *ámpelos*, vid), que se basa en descripciones morfológicas de la vid, ha sido la principal estrategia para la caracterización de variedades de *V. vinifera*, aunque a lo largo de los últimos años, han venido utilizándose además diferentes técnicas bioquímicas y moleculares.

1.1.2.1. Ampelografía: descripción de caracteres morfológicos y fenológicos

Tradicionalmente, se utilizaban métodos subjetivos de descripción de los caracteres morfológicos de los órganos de la vid. En un intento de consenso, distintos organismos internacionales (IPGRI, OIV y UPOV) publicaron una lista de descriptores para la identificación de variedades de vid (IPGRI *et al.* 1997). Según el IPGRI, los descriptores de caracterización “permiten una discriminación fácil y rápida entre fenotipos. Generalmente son caracteres heredables, pueden ser fácilmente detectados a simple vista y se expresan igualmente en todos los ambientes”. Actualmente, estos tres organismos presentan descriptores propios, disponiendo cada uno de una lista de caracteres que se refieren a aquellas características de la planta suficientemente estables para ser válidas a la hora de definir y diferenciar las distintas variedades. Estas listas de caracteres coinciden en una gran parte pero no llegan a ser completamente idénticas,

pues reflejan los criterios y alternativas elegidos por los distintos grupos de expertos que han conformado cada uno de los organismos internacionales mencionados. Durante los años 2006 y 2007, se han celebrado reuniones entre la UPOV y la OIV para tratar de unificar los descriptores morfológicos seleccionados para la identificación de variedades de vid.

En las diferentes listas de los diferentes organismos, a cada descriptor se le adjudica un código. Los niveles de expresión que pueden presentar cada uno de ellos se corresponden con dígitos enteros (por ejemplo, para el carácter de “compacidad del racimo”: 1-muy suelto, 3-suelto, 5-compacidad media, 7-compacto y 9-muy compacto). Con el fin de facilitar la determinación de estos niveles, se explica el procedimiento correcto para ello y se señalan variedades que sirven de referencia para cada uno.

Tanto para la protección de variedades como para la realización de los Registros de Variedades Comerciales (referencia oficial en cuanto al panorama varietal de la especie) en el ámbito de la Unión Europea, se ha fijado el descriptor UPOV como referencia obligada, si bien es frecuente tener en cuenta el de la OIV, y para algunos cometidos de investigación el del IPGRI (hoy Bioversity International).

La descripción ampelográfica mínima de una variedad de vid, de acuerdo a la OIV, puede efectuarse con 40 caracteres, mientras que para la descripción completa son necesarios 130. En cualquier caso, se incluyen caracteres de todas las partes del ciclo vegetativo de la planta, así como algunos fenológicos. Los diversos caracteres se estudian sobre los diferentes órganos, a veces en distintos estadios del desarrollo: yema, hoja joven, hoja adulta, sumidad o pámpano joven, pámpano, sarmiento, inflorescencia, flor, racimo, baya y semilla, con la excepción del porte, que se describe sobre la planta en su conjunto.

Entre los tratados clásicos de Ampelografía cabe destacar los desarrollados por Viala y Vermorel (1901) y Galet (1956-1964). En el ámbito nacional más reciente, merece resaltarse el trabajo de Borrego *et al.* (1990) y Rodríguez Torres (2001).

Pese a resultar indispensable, la Ampelografía adolece de unas características que limitan su utilidad frente a otras técnicas más recientes:

- A pesar de la cuidadosa selección de los descriptores, sigue existiendo un cierto factor de subjetividad en la caracterización morfológica.
- Es necesario un largo tiempo para completar la descripción, ya que desde que se inicia una plantación, pueden pasar 4 años hasta que las plantas estén listas para ser descritas. La descripción abarca un ciclo vegetativo completo de la planta, lo que implica un mínimo de cuatro visitas del ampelógrafo a la plantación a lo largo

de unos seis meses. Además, debido a diferencias ambientales, el estudio debe realizarse durante varios años.

- El número de caracteres a estudiar es limitado, por lo que, dado el gran número de variedades de vid, no siempre es posible la identificación inequívoca. Ampliar la lista mínima a otros caracteres conlleva riesgos, pues muchos son susceptibles a las diferencias ambientales, lo que aumenta el riesgo de errores en la identificación.
- Los distintos tipos de poda afectan a los caracteres morfológicos de la planta, haciendo que los resultados no siempre sean comparables.

1.1.2.2. Ampelometría: métodos morfométricos

Con la finalidad de eliminar la subjetividad del operador, se han buscado una serie de caracteres susceptibles de cuantificación estricta y objetiva. Así nació la Ampelometría, método que complementa los estudios ampelográficos. Está basado en la descripción cuantitativa y en el análisis e interpretación de la forma de las hojas mediante el uso de un digitalizador, que facilita tanto las mediciones de longitudes y ángulos presentes en las hojas, como el procesamiento de los datos. En resumen, se trata de un método de simple y rápida aplicación, que sustituye en parte al trabajo del operador en el campo con el fin de identificar una variedad (Chávez y Ortiz 2000).

1.1.2.3. Técnicas moleculares bioquímicas

Hace algunos años, fueron bastante utilizadas técnicas moleculares con las que se obtenían estimaciones de la variabilidad de variedades de vid atendiendo a caracteres de tipo bioquímico, tales como isoenzimas de hoja y sarmiento, y proteínas de endospermo. Hoy en día, éstas técnicas prácticamente han sido reemplazadas por aquellas basadas en el estudio del ADN.

1.1.2.4. Técnicas moleculares basadas en el análisis de ADN

Las técnicas moleculares permiten estudiar polimorfismos en el ADN, origen de toda la variación genética, y constituyen por tanto una aproximación más fiable para determinar las diferencias entre variedades o especies. Además evitan problemas asociados con

influencias medioambientales, factores fisiológicos y expresión específica de tejido y desarrollo.

A partir de los años 70, aparecieron los llamados “marcadores moleculares”, que consisten en sistemas polimórficos basados en la detección de pequeñas diferencias existentes en las secuencias del ADN. Se trata por tanto de “polimorfismos moleculares” relativos a diferencias de bases nucleotídicas que se pueden detectar por una diversa gama de técnicas y que se pueden utilizar como alelos moleculares.

Aunque los primeros marcadores utilizados fueron los RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), una técnica laboriosa y no fácilmente automatizable basada en la digestión de ADN mediante enzimas de restricción, en los últimos años ha sido ampliamente utilizada la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica permite la amplificación de fragmentos específicos, hasta concentraciones muy elevadas, a partir de pequeñas cantidades de ADN molde. Para ello es necesario, además del ADN molde, una ADN polimerasa termoestable, nucleótidos y unos pequeños fragmentos monocatenarios de ADN que, por complementariedad de bases, se pueden unir al ADN molde y sirven de cebadores a la polimerasa. A partir de dos de estos cebadores que cumplan determinados requisitos, la polimerasa copia el fragmento contenido entre ellos. Este proceso se repite muchas veces, y, en cada nuevo ciclo, el fragmento recién sintetizado puede servir como molde; así el resultado es una amplificación exponencial de dicho fragmento.

Cuando no se analiza una secuencia determinada, se utilizan cebadores pequeños de secuencia arbitraria, lo que genera amplificación de múltiples regiones polimórficas, que se han denominado MAAP (Polimorfismo de “Amplicones” Múltiples Arbitrarios), marcadores entre los que se encuentran los RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Welsh y McClelland 1990; Williams *et al.* 1990). El análisis de RAPD ha sido ampliamente utilizado en la década pasada debido a sus enormes ventajas en cuanto a su facilidad de uso, rapidez, mínimo requerimiento de muestra de ADN, economía y disponibilidad de un número ilimitado de cebadores útiles para detectar variabilidad. Sin embargo, presenta el inconveniente de la falta de codominancia, es decir, no es posible descifrar la heterocigosidad de los loci observados y adolece de falta de repetitividad cuando varían las condiciones experimentales. Esto hace plantear dudas, cuando de lo que se trata es de identificar variedades de vid con facilidad. Debido a ello, se han desarrollado técnicas alternativas que pueden paliar en parte este problema.

Una de esas técnicas serían los AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vos *et al.* 1995). Se basa en la amplificación selectiva por PCR de fragmentos de restricción

obtenidos en una digestión total de ADN genómico con enzimas de restricción. Presenta un grado de reproducibilidad mucho mayor que los RAPD y, al igual que estos, son de tipo multiloci, es decir, permite analizar un elevado número de marcadores al mismo tiempo. Aunque los AFLP, por su parte, también son unos marcadores de tipo dominante y su nivel de complejidad técnica es más alto que el de los RAPD, lo que representa una desventaja.

Frente a estos marcadores, los microsatélites presentan una serie de características, detalladas a continuación, que los convierten en unos marcadores moleculares idóneos para la caracterización de variedades de vid entre los disponibles en la actualidad.

Marcadores microsatélite

El análisis de microsatélites o STMS (Sequence -Tagged Microsatellite Sites), también denominados SSR (Short Sequence Repeat), es en la actualidad la estrategia de elección para estudios de diversidad y caracterización varietal en vid debido a que son marcadores altamente polimórficos, codominantes y presentan una elevada reproducibilidad (Thomas y Scott 1993; 1994). Además, permiten la transferencia de datos entre laboratorios, facilitando así la comparación de los resultados.

Los microsatélites son regiones hipervariables que consisten en la repetición en tándem de secuencias cortas de ADN, generalmente de 2 a 6 pares de bases (pb) de longitud. El número de repeticiones de sus motivos básicos es muy variable, pudiendo diferir entre individuos. El origen y función de estos fragmentos del genoma aún no están muy claros, pero son relativamente raros en regiones codificantes. Las estimaciones de su tasa de mutación comprenden un amplio rango cuando se comparan especies diferentes, y en vid se estima que es de $8,24 \times 10^{-5}$ (Crespan 2004). La mayoría de los cambios observados en los tamaños alélicos se atribuyen a la deleción o inserción de unidades de repetición (Straub 1993; Deka 1995). Se ha sugerido que los responsables de esta alta tasa de mutación pueden ser dos mecanismos mutacionales: el deslizamiento de hebra durante la replicación (Levinson y Gutman 1987; Strand 1993) y el sobrecruzamiento desigual durante la recombinación (Harding 1992). Aunque el primero parece ser predominante (Wolff *et al.* 1989), probablemente ambos contribuyen a la creación de variabilidad en los microsatélites (Ortiz 1998).

Además de estas mutaciones producidas por el aumento o disminución de repeticiones de la unidad básica, hay que tener en cuenta las mutaciones que producen alelos nulos (Bowers *et al.* 1996; Crespan *et al.* 1999; Sánchez-Escribano *et al.* 1999; Regner *et al.*

2000b). Los alelos nulos aparecen al producirse modificaciones en la secuencia diana de los cebadores, impidiendo la hibridación con el ADN molde. Por lo tanto, esas regiones no son amplificadas, con lo que no pueden ser observadas en el análisis. Este tipo de polimorfismo no es deseable, pues no es posible distinguir entre individuos heterocigóticos con un alelo nulo de los homocigóticos, y además, diferentes alelos nulos dan lugar al mismo fenotipo (ausencia de fragmento amplificado).

Una desventaja de los microsatélites es que para su estudio es necesario cierto conocimiento previo del genoma, aunque en el caso de la vid ya se ha publicado el genoma completo. Otro de sus inconvenientes radica en que son marcadores de tipo unilocus lo que ralentiza la obtención de resultados, es decir, a diferencia de lo que ocurre con otros marcadores como los RAPDs o AFLPs, cada análisis genera un resultado asociado a un solo locus. No obstante, la elevada variabilidad de los STMS hace que sean necesarios muy pocos para estudios de identificación y, además, mediante la técnica de PCR múltiple (combinación de diferentes loci en una sola reacción de PCR) puede conseguirse la detección de varios loci simultáneamente.

Desde el descubrimiento de este tipo de secuencias ya se intuyó la utilidad que podían tener como marcadores polimórficos (Tautz 1989). Thomas y Scott (1993) demostraron que las secuencias repetidas presentes en el genoma de la vid (microsatélites, minisatélites, genes en tándem y secuencias altamente repetidas), son especialmente útiles para la identificación de cultivares de esta especie. Además, observaron que las repeticiones de dinucleótidos (GA y GT) eran muy comunes y aparecían dispersas en el genoma, frente a repeticiones de tri o tetranucleótidos (CAC, GACA, GATA), que se encontraban en menor proporción. Hasta la actualidad se han publicado un gran número de trabajos en los que se han utilizado marcadores STMS para caracterizar variedades de vid (Meredith *et al.* 1996; Ibáñez 1998; Sefc *et al.* 1999; Ibáñez *et al.* 2003; Merdinoglu *et al.* 2005). Actualmente, en el NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) se cuenta con aproximadamente 650 loci microsatélite de libre disposición, a los que se suman otros de uso restringido para los miembros de un Consorcio Internacional de Vid.

Hoy en día, las aplicaciones del análisis de microsatélites en vid son numerosas, siendo ya una técnica generalizada para la caracterización de la variabilidad (Sefc *et al.* 1998b; Lopes *et al.* 1999; Maletic *et al.* 1999; Sefc *et al.* 2000), la protección legal de variedades (Ibáñez y Eeuwijk 2003), o la identificación varietal y resolución de sinonimias y homonimias (Lopes *et al.* 1999; Meredith *et al.* 1999; Borrego *et al.* 2002; Ibáñez *et al.* 2003), ya que, empleando unos pocos marcadores, dada la cantidad de alelos existentes por locus, es muy improbable que dos variedades diferentes compartan los mismos alelos

en todos sus loci. Igualmente, son de gran utilidad para la realización de estudios de pedigríes (Bowers y Meredith 1997; Sefc *et al.* 1997; Sefc *et al.* 1998c; Dettweiler *et al.* 2000) debido a su carácter codominante con herencia mendeliana. Los microsatélites, también pueden constituir una herramienta útil para la construcción de mapas genéticos (Lodhi *et al.* 1995) y para la detección de QTLs (Quantitative trait loci) (Doligez *et al.* 2002).

En la publicación de IPGRI *et al.* (1997), además de los “Descriptores para la Caracterización”, basados en el estudio de características morfológicas, estaban reflejados los “Descriptores para la Evaluación”, de menor importancia, los cuales incluían a los microsatélites entre los marcadores moleculares. La situación hoy en día ha cambiado considerablemente: muchos institutos de la vid utilizan los microsatélites como marcadores para identificar sus variedades, además de, o en vez de, las descripciones morfológicas.

El proyecto de la Unión Europea GENRES081 fue el principal intento internacional para armonizar un sistema basado en microsatélites para la identificación de variedades de vid. Se seleccionaron 6 microsatélites (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ssrVrZAG62 y ssrVrZAG79), y se analizaron en 10 laboratorios diferentes, idénticas muestras de ADN, pertenecientes siempre que fue posible, a variedades de vid bien conocidas y ampliamente distribuidas geográficamente (This *et al.* 2004). Cada uno de los alelos de cada marcador se designó mediante un código basado en el nombre del cultivar tomado como referencia que presentó ese alelo en particular. Con ello, se perseguía desarrollar una metodología común para el intercambio de datos microsatélite entre laboratorios. Con los resultados obtenidos, se elaboraron descriptores para los 6 loci microsatélite estudiados. Estos descriptores fueron aprobados por la OIV en la reunión celebrada en Junio del 2007 en Budapest (Hungría).

Los microsatélites cloroplásticos, a pesar de no ser eficaces para la identificación varietal dado su reducido polimorfismo en comparación con los nucleares, resultan de gran utilidad para estudios filogenéticos, debido a su herencia exclusivamente maternal (Arroyo-García *et al.* 2002). Algunos autores los han empleado con el fin de resolver las dudas existentes en cuanto al origen de la vid cultivada y su historia evolutiva (Arroyo-García *et al.* 2002; Imazio *et al.* 2005; Arroyo-García *et al.* 2006).

Por otro lado, dada su transmisión materna, estos marcadores pueden resultar también útiles en análisis de pedigríes. La identificación de los progenitores maternos de determinadas variedades con caracteres de interés podría ser de gran ayuda para los programas de mejora actuales, debido al aporte de información sobre la heredabilidad del

carácter deseado y de recursos para efectuar cruzamientos dirigidos para la obtención del mismo.

1.2. ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN

Una vez caracterizada la diversidad de una colección, sus aplicaciones son numerosas. Aportar información sobre los parentales de variedades con rasgos de interés mediante estudios de pedigríes, por ejemplo, puede ser de gran utilidad para los mejoradores, puesto que pueden emplear en nuevos cruzamientos el progenitor que transmite esos rasgos a la descendencia. Conocer la base genética de un determinado carácter así como su funcionamiento e interacción con otros factores es hoy en día uno de los objetivos principales de los estudios genéticos de especies cultivadas.

Los estudios de asociación consisten en la detección de correlaciones entre determinadas mutaciones puntuales, haplotipos, genes o regiones del genoma y determinados fenotipos o caracteres cuantitativos. Su finalidad es conocer, en el caso de las plantas, la base genética de la diversidad morfológica o fenológica y, especialmente en especies cultivadas, la de determinados rasgos interesantes agronómicamente y de cara al consumidor.

Históricamente, diversos tests de asociación han sido empleados en medicina con el fin de detectar polimorfismos o genes responsables de determinadas enfermedades. Dos métodos generalmente empleados para este fin han sido “caso-control” (CC) y “test de transmisión-desequilibrio” (TDT). El primero se basa en que los individuos enfermos (casos) presentarán la mutación supuestamente responsable de la enfermedad en una mayor frecuencia que los individuos sanos (controles). El segundo emplea muestras basadas en familias, usando los genotipos de los progenitores de los individuos afectados para asegurar que la asociación entre un alelo y un fenotipo es detectada sólo si el marcador está ligado al locus causante de la enfermedad, incluso en presencia de estructura poblacional (Spielman y Ewens 1993). Algunos métodos similares a éstos se han empleado en plantas, por ejemplo, Palaisa *et al.* (2003) empleó en maíz una metodología similar a la usada en estudios de caso-control, mientras que Kumar *et al.* (2004) realizó un estudio con familias de pino radiata que podría equivaler a un estudio mediante TDT. Sin embargo, en general, la aplicación de estos tests en especies vegetales cultivadas resulta complicada.

En los tests CC, el principal problema consiste en la obtención de asociaciones espurias debidas a la existencia de una estructura poblacional (Lander y Schork 1994),

frecuentemente encontrada en plantas cultivadas. El motivo de esto es que las frecuencias del fenotipo y del polimorfismo pueden diferir entre poblaciones, de manera que si un fenotipo o enfermedad se encuentra en una alta frecuencia en una población, ese grupo estará sobreexpresado entre los casos, de manera que cualquier alelo que presenta una alta frecuencia en esa población, aunque no guarde ninguna relación con el fenotipo, resultará asociado con éste. Para evitar este problema, Pritchard *et al.* (2000b) desarrollaron un modelo tipo caso-control en el que tenían en cuenta la estructura poblacional. Thornsberry *et al.* (2001) modificaron ese test de manera que permitiera trabajar con caracteres cuantitativos, aplicándolo a la época de floración en maíz. En los TDT se evita el problema de la estructura, pero es una técnica que requiere elevados costes tanto económicos como de tiempo y requiere un amplio genotipado.

En vid, se han realizado diversos estudios de mapeo de QTLs (Quantitative Trait Loci), como, por ejemplo, para el carácter de la apirenia estenospermocárpica (Doligez *et al.* 2002; Cabezas *et al.* 2006), lo que supone generar una población segregante, construir un mapa de ligamiento obteniendo los genotipos de un grupo de individuos para un número alto de marcadores, describir los fenotipos para el carácter de interés y realizar un análisis de correlaciones entre el mapa, los genotipos y los fenotipos. Recientemente, se han detectado también QTLs para el peso de la baya y para los caracteres fenológicos de envero y maduración (Cabezas *et al.* 2006; Costantini *et al.* 2008). El mapeo de ligamiento resulta útil en la detección de QTLs, pero es sumamente limitado en la identificación del gen implicado en el carácter debido al pequeño tamaño de las poblaciones estudiadas y a su bajo grado de recombinación, aportando una resolución de entre 10 y 30 cM, lo que corresponde a millones de pares de bases y cientos de genes. El mapeo de asociación basado en el desequilibrio de ligamiento (DL) ofrece una alternativa al mapeo de QTLs, puesto que aunque este último es más útil para detectar QTLs a lo largo de todo el genoma, el primero aporta una localización más precisa de un QTL determinado.

Las aplicaciones actuales de los análisis de correlación entre un genotipo y un fenotipo permiten, por un lado, llevar a cabo búsquedas de QTLs a lo largo del genoma, como las anteriormente comentadas, y por otro, testar genes candidatos, lo que implica secuenciar un gen concreto supuestamente implicado en algún carácter de interés con el fin de identificar asociación entre marcadores de tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism) y un determinado fenotipo. El éxito de ambos métodos depende en gran medida del grado de DL a lo largo del genoma en la población, de manera que el mapeo de QTLs será más útil en especies con un extenso DL y el análisis de genes candidatos será más efectivo

en especies con un DL bajo. El poder estadístico de los análisis de genes candidatos también depende intensamente del número de individuos estudiados. Long y Langley (1999) sugirieron que un aumento del número de individuos aporta un mayor poder de detección de asociación que un aumento del número de polimorfismos y que son necesarios aproximadamente 500 individuos para detectar polimorfismos que tengan un efecto pequeño. Sin embargo, en diversos estudios se han empleado en torno a 100 individuos obteniéndose resultados significativos (Remington *et al.* 2001; Thornsberry *et al.* 2001; Wilson *et al.* 2004; Szalma *et al.* 2005; This *et al.* 2007).

Hasta la fecha, y desde que Pritchard *et al.* (2000b) desarrollaron un método para la corrección de la estructura poblacional, aplicado por Thornsberry *et al.* (2001) al uso de caracteres cuantitativos, se han publicado diversos estudios en plantas basados principalmente en la asociación de genes candidatos con caracteres de interés agronómico tales como:

- La época de floración en *Arabidopsis* (Hagenblad *et al.* 2004; Olsen *et al.* 2004; Shindo *et al.* 2005), *Brassica nigra* (Osterberg *et al.* 2002) y maíz (Remington *et al.* 2001; Thornsberry *et al.* 2001).
- La altura de la planta de maíz (Remington *et al.* 2001).
- La composición del grano de maíz (Wilson *et al.* 2004).
- Diferentes propiedades de la madera en *Pinus taeda* (González-Martínez *et al.* 2007).

En vid, se han realizado estudios de asociación entre el color de la baya y polimorfismos en el gen *VvmybA1* tanto sin considerar (Lijavetzky *et al.* 2006) como considerando la estructura poblacional (This *et al.* 2007).

Además de las asociaciones espurias resultantes de la estructura poblacional, pueden obtenerse asociaciones de este tipo por otras causas tales como el análisis de un número insuficiente de individuos o una distribución no normal de las clases fenotípicas. Por otro lado, obtener una asociación significativa entre un SNP y un carácter no implica que ese polimorfismo sea el responsable de la variación, ya que ese resultado puede provenir de su ligamiento con el verdadero polimorfismo responsable. Además del ligamiento físico existente entre polimorfismos cercanos, en plantas cultivadas, la intensa selección artificial efectuada por el hombre a lo largo del tiempo puede dar lugar a ligamiento entre los loci seleccionados y otros loci alejados que no tienen nada que ver con el fenotipo en el que los primeros están implicados.

Un procedimiento estándar para llevar a cabo análisis de asociación en genes candidatos consiste en los siguientes pasos:

1. Elegir un carácter de interés objeto de estudio.
2. Seleccionar genes candidatos basándose en los recursos bibliográficos referentes a su posible función o usando QTLs existentes.
3. Elegir una colección de germoplasma que represente un alto porcentaje de la diversidad existente, caracterizarla y analizar su estructura genética.
4. Describir, para más de una campaña, los caracteres de interés.
5. Secuenciar los genes candidatos.
6. Alinear las secuencias de los diferentes individuos de la colección e identificar los polimorfismos.
7. Obtener estimas de diversidad y evaluar los patrones de selección y de desequilibrio de ligamiento.
8. Evaluar estadísticamente las asociaciones entre genotipos y fenotipos teniendo en cuenta la estructura genética.
9. Evaluar posibles variaciones en la estructura proteica consecuencia de algún polimorfismo implicado en alguna asociación significativa.

En resumen, un estudio de asociación SNP-fenotipo basado en genes candidatos no debe quedarse en realizar el análisis estadístico, sino que es muy importante conocer la estructura poblacional de la colección a analizar e incluirla en el modelo si es posible. Igualmente útil para corroborar o descartar el efecto de un polimorfismo es estudiar la extensión del DL en la región del gen candidato a evaluar, estudiar la historia evolutiva del gen y la posible existencia de selección sobre el mismo, y documentarse sobre la proteína a la que el gen da lugar con el fin de averiguar si los polimorfismos de reemplazamiento se encuentran en regiones neutrales o funcionales, o podrían estar dando lugar a cambios conformacionales que afectarían a la función proteica.

1.2.1. Genes candidatos

La selección del gen a analizar en un estudio de asociación debe realizarse en base a su posible implicación en el carácter cuya base genética desea conocerse. Para ello, es necesario recurrir a las fuentes bibliográficas existentes al respecto, y las bases de datos públicas especializadas en genómica constituyen una herramienta fundamental.

En la uva de mesa, los que se han considerado en las últimas décadas los principales caracteres de interés desde un punto de vista comercial son el sabor moscatel y la apirenia, en los cuales se centran un gran número de estudios actualmente. En este trabajo se han seleccionado otros caracteres que también resultan de gran interés tanto para el consumidor como para el productor: la textura y las dimensiones de la baya y la arquitectura del racimo.

Podría haber un número elevado de genes implicados en estos caracteres, pero, debido a su función y sus antecedentes, se han seleccionado un factor de transcripción que actúa como regulador negativo de la respuesta a giberelinas (*VvGA1*) y el gen que codifica para la enzima pectato liasa (*VvPel*).

VvGA1

Las giberelinas (GA) constituyen una gran familia de compuestos diterpenoides, algunos de los cuales actúan como reguladores del crecimiento en plantas, controlando diversos procesos del desarrollo tales como la germinación, la elongación del tallo, la expansión de la hoja y el desarrollo de tricomas, de la flor y del fruto (Olszewski *et al.* 2002). Aunque en *Arabidopsis* y otras especies las giberelinas promueven la floración e incluso determinan el sexo, en vid (y en otras especies leñosas perennes) poseen el efecto contrario, y, aunque son necesarias para la iniciación del primordio, inhiben su diferenciación en inflorescencias, favoreciendo el desarrollo de zarcillos (Srinivasan y Mullins 1980).

En vid, la aplicación exógena de esta hormona ha sido frecuentemente empleada por los productores de uva de mesa para incrementar el peso y tamaño de las bayas, reducir la compacidad del racimo, promover una maduración temprana e inducir la apirenia (Winkler *et al.* 1974; Mullins *et al.* 1992; Sato *et al.* 2004). Tras la aplicación de GA₃, Singh *et al.* (1978) y Sato *et al.* (2004) observaron también un incremento de la firmeza de la pulpa.

Mediante el estudio de los mutantes de la “revolución verde”, principalmente de *Arabidopsis* y cereales, en los últimos años se han identificado diversos genes implicados en la ruta de respuesta a giberelinas. Sin embargo, las rutas metabólicas de biosíntesis y de respuesta a esta hormona interaccionan a su vez con otras rutas de señalización para la regulación del crecimiento y el desarrollo en plantas, conformando posiblemente un sistema muy complejo del que aún queda mucho por conocer. La ruta de señalización de giberelinas descrita para *Arabidopsis* y arroz parece estar bien conservada en helechos (en concreto en la División Lycophyta), gimnospermas y angiospermas, pero en musgos

(División Bryophyta) sólo parece conservarse el receptor, no habiendo rastro de otros componentes de la cadena (Vandenbussche *et al.* 2007).

El gen *VvGAI1* (ortólogo de “GA insensitive” o *GAI* de *Arabidopsis thaliana*) fue descrito por Boss y Thomas (2002) como el responsable del fenotipo que presenta un mutante derivado de Pinot meunier. Dichos autores, observaron una mutación en uno de sus dominios conservados (denominado DELLA) en una de las dos capas celulares (L1) del meristemo apical. Mediante la regeneración de plantas a partir de la capa mutante se obtuvo un fenotipo enano y en el que se producían inflorescencias en los lugares donde debían producirse zarcillos. Hasta la fecha de inicio de este trabajo, el gen *VvGAI1* sólo ha sido estudiado en referencia a la mutación de Pinot meunier (Boss y Thomas 2002).

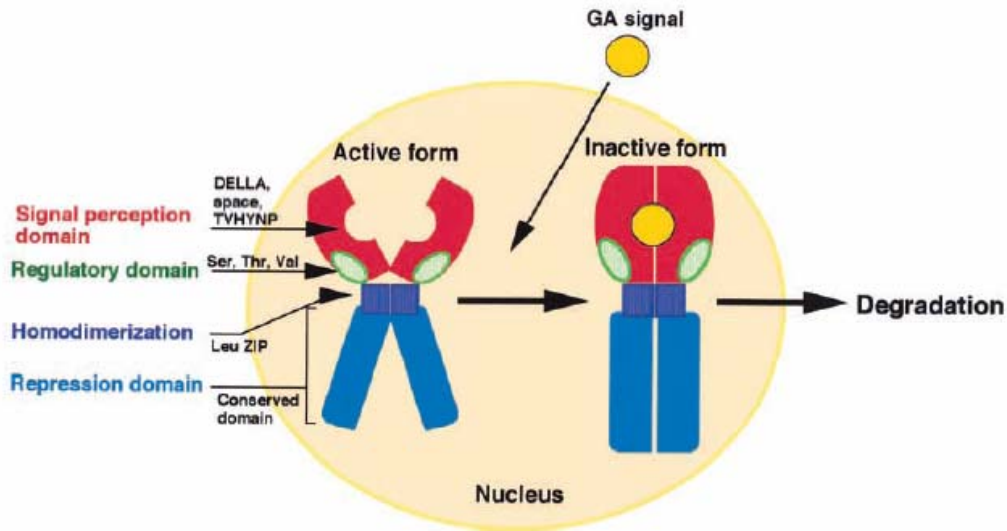
La proteína para la que codifica este gen pertenece a la subfamilia DELLA (familia GRAS), integrada por factores de transcripción altamente conservados en plantas que actúan como reguladores negativos de la señal de giberelinas. En *Arabidopsis* se han descrito cinco proteínas DELLA (*GAI*, *RGA*, *RGL1*, *RGL2* y *RGL3*) y, con la excepción de *RGL3*, todas muestran un papel en la represión del crecimiento y el desarrollo de la planta regulados por giberelinas. Los genes *RGA* y *GAI* son los mayores reguladores negativos del crecimiento vegetativo y de la inducción floral regulada por giberelinas (Olszewski *et al.* 2002), mientras *RGL1* y *RGL2*, además de controlar el desarrollo floral junto con *RGA*, son importantes en la regulación de la germinación de la semilla (Hussain y Peng 2003; Cheng *et al.* 2004).

Hasta la fecha, se han descrito genes que codifican proteínas DELLA en diversas especies vegetales, como, por ejemplo, *Rht* en trigo (*Triticum aestivum*), *SLR1* en arroz (*Oryza sativa*), *d8* en maíz (*Zea mays*) o *SLN1* en cebada (*Hordeum vulgare*) (Olszewski *et al.* 2002).

La designación DELLA se atribuye al primero de dos motivos aminoacídicos en el dominio N-terminal (DELLA y VHYNP) que están conservados en todas las proteínas de esta subfamilia. Esta región N-terminal, con sus dos motivos conservados separados por una región no conservada, actúa como dominio de percepción de señal de GA (Figura 2). Junto a la región DELLA, se puede encontrar un dominio rico en serina, treonina y valina, que podría funcionar como un dominio regulador de la actividad represora de la proteína, probablemente actuando como diana de fosforilación (facilitando su degradación). A su vez, la subfamilia DELLA forma parte de la familia GRAS, que se caracteriza por la presencia de un dominio C-terminal, que contiene diversos motivos conservados (LHR I, VHIIID, LHR II, PFYRE y SAW) y una o dos supuestas señales de localización nuclear. En esta región hay que destacar el dominio LHR I, responsable de la dimerización de la

proteína, que es esencial tanto para la función supresora como para la degradación de la proteína. Finalmente, la región C-terminal, con el resto de dominios conservados, constituye el dominio represor, del cual depende la función supresora de respuesta a GA (Itoh *et al.* 2002).

Figura 2. Esquema de proteínas DELLA [imagen tomada de Itoh *et al.* (2002)].

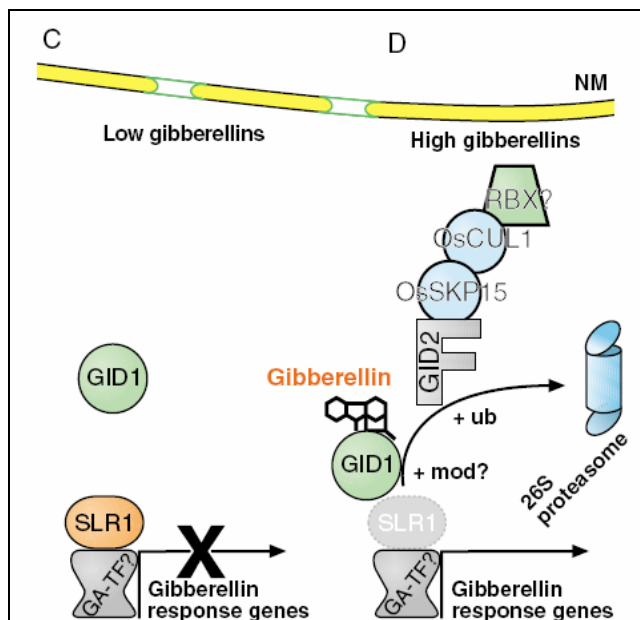


Las proteínas DELLA son reguladas mediante un proceso de retroalimentación, de manera que son las propias GA las que impiden la represión de su señalización mediante la degradación de las mismas proteínas DELLA, para lo cual es necesario el dominio N-terminal DELLA, que interactúa con un receptor denominado GID1 cuando éste se une a GA, posiblemente cambiando de conformación y degradándose por un proceso de proteólisis vía proteosoma-ubiquitina, en el que las proteínas son poliubiquitinadas por un complejo enzimático ubiquitina ligasa E3. Un grupo de ubiquitina ligasas E3 importante en plantas es el complejo SCF, que contiene varios componentes: Skp, Rbx, una culina y una proteína con caja F. En *Arabidopsis*, la proteína con caja F es SLEEPY1 (SLY1), mientras en arroz se denomina GID2. Esta proteína con caja F interactúa con la proteína DELLA a través de su dominio GRAS y dirige el complejo GA-GID1-DELLA al proteosoma 26S donde la proteína es destruida (Dill *et al.* 2004; Hou *et al.* 2008) (Figura 3).

En base a este sistema de regulación de GA, existen dos tipos de mutantes DELLA, los que por una parte dan lugar a una pérdida de función y, los que, por otra, provocan una ganancia de función. Los primeros se producen, en su mayoría, mediante una mutación

en el dominio GRAS que facilita la unión con la proteína con caja F en ausencia de GA, provocando que la proteína se degrade continuamente. Un ejemplo de una mutación con pérdida de función es *slr-1* en *O. sativa*, que presenta diferentes polimorfismos en la región GRAS, dando lugar a una planta alta (Ikeda *et al.* 2001).

Figura 3. Regulación de proteínas DELLA por giberelinas, concretamente de SLR1 de *O. sativa*. (C) Ante bajas concentraciones de GA, SLR reprime la respuesta a GA de otros genes. (D) Frente a concentraciones altas de GA, la hormona se une a GID1 e interacciona con SLR1. El complejo SLR1-GID1-GA interactúa a su vez con el complejo SCF^{GID2} que ubiquitina SLR1, conduciéndolo a su degradación en el proteosoma 26S. GA-TF: Factores de transcripción dependientes de GA; +ub: ubiquitinación; +mod?: posible modificación; NM: membrana nuclear. [Figura tomada de Bishopp *et al.* (2006)].

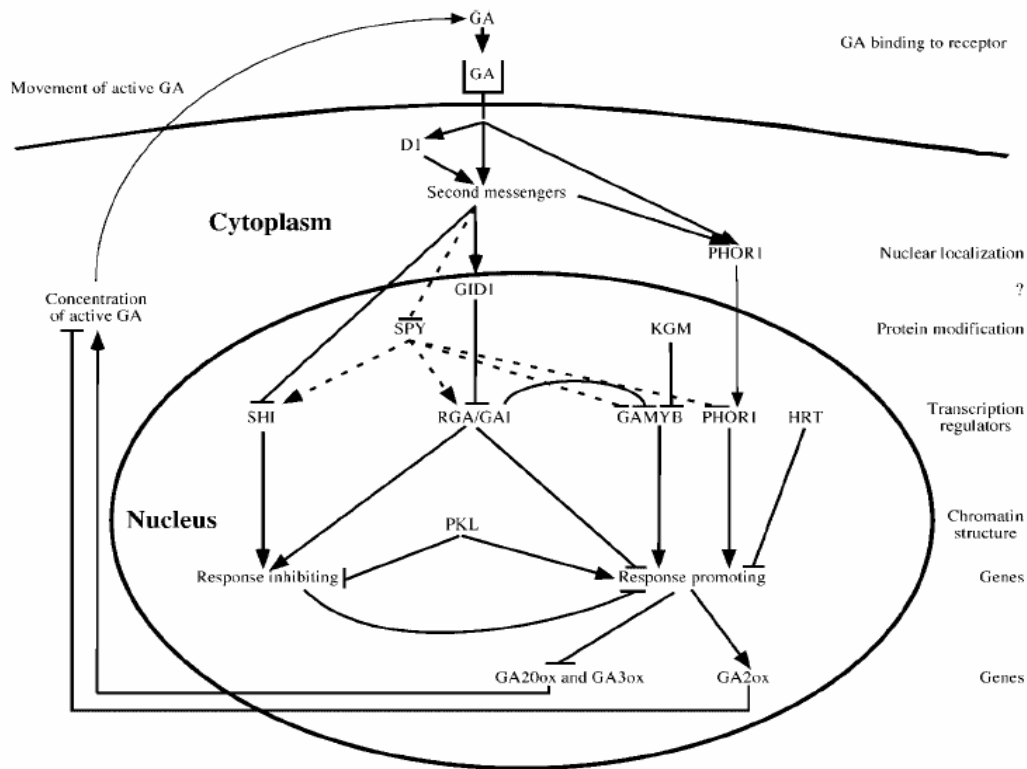


Las mutaciones con ganancia de función podrían producirse mediante una mutación en la región DELLA que impidiera la unión entre el dominio DELLA y el receptor, anulándose la degradación de la proteína, o bien por una mutación en el dominio GRAS que interfiriera en el sitio de unión con la caja F, con el mismo resultado. Un ejemplo de ganancia de función es el del mutante de *A. thaliana rga-Δ17*, que presenta una delección de 17 aminoácidos en la región DELLA, dando lugar a un fenotipo enano (Peng *et al.* 1997). El caso de Pinot meunier también corresponde a una mutación puntual en el dominio DELLA con ganancia de función (Boss y Thomas 2002).

Además de la existencia de estos mutantes con cambios fenotípicos drásticos en el desarrollo vegetativo de la planta, resultantes de polimorfismos en proteínas DELLA, se ha detectado que el gen *d8* de maíz produce variaciones de menor grado, comparables a variaciones cuantitativas, en la época de floración (Thornsberry *et al.* 2001).

Como se ha mencionado previamente, las proteínas DELLA no son las únicas implicadas en la regulación de señal de giberelinas (GA), sino que forman parte de una ruta bastante compleja, y aún no bien conocida, en la que interactúan diferentes proteínas y complejos, de lo que puede dar una idea el esquema representado en la Figura 4.

Figura 4. Posibles componentes de la ruta de respuesta a GA en *Arabidopsis*. [Figura tomada de Olszewski *et al.* (2002)].



Dada la importancia de las giberelinas en el desarrollo de la inflorescencia y el fruto, el estudio de la posible implicación de dicho gen en determinados caracteres de interés comercial tales como la fertilidad, el tamaño de la baya, la arquitectura del racimo o la época de floración y maduración, podría suponer una contribución considerable al conocimiento de la genética de estos caracteres en vid.

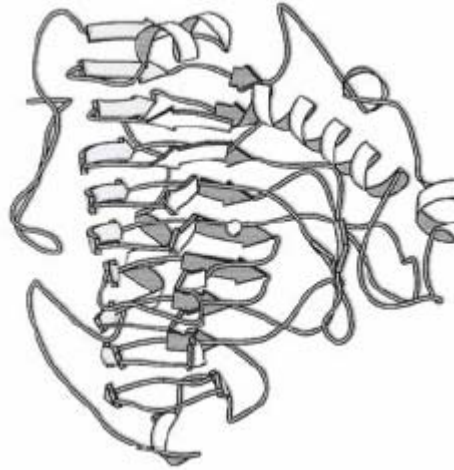
VvPel

Otro carácter de interés comercial en la uva de mesa es la textura de la baya. Durante la maduración de la uva, como en la de otros frutos carnosos, tiene lugar un ablandamiento que implica cambios en las propiedades de la pared celular. La pared celular primaria en plantas está compuesta por una estructura de microfibrillas de celulosa unidas por hemicelulosa, embebida en una matriz de pectina. Aunque los diferentes componentes de esos grupos de polisacáridos pueden ser encontrados en las distintas partes de la baya, se han detectado ciertas diferencias entre la piel y la pulpa, como variaciones en la composición de xiloglucanos (Doco *et al.* 2003) o una mayor concentración de ramnagalacturanos II en la piel (Vidal *et al.* 2001).

La expansión celular que ocurre durante la segunda fase del crecimiento de la baya requiere que la pared celular se destense, entre otros procesos, mediante un aumento en la solubilización de la pectina y una depolimerización del xiloglucano, a la vez que se sintetiza nuevo material que forme parte de la pared. Existen diversos estudios de expresión de las principales proteínas relacionadas con la degradación de la pared celular en la uva, detectándose por lo general a lo largo de todo el proceso de desarrollo de la baya diferente expresión de distintas expansinas, y enzimas tales como poligalacturonasa, β -galactosidasa, pectín metilesterasa, celulasa, xiloglucano endotransglicosilasa, pectín esterasa y pectato liasa (Nunan *et al.* 2001; Ishimaru y Kobayashi 2002; Terrier *et al.* 2005).

Hasta hace relativamente poco tiempo, se pensaba que la pectato liasa (PL, EC 4.2.2.2) era segregada principalmente por patógenos de plantas, con el fin de destruir la pared celular y permitir así la infección. Por ello, las PLs microbianas son las que mejor se conocen en la actualidad, especialmente las de *Erwinia chrysanthemi*. La pectato liasa es una enzima que, mediante una reacción de β -eliminación, rompe los enlaces glicosídicos α (1-4) del ácido poligalacturónico, el componente principal de la pectina de la pared celular y de la lámina media vegetales. En dicha reacción es necesaria la presencia de iones de calcio y se generan oligosacáridos con residuos insaturados en sus extremos no reductores. En bacterias se han observado cinco genes (PelA, B, C, D y E) que codifican para cinco isoenzimas de PL. Varias de estas PL extracelulares (PelC, PelE y PelB) comparten una estructura tridimensional básica denominada "hélice β paralela" (Figura 5) y que consiste en láminas β paralelas que dan lugar a una hélice (Marín-Rodríguez *et al.* 2002).

Figura 5. Estructura tridimensional de PL en hélice β paralela (Marín-Rodríguez *et al.* 2002).



Actualmente, la abundancia de secuencias en plantas similares a la del gen de la PL sugiere que se trata de una enzima con un papel importante en varios procesos del desarrollo. Las primeras secuencias similares a las de las PLs de bacterias detectadas en plantas superiores se encontraron en polen (Wing *et al.* 1989), tras lo cual se observó que se expresaban en niveles máximos en flores, anteras y polen de tomate (Kulikauskas y McCormick 1997), por lo que se sugirió que una de sus funciones consistía en romper la pared celular del polen para permitir el desarrollo del tubo polínico y facilitar su penetración en el estilo. Sucesivos trabajos indicaban que las PLs podrían estar implicadas en la modificación de la matriz de pectina para permitir la integración de polímeros sintetizados para alguna función especial (Domingo *et al.* 1998). También se detectó actividad de PL en el látex de las cápsulas del opio, en las cuales el sistema laticífero se desarrolla mediante una desaparición gradual de las paredes celulares entre los elementos laticíferos (Pilatzke-Wunderlich y Nessler 2001).

En cuanto a su función en la maduración del fruto, se han identificado PLs con altos niveles de expresión durante esta etapa en banana (Domínguez-Puigjaner *et al.* 1997; Pua *et al.* 2001), fresa (Medina-Escobar *et al.* 1997; Jiménez-Bermúdez *et al.* 2002; Benítez-Burraco *et al.* 2003), mango (Chourasia *et al.* 2006) y uva (Nunan *et al.* 2001; Ishimaru y Kobayashi 2002), pero, en general, la actividad, localización y regulación de esta enzima es bastante desconocida en comparación a la de la poligalacturonasa (Brummell y Harpster 2001). Jiménez-Bermúdez *et al.* (2002) observaron que la supresión de la expresión de un gen de PL en fresa dio lugar a frutos más firmes y

duraderos tras su cosecha, lo que supone un resultado de gran interés comercial que acentúa la importancia de una mejora en el conocimiento de esta enzima.

En el momento en el que se seleccionó este gen, apenas existían trabajos sobre él en vid, aunque parecían existir varias pectato liasas. Nunan *et al.* (2001) llevaron a cabo un estudio sobre el patrón de expresión de varias enzimas implicadas en la modificación de la pared celular durante el desarrollo de la uva. Mediante Northern blot, se observó expresión de una pectato liasa durante la floración, hasta los 28 días después de la floración y desde los 70 días hasta los 96 después de la floración. Aunque no se observó expresión durante el envero, la banda fue especialmente intensa inmediatamente después de éste (a los 70 días de floración), destacando considerablemente sobre el resto de proteínas estudiadas (poligalacturonasa, β -galactosidasa, celulasas, xiloglucano endotransglicosilasas y pectin metilesterasa). Ishimaru y Kobayashi (2002), mediante el estudio de una pectato liasa de *Vitis labrusca*, observaron un perfil transcriptómico muy similar a éste, aunque con cierta expresión de la enzima también durante el envero.

Las secuencias publicadas por estos autores eran incompletas, por lo que nuestro trabajo se basó en la única secuencia que había completa de una pectato liasa (Papadakis y Kanellis 2000, GeneBank), y que era distinta de las otras dos previamente mencionadas.

Benítez-Burraco *et al.* (2003) detectaron en fresa tres genes de PL diferentes, que denominaron PIA, PIB y PIC. Mientras PIA probablemente pertenecería a una pequeña familia multigénica, PIB, que guarda mayor homología con el único cDNA detectado en vid en el momento del comienzo de este trabajo, es un gen de copia única, aunque presentó un mayor nivel de transcritos. Los tres transcritos se expresaban exclusivamente en el fruto y principalmente durante su maduración.

La mayoría de secuencias de PLs de plantas publicadas hasta la fecha presentan tres motivos altamente conservados:

- Motivo I: WVDH
- Motivo II: DGLIDAIMGSTAITISNNYF
- Motivo III: LIQRMPRCRHGYFHVVNNDY

Estos son los motivos conservados en la PIB de fresa, de los cuales, los motivos I y II se corresponden con las regiones de homología descritas para las PLs microbianas (Keen y Tamaki 1986). Además de dichos motivos o integrados en ellos, existen determinados residuos conservados en todas las PLs: 3 ó 4 Asp, implicadas en la coordinación del

calcio, dos Arg y una Pro, relacionadas con el sitio activo de la proteína, y una escalera de Asn, posiblemente implicada en la estabilización de la hélice β paralela.

Un estudio más reciente en el que se ha llevado a cabo un análisis filogenético de las PLs de diversas especies vegetales y bacterias, muestra un claro agrupamiento de las PLs expresadas en frutos frente a las PLs microbianas. La PL de vid descrita por Nunan *et al.* (2001) se agrupa, junto con la de *Zinnia elegans* (familia *Asteráceae*), entre ambos grupos (Chourasia *et al.* 2006). La PL de *Zinnia* muestra una expresión relacionada con la diferenciación vascular en floema y xilema y con células que constituyen productos recientes de divisiones meristemáticas (Domingo *et al.* 1998).

1.2.2. Marcadores SNP

Los polimorfismos detectados tras la secuenciación de genes candidatos son principalmente de tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism), seguidos de indels (inserción/ deleción) y microsatélites, con menor frecuencia. Los SNPs se definen como posiciones de un solo par de bases en el ADN genómico en las cuales existen diferentes alternativas o alelos entre los individuos de una o algunas poblaciones. En una definición aplicada o “de trabajo” debe considerarse que el alelo menos frecuente se encuentra en un porcentaje igual o superior al 1% (Brookes 1999). En principio, los SNPs pueden ser bi-, tri- o tetra-alelicos, aunque los más comunes son los bialélicos.

Los SNPs bialélicos muestran cuatro posibles alternativas: una transición, que es el intercambio entre purinas o entre pirimidinas [$C \leftrightarrow T$ (o $G \leftrightarrow A$)], y tres transversiones, que consisten en el intercambio entre purinas y pirimidinas [$C \leftrightarrow A$ (o $G \leftrightarrow T$), $C \leftrightarrow G$ y $T \leftrightarrow A$]. Existe una mayor proporción de transiciones, probablemente debido en parte a reacciones de desaminación de 5-metilcitosina, que ocurren frecuentemente y, en particular, en dinucleótidos CpG, dando lugar a timina (Holliday y Grigg 1993).

El análisis de este tipo de marcadores en vid no ha comenzado a tener importancia hasta hace pocos años, empleándose para estudios de diversidad (Salmaso *et al.* 2004; Lijavetzky *et al.* 2007), de DL (Lijavetzky *et al.* 2007) y de genes candidatos (Le Cunff *et al.* 2008). El número de SNPs detectados depende en gran medida de la secuencia, variando los datos publicados hasta la fecha entre 1 SNP cada 47 pb en 12 Kb de fragmentos génicos (incluyendo regiones codificantes y no codificantes) (Salmaso *et al.* 2004) y 1 SNP cada 127 pb en 2010 pb de región codificante (Le Cunff *et al.* 2008).

En la actualidad, existen numerosos métodos para la detección y genotipado de SNPs. Las técnicas más novedosas para su genotipado son el empleo de arrays y microchips,

desplazando el uso de técnicas basadas en la electroforesis, aunque su elevado coste aún no es asequible para la mayoría de los laboratorios. Concretamente en vid, hay que destacar la aplicación de SNPlex (Applied Biosystems) por Lijavetzky *et al.* (2007) y Pindo *et al.* (2008), cuya eficiencia y automatización de la detección de polimorfismos puede llegar a generar sobre 200.000 datos semanales (Troggio *et al.* 2008).

1.2.3. Análisis de estructura genética de la colección

Evaluar la estructura genética de la colección empleada para un estudio de asociación e incluirla en los análisis es fundamental para evitar las asociaciones espurias consecuencia de la estructuración. Como se ha explicado anteriormente, Pritchard *et al.* (2000b) diseñaron un modelo en el que se incluía la estructura en análisis en humanos y Thornsberry *et al.* (2001) lo adaptaron para el análisis de caracteres cuantitativos en plantas. Para ello, Pritchard *et al.* (2000a) desarrollaron un software para obtener, para cada individuo, valores de probabilidad de pertenecer a cada una de las poblaciones estimadas de acuerdo a las frecuencias alélicas de diversos marcadores no ligados entre sí.

Antes del desarrollo de dicho software, la estructura poblacional solía evaluarse mediante análisis de agrupamientos, en los cuales se basan la mayoría de los estudios de estructura en *V. vinifera* existentes hasta la fecha. Dichos trabajos muestran una escasa estructuración debido a la red de relaciones de parentesco que conecta grandes grupos de variedades cultivadas, aportando una elevada cantidad de mezcla a cada individuo (Aradhya *et al.* 2003).

En un trabajo reciente basado en el software desarrollado por Pritchard *et al.* (2000a), puede observarse cierta diferenciación entre cuatro grandes grupos: diferentes especies del género *Vitis* e híbridos interespecíficos, variedades de vinificación, variedades de mesa y variedades de uso mixto (Vélez 2007). En cuanto a la existencia de una estructuración dentro del supuesto grupo de variedades de mesa, únicamente el trabajo de Aradhya *et al.* (2003) aporta alguna información, puesto que detectaron que ciertas variedades de mesa se agrupaban juntas e independientemente del resto, aunque otras muchas se agrupaban con variedades de vinificación.

1.2.4. Desequilibrio de ligamiento

La resolución de los estudios de asociación depende de la estructura del DL a lo largo del genoma. Dicho DL, o la correlación entre alelos en sitios diferentes, es por lo general, inversamente proporcional al grado de recombinación entre esos sitios. Sin embargo, factores como la deriva genética, la historia demográfica o la selección y la domesticación pueden producir DL entre caracteres y marcadores. En plantas cultivadas, es común la existencia de domesticación, y la selección a favor o en contra de un fenotipo controlado por dos loci no ligados entre sí (epistasia) podría producir DL entre ellos a pesar de que los loci no se encuentren ligados físicamente. Por lo tanto, es importante conocer, en la medida de lo posible, la evolución de las poblaciones y de los genes candidatos en la colección a estudiar, con el fin de desenmascarar la influencia de dichos factores en el DL. Además, el número de individuos analizados y el tipo de marcadores empleados influyen también notablemente en la estima del DL.

En vid, pocos estudios se han llevado a cabo acerca del DL. Barnaud *et al.* (2006) realizaron un estudio del patrón del DL existente en 5 cromosomas en una colección de accesiones de *V. vinifera* ssp. *sativa*, y concluyeron que el DL en vid se extendía considerablemente, manteniéndose a lo largo de 16,8 cM. Este valor es comparable al obtenido en caña de azúcar mediante el estudio de RFLPs (Jannoo *et al.* 1999) y en cebada mediante AFLPs (Kraakman *et al.* 2004), donde el DL se mantenía a lo largo de aproximadamente 10 cM.

Sin embargo, mediante el estudio de marcadores SNPs, la extensión de DL estimada es mucho menor. En 230 fragmentos génicos a lo largo del genoma, el DL detectado en vid se extendía solamente a lo largo de 100-200 pb (Lijavetzky *et al.* 2007). En maíz, mediante el estudio de SNPs en varios genes candidatos, el DL se mantenía en unos 1500 pb (Remington *et al.* 2001), y en *Arabidopsis*, un estudio de SNPs a lo largo de todo el genoma mostró un DL de 10 Kb (Kim *et al.* 2007). No obstante, según estos últimos autores, la extensión del DL es muy variable entre diferentes regiones debido a la posible presencia de selección como antes se ha mencionado, o a la existencia de “hotspots” de recombinación, que parecen ocurrir preferentemente en regiones intergénicas.

1.2.5. Evaluación de la existencia de selección

V. vinifera ssp. *sativa*, y especialmente las variedades de uva de mesa, han sido sometidas en los últimos siglos a una intensa selección artificial basada principalmente en

cruzamientos dirigidos por el hombre, cuya finalidad era obtener variedades con caracteres deseables para el consumidor, como, en el caso de la uva de mesa, el sabor moscatel, la apirenia o un tamaño y una textura de baya adecuados.

En un estudio de asociación con genes candidatos, es importante conocer si dichos genes han estado sometidos a selección o no, lo cual puede aportar información muy valiosa para apoyar determinadas asociaciones o saber el grado de implicación del gen en un determinado carácter seleccionado durante el proceso de mejora. Para estudiar la selección es necesario hacer referencia al concepto de neutralismo en la evolución molecular.

El modelo de equilibrio neutral (NE) procede de la Teoría Neutral de Evolución Molecular postulada por Kimura (1968), que establece que la gran mayoría de los polimorfismos que segregan son selectivamente neutrales, de manera que su evolución es determinada por la deriva genética. En adición a la neutralidad, el modelo NE hace otras asunciones, incluyendo el cruzamiento al azar y un tamaño poblacional constante, que, por otra parte, no suelen darse en las especies cultivadas. La búsqueda de selección consiste en comparar los patrones de variación genética con el patrón del modelo NE, es decir, tratar de detectar una desviación de la neutralidad en la población estudiada. La Teoría Neutral de Evolución Molecular ha sido apoyada por diversos estudios en las últimas décadas, pero principalmente por la confirmación de que los polimorfismos silenciosos, al igual que los pseudogenes, son más frecuentes que los polimorfismos de reemplazamiento en genes funcionales debido a que son neutrales o casi neutrales (Nei 2005).

Una mutación neutral fue definida por Kimura (1968) como aquella que cumple $|2Ns| < 1$, donde N es el tamaño de la población y s es el coeficiente de selección para los mutantes heterocigóticos, siendo $2s$ el coeficiente de selección para el mutante homocigótico. Esta definición era demasiado estricta según Nei, quien propuso una definición estadística más razonable: $s\sqrt{2N} < 1$ para aproximadamente $-0,001 \leq s \leq 0,001$ y $N \approx 10^6$. A diferencia de los genetistas matemáticos, los biólogos moleculares tenían un concepto más relajado de la neutralidad, proponiendo que una mutación era más o menos neutral cuando no modificaba la función del gen apreciablemente. De acuerdo a esta última definición, para las mutaciones neutrales debe darse $|s| \leq 0,001$.

Existen dos tipos de selección natural: la selección positiva, que representa la fijación de una mutación favorable, y la selección equilibrada, que consiste en el mantenimiento de múltiples alelos mediante un proceso de selección extenso en el tiempo. Ambos tipos de selección producen patrones característicos de diversidad nucleotídica, y pueden ser detectadas como desviaciones de la neutralidad. Existen diferentes rasgos en una

secuencia que pueden indicar la posible acción de selección, de los cuales, algunos de los más importantes son la cantidad de diversidad, la distribución de las frecuencias de los polimorfismos y el DL. Por ejemplo, una fuerte selección positiva produce una reducción en los niveles de diversidad nucleotídica, un exceso de polimorfismos raros y un incremento del DL.

En las últimas dos décadas se han diseñado diferentes métodos estadísticos para testar la teoría neutral, que pueden dividirse en algunas categorías principales. Un primer método consiste en testar la diferencia entre las sustituciones sinónimas (d_S) y no sinónimas (d_N), de manera que si $d_N > d_S$, hay evidencia de selección positiva (Kimura 1983). Una segunda categoría de tests consiste en estudiar el patrón de la distribución de frecuencias nucleotídicas y evaluar su desviación de la neutralidad (Tajima 1989; Fu y Li 1993). Otro método consiste en examinar la consistencia de la variación de dos o más loci en y entre diferentes especies, de manera que si muestran inconsistencia apuntarían a la existencia de selección (Hudson *et al.* 1987). Otro test consiste en estudiar el ratio de sustituciones sinónimas y no sinónimas en y entre poblaciones (McDonald y Kreitman 1991). Existen otros tests, pero no se usan con mucha frecuencia (Kreitman 2000).

Es importante mencionar que la selección artificial no funciona exactamente mediante el mismo mecanismo que la selección natural. En el caso de la selección artificial, se seleccionan los individuos por encima o por debajo de un valor fenotípico, lo que se denomina selección por truncación. Sin embargo, la metodología estadística existente hoy en día se basa en las teorías establecidas sobre la selección natural, y aunque pueden resultar de gran ayuda para estudiar especies cultivadas, hay que tener en cuenta que no se cumplen las premisas de las que habría que partir. Por ello, muchos de los resultados obtenidos durante los últimos años sobre selección en plantas cultivadas pueden considerarse más orientativos que definitivos. A esto hay que sumar el bajo poder estadístico descrito para los diferentes tests (Kreitman 2000).

En vid apenas existen precedentes de trabajos en este sentido. Lijavetzky *et al.* (2007) detectó que un gen ortólogo de una ATPasa transportadora de calcio podría haber estado sometido a selección balanceada, aunque dado el pequeño número de muestras estudiadas, debían tomarse los resultados con cautela. En maíz, sin embargo, son numerosos los estudios centrados en el proceso de domesticación y selección. En determinados genes candidatos se ha detectado evidencia de selección, como por ejemplo en el *d8* y el *ts2*, implicados en la determinación del sexo, o el *tb1*, implicado en la arquitectura de la planta (Tenaillon *et al.* 2004). Hufford *et al.* (2007), mediante una selección de 45 genes (30 supuestamente sometidos a selección y 15 supuestamente

neutrales) y su estudio en tres poblaciones diferentes (en líneas recientes de maíz, en variedades antiguas y en su antecesor *Zea mays* sp. *parviglumis*), observaron que 9 genes constituyeron dianas de selección relativamente temprano, durante el proceso de domesticación, mientras 15 genes mostraron evidencia de selección más reciente, durante el proceso de mejora, con lo que concluyeron que, aproximadamente la mitad de los genes sometidos a selección en el genoma de maíz, podrían haber sido dianas de selección antes de la dispersión geográfica de las variedades más antiguas (lo que correspondería a varios cientos de genes, considerando que se ha estimado que aproximadamente 1200 genes de maíz muestran huellas de selección).

Se ha observado que los genes que muestran huellas de selección suelen ser genes sobreexpresados o con alteraciones de expresión (Doebley *et al.* 2006). La cuestión es si la alta expresión de esos genes facilitó su selección o la selección dio lugar a una regulación de la expresión de los genes.

2. OBJETIVOS

La finalidad de este trabajo es contribuir al conocimiento de los recursos genéticos como herramienta para la mejora de la calidad en vid. Para alcanzar este objetivo se planteó como punto de partida la caracterización y evaluación de la variabilidad de los recursos filogenéticos de uva de mesa que existen en la Colección de Variedades de Vid de la Finca El Encín (IMIDRA). Una vez evaluada dicha colección, estudiar la posible implicación de determinados genes en caracteres de interés agronómico y comercial.

Para ello, se definieron los siguientes objetivos concretos:

1. Caracterizar, tanto molecular como agronómicamente, las variedades de uva de mesa de la Colección de Variedades de Vid de El Encín y evaluar su diversidad:
 - a) obtener los genotipos de las diferentes accesiones de la colección para un número elevado de marcadores microsatélite;
 - b) describir los caracteres agronómicos más importantes en las diferentes accesiones;
 - c) identificar posibles sinonimias, homonimias, mutantes somáticos o errores existentes en la colección;
 - d) revelar el entramado de cruzamientos existente entre las variedades de uva de mesa.

2. Estudiar la base genética de determinados rasgos de interés agronómico y/o comercial relacionados con los efectos de las giberelinas (tales como la fertilidad, la arquitectura del racimo, las dimensiones de la baya...) o con la textura de la baya:
 - a) construir colecciones nucleares de utilidad para el estudio de la base genética de caracteres de interés;
 - b) evaluar la existencia de asociación entre el gen *VvGAI1* y los caracteres de fertilidad, arquitectura del racimo y dimensiones de la baya;
 - c) evaluar la existencia de asociación entre el gen *VvPe1* y la textura de la baya.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

El material empleado forma parte de la Colección de Variedades de Uva de Mesa de la Finca El Encín, perteneciente al IMIDRA (Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario) y se encuentra principalmente distribuido en cuatro parcelas de investigación dentro de dicha finca, en las que existen cuatro o cinco cepas de cada accesión. En este trabajo se han realizado diversos estudios en los que el número de accesiones empleadas es variable.

En la Tabla 1 se muestran el total de accesiones de la colección de variedades de mesa de El Encín estudiadas y algunas características importantes, como sus códigos de identidad o el origen, el uso o el color de estos cultivares. El nombre de accesión es el que figura en los ficheros de El Encín, mientras el nombre de la variedad “VIVC” es el nombre principal (“prime name”) asignado para cada grupo de sinonimias en el *Vitis* International Variety Catalogue, con el que se trata de evitar confusión y facilitar la identificación de las variedades a otros investigadores. En el caso de que la accesión de El Encín no coincida genotípicamente con la que se indica en dicho catálogo, el nombre reflejado en la columna de “nombre variedad VIVC” es el de la variedad a la que realmente corresponde y no la expuesta en el VIVC y se ha marcado con un asterisco. Los espacios en blanco en dicha columna indican que el nombre de la accesión correspondiente no aparece en el VIVC o que se trata de una homonimia o de un posible error de banco. Finalmente, en esta tabla también se indica para qué estudio ha sido analizada cada accesión.

3.1.1. Caracterización molecular

Para la caracterización molecular con microsatélites nucleares, se emplearon un total de 352 accesiones de mesa de *V. vinifera* (Tabla 1). Como método de control interno se analizaron dos plantas de la mayoría de las accesiones, estudiándose 624 plantas.

Para el estudio de pedigríes se estudiaron también 13 accesiones de vinificación de la Finca El Encín implicadas en alguno de los cruzamientos, 22 variedades de mesa del antiguo Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CIDA, hoy IMIDA), Murcia, y 1 de Superior Frutícola S.A. (Tabla 2).

3.1.2. Caracterización agronómica

La caracterización morfológica presentada en esta tesis se realizó, principalmente, entre cinco personas (en momentos puntuales de cada campaña colaboraron más). Dicha caracterización ha constituido una herramienta esencial en la consecución de esta tesis, especialmente para la construcción de colecciones nucleares y para los estudios de asociación, representando también una gran ayuda para la resolución de sinonimias y pedigríes. Por ello, se incluye como una parte más de la tesis, aunque de forma resumida.

Se caracterizaron un total de 406 accesiones de mesa de *V. vinifera* (Tabla 1) a lo largo de cuatro años, estudiando para ello cinco racimos de cada variedad, excepto en 2004 que solo se evaluó un racimo representativo. Además, se caracterizaron 15 accesiones de vinificación de la Finca El Encín, empleadas como referencia para evaluar determinadas clases de los diferentes descriptores.

En cada año se describió un número de accesiones diferente de forma completa (322 en 2004, 338 en 2005 y 298 en 2006), debido principalmente a la falta de racimos ocasionada por los ataques de pájaros o a enfermedades fúngicas en diferentes variedades en cada campaña. Además, para determinados grupos de sinonimias, se describió sólo una accesión, descartándose 79 accesiones en 2005 y 50 accesiones en 2006. La campaña de 2007 se planteó especialmente para completar datos perdidos en los otros tres años, por lo que se describieron completamente 77 accesiones, revisándose datos concretos en otras 129 accesiones.

Tabla 1. Material estudiado procedente de la Finca El Encín y sus principales características, aplicaciones y presencia en los diferentes apartados de esta tesis.

V-vinificación; M-mesa; P-pasificación; B-blanca; N-negra; RG-roja; R-rosa.

*Accesión de El Encín no coincide genotípicamente con la variedad VIVC (el nombre VIVC expuesto es el de la variedad a la que realmente corresponde).

Espacios en blanco en la columna de “variedad VIVC” indican que la accesión no aparece en el VIVC o que es una homonimia o un error de banco.

En “colecciones nucleares”, “SI” indica que la variedad ha sido incluida en la tabla de partida para la construcción de la colección y “**SI** encuadrado” que forma parte de la colección nuclear.

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
620 PIROVANO	Galletta rosa	25I17	BGVCAM?004	ITA	B-R	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
A-406-49-SRLH	S.R.L.H. A 406-49	25K15	BGVCAM1719	USA	N	V-M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
ACTONI MACERON	Afus Ali	25C24	BGVCAM1400	LBN	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ADMIRABLE DE COURTILLER	Admirable de Courtiller	25B14	BGVCAM1720	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
AGOSTENGA	Agostenga	25A11	BGVCAM0923	ITA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
AHMEUR BOU AHMEUR	Ahmeur bou Ahmeur	25I16	BGVCAM1375	AM	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
AI-IZUM-BELI	Ag Izyum	25M07	BGVCAM1819	SUN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ALBA MAGNA	Alba Magna	25B16	BGVCAM1216	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALBERTA	Alberta	25C09	BGVCAM1438	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALBILLO	Albillo	22I16	BGVCAM1105	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALEÁTICO	Moscato d'Adda	25G15	BGVCAM0933	ITA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ALEDO	Aledo	22N56	BGVCAM1191	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALEDO	Aledo	22N60	BGVCAM1344	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
ALEDO REAL	Aledo Real	22N59	BGVCAM1402	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALFONSO LAVALLE	Alphonse Lavallée	22M25	BGVCAM2068	FRA	N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
ALFONSO LAVALLÉE x FERRAL		14F29	BGVCAM2335	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALMERIA NEGRA	Alphonse Lavallée	25M15	BGVCAM1464	FRA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
ALMERIA NERA	Almería nera	25J16	BGVCAM1467	ESP	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ALPHONSE LAVALLÉE	Alphonse Lavallée	25G19	BGVCAM1279	FRA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ

Materiales y métodos

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
ANGELO	Angelo Pirovano	25H09	BGVCAM0793	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
ANGIOLA BIANCA	Angela	25B18	BGVCAM1772	ITA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ANNA MARIA	Annamaria	25A22	BGVCAM1773	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
APESORGIA NERA	Apesorgia nera	25G22	BGVCAM1217	ITA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
APIRENA DI VELLETRI	Apirena di Velletri	25K24	BGVCAM1820		B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
ARGANDA 30 A	Arganda 30 A	22J13	BGVCAM0795	ESP	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
ARGELINA	Ahmeur bou Ahmeur	22D59	BGVCAM0877	ALG	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
ARTURO MARESCALCHI	Arturo Marescalchi	25H24	BGVCAM1403	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ATTILIO RAGGIONERI	Attilio Ragionieri	25B09	BGVCAM1474	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
AUGUSTA	Augusta	25B02	BGVCAM1475	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
AUGUSTE SUISSE		25M10	BGVCAM1756		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
AURATA	Aurata	25E15	BGVCAM1445	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
AURORA	Aurora	25D09	BGVCAM1404	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
AUSONIA	Ausonia	25F02	BGVCAM1322	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
BALBAL	Balbal	25M11	BGVCAM1757	TUR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
BARBABLEU	Barbableu	25I02	BGVCAM0941	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BARESANA	Baresana	25D17	BGVCAM1376	ITA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
BARLINKA	Barlinka	25J08	BGVCAM1427	SAF	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BASILE LOGOTHETIS	Basile Logothetis	25K07	BGVCAM1264	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BEAUTY SEEDLESS	Beauty seedless	25K19	BGVCAM0797	USA	N	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BEBA DE HUELVA	Beba	14F24	BGVCAM2340	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
BEBA DE JAÉN	Beba	14F23	BGVCAM2341	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
BEBA DE JEREZ	Beba	14F22	BGVCAM2342	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
BEBA DE PALOS	Beba	14F21	BGVCAM2343	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
BICANE	Bicane	25D04	BGVCAM0798	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BLACK ALICANTE	Black Alicante	25J03	BGVCAM1477	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BLACK CURRANT	Korinthiaki	25K17	BGVCAM1212	GRC	N	V-M-P	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BLACK MONUCCA	Kishmish Chernyi	25K20	BGVCAM1722	USA	N	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BLACK PRINCE	Black Prince	25L07	BGVCAM1759	GBR	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BLANCA	Blanca	22E52	BGVCAM2216	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
BLANCA DE FOSTER'S		14F20	BGVCAM2344	GRB	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
BLANCA SUPERIOR PARA PARRAL	Blanca superior parral	22B44	BGVCAM0800	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
BLANCO DE MESA	Blanco de mesa	22K40	BGVCAM0801		RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
BOGNI 08	Bogni 8	25H23	BGVCAM1377	ITA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BOGNI 17	Bogni 17 B	14I27	BGVCAM1446	ITA	N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
BOGNI 17	Bogni 17 B	25C02	BGVCAM1405	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BOTO DE GALL	Verdejo blanco	22N50	BGVCAM1780	ESP	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
BRUNI 012	Bruni 12	25A03	BGVCAM1724	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 036	Bruni 36	25A04	BGVCAM1796	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
BRUNI 041	Bruni 41	25B10	BGVCAM1481	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 045	Bruni 45	25K10	BGVCAM1482	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
BRUNI 074	Bruni 74	25G04	BGVCAM1483	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 090	Bruni 90	25H19	BGVCAM1484	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 100	Bruni 100	25B15	BGVCAM1795	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 102	Bruni 102	25G08	BGVCAM1478	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
BRUNI 116	Bruni 116	25K13	BGVCAM1468	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
BRUNI 116	Bruni 116	25L18	BGVCAM1479	ITA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 125	Bruni 125	25G16	BGVCAM1480	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 415	Bruni 415	25B04	BGVCAM1723	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
BRUNI 707	Bruni 707	25G11	BGVCAM1774	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CADRETE	Cadrete	22E08	BGVCAM1938	ESP	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
CALMERIA	Calmeria	25F13	BGVCAM1485	USA	B	M-P	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
CANNER SEEDLESS	Canner seedless	25K09	BGVCAM1378	USA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CANNON HALL	Muscat Cannon Hall	25D13	BGVCAM1340	GBR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
CAPE CURRANT	Cape Currant	25K16	BGVCAM1726	ZAF	N	P	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CARDINAL	Cardinal	22E42	BGVCAM2202	USA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
CARDINAL	Cardinal	22C42	BGVCAM2152	USA	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
CARDINAL	Cardinal	22H32	BGVCAM2174	USA	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CARDINAL	Cardinal	22O02	BGVCAM2102	USA	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
CARDINAL	Cardinal	22O37	BGVCAM2056	USA	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO

Materiales y métodos

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
CARDINAL	Cardinal	25F19	BGVCAM1280	USA	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CASTELLANO MORADO	Castellano morado	14A10	BGVCAM2246	ESP	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CAVUS	Chaouch blanc	25M05	BGVCAM1760	TUR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CEREZA	Cereza	25H01	BGVCAM1120	ARG	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CHAOUCH ROSE	Chaouch rozovyi	25F17	BGVCAM1727	TUR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CHASSELAS APYRENE	Chasselas sans pepins	25J24	BGVCAM1379	FRA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CHASSELAS BLANCA	Chasselas blanc	14D22	BGVCAM1994	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CHASSELAS CIOUTAT	Chasselas cioutat	25M21	BGVCAM?034	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CHASSELAS DE MONTAUBAN	Chasselas blanc	25B21	BGVCAM0954	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CHASSELAS DORÉ	Chasselas blanc	22N12	BGVCAM1123	FRA	B	V-M	NO	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CHASSELAS GROS COULARD	Chasselas Coulard	25A07	BGVCAM1728	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CHASSELAS MICHEL TOMPA		25B20	BGVCAM0805	HUN	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CHASSELAS MUSQUÉ	Chasselas musqué	25A20	BGVCAM0955	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CHASSELAS ROSE	Chasselas rose	25F23	BGVCAM1380	FRA	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CHASSELAS ROUGE	Chasselas rouge	25F24	BGVCAM1381		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CHASSELAS VIOLET	Chasselas violet	25F22	BGVCAM1798	FRA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
CICLÓPICA	Ciclopica	25D15	BGVCAM0807	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CIMINNITA	Olivette blanche	25E22	BGVCAM1219	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CINSAULT	Cinsaut	22G45	BGVCAM2077	FRA	N	V-M-P	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
CINSAUT	Cinsaut	25H07	BGVCAM0956	FRA	N	V-M-P	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
CIRCA	Circé	25B03	BGVCAM1729	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CIRUELA ROJA	Ciruela roja	22B03	BGVCAM1456	ESP	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CLOTILDE PROSPERI	Clotilde Proserpi	25D23	BGVCAM1355	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
COARNA BIANCA	Coarna alba	25D24	BGVCAM1382	RUM	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
COARNA NEAGRA	Coarna neagra	25G05	BGVCAM1383	RUM	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
COLGADERO	Quiebratinajas tinto	22D54	BGVCAM1888	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
COLGAR ROJA	Colgar roja	25J13	BGVCAM1465	ESP*	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
CONCA D'ORO		25L05	BGVCAM1434	ITA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CORAZON DE CABRITO	Corazón de Cabrito	22C36	BGVCAM2227	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
CORAZÓN DE CABRITO		14C05	BGVCAM2251	ALG	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
CORINTHE BLANC	Corinto blanco	25J23	BGVCAM1447	ESP	B	P	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CORNEILLE	Corneille	25B13	BGVCAM0960	FRA	B	M	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO
CORNICHON VIOLET		25G14	BGVCAM1448		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
CORNIOLA DI MILAZZO	Corniola	25E14	BGVCAM1220	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DABOUKI	Dabouki	25E10	BGVCAM1384	ARM	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DALMASSO III-33	Dalmasso 3-33	25J01	BGVCAM1487	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DALMASSO VI-03	Emilia	25L19	BGVCAM1488	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DALMASSO VI-06	Dalmasso 6-6	25C01	BGVCAM1439	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DALMASSO XI-08	Dalmasso 11-8	25H21	BGVCAM1489	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
DALMASSO XI-20	Dalmasso 11-20	25I05	BGVCAM1490	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DALMASSO XVIII-03	Viola	25I04	BGVCAM1440	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DANAM	Danam	14F16	BGVCAM2348	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
DANLAS	Danlas	14F15	BGVCAM2349	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DANUGUE	Danugue	25I23	BGVCAM1385	FRA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DARKAIA NERA	Darkaia nera*	25I11	BGVCAM0809	ISR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DATAL		14F14	BGVCAM2350	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DATTIER NOIR	Dattier noir	25J04	BGVCAM1491		N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DAVID		25D07	BGVCAM1386	ITA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
DE CILINDRO	De cilindro	22B08	BGVCAM1610	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DE CUERNO	De cuerno	22A48	BGVCAM2078	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DE CUERNO	De cuerno	22B07	BGVCAM1614	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
DELIGHT	Delight	25J20	BGVCAM1253	USA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
DELIZIA DI VAPRIO	Delizia di Vaprio	25B17	BGVCAM0965	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DIAGALVES	Mantúo	25L15	BGVCAM1730	PRT	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DIAMANT TRAUBE		25C17	BGVCAM0966		B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
DOMINGA	Dominga	22A49	BGVCAM1904	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
DOMINGA	Dominga	22B04	BGVCAM0811	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
DOMINGA	Dominga	22O35	BGVCAM2145	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DON BUENO	Pedro Ximenes	22B36	BGVCAM0968	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
DON MARIANO	Imperial Napoleón	22N61	BGVCAM1346	ESP	N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
DON MARIANO	Imperial Napoleón	22O32	BGVCAM2127	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DON MARIANO	Imperial Napoleón	22O33	BGVCAM2181	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
DONA MARIA	Dona Maria	25A12	BGVCAM1827	PRT	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DONGINE	Dongine*	25L14	BGVCAM1492		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
DORONA DI VENEZIA	Dorona Veneziana	25C07	BGVCAM1441	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DORONI MACERON		14E29	BGVCAM2351		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DUC DE MAGENTA	Duc de Magenta	25G09	BGVCAM1493	FRA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
DUCHESS OF BUCCLEUGH	Duchess of Buccleugh	25C15	BGVCAM1731	GBR	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
EARLY MUSCAT	Early muscat	25A19	BGVCAM1824	USA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EL FARRYALI	El Farryali	25I21	BGVCAM1494	MAR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EL GOUZ	El Gouz	25B05	BGVCAM1732	MAR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ELETTRA	Elettra	25H20	BGVCAM1323	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EMERALD SEEDLESS	Emerald seedless	22P46	BGVCAM1472	USA	B	V-M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EMERALD SEEDLESS	Emerald seedless	25K23	BGVCAM1472	USA	B	V-M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
EMPEROR	Emperor	25J18	BGVCAM1336	USA	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ENVERROUS TRAUBE	Mathiasz Janos Diadala	25C18	BGVCAM0969		B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EVA	Mantúo	22M17	BGVCAM1462	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
FALSO CARDINAL	Falso Cardinal	22E17	BGVCAM1539		RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
FERRAL	Ferral	22B14	BGVCAM0815	PRT	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
FLAME TOKAY		14E18	BGVCAM1905	USA	RG	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
FONDO DE ORZA	Fondo de Orza	22B50	BGVCAM0972	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	NO	SÍ	NO	NO	NO	NO
FOSTER'S WHITE SEEDLESS		14F10	BGVCAM2355		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
FOSTER'S WHITE SEEDLING	Foster's white seedling	25C05	BGVCAM0974	GBR	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
FRANKENTHAL	Frankenthal	25G12	BGVCAM1356	ITA	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
FRAULA KAKINI	Fraoula kokkini	25I20	BGVCAM1293	GRC	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
FUSCA	Fusca	25H16	BGVCAM1221	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GALLETTA ROSA	Galletta rosa	25E20	BGVCAM1324	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
GALLURA ZENNI DE DAMASCO	Gallurazeni di Damasco	25E06	BGVCAM1270		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
GATETA	Gateta	14C29	BGVCAM2305	ESP	N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
GATETA	Gateta	22O46	BGVCAM0981	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
GEMRE		25H22	BGVCAM1387	TUR	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GENERAL DE LA MARMORA	General de la Marmora	25C14	BGVCAM1388	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GLACIÈRE	Glacière	25J11	BGVCAM1495	FRA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GOLD	Gold	25A08	BGVCAM1825	USA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
GOLDEN HILL	Olivette blanche	25M06	BGVCAM1762	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
GRADISKA	Gradisca	25B07	BGVCAM2125	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GRAZIELLA I	Graziella I	25K01	BGVCAM1325	ITA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
GRAZIELLA II	Graziella I	25K06	BGVCAM1414	ITA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
GREC	Grec blanc	25M18	BGVCAM0820	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
GROS COLMAN	Kharistvala Kolkhuri	25I06	BGVCAM0984	GEO	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GROS MAROC	Marocain noir	25I22	BGVCAM1271	FRA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
GROS VERT	Servant	25E21	BGVCAM1449	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
HAFIZ ALI	Afuz Ali	25L24	BGVCAM1763	LBN	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
HEBRON	Hebron blanc	14F06	BGVCAM2360	ISR	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
HELVANY ROUGE	Helvany	25J10	BGVCAM1496	LBN	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
HIMONIATICO	Himoniatico	25F12	BGVCAM1734	CYP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
IGNEA	Ignea	25H12	BGVCAM1407	ITA	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
IMPERIAL ROJA	Imperial roja*	22B09	BGVCAM1615	ESP	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
IMPERO	Impero	25D16	BGVCAM1389	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
INZOLIA NERA	Insolia nera	25I10	BGVCAM1435	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ITALIA	Italia	25D20	BGVCAM0986	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
ITALIA X SULTANINA V-6	Italia x Sultanina V-6	25K11	BGVCAM1331	BGR	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ITALIA X SULTANINA VI-4	Italia x Sultanina VI-4	25K12	BGVCAM1332	BGR	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
JANTAR	Jantar	25M08	BGVCAM1812	BGR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
JAOMET	Jaoumet	25A17	BGVCAM1390	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
JAPINKAY	Japinkay	25C20	BGVCAM0988		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
JAUMIN	Jaoumet	22G40	BGVCAM0990	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
JERÓNIMO DE TUDELA	Jerónimo	22A37	BGVCAM0825	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
JOUANENC	Lignan blanc	25A10	BGVCAM0826	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
JUBILEJ		25M09	BGVCAM1813	BGR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ

Material es y métodos

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
JULY MUSCAT	July muscat	25A18	BGVCAM1826	USA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
KALILI	Khalili Belyi	14F05	BGVCAM2362	AZBJ	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
KÉRINO	Afus Ali	25E03	BGVCAM1294	LBN	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
KOVER SZOLO	Kover Szoeloe	14A09	BGVCAM2255	HUN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LACRIMA DI MARIA	Lacrima di Maria	25D11	BGVCAM1222	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LADY DOWNE'S SEEDLING	Lady Downe's seedling	25L02	BGVCAM1497	GBR	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LASSINA	Lasina	25I15	BGVCAM1238	CRO	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LATINA	Latina	25F08	BGVCAM1326	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LATTUARIO NERO	Lattuario nero	25J05	BGVCAM0994	ISR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
LEOPOLD III	Leopold III	25G13	BGVCAM1338	BEL	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
LIVAL	Lival	14G20	BGVCAM2440	FRA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
LOCAL BLACK	Cyperntraube	25J17	BGVCAM1213	CYP	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LOCAL WHITE XYNISTERI	Aspro	25E17	BGVCAM1210	CYP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
LOMBARDIA	Lombardia	25G10	BGVCAM1408	ITA	R	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LOOSE PERLETTE	Perlette loose	25J22	BGVCAM1458	USA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LORD ROTHERMERE		25F18	BGVCAM1436		RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
LUGLIENGA BIANCA	Lignan blanc	25A06	BGVCAM0997	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
LUISA BLANCA	Luisa blanca	25F07	BGVCAM0998	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MADELEINE ANGEVINE	Madeleine Angevine	25A02	BGVCAM0999	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
MADELEINE ANGEVINE OBERLIN		14H30	BGVCAM2363	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
MADELEINE ROYALE	Madeleine Royale	25A05	BGVCAM1000	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
MAGDALENA REAL	Madeleine Royale	14B05	BGVCAM2257	FRA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
MÁLAGA	Malaga	14B07	BGVCAM2258	FRA	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MANTUO DE PILAS	Mantúo de Pilas	14B04	BGVCAM2262	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
MARAWI		25L23	BGVCAM1514	ISR	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
MARENGO	Marengo	25D06	BGVCAM1337	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MARIA PIROVANO	Maria Pirovano	25K03	BGVCAM1223	ITA	B	V-M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MARIA ROSA	Maria rosa	25I08	BGVCAM1327	ITA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MARSIGLIANA	Marsigliana nera	25J09	BGVCAM1391	ITA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MATHIASZ JANOS DIADALA	Mathiasz Janos Diadala	25B23	BGVCAM1739	HUN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
MUSKOTALY															
MAVRI KORINZIAKI	Korinthiaki	25K18	BGVCAM1296	GRC	N	V-M-P	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
MAWRUD	Mavrud	25I09	BGVCAM1333	BGR	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MISTRESS HALL	Mistress Hall	25I24	BGVCAM1498		N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MOLINERA	Molinera	22B05	BGVCAM1423	ESP	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MOLLAR CANO	Mollar cano	14C28	BGVCAM2319	ESP	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
MONARCA DEL VESUBIO	Baresana	25E11	BGVCAM1018	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MONDINA	Mondina	14B22	BGVCAM2265		N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
MONTÚA	Montúa	14B29	BGVCAM2329	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MOSCATEL DE ALEJANDRÍA	Muscat of Alexandria	14D24	BGVCAM1997	EGY	B	V-M-P	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
MOSCATEL DE ENCINACORBA	Muscatel de Encinacorba	14H12	BGVCAM1945		B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MOSCATEL DE HAMBURGO	Muscat Hamburg	25H05	BGVCAM1024	GBR	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
MOSCATEL ENCARNADO		25M12	BGVCAM1874		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MOSCATEL NEGRO	Muscat of Alexandria*	22C44	BGVCAM1685		RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
MOSCATO	Muscat a petits grains blancs	14H26	BGVCAM2371	GRC	B	V-M	NO	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
MOSCATO DEL ADDA	Moscato d'Adda	25H04	BGVCAM1028	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
MOSCATO DI MADRESFIELD		25H06	BGVCAM0842	GBR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
MOSCATO DI TERRACINA		25D05	BGVCAM1357	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MOSCATO GUSTAV SZAUTER	Szauter Gusztav	25C23	BGVCAM1029	HUN	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
MURCIANA BLANCA	Dominga	22B40	BGVCAM1528	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MURCIANA NEGRA	Murciana negra	22B39	BGVCAM1530	ESP	N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MUSCAT FLAME	Muscat Flame*	14B10	BGVCAM2266	EGY	RG	V-M-P	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
MUSCAT MADAME MATHIASZ	Mathiasz Janosne	25G06	BGVCAM1392		RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
MUSCAT OTTONEL	Muscat Ottonel	14B14	BGVCAM2267	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
MUSCAT SAINT LAURENT	Muscat St. Laurent	25A21	BGVCAM1393	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NÁPARO	Naparo	22N10	BGVCAM1717	ESP	RG	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NÁPARO	Naparo	25L12	BGVCAM1717	ESP	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
NAPOLEON		22O34	BGVCAM2143		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
NAPOLEÓN	Imperial Napoleón	22A47	BGVCAM1907	ESP	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
NAPOLEÓN	Imperial Napoleón	22O29	BGVCAM1770		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ

Materiales y métodos

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
NEGRA DORADA	Negra dorada	14C04	BGVCAM2270		RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NEGRA TARDÍA	Negra tardía	22B01	BGVCAM1410	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NEHELESCOL	Nehelescol	25E05	BGVCAM1394	ISR	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NIGER		25L10	BGVCAM?033	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
NOIR HÂTIF DE MARSEILLE	Noir Taif de Marseille	25F15	BGVCAM1033	FRA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
NORE		25J06	BGVCAM0846		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
NYMRANG	Nimrang	25I03	BGVCAM1821	UZB	R	M	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO
OHANES	Ohanes	22A50	BGVCAM2092	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
OHANES	Ohanes	22B06	BGVCAM1035	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
OHANES	Ohanes	22O30	BGVCAM2050	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
OHANES	Ohanes	25F10	BGVCAM1424	ESP	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
OILLADE NOIR	Oeillade noire	25H02	BGVCAM0847		N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
OJO DE BUEY		22N27	BGVCAM1978		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
OLIVETTA NERA	Olivette noire	25J19	BGVCAM1358	FRA	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
OLIVETTE BARTHELET	Olivette Barthelet	25E12	BGVCAM1740	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
OLIVETTE BLANCHE	Olivette blanche	25E13	BGVCAM1450	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
OPALE		25E23	BGVCAM1224	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
OPHTALMO	Ophtalmo	25J07	BGVCAM1214	CYP	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
OSCARI ROSE	Oscari rose	25L09	BGVCAM1272		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PALESTINA I	Palestina I	25B22	BGVCAM1741	FRA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PANSE PRECOCE	Panse precoce	25B11	BGVCAM1742	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PARADISIA	Verdea	25M04	BGVCAM1765	ITA	B	V-M-P	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PARRAS DE LA CASA	Parra de la casa	22I33	BGVCAM0849	ESP	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PAUSE BLANCHE		14I26	BGVCAM0851		N	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PEPITA DE ORO	Afus Ali	22E12	BGVCAM1546	LBN	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PERGOLESE		25J14	BGVCAM0855	ITA	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PERLA DE CSABA	Perle von Csaba	25A01	BGVCAM1268	HUN	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PERLA NERA	Perla nera	25H18	BGVCAM0856	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PERLE DE CSABA ROUGE		25F20	BGVCAM1499	HUN	R	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PERLETTE	Perlette	25J21	BGVCAM1254	USA	B	M-P	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PERLONA	Perlona	25E16	BGVCAM1411	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
PEROLA DAS GESTOSA	Perola	14B20	BGVCAM2273	PRT	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
PIRIQUITA	Periquita	25H03	BGVCAM1201	PRT	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PIROVANO 093	Pirovano 93	25E08	BGVCAM1745	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PIROVANO 155		25L20	BGVCAM1500	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 159	Pirovano 159	25H15	BGVCAM1501	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 166A	Pirovano 166A	25K04	BGVCAM?003	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 18	Pirovano 18	25C22	BGVCAM0857	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 188	Pirovano 188	25G21	BGVCAM1502	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 235	Pirovano 235	25B24	BGVCAM1743	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
PIROVANO 315	Pirovano 315	25A13	BGVCAM1443	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 531	Pirovano 531	25G24	BGVCAM1503	ITA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 575	Pirovano 575	25E18	BGVCAM1744	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIROVANO 671	Pirovano 671	25L21	BGVCAM1504	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
PIROVANO 771	Pirovano 771	25I07	BGVCAM1328	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIZZUTELLO BIANCO	Cornichon blanc	25E24	BGVCAM1045		B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIZZUTELLO MOSCATO BIONDO	Pizzutello moscato biondo	25F01	BGVCAM1329	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PIZZUTELLO NERO	Pizzutello nero	25J15	BGVCAM1225	ESP	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PLANTA MULA		22N53	BGVCAM1158	ESP	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PORTUGUES AZUL	Portugieser blau	25G01	BGVCAM2017	AUS	N	V-M	NO	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
PRECOCE DE MALINGRE	Malingre precoce	25A15	BGVCAM1746	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PRECOCISIMO	Primiera	14B16	BGVCAM2277	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
PRIMIERA	Primiera	25A23	BGVCAM0859	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PRINCEPS	Princeps	25C03	BGVCAM1184	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PRINCES CHASSELAS	Afus Ali	14B19	BGVCAM2381		B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
PRINCIPESA DI PIAMONTE	Principessa di Piemonte	25C08	BGVCAM1775	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PROFESSOR ABERSON		25B06	BGVCAM1395	HOL	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PROSPERI 008	Prosperi 8	25B08	BGVCAM1747	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PROSPERI 037	Prosperi 37	25F05	BGVCAM1748	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
PROSPERI 102	Prosperi 102	25D22	BGVCAM1359	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PROSPERI 262		25F09	BGVCAM1505	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ

Material es y métodos

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
PROSPERI 285	Prosperi 285	25C04	BGVCAM1227	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
PRUNE DE CAZOULS	Prune de Cazouls	25G17	BGVCAM1451		N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
PRUNESTA NERA	Prunesta	25J12	BGVCAM1396	ITA	N	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
QUEEN	Queen	25I13	BGVCAM1397	USA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
QUEEN KEARNEY	Queen	25G03	BGVCAM1473		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
QUIEBRATINAJA BLANCO	Quiebratinajas blanco	22E05	BGVCAM0860	ESP	R	V-M	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO
QUIEBRATINAJAS	Quiebratinajas tinto	22E10	BGVCAM1258	ESP	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
RAGOL		22B02	BGVCAM1426	ESP	RG	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
RAZAKI DE SMIRNA		14K12	BGVCAM1297		B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
RAZAKI ISLA DE CRETA	Afus Ali	25E02	BGVCAM1299		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
RED MALAGA	Molinera	14B06	BGVCAM0861		RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
RED OHANES	Red Ohanes	14I07	BGVCAM2470	PRT	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
REGINA	Italia	22N57	BGVCAM1347		B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
REGINA DE BEYROUTH	Afus Ali	14I10	BGVCAM1444	LBN	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
REGINA DEI VIGNETI	Koenigin der Weingaerten	25A14	BGVCAM1776	HUN	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
REGINA ELISABETTA		25D14	BGVCAM0862	HUN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
RIBIER	Alphonse Lavallée	25G20	BGVCAM1339	FRA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
RODI	Rodi	25K08	BGVCAM1265	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
RODITIS	Roditis	25F04	BGVCAM1300	GRC	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ROI DES PRECOCES	Roi des precoces	25F16	BGVCAM1506	FRA	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ROSAKI	Afus Ali	22H54	BGVCAM1836	LBN	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ROSAKI NOIR DES SEMIS	Rosaki noir de semis	25I18	BGVCAM1507		N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ROSETI	Afus Ali	22N58	BGVCAM1349	LBN	B	M	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ROSETI	Afus Ali	22O13	BGVCAM2163	LBN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
ROSSO GROSSO PRECOZ	Lombardia	25I01	BGVCAM0863	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ROYAL	Alphonse Lavallée	25L06	BGVCAM1766	FRA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
ROYAL GORDO	Ahmeur bou Ahmeur	22J20	BGVCAM1058	ALG	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ROYAL ROJO	Ahmeur bou Ahmeur*	22O21	BGVCAM1800	ESP	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
ROYAL TERHEYDEN	Alphonse Lavallée	25G18	BGVCAM1341	FRA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
RUSAKE		22N28	BGVCAM2038		B	?	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
SABALKANSKOI		14B03	BGVCAM2278	SUN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
SCHIRADZOULI BIANCO	Shiradzouli belyi	25C12	BGVCAM1065	IRN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SCHIRAZ	Schiras	25G02	BGVCAM1066		N	M	NO	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
SEGREGADA 22-62		14C21	BGVCAM0865		RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
SELECCION BRUNI 1	Bruni 1	25K14	BGVCAM0866	ITA	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SERVANT	Servant	25F03	BGVCAM1070	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SHAMI	Shami	25L04	BGVCAM1515	ISR	RG	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
SICILIEN	Sicilien	14D04	BGVCAM1075	ITA	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
SIDERITIS	Sideritis	25D08	BGVCAM1301	GRC	RG	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SIN HUESO	Sin hueso	22C46	BGVCAM1262		B	M	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
SLAVJANKA	Slavjanka	14H11	BGVCAM1817	BGR	B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
SMEDEREVKA	Dimyat	25E01	BGVCAM1230	BGR	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
SMEDEREVKA	Dimyat	25C13	BGVCAM1230	BGR	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SOVRANA	Sovrana	25L17	BGVCAM1754	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SULIVAN	Sullivan blanc	25B19	BGVCAM1076	FRA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
SULTALHAMA	Sultalhama	22O28	BGVCAM1903		B	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
SULTANA MOSCATA	Sultana moscata	25K05	BGVCAM1266	ITA	B	M	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SULTANINA	Sultanina	25K02	BGVCAM1077	AFG	B	M-P	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
SULTANINA ROJA	Kishmish rozovyi	25K21	BGVCAM1302	ARM	RG	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
SULTANINA ROSADA	Kishmish rozovyi	25K22	BGVCAM1167	ARM	RG	M	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
SUPERBA	Superba	25H14	BGVCAM1508	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SUPERFRANKENTHAL	Superfrankental	25I14	BGVCAM1509	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
SUPERIOR SEEDLESS	Early superior seedless	22R54	BGVCAM2498	USA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	NO	NO	NO	NO
SUPERZIBIBBO		25C19	BGVCAM1801	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
TALISMANO	Talismano	25F06	BGVCAM1330	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
TCHAOUTC		25B12	BGVCAM1360		B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
TEMPRANILLA BLANCA		14A11	BGVCAM2281	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	NO	NO	SÍ	NO	NO	SÍ
TENERON DE VAUCLUSE		25E19	BGVCAM0867	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
TERESA PIROVANO	Teresa Pirovano	25H08	BGVCAM0868	ITA	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
TETA DE VACA	Cornichon blanc	22G53	BGVCAM1421	ESP	B	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena	Caracterización STMS		Caracterización agronómica				Colecciones nucleares	
								Nuclear	Cloroplástica	2004	2005	2006	2007	CN127	CN96
TETA DE VACA	Ahmeur bou Ahmeur*	22H53	BGVCAM1838	LBN	RG	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
TETA DE VACA	Ahmeur bou Ahmeur*	22H55	BGVCAM2075	ESP	RG	M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
TETA DE VACA		22K30	BGVCAM1877	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
THALLOCY LAJOS	Thalloczy Lajos	25C10	BGVCAM1361	HUN	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
THERMI	Therme	25L11	BGVCAM1818	GRC	N	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
THOMPSON SEEDLESS	Sultanina	14D21	BGVCAM1173	TUR	B	M-P	SÍ	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
TINTA DE ORÁN	Tinta de Oran	22B42	BGVCAM1638	ESP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
TRENTAM BLACK	Trentham black	25H13	BGVCAM1510	GBR	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
TRIESTE	Trieste	25C06	BGVCAM1755	ITA	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
TURCHESCA	Baresana	25D19	BGVCAM1090	ITA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
TURKI	Turki	25L03	BGVCAM1511	TUN	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
UVA DE ALMERIA	Ohanes	25F11	BGVCAM1091	ESP	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	SÍ
UVA DE OLAZ	Uva de Olaz	22A30	BGVCAM1092		N	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO
UVA JIJONA	Clairette blanche	22N55	BGVCAM1095	FRA	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
VALENCI BLANCO	Teneron	22H47	BGVCAM0870	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	SÍ
VALENCÍ BLANCO	Teneron	22H50	BGVCAM1853	ESP	B	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
VALENCÍ TINTO	Valenci tinto	22N54	BGVCAM1179	ESP	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO
VALENCIA	Teneron	14F03	BGVCAM2312	ESP	B	V-M	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO
VERDEA	Verdea	25D21	BGVCAM1823	ITA	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
VÉRICO	Verico	25I19	BGVCAM1215	CYP	N	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
VERNACCIA NERA	Vernaccia nera	25H17	BGVCAM1512	ITA	N	V-M	NO	SI	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO
VIVONA 378	Vivona 378	25E07	BGVCAM1437	ITA	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
VOLTA	Volta	25F14	BGVCAM1101	ITA	N	V-M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
WRATCHANSKI MISKET	Misket vratchanskii	25D03	BGVCAM1334	BGR	B	V-M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
ZARIZA NA LOSIATA X BOLGAR 19-2	Jantar	25D10	BGVCAM1335	BGR	B	M	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ZEINI ABIAD	Zeini Abiad	25L22	BGVCAM1513	LBN	B	M	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
ZIBIBBO		25D18	BGVCAM1413	EGY	B	V-M-P	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	NO	NO	NO

Tabla 2. Acciones adicionales empleadas para el estudio de pedigrís y sus principales características (ver pie de tabla 1).

Nombre accesión	Nombre variedad VIVC	Código Parcela	Número accesión	Origen	Color	Uso	Apirena
SYRAH	Syrah	14C13	BGVCAM1078	FRA	N	V	NO
MARSANNE	Marsanne	14D18	BGVCAM1147	FRA	B	V	NO
UGNI BLANC	Ugni blanc	14D25	BGVCAM2001		B	V	NO
PINOT NOIR	Pinot noir	14I28	BGVCAM1713	FRA	N	V	NO
ALBARRAZ	Albaras	22C28	BGVCAM0791	ESP	B	V	NO
COJONATA	Cojonata	22C43	BGVCAM2153	ESP	B	V	NO
CARIÑENA	Carignan noir	22G17	BGVCAM2194	FRA	N	V	NO
MALVAR	Malvar	22I37	BGVCAM1141	ESP	B	V	NO
NEGRA	Negra comun	22J19	BGVCAM2222	ESP	N	V	NO
TORRALBA	Torralba	22J22	BGVCAM1084	ESP	RG	V	NO
BOCALILLA	Bocalilla	22J24	BGVCAM1110	ESP	N	V	NO
INZOLIA BIANCA	Ansonica	25D02	BGVCAM1735	ITA	B	V	NO
DONGINE	Mondeuse blanche	25L14	BGVCAM1492	FRA	B	V	NO
DAWN SEEDLESS	Dawn seedless	-	-	USA	B	M	SÍ
ALVINA	Alvina	-	-	FRA	B	M	SÍ
AUTUMN SEEDLESS	Autumn Seedless	-	-	USA	B	M	SÍ
BLACK SEEDLESS	Black Seedless	-	-		N	M	SÍ
BLUSH SEEDLESS	Blush Seedless	-	-	USA	RG	M	SÍ
CENTENNIAL SEEDLESS	Centennial Seedless	-	-	USA	B	M	SÍ
DANUTA	Danuta	-	-	FRA	B	M	SÍ
EMPERATRIZ	Emperatriz	-	-	ARG	R	M-P	SÍ
FANTASY SEEDLESS	Fantasy	-	-	USA	N	M	SÍ
FLAME SEEDLESS	Flame Seedless	-	-	USA	RG	M	SÍ
MADINA	Madina	-	-	FRA	B	M	SÍ
MARROO SEEDLESS	Marroo Seedless	-	-	AUS	N	M-P	SÍ
MOSCATUEL	Moscatuel	-	-	ARG	N	M	SÍ
PASIGA	Pasiga	-	-	ARG	N	M-P	SÍ
PERLON	Perlon	-	-	ARG	RG	V-M-P	SÍ
RUBY SEEDLESS	Ruby Seedless	-	-	USA	N	M	SÍ
RUTILIA	Rutilia	-	-	ARG	B	M	SÍ
SULTANA CRIMSON	Sultana Chrimson	-	-		RG	M	SÍ
EXOTIC	Exotic	-	-	USA	N	M	SÍ
MATILDE	Matilde	-	-	ITA	B	M	SÍ
MICHELE-PALIERI	Michele Palieri	-	-	ITA	N	M	SÍ
RED-GLOBE	Red Globe	-	-	USA	RG	M	SÍ
ARAMÓN	Aramon noir	-	-	FRA	N	V-M	NO

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. CARACTERIZACIÓN

3.2.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

3.2.1.1.1. Extracción de ADN

El material estudiado consistió en dos plantas o cepas de cada accesión (excepto de algunas accesiones que sólo existe una cepa). De las 624 plantas incluidas en este estudio, fue necesaria la extracción de ADN de un total de 560 muestras: 548 muestras situadas en la parcela de investigación número 25 de El Encín, 8 muestras de la parcela 14 y 4 de la parcela 22. Los ADN restantes, tanto de la mayoría de las accesiones de las parcelas 14 y 22 como de las muestras del CIDA y de Superior Frutícola S.A., habían sido extraídos en proyectos previos a este trabajo.

Para la extracción se utilizó el Kit de Qiagen DNeasy 96 Plant, con ligeras modificaciones (adición de PVPP antes de añadir el tampón de lisis y un segundo lavado con etanol).

Por cada muestra, se introdujeron, en un tubo, aproximadamente 50 mg de hoja joven conservada a -80°C, una bolita de tungsteno y una pequeña cantidad de PVPP (Poli Vinil Poli Pirrolidona) para mejorar el rendimiento de la extracción, debido a la cantidad de polifenoles que presenta la hoja de vid. Las muestras se trituraron en el molino Mixer Mill MM300 (4 minutos a 20Hz). En el proceso de triturado se utilizó Nitrógeno Líquido para evitar la descongelación de las muestras y permitir así la destrucción de las paredes celulósicas de las células vegetales por acción de las bolitas de tungsteno. Posteriormente se añadió tampón de lisis para romper la membrana celular y proteger el ADN de la degradación. Asimismo se incorporó una ARNasa para degradar el ARN, el cuál podría interferir en la cuantificación del ADN y/o en la posterior reacción de PCR. Sucesivas etapas de precipitación, filtración, unión selectiva a una matriz, lavados alcohólicos y elución sirvieron para la purificación de ese ADN, eliminando restos de membranas, proteínas, polisacáridos y otros componentes celulares.

Evaluación de ADN

Para evaluar la calidad y la cantidad de ADN, se sometió a electroforesis en geles horizontales de agarosa al 0,8% y tampón TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA pH 8 1

mM). Tanto los geles como los tampones de electroforesis, contenían bromuro de etidio (BrEt) a una concentración de 0,5 µg/ml, para poder visualizar el ADN al iluminarlo con luz UV. Las electroforesis se llevaron a cabo a temperatura ambiente y bajo una diferencia de potencial de unos 2 V/cm.

La calidad se evaluó atendiendo a la presencia de una banda nítida de alto peso molecular, y observando el grado de rotura y/o degradación presente, visible como un rastro a partir de esa banda.

Para estimar la cantidad, se incluyeron en el gel diferentes muestras de cantidades conocidas de ADN del fago lambda sin digerir junto al ADN a cuantificar. La comparación de la fluorescencia emitida por el ADN problema frente al estándar permitió determinar la cantidad presente en el primero.

Las imágenes se obtuvieron con un equipo de análisis de imagen (UVP 5000 Imagestore).

3.2.1.1.2. Obtención de datos STMS

Los datos STMS se obtuvieron mediante una serie de pasos que consistieron en una reacción de PCR, una electroforesis en gel de agarosa para la cuantificación de los productos obtenidos, seguida de una dilución del producto de PCR, una desnaturalización de esta mezcla con formamida, y, finalmente, una electroforesis capilar mediante la que se obtuvo una estimación de los tamaños en pares de bases de los fragmentos amplificados.

Características de los STMSs y de sus cebadores

Los 20 microsatélites estudiados [VVS2 (Thomas y Scott 1993); VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD25, VVMD27, VVMD28 y VVMD32 (Bowers *et al.* 1996; Bowers *et al.* 1999b); VVIB01, VVIH54, VVIN16, VVIN73, VVIP31, VVIP60, VVIQ52, VVIV37 y VVIV67 (Merdinoglu *et al.* 2005); VMC1B11 (Zyprian y Topfer 2005) y VMC4F3-1 (*Vitis* Microsatellite Consortium) se seleccionaron en base a una acción trilateral común a tres países europeos (Alemania, Francia y España) que tuvo como uno de sus objetivos el estudio de la variabilidad de variedades cultivadas y silvestres de vid.

De cada pareja de cebadores de dichos microsatélites, uno de ellos iba marcado con un fluorocromo para la posterior detección mediante un secuenciador automático AB 3130.

Las secuencias de estos cebadores se muestran en la Tabla 3, en la que también se pueden observar su temperatura de fusión (T_m), el marcaje utilizado y los grupos de ligamiento en los que se encuentran los diferentes marcadores. Cada uno de los microsatélites pertenece a un grupo de ligamiento diferente, excepto VVMD25 y VVS2, que se encuentran en el mismo cromosoma.

Tanto para el estudio de pedigríes como para el estudio de asociación, fue conveniente ampliar el número de marcadores con el fin de obtener unos resultados de mayor fiabilidad. Dado que en trabajos previos en nuestro laboratorio ya se habían analizado determinados microsatélites nucleares en la colección de variedades a estudiar, se optó por usar esos datos previos de cinco no coincidentes con los 20 anteriormente citados: *ssrVrZAG29*, *ssrVrZAG62*, *ssrVrZAG67*, *ssrVrZAG83* y *ssrVrZAG112* (Sefc et al. 1999).

Además, y exclusivamente para el estudio de pedigríes, se amplificaron cinco microsatélites cloroplásticos en 147 accesiones implicadas en los pedigríes obtenidos, que aportarían información acerca de la dirección de los cruces: *Ccmp3*, *Ccmp5*, *Ccmp10* (Weising y Gardner 1999), *ccSSR9* y *ccSSR14* (Chung y Staub 2003). Mediante el genotipado de estos cinco marcadores se obtuvieron diferentes clorotipos, que fueron denominados de acuerdo a Arroyo-García *et al.* (2006).

Reacción de PCR

Se utilizaron distintas reacciones de PCR múltiple para el análisis de microsatélites, cuya optimización se describe en el apartado de Resultados. Se emplearon 0,8 U de la Taq polimerasa Hotmaster de la marca Eppendorf, con actividad Hot-start, dNTPs a 0,2 mM, buffer 1x y aproximadamente 5 ng de ADN. Las concentraciones de los cebadores empleados variaron en función de la reacción, desde 0,05 a 0,35 μ M.

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en diferentes termocicladores MWG de Biotech.

La amplificación de los STMSs cloroplásticos se llevó a cabo mediante una PCR múltiple (Ibáñez *et al.* 2009).

Tabla 3. Características de los microsatélites y de los cebadores. GL: Grupo de ligamiento; Tm: Temperatura de fusión.

<i>Locus</i>	<i>GL</i>	<i>Cebador</i>	<i>Secuencia (5'→3')</i>	<i>Tm</i>	<i>Marcaje</i>
VMC1b11	8	Fw	CTTTGAAAATTCCTTCCGGGTT	62	6-FAM
		Rv	TATTCAAAGCCACCCGTTCTCT	60	
VMC4F3-1	12	Fw	AAAGCACTATGGTGGGTGTAAA	56	NED
		Rv	TAACCAATACATGCATCAAGGA	55	
VVIB01	2	Fw	TGACCCTCGACCTTAAAATCTT	57	NED
		Rv	TGGTGAAGTCAATGATAGTAGA	52	
VVIH54	13	Fw	CCGCACTTGTGTTGAATTTTCCAG	60	VIC
		Rv	CAAACCGTTTTTACACCAGCAG	60	
VVIN16	18	Fw	ACCTCTATAAGATCCTAACCTG	49	6-FAM
		Rv	AAGGGAGTGTGACTGATATTTT	52	
VVIN73	17	Fw	TACTTCACCTAACAATACAGCT	49	VIC
		Rv	AATACATAAGGTGAAGATGCCT	53	
VVIP31	19	Fw	TATCCAAGAGACAAATTTCCAC	56	NED
		Rv	TTCTCTTGTTCCTGCAAATGG	59	
VVIP60	1	Fw	GGGGAATAACTAAATTGAGGAT	54	PET
		Rv	GTATGAATGCGGATAGTTTGTG	55	
VVIQ52	9	Fw	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	51	PET
		Rv	ACAGGAAAGTGTTCAATGGTTA	54	
VVIV37	10	Fw	TTTTCTCCCTACTCTTAACTTC	50	VIC
		Rv	GGTAGACCTTGAAATGAAGTAA	51	
VVIV67	15	Fw	TATAACTTCTCATAGGGTTTCC	50	PET
		Rv	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	56	
VVMD5	16	Fw	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	55	6-FAM
		Rv	TATACAAAAATCATATTCCTAAA	52	
VVMD7	7	Fw	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	55	NED
		Rv	CGAACCTTACACGCTTGAT	57	
VVMD21	6	Fw	GGTTGTCTATGGAGTTGATGTTGC	60	PET
		Rv	GCTTCAGTAAAAAGGGATTGCG	61	
VVMD24	14	Fw	GTGGATGATGGAGTAGTCACGC	58	PET
		Rv	GATTTTAGGTTTCATGTTGGTGAAGG	61	
VVMD27	5	Fw	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT	60	PET
		Rv	ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	60	
VVMD25	11	Fw	TTCCGTAAAGCAAAGAAAAAGG	62	6-FAM
		Rv	TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG	62	
VVMD28	3	Fw	AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGA	61	NED
		Rv	TCATCAATTTTTCATCTCTATTTGCTG	62	
VVMD32	4	Fw	TATGATTTTTTAGGGGGGTGAGG	62	VIC
		Rv	GGAAAGATGGGATGACTCGC	58	
VVS2	11	Fw	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	57	6-FAM
		Rv	AAATTCAAAATTCATAATCAACTGG	57	

Electroforesis y visualización de fragmentos

Tras la PCR se comprobó si se había producido la amplificación. Para ello se tomaron alícuotas de 7 μ l y se sometieron a electroforesis a temperatura ambiente en geles de agarosa al 2% (p/v) con tampón TAE 1X y bromuro de etidio (0,5 μ g/ml), aplicando una diferencia de potencial aproximada de 5 V/cm. Además de las muestras, se incorporó en un pocillo de cada peine un marcador de peso molecular: 0,5 μ g de ADN del fago ϕ X174 digerido con Hae III.

El siguiente paso consistió en la separación y el análisis de fluorescencia de los microsatélites en un secuenciador AB 3130 con el software GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems). La electroforesis se lleva a cabo en el interior de un capilar donde los fragmentos de cada muestra se separan en función del peso molecular, a través de un polímero comercial (POP7, de Applied Biosystems).

Cada muestra procedente de la amplificación mediante PCR fue diluida con agua entre diez y cien veces, de acuerdo a la intensidad de fluorescencia observada en el gel de agarosa al 2%. A 1 μ l de la dilución se le añadieron 14 μ l de formamida y 0,11 μ l de un marcador de peso molecular: LIZ 500 (Applied Biosystems). Esta mezcla se sometió a un tratamiento de calor (95°C, 5 minutos) en un termociclador para desnaturalizar el ADN.

Las muestras así preparadas se sometieron a electroforesis capilar en el AB 3130, a una diferencia de potencial de 15.000 V y a 60°C de temperatura. Próximo al extremo final, el capilar presenta una ventana transparente que, convenientemente alineada con el láser, permite excitar los fluorocromos que van pasando a través de la misma. Un lector del aparato detecta el paso de las moléculas de ADN mediante la fluorescencia emitida, cuya intensidad es almacenada.

El secuenciador automático permite la discriminación por tamaños de distintos fragmentos de amplificación dentro de una misma electroforesis si éstos se encuentran marcados con diferentes fluorocromos, o si no solapan en tamaño. Por ello, se utilizaron distintos fluorocromos que emiten en distintos rangos de longitud de onda (Tabla 3); el fluorocromo 6-FAM que fluoresce en azul, PET que fluoresce en rojo, NED en amarillo y VIC en verde. El filtro para la detección de estos fluorocromos es el "C".

Los datos de intensidad de fluorescencia se analizaron mediante el software GeneMapper 3.7. Para cada producto de amplificación se obtuvieron en la mayoría de los

casos uno o dos picos, que fueron interpretados como muestras homocigóticas o heterocigóticas, respectivamente, para ese locus en cuestión.

El software empleado utiliza el método matemático “Local Southern Method” para asignar a cada producto de amplificación un tamaño concreto. Este método se basa en una interpolación de tamaño entre los “picos” de la muestra y los de un marcador estándar interno de peso molecular (LIZ 500) que se incluye en cada análisis y que presenta los picos correspondientes a los siguientes tamaños: 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 300, 350, 400, 450 y 500. Como resultado de este algoritmo, los valores de tamaño de los productos de amplificación analizados vienen expresados con decimales.

Con esta información se construyó una primera tabla con los valores de los tamaños de los diferentes alelos de cada microsatélite.

Análisis de datos con el software GeneMapper y construcción de tabla de genotipos

La categorización de los valores con decimales en números enteros, que corresponden a pares de bases, se ha llevado a cabo mediante el software GeneMapper 3.7. Dicho software presenta una opción que permite automatizar una clasificación de los valores obtenidos en diferentes categorías o “bins”, de manera que queden incluidos en la misma categoría los valores que se corresponden con un único alelo. En determinados casos, fue necesario un ajuste manual, para el que resultó de gran ayuda el estudio de pedigríes. A veces, también fue necesario repetir la electroforesis capilar para tomar una decisión.

Con los alelos expresados en números enteros se obtuvo la tabla final de genotipos, entendiéndose aquí por genotipo el conjunto de valores obtenidos para una variedad, muestra o accesión tras el análisis de varias regiones microsatélites.

Mediante la aplicación de Excel Microsatellite Toolkit (Park 2001), se detectaron los genotipos redundantes en la tabla final. Con el fin de obtener una “tabla de genotipos únicos” (TGU), se mantuvieron las variedades principales, que dan nombre al sortogrupo, eliminándose el resto de accesiones redundantes. En esta tabla no se incluyeron terceros alelos detectados en determinados loci de algunas muestras, excluyendo el alelo que no segregaba a la descendencia en caso de conocerse, y el alelo de menor intensidad en caso de no tener información acerca de pedigríes o sinonimias. Esta tabla se empleó para los análisis de diversidad y pedigríes.

3.2.1.1.3. Análisis de STMS

Estudio de diversidad genética

El estudio de diversidad se llevó a cabo con una tabla de 263 genotipos únicos, empleando el software Identity 1.0 (Wagner y Sefc 1999) y la aplicación de Excel Microsatellite Toolkit (Park 2001) para el estudio de los siguientes parámetros estadísticos:

- Heterocigosidad Esperada (H_e) o Diversidad Genética (DG) (Nei 1973): Con este índice se calcula la proporción de heterocigotos por locus en una población en Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW).

$$DG = H_e = 1 - \sum p_i^2, \text{ donde } p_i \text{ es la frecuencia del alelo } i.$$

- Frecuencia de alelos nulos (r) (Brookfield 1996): La frecuencia de alelos nulos se estima a partir de la discordancia entre la heterocigosidad esperada y la heterocigosidad observada, asumiendo EHW.

$$Fr(r) = \frac{DG - H}{1 + DG}, \text{ donde } DG \text{ es la Diversidad Genética y } H \text{ la heterocigosidad observada.}$$

- Probabilidad de Identidad (PI) (Paetkau *et al.* 1995): Este valor representa la probabilidad de que dos variedades diferentes sean iguales por azar en un locus microsatélite analizado.

$$PI = \sum_{i=1}^n P_i^2, \text{ donde } P_i \text{ representa la frecuencia del genotipo } i.$$

- Probabilidad Total de Identidad: PI para el conjunto de microsatélites analizados, que se obtiene por multiplicación de las probabilidades de identidad obtenidas para cada locus.

$$PI = \prod_{m=1}^m PI_m$$

- Número efectivo de alelos (NEA) (Kimura y Crow 1964): Este índice tiene un valor inverso a la homocigosis e indica el grado de equilibrio de las frecuencias alélicas en un locus (cuanto más homogéneas son las frecuencias, más se aproxima este valor al número de alelos detectados).

$$NEA = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

- Probabilidad de Exclusión de Paternidad (PE) (Weir 1996): Indica la capacidad de un locus para excluir en un cruzamiento un posible parental cuyo genotipo sea compatible por azar con el de una supuesta progenie, lo cual depende de las frecuencias alélicas de ese locus.

$$PE = \sum_i p_i(1-p_i)^2 - \frac{1}{2} \sum_i \sum_{j \neq i} p_i^2 p_j^2 (4-3p_i-3p_j)$$

, donde p_i es la frecuencia del alelo i y p_j la frecuencia del alelo j .

- Probabilidad Total de Exclusión combinada para todos los loci (PE), que se obtiene por multiplicación de las probabilidades de exclusión obtenidas para cada locus.

$$PE = \prod_{m=1}^m PE_m$$

3.2.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

La caracterización agronómica se llevó a cabo durante cuatro campañas (2004-2007), aunque las más completas fueron las de 2005 y 2006, en las que se realizó la descripción completa de cinco racimos de cada variedad, mientras que durante 2004 solo se describió un racimo y la campaña de 2007 se dedicó principalmente a completar datos.

El instrumental de laboratorio empleado consistió en un calibre y un micrómetro para efectuar las mediciones de las dimensiones de la baya y del grosor de la piel,

respectivamente, un colorímetro Minolta para determinar el color de la baya, un refractómetro Atago PR-100 para medir el °brix, un texturómetro TA-XT de Stable Micro Systems para la textura y un titrador Crison Compact para determinar el pH y la concentración de ácido tartárico en mosto.

En los años 2004 y 2005, se tomo una fotografía de un racimo representativo de cada variedad.

Se estudiaron 42 caracteres de vid, de los cuales, 29 están publicados como descriptores por IPGRI, UPOV y OIV (IPGRI *et al.* 1997), aunque algunos no fueron descritos en determinados años. En la Tabla 4 se muestran estos descriptores, pero dado que muchos de ellos no se han descrito exactamente de acuerdo a la OIV o incluso no están publicados por ningún organismo oficial, es necesaria una pequeña aclaración de las modificaciones o del protocolo seguido, expuesta a continuación.

Tabla 4. Descriptores empleados para la caracterización morfológica, sus códigos y nombres oficiales, referencia o rango establecido para cada valor y la denominación de éste (estado).

Órgano	OIV 2001	UPOV 2001	Nombre Descriptor	Rango / Referencia	Valor	Estado
Fenología	301	1*	Fecha de brotación	Perla von Csaba	1	Muy Temprana
				Chasselas blanc	3	Temprana
				Garnacha tinta	5	Media
				Cinsaut	7	Tardía
				Mourvèdre	9	Muy tardía
	303	57	Época del envero	Perle von Csaba	1	Muy Temprana
				Chasselas blanc	3	Temprana
				Riesling	5	Media
				Carignan noir	7	Tardía
				Olivette noire	9	Muy tardía
	304		Madurez fisiológica de la baya	Perle von Csaba	1	Muy temprana
				Chasselas blanc	3	Temprana
				Syrah	5	Media
				Carignan noir	7	Tardía
				Olivette noire	9	Muy tardía
Inflorescencia	153	Nº de inflorescencias por pámpano	0-1	1	Una o menos	
			1,1-2	2	De 1 a 2	
			2,1-3	3	De 2 a 3	
			>3	4	Más de 3	
			151	56	Sexo de la flor	Rupestres du Lot
	3309 Couderc	2				Predominantemente masculina
	Chasselas blanc	3				Hermafrodita
	Sori	4				Femenina con estambres erguidos
	Bicane	5				Femenina con estambres reflejos

Órgano	OIV 2001	UPOV 2001	Nombre Descriptor	Rango / Referencia	Valor	Estado
Racimo			Alas / zarzillos			Porcentaje de racimos que los presentan
			Anchura (cm)	0-5	1	Muy estrecho
				6-10	3	Estrecho
				11-15	5	Medio
				16-20	7	Ancho
				>20	9	Muy ancho
	204	59*	Compacidad	<i>Vitis amurensis</i>	1	Muy suelto
					2	Muy suelto-Suelto
				Cardinal	3	Suelto
					4	Suelto-Medio
				Chasselas blanc	5	Medio
					6	Medio-Compacto
				Pinot noir	7	Compacto
				8	Compacto-Muy compacto	
				Sylvaner	9	Muy compacto
	207	61	Lignificación pedúnculo	Aramon	1	Ligera
				Garnacha tinta	5	Media
				Carignan noir	7	Fuerte
	203		Longitud (cm)	0-9	1	Muy corto
				10-14	3	Corto
				15-18	5	Medio
				19-25	7	Largo
				>25	9	Muy largo
206	60*	Longitud del pedúnculo (cm)	0-2	1	Muy corto	
			3-5	3	Corto	
			6-7	5	Medio	
			8-10	7	Largo	
			>10	9	Muy largo	
		Millerandage			Presencia/ ausencia	
502		Peso (g)	0-100	1	Muy bajo	
			101-149	2	Muy bajo-Bajo	
			150-250	3	Bajo	
			251-349	4	Bajo-Medio	
			350-450	5	Medio	
			451-649	6	Medio-Alto	
			650-950	7	Alto	
			951-1199	8	Alto-Muy alto	
			>1200	9	Muy alto	
202	58*	Tamaño (longitud + anchura)	0-15	1	Muy pequeño	
			16-20	2	Muy pequeño-Pequeño	
			21-25	3	Pequeño	
			26-30	4	Pequeño-Medio	
			31-34	5	Medio	
			35-40	6	Medio-Grande	
			41-46	7	Grande	
			47-50	8	Grande-Muy grande	
			>50	9	Muy grande	
Baya		Abscisión			Presencia/ ausencia	
		Anchura (cm)	0-8	1	Muy estrecha	

Órgano	OIV 2001	UPOV 2001	Nombre Descriptor	Rango / Referencia	Valor	Estado
				9-14	3	Estrecha
				15-20	5	Mediana
				21-26	7	Ancha
				>26	9	Muy ancha
			CIRG (color)			Promedio de 3 bayas
	225	66	Color de la epidermis (sin pruina)	Chasselas blanc	1	Verde-amarilla
				Chasselas rosé	2	Rosa
				Molineria	3	Roja
				Pinot gris	4	Roja-gris
				Cardinal	5	Roja violeta-oscura
				Pinot noir	6	Azul-negra
					99	Otro
	235		Grado de consistencia de la pulpa	Perle von Csaba	1	Muy blanda
				Afus Ali	3	Blanda
				Olivette noire	5	Media
					7	Dura
					9	Muy dura
			Defectos			Presencia/ ausencia
	223	64	Forma	Khalili	1	Oblonga
				Olivette noire	2	Elíptica estrecha
				Müller Thurgau	3	Elíptica
				Chasselas blanc	4	Redondeada
				Nobling	5	Aplastada
				Bicane	6	Ovoide
				Ahmeur bou	7	Tronco-ovoide
				Ahmeur		
				Muscat of Alexandria	8	Obovoide
				Santa Paula	9	Arqueada
	228	69	Grosor de la piel (µm)	0-63	1	Muy fina
				64-138	3	Fina
				239-213	5	Media
				214-288	7	Gruesa
				>288	9	Muy gruesa
	221		Longitud (cm)	0-10	1	Muy corta
				11-17	3	Corta
				18-24	5	Mediana
				25-31	7	Larga
				>31	9	Muy larga
			Pardeamiento			Presencia/ ausencia
			Pasificación			Presencia/ ausencia
	503		Peso de una baya (g)	0-1	1	Muy bajo
				1,1-1,7	2	Muy bajo-Bajo
				1,8-2,3	3	Bajo
				2,4-3	4	Bajo-Medio
				3,1-5	5	Medio
				5,1-7	6	Medio-Alto
				7,1-9	7	Alto
				9,1-12	8	Alto-Muy alto
				>12	9	Muy alto

Órgano	OIV 2001	UPOV 2001	Nombre Descriptor	Rango / Referencia	Valor	Estado	
	230	71*	Coloración de la pulpa	Pinot noir	1	Muy ligeramente coloreada	
				Alicante Bouschet	7	Fuertemente coloreada	
	241	77	Presencia de semillas	Corinthe noir	1	Sin semillas	
				Sultanina	2	Rudimentarias	
				Riesling	3	Bien desarrolladas	
	Puntos de color					Presencia/ ausencia	
	236	74*	Sabores particulares	Auxerrois	1	Ninguno	
				Muscat of Alexandria	2	Gusto a moscatel	
				Isabelle	3	Gusto foxé	
				Bacchus	4	Ligero moscatel	
				Riesling	5	Herbáceo	
	Nº semillas / baya					Promedio de 5 bayas	
	239	76	Separación del pedicelo	Carignan noir	1	Difícil (Con pincel)	
				Isabelle	9	Fácil (Sin pincel)	
	232	73	Suculencia de la pulpa	Isabelle	1	Poco jugosa	
Aramon				2	Jugosa		
220	62	Tamaño (longitud x anchura)	0-65	1	Muy pequeña		
			66-197	3	Pequeña		
			198-401	5	Media		
			402-677	7	Grande		
			>677	9	Muy grande		
226	67	Uniformidad del color de la epidermis	Cardinal	1	No uniforme		
			Cabernet sauvignon	2	Uniforme		
222	63	Uniformidad del tamaño de baya	Cardinal	1	No uniforme		
			Ugni blanc	3	Uniforme		
Volumen de 1 baya (ml)					Promedio de ≥100 bayas		
Textura baya	Energía de ruptura (N*mm)						
	Fuerza al 10% (N)						
	Fuerza al 20% (N)						
	Fuerza de ruptura (N)						
	Pendiente al 10% (N/mm)						
	Pendiente de ruptura (N/mm)						
	Tasa de deformación						
Mosto	506	Acidez total del mosto (ácido tartárico g/l)				Mosto de ≥100 bayas	
	505	Contenido en azúcar del mosto (°brix)				Mosto de ≥100 bayas	
	pH del mosto					Mosto de ≥100 bayas	
	233		Rendimiento en mosto (ml)	0-45	1	Muy bajo	
				46-55	3	Bajo	
56-65				5	Mediano		
66-75				7	Alto		
>75					9	Muy alto	

Descriptores fenológicos

Tanto para describir la época de brotación como la de envero, se consideraron varios estadíos antes y después del estadío exacto, para que en caso de no observarse dicho estadío, pudiera extrapolarse a partir de las anotaciones previas y posteriores. Igualmente, en el caso de la maduración, se tomaron dos medidas. La fecha exacta de madurez se estableció en el momento en el que el mosto presentaba un Índice de Madurez [IM = °brix / ácido tartárico (g/l)] de 2,5, sin embargo, resulta muy difícil detectar este índice exacto en campo, de manera que con el fin de extrapolar una fecha aproximada, se tomaron dos datos para algunas accesiones. Para detectar dicha fecha, con las diferencias entre los dos índices de madurez y las fechas a las que se obtuvieron, se obtuvo la variación de IM / día.

Una vez obtenidas las fechas (reales o aproximadas) de los tres descriptores para cada accesión, se ordenaron y se adjudicaron valores a los diferentes rangos establecidos en función de las variedades referencia.

Número de inflorescencias por pámpano

Este carácter se describió en los años 2005 y 2006 mediante la obtención del promedio del número de inflorescencias por pámpano en 10 pámpanos escogidos al azar de entre 4 ó 5 cepas para cada accesión.

Descriptores de racimo

En los años 2005, 2006 y 2007, todos los descriptores de racimo se evaluaron en 5 racimos de cada accesión siempre que fue posible, obteniéndose posteriormente el promedio de los cinco valores. En el año 2004 sólo se evaluó un racimo de cada accesión.

La longitud del pedúnculo se evaluó midiendo desde el extremo de éste hasta la primera ramificación, considerándose válidas tanto las alas como las ramificaciones, mientras lo establecido por la OIV consiste en medir desde el extremo hasta la primera ramificación sin considerar las alas.

Descriptores de baya

La uniformidad del tamaño y del color de la baya, así como el peso y el volumen de una baya y el rendimiento en mosto, se evaluaron en 100 bayas de cada accesión, para lo que se escogieron generalmente 20 bayas al azar de cada uno de los racimos descritos. Las mediciones de las dimensiones de la baya se efectuaron sobre 15 bayas escogidas al azar (excepto en 2004, que se midieron 5 bayas). Para tomar las medidas del grosor de piel se utilizó un micrómetro, midiéndose la piel de la zona central de 5 bayas. El número de semillas por baya también se obtuvo para 5 bayas. El valor finalmente determinado para cada descriptor corresponde al promedio de los valores tomados en las diferentes bayas.

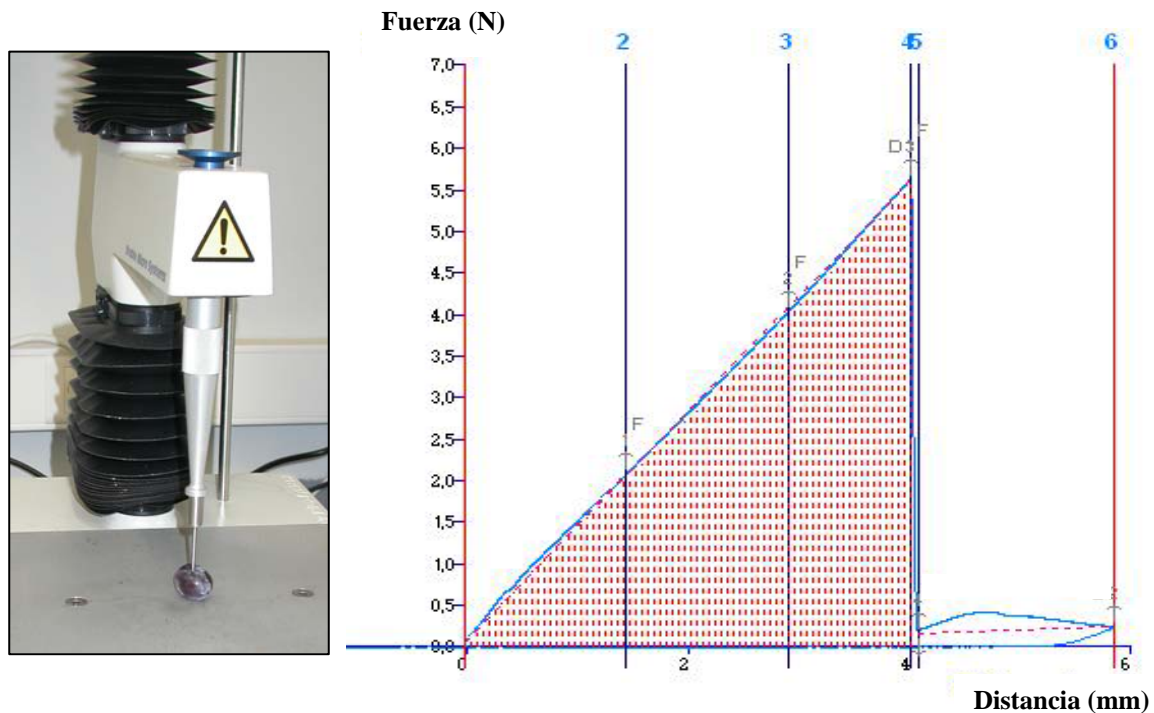
Parámetros de textura

La textura se determinó mediante un texturómetro (Figura 6), instrumento que presenta una sonda a la que se hace descender, presionando sobre la zona ecuatorial de la baya y midiendo la distancia y la fuerza. Se programó para alcanzar el 40% de deformación de su diámetro, antes del cual tiene lugar, generalmente, la ruptura de la piel y una caída brusca de la fuerza ejercida por la sonda. Con ello, se va midiendo la fuerza que opone la baya a medida que progresa la sonda, y se obtiene una curva fuerza-deformación (Figura 6). Existen sondas de diferente forma y diámetro, y mediante la utilización de unas u otras, se pueden definir diferentes parámetros sobre la curva fuerza-deformación. En 2005 se empleó un texturómetro TA-XT2 de Stable Micro Systems y una sonda de 5 cm de diámetro, y en 2006 y 2007 un TA-XTPlus de Stable Micro Systems y una sonda de 2 mm de diámetro, obteniéndose diferentes parámetros.

En 2005, sólo se determinaron dos parámetros: la fuerza al 20% y la anchura de la baya ("anchura TXT"). Este parámetro de fuerza no es equivalente al tomado en 2006 y 2007 debido a la diferencia entre las sondas empleadas. En 2006 y 2007 se determinaron los siguientes parámetros de textura (Figura 6):

- Fuerza al 10% ($_1F$) y Fuerza al 20% ($_2F$): Es la fuerza en Newtons (N) ejercida por el texturómetro al 10% y al 20% de deformación del diámetro de la baya, respectivamente.

Figura 6. Texturómetro con la sonda de 2 mm (izquierda) y representación gráfica de los parámetros de textura (derecha): $_1F$: Fuerza al 10%; $_2F$: Fuerza al 20%; $_3F$: Fuerza de ruptura; D: Distancia de ruptura.



- Fuerza de ruptura ($_3F$): Es la fuerza ejercida por el texturómetro en el momento de ruptura de la piel de la baya. Suele corresponder con el máximo de la fuerza.
- Distancia de ruptura (D): Es la distancia desde el punto de origen hasta el punto de ruptura de la piel de la baya.
- Pendiente al 10% y pendiente de ruptura: Es la pendiente de la fuerza frente a la distancia en el 10% de deformación del diámetro de la baya y en el punto de ruptura de la piel de la baya, respectivamente. La pendiente de ruptura menos la pendiente al 10% representa el grado de curvatura de la curva fuerza-deformación, que es un índice del turgor de la baya según Robin (1997) [citado por Vargas *et al.* (2000)], por lo que se ha denominado *turgor* en este trabajo.
- Energía de ruptura: Es el área comprendida bajo la curva entre el punto de origen y la distancia de ruptura.
- Tasa de deformación: Se obtiene mediante el cociente entre la distancia de ruptura y la anchura de la baya, representando la deformación provocada por el texturómetro sobre la baya en el punto de ruptura de la piel.

También se determinó la anchura de la baya (“anchura TXT”), necesaria para calcular algunos de dichos parámetros de textura.

Además de los descriptores de la OIV, se describió, para el racimo, la presencia o ausencia de pardeamiento, pasificación y millerandage, la facilidad de abscisión de la baya, de los pedicelos o de partes del raquis, y el porcentaje de racimos con alas y zarzillos. Para la baya, se describió la presencia o ausencia de puntos de color y defectos en la baya, el número de semillas en una baya, el volumen de una baya y el Colour Index for Red Grapes (CIRG). También se tomó el pH del mosto en la madurez fisiológica de la baya.

El CIRG se describió para tres bayas de cada variedad, tomándose, mediante un colorímetro, tres medidas de los parámetros L^* (que define la luminosidad), a^* (que corresponde a los colores entre el rojo y el verde) y b^* (que representa los colores entre el azul y el amarillo). A partir del promedio de las tres medidas para cada uno de esos valores, se obtuvo el CIRG de acuerdo a la expresión $(180-H)/(L^* + C)$, donde $H = b^*/a^*$ y $C = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$ (Carreño *et al.* 1995). Posteriormente, se obtuvo el promedio del CIRG de las tres bayas.

Los promedios de los datos tomados para cada uno de los descriptores en cada campaña se introdujeron en una base de datos elaborada mediante el software Microsoft Access. A partir de estos datos brutos se obtuvo un formulario de datos elaborados mediante el promedio o el consenso de 2005 y 2006, en función del tipo de descriptor (cuantitativo o cualitativo, respectivamente). En caso de duda, especialmente para los descriptores cualitativos, se atendió a los datos de 2004 y 2007.

Análisis estadísticos

Mediante el software SPSS 15, se llevó a cabo un análisis de correlación entre los datos tomados para un mismo descriptor en los diferentes años. Se empleó el coeficiente de correlación de Pearson para los caracteres cuantitativos y Tau-b de Kendall para los cualitativos ordinales. Por otro lado, se llevó a cabo un análisis de correlación entre los diferentes caracteres descritos cada año, empleándose el coeficiente de correlación de Tau-b de Kendall.

3.2.1.3. APLICACIONES DEL ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN

3.2.1.3.1. Estudio de pedigríes

Los marcadores STMS, por su carácter multialélico con herencia mendeliana codominante, permiten el análisis de cruzamientos con relativa facilidad. El estudio de pedigríes, basado en 25 microsatélites nucleares (ssrVrZAG29, ssrVrZAG62, ssrVrZAG67, ssrVrZAG83, ssrVrZAG112, VMC1B11, VMC4F3-1, VVIB01, VVIH54, VVIN16, VVIN73, VVIP31, VVIP60, VVIQ52, VVIV37, VVIV67, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32 y VVS2) (Tabla 3, pág. 71) analizados en 301 genotipos únicos, se llevó a cabo empleando el software Cruces 2.0 (Ibáñez et al., comunicación personal), el cual, mediante una búsqueda de alelos coincidentes entre las diferentes variedades, detecta los posibles tríos parental1-parental2-progenie.

Mediante este programa se obtuvieron los posibles cruces compatibles en un mínimo de 22 microsatélites. Se permitió incompatibilidad en tres loci para detectar posibles errores de genotipado y/o mutaciones.

Mediante una aplicación del software Identity 1.0 se analizó la fiabilidad de dichos cruces. Los parámetros estadísticos estudiados para ello han sido diferentes razones de verosimilitud o likelihood ratios, que son el cociente entre la probabilidad del genotipo de la progenie si esta tuviera los parentales propuestos y la probabilidad de ese genotipo si sus parentales fueran:

- a) dos variedades al azar,
- b) uno de los cultivares sugeridos y un cultivar a azar,
- c) uno de los cultivares sugeridos y otro estrechamente relacionado al segundo parental.

Adicionalmente, se analizaron 5 microsatélites cloroplásticos con el fin de obtener información acerca de la dirección de los cruzamientos.

Por otro lado, fue necesario llevar a cabo una profunda revisión bibliográfica, tanto para tener conocimiento de los pedigríes descritos como para descartar posibles confusiones derivadas de la existencia de sinonimias, homonimias o errores en la colección.

3.2.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN

Se seleccionaron los genes candidatos *VvGAI1* y *VvPe1* para llevar a cabo un estudio de asociación entre posibles SNPs detectados en sus secuencias y determinados caracteres morfológicos. Dicha selección se realizó en función de la posible implicación de los genes en ciertos caracteres de interés previamente definidos: la fertilidad, la arquitectura del racimo y la textura y las dimensiones de la baya.

Para realizar dicho estudio, fue necesario tanto seleccionar un número de accesiones suficiente para obtener unos resultados significativos, como estudiar en profundidad este conjunto de accesiones con el fin de detectar una posible estructuración genética, que podría interferir en el análisis de asociación.

3.2.2.1. Construcción de colecciones nucleares

Dado el gran tamaño de la Colección de Variedades de Uva de Mesa de El Encín, surgió la necesidad de concentrar la mayor variabilidad posible en una colección de accesiones más reducida para llevar a cabo el estudio de asociación. Para la selección del material a estudiar, se construyeron dos colecciones nucleares, una para cada gen. Dichas colecciones fueron obtenidas mediante diferentes procedimientos, lo que permitirá, en función de los resultados, comparar la eficacia de ambas metodologías.

Aunque la colección total de variedades de uva de mesa estudiadas constaba de 406 accesiones, se descartaron algunas de ellas en función de la cantidad de datos perdidos o de que hubiera dudas acerca de “su uso” como variedades de uva de mesa. Finalmente, se partió de una colección de 245 genotipos únicos para la construcción de la colección para estudiar el gen *VvGAI1* y de una colección de 322 accesiones (con genotipos redundantes) para la construcción de la colección para el estudio del gen *VvPe1*.

Para construir ambas colecciones nucleares se empleó el software MStrat 4.1 (Gouesnard *et al.* 2001), basado en la “Estrategia M” o Estrategia de Maximización (Schoen y Brown 1993). La Estrategia M selecciona las accesiones integrantes de la colección nuclear maximizando el número de clases observadas en todos los loci. Aunque inicialmente este modelo se basaba exclusivamente en marcadores moleculares, MStrat implementa una versión generalizada del mismo que permite introducir tanto variables cualitativas como cuantitativas, sin embargo, estas últimas son codificadas en clases discretas por MStrat, pudiendo el usuario designar el número de clases deseado.

Para las variables cualitativas, el número de clases es determinado por los posibles valores existentes en cada variable. Así, considerando un conjunto de variables moleculares o morfológicas, la riqueza total es la suma de los valores de riqueza de las diferentes variables.

Para decidir de cuántas accesiones debe constar una colección nuclear es esencial determinar la redundancia de la colección de partida. El punto en el que las accesiones comienzan a solapar en su contribución a dicha colección representa su tamaño óptimo. Tras conocer la redundancia, se procedió a construir las colecciones nucleares, indicando al software el número de variedades deseado y estableciendo 20 réplicas y 500 iteraciones. Ambas colecciones se construyeron en varios pasos.

Para la construcción de la colección para el estudio del gen *VvGAI1* (CNGAI), partiendo de una selección previa de 23 accesiones, que representaba el 80% de la variabilidad total, se obtuvo una colección de 58 que representaba el 100% de variabilidad, completándose posteriormente hasta un total de 127 accesiones. A pesar de que el método implementado en MStrat asegura la obtención de una colección nuclear con la variabilidad o riqueza deseada, cada réplica puede dar lugar a una colección conformada por diferentes accesiones. Para la selección de una de ellas, el programa sugiere un segundo criterio basado en el equilibrio de la distribución de clases (Índice de Shannon o Índice de Nei). De las diferentes colecciones obtenidas de 58 y 127 accesiones, se seleccionaron las que presentaban el mayor Índice de Shannon.

Sin embargo, para la construcción de la colección para el estudio de *VvPeI* (CNPeI), se siguió otro procedimiento con el fin de obtener una colección nuclear que contuviera las accesiones representadas más veces en el total de colecciones obtenidas en las diferentes repeticiones. De las 20 réplicas o colecciones nucleares sugeridas por MStrat, se seleccionaron y fijaron las que se repetían en las 20 colecciones. Una vez fijadas dichas accesiones, se repitió el proceso de construcción de la colección nuclear. De las 20 nuevas réplicas, se fijaron las accesiones que volvían a aparecer con mayor frecuencia en el total de colecciones. Se repitió este proceso hasta alcanzarse el número óptimo de accesiones integrantes de la colección nuclear.

Mediante este procedimiento se construyeron tres colecciones nucleares independientes con una alta variabilidad, con el fin de que, mediante la suma de éstas, se consiguiera el número de accesiones necesario para el estudio de asociación (en torno a 100). Para la creación de la segunda colección nuclear se eliminaron las accesiones de la primera colección de la tabla de accesiones totales, así como sus sinonimias y sports, y para la

construcción de la tercera colección, se eliminaron las de la segunda, con el fin de que no se repitieran genotipos en las tres colecciones.

Se emplearon tanto datos morfológicos como moleculares. Para la construcción de ambas colecciones se incluyeron los genotipos para 20 marcadores microsatélite, mientras que los descriptores morfológicos empleados no fueron los mismos.

Para la obtención de la CNGAI, se emplearon 13 variables cualitativas y 11 cuantitativas, codificadas estas últimas por MStrat en 10 ó 20 clases, dependiendo de su amplitud (Tabla 5). Dichas variables correspondían a 2 descriptores de inflorescencia, 7 de racimo y 15 de baya. Estos datos morfológicos constituían el promedio o consenso de los datos obtenidos en 2005 y 2006, que fueron las campañas más completas.

Tabla 5. Variables agronómicas y número de clases para cada variable empleado en MStrat para la construcción de la CNGAI.

Variable	Nº clases	Variable	Nº clases
Sexo Flor	2	Anchura Baya	10
Nº inflorescencias por pámpano	10	Uniformidad Tamaño Baya	2
Compacidad Racimo	9	Forma Baya	9
Longitud Pedúnculo	4	Color Epidermis Baya	8
Lignificación Pedúnculo	3	Uniformidad Color Baya	2
Peso Racimo	20	Sabores Particulares	7
Tamaño Racimo	20	Presencia Semillas	3
Longitud Racimo	10	Consistencia Pulpa	9
Anchura Racimo	10	Suculencia Pulpa	2
Separación Pedicelo	2	Peso 1 Baya	10
Tamaño Baya	20	Grosor Piel Baya	10
Longitud Baya	10	Rendimiento Mosto	20

Para la construcción de la CNPel, en lugar del valor promedio o consenso, se introdujeron los datos de 2005 y 2006 independientemente. Las variables cuantitativas, puesto que ya habían sido codificadas en las clases de la OIV, se introdujeron duplicadas, con valores cuantitativos y cualitativos. En total, se emplearon 20 variables morfológicas cuantitativas y 35 cualitativas, que correspondían a 3 descriptores fenológicos, 13 morfológicos de racimo, 28 de baya, 8 de textura y 3 de inflorescencia. A su vez, se asignó a cada variable cuantitativa el número de clases en las que debía codificarlas el programa, optándose por 10 clases para todas las variables, excepto para el número de inflorescencias por pámpano y la longitud del pedúnculo, a las que se asignaron 5 y 4 clases, respectivamente, debido a su menor amplitud (Tabla 6).

Tabla 6. Variables agronómicas y número de clases para cada variable empleado en MStrat para la construcción de la CNPel.

Variable	Nº clases	Variable	Nº clases
Epoca Brotación	5	Forma Baya	8
Epoca Envero	5	Color Epidermis Baya	6
Sexo Flor	2	Uniformidad Color Baya	2
Nº inflorescencias por pámpano	5	Pardeamiento Baya	2
Nº inflorescencias por pámpano OIV	3	Puntos Color Baya	2
Presencia Alas	5	Grosor Piel Baya	10
Millerandage	2	Grosor Piel Baya OIV	5
Compacidad Racimo	9	Sabores Particulares	4
Longitud Pedúnculo	4	Presencia Semillas	3
Longitud Pedúnculo OIV	5	Nº Semillas	10
Lignificación Pedúnculo	3	Consistencia Pulpa	5
Peso Racimo	10	Consistencia Pulpa OIV	5
Peso Racimo OIV	9	Suculencia Pulpa	2
Tamaño Racimo	9	Peso 1 Baya	10
Longitud Racimo	10	Peso 1 Baya OIV	7
Longitud Racimo OIV	5	Rendimiento Mosto	10
Anchura Racimo	10	Rendimiento Mosto OIV	5
Anchura Racimo OIV	4	CIRG	10
Separación Pedicelo	2	Madurez Baya	5
Abscisión Baya	2	Fuerza 10%	10
Pasificación Baya	2	Fuerza 20%	10
Defectos Baya	2	Fuerza Ruptura	10
Tamaño Baya	5	Deformación	10
Longitud Baya	10	Energía Ruptura	10
Longitud Baya OIV	5	Pendiente 10%	10
Anchura Baya	10	Pendiente Ruptura	10
Anchura Baya OIV	5	Turgor	10
Uniformidad Tamaño Baya	2		

En resumen, para la construcción de la CNGAI se emplearon 44 variables, que contenían un total de 408 clases, de las cuales, 203 correspondían a las variables morfológicas. Para la CNPel se emplearon un total de 75 variables, representando un total de 546 clases; del total de variables, las 55 morfológicas contenían 344 clases.

3.2.2.2. Análisis de estructura genética de cada colección

3.2.2.2.1. Análisis de estructura mediante un método Bayesiano

Dada la influencia de la estructura poblacional en los estudios de asociación, es importante conocerla en el conjunto de accesiones a analizar con el fin de evitar posibles falsas asociaciones positivas causadas por la existencia de una colección estructurada.

El software Structure 2.0 (Pritchard *et al.* 2000a), mediante un algoritmo Bayesiano, trata de agrupar probabilísticamente a un conjunto de individuos en distintas poblaciones. Para ello, utiliza datos genotípicos de marcadores moleculares como pueden ser SSRs, RFLPs y SNPs, asumiendo que se encuentran en equilibrio de ligamiento y de Hardy-Weinberg dentro de estas poblaciones.

De los 25 loci microsatélite que estaban genotipados para las colecciones empleadas para el estudio de los genes *VvGAI1* y *VvPel*, se excluyeron los que se encontraban a una distancia inferior a 16,8 cM de otro (Barnaud *et al.* 2006), así como los que se encontraban en el mismo cromosoma que el gen en cuestión, con el fin de evitar que estuvieran ligados. Así, para el análisis de estructura genética de la CNGAI, de 127 accesiones, se usaron 21 microsatélites, excluyéndose los loci VVIP60 y *ssrZAG29* por encontrarse en el cromosoma 1, al igual que el gen *VvGAI1*, el locus *ssrZAG83*, mapeado en el cromosoma 4 a 12,4 cM del locus VVMD32, y el locus *ssrZAG112*, por encontrarse a 15,2 cM del VVMD24 en el cromosoma 14 (Costantini *et al.* 2007). Para el análisis de la CNPel, de 96 accesiones, se emplearon 22 microsatélites, excluyéndose los loci VVMD24 y *ssrZAG112* por encontrarse en el mismo grupo de ligamiento que el gen *VvPel* y el *ssrZAG83* por el mismo motivo que en el caso anterior.

Se asumió un modelo en el cual las variedades que formaban la colección a estudiar, analizadas con esos loci microsatélite, podían estar agrupadas en un número comprendido entre 1 y 10 poblaciones. Se usó una longitud de carrera de la Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) de 1.500.000 pasos, con 500.000 pasos previos de desmemorización. Estos pasos previos se efectúan antes de empezar a comparar las probabilidades de las tablas alternativas con las de la observada, y son necesarios para que la cadena de Markov comience en una tabla aleatoria. Para cada número de poblaciones (K), se realizaron 10 iteraciones.

Se utilizó el modelo de mezcla, el cual permite la presencia, en una determinada población, de individuos con cierto grado de mezcla genética procedente de grupos

vecinos. Junto con el modelo de mezcla, se empleó el modelo de las frecuencias correlacionadas descrito por Falush *et al.* (2003), que asume que el total de poblaciones representadas en la colección de partida proceden de una hipotética población “ancestral”, a partir de la cual han derivado las demás poblaciones, de modo que las frecuencias alélicas de las diferentes poblaciones pueden presentar cierto parecido entre sí. Este modelo, cuando se emplea un número adecuado de marcadores, permite agrupar con exactitud a individuos procedentes de poblaciones estrechamente relacionadas.

El criterio empleado por Pritchard *et al.* (2000a) para detectar el verdadero número de poblaciones que hay en un conjunto de individuos, se basa en determinar el mayor valor logarítmico de la probabilidad de los datos obtenidos (LK), lo cual puede no proporcionar una estimación correcta del número de poblaciones (K): Evanno *et al.* (2005) detectaron que, una vez alcanzada la K real, el valor de LK continúa aumentando ligeramente para números mayores de poblaciones, así como también aumenta la varianza entre las diferentes repeticiones para cada K. Por ello, se empleó también la metodología descrita por Evanno *et al.* (2005) para determinar cuántas poblaciones se encontraban en la colección, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\Delta K_n = \frac{|(LK_{n+1} - LK_n) - (LK_n - LK_{n-1})|}{SD(LK_n)}$$

Una vez detectada la K más probable para cada colección, se eligió aquella simulación que presentó la distribución más probable de genotipos para esa K de entre las 10 iteraciones realizadas. La exactitud de la asignación de individuos a una determinada población depende de diferentes factores (Pritchard *et al.* 2000a), como el número de individuos que componen la población (afecta a la exactitud de las estimas de las frecuencias alélicas de las poblaciones), el número de loci empleados (afecta a la exactitud con que se estima el grado de mezcla que presenta cada individuo), la proporción de mezcla que presenta cada individuo y la diferencia existente entre las frecuencias alélicas presentes en las distintas poblaciones.

Una vez obtenido el número de poblaciones y qué variedades correspondían a cada una, con el software Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.* 2005), se llevó a cabo un Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA). El programa calcula la varianza entre poblaciones permutando

genotipos individuales entre las mismas. A partir de los componentes de la varianza obtenidos se calcula el índice de fijación (F_{ST}).

Además, se llevaron a cabo test exactos de diferenciación entre las poblaciones detectadas con el software Structure, empleando cadenas de Markov con una longitud de 1.000.000 de pasos y 100.000 pasos previos de desmemorización. Se estimó la probabilidad de encontrar resultados con menor o igual probabilidad que el observado, bajo la hipótesis de que los individuos están distribuidos al azar en el conjunto de poblaciones estudiadas.

También se estudió, mediante Arlequín 3.11, el EHW para los diferentes loci en cada colección, siguiendo el procedimiento descrito por Guo y Thompson (1992), usando cadenas de Markov con una longitud de 1.000.000 de pasos y 100.000 pasos previos de desmemorización.

3.2.2.2. Análisis de agrupamientos

Con el fin de contrastar los resultados obtenidos mediante el software Structure, se llevó a cabo un análisis de agrupamientos para ambas colecciones.

A partir de las mismas tablas de genotipos empleadas en Structure (una tabla de 127 accesiones genotipadas con 21 loci para *VvGAI1* y otra de 96 accesiones genotipadas con 22 loci para el gen *VvPeI*), se construyó una matriz de distancias para cada colección mediante el software Microsat 2 (Minch *et al.* 1997), empleando el coeficiente 1-proporción de alelos compartidos.

Con la matriz obtenida se generó un dendrograma de agrupamiento utilizando el método UPGMA (Unweighed Pair Group Method Average), que se basa en un algoritmo de asociación secuencial, en el cual las relaciones locales se establecen en orden descendente de similitud y el árbol filogenético se construye paso a paso (Sneath y Sokal 1973). Esta técnica establece agrupamientos basándose en la media aritmética de la similitud entre el individuo que podría pertenecer a un grupo y cada uno de los miembros del grupo, o entre todos los miembros de dos grupos. Para ello se usó el software Neighbor implementado en Phylip 3.67 (Felsenstein 1993).

El árbol obtenido fue visualizado mediante el software Treeview (Page 1996) y representado mediante un cladograma rectangular.

3.2.2.3. Obtención de secuencias

3.2.2.3.1. Diseño de primers

Para la amplificación de los genes candidatos se diseñaron diversos cebadores mediante el software Primer3 0.2 (Rozen y Skaletsky 2000), con el fin de secuenciar cada gen en un número variable de fragmentos solapantes, en función de su tamaño (Tabla 7). Para el diseño de los cebadores se utilizaron como referencias las secuencias AF378125.1 y AF243475.1, correspondientes a *VvGAI1* (ADN genómico) y *VvPel* (ADN complementario) respectivamente, disponibles en GenBank, NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). En el caso de *VvPel*, dicha secuencia se alineó con el genoma completo de Pinot noir, disponible en Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr>), para detectar posibles intrones. Por ello la secuencia que se usó como referencia para el diseño los primers para su amplificación fue la AM424169 (contig VV78X130502.3).

Tabla 7. Cebadores finalmente empleados para cada fragmento, su Tm, su posición en la secuencia de referencia, longitud de cada fragmento y longitud total amplificada.

Gen	Fragmentos	Cebadores (5'→ 3')	Tm (°C)	Posición en referencia	Longitud	Longitud total
<i>VvGAI1</i>	GAI-a	Fw: CCACCCTCTGCAACTCCTC Rv: TGCGAGTCAACAAGGACAAC	61 57,3	16 pb 722 pb	706 pb	1935 pb
	GAI-b	Fw: CAATTCCAGGTAAGGCTCT Rv: GCCACGAAACCTCTGTATT	54,5 54,5	549 pb 1257 pb	710 pb	
	GAI-c	Fw: ACTTCACCGCCAATCAAGC Rv: CGAATAGAGCCAGCAGCATA	56,7 57,3	1011 pb 1732 pb	721 pb	
	GAI-d	Fw: AGTGGAGCGGCACGAAAC Rv: TCACAAGGC(AT)CGGTCATACA	58,2 57,3	1633 pb 1951 pb	318 pb	
<i>VvPel</i>	Pel-a	Fw: CCCTCGTTTGCCAGTTTATG Rv: GCAGAGAATGCCCAGGTAAG	57,3 59,4	9044 pb 9761 pb	717 pb	1836 pb
	Pel-b	Fw: ACTTCCACCAATGGCATAACA Rv: GGCGGAAAGAATGGTAGAAT	55,3 55,3	9601 pb 10339 pb	738 pb	
	Pel-c	Fw: TGCGTAATGGATGGTAATG Rv: AAAATAGGCGACGGAAAAGG	55,3 55,3	10118 pb 10880 pb	762 pb	

En primer lugar, ambos genes fueron secuenciados en algunas accesiones con el fin de identificar en las secuencias posibles regiones problemáticas para su análisis, tales como

microsatélites o indels. Los fragmentos que presentaron este tipo de problemas fueron suprimidos y nuevos primers fueron diseñados para evitar estas regiones, con el fin de obtener secuencias de alta calidad aunque alguna pequeña región no pudiera ser secuenciada en algún sentido. Los cebadores para la amplificación del gen *VvPel* fueron diseñados sobre la secuencia complementaria.

3.2.2.3.2 Amplificación

El gen *VvGAI1* se amplificó mayoritariamente en 4 fragmentos independientes, empleándose cebadores a los que se añadieron colas M13 en el extremo 5' (M13-Fw: TGTAACGACGGCCAGT; M13-Rv: CAGGAAACAGCTATGACC). La utilidad de dichas colas consistiría en facilitar la reacción de secuenciación, empleando únicamente los cebadores M13 para todos los fragmentos. Aproximadamente un 30% de las secuencias se obtuvieron mediante la amplificación conjunta de un único fragmento usando los cebadores GAI-a Fw y GAI-d Rv.

Para la reacción de PCR se emplearon 1,05 U de una Taq polimerasa con actividad Hot Start (Hotmaster, Eppendorf), dNTPs 0,2 mM, tampón 1x (stock 10x: 25 mM Tris-HCl pH 8, 35 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glicerol, 0,5% Tween 20, 0,5% Igepal CA-630 y estabilizadores) con MgCl₂ 2,5 mM, cebadores 0,2 µM y aproximadamente 5 ng de ADN, en un volumen final de 21 µl.

El programa utilizado para la amplificación del gen *VvGAI1* consistió en una desnaturalización inicial de 2 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos que constaban de una desnaturalización de 1 minuto a 94°C, una hibridación de 1 minuto a 60°C y una extensión de 2 minutos a 65°C, con un ciclo final de extensión de 30 minutos a 65°C.

El gen *VvPel* se amplificó en un solo fragmento, empleando los cebadores Pel-a Fw y Pel-c Rv, sin colas M13. Para la reacción de PCR se utilizó una cantidad final de 3,5 U de la enzima Expand Long Range (Roche), que consiste en una mezcla de Taq ADN polimerasa y una ADN polimerasa termoestable con actividad exonucleasa 3'→5' correctora de pruebas, dNTPs 0,5 mM, tampón 1x (stock 5x: 20 mM Tris- HCl pH 7,5, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mM EDTA, 0,5% Nonidet P40, 0,5% Tween 20, 50% glicerol) con MgCl₂ 2,5 mM, cebadores 0,35 µM y aproximadamente 5 ng de ADN, en un volumen final de 50 µl.

El programa de PCR empleado para la amplificación del gen *VvPel* consistió en una desnaturalización inicial de 4 minutos a 92°C, 10 ciclos de 1 minuto a 92°C, 1 minuto a

50°C y 2,5 minutos a 68°C, 30 ciclos de 1 minuto a 92°C, 1 minuto a 50°C y 2,5 minutos más 20 segundos/ciclo a 68°C, y una extensión final de 30 minutos a 68°C.

Todas las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador MWG de Biotech.

La cuantificación del producto de PCR se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, con un marcador de peso molecular de 1Kb (Bioron).

3.2.2.3.3. Purificación del producto de PCR

Los fragmentos amplificados del gen *VvGA1* se trataron con la enzima ExoSAP-IT (usb), que degrada el exceso de primers y nucleótidos presente en el producto de PCR. Se añadieron 0,2 µl de enzima a 5 µl de producto de PCR, completando con agua hasta 10 µl. Esa mezcla se sometió a 37°C durante 15 minutos, temperatura a la que la enzima es activa, y, posteriormente, a 80°C durante 15 minutos, temperatura a la que la enzima es inactivada.

Las secuencias obtenidas mediante su amplificación en un solo fragmento (30%), se purificaron mediante el kit AMPure (Beckman).

Para la purificación del producto de PCR de *VvPeI* se combinaron el kit QIAquick 96 PCR Purification (Qiagen) y Mag Attract Suspensión G (Qiagen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante usando el robot BioSprint 96, empleando el protocolo BS96 PCR Cleanup.

Tanto el kit AMPure como Mag Attract Suspensión G, consisten en métodos de purificación basados en la unión diferencial del ADN a membranas de silica gel sobre la superficie de diminutas bolas magnéticas, que se separan del resto de componentes del producto de PCR para que puedan ser eliminados sin riesgo de dañar o perder el ADN.

3.2.2.3.4. Secuenciación

Los productos amplificados de ambos genes, una vez purificados o tratados con ExoSAP-IT, fueron enviados al servicio de secuenciación de la Unidad de Genómica del Parque Científico de Madrid (Universidad Autónoma de Madrid), excepto aproximadamente un 30% de secuencias del gen *VvGA1*, que se obtuvieron utilizando para la reacción de secuenciación el kit BigDye Terminator V.3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems), se purificaron con el kit CleanSEQ de Beckman, que se basa en el mismo procedimiento de los kits de purificación del producto de PCR de doble cadena, y se analizaron en un secuenciador AB3130XL.

Todos los fragmentos, excepto GAI-d Rv, fueron secuenciados en ambos sentidos con el fin de poder corregir posibles errores de la polimerasa.

3.2.2.4. Análisis de secuencias y detección de SNPs

El análisis de secuencias y la detección de polimorfismos se llevaron a cabo mediante los software SeqScape 2.5 (Applied Biosystem) y BioEdit 7.0.0 (Hall 1999).

Las secuencias obtenidas fueron alineadas y editadas en SeqScape 2.5, empleando como referencia para cada gen las secuencias de ADN genómico de las bases de datos públicas. El criterio empleado en el análisis de ambos genes para la detección de SNPs heterocigóticos consistió en considerar las posibles variantes como verdaderos SNPs solo en caso de que fueran detectados dos picos en la misma posición en cada una de las dos hebras secuenciadas (F y R), y de los cuales, el pico menor superara el 40% de la altura del otro pico. Al margen de los SNPs detectados por el programa, se llevó a cabo una revisión de modo manual para asegurarse de que no se estuviera perdiendo información en la variabilidad detectada por el software.

Por otro lado, se automatizaron ciertas funciones mediante el protocolo de análisis, como la identificación y eliminación de las colas M13 de las secuencias, la exclusión de secuencias con un determinado porcentaje de indeterminaciones, o la detección y señalización de la calidad de cada nucleótido en la secuencia.

A pesar de las ventajas de SeqScape, dicho software presenta la limitación de que, aunque puede detectar la posición de ciertos indels, dado que las dos hebras aparecen solapadas, es imposible el análisis de individuos heterocigóticos para este tipo de polimorfismos. En ambos genes se detectaron indels, por lo que hubo que eliminar de los análisis los fragmentos de secuencia que no podían leerse.

En BioEdit, se efectuaron correcciones de mayor envergadura, como el corte de los extremos de las secuencias alineadas con el fin de homogeneizar el alineamiento. Desde este programa se exportó el alineamiento a Tassel 1.9.5. (Bradbury *et al.* 2007), software empleado para la obtención del genotipo de SNPs para cada accesión.

3.2.2.5. Obtención de haplotipos

La información haplotípica es fundamental para la consecución de determinados estudios, por ejemplo, relacionados con mecanismos de evolución poblacional, como la

selección o la recombinación, o el desequilibrio de ligamiento, dado que la herencia genética ocurre a través de la transmisión de fragmentos cromosómicos. Dicha información puede ser obtenida a partir de métodos experimentales, como la clonación, que suele ser económicamente costosa y requiere bastante tiempo. En su lugar, existen diferentes métodos estadísticos para inferir las fases haplotípicas a partir de datos genotípicos, de entre los cuales destacan el de Máxima Verosimilitud, implementado a partir del algoritmo EM (“expectation-maximization”) (Excoffier y Slatkin 1995), y el algoritmo de Clark (1990), basado en parsimonia. Stephens *et al.* (2001) desarrollaron un método Bayesiano que mejora en determinados aspectos a estos dos anteriores, implementándolo en el software Phase. Sus principales ventajas frente a otros métodos son un incremento en la fiabilidad de los haplotipos, una aplicabilidad más amplia (por ejemplo, a mayores distancias en pb) y la facilidad de detectar posibles loci inciertos en una determinada fase.

El algoritmo implementado en Phase se basa en la Cadena de Markov de Monte Carlo (MCMC). La estima de las fases haplotípicas variará en función de la información previa. Existen diferentes métodos en los que puede basarse esta información previa, pero Phase se basa en la teoría coalescente, que, en resumen, asume *a priori* que los haplotipos desconocidos tienden a ser iguales o similares a haplotipos conocidos o resueltos previamente (Stephens *et al.* 2001; Stephens y Donnelly 2003)

El método básico implementado en Phase no usa información acerca de distancias entre loci (aquí, SNPs), lo que podría resultar problemático para estudios en los que los loci estuvieran muy alejados (Stephens *et al.* 2001), pero sí emplea una estrategia denominada “partition ligation” (Niu *et al.* 2002), que consiste en una división de los datos en segmentos que contengan un pequeño número de loci contiguos (en torno a 8 loci). De esta manera, en un primer paso se infieren los haplotipos en cada segmento, tras lo cual se combinan los resultados de los segmentos adyacentes mediante un determinado número de iteraciones.

En este estudio, para la obtención de los posibles haplotipos existentes para los genes estudiados, se empleó el software Phase 2.1, aplicando 1000 pasos de la cadena de Markov, con 1000 pasos previos de desmemorización. Para comprobar la consistencia de los resultados, se corrió el programa 10 veces independientemente, de acuerdo a las recomendaciones de Stephens *et al.* (2001; 2004).

3.2.2.6. Análisis de diversidad

La evaluación de la diversidad para los SNPs detectados se llevó a cabo mediante los software Identity (Wagner y Sefc 1999) y DnaSP 4 (Rozas y Rozas 1999). Con Identity 1.0 se obtuvieron las frecuencias alélicas y la heterocigosidad esperada (Nei 1973) y observada para el total de genotipos detectados en cada colección. La heterocigosidad haplotípica esperada fue calculada de acuerdo a Nei (1973), como

$$Hh_e = 1 - \sum p_i^2$$

, donde p_i es la frecuencia del haplotipo i .

Para los análisis efectuados con DNAsp, se introdujeron dos secuencias para cada accesión, correspondientes a los haplotipos inferidos mediante Phase. Mediante este software, se estimaron dos índices de diversidad nucleotídica:

- π , que es el número medio de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias (Nei 1987). Es decir, para cada par de secuencias, $\pi = K/L$, donde K es el número de diferencias por nucleótido y L es la longitud total en pb; la diversidad nucleotídica para el total de secuencias es el promedio de todas las comparaciones posibles entre dos secuencias.

- θ y su desviación estándar, que es el número de sitios que segregan (Watterson 1975), calculado como $\theta = 4N\mu$, donde N es el tamaño de la población y μ es la tasa de mutación por secuencia y por generación.

Dichas estimas se obtuvieron para la colección completa objeto de estudio y para cada población.

Mediante el algoritmo Median Joining, implementado en el software Network 4.5 (Fluxus Technology Ltd), se obtuvo un diagrama de conexiones en red (“network”) de los haplotipos obtenidos para el gen *VvGAI1* (para el gen *VvPeI* no se pudo obtener dicho diagrama debido a la posible existencia de demasiados eventos de recombinación, como se explicará en el apartado de resultados). Los haplotipos únicos (detectados una sola vez entre el total de haplotipos) fueron excluidos del análisis y el peso para transiciones:transversiones fue establecido por defecto (1:1).

Un diagrama de conexiones en red consiste en nodos conectados por líneas. Dichos nodos pueden ser secuencias de los datos introducidos o vectores denominados “median vectors” o “mv”, que son secuencias hipotéticas, generalmente ancestrales, requeridas para conectar secuencias existentes en la red mediante máxima parsimonia.

3.2.2.7. Estudio de evolución molecular

Este estudio engloba diferentes análisis mediante los cuales se pretende obtener información de interés para una correcta interpretación de los resultados de asociación, como es la ausencia o existencia de presión selectiva sobre los genes estudiados durante la evolución de *V. vinifera*, o la extensión del desequilibrio de ligamiento (DL), de la que depende la resolución en este tipo de estudios.

La Teoría Neutral de Evolución Molecular (Kimura 1983) postula que la gran mayoría de los polimorfismos que segregan son selectivamente neutrales, de manera que su tendencia evolutiva es dirigida por la deriva genética, asumiendo que existe panmixia y un tamaño de población constante a lo largo de las generaciones.

Con el fin de testar esta teoría, mediante el software DnaSP 4, se obtuvo el estadístico D de Tajima (1989), que se basa en el hecho de que, bajo un modelo neutral, existe correlación entre las estimas del número medio de sitios que segregan y el número medio de diferencias nucleotídicas y D debe ser 0. No obstante, este test es muy sensible a otras causas de evolución poblacional diferentes a la selección, por lo que se recurrió a otro test, el test D* de Fu y Li (1993), también implementado en DnaSP. Dicho test considera la distribución de las mutaciones en la genealogía de una población, de manera que las mutaciones antiguas tenderán a encontrarse en las ramas internas y las nuevas en las ramas externas de la genealogía. En presencia de selección positiva, habrá exceso de mutaciones en las ramas externas, mientras que en presencia de selección equilibrada algunos alelos podrían ser antiguos, por lo que habrá más mutaciones en las ramas internas. En ausencia de selección, D* debe ser 0. Los valores aportados por los dos tests en trabajos previos en plantas suelen encontrarse entre -3 y +3, como se discutirá más adelante, indicando los valores negativos una posible existencia de selección positiva y los valores positivos, de selección balanceada.

Ambos tests fueron aplicados tanto a las colecciones completas como a cada una de las poblaciones detectadas en éstas. Igualmente, se aplicaron sobre la secuencia completa, así como sobre ventanas de 100 pb solapadas en 25 pb.

Otro método que es comúnmente empleado para detectar presión selectiva es el ratio del número de polimorfismos que provocan un reemplazamiento de un aminoácido frente al número de polimorfismos sinónimos en una proteína, ya que una selección positiva

podría contribuir al proceso de sustitución. Así, si polimorfismos no sinónimos/sinónimos > 1 , existiría selección (Kimura 1983).

Mediante los software DnaSP 4 y Tassel 1.9.5, se estudió el DL en cada gen, que representa el grado de asociación entre polimorfismos de diferentes loci, mediante los estadísticos D' y r^2 (Lewontin 1964). Ambos parámetros se basan en la diferencia entre las frecuencias haplotípicas observadas y esperadas y varían entre 0 y 1, representando el valor 0 la ausencia absoluta de DL y el valor 1 la existencia de DL total:

$D_{ab} = \pi_{AB} - \pi_A \pi_B$, donde A y a representan el locus 1, y B y b el locus 2, con frecuencias alélicas π_A , π_a , π_B y π_b .

De acuerdo a esto, r^2 se calcula como

$$r^2 = \frac{(D_{ab})^2}{\pi_A \pi_a \pi_B \pi_b},$$

y D' se calcula como

$$|D'| = \frac{(D_{ab})}{\min(\pi_A \pi_b, \pi_a \pi_B)}, \text{ para } D_{ab} < 0;$$

$$|D'| = \frac{(D_{ab})}{\min(\pi_A \pi_B, \pi_a \pi_b)}, \text{ para } D_{ab} > 0.$$

La diferencia entre ambos índices radica en que D' es afectado exclusivamente por la recombinación, mientras que r^2 también se ve afectado por diferencias en las frecuencias alélicas entre los dos loci comparados. La asociación entre polimorfismos fue testada mediante el Test de Fisher, usando además la corrección de Bonferroni con DnaSP. Con el software DnaSP se emplearon datos haplotípicos, mientras que con Tassel se usaron datos genotípicos.

Con DnaSP se computó el parámetro de recombinación R mediante la fórmula $R = 4Nr$, donde N es el tamaño de la población y r es la tasa de recombinación por secuencia (Hudson 1987). Mediante el algoritmo descrito por Hudson y Kaplan (1985) se estimó el número mínimo de eventos de recombinación en la historia de cada colección analizada y sus supuestas poblaciones.

3.2.2.8. Análisis de asociación

Los análisis de asociación entre polimorfismos en los genes *VvGAI1* y *VvPe1* y determinados rasgos fenotípicos, se llevaron a cabo mediante el software TASSEL 1.9.5 (Bradbury *et al.* 2007).

El Modelo General Lineal (GLM), implementado en el software TASSEL, permite testar la asociación entre polimorfismos y fenotipos, incluyendo el efecto de la estructura poblacional. Dicho modelo realiza un análisis de asociación aplicando una solución de mínimos cuadrados (Searle 1987) a los efectos fijados en un modelo lineal construido por el usuario. Dichos efectos consistieron en el marcador y la probabilidad de pertenencia de cada individuo a cada población (Q), de acuerdo a la ecuación $T = C + Q + \varepsilon$, donde T es el carácter, C el genotipo, Q la estructura y ε el error.

Este modelo también permite llevar a cabo un test de permutaciones (Churchill y Doerge 1994) que aporta un test de significación correspondiente al error del experimento para corregir el hecho de que se están realizando comparaciones múltiples. Dicho test de permutaciones es menos conservador que la corrección de Bonferroni. Cuando se aplican permutaciones, los datos van siendo asignados a cada individuo al azar y después de cada permutación, el valor de p es recalculado para cada locus y comparado con el valor de p obtenido sin permutaciones. El valor de p proporcionado por el programa representa el porcentaje de permutaciones en las que el valor de p obtenido fue menor que el valor de p original (sin permutar). Siguiendo las recomendaciones de Churchill y Doerge (1994), se han aplicado 1000 permutaciones para un nivel de significación de 0,05.

Se emplearon todos los descriptores agronómicos cuantitativos y algunos cualitativos ordinales (fenológicos, compacidad del racimo y consistencia de la baya). Se sometieron a análisis los datos de dos años independientemente (2005 y 2006 para todos los caracteres excepto para los parámetros de textura, que eran diferentes en 2005 y 2006). En el caso de *VvPe1*, se sometieron a análisis, además, los datos de 2004 y 2007 para todos los caracteres descritos en dichos años, aunque no pudieron emplearse para el análisis de *VvGAI1* dada la gran cantidad de datos perdidos en la colección empleada para su estudio. Los parámetros de textura de 2007 no fueron considerados debido a las malas condiciones del año, en el que la mayoría de las variedades presentaron oidio y una maduración anormalmente lenta.

3.2.2.9. Análisis de la estructura proteica

Las proteínas de ambos genes, obtenidas de GenBank (AAM19210 para *VvGAI1* y AAF63756 para *VvPeI*), fueron alineadas con diferentes genes ortólogos de otras especies con el fin de identificar los dominios funcionales y otras posibles regiones conservadas. Dichos alineamientos se llevaron a cabo mediante el software ClustalW (Thompson *et al.* 1994), implementado en BioEdit 7.0.0.

Mediante la web www.bioinfo.hku.hk, se obtuvo la secuencia de aminoácidos para cada haplotipo. A partir de estas secuencias, se obtuvo una predicción de la estructura secundaria y terciaria de la proteína mediante los software SSPfinder y CYS_REC, respectivamente, implementados en la web www.softberry.com. El software SSPfinder, mediante el uso de cadenas de Markov, permite predecir qué fragmentos de la secuencia de aminoácidos conformarían una estructura en hélice α o en lámina β .

El software CYS_REC analiza la secuencia en diferentes pasos: en primer lugar predice la estructura secundaria, de manera que se comparan, tanto fragmentos de aminoácidos, como fragmentos correspondientes a la estructura secundaria, existentes en el intervalo de ± 10 posiciones en torno a cada cisteína, con fragmentos predeterminados (de “training sets”) usando matrices de probabilidad (LOD) ya preparadas, y la puntuación máxima es definida para cada set. En segundo lugar se comparan los resultados obtenidos para cada fragmento con matrices “ejemplo” construídas a partir de datos con cisteínas unidas y no unidas entre sí, y, en función de esta comparación, se calcula una nueva puntuación para cada fragmento. La puntuación final resultante para la posibilidad de que una cisteína forme un enlace con otra es la combinación de las diferentes puntuaciones, con la cual se construye una “matriz de puntuaciones de pares” para cada posible par de cisteínas unidas. A partir de las mayores puntuaciones en esta matriz, se deduce el patrón de posibles pares de cisteínas unidas mediante puentes disulfuro.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN

4.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

4.1.1.1. Obtención de datos STMS

Desarrollo y optimización de un sistema de análisis con PCR múltiple

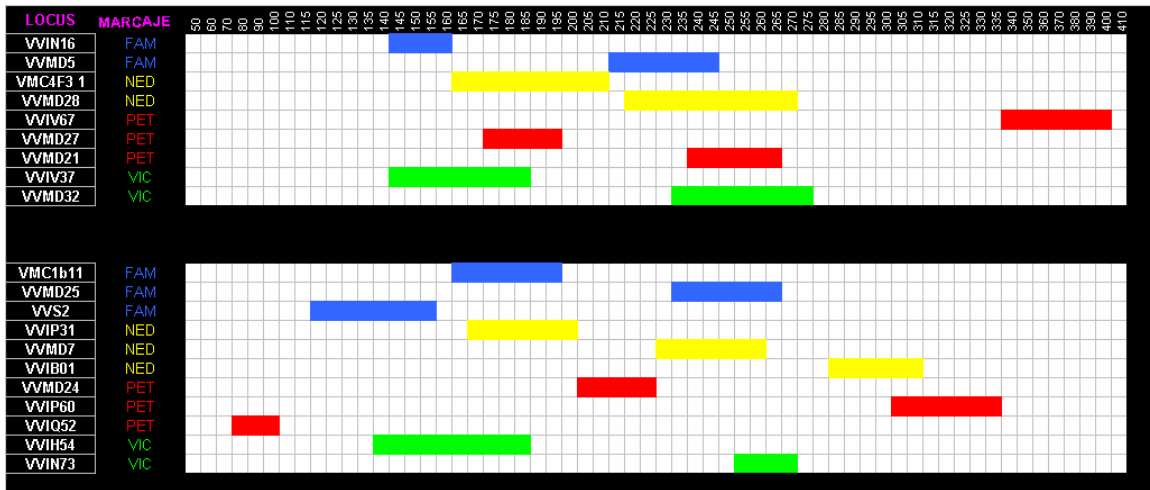
A pesar de la dificultad que entraña la puesta a punto de una PCR múltiple, debido principalmente a la competencia existente entre los diferentes loci, finalmente, se consiguió optimizar dos reacciones múltiples de PCR para la amplificación de los 20 loci microsatélite. El marcaje y distribución de estos loci microsatélite entre dos PCRs múltiples vino condicionado en gran medida por el método de análisis. Para un adecuado resultado en el secuenciador automático, es necesario que no solapen productos de amplificación que se encuentren marcados con el mismo fluorocromo.

Para este fin, existen únicamente 5 fluorocromos disponibles en el mercado, de los cuales, uno queda reservado para el marcador interno de peso molecular. Además, los productos de amplificación se situaban todos dentro de unos márgenes estrechos de tamaño en pares de bases, cuyos rangos no se conocían con exactitud. En base a estos criterios, los 20 microsatélites fueron divididos en dos grupos que fueron a su vez subdivididos cada uno en cuatro, correspondiéndose con los marcajes de fluorocromo diferentes. Este reparto de fluorocromos se llevó a cabo en función de unos rangos de amplificación preliminares a partir de datos existentes (R. Arroyo-García, comunicación personal). En la Figura 7 se muestran los microsatélites para ambas PCRs múltiples con los marcajes adjudicados y los rangos aproximados obtenidos finalmente en la colección de variedades de mesa analizada.

Para la puesta a punto de la reacción de PCR múltiple, se procedió a amplificar cada región microsatélite de forma individual y en iguales condiciones de reacción, con el fin de averiguar el rendimiento de amplificación de cada locus. El rendimiento fue evaluado en forma de intensidad relativa de cada producto de amplificación en gel de agarosa. A continuación, se diseñó una primera mezcla de reacción múltiple en la que la concentración de cada pareja de cebadores dependía de la intensidad con la que habían amplificado individualmente. Seguidamente, esta reacción se amplificó con distintos programas en un termociclador en los que se utilizaron rangos de temperaturas de hibridación de 52,5 a 60°C. Se detectaron diferentes temperaturas óptimas para la

amplificación de los diferentes loci incluidos en cada PCR múltiple. Por ello, se empleó finalmente la modalidad de PCR Touch-Down, que consiste en una escalera de temperaturas de hibridación descendente con los ciclos.

Figura 7. Rangos de amplificación aproximados, marcajes y distribución de los marcadores microsatélite en ambas PCRs múltiples.



Una vez optimizadas las temperaturas de hibridación, se comenzaron a realizar sucesivas pruebas variando otros factores que condicionan la amplificación por PCR como son las concentraciones de los cebadores, la concentración de MgCl₂, y diferentes marcas comerciales de *Taq* polimerasa, hasta obtener la mejor amplificación de ambas mezclas.

De este modo se pusieron a punto dos PCRs múltiples: una con 11 microsatélites, a la que se llamó mix A (VMC1B11, VVIB01, VVIH54, VVIN73, VVIP31, VVIP60, VVIQ52, VVMD7, VVMD24, VVMD25 y VVS2); y otra con 9 microsatélites, mix B (VMC4F3-1, VVIN16, VVIV37, VVIV67, VVMD5, VVMD21, VVMD27, VVMD28 y VVMD32).

En las Tablas 8 y 9 se muestran las mezclas de reacción y los programas de PCR finalmente optimizados para la amplificación de cada PCR. En la Figura 8 se muestra una foto de la electroforesis en gel de agarosa de ambas múltiples y, en las Figuras 9 y 10, un ejemplo de los electroforetogramas correspondientes. Según se muestra en ambas imágenes, las reacciones obtenidas resultaron ser satisfactorias. Sin embargo, en algunas muestras no fue posible la amplificación conjunta de todos los microsatélites. Para la amplificación de determinados loci en muestras puntuales se utilizaron pequeñas PCRs múltiples de dos a cinco microsatélites que incluían algunos loci ya estudiados, como medida de control.

Tabla 8. Condiciones de reacción de las PCRs múltiples.

MIX A		MIX B	
Reactivo	Concentración final	Reactivo	Concentración final
Tampón 10X	1 X	Tampón 10X	1 X
dNTPs	0,2 mM	dNTPs	0,2 mM
VVIP31	0,15 μ M	VVMD5	0,35 μ M
VVIN73	0,10 μ M	VVIN16	0,10 μ M
VVIH54	0,10 μ M	VMC4F3-1	0,10 μ M
VMC1b11	0,15 μ M	VVMD28	0,20 μ M
VVMD25	0,10 μ M	VVMD21	0,10 μ M
VVIB01	0,10 μ M	VVMD27	0,10 μ M
VVIP60	0,17 μ M	VVIV67	0,30 μ M
VVMD24	0,10 μ M	VVMD32	0,08 μ M
VVMD7	0,10 μ M	VVIV37	0,10 μ M
VVIQ52	0,05 μ M	Taq Polimerasa	0,050 U/ μ L
VVS2	0,13 μ M	ADN	0,24 ng/ μ L
Taq Polimerasa	0,050 U/ μ L		
ADN	0,24 ng/ μ L		

Tabla 9. Programa del termociclador.

Mix A			Mix B		
	94°C	2 min.		94°C	2 min.
	94°C	1 min.		94°C	1 min.
8 X	60°C	1 min.	3 X	60°C	1 min.
	65°C	2 min.		65°C	2 min.
	94°C	1 min.		94°C	1 min.
10 X	60 - 0,3°C/ciclo	1 min.	10 X	60 - 0,3°C/ciclo	1 min.
	65°C	2 min.		65°C	2 min.
	94°C	1 min.		94°C	1 min.
20 X	57- 0,2°C/ ciclo	1 min.	20 X	57- 0,3°C/ ciclo	1 min.
	65°C	2 min.		65°C	2 min.
	65°C	90 min.		94°C	1 min.
			10 X	50°C	1 min.
				65°C	2 min.
				65°C	90 min.

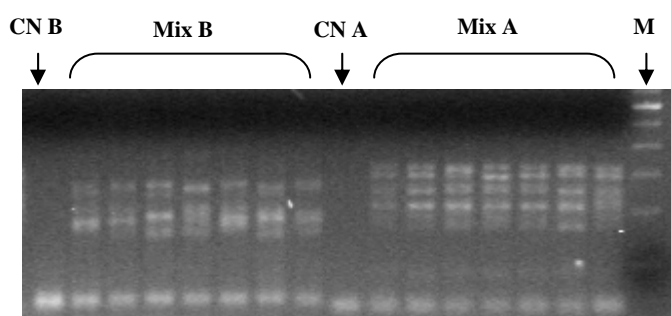
Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa al 2%. CN: Control negativo; M: Marcador de peso molecular.

Figura 9. Ejemplo de un electroforetograma correspondiente a la mix A. En la parte superior se muestra el resultado global obtenido para la variedad Madeleine Royale de los 11 loci con 4 fluorocromos y en la parte inferior es el mismo resultado pero clasificado por fluorocromos (los colores representan los resultados obtenidos con 6-FAM en azul, VIC en verde, NED en negro y PET en rojo). La longitud del cuadro gris en el que se puede observar el nombre de cada marcador representa su rango alélico y cada banda gris vertical representa un alelo de los detectados en este trabajo.

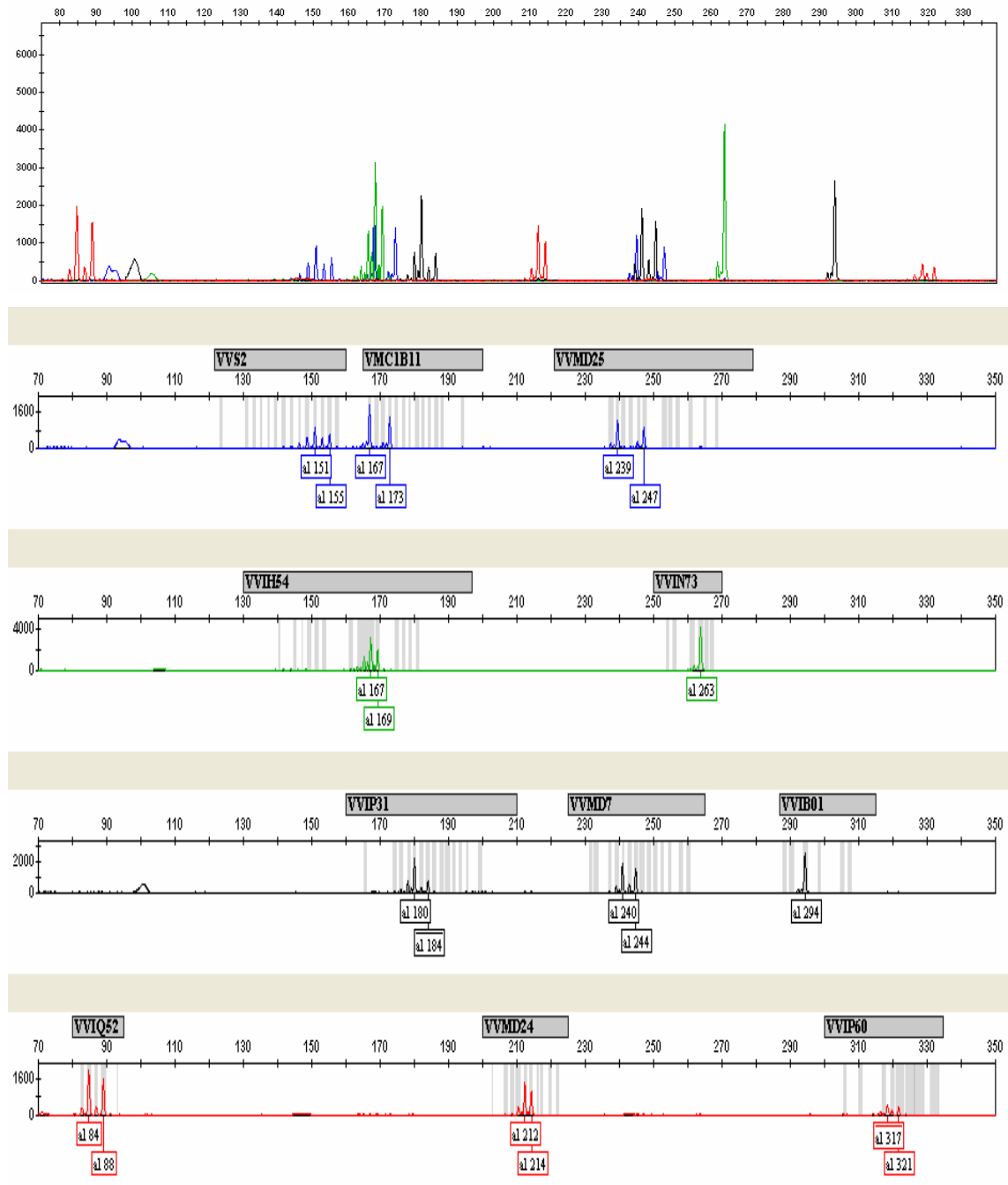
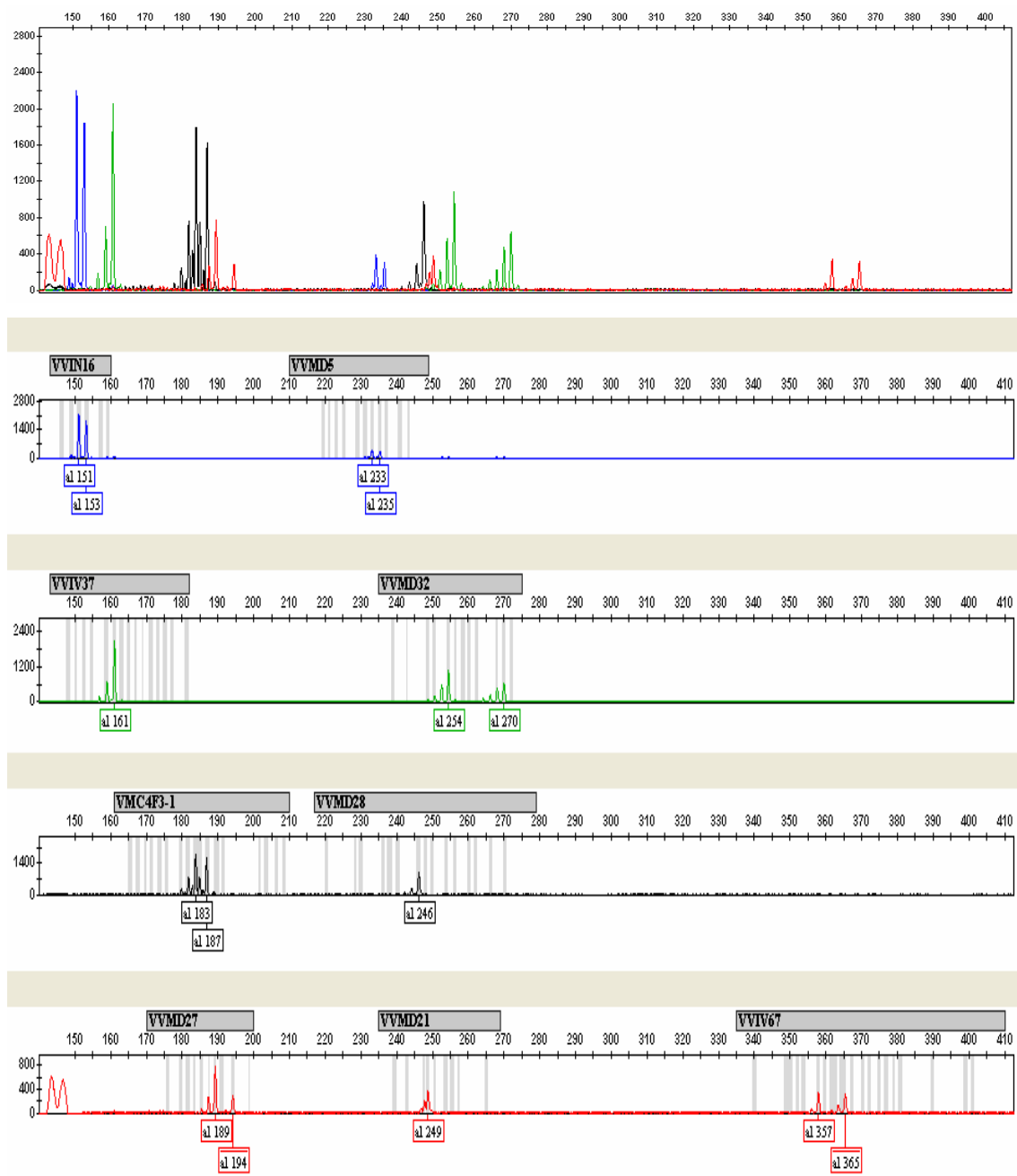


Figura 10. Ejemplo de un electroforetograma correspondiente a la mix B. En la parte superior se muestra el resultado global obtenido para la variedad Olivette Barthelet de los 9 loci con 4 fluorocromos y en la parte inferior es el mismo resultado pero clasificado por fluorocromos (los colores representan los resultados obtenidos con 6-FAM en azul, VIC en verde, NED en negro y PET en rojo). La longitud del cuadro gris en el que se puede observar el nombre de cada marcador representa su rango alélico y cada banda gris vertical representa un alelo de los detectados en este trabajo.



La especificidad y el rendimiento de la amplificación de las diferentes regiones microsatélite fueron los adecuados en la mayoría de los casos. Sólo se detectaron problemas en dos loci: el VVIV67, que amplificaba menos eficientemente que otros microsatélites probablemente debido a su gran tamaño (340-401 pb); y el VMC4F3-1, que presentaba un artefacto de forma intermitente que podría confundirse con otro alelo, aunque gracias a que tiene un perfil bastante característico fue posible identificarlo en todos los casos.

Una dificultad diferente fue detectada a la hora de interpretar los resultados del locus VVIP60, donde para ciertos alelos se encontró que el rango de tamaño de los fragmentos pertenecientes a un mismo alelo, era muy amplio (más de 1,5 pb). Este hecho podría deberse a una amplificación desigual de fragmentos con "+A" y sin "+A" consecuencia del efecto terminal transferasa o "+A". Este efecto es característico de la mayoría de las *Taq* ADN polimerasas comerciales, que mediante su actividad nucleotidil transferasa terminal, añaden una adenina al final del fragmento amplificado. Para solucionar este problema se realizaron pruebas con diferentes enzimas: "Biotools Pfu DNA polimerasa" y "Pyrobest DNA polimerasa" (Takara). Estas polimerasas poseen actividad correctora de pruebas (actividad exonucleasa 3'-5'), de manera que no presentan la actividad nucleotidil transferasa terminal y, por tanto, no añaden "+A". Estas pruebas no aportaron una solución satisfactoria y finalmente el "binning" del locus VVIP60 tuvo que ser corregido empleando información obtenida a partir del estudio de pedigríes y la comparación entre las sinonimias detectadas detallada más adelante. Es importante indicar que el locus VVIP60 es un microsatélite imperfecto con cuatro motivos diferentes de repetición, que podría también ser la causa de la dificultad de ajustar el resultado a un "bin" determinado.

Detección de tres alelos en determinados loci

En el análisis de 352 accesiones con 20 loci microsatélite se han obtenido 15 genotipos que presentan tres alelos en alguno de los loci (Tabla 10 y Figuras 11, 12 y 13). Estas mutaciones aparecen en las dos cepas analizadas de cada una de estas accesiones excepto en Quiebratinaja blanco y Chasselas blanca, de las que sólo se ha estudiado una cepa. En todos los casos el genotipo obtenido fue confirmado mediante la repetición individual de la amplificación del microsatélite implicado.

Tabla 10. Accesiones con tres alelos en determinados loci. Los alelos que no segregan a la descendencia, en caso de conocerse, están marcados en negrita.

Cód. parcela	Nombre variedad	Locus	Genotipo
BGVCAM1719	A-406-49-SRLH	VMC4F3-1 VVIV37 VVMD21 VVMD32	173:181:206 163:171:175 249:255:265 250:262:270
BGVCAM1375	Ahmeur bou Ahmeur	VVS2	133: 135 :146
BGVCAM1217	Apesorgia nera	VVIP31	180:190:192
BGVCAM1820	Apirena di Velletri	VVIV67	375:377:399
BGVCAM1477	Black Alicante	VVMD7	232:244:246
BGVCAM1447	Chasselas apyrene	VMC4F3-1	173: 175 :179
BGVCAM1994	Chasselas blanc	VMC4F3-1	173: 175 :179
BGVCAM0955	Chasselas musqué	VMC4F3-1	173: 175 :179
BGVCAM1381	Chasselas rouge	VMC4F3-1 VVIP31	173: 175 :179 166 :182:194
BGVCAM0960	Corneille	VMC4F3-1 VVIP31	173: 175 :179 166 :182:194
BGVCAM1493	Duc de Magenta	VVMD32	239:270: 272
BGVCAM1271	Gros Maroc	VVIV67	359:361: 375
BGVCAM1821	Nymrang	VVMD32	248:256:270
BGVCAM0860	Quiebratinaja blanco	VVMD25	247:253: 257
BGVCAM1300	Roditis	VMC4F3-1	173:189:191

Figura 11. Tres alelos en el locus VMC4F3-1. Representada por cuatro sports. El primer electroforetograma, usado como ejemplo de variedad bialélica, corresponde a Chasselas de Montauban, el segundo a Corneille y el tercero a Chasselas apyrene.

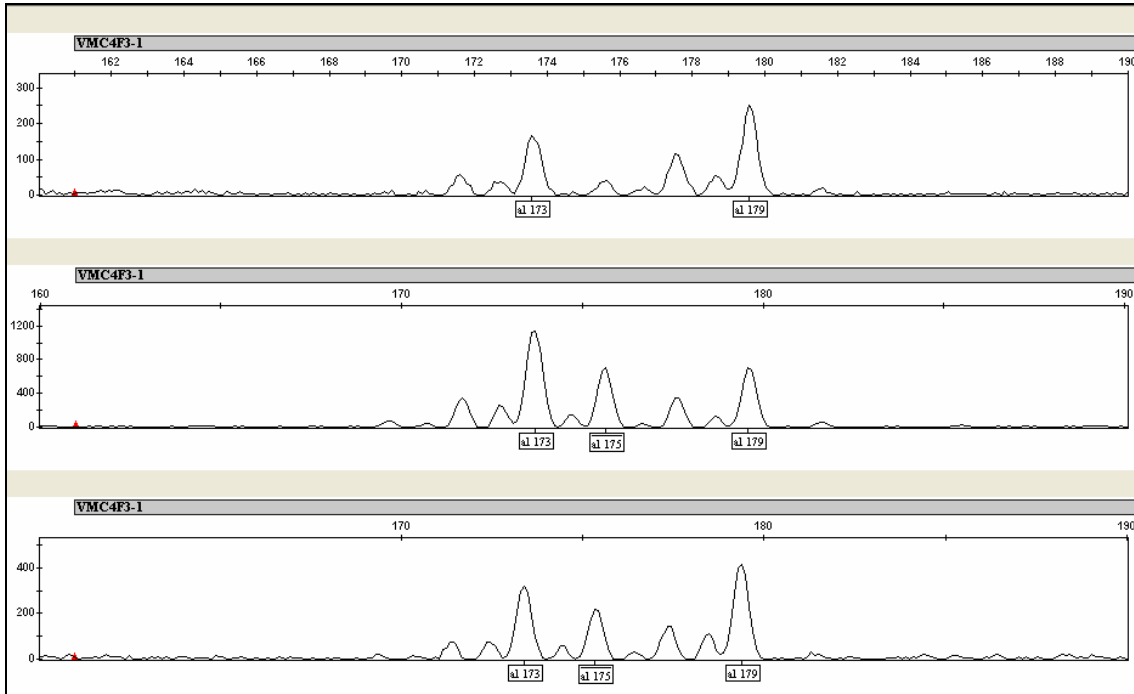


Figura 12. Tres alelos en VVIP31. Representada por tres sports, la primera, ejemplo de variedad bialélica, es Chasselas blanc, la segunda es Corneille y la tercera Chasselas rouge.

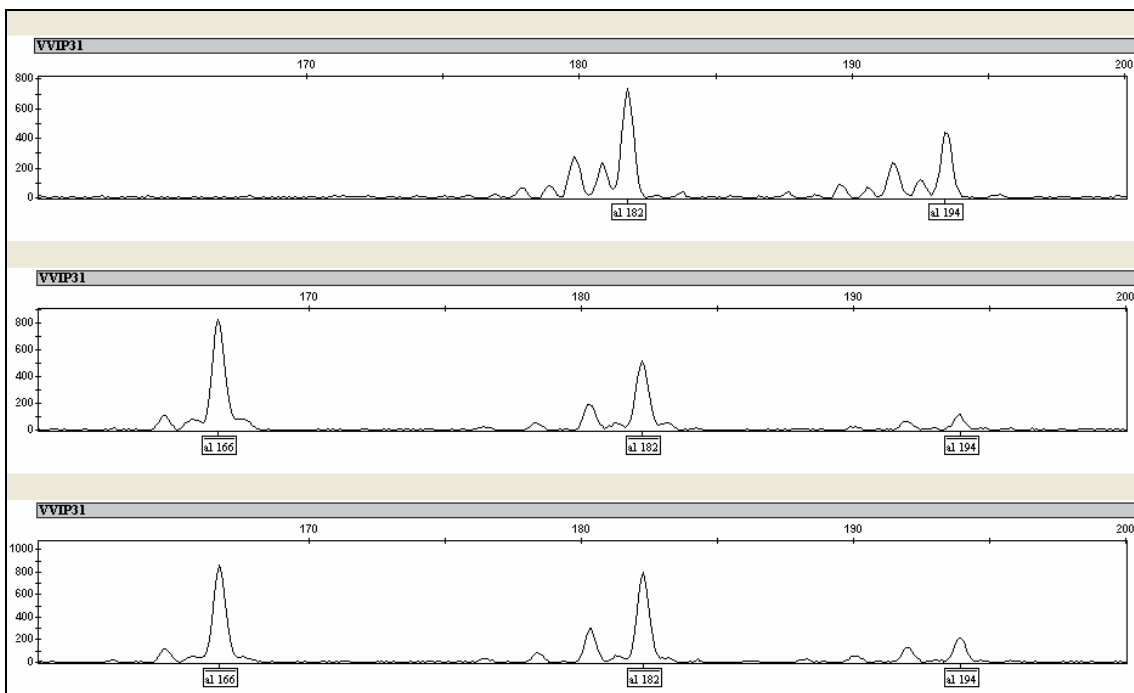
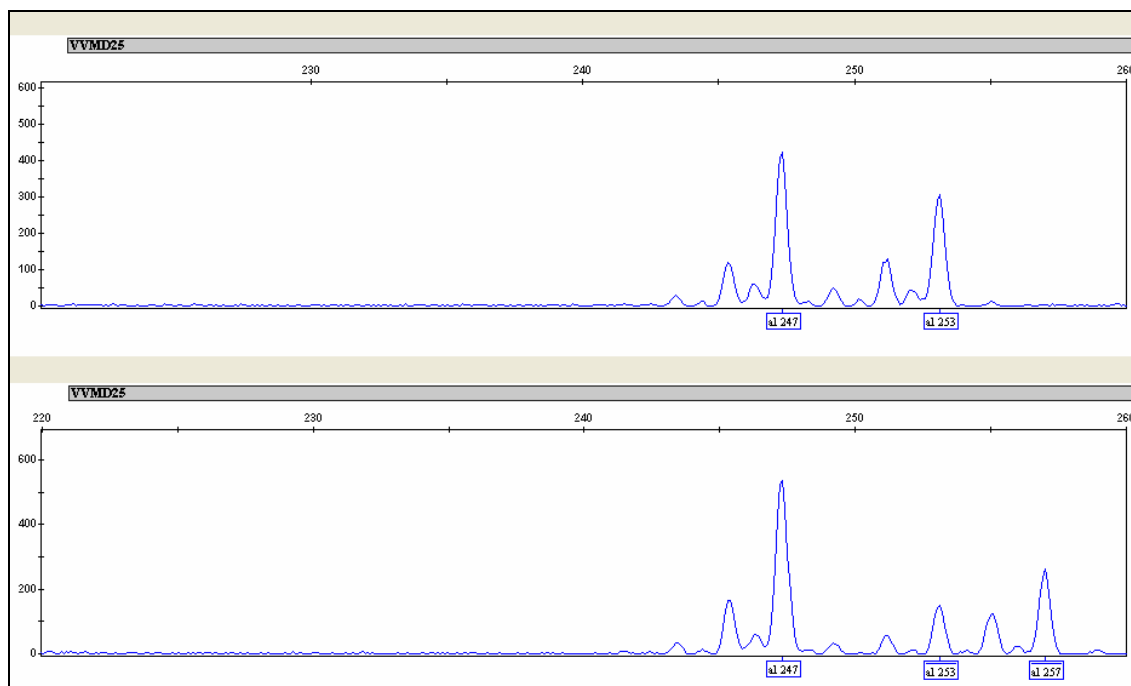


Figura 13. Tres alelos en VVMD25. El primer electroforetograma, ejemplo de variedad bialélica, pertenece a Quiebratinajas tinto y el segundo a Quiebratinaja blanco, la cual es un posible sport de color de la primera.



4.1.1.2. Análisis de diversidad

Análisis de diversidad genotípica

Del análisis de 20 loci microsatélite en un total de 352 accesiones de la colección de uva de mesa de El Encín, resultaron 89 genotipos redundantes. Con el resto, se construyó una tabla de genotipos únicos en la que figuraban 263 variedades, a partir de la cual se llevaron a cabo los análisis de diversidad.

La probabilidad total de identidad o P.I. (Paetkau *et al.* 1995) obtenida para el conjunto de estos loci es de $5,8 \times 10^{-12}$ (Tabla 11). Las variedades más próximas en la colección (sin considerar los sports), Cardinal y Bruni 707, difirieron en 4 alelos correspondientes a 4 loci microsatélite. Basándose en el polimorfismo de los diferentes microsatélites, se ha calculado el mínimo número de loci necesario para discriminar entre los genotipos detectados y sólo 4 microsatélites de los 20 analizados son necesarios para ello: VVIP31, VMC4F3-1, VVMD28 y VVIV37.

Para llevar a cabo estos análisis de diversidad no se tuvieron en cuenta los terceros alelos detectados en determinados loci de algunas muestras, manteniéndose en la tabla de genotipos únicos los dos alelos coincidentes con sus sinonimias o sports analizados o los que segregan a la descendencia, lo cual pudo determinarse en algunos casos mediante la comparación con genotipos de variedades implicadas en algún pedigrí en el que participara la accesión en cuestión. En caso de no existir sinonimias o sports, o de no conocerse el alelo que no segregaba, se excluyó el alelo reflejado en el electroforetograma con menor intensidad.

Análisis de diversidad alélica

Los rangos alélicos de todo el conjunto de loci analizados se encuentran entre los 82 y 401 pb, con una diferencia de 10 a 50 pb entre los alelos de menor y de mayor tamaño dentro de cada locus (Tabla 11). El número total de alelos detectados es 210 y la heterocigosidad media observada para estos 20 loci es 0,75. El número medio de alelos por locus es de 10,5 (de 5 a 17 por locus), y el número efectivo de alelos (NEA) medio es 4,9 (de 1,4 a 9 por locus). La diferencia entre estas dos estimas se debe a que las frecuencias alélicas en algunos de los loci empleados son bastante dispares. Por ejemplo, el locus VVIB01 presenta sólo cinco alelos y la suma de las frecuencias alélicas de dos de ellos (290 pb y 294 pb) es de 0,87. Dentro del locus VVIP60, dos de los nueve alelos detectados (317 pb y 321 pb) representan el 77% del total de alelos. Finalmente, en el locus VVIN73, sólo se han detectado cinco variantes alélicas y, entre ellas, una (263 pb) muestra una frecuencia de 0,85. Existen otros loci muy poco polimórficos, con cinco alelos, (VVIQ52 y VVIN16); sin embargo su heterocigosidad y frecuencias observadas hacen de ellos marcadores más informativos. Respecto a la relación de genotipos heterocigóticos y homocigóticos para cada locus, cabe destacar que el locus VVIN73 es el único para el que se ha obtenido una mayor proporción de genotipos homocigóticos que heterocigóticos.

Los loci más polimórficos son VMC4F3-1 (17 alelos, NEA = 7,9) y VVIV67 (16 alelos, NEA = 6,7). Teniendo en cuenta además su elevada heterocigosidad observada (0,84 y 0,85 respectivamente), representan dos de los marcadores más informativos. El locus VVIP31, a pesar de presentar 12 alelos, muestra un NEA de 9, una heterocigosidad observada de 0,92 y una proporción de heterocigotos/homocigotos de 11,52, lo que hace de éste otro de los loci más informativos.

Otro dato de interés a la hora de valorar la eficacia del análisis con microsatélites es la frecuencia de alelos nulos. Los alelos nulos aparecen al producirse modificaciones en la secuencia diana de los cebadores que impiden la hibridación. Por lo tanto, no pueden ser amplificados, con lo que no pueden ser observados en la electroforesis. Cuando esto ocurre, no es posible distinguir entre individuos heterocigóticos con un alelo nulo y homocigotos, y además, diferentes alelos nulos dan lugar al mismo fenotipo (ausencia de fragmento amplificado). El mayor valor de frecuencia estimada de alelos nulos obtenido para estos 20 microsatélites es el de VVIP60 (0,04), que no representa una frecuencia de alelos nulos elevada. No obstante, hay que tener en cuenta que el estimador utilizado está diseñado para análisis poblacionales en equilibrio de Hardy-Weinberg, y la colección analizada no forma una población natural, ya que se trata de un cultivo, manipulado por el hombre. Por ello, estos datos deben tomarse únicamente de modo orientativo. El estudio de pedigrís ha permitido deducir la posible existencia de alelos nulos en los loci VVIP60, VVIN16 y VVIV37, aunque estos dos últimos presentan una frecuencia estimada de alelos nulos relativamente baja (0,01).

Tabla 11. Índices de diversidad para cada locus entre los que se incluye: Número de alelos, rango, frecuencia alélica mínima y máxima, número efectivo de alelos (NEA), heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), frecuencia de alelos nulos (r), Probabilidad de Identidad (PI), Probabilidad de Exclusión de paternidad (PE) y relación de genotipos heterocigóticos y homocigóticos para cada locus (genotipos HT/HM).

LOCUS	Nº ALELOS	RANGO	FREC. ALÉLICA MÍN.	FREC. ALÉLICA MÁX.	NEA	H_e	H_o	r	PI	PE	GENOTIPOS HT/HM
VMC1B11	12	167-194	0,0019	0,3517	4,89	0,790	0,820	-0,0144	0,12	0,61	4,6
VMC4F3-1	17	165-208	0,0019	0,2491	7,86	0,870	0,840	0,0173	0,05	0,75	5,26
VVIB01	5	288-307	0,0323	0,4867	2,56	0,610	0,635	-0,0156	0,38	0,34	1,74
VVIH54	11	140-181	0,0038	0,5608	2,69	0,628	0,620	0,0050	0,25	0,41	1,63
VVIN16	5	149-159	0,0780	0,4335	3,54	0,717	0,692	0,0147	0,20	0,49	2,33
VVIN73	5	256-267	0,0057	0,8536	1,36	0,262	0,232	0,0239	0,59	0,14	0,26
VVIP31	12	174-196	0,0057	0,1844	9,01	0,889	0,920	-0,0165	0,04	0,78	11,52
VVIP60	9	306-331	0,0057	0,4373	3,16	0,684	0,608	0,0446	0,25	0,44	1,57
VVIQ52	5	82-93	0,0057	0,4278	3,19	0,686	0,753	-0,0395	0,27	0,42	3,05
VVIV37	15	148-181	0,0019	0,2567	7,00	0,857	0,833	0,0131	0,06	0,72	4,98
VVIV67	16	348-401	0,0019	0,2357	6,62	0,849	0,848	0,0005	0,08	0,70	5,58
VVMD21	8	243-265	0,0019	0,4278	3,33	0,699	0,741	-0,0247	0,24	0,46	2,87
VVMD24	9	206-222	0,0019	0,5209	2,75	0,637	0,639	-0,0014	0,29	0,39	1,77
VVMD25	9	237-265	0,0019	0,3498	4,09	0,755	0,764	-0,0050	0,18	0,53	3,24
VVMD27	9	176-194	0,0019	0,2605	4,78	0,791	0,798	-0,0043	0,14	0,59	3,96
VVMD28	14	220-270	0,0019	0,2700	7,01	0,857	0,859	-0,0011	0,06	0,72	6,11
VVMD32	12	239-272	0,0019	0,3422	5,42	0,816	0,852	-0,0199	0,09	0,65	5,74
VVMD5	10	219-243	0,0019	0,1730	7,06	0,858	0,867	-0,0046	0,07	0,71	6,51
VVMD7	13	231-260	0,0019	0,2662	5,37	0,814	0,814	0,0001	0,11	0,63	4,26
VVS2	14	123-157	0,0019	0,2909	6,08	0,835	0,856	-0,0109	0,08	0,68	5,92
MEDIA	10,5	-	-	-	4,89	0,745	0,750	-0,0019	-	-	4,15
TOTAL	210	82-401	0,0019	0,8536	-	-	-	-	$5,8 \times 10^{-12}$	0,99	-

4.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

Se construyó una base de datos con los datos tomados para cada uno de los descriptores en cada campaña (Figura 14). A partir de estos datos brutos se creó un formulario de datos elaborados que contenía el promedio o consenso de los datos tomados en los años 2005 y 2006 (que fueron las campañas más completas y fiables), aunque en caso de duda, se consultaron los datos de 2004 y 2007 (Figura 15). Esta base de datos resultó de gran ayuda para la consecución de las aplicaciones llevadas a cabo en esta tesis.

De las 406 accesiones estudiadas, muchas presentaban un número considerable de datos perdidos, por lo que se excluyeron de la colección global que sería empleada para los estudios de asociación. Finalmente, se empleó una colección de 322 accesiones para las que existían suficientes datos para poder llevar a cabo los análisis planteados.

Tanto el hecho de que cada descripción se llevara a cabo generalmente entre dos personas, como el uso de aparatos de medición tales como el calibre, el micrómetro, el colorímetro y el texturómetro, contribuyeron a una mayor objetividad de las descripciones de las diferentes accesiones. Tan sólo en 2004 las descripciones fueron realizadas por una única persona, además de describirse sólo un racimo y cinco bayas, mientras que en las siguientes campañas se describieron cinco racimos y 15 bayas. Por ello, los datos consenso o promedio para la base de datos elaborada se obtuvieron a partir de las descripciones de los años 2005 y 2006.

Figura 14. Formulario de datos brutos.

Datos Morfológicos

Descripciones Morfológico-Agronómicas - Datos brutos

Observaciones Parcela

Observaciones Accesoión
Italia = Pirovano 65 = Bicine x Moscatel de Hamburgo

Nombre Accesoión **ITALIA X SULTANINA V-6** Código Parcela **25K11** Cepas Observador **ALL** Año **2006**

Código Parcela **25K11** Fecha Descripción **10/08/2006**

RACIMO

Forma

Alas 20 Ala Zarcillo Millerandage

Racimo Compacidad **Medio**

Peso **401 g** **Medio**

Tamaño **Medio-Grande**

Altura **23 cm** **Largo**

Anchura **11 cm** **Medio**

Longitud Pedunculo **1 cm** **Muy corto**

Lignificación Pedúnculo Ligera

Inflorescencias/Pampano **1,1**

Sexo de la Flor Hermafrodita

Epoca Brotación **Medio**

Epoca Envero: **Medio**

Madurez de la baya **Medio**

BAYA

Forma Elíptica

Tamaño **Medio**

Longitud **19,6 mm** **Mediana**

Anchura **14,8 mm** **Mediana** Uniformidad Uniforme

Color Piel Verde-amarilla Uniformidad Uniforme

Pardeamiento Puntos Color

Grosor Piel **160 µm** **Mediana**

Separación Pedicelo Con pincel Abscisión fácil

Bayas Pasificadas Defectos

Consistencia Pulpa Dura

Dureza Fuerza Dureza Distancia

Suculencia Pulpa Jugosa

Sabores Particulares Ninguno

Presencia Semillas Sin semillas N°

N° Bayas 100 **1 baya**

Peso N Bayas **272 g** **2,7** **Bajo-Medio**


Volumen N Bayas **260 ml** **2,6**

Rendimiento Mosto **165 ml** **61** **Medio**

COLOR

CIRG

L 45 a -6 b 16 **1,1**



MADURACIÓN

Fecha 1 **10/08/2006** Fecha 2

Azúcar 1 **15,8** Azúcar 2

pH 1 **3,44** pH 2

Acidez 1 **6,92** Acidez 2

IM 1 **2,3** IM 2

al separar las bayas se rompe el pedicelo

Revisar 2005

Core24 Core36

Registro: de 1543

Figura 15. Formulario de datos elaborados.

Datos Morfológicos elaborados

Descripciones Morfológico-Agronómicas - Datos elaborados

Observaciones Parcela:

Observaciones Accesión:

Nombre Accesión: **KOVER SZOLO** Código Parcela: **14A09** Cepas:

Imprimir **Revisar**

BAYA

Época Brotación:

Época Envero:

Época Maduración:

Sexo de la Flor:

Inflorescencias/Pampano:

Tamaño:

Uniformidad Tamaño:

Longitud:

Anchura:

Peso 1 Baya:

Suculencia Pulpa:

Separación Pedicelo:

Grosor Piel:

Forma:

Color Epidermis:

Uniformidad Color:

Sabores Particulares:

Presencia Semillas:

Consistencia Pulpa:

RACIMO

Tamaño:

Longitud:

Anchura:

Compacidad:

Long Pedúnculo:

Lignificación Pedunc:

Peso:

Observaciones:

Core96


Año Fotografía: 2004 2005

Código Parcela:

MATERIAL

FENOLOGÍA

Registro: de 489



Por otro lado, con el fin de evaluar si los datos tomados en diferentes campañas eran consistentes, se estudiaron las correlaciones existentes entre los datos tomados en los diferentes años para cada descriptor cuantitativo y cualitativo ordinal, ya que sólo se emplearían estos para los análisis de asociación (Tabla 12). No se consideró necesario realizar este análisis para los descriptores nominales, empleados para la construcción de las colecciones nucleares y para los estudios de sinonimias y pedigrees, puesto que se había obtenido el dato consenso de los años 2005 y 2006, que sería finalmente el dato empleado para estos descriptores. Para ello, se empleó la colección de 322 accesiones.

Las correlaciones más altas, con una r superior a 0,6, se obtuvieron para los descriptores de anchura, longitud y peso de baya, alcanzando la *longitud de la baya* valores superiores a 0,8. El *volumen de la baya*, sin embargo, presentó correlaciones algo menores (r entre 0,5 y 0,9). Los caracteres referentes al racimo no mostraron, en general, correlaciones tan elevadas ($0,3 < r < 0,7$), correspondiendo las más altas al *peso del racimo*, con una $r = 0,7$ entre los datos de 2005 y 2006, y las más bajas a la *compacidad del racimo* (entre 0,3 y 0,4). Los datos de *anchura del racimo* de 2004 se correlacionaron muy poco con el resto de años, sin resultar significativa la correlación entre los años 2004 y 2007.

El descriptor organoléptico de la *consistencia de la pulpa*, el *grosor de la piel*, el *número de semillas por baya* y el *número de inflorescencias por pámpano* presentaron también valores entre 0,3 y 0,4. Las correlaciones más bajas se detectaron para la *longitud del pedúnculo*, sin resultar significativas entre los datos de 2007 y el resto de años. En cuanto a los descriptores fenológicos, se obtuvieron correlaciones con valores de r entre 0,5 y 0,7, siendo las más bajas para la *época de brotación*.

En general, las mayores correlaciones se detectaron entre los años 2005 y 2006, excepto para la *consistencia de la pulpa*, que fue ligeramente mayor entre 2005 y 2007 y para el *grosor de la piel* y la *longitud de la baya*, que fueron mayores entre 2006 y 2007. Por el contrario, las menores correlaciones fueron, en general, las obtenidas para los datos de 2004 frente a los del resto de años.

Aunque la textura se describió mediante el mismo procedimiento en 2006 y 2007, los datos de 2007 no se han empleado para este trabajo debido a una presencia generalizada de oidio en este año, que podría provocar una desviación considerable de los datos de textura reales.

Tabla 12. Correlaciones significativas entre los datos tomados en las diferentes campañas para cada descriptor.

Descriptores cualitativos	2004-2005	2004-2006	2004-2007	2005-2006	2005-2007	2006-2007
Compacidad racimo	0,380	0,328	0,370	0,426	0,340	0,411
Consistencia pulpa	0,382	0,374	0,317	0,423	0,429	0,322
Época brotación	0,571	0,495	ND	0,582	ND	ND
Época envero	0,473	0,677	ND	0,691	ND	ND
Época madurez	0,550	0,590	ND	0,648	ND	ND

Descriptores cuantitativos	2004-2005	2004-2006	2004-2007	2005-2006	2005-2007	2006-2007
Anchura baya	0,705	0,742	0,695	0,796	0,688	0,834
Anchura racimo	0,324	0,363	n.s.	0,629	0,524	0,498
Anchura TXT	ND	ND	ND	0,835	ND	ND
Grosor piel	ND	ND	ND	0,319	n.s.	0,367
Nº inflorescencias por pámpano	ND	ND	ND	0,371	ND	ND
Longitud baya	ND	ND	ND	0,871	0,805	0,908
Longitud pedúnculo	0,216	0,291	n.s.	0,350	n.s.	n.s.
Longitud racimo	0,492	0,407	0,443	0,561	0,476	0,464
Nº semillas por baya	ND	ND	ND	ND	ND	0,405
Peso 1 baya	0,698	0,711	0,674	0,851	0,702	0,730
Peso racimo	0,466	0,531	n.s.	0,713	0,540	0,466
Rendimiento mosto	ND	ND	ND	0,621	n.s.	0,428
Volumen 1 baya	0,613	0,578	0,560	0,862	0,551	0,505

Coeficiente de correlación de Pearson para caracteres cuantitativos y Tau-b de Kendall para cualitativos; ND: no hay datos; n.s.: correlación no significativa; r >0,6 en negrita.

Por otra parte, se estudiaron también las correlaciones entre los diferentes caracteres descritos en cada campaña (Tablas 13, 14, 15 y 16). Las mayores correlaciones ($r > 0,6$) se obtuvieron, en los cuatro años, para los caracteres de baya (*anchura, longitud, peso y volumen de baya, y rendimiento en mosto*) y entre el *peso* y la *anchura de racimo*. La correlación entre la *longitud del racimo* y su *peso* y *anchura* resultó más baja ($0,4 < r < 0,6$) en 2004, 2006 y 2007, obteniéndose correlaciones también de ese grado entre el *peso del racimo* y varios caracteres de baya (*peso, anchura, volumen...*).

En cuanto a la textura de la baya, se obtuvieron correlaciones medias ($0,4 < r < 0,6$) entre la *fuerza* de 2005 y caracteres de racimo (*peso y anchura*) y de baya (*peso, anchura, longitud y volumen de baya, y rendimiento en mosto*). Respecto a los parámetros de textura de 2006, las mayores correlaciones (generalmente $r > 0,7$) se observaron entre la *fuerza al 10%*, la *fuerza al 20%*, la *pendiente al 10%* y la *pendiente de ruptura*. La *fuerza de ruptura* estaba intensamente correlacionada con la *fuerza al 20%*, con la *energía de ruptura* y con la *pendiente de ruptura* ($r > 0,6$), mientras con la *fuerza al 10%* y la *pendiente al 10%* las correlaciones fueron de $0,4 < r < 0,6$. La *tasa de deformación*, sin embargo, se correlacionó con la *distancia de ruptura* ($r > 0,7$) y, negativamente, con la *fuerza al 10%* ($r < -0,6$); también negativamente, aunque en menor grado, se correlacionó con el *peso y volumen de baya y rendimiento en mosto* ($-0,6 < r < -0,4$). El *turgor* fue el parámetro más débilmente correlacionado con el resto, correlacionándose positivamente con la *tasa de deformación* ($r = 0,45$) y negativamente con la *fuerza al 10%* y la *pendiente al 10%* (r de aproximadamente $-0,5$).

Comparando los parámetros de textura de 2005 y 2006, el parámetro de *fuerza* de 2005 parece estar más correlacionado con los de *fuerza al 10%* y *fuerza al 20%* de 2006 ($r = 0,47$ y $0,41$, respectivamente), seguidos de la *tasa de deformación* ($r = -0,38$), *pendiente al 10%* ($r = 0,35$) y *pendiente de ruptura* (datos no mostrados en las tablas por corresponder a diferentes años).

Para el descriptor organoléptico de *consistencia de la pulpa*, se obtuvo un coeficiente de correlación de $r = 0,46$ con la *fuerza* de 2005. Las mayores correlaciones observadas entre dicho descriptor y los parámetros de 2006 fueron con la *fuerza al 10%* y la *pendiente al 10%* ($r = 0,39$ para ambos), seguidas de la *pendiente de ruptura* y la *fuerza al 20%* ($r = 0,36$ y $0,31$, respectivamente).

Finalmente, se obtuvieron correlaciones significativas entre los descriptores fenológicos de *época de envero* y *de madurez fisiológica* ($r > 0,5$ en 2005 y 2006, y $r = 0,38$ en 2004) y, en menor medida, entre *época de brotación* y *de envero* (r en torno a $0,3$).

Tabla 13. Correlaciones obtenidas entre los diferentes caracteres descritos en el año 2004.

	Época brotación	Época envero	Época madurez	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Consistencia pulpa
Época brotación	1,00	0,27	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,10	n.s.
Época envero	0,27	1,00	0,38	-0,18	n.s.	n.s.	0,17	n.s.	0,15	n.s.	0,27	0,31
Época madurez	0,19	0,38	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,13	n.s.	n.s.	0,15	n.s.
Compacidad racimo	n.s.	-0,18	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	-0,25	0,15	n.s.	n.s.	-0,10	-0,29
Longitud pedúnculo	n.s.	n.s.	n.s.	-0,08	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,10	n.s.
Anchura racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,51	0,73	0,30	0,17	0,22	n.s.
Longitud racimo	n.s.	0,17	n.s.	-0,25	n.s.	0,51	1,00	0,54	0,26	0,22	0,24	0,16
Peso racimo	n.s.	n.s.	0,13	0,15	n.s.	0,73	0,54	1,00	0,44	0,34	0,38	n.s.
Anchura baya	n.s.	0,15	n.s.	n.s.	n.s.	0,30	0,26	0,44	1,00	0,67	0,58	0,19
Peso 1 baya	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,17	0,22	0,34	0,67	1,00	0,79	0,25
Volumen 1 baya	0,10	0,27	0,15	-0,10	0,10	0,22	0,24	0,38	0,58	0,79	1,00	0,28
Consistencia pulpa	n.s.	0,31	n.s.	-0,29	n.s.	n.s.	0,16	n.s.	0,19	0,25	0,28	1,00

Coefficiente de correlación de Pearson para caracteres cuantitativos y Tau-b de Kendall para cualitativos y cualitativos-cuantitativos; n.s.: correlación no significativa; r >0,6 en negrita.

Tabla 14. Correlaciones obtenidas entre los diferentes caracteres descritos en el año 2005 (ver pie de Tabla 13).

	Época brotación	Época envero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad de racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Anchura TXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento en mosto	Grosor piel	Consistencia pulpa	Fuerza
Época brotación	1,00	0,32	0,31	n.s.	-0,10	-0,11	0,27	0,21	0,25	0,26	0,27	0,27	0,29	0,29	0,22	n.s.	0,15	0,20
Época envero	0,32	1,00	0,50	-0,12	n.s.	n.s.	0,32	0,25	0,33	0,25	0,26	0,29	0,28	0,28	0,20	n.s.	0,12	0,34
Época madurez	0,31	0,50	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	0,14	0,20	0,19	0,21	0,23	0,21	0,22	0,14	n.s.	n.s.	0,21
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	-0,12	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,13	-0,08	-0,09	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Compacidad de racimo	-0,10	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	-0,12	n.s.	-0,13	0,13	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,18	-0,15
Longitud pedúnculo	-0,11	n.s.	n.s.	n.s.	-0,12	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,17
Anchura racimo	0,27	0,32	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,67	0,88	0,51	0,59	0,45	0,55	0,54	0,50	n.s.	0,16	0,35
Longitud racimo	0,21	0,25	0,14	n.s.	-0,13	n.s.	0,67	1,00	0,70	0,33	0,38	0,32	0,37	0,37	0,43	n.s.	0,22	0,39
Peso racimo	0,25	0,33	0,20	n.s.	0,13	n.s.	0,88	0,70	1,00	0,53	0,60	0,46	0,60	0,59	0,54	n.s.	0,16	0,41
Anchura baya	0,26	0,25	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	0,51	0,33	0,53	1,00	0,86	0,75	0,83	0,83	0,63	n.s.	0,22	0,49
Anchura TXT	0,27	0,26	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	0,59	0,38	0,60	0,86	1,00	0,70	0,88	0,86	0,68	0,13	0,24	0,57
Longitud baya	0,27	0,29	0,23	-0,13	n.s.	n.s.	0,45	0,32	0,46	0,75	0,70	1,00	0,80	0,80	0,58	n.s.	0,29	0,54
Peso 1 baya	0,29	0,28	0,21	-0,08	n.s.	n.s.	0,55	0,37	0,60	0,83	0,88	0,80	1,00	0,97	0,74	0,12	0,28	0,56
Volumen 1 baya	0,29	0,28	0,22	-0,09	n.s.	n.s.	0,54	0,37	0,59	0,83	0,86	0,80	0,97	1,00	0,73	0,13	0,26	0,53
Rendimiento en mosto	0,22	0,20	0,14	n.s.	n.s.	n.s.	0,50	0,43	0,54	0,63	0,68	0,58	0,74	0,73	1,00	n.s.	0,18	0,47
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,13	n.s.	0,12	0,13	n.s.	1,00	0,10	n.s.
Consistencia pulpa	0,15	0,12	n.s.	n.s.	-0,18	n.s.	0,16	0,22	0,16	0,22	0,24	0,29	0,28	0,26	0,18	0,10	1,00	0,46
Fuerza	0,20	0,34	0,21	n.s.	-0,15	0,17	0,35	0,39	0,41	0,49	0,57	0,54	0,56	0,53	0,47	n.s.	0,46	1,00

Tabla 15. Correlaciones obtenidas entre los diferentes caracteres descritos en el año 2006 (ver pie de Tabla 13).

	Época brotación	Época enero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	AnchuraTXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento en mosto	Grosor piel	Nº semillas	Consistencia pulpa	Fuerza 10%	Fuerza 20%	Fuerza ruptura	Distancia ruptura	Tasa deformación	Energía ruptura	Pendiente 10%	Pendiente ruptura	Turgor
Época brotación	1,00	0,33	0,17	n.s.	n.s.	-0,14	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	0,13	0,13	0,17	0,18	-0,16	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,15	n.s.	0,14	n.s.	n.s.	n.s.
Época enero	0,33	1,00	0,59	-0,16	n.s.	0,11	0,26	0,10	0,27	0,23	0,30	0,34	0,31	0,31	0,19	0,30	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,11	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época madurez	0,17	0,59	1,00	-0,13	n.s.	0,13	0,25	0,13	0,23	0,20	0,21	0,25	0,23	0,24	0,11	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,13	n.s.	n.s.	-0,13	-0,11	n.s.
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	-0,16	-0,13	1,00	n.s.	-0,14	n.s.	n.s.	-0,13	n.s.	n.s.	-0,15	n.s.	n.s.	n.s.	-0,14	0,16	-0,11	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Compacidad racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	0,10	-0,11	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,17	-0,10	n.s.	n.s.	0,11	n.s.	n.s.	-0,12	n.s.	0,10
Longitud pedúnculo	-0,14	0,11	0,13	-0,14	n.s.	1,00	-0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,11	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,15	0,15	n.s.	-0,16	-0,18	n.s.	0,14	0,12	-0,13
Anchura racimo	n.s.	0,26	0,25	n.s.	0,10	-0,19	1,00	0,47	0,77	0,38	0,37	0,35	0,39	0,40	0,35	0,18	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	-0,16	n.s.
Longitud racimo	n.s.	0,10	0,13	n.s.	-0,11	n.s.	0,47	1,00	0,57	0,29	0,23	0,22	0,33	0,33	0,35	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	-0,15	n.s.	n.s.	n.s.	-0,20
Peso racimo	n.s.	0,27	0,23	-0,13	0,21	n.s.	0,77	0,57	1,00	0,50	0,50	0,39	0,53	0,52	0,47	0,16	n.s.	n.s.	0,13	n.s.	n.s.	0,10	-0,21	n.s.	n.s.	-0,13	n.s.
Anchura baya	n.s.	0,23	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	0,38	0,29	0,50	1,00	0,91	0,69	0,90	0,89	0,77	0,22	0,21	0,10	0,31	0,26	n.s.	0,23	-0,35	0,20	n.s.	n.s.	n.s.
AnchuraTXT	n.s.	0,30	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	0,37	0,23	0,50	0,91	1,00	0,53	0,87	0,86	0,72	0,26	0,23	n.s.	0,35	0,29	n.s.	0,29	-0,36	0,27	n.s.	n.s.	-0,14
Longitud baya	0,20	0,34	0,25	-0,15	n.s.	0,11	0,35	0,22	0,39	0,69	0,53	1,00	0,79	0,80	0,68	0,29	n.s.	0,20	0,20	0,19	n.s.	n.s.	-0,33	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Peso 1 baya	0,13	0,31	0,23	n.s.	n.s.	n.s.	0,39	0,33	0,53	0,90	0,87	0,79	1,00	0,99	0,84	0,30	0,16	0,14	0,28	0,22	n.s.	0,16	-0,40	n.s.	n.s.	n.s.	-0,14
Volumen 1 baya	0,13	0,31	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	0,40	0,33	0,52	0,89	0,86	0,80	0,99	1,00	0,84	0,29	0,14	0,13	0,28	0,21	n.s.	0,14	-0,41	n.s.	n.s.	n.s.	-0,14
Rendimiento en mosto	0,17	0,19	0,11	n.s.	n.s.	n.s.	0,35	0,35	0,47	0,77	0,72	0,68	0,84	0,84	1,00	0,20	n.s.	0,13	0,36	0,24	n.s.	n.s.	-0,49	n.s.	n.s.	n.s.	-0,19
Grosor piel	0,18	0,30	0,20	-0,14	n.s.	n.s.	0,18	n.s.	0,16	0,22	0,26	0,29	0,30	0,29	0,20	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	n.s.	n.s.	-0,19	-0,25	n.s.
Nº semillas	-0,16	n.s.	n.s.	0,16	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	0,23	n.s.	0,16	0,14	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	0,20	n.s.	0,26	n.s.	n.s.	n.s.
Consistencia pulpa	n.s.	n.s.	n.s.	-0,11	-0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,10	n.s.	0,20	0,14	0,13	0,13	n.s.	n.s.	1,00	0,39	0,31	0,12	-0,26	-0,29	n.s.	0,39	0,36	-0,18
Fuerza 10%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,10	0,15	n.s.	0,20	0,13	0,31	0,35	0,20	0,28	0,28	0,36	n.s.	n.s.	0,39	1,00	0,87	0,42	-0,44	-0,66	n.s.	0,87	0,79	-0,46
Fuerza 20%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,15	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	0,29	0,19	0,22	0,21	0,24	n.s.	n.s.	0,31	0,87	1,00	0,76	n.s.	-0,45	0,49	0,84	0,83	n.s.
Fuerza ruptura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	0,12	0,42	0,76	1,00	0,35	0,26	0,82	0,44	0,60	0,24
Distancia ruptura	0,15	0,11	0,13	n.s.	0,11	-0,16	0,19	n.s.	n.s.	0,23	0,29	n.s.	0,16	0,14	n.s.	0,21	0,20	-0,26	-0,44	n.s.	0,35	1,00	0,78	0,78	-0,59	-0,51	0,36
Tasa deformación	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,18	n.s.	-0,15	-0,21	-0,35	-0,36	-0,33	-0,40	-0,41	-0,49	n.s.	n.s.	-0,29	-0,66	-0,45	0,26	0,78	1,00	0,58	-0,57	-0,45	0,46
Energía ruptura	0,14	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	0,27	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	n.s.	n.s.	0,49	0,82	0,78	0,58	1,00	n.s.	n.s.	0,27
Pendiente 10%	n.s.	n.s.	-0,13	n.s.	-0,12	0,14	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,19	n.s.	0,39	0,87	0,84	0,44	-0,59	-0,57	n.s.	1,00	0,93	-0,48
Pendiente ruptura	n.s.	n.s.	-0,11	n.s.	n.s.	n.s.	-0,16	n.s.	-0,13	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,25	n.s.	0,36	0,79	0,83	0,60	-0,51	-0,45	n.s.	0,93	1,00	n.s.
Turgor	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,10	n.s.	n.s.	-0,20	n.s.	n.s.	-0,14	n.s.	-0,14	-0,14	-0,19	n.s.	n.s.	-0,18	-0,46	n.s.	0,24	0,36	0,46	0,27	-0,48	n.s.	1,00

Tabla 16. Correlaciones obtenidas entre los diferentes caracteres descritos en el año 2007 (ver pie de Tabla 13).

	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	Nº semillas	Consistencia pulpa
Compacidad racimo	1,00	n.s.	0,37	n.s.	0,43	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,32	n.s.	n.s.	n.s.
Longitud pedúnculo	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	0,37	n.s.	1,00	0,50	0,58	0,29	0,32	0,36	0,34	0,40	n.s.	n.s.	n.s.
Longitud racimo	n.s.	n.s.	0,50	1,00	0,45	0,18	0,21	0,30	0,33	0,48	n.s.	n.s.	n.s.
Peso racimo	0,43	n.s.	0,58	0,45	1,00	0,27	0,23	0,36	0,37	0,46	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura baya	n.s.	n.s.	0,29	0,18	0,27	1,00	0,72	0,83	0,65	0,49	n.s.	n.s.	0,40
Longitud baya	n.s.	n.s.	0,32	0,21	0,23	0,72	1,00	0,77	0,65	0,56	0,37	n.s.	0,29
Peso 1 baya	n.s.	n.s.	0,36	0,30	0,36	0,83	0,77	1,00	0,81	0,76	n.s.	n.s.	0,35
Volumen 1 baya	n.s.	n.s.	0,34	0,33	0,37	0,65	0,65	0,81	1,00	0,70	n.s.	n.s.	0,28
Rendimiento mosto	0,32	n.s.	0,40	0,48	0,46	0,49	0,56	0,76	0,70	1,00	n.s.	n.s.	n.s.
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,37	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.
Nº semillas	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.
Consistencia pulpa	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,40	0,29	0,35	0,28	n.s.	n.s.	n.s.	1,00

4.1.3. APLICACIONES DE LA CARACTERIZACIÓN

4.1.3.1. Estudio de posibles sinonimias, homonimias y sports

Los 89 genotipos redundantes obtenidos entre 352 accesiones podrían corresponder a variedades repetidas (mismo nombre y mismo genotipo), sinonimias, sports o errores en el BGV de El Encín. Para determinar a cual de estas categorías correspondía cada accesión, fue necesario un estudio morfológico basado en tres tipos de datos: en la caracterización morfológica llevada a cabo durante 4 años, en fichas ampelográficas de los archivos de El Encín y en una profunda revisión bibliográfica.

Finalmente, de estos 89 genotipos redundantes, se detectaron 10 variedades repetidas, 35 posibles sinonimias, 15 posibles sports, 5 variedades con igual perfil genotípico catalogadas como “otros” y 24 posibles errores en el BGV de El Encín. De entre los 89 genotipos redundantes, 12 posibles sinonimias y 6 posibles sports o mutaciones no han sido previamente descritos (Branas y Truel 1965; Galet 2000). En la Tabla 17 se muestran tanto las sinonimias y sports ya descritos como los nuevos detectados en este trabajo, y los errores de banco encontrados, así como accesiones que presentan igual genotipo pero no se clasifican en ninguno de los grupos anteriores, sino en uno que se ha denominado “otros”, en el que se pueden encontrar una selección clonal de Sultanina, una mutación de Pedro Ximenes y varios autotetraploides, como por ejemplo el de Alphonse Lavallée: Leopold III.

Resultados

Tabla 17. Accesiones con genotipos redundantes, excepto las variedades repetidas, que no se incluyen en esta tabla. Nuevas relaciones detectadas en color azul. Los nombres VIVC en cursiva no existen como tales en la colección estudiada.

Nombre VIVC	Sinonimias	Sports	Errores	Otros
<i>Afus Ali</i>	Actoni Maceron, Hafiz Ali, Kérino, Razaki Isla de Creta, Roseti, Princes Chasselas		Sabalkanskoi, Professor Aberson, Marawi	
Ahmeur bou Ahmeur	Corazón de cabrito			
Alphonse Lavallé	Royal Terheyden, Ribier, Royal, Almeria negra			Leopold III (Autotetraploide)
<i>Angelo Pirovano</i>	Angelo		Pergolese	
Baresana	Turchesca, Monarca del Vesubio			
<i>Beba</i>	Beba de Palos, Beba de Jaén, Beba de Huelva	Tchaoutc		
Black Currant	Mavri Korinziaki			
Chasselas blanc	Chasselas de Montauban	Chasselas musqué, Chasselas violet, Chasselas rose, Chasselas rouge, Chasselas apyrene, Chasselas Cioutat, Cornelle		Chasselas Gros Coulard (Autotetraploide)
Dabouki			David	
Danlas			Datal	
Dominga			Niger, Napoleón	
Galletta rosa	620 Pirovano			
Gallurazenni di Damasco			Conca D'oro	
Graziella I	Graziella II			
<i>Helvany</i>	Helvany rouge	Fraoula kokkini		
<i>Imperial Napoleón</i>	Napoleón, Don Mariano			
Italia	Regina		Opale, Jubilej	
Jantar	Zariza Na Losiata X Bolgar 19-2			
Jaoumet	Jaumin			
Lattuario nero			Doroni Maceron	
<i>Lignan blanc</i>	Luglienga bianca, Jouanenc			
Lombardia	Rosso Grosso Precoz			
Madeleine Angevine			Madeleine Angevine Oberlin	

Nombre VIVC	Sinonimias	Sports	Errores	Otros
Madeleine Royale	Magdalena Real			
<i>Mantúo</i>	Diagalves, Eva			
<i>Mathiasz Janos Diadala</i>	Mathiasz Janos Diadala Muskotaly		Enverrous Traube	
<i>Mathiasz Janosne</i>	Muscat Madame Mathiasz		Perle de Csaba rouge	
Molinera		Castellano morado		
Moscato d'Adda	Aleático			
<i>Muscat a petits grains blancs</i>	Moscato	Cape currant	Moscatel encarnado	
<i>Muscat Hamburg</i>	Moscatel de Hamburgo		Moscato di Madresfield	
<i>Muscat of Alexandria</i>	Moscatel de Alejandría			Cannon Hall (Autotetraploide)
Ohanes	Uva de Almería			
Olivette blanche	Ciminnita, Golden Hill			
<i>Pedro Ximenes</i>	Don Bueno			Corinto blanco (mutación)
Perlette		Loose Perlette		
Pirovano 671			Pirovano 155	
Primiera	Precocisimo			
<i>Principessa di Piemonte</i>	Principesa di Piamonte		Zibibbo	
Prosperi 37			Prosperi 262	
Queen	Queen Kearney		Regina Elisabetta	
<i>Quiebratinajas tinto</i>	Quiebratinajas, Colgadero	Quiebratinaja blanco		
Servant	Gros Vert		Teneron de Vaucluse	
Sultanina		Sultanina roja, Sultanina rosada		Sultalhama (selección clonal)
Verdea	Paradisía			
			Alfonso Lavallée X Ferral, Chasselas Michel Tompa	

4.1.3.2. Estudio de pedigríes

En el caso de la uva de mesa, el comienzo de la mejora genética mediante cruce de variedades seleccionadas data de unos dos siglos atrás. Se ha llevado a cabo un análisis de pedigríes con los resultados del estudio de los 25 loci microsatélites para confirmar los supuestos parentescos, además de aportar nueva información sobre la procedencia de determinadas variedades. Se sometieron a análisis 301 variedades no redundantes, obteniéndose 424 posibles cruzamientos: 96 cruces totalmente compatibles, 32 cruces permitiendo incompatibilidad en 1 alelo, 74 permitiendo incompatibilidad en 2 alelos y 222 permitiendo incompatibilidad en 3 alelos. La probabilidad total de exclusión de paternidad (Weir 1996) obtenida en este trabajo es de 0,999999999451.

De los cruces obtenidos, se estudiaron detenidamente 93 progenies, de entre las cuales, 54 confirman la bibliografía existente al respecto (Branas y Truel 1965; Galet 2000) (Tabla 18A) y 24 son nuevos pedigríes o con información bibliográfica incompleta (Tabla 18C). Este estudio de parentesco mediante marcadores microsatélite también permitió la detección de 15 posibles errores en la bibliografía más extendida y comúnmente usada (Branas y Truel 1965; Galet 2000), para los que se sugieren los posibles progenitores correctos de acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 18B). En la Tabla 18 se muestran además los clorotipos para las accesiones implicadas en cada uno de estos cruces, así como las razones de verosimilitud para cada pedigrí. Existen casos en los que la variedad está descrita como progenie de un cruzamiento complejo, en el que uno de los progenitores directos no se conoce, pero sí sus ancestros, por ejemplo, Autumn seedless está descrita como progenie de un cruce entre Calmeria y una planta descendiente de Muscat of Alexandria x Sultanina. En estos casos no se han podido calcular las razones de verosimilitud, pero sí estudiar manualmente la compatibilidad.

Tabla 18. Pedigríes, haplotipos cloroplásticos (CI) para cada variedad y razones de verosimilitud calculadas mediante 25 marcadores STMS.

A)

PEDIGRÍES DESCRITOS CONFIRMADOS					RAZONES DE VEROSIMILITUD ^a					
Progenie	CI	Progenitor femenino	CI	Progenitor masculino	CI	XxY	(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Alvina	B	Alphonse Lavallée	B	Sultanina	C	8,86E+13	8,76E+09	1,69E+03	3,84E+08	9,61E+02
Angelo Pirovano ^c	D	Chasselas	D	Muscat Hamburg	D	2,78E+16	2,79E+08	1,09E+03	6,46E+11	5,54E+03
Arturo Marescalchi	D	Angelo Pirovano	D	Italia	C	4,91E+15	3,83E+08	1,35E+03	1,22E+09	1,34E+03
Augusta	A	Afus Ali	A	Lignan blanc	D	4,87E+20	1,13E+16	4,22E+04	3,60E+09	1,78E+03
Autumn seedless ^c	C	Calmeria	C	Muscat of Alexandria x Sultanina	BxC	Cruce complejo				
Barbabeau	C	Olivette noire	C	Muscat Hamburg	D	2,27E+13	3,50E+08	9,14E+02	7,90E+08	1,61E+03
Basile Logothetis	B	Muscat of Alexandria	B	Sultanina	C	2,04E+18	6,59E+10	2,05E+03	1,01E+12	9,99E+03
Beauty seedless ^b	A	Koenigin der Weingaerten	A	Black seedless	C	6,23E+17	2,08E+14	9,33E+03	8,19E+07	9,14E+02
Blush seedles	D	Emperor	D	Koenigin der Weingaerten x (Alphonse Lavallée x Sultana moscata)	Ax(B)	Cruce complejo				
Bruni 45	D	Chasselas	D	Sultanina	C	3,16E+18	5,64E+12	8,03E+03	3,29E+11	2,36E+03
Bruni 90 ^b	B	Mathiasz Janosne	B	Black seedless	C	1,05E+20	1,35E+15	1,25E+04	1,93E+10	2,85E+03
Bruni 116	A	Koenigin der Weingaerten	A	Sultanina	C	3,01E+15	1,12E+09	9,78E+02	3,07E+11	6,22E+03
Cereza	B	Muscat of Alexandria	B	Criolla	D	1,09E+19	1,18E+12	3,81E+03	2,21E+11	5,19E+03
Dalmasso 3-33	D	Muscat Hamburg	D	Afus Ali	A	6,09E+14	1,45E+08	8,23E+02	1,93E+10	4,53E+03
Dalmasso 6-6	C	Bicane	C	Afus Ali	A	1,22E+16	6,74E+10	3,30E+03	3,10E+09	2,24E+03
Dalmasso 11-8	D	Muscat Hamburg	D	Afus Ali	A	1,09E+16	2,87E+09	1,38E+03	2,22E+09	2,66E+03
Dalmasso 11-20	D	Muscat Hamburg	D	Afus Ali	A	3,43E+16	3,37E+10	2,88E+03	6,36E+09	2,82E+03
Danam ^{bc}	D	Dabouki	D	Muscat Hamburg	D	9,51E+19	1,22E+09	1,87E+03	2,73E+15	1,17E+04
Danlas ^c	D	Chasselas	D	Dabouki	D	1,28E+21	2,63E+14	9,77E+03	3,58E+13	1,63E+04
Danuta	A	Afus Ali	A	Sultana moscata	B	1,89E+18	8,62E+11	9,68E+03	3,31E+10	3,43E+03
Dawn Seedless	D	Gold	D	Perlette	A	2,15E+17	3,58E+11	6,75E+03	5,19E+08	1,23E+03
Delight	A	Koenigin der Weingaerten	A	Sultanina	C	1,63E+15	9,72E+11	5,39E+03	5,64E+07	6,51E+02
Dona Maria	B	Muscat of Alexandria	B	Afus Ali	A	2,26E+19	3,77E+11	4,80E+03	2,03E+12	1,11E+04
Emerald seedless	D	Emperor	D	Sultana moscata	B	4,88E+18	4,04E+12	9,02E+03	4,89E+10	4,42E+03
Emilia	C	Bicane	C	Afus Ali	A	1,68E+16	2,13E+11	4,16E+03	6,87E+08	1,50E+03
Emperatriz	D	Emperor	D	Sultanina	C	1,09E+16	2,93E+10	1,67E+03	1,26E+10	2,49E+03
Exotic	C	Ahmeur bou Ahmeur	C	Alphonse Lavallée	B	3,35E+16	5,38E+09	2,25E+03	1,03E+10	1,71E+03

Resultados

PEDIGRÍES DESCRITOS CONFIRMADOS					RAZONES DE VEROSIMILITUD ^a					
Progenie	CI	Progenitor femenino	CI	Progenitor masculino	CI	XxY	(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Ignea	C	Delizia di Vaprio	C	Angelo Pirovano	D	4,85E+16	1,24E+12	8,34E+03	1,07E+09	1,08E+03
Italia	C	Bicane	C	Muscat Hamburg	D	4,73E+14	8,91E+10	6,20E+03	1,34E+09	2,31E+03
July muscat	D	Muscat Hamburg	D	Koenigin der Weingaerten	A	5,03E+16	5,83E+09	2,80E+03	2,14E+09	1,97E+03
Jantar ^c	A	Koenigin der Weingaerten	A	Afus Ali	A	5,75E+18	1,19E+10	2,79E+03	3,53E+09	2,54E+03
Koenigin der Weingaerten	A	Afus Ali	A	Perla de Csaba	C	1,08E+16	6,36E+09	2,22E+03	1,56E+10	2,39E+03
Lival	B	Alphonse Lavallée	B	Lignan blanc	D	1,10E+20	3,72E+13	1,17E+04	4,97E+11	5,95E+03
Lombardia	D	Angelo Pirovano	D	Italia	C	1,73E+17	4,04E+09	2,80E+03	6,05E+09	1,60E+03
Madina	B	Cardinal	B	Sultanina	C	2,00E+16	2,18E+11	2,92E+03	8,33E+08	1,05E+03
Maria Pirovano	B	Muscat of Alexandria	B	Sultanina	C	3,45E+17	5,92E+10	3,54E+03	1,02E+12	8,44E+03
Matilde	C	Italia	C	Cardinal	B	7,31E+14	3,28E+09	2,19E+03	2,22E+09	2,44E+03
Michele-Palieri	A	Molinera	A	Alphonse Lavallée	B	2,88E+17	2,33E+08	5,93E+02	4,18E+12	6,01E+03
Muscat Hamburg	D	Frankenthal	D	Muscat of Alexandria	B	7,00E+15	9,30E+09	3,32E+03	1,12E+11	7,08E+03
Pasiga ^b	B	Alphonse Lavallée	B	Sultanina	C	6,08E+15	9,69E+09	1,31E+03	2,33E+10	2,69E+03
Perlette	A	Koenigin der Weingaerten	A	Sultanina	C	1,44E+17	9,73E+11	4,15E+03	5,80E+09	1,70E+03
Perlon	D	Emperor	D	Perlette	A	6,33E+16	1,12E+11	3,13E+03	1,04E+10	1,84E+03
Perlona	C	Bicane	C	Muscat Hamburg	D	9,09E+12	1,10E+08	1,21E+03	1,82E+09	2,90E+03
Pirovano 93 ^c	D	Angelo Pirovano	D	Verdea	D	1,30E+18	3,18E+12	5,92E+03	9,05E+09	2,11E+03
Pirovano 188	C	Delizia Di Vaprio	C	Angelo Pirovano	D	1,06E+17	1,46E+11	5,15E+03	2,33E+11	6,72E+03
Pirovano 235	D	Frankenthal	D	Delizia di Vaprio	C	4,30E+15	2,24E+07	6,49E+02	1,49E+12	9,13E+03
Queen	D	Muscat Hamburg	D	Sultanina	C	8,24E+13	3,01E+09	6,77E+02	6,53E+08	1,69E+03
Rodi ^b	B	Muscat of Alexandria	B	Sultanina	C	4,59E+19	1,95E+14	2,17E+04	3,22E+10	3,02E+03
Ruby seedless	D	Emperor	D	Sultana moscata	B	4,80E+16	2,56E+12	3,86E+03	6,20E+08	1,28E+03
Rutilia	D	Aramon	D	Sultanina	C	3,81E+16	5,05E+09	1,98E+03	4,72E+10	2,96E+03
Sovrana	D	Frankenthal	D	Delizia di Vaprio	C	4,24E+17	2,31E+11	5,03E+03	1,36E+11	6,93E+03
Sultana moscata ^b	B	Muscat of Alexandria	B	Sultanina	C	2,24E+17	8,92E+10	1,91E+03	3,28E+10	2,78E+03
Thalloczy Lajos	C	Sicilien	C	Muscat of Alexandria	B	1,04E+16	4,72E+10	4,67E+03	5,38E+08	9,24E+02
Therme	C	Cinsaut	C	Koenigin der Weingaerten	A	1,36E+16	5,87E+09	2,61E+03	1,01E+10	2,29E+03

B)

PEDIGRÍES PROPUESTOS PARA POSIBLES ERRORES DETECTADOS EN LA LITERATURA					RAZONES DE VEROSIMILITUD ^a						
Progenie	CI	Cruce descrito	Progenitor femenino	CI	Progenitor masculino	CI	XxY	(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Bogni 17	C	Bicane x Bonarda	Bicane	C	Muscat Hamburg	D	7,23E+13	1,08E+09	2,30E+03	6,54E+08	1,57E+03
Bruni 41 ^c	C	Mathiasz Janosne x Panse precoce	Sicilien	C	Szauter Gusztav	C	2,61E+16	6,99E+08	9,62E+02	3,08E+09	1,54E+03
Cardinal ^b	B	Alphonse Lavallé x Flame Tokay	Alphonse Lavallée	B	Koenigin der Weingaerten	A	8,33E+12	5,28E+07	4,64E+02	4,51E+07	6,07E+02
Delizia di Vaprio	C	Muscat of Alexandria x Foster's White seedling	Sicilien	C	Muscat of Alexandria	B	4,51E+16	1,80E+10	2,71E+03	9,79E+09	1,61E+03
Foster's white seedling	A	Marocain noir x Chasselas	Marocain noir	A	Frankenthal	D	3,16E+19	1,98E+11	5,92E+03	6,19E+12	4,11E+03
Lady Downe's seedling	A	Marocain noir x Chasselas	Marocain noir	A	Muscat of Alexandria	B	3,41E+20	2,58E+10	3,01E+03	8,66E+13	7,63E+03
Madeleine Angevine	C	Madeleine Royale x Malingre precoce	Circé	C	Madeleine Royale	A	1,06E+19	9,98E+09	2,58E+03	1,92E+12	8,61E+03
Mathiasz Janosne	B	Chasselas rouge x Muscat Ottonel	Muscat of Alexandria	B	Chasselas rouge	D	1,95E+18	1,75E+11	3,96E+03	7,78E+10	6,06E+03
Olivette Barthelet	C	Olivette blanche x Cornichon blanc	Olivette blanche	C	Beba	A	1,06E+14	4,62E+08	9,17E+02	1,08E+08	8,21E+02
Pirovano 159	C	Moscato d'Adda x Olivette noire	Delizia di Vaprio	C	Angelo Pirovano	D	2,30E+19	2,60E+12	8,71E+03	2,18E+12	1,06E+04
Pirovano 315	C	Delizia di Vaprio x Madeleine Royale	Madeleine Angevine	C	Delizia di Vaprio	C	1,13E+17	2,42E+10	1,67E+03	2,44E+12	1,03E+04
Pirovano 531	B	Kharistvala Kolkhuri x Olivette noire	Kharistvala Kolkhuri	B	Barbabeau	C	1,05E+16	2,01E+08	9,45E+02	9,91E+11	3,77E+03
Primiera	C	Delizia di Vaprio x Madeleine Royale	Madeleine Angevine	C	Delizia di Vaprio	C	4,77E+14	1,21E+09	8,39E+02	3,75E+10	2,27E+03
Princeps	D	Angelo Pirovano x Sultana moscata	Muscat Hamburg	D	Kharistvala Kolkhuri	B	1,41E+17	1,00E+11	4,22E+03	1,38E+10	3,24E+03
Prosperi 285	D	Moscato di Terracina x Bicane	Moscato di Terracina	D	Muscat of Alexandria	B	4,09E+19	9,25E+10	5,42E+03	7,19E+11	8,77E+03

C)

POSIBLES NUEVOS PEDIGRÍES					RAZONES DE VEROSIMILITUD ^a					
Progenie	CI	Progenitor femenino	CI	Progenitor masculino	CI	XxY	(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Admirable de Courtyiller	C	Bicane	C	Chasselas	D	8,54E+16	5,28E+11	3,61E+03	9,70E+07	7,62E+02
Almería Nera	C	Ohanes	C	Prunesta	A	9,22E+21	5,29E+11	5,17E+03	4,51E+10	3,26E+03
Alphonse Lavallée	B	Kharistvala Kolkhuri	B	Muscat Hamburg	D	3,35E+16	4,73E+07	6,74E+02	5,74E+12	1,40E+04
Black Prince	C	Schiras	C	Chasselas	D	3,25E+18	5,50E+10	2,32E+03	2,62E+13	6,66E+03
Bruni 12	C	Madeleine Angevine	C	Baresana	C	7,27E+21	2,02E+13	1,15E+04	9,32E+11	4,99E+03
Bruni 36	C	Madeleine Angevine	C	Lignan blanc	D	3,63E+20	1,62E+12	6,55E+03	4,52E+11	6,90E+03
Bruni 707	B	Cardinal	B	Cardinal	B	7,07E+21	2,93E+10	4,41E+03	2,93E+10	4,41E+03
Calmeria	C	Ohanes	C	Sultanina	C	2,80E+16	2,17E+10	2,08E+03	5,41E+09	1,67E+03

Resultados

POSIBLES NUEVOS PEDIGRÍES				RAZONES DE VEROSIMILITUD ^a						
Progenie	CI	Progenitor femenino	CI	Progenitor masculino	CI	XxY	(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Circé	C	Schiras	C	Chasselas	D	2,84E+22	1,47E+15	2,88E+04	2,71E+12	3,76E+03
Ciruela Roja	C	Ohanes	C	Ragol	A	5,38E+20	6,19E+13	9,00E+03	9,33E+07	6,12E+02
Colgar Roja	C	Ohanes	C	Ragol	A	5,07E+17	5,39E+11	5,20E+03	1,22E+08	8,64E+02
Duc de Magenta ^b	C	Schiras	C	Chasselas	D	4,51E+18	5,22E+12	1,14E+04	7,79E+11	4,78E+03
Duchess of Buccleugh	C	Bicane	C	Muscat a petits grains blancs	D	2,39E+18	1,19E+14	2,52E+04	4,62E+09	2,31E+03
Gradiska	C	Bicane	C	Chasselas	D	1,50E+17	1,43E+10	1,94E+03	1,44E+10	3,33E+03
Imperial roja	C	Ohanes	C	Ragol	A	1,63E+21	3,09E+12	9,57E+03	4,77E+10	3,94E+03
Madeleine Royale	A	Pinot	A	Frankenthal	D	2,79E+18	1,16E+10	2,87E+03	5,59E+11	3,51E+03
Malingre precoce	C	Bicane	C	Pinot	A	1,37E+20	7,50E+14	1,81E+04	6,58E+08	1,33E+03
Misket vratchanskii	C	Coarna alba	C	Muscat a petits grains blancs	D	1,06E+19	6,73E+10	5,26E+03	6,22E+11	4,61E+03
Mistress Hall	A	Marocain noir	A	Muscat of Alexandria	B	1,72E+17	1,19E+10	2,73E+03	5,00E+10	2,55E+03
Pirovano 166A ^c	C	Delizia di Vaprio	C	Kishmish Chernyi	C	5,85E+20	4,10E+15	1,50E+04	1,69E+10	3,32E+03
Pizzutello nero	A	Cornichon blanc	A	Prune de Cazouls	D	7,35E+19	5,07E+10	3,50E+03	3,31E+14	1,54E+04
Roi des Precoces	C	Cinsaut	C	Pinot	A	7,88E+16	1,85E+10	1,89E+03	2,55E+10	3,05E+03
Sullivan blanc	C	Schiras	C	Chasselas	D	1,12E+20	4,49E+11	7,39E+03	4,57E+14	1,11E+04
Vivona 378	B	Muscat of Alexandria	B	Bruni 415	C	2,92E+21	5,77E+16	3,95E+04	1,75E+10	3,23E+03

^a Razones de verosimilitud:

1. **X x Y**: Likelihood ratio de la probabilidad de los parentales detectados frente a la probabilidad de dos parentales escogidos al azar.
2. **(1) x X**: Likelihood ratio de la probabilidad para los progenitores propuestos frente al cruce formado por el parental (1) y una variedad al azar.
3. **rel(2) x (1)**: Likelihood ratio de la probabilidad del cruce propuesto frente a una variedad emparentada con el progenitor propuesto (2) x el progenitor propuesto (1).
4. **(2) x X**: Likelihood ratio de la probabilidad de la progenie propuesta frente al parental (2) x una variedad al azar.
5. **rel(1) x (2)**: Likelihood ratio de la probabilidad del cruce propuesto frente al progenitor (2) x una variedad emparentada con el progenitor (1).

^b Razones de verosimilitud calculadas mediante 24 microsatélites por presencia de alelos nulos o mutaciones.

^c No puede identificarse el progenitor femenino y masculino por presentar ambos el mismo clorotipo y ser hermafroditas.

4.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN

4.2.1. Evaluación de las colecciones objeto de estudio

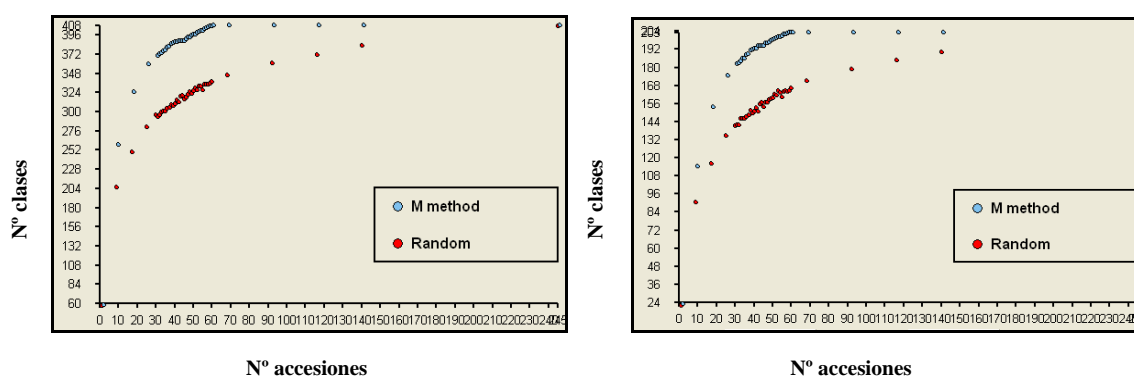
4.2.1.1. Diversidad y representatividad de la colección para el estudio del gen VvGAI1 (CN127)

Construcción de la CN127

Para la construcción de la colección para el estudio del gen *VvGAI1* se empleó una colección de 245 genotipos únicos (TGU245, Tabla 1, pág. 53) usándose 20 marcadores STMS y 44 descriptores agronómicos (Tabla 5, pág. 87). Partiendo de una colección nuclear previa de 23 accesiones que contenía el 80% de la variabilidad total, se construyó una de 58 accesiones (CN58), que era el número mínimo de accesiones que representaba el 100% de la variabilidad, y constituía el 23,7% del total de accesiones de la TGU245. A partir de ésta, se construyó una colección de 127 accesiones (CN127, Tabla 1, pág. 53) con el fin de trabajar con un número de individuos suficiente para llevar a cabo un estudio de asociación significativo.

En la Figura 16 puede observarse la eficiencia de la Estrategia M, que es evaluada por MStrat comparando el número de clases capturadas en colecciones de tamaño ascendente mediante este método con el número de clases capturadas mediante la construcción de colecciones de igual tamaño por medio de una selección de accesiones aleatoria (Estrategia R).

Figura 16. Curvas de redundancia obtenidas mediante la Estrategia M (“M method”) frente a la Estrategia R (“Random”) para el total de variables morfológicas y moleculares (derecha) y para las variables morfológicas (izquierda). Cada punto es promedio de 20 réplicas.



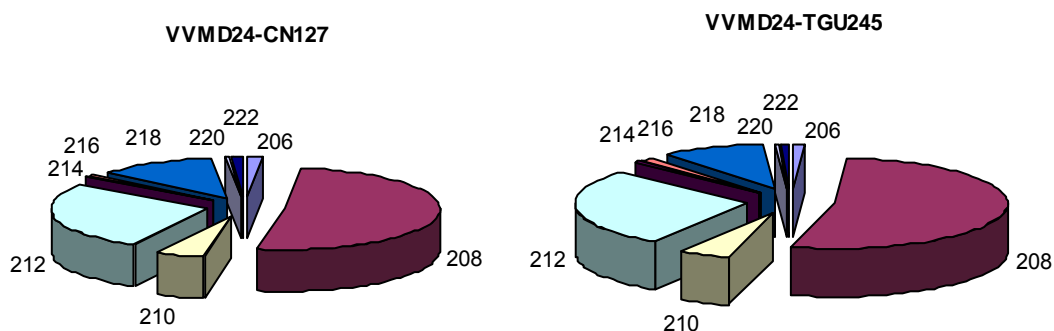
La variabilidad obtenida por la Estrategia M en las colecciones de diferente tamaño es bastante superior a la obtenida por un muestreo al azar o Estrategia R, capturando un promedio de 66 clases más (16% de ganancia de diversidad). Para la obtención de las colecciones CN58 y CN127, dado que las 20 réplicas obtenidas con MStrat contenían el 100% de variabilidad, se seleccionaron las colecciones con mayor Índice de Shannon (de 71,2 y 69,2, respectivamente).

Evaluación de la diversidad alélica existente en la CN127

En cuanto a la variación en las frecuencias alélicas en la CN127 respecto a la TGU245, el 60% de los alelos incrementaron sus frecuencias en la CN127. Las frecuencias alélicas presentaron cierta tendencia a equilibrarse en la colección nuclear, ya que de los alelos con una frecuencia menor del 5% en la TGU245, un 71% incrementaron sus frecuencias en la CN127. Por otro lado, de los alelos que presentaban una frecuencia mayor del 10% en la TGU245, el 53% decrecieron en la CN127. No obstante, la magnitud de todas estas variaciones en las frecuencias alélicas es pequeña, como puede observarse, a modo de ejemplo, en los alelos del locus VVMD24 (Figura 17), que es el que más variación presenta.

La heterocigosidad observada en la TGU275 y en la CN127 para los 20 microsatélites estudiados fue de 0,74 y 0,75, respectivamente.

Figura 17. Frecuencias alélicas del locus VVMD24 en la CN127 y en la TGU245.



Evaluación de la diversidad agronómica en la CN127

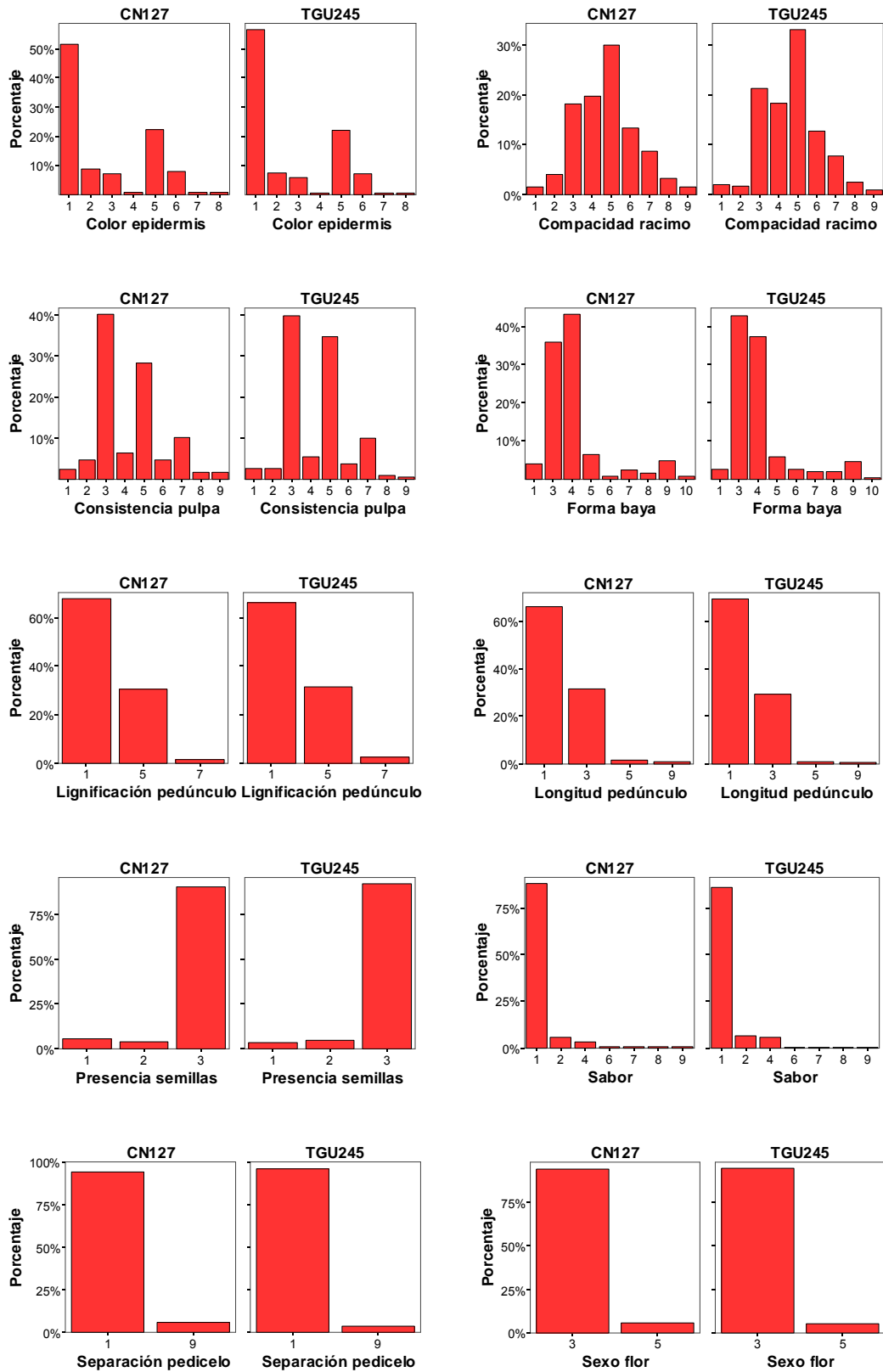
La distribución de cada descriptor morfológico en ambas colecciones es muy similar. En la Tabla 19 se muestran la media, mediana y desviación típica de cada descriptor cuantitativo en las dos colecciones (CN127 y TGU248), entre las cuales apenas existen diferencias. Sin embargo, hay que destacar que la desviación típica es menor en la TGU245 para todos los descriptores, lo que apunta a una curva de normalidad más achatada, y por tanto más equilibrada, en la CN127.

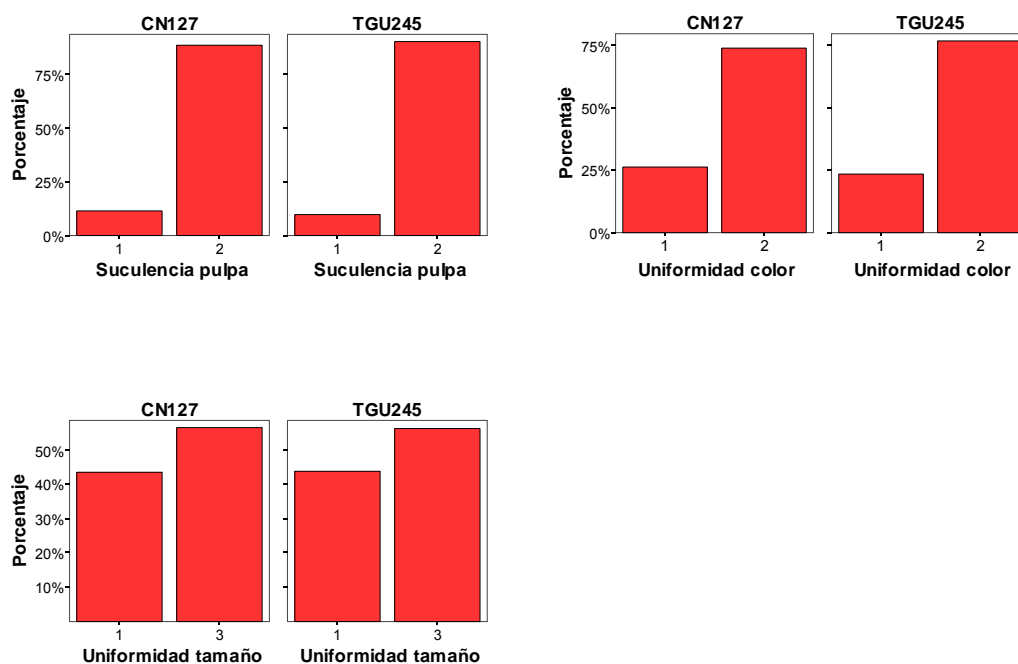
Tabla 19. Estadísticos descriptivos para los caracteres cuantitativos en la CN127 y en la TGU245.

Descriptores cuantitativos	CN127			TGU245		
	Media	Mediana	Desv. típ.	Media	Mediana	Desv. típ.
Nº inflorescencias por pámpano	1,38	1,40	0,44	1,40	1,44	0,41
Peso racimo	374,86	302,09	214,54	355,76	318,00	183,68
Tamaño racimo	31,58	31,23	6,78	31,65	31,48	5,94
Longitud racimo	19,45	19,18	4,40	19,45	19,27	3,89
Anchura racimo	12,29	12,05	2,83	12,28	12,27	2,54
Tamaño baya	280,92	276,12	102,95	282,36	277,94	89,14
Longitud baya	17,42	17,50	4,08	17,57	17,47	3,68
Anchura baya	15,63	15,86	2,72	15,73	15,89	2,35
Peso 1 baya	2,95	2,78	1,36	2,90	2,78	1,18
Grosor piel	179,30	172,00	48,38	179,12	170,50	47,70
Rendimiento mosto	135,92	126,00	58,50	133,49	127,00	49,53

Para comparar la distribución de los caracteres cualitativos puede atenderse a su representación mediante diagramas de barras (Figura 18). Para estos caracteres, las diferencias entre ambas colecciones son aún menores, aunque en general, puede apreciarse un leve incremento de la frecuencia de algunas clases minoritarias, como ocurre, por ejemplo, con los descriptores de compacidad del racimo y consistencia de la pulpa.

Figura 18. Gráficos de dispersión de los descriptores agronómicos cualitativos en la CN127 y la TGU245.





4.2.1.2. Diversidad y representatividad de la colección para el estudio del gen VvPel (CN96)

Construcción de la CN96

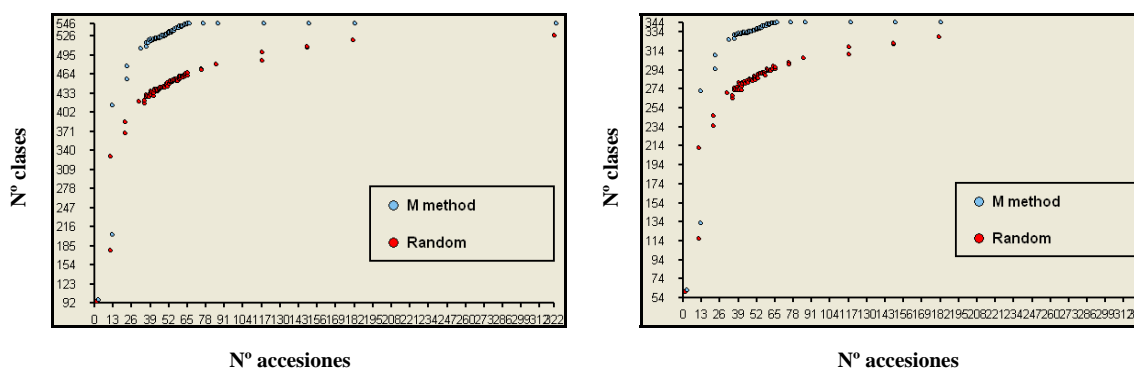
Para la construcción de la CN96 se empleó una metodología algo diferente, mediante la que se trataba, por un lado, de mejorar la selección de accesiones, y, por otro, de obtener una representación de cada clase por triplicado siempre que fuera posible. Para ello se construyeron tres colecciones independientes que posteriormente serían fusionadas para constituir la colección de 96 accesiones. Además, no se atendió al Índice de Shannon para la selección de la colección sino que cada colección fue construida en varios pasos, fijando en cada uno las accesiones que aparecían con mayor frecuencia en el total de colecciones resultantes de las 20 réplicas efectuadas por MStrat.

Partiendo de una colección global de 322 accesiones (Tabla 1, pág. 53), analizadas con 20 marcadores STMS y 55 descriptores agronómicos (Tabla 6, pág. 88), se determinó, mediante el estudio de la redundancia (Figura 19) que con sólo 62 accesiones (el 19% del total de accesiones) se obtenía el 100% de variabilidad.

La variabilidad obtenida por la estrategia empleada para la construcción de la CN96 (Estrategia M) en colecciones de diferente tamaño fue bastante superior a la obtenida

por un muestreo al azar (Estrategia R), capturando un promedio de 77 clases más, lo que representa un 14% de ganancia en diversidad.

Figura 19. Curvas de redundancia obtenidas mediante la Estrategia M (“M method”) frente a la Estrategia R (“Random”) para el total de variables morfológicas y moleculares (derecha) y para las variables morfológicas (izquierda). Cada punto es promedio de 20 réplicas.



Se construyó una primera colección nuclear de 37 accesiones (Tabla 20), denominada de aquí en adelante “CN1”, representativa del 96% de la variabilidad total, lo que suponía el 11,5% del total de accesiones de la colección global. Las 75 variables empleadas para la construcción de esta colección nuclear incluían un total de 546 clases, de las cuales, 344 clases eran morfológicas. La CN1 presentaba 523 clases totales y 334 clases morfológicas, lo que corresponde a un 94% de la variabilidad alélica y un 97% de la variabilidad morfológica existente en la colección global de 322 accesiones.

Dado que el objetivo era obtener una colección final de unas 100 accesiones aproximadamente, la segunda y tercera colecciones nucleares deberían contener alrededor de 30 accesiones. Para construir la segunda colección, se excluyeron las accesiones de la CN1 de la tabla de datos de 322 accesiones, así como cualquier accesión con idéntico genotipo (sinonimias o sports). Por ello, la tabla de datos empleada ahora contenía 253 accesiones, presentando 522 clases. Se construyó una colección nuclear de 34 accesiones (“CN2”; Tabla 20), que representaba el 93% de variabilidad alélica y el 94% de variabilidad morfológica existente en la tabla de 253 accesiones.

Para la construcción de la tercera colección nuclear, se excluyeron de la tabla de 253 accesiones las variedades presentes en la CN2 y los genotipos idénticos, partiéndose de una tabla de datos de 211 accesiones, para la cual existían un total de 511 clases. Se

obtuvo una colección de 32 accesiones (“CN3”; Tabla 20), que representaba el 94% de la variabilidad alélica y el 87% de la variabilidad morfológica del total de 211 accesiones.

Tabla 20. Colecciones nucleares (CN1, CN2 y CN3).

CN1		CN2		CN3	
Nombre Accesoión	Id Accesoión	Nombre Accesoión	Id Accesoión	Nombre Accesoión	Id Accesoión
Ahmeur bou Ahmeur	BGVCAM1375	Pirovano 620	BGVCAM?004	Agostenga	BGVCAM0923
Aledo	BGVCAM1191	Barlinka	BGVCAM1427	Alba Magna	BGVCAM1216
Aledo Real	BGVCAM1402	Black Alicante	BGVCAM1477	Albillo	BGVCAM1105
Attilio Ragionieri	BGVCAM1474	Bogni 8	BGVCAM1377	Beauty seedless	BGVCAM0797
Barbableu	BGVCAM0941	Chaouch blanc	BGVCAM1760	Bruni 125	BGVCAM1480
Beba dorada de Jaén	BGVCAM2341	Corinto blanco	BGVCAM1447	Bruni 415	BGVCAM1723
Korinthiaki	BGVCAM1212	Cornichon violet	BGVCAM1448	Clotilde Proserpi	BGVCAM1355
Kishmish Chernyi	BGVCAM1722	Corniola	BGVCAM1220	Dabouki	BGVCAM1384
Canner seedless	BGVCAM1378	Viola	BGVCAM1440	Dattier noir	BGVCAM1491
Cape Currant	BGVCAM1726	Fusca	BGVCAM1221	De cilindro	BGVCAM1610
Castellano morado	BGVCAM2246	General de la Marmora	BGVCAM1388	Imperial Napoleón*	BGVCAM2127
Chaouch rozovyi	BGVCAM1727	Helvany	BGVCAM1496	Foster's white seedless	BGVCAM2355
Chasselas violet	BGVCAM1798	Jerónimo	BGVCAM0825	Frankenthal	BGVCAM1356
Quiebratanajas tinto*	BGVCAM1888	Lady Downe's seedling	BGVCAM1497	Graziella I	BGVCAM1325
Conca d'Oro	BGVCAM1434	Lasina	BGVCAM1238	Kharistvala Kolkhuri	BGVCAM0984
Danlas	BGVCAM2349	Latina	BGVCAM1326	Imperial roja	BGVCAM1615
De cuerno	BGVCAM2078	Mistress Hall	BGVCAM1498	Kover Szoele	BGVCAM2255
Doron Maceron	BGVCAM2351	Moscato di Terracina	BGVCAM1357	Cypertraube	BGVCAM1213
El Farryali	BGVCAM1494	Muscat St. Laurent*	BGVCAM1393	Muscat of Alexandria	BGVCAM1997
Emerald seedless	BGVCAM1472	Negra dorada	BGVCAM2270	Perla nera*	BGVCAM0856
Ferral	BGVCAM0815	Negra tardía	BGVCAM1410	Pirovano 166A	BGVCAM?003
Marocain noir	BGVCAM1271	Olivette noire*	BGVCAM1358	Pirovano 771	BGVCAM1328
Italia X Sultanina V-6	BGVCAM1331	Ophthalmo	BGVCAM1214	Pizzutello moscato biondo	BGVCAM1329
Jouanenc	BGVCAM0826	Pirovano 18	BGVCAM0857	Pizzutello nero	BGVCAM1225
Khalili Belyi	BGVCAM2362	Pirovano 671	BGVCAM1504	Ragol	BGVCAM1426
Leopold III	BGVCAM1338	Malingre precoce	BGVCAM1746	Red Ohanes	BGVCAM2470
Maria rosa	BGVCAM1327	Primiera	BGVCAM0859	Regina*	BGVCAM1347
Nehelescol	BGVCAM1394	Queen	BGVCAM1397	Rodi	BGVCAM1265
Oscari rose	BGVCAM1272	Sultanina	BGVCAM1077	Bruni 1	BGVCAM0866
Planta mula	BGVCAM1158	Talismano	BGVCAM1330	Dymiat	BGVCAM1230
Roi des precoces	BGVCAM1506	Tempranilla blanca	BGVCAM2281	Superzibibbo*	BGVCAM1801
Rosaki noir de semis	BGVCAM1507	Trentham black	BGVCAM1510	Thalloczy Lajos	BGVCAM1361
Shiradzouli belyi	BGVCAM1065	Verico	BGVCAM1215		
Schiras	BGVCAM1066	Vivona 378	BGVCAM1437		
Trieste	BGVCAM1755				
Turki	BGVCAM1511				
Zeini Abiad	BGVCAM1513				

* Accesiones que no forman parte de la CN96.

La suma de estas tres colecciones constituye una colección nuclear de 103 accesiones (CN103), pero, dado que la metodología empleada para los análisis moleculares permitía trabajar con placas de 96 muestras, se excluyeron las accesiones de cada subcolección que menos riqueza aportaban, fijándose la colección total en 96 individuos ("CN96"). Esta colección contiene un total del 98% de la variabilidad existente en la colección global, que corresponde a un 97% de la diversidad alélica y un 99% de la morfológica.

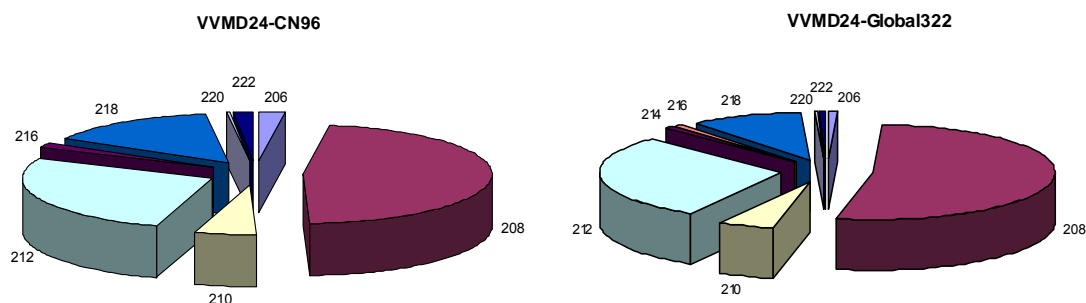
Evaluación de la diversidad alélica en la CN96

En la colección global de 322 accesiones con 20 marcadores microsatélite se detectaron un total de 202 alelos, mientras que en la CN96 se obtuvieron 196 alelos. De esos 6 alelos ausentes en la CN96, dos eran alelos únicos en la colección global, tres aparecían en dos accesiones y otro en 3 accesiones. En cuanto a la CN1, fueron 13 los alelos no capturados de la colección de 322 accesiones. La heterocigosidad observada en la colección global de 322 accesiones y en la CN96 para los 20 microsatélites estudiados fue de 0,75 y 0,76, respectivamente.

En general, se puede observar una tendencia de las frecuencias alélicas hacia una mayor homogeneización en la colección nuclear de 96 accesiones: un 73% de los alelos con una frecuencia en la colección global mayor del 10% decrecieron en la colección nuclear, mientras el 93% de los alelos con una frecuencia menor del 5% incrementaron su frecuencia. Otra muestra de esto es que el 62% de las frecuencias alélicas incrementaron su valor, de las cuales, un 67% presentaban un valor bajo (<5%) en la colección global.

Para el locus VVMD24, en la CN96 desapareció un alelo minoritario presente en la colección global (214) y decreció la mayor frecuencia, correspondiente al alelo 208, mientras aumentaron considerablemente las frecuencias de los alelos 206 y 222, como puede apreciarse en la Figura 20. La variación en este microsatélite es más marcada para la CN96 con respecto a la colección global de 322 accesiones que la variación observada entre la CN127 y la TGU245 (Figura 17).

Figura 20. Frecuencias alélicas del locus VVMD24 en la colección global (izquierda) y en la colección de 96 accesiones (derecha).



Evaluación de la diversidad agronómica en la CN96

Al igual que para la evaluación de la CN127, para la evaluación de la diversidad agronómica en esta colección se muestran, en la Tabla 21, la media, mediana y desviación típica de cada descriptor cuantitativo y, en la Figura 21, la distribución de cada descriptor cualitativo, en las dos colecciones (global y CN96), entre las cuales apenas existen diferencias.

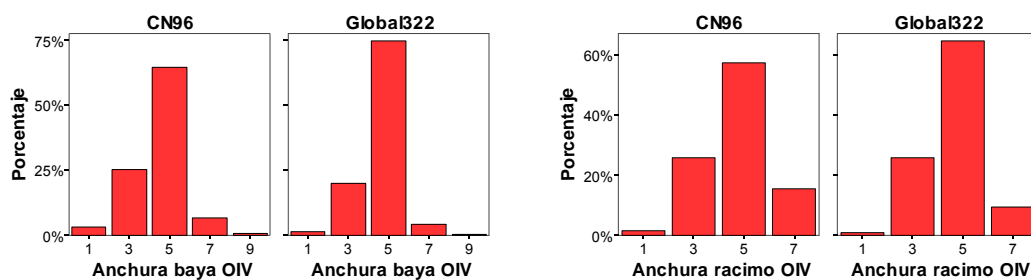
Respecto a la distribución de la mayoría de los caracteres cuantitativos, se puede apreciar una distribución más achatada en la CN96, con mayor desviación típica.

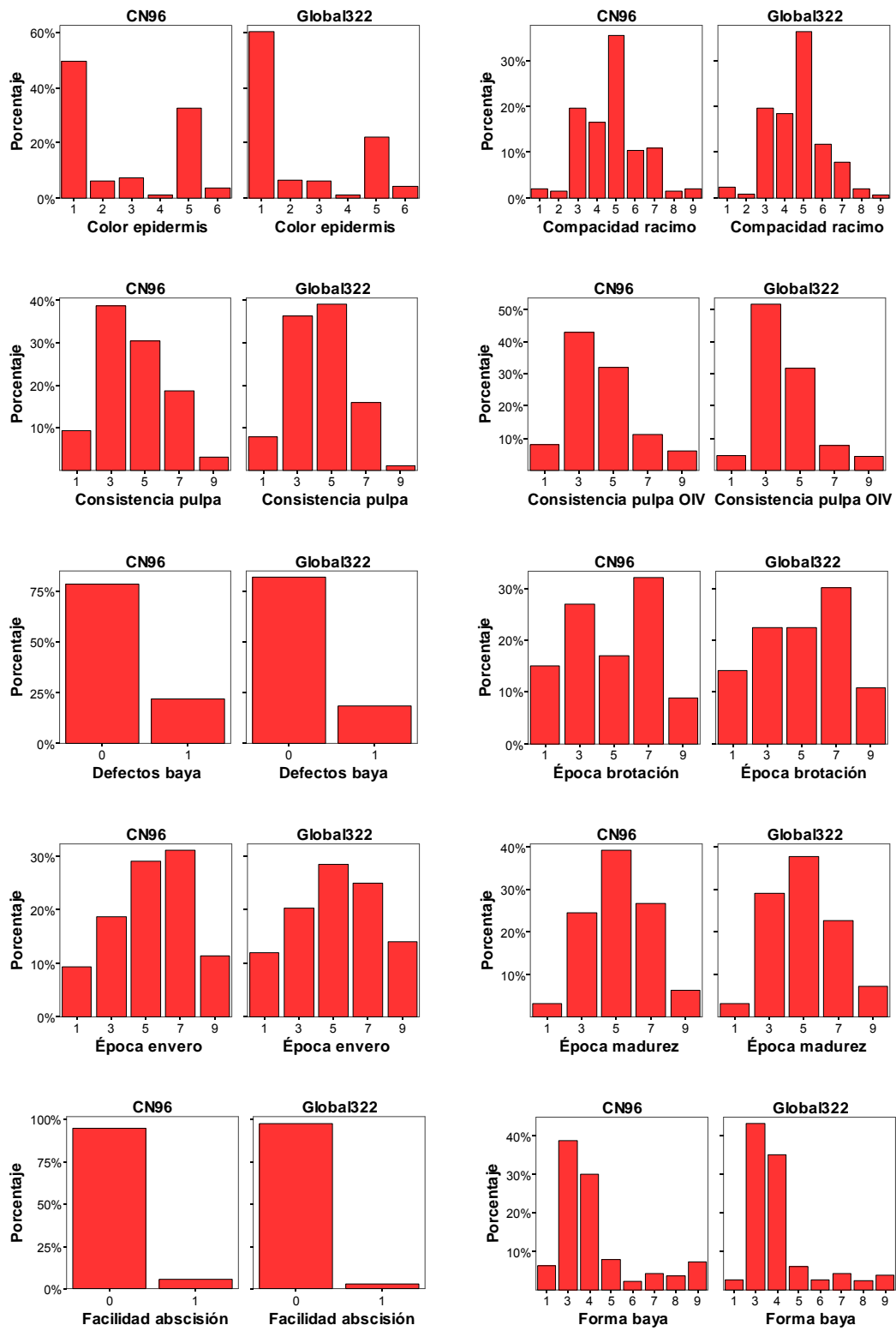
Atendiendo a la representación gráfica de la distribución de cada descriptor cualitativo mediante diagramas de barras (Figura 21), las diferencias detectadas fueron aún menores, puesto que ambas colecciones mantuvieron prácticamente la misma distribución para cada uno de los caracteres, con un ligero incremento en la CN96 de la mayoría de las frecuencias minoritarias. Únicamente puede apreciarse la desaparición en la colección nuclear de una clase en el descriptor “porcentaje de racimos con alas”.

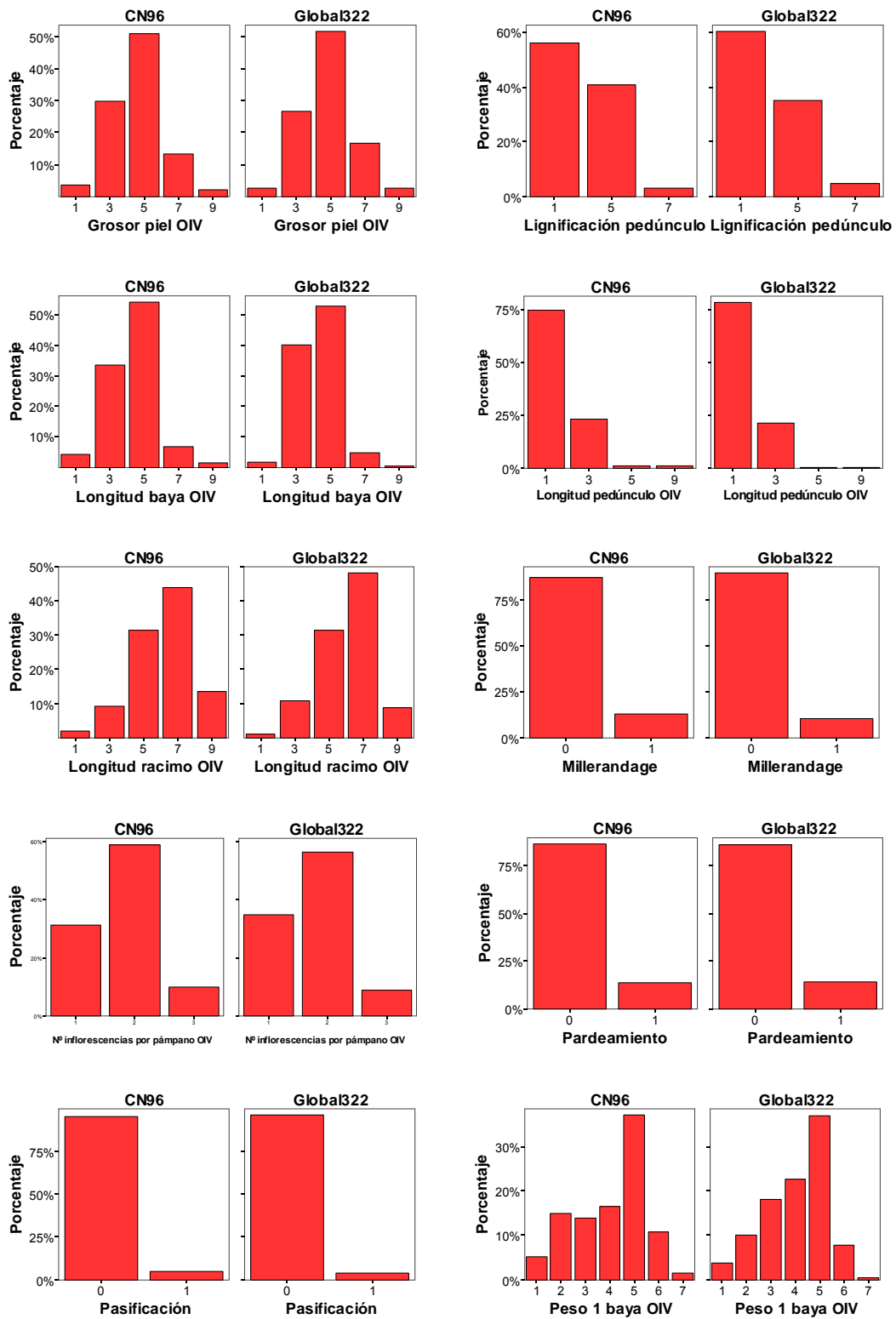
Tabla 21. Estadísticos descriptivos para los caracteres cuantitativos en la CN96 y en la colección global.

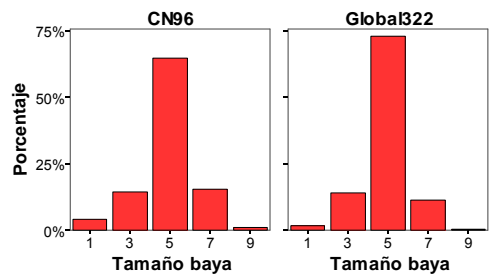
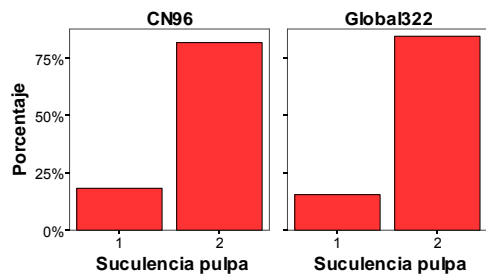
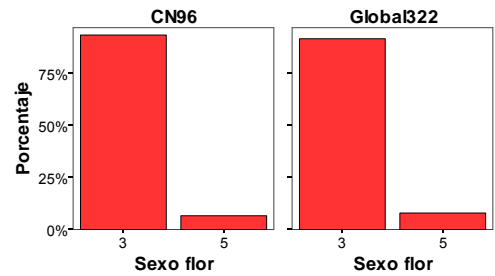
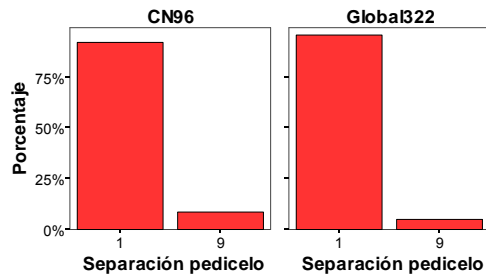
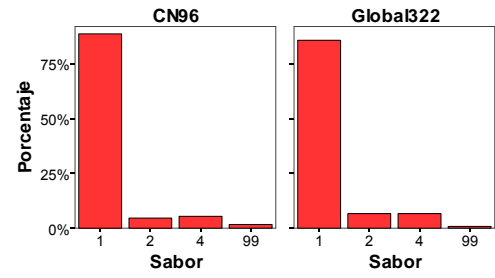
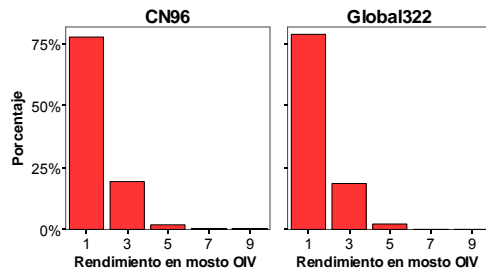
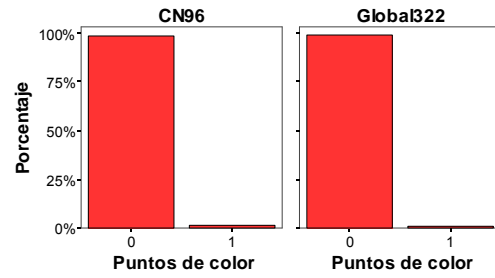
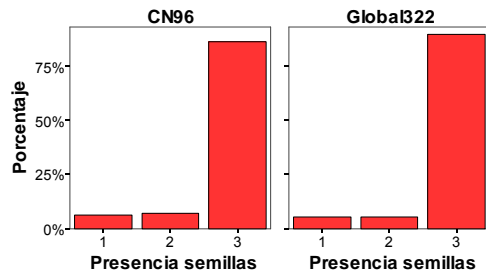
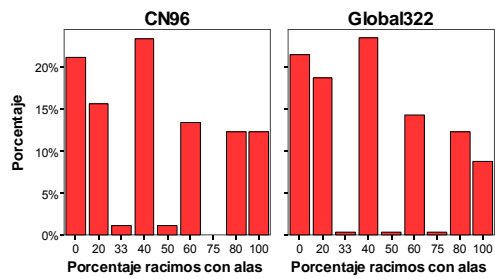
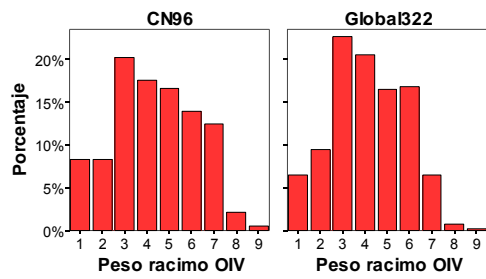
Descriptores cuantitativos	CN96			Global322		
	Media	Mediana	Desv. tít.	Media	Mediana	Desv. tít.
Nº inflorescencias por pámpano	1,39	1,40	0,52	1,40	1,40	0,52
Longitud pedúnculo	2,14	2,00	1,56	2,03	2,00	1,15
Peso racimo	375,81	316,00	244,52	338,36	306,50	195,62
Longitud racimo	19,83	19,00	5,15	19,49	19,00	4,45
Anchura racimo	12,42	12,00	3,13	12,13	12,00	2,71
Longitud baya	18,31	18,20	4,71	17,81	17,70	3,84
Anchura baya	15,71	15,90	3,22	15,72	15,80	2,61
Grosor piel	159,73	153,50	54,70	165,21	160,00	55,62
Nº semillas	2,25	2,20	0,63	2,20	2,20	0,60
Peso 1 baya	3,14	2,97	1,60	3,02	2,87	1,32
Rendimiento en mosto	123,40	110,00	61,31	118,91	116,00	53,59
CIRG	3,04	1,84	1,87	2,63	1,54	1,72
Fuerza 10%	2,04	1,87	0,93	1,95	1,86	0,74
Fuerza 20%	3,61	3,52	1,22	3,64	3,54	0,96
Fuerza ruptura	5,16	4,98	1,61	5,24	5,20	1,26
Deformación	0,25	0,26	0,07	0,27	0,27	0,06
Energía ruptura	10,78	10,12	4,68	11,53	11,75	3,98
Pendiente 10%	1,18	1,12	0,48	1,13	1,07	0,40
Pendiente ruptura	1,28	1,21	0,43	1,22	1,17	0,35
Turgor	0,11	0,09	0,19	0,09	0,08	0,15

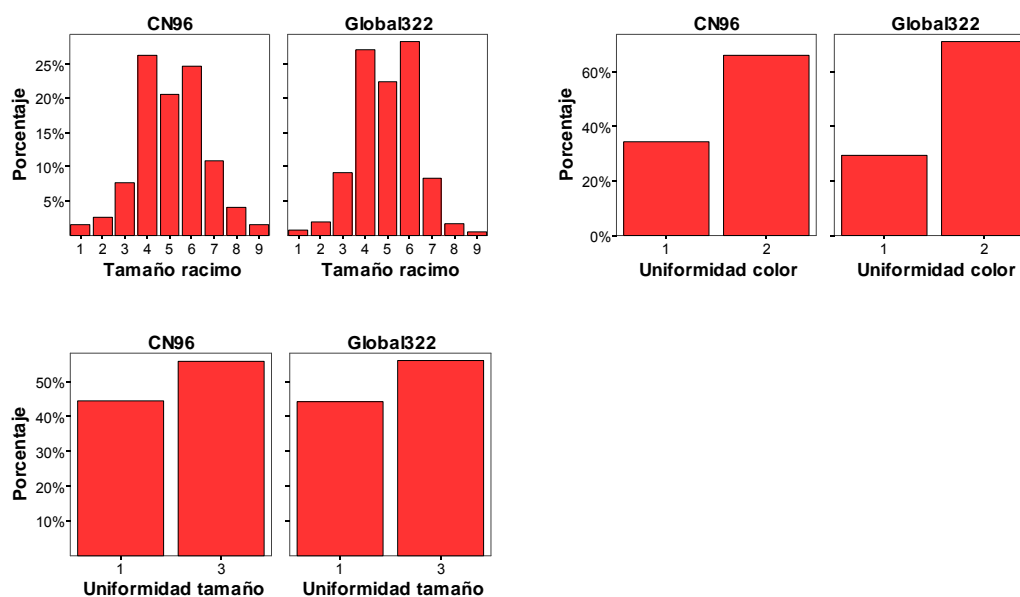
Figura 21. Gráficos de dispersión de los descriptores agronómicos cualitativos en la CN96 y la colección global de 322 accesiones.











Trató de evaluarse si realmente mediante este sistema de construcción y fusión de colecciones nucleares se obtenía una distribución de clases más equilibrada que construyendo una colección a partir de otra de menor tamaño y usando el Índice de Shannon para la selección de una de las réplicas (como la CN127). Para ello, se obtuvo con MStrat una colección nuclear de 96 accesiones partiendo de las 37 accesiones de la CN1. El valor máximo del Índice de Shannon obtenido para las 20 réplicas fue de 103,02, inferior al obtenido por la suma de CN1, CN2 y CN3 (de 106,04).

Por otro lado, dado que ambas colecciones nucleares contenían diferente número de accesiones, para poder compararlas, se obtuvo una colección de 96 accesiones a partir de la CN58, usando la TGU245 (a partir de las cuales se había construido la CN127). El Índice de Shannon para esta colección fue de 69,95.

A pesar de la existencia de ciertas diferencias en la metodología empleada para la construcción de las dos colecciones nucleares, éstas presentaban 55 accesiones coincidentes.

4.2.1.3. Análisis de estructura genética

Mediante el análisis de la estructura genética de las colecciones empleadas para el estudio de asociación en los genes *VvGAI1* y *VvPeI* con el software Structure, en base a los datos de microsatélites, se obtuvo tanto el número de posibles poblaciones en cada

colección como la probabilidad de cada variedad de pertenecer a cada una de dichas poblaciones.

De acuerdo al criterio de Pritchard *et al.* (2000a), habría 8 poblaciones en la colección CN127 y 6 poblaciones en la CN96. A partir de esos números de poblaciones se observaba un descenso en el LK (Figura 22). Sin embargo, atendiendo a la corrección de Evanno *et al.* (2005), aunque se mantuvo $K = 6$ para la CN96, se obtuvieron dos picos para la colección CN127, uno en $K = 2$ y otro en $K = 8$ ligeramente más alto, como se muestra en la Figura 23. Aunque ambos picos en la representación de ΔK frente a K eran bastante bajos, indicando una débil estructuración, dado que $K = 8$ era el número de poblaciones sugerido por el criterio de Pritchard (2000a), se interpretó finalmente que existían 8 poblaciones en la CN127. Además, para comprobar que no existía una estructuración más intensa en un número mayor de poblaciones, se obtuvo la probabilidad de que la colección estuviera dividida en un número de poblaciones de 11 a 13, para las cuales el LK continuó descendiendo.

Una vez seleccionado el valor de K para cada colección, de entre las 10 simulaciones realizadas en el análisis, se eligió la que presentó la combinación más probable de genotipos para esa K (Figuras 24 y 25). Las accesiones integrantes de cada población se muestran en las Tablas 22 y 23.

Figura 22. Logaritmo de la probabilidad de cada K para ambas colecciones.

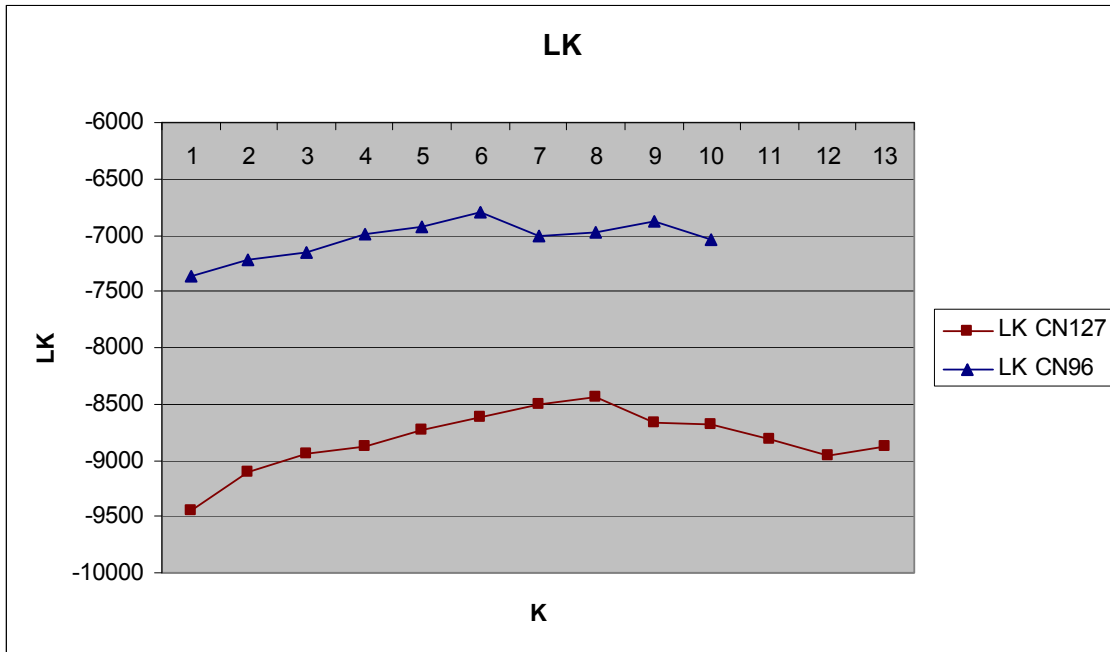


Figura 23. Representación gráfica de ΔK frente a K (cada colección nuclear tiene su propia escala).

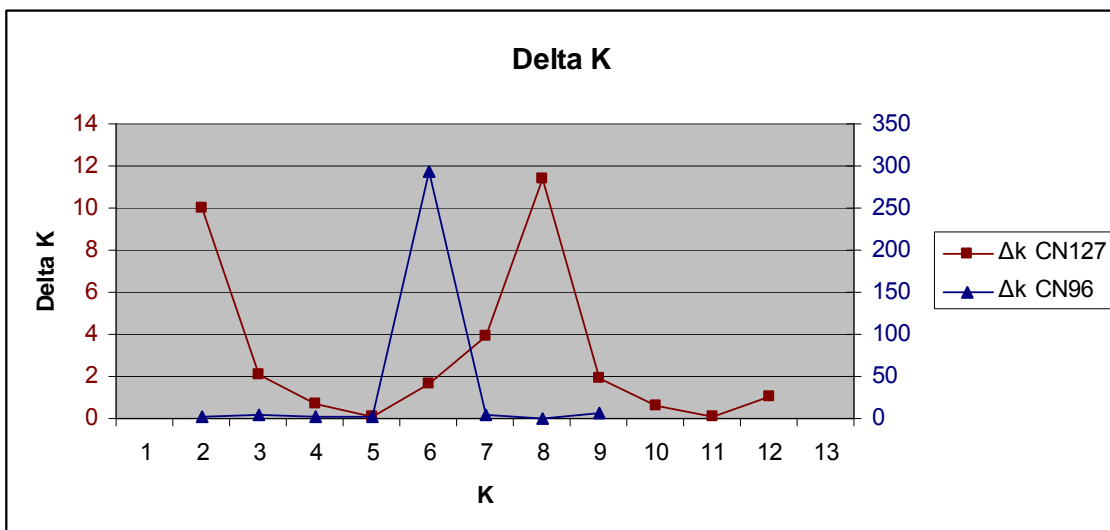


Tabla 22. Accesiones de la colección CN127 pertenecientes a cada población detectada por Structure y su correspondiente probabilidad de pertenecer a cada población (probabilidad de pertenecer a una población > 0,5 en negrita).

Código	Nombre VIVC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
49-Q1	Emberrous traube	0,881	0,027	0,032	0,012	0,010	0,019	0,008	0,011
45-Q1	Prosperi 285	0,855	0,040	0,012	0,014	0,007	0,005	0,059	0,009
81-Q1	Cereza	0,791	0,058	0,052	0,020	0,005	0,021	0,014	0,039
124-Q1	Pirovano 155	0,624	0,003	0,005	0,005	0,003	0,249	0,005	0,106
116-Q1	Lady Downe's seedling	0,604	0,010	0,311	0,047	0,011	0,010	0,004	0,004
62-Q1	Pirovano 575	0,586	0,075	0,011	0,151	0,039	0,012	0,098	0,028
48-Q1	Duchess of Buccleugh	0,572	0,049	0,054	0,025	0,012	0,020	0,238	0,031
71-Q1	Perle von Csaba rot	0,543	0,003	0,005	0,003	0,003	0,006	0,003	0,434
106-Q1	Maria Pirovano	0,510	0,003	0,004	0,005	0,465	0,004	0,005	0,003
41-Q1	Bruni 41	0,497	0,007	0,033	0,011	0,010	0,064	0,349	0,030
69-Q1	Volta	0,486	0,009	0,330	0,029	0,009	0,072	0,007	0,058
40-Q1	Prosperi 8	0,260	0,066	0,237	0,066	0,008	0,196	0,058	0,108
23-Q2	Teneron	0,006	0,948	0,011	0,009	0,010	0,003	0,009	0,005
18-Q2	Molinera	0,004	0,924	0,007	0,008	0,006	0,006	0,040	0,004
21-Q2	Cadrete	0,007	0,907	0,019	0,028	0,010	0,008	0,009	0,012
20-Q2	Ferral	0,003	0,898	0,009	0,008	0,005	0,005	0,068	0,003
22-Q2	Blanca	0,033	0,880	0,034	0,010	0,010	0,012	0,011	0,010
25-Q2	Eva	0,003	0,873	0,007	0,035	0,032	0,008	0,039	0,003
26-Q2	Valenci tinto	0,010	0,828	0,038	0,012	0,005	0,007	0,031	0,069
8-Q2	Foster's white seedless	0,029	0,820	0,024	0,022	0,024	0,024	0,011	0,047
14-Q2	Jerónimo	0,004	0,784	0,007	0,007	0,008	0,007	0,179	0,004
74-Q2	Coarna neagra	0,007	0,748	0,047	0,056	0,009	0,107	0,011	0,015
127-Q2	Grec blanc	0,008	0,715	0,081	0,058	0,076	0,009	0,026	0,026
111-Q2	Korinthiaki	0,016	0,713	0,153	0,071	0,006	0,014	0,015	0,013
77-Q2	Cornichon violet	0,010	0,687	0,168	0,067	0,008	0,029	0,006	0,024
102-Q2	Glacière	0,005	0,565	0,134	0,148	0,014	0,015	0,110	0,009
27-Q2	Aledo	0,011	0,452	0,018	0,013	0,009	0,030	0,447	0,020
31-Q3	Jouanenc	0,004	0,009	0,950	0,006	0,004	0,014	0,005	0,008
1-Q3	Kover Szoeloe	0,013	0,010	0,925	0,012	0,009	0,015	0,010	0,006
34-Q3	Jaoumet	0,005	0,019	0,922	0,005	0,004	0,025	0,011	0,008
95-Q3	Lasina	0,019	0,014	0,871	0,020	0,007	0,006	0,018	0,044
92-Q3	Mavrud	0,008	0,039	0,857	0,014	0,006	0,007	0,009	0,060
65-Q3	Roditis	0,006	0,044	0,848	0,021	0,006	0,013	0,042	0,019
72-Q3	Portugieser blau	0,007	0,027	0,843	0,016	0,010	0,074	0,011	0,011
42-Q3	Angela	0,007	0,008	0,824	0,057	0,012	0,010	0,066	0,016
24-Q3	Albillo	0,010	0,116	0,821	0,009	0,004	0,011	0,017	0,012
51-Q3	Marengo	0,026	0,010	0,821	0,016	0,024	0,018	0,079	0,006
105-Q3	Corinto bianco	0,016	0,096	0,805	0,029	0,009	0,010	0,006	0,030
32-Q3	Agostenga	0,004	0,008	0,800	0,010	0,004	0,059	0,007	0,108
110-Q3	Bruni 1	0,022	0,043	0,800	0,051	0,004	0,005	0,051	0,023
99-Q3	Black Alicante	0,012	0,017	0,736	0,050	0,010	0,152	0,013	0,009
83-Q3	Trentham black	0,043	0,031	0,732	0,044	0,006	0,081	0,030	0,032
47-Q3	Dimyat	0,142	0,028	0,725	0,071	0,009	0,009	0,010	0,007
43-Q3	Palestina I	0,007	0,063	0,644	0,009	0,006	0,133	0,122	0,016
11-Q3	Lival	0,006	0,005	0,575	0,006	0,004	0,393	0,005	0,007

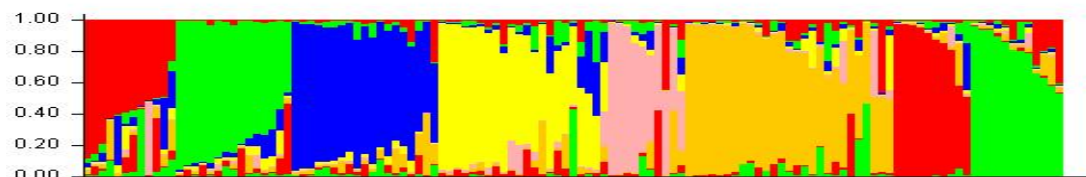
Resultados

Código	Nombre VIVC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
53-Q3	Ciclopica	0,271	0,006	0,504	0,009	0,004	0,125	0,005	0,076
125-Q4	Zeini Abiad	0,005	0,006	0,006	0,939	0,013	0,004	0,023	0,003
6-Q4	Doroni Maceron	0,009	0,007	0,009	0,935	0,022	0,006	0,007	0,005
120-Q4	Oscari rose	0,009	0,006	0,007	0,918	0,007	0,009	0,040	0,005
59-Q4	Dabouki	0,005	0,035	0,007	0,903	0,017	0,010	0,018	0,006
52-Q4	Sideritis	0,007	0,025	0,012	0,873	0,028	0,021	0,018	0,015
126-Q4	Chaouch blanc	0,018	0,009	0,012	0,868	0,007	0,044	0,033	0,010
63-Q4	Cornichon blanc	0,046	0,012	0,027	0,855	0,040	0,007	0,006	0,006
96-Q4	Rosaki noir de semis	0,021	0,009	0,033	0,839	0,015	0,018	0,058	0,007
117-Q4	Turki	0,157	0,010	0,043	0,756	0,006	0,012	0,010	0,005
39-Q4	El Gouz	0,023	0,015	0,009	0,723	0,185	0,005	0,038	0,004
100-Q4	Dattier noir	0,033	0,042	0,015	0,704	0,187	0,006	0,009	0,006
97-Q4	Verico	0,019	0,014	0,061	0,698	0,029	0,007	0,168	0,004
4-Q4	Negra dorada	0,041	0,150	0,012	0,634	0,060	0,041	0,057	0,006
10-Q4	Danam	0,009	0,009	0,006	0,613	0,010	0,337	0,009	0,007
50-Q4	Pirovano 18	0,094	0,008	0,239	0,605	0,016	0,007	0,005	0,025
57-Q4	Nehelescol	0,007	0,153	0,037	0,581	0,037	0,014	0,157	0,014
118-Q4	Conca d'Oro	0,016	0,122	0,022	0,566	0,008	0,216	0,044	0,005
9-Q4	Datal	0,007	0,013	0,022	0,500	0,008	0,007	0,010	0,433
70-Q4	Chaouch rozovyi	0,137	0,096	0,200	0,499	0,008	0,039	0,015	0,006
7-Q4	Khalili Belyi	0,012	0,054	0,404	0,470	0,016	0,017	0,006	0,021
46-Q4	Shiradzouli belyi	0,005	0,265	0,339	0,346	0,010	0,007	0,023	0,004
93-Q4	Insolia nera	0,019	0,056	0,196	0,313	0,220	0,099	0,081	0,016
114-Q5	Kishmish rozovyi	0,003	0,004	0,004	0,004	0,974	0,003	0,005	0,003
66-Q5	Talismano	0,004	0,006	0,006	0,007	0,962	0,003	0,009	0,003
113-Q5	Kishmish Chernyi	0,004	0,018	0,005	0,012	0,932	0,004	0,021	0,005
108-Q5	Canner seedless	0,006	0,071	0,016	0,055	0,829	0,003	0,014	0,005
115-Q5	Apirena di Velletri	0,018	0,072	0,040	0,035	0,676	0,005	0,020	0,135
112-Q5	Beauty seedless	0,014	0,057	0,117	0,037	0,549	0,169	0,008	0,049
68-Q5	Calmeria	0,007	0,006	0,007	0,011	0,541	0,006	0,419	0,004
107-Q5	Rodi	0,444	0,003	0,003	0,004	0,534	0,005	0,004	0,003
94-Q5	Queen	0,028	0,010	0,009	0,009	0,520	0,399	0,007	0,019
29-Q5	Emerald seedless	0,125	0,117	0,101	0,108	0,378	0,093	0,056	0,021
44-Q6	Princeps	0,008	0,003	0,004	0,004	0,003	0,972	0,003	0,003
85-Q6	Dalmasso 11-8	0,013	0,003	0,005	0,006	0,004	0,961	0,005	0,003
79-Q6	Alphonse Lavallée	0,011	0,004	0,008	0,005	0,005	0,956	0,006	0,005
54-Q6	Italia	0,008	0,006	0,006	0,005	0,006	0,952	0,010	0,007
89-Q6	Dalmasso 11-20	0,006	0,010	0,008	0,010	0,007	0,945	0,009	0,005
55-Q6	Clotilde Prosperi	0,007	0,008	0,005	0,010	0,011	0,944	0,011	0,004
61-Q6	Perlona	0,010	0,011	0,015	0,006	0,004	0,921	0,021	0,012
75-Q6	Lombardia	0,006	0,003	0,005	0,004	0,004	0,894	0,004	0,080
90-Q6	Pirovano 771	0,005	0,009	0,007	0,005	0,004	0,867	0,013	0,090
56-Q6	Afus Ali	0,015	0,019	0,016	0,028	0,013	0,846	0,060	0,004
76-Q6	Bruni 707	0,104	0,005	0,005	0,004	0,004	0,839	0,003	0,036
88-Q6	Viola	0,007	0,060	0,009	0,007	0,004	0,829	0,077	0,008
84-Q6	Superba	0,011	0,005	0,049	0,006	0,004	0,810	0,029	0,086
122-Q6	Sovrana	0,132	0,006	0,031	0,014	0,021	0,757	0,008	0,031
60-Q6	Aurata	0,130	0,054	0,008	0,007	0,004	0,721	0,068	0,008
86-Q6	Bogni 8	0,082	0,012	0,021	0,081	0,018	0,710	0,006	0,070
101-Q6	Barlinka	0,027	0,017	0,021	0,236	0,013	0,666	0,012	0,009
80-Q6	Pirovano 188	0,136	0,004	0,011	0,005	0,017	0,633	0,005	0,188

Código	Nombre VIVC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
13-Q6	Red Ohanes	0,016	0,245	0,061	0,024	0,018	0,608	0,013	0,016
17-Q6	Dominga	0,067	0,084	0,027	0,117	0,018	0,593	0,081	0,014
109-Q6	Italia x Sultanina V-6	0,012	0,011	0,033	0,074	0,274	0,535	0,014	0,046
87-Q6	Barbableu	0,033	0,011	0,006	0,008	0,007	0,533	0,399	0,004
121-Q6	Therme	0,110	0,014	0,072	0,026	0,005	0,525	0,011	0,237
82-Q6	Angelo Pirovano	0,005	0,004	0,005	0,004	0,003	0,508	0,003	0,468
123-Q6	Bruni 116	0,016	0,020	0,020	0,012	0,423	0,484	0,014	0,010
91-Q6	Maria rosa	0,458	0,004	0,015	0,008	0,003	0,480	0,011	0,020
67-Q6	Latina	0,038	0,024	0,031	0,356	0,056	0,467	0,016	0,012
19-Q7	Imperial roja	0,004	0,007	0,004	0,004	0,004	0,003	0,972	0,003
16-Q7	Ciruela roja	0,003	0,005	0,003	0,005	0,008	0,004	0,970	0,003
103-Q7	Colgar roja	0,004	0,005	0,005	0,005	0,008	0,006	0,964	0,003
104-Q7	Olivette noire	0,004	0,014	0,007	0,006	0,006	0,008	0,952	0,003
28-Q7	Imperial Napoleón	0,006	0,049	0,006	0,008	0,007	0,006	0,914	0,004
15-Q7	Negra tardía	0,010	0,035	0,038	0,019	0,010	0,011	0,869	0,008
5-Q7	Ahmeur bou Ahmeur	0,008	0,012	0,045	0,015	0,005	0,058	0,851	0,007
98-Q7	El Farryali	0,009	0,008	0,007	0,014	0,131	0,023	0,790	0,019
64-Q7	Servant	0,016	0,073	0,045	0,014	0,004	0,265	0,526	0,056
78-Q7	Prune de Cazouls	0,004	0,146	0,296	0,023	0,012	0,011	0,498	0,010
37-Q8	Circé	0,004	0,011	0,006	0,005	0,004	0,004	0,006	0,960
12-Q8	Madeleine Angevine	0,003	0,009	0,006	0,008	0,016	0,012	0,005	0,940
35-Q8	Chasselas musqué	0,015	0,005	0,014	0,005	0,003	0,011	0,007	0,940
3-Q8	Mondina	0,007	0,015	0,033	0,013	0,008	0,006	0,018	0,901
38-Q8	Bruni 415	0,033	0,007	0,007	0,024	0,016	0,044	0,006	0,862
73-Q8	Bruni 74	0,128	0,006	0,010	0,012	0,004	0,026	0,005	0,809
119-Q8	Black Prince	0,008	0,118	0,019	0,010	0,004	0,014	0,025	0,801
30-Q8	Madeleine Royale	0,008	0,018	0,023	0,030	0,095	0,030	0,008	0,789
2-Q8	Muscat Ottonel	0,290	0,014	0,008	0,008	0,007	0,009	0,005	0,659
33-Q8	Pirovano 315	0,196	0,006	0,009	0,008	0,009	0,126	0,011	0,636
36-Q8	Primiera	0,177	0,008	0,015	0,018	0,014	0,180	0,009	0,581
58-Q8	Vivona 378	0,403	0,008	0,007	0,009	0,004	0,033	0,007	0,528

Figura 24. Representación de la estructuración genética de las variedades de la CN127 agrupadas en función del grado de mezcla genética que presentan de cada población, representadas por diferentes colores. a) Comprimida; b) Ampliada, donde cada barra corresponde a una accesión según los códigos de la Tabla 22.

a)



b)

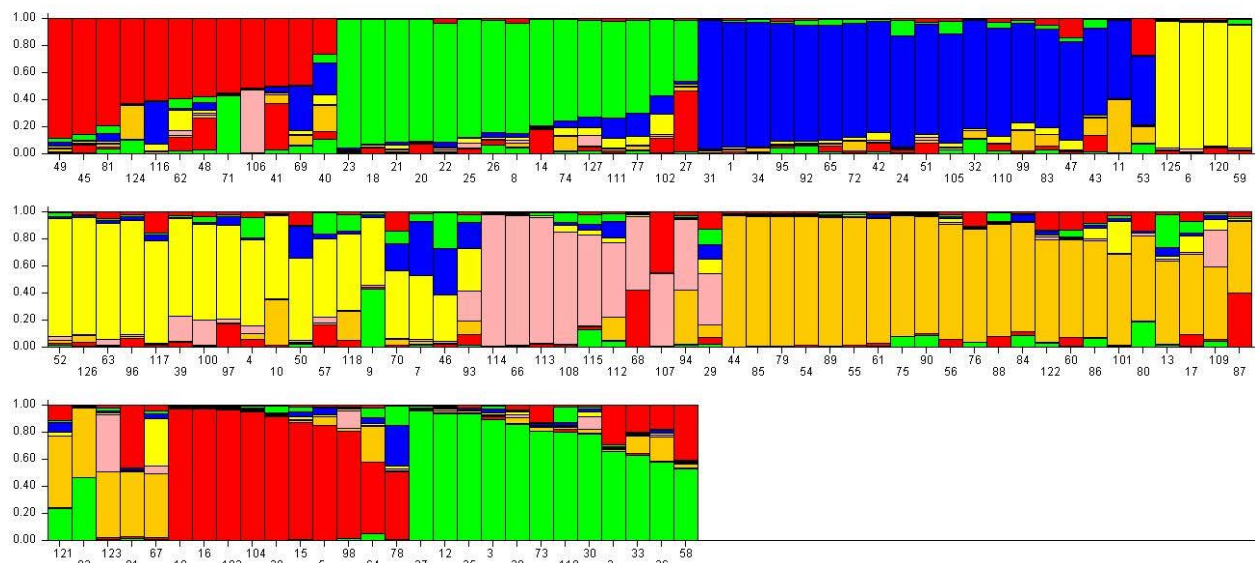


Tabla 23. Accesiones de la colección CN96 pertenecientes a cada población detectada con Structure y su correspondiente probabilidad de pertenecer a cada población (probabilidad de pertenecer a una población > 0,5 en negrita).

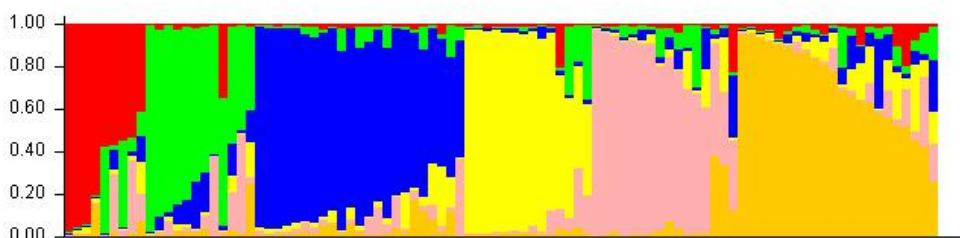
Código	Nombre VIVC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
80-Q1	Sultanina	0,977	0,004	0,005	0,005	0,004	0,006
44-Q1	Talismano	0,957	0,007	0,007	0,012	0,004	0,012
89-Q1	Kishmish Chernyi	0,942	0,004	0,006	0,031	0,006	0,012
83-Q1	Canner seedless	0,804	0,005	0,011	0,021	0,004	0,155
82-Q1	Rodi	0,577	0,405	0,004	0,004	0,004	0,006
88-Q1	Beauty seedless	0,571	0,020	0,090	0,024	0,269	0,025
81-Q1	Pirovano 166A	0,548	0,402	0,012	0,009	0,023	0,007
62-Q1	Queen	0,531	0,065	0,022	0,018	0,349	0,015
23-Q1	Emerald seedless	0,410	0,115	0,121	0,149	0,127	0,078
5-Q2	Muscat of Alexandria	0,005	0,971	0,004	0,006	0,008	0,006
70-Q2	Mistress Hall	0,025	0,882	0,059	0,011	0,011	0,013
31-Q2	Trieste	0,004	0,878	0,018	0,026	0,061	0,014
86-Q2	Cape Currant	0,027	0,821	0,091	0,026	0,011	0,024
32-Q2	Thalloczy Lajos	0,010	0,815	0,115	0,015	0,019	0,026
90-Q2	Lady Downe's seedling	0,016	0,720	0,226	0,005	0,007	0,026
29-Q2	Attilio Ragionieri	0,010	0,686	0,184	0,015	0,065	0,040
94-Q2	Pirovano 671	0,003	0,608	0,005	0,005	0,373	0,006
79-Q2	Graziella I	0,346	0,601	0,019	0,008	0,013	0,013
30-Q2	Alba Magna	0,009	0,550	0,155	0,076	0,181	0,029
61-Q2	Maria rosa	0,004	0,494	0,011	0,008	0,468	0,015
37-Q2	Moscato di Terracina	0,008	0,399	0,147	0,162	0,028	0,256
24-Q3	Jouanenc	0,006	0,007	0,944	0,008	0,023	0,012
3-Q3	Tempranilla blanca	0,004	0,012	0,943	0,022	0,011	0,008
78-Q3	Corinto blanco	0,008	0,013	0,937	0,015	0,015	0,013
19-Q3	Albillo	0,005	0,011	0,928	0,028	0,019	0,010
63-Q3	Lasina	0,007	0,014	0,912	0,031	0,019	0,017
71-Q3	Black Alicante	0,014	0,034	0,874	0,011	0,044	0,025
1-Q3	Kover Szoeloe	0,013	0,047	0,873	0,022	0,030	0,015
7-Q3	Khalili Belyi	0,026	0,011	0,870	0,012	0,029	0,052
33-Q3	Shiradzouli belyi	0,012	0,007	0,859	0,051	0,008	0,062
69-Q3	Marocain noir	0,020	0,102	0,843	0,008	0,011	0,016
52-Q3	Cornichon violet	0,016	0,005	0,839	0,058	0,024	0,059
34-Q3	Dimyat	0,012	0,101	0,833	0,019	0,010	0,024
53-Q3	Bruni 125	0,010	0,070	0,822	0,007	0,083	0,008
26-Q3	Malingre precoce	0,010	0,012	0,809	0,029	0,131	0,009
54-Q3	Trentham black	0,007	0,102	0,802	0,030	0,043	0,016
25-Q3	Agostenga	0,008	0,007	0,785	0,011	0,149	0,040
20-Q3	Planta mula	0,008	0,016	0,763	0,172	0,015	0,026
9-Q3	Danlas	0,024	0,012	0,731	0,014	0,042	0,176
47-Q3	Chaouch rozovyi	0,012	0,105	0,694	0,046	0,017	0,126
87-Q3	Korinthiaki	0,006	0,010	0,637	0,190	0,074	0,082
8-Q3	Foster's white seedless	0,048	0,019	0,598	0,283	0,029	0,022
85-Q3	Bruni 1	0,006	0,150	0,561	0,141	0,023	0,119
48-Q3	Chasselas violet	0,008	0,070	0,544	0,007	0,365	0,007
15-Q4	Ragol	0,010	0,008	0,006	0,961	0,006	0,009

Resultados

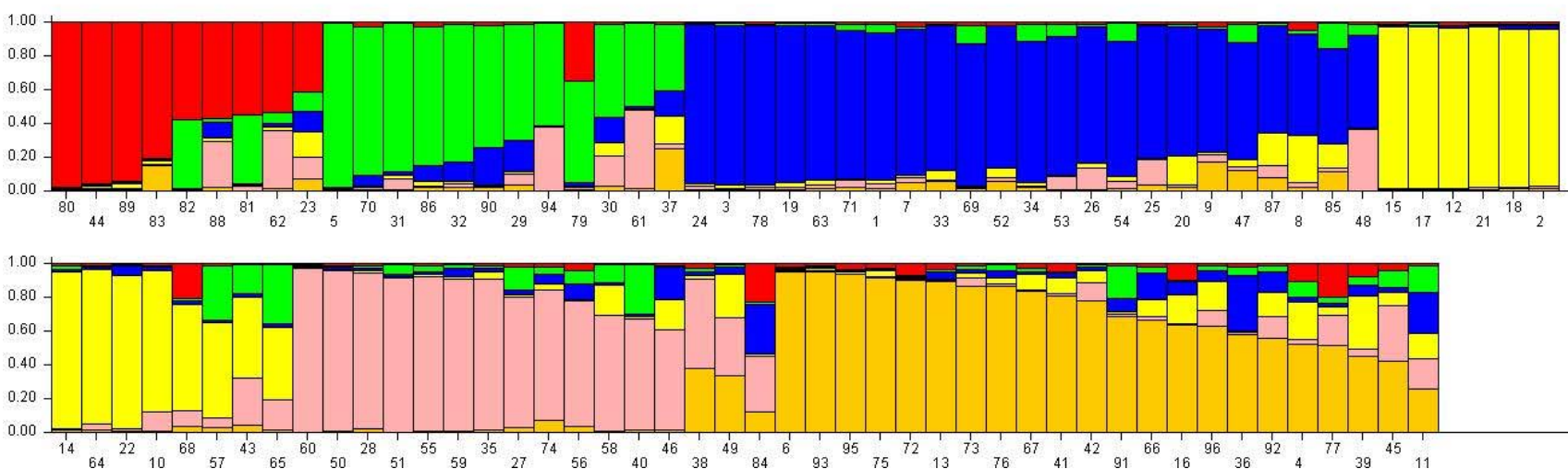
Código	Nombre VIVC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
17-Q4	Imperial roja	0,006	0,015	0,007	0,955	0,005	0,012
12-Q4	Jerónimo	0,016	0,005	0,010	0,951	0,008	0,011
21-Q4	Aledo	0,009	0,007	0,012	0,949	0,014	0,009
18-Q4	Ferral	0,009	0,007	0,025	0,933	0,006	0,020
2-Q4	Castellano morado	0,010	0,007	0,022	0,928	0,014	0,019
14-Q4	Negra tardía	0,014	0,020	0,015	0,924	0,011	0,015
64-Q4	Ahmeur bou Ahmeur	0,009	0,007	0,017	0,914	0,033	0,020
22-Q4	Aledo Real	0,006	0,008	0,057	0,901	0,017	0,011
10-Q4	Beba dorada de Jaén	0,008	0,008	0,021	0,840	0,110	0,012
68-Q4	El Farryali	0,205	0,011	0,026	0,625	0,091	0,043
57-Q4	Barbaleu	0,013	0,320	0,015	0,560	0,058	0,034
43-Q4	Pizzutello moscato biondo	0,007	0,168	0,020	0,482	0,274	0,049
65-Q4	Pirovano 620	0,007	0,350	0,017	0,429	0,181	0,017
60-Q5	Pirovano 771	0,004	0,005	0,006	0,008	0,973	0,005
50-Q5	Frankenthal	0,009	0,006	0,019	0,008	0,944	0,015
28-Q5	Bruni 415	0,011	0,015	0,014	0,016	0,921	0,022
51-Q5	Leopold III	0,005	0,053	0,014	0,009	0,913	0,007
55-Q5	Fusca	0,010	0,033	0,018	0,016	0,912	0,012
59-Q5	Kharistvala Kolkhuri	0,004	0,018	0,053	0,011	0,904	0,010
35-Q5	General de la Marmora	0,008	0,015	0,023	0,046	0,893	0,014
27-Q5	Primiera	0,021	0,130	0,032	0,012	0,776	0,029
74-Q5	Barlinka	0,016	0,046	0,053	0,035	0,775	0,074
56-Q5	Bogni 8	0,040	0,079	0,090	0,011	0,739	0,041
58-Q5	Viola	0,007	0,104	0,014	0,177	0,688	0,009
40-Q5	Vivona 378	0,005	0,293	0,012	0,015	0,657	0,019
46-Q5	Roi des precoces	0,009	0,011	0,191	0,179	0,593	0,017
38-Q5	Clotilde Prosperi	0,025	0,025	0,015	0,024	0,526	0,386
49-Q5	Schiras	0,006	0,010	0,045	0,256	0,345	0,337
84-Q5	Italia x Sultanina V-6	0,226	0,016	0,288	0,019	0,325	0,126
6-Q6	Doroni Maceron	0,019	0,006	0,009	0,006	0,005	0,955
93-Q6	Oscari rose	0,011	0,008	0,008	0,013	0,007	0,953
95-Q6	Zeini Abiad	0,030	0,007	0,011	0,011	0,005	0,936
75-Q6	Helvany rouge	0,023	0,006	0,009	0,040	0,007	0,914
72-Q6	Dattier noir	0,067	0,009	0,007	0,009	0,005	0,903
13-Q6	De cuerno	0,031	0,018	0,039	0,008	0,008	0,896
73-Q6	Ophtalmo	0,014	0,017	0,020	0,031	0,051	0,867
76-Q6	Pizzutello nero	0,007	0,030	0,044	0,036	0,018	0,865
67-Q6	Verico	0,026	0,021	0,017	0,087	0,007	0,842
41-Q6	Dabouki	0,045	0,007	0,031	0,092	0,017	0,808
42-Q6	Corniola	0,005	0,014	0,022	0,068	0,106	0,784
91-Q6	Turki	0,014	0,188	0,078	0,017	0,014	0,690
66-Q6	Rosaki noir de semis	0,016	0,036	0,159	0,098	0,025	0,666
16-Q6	De cilindro	0,098	0,007	0,076	0,171	0,010	0,638
96-Q6	Chaouch blanc	0,010	0,032	0,064	0,170	0,092	0,631
36-Q6	Pirovano 18	0,018	0,053	0,322	0,011	0,012	0,584
92-Q6	Conca d'Oro	0,013	0,030	0,124	0,145	0,128	0,560
4-Q6	Negra dorada	0,104	0,091	0,028	0,225	0,027	0,526
77-Q6	Cyperntraube	0,195	0,039	0,018	0,055	0,177	0,516
39-Q6	Nehelescol	0,073	0,053	0,063	0,313	0,047	0,452
45-Q6	Latina	0,042	0,096	0,033	0,074	0,331	0,423
11-Q6	Red Ohanes	0,010	0,155	0,249	0,145	0,178	0,262

Figura 25. Representación de la estructuración genética de las variedades de la CN96 agrupadas en función del grado de mezcla genética que presentan de cada población, representadas por diferentes colores. a) Comprimida; b) Ampliada, donde cada barra corresponde a una accesión según los códigos de la Tabla 23.

a)



b)



Los resultados de Structure muestran que la CN127 podría estar estructurada en 8 supuestas poblaciones, conformadas por un número de variedades entre 10 y 22 (Tabla 22) y cuyos rasgos generales se describen a continuación. La población CN127-Q1 se caracteriza por contener un alto porcentaje (80%) de accesiones descendientes de variedades con sabor moscatel. En la población CN127-Q2, destaca la presencia de un mayor porcentaje de variedades originarias de la Península Ibérica (60%), seguido de un 20% de variedades francesas. Otra característica interesante de esta población es que el 50% son variedades de uso mixto (vinificación y mesa). La población CN127-Q3 se compone de una mezcla de variedades de diferentes orígenes, aunque especialmente mediterráneas (69%). La población CN127-Q4 está formada en un 55% por variedades orientales o descendientes directas de éstas y en un 32% por variedades de origen desconocido (posiblemente antiguas). La población CN127-Q5 constituye un grupo representado por variedades apirenas (70%), estando la mayoría emparentadas con Sultanina. La mayor parte de las variedades presentes en la población CN127-Q6 (74%) son variedades altamente emparentadas entre sí, seleccionadas de cruzamientos llevados a cabo por obtentores italianos, para los que utilizaron recurrentemente determinados cultivares tales como Muscat Hamburg e Italia. La población CN127-Q7, con tan sólo 10 accesiones, presenta 6 variedades de procedencia española, 2 francesas y 2 marroquíes. La población CN127-Q8 parece representar un grupo de variedades francesas, ya que el 50% de las accesiones presentes en este grupo muestran dicha procedencia, y del resto, obtenidas por mejoradores italianos en su mayoría, algunas presentan progenitores directos o indirectos de origen francés, siendo Chasselas o Schiras los más comunes.

En la CN96, según indican los resultados de Structure, podrían existir 6 supuestas poblaciones (Tabla 23), de las cuales, dos grupos parecen ser bastante congruentes: CN96-Q1, en el que aparecen variedades directamente emparentadas con Sultanina, y CN96-Q2, en el que aparecen variedades moscatel. La población CN96-Q4 presenta mayoritariamente variedades originarias de la Península Ibérica (64%) y la población CN96-Q5 contiene principalmente variedades generadas a partir de cruzamientos realizados por obtentores italianos, aunque también presenta algunas variedades francesas. Las poblaciones CN96-Q3 y CN96-Q6, sin embargo, no muestran un perfil tan característico, pudiendo observarse en ambos grupos una mezcla de variedades de diferentes procedencias, aunque entre las dos poblaciones se reparten la mayoría de las variedades de origen oriental presentes en la colección.

En cuanto al número de alelos observados en las diferentes poblaciones detectadas para la colección CN127, se obtuvo un máximo de 168 alelos en la población CN127-Q4, frente a un mínimo de 90 alelos en la población CN127-Q7 (Tabla 24). En la CN96, la diferencia entre el número de alelos observados en las diferentes poblaciones fue algo menor, siendo el máximo número de alelos detectados de 164 en la población CN96-Q3 y el mínimo de 101 en la población CN96-Q1.

Tanto para la CN127 como para la CN96, se obtuvo un número relativamente bajo de alelos específicos de cada población, excepto en las poblaciones conformadas por variedades orientales, donde fue considerablemente superior (de 7 a 9 alelos específicos, sin tener en cuenta los alelos únicos en la colección global, que podrían aparecer por azar en una población u otra, por lo que no aportan información significativa). De estos alelos específicos de cada población, los de mayor frecuencia (de 0,15 a 0,2) se encontraron en las poblaciones CN127-Q5, CN127-Q7 y CN96-Q1.

Tabla 24. Distribución alélica en las diferentes poblaciones de cada colección.

Colección	Población	Nº individuos	Alelos totales	Alelos específicos	Alelos específicos sin contabilizar los alelos únicos
CN127	CN127-Q1	12	118	1	0
	CN127-Q2	15	122	6	1
	CN127-Q3	19	141	9	2
	CN127-Q4	22	168	21	9
	CN127-Q5	10	107	6	3
	CN127-Q6	27	128	1	1
	CN127-Q7	10	90	4	2
	CN127-Q8	12	109	6	2
CN96	CN96-Q1	9	101	5	4
	CN96-Q2	12	116	0	0
	CN96-Q3	23	164	17	7
	CN96-Q4	14	112	6	3
	CN96-Q5	16	123	2	1
	CN96-Q6	22	153	14	8

Con el fin de determinar el grado de divergencia entre las poblaciones detectadas en las dos colecciones analizadas con el software Structure, se realizó un Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) (Tablas 25 y 26), y un test de diferenciación con el software Arlequín 3.11.

Tabla 25. Análisis Molecular de la Varianza llevado a cabo con los datos de los 21 loci microsatélite de las 8 poblaciones detectadas en la CN127 con el software Structure.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	COMPONENTES DE LA VARIANZA	PORCENTAJE DE VARIACIÓN
Entre poblaciones	201,48	0,69	8,47
Dentro de poblaciones	1824,28	7,42	91,53
Total	2025,77	8,10	100
Índice de Fijación	Fst : 0,085		

Tabla 26. Análisis Molecular de la Varianza llevado a cabo con los datos de los 22 loci microsatélite de las 6 poblaciones detectadas en la CN96 con el software Structure.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	COMPONENTES DE LA VARIANZA	PORCENTAJE DE VARIACIÓN
Entre poblaciones	129,39	0,58	6,94
Dentro de poblaciones	1442,31	7,75	93,06
Total	1571,69	8,33	100
Índice de Fijación	Fst : 0,069		

Estos resultados muestran que el 91,5% y el 93,1% de la variación existente en las colecciones CN127 y CN96, respectivamente, proviene de la variabilidad intrínseca de las variedades dentro de las poblaciones, mientras que solamente el 8,5% y el 6,9% de la variación se debió a la variabilidad en las frecuencias alélicas encontrada entre las poblaciones. En el mismo sentido, el resultado obtenido con el test exacto de diferenciación entre poblaciones realizado para las dos colecciones con el software Arlequín, no fue significativo.

Por otra parte, dado que los análisis de estructura realizados asumen que se cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), es importante destacar que para la mayoría de los loci no se puede rechazar la hipótesis de que estén en EHW (Tabla 27), e incluso usando la Corrección de Bonferroni para tests múltiples, el conjunto de loci estudiados en cada colección “cumplía” el EHW ($p > 0,0024$ para la CN127 y $p > 0,0023$ para la CN96). Dado el pequeño número de individuos en cada una de las poblaciones, no tiene sentido estudiar el EHW en ellas.

Tabla 27. Valores de significación (p) obtenidos del análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus en la CN127 y en la CN96. (Valores significativos al nivel de 0,05 en negrita).

CN127		CN96	
Locus	P	Locus	P
VMC1B11	0,029	VMC1B11	0,010
VMC4F3-1	0,272	VMC4F3-1	0,707
VVIB01	0,883	VVIB01	0,416
VVIH54	0,032	VVIH54	0,011
VVIN16	0,759	VVIN16	0,944
VVIN73	0,012	VVIN73	0,121
VVIP31	0,991	VVIP31	0,990
VVIQ52	0,005	VVIP60	0,154
VVIV37	0,373	VVIQ52	0,779
VVIV67	0,706	VVIV37	0,389
VVMD5	0,645	VVIV67	0,900
VVMD7	0,166	VVMD5	0,030
VVMD21	0,099	VVMD7	0,742
VVMD24	0,036	VVMD21	0,710
VVMD25	0,769	VVMD25	0,496
VVMD27	0,067	VVMD27	0,131
VVMD28	0,007	VVMD28	0,176
VVMD32	0,062	VVMD32	0,291
VVS2	0,036	VVS2	0,998
ZAG62	0,168	ZAG29	0,283
ZAG67	0,012	ZAG62	0,236
		ZAG67	0,083

4.2.1.4. Análisis de agrupamientos

A partir de las mismas tablas de genotipos empleadas para obtener la estructura genética de las colecciones CN127 y CN96, se generó un dendrograma para cada colección utilizando el método UPGMA, a partir de una matriz de distancias (Figuras 26 y 27).

En el análisis de la CN127 se obtuvieron algunos grupos que guardan bastante correspondencia con los obtenidos mediante Structure, como las poblaciones CN127-Q5, CN127-Q7 y CN127-Q8 (Figura 26). Sólo algunas accesiones no aparecen en su supuesto grupo y la mayoría de ellas presentan un alto grado de mezcla. La población CN127-Q3, sin embargo, se divide en dos subgrupos, y la población CN127-Q4 se reparte formando tres subgrupos principalmente: uno que se agrupa con CN127-Q5, otro próximo a CN127-Q2 y CN127-Q7, y otro externo a estos dos últimos.

En todo caso, en el dendrograma pueden observarse claramente dos grandes grupos, uno en el que se agrupan las poblaciones CN127-Q1, CN127-Q3, CN127-Q6 y CN127-Q8 (Grupo A), y otro en el que se agrupan las poblaciones CN127-Q2, CN127-Q4, CN127-Q5 y CN127-Q7 (Grupo B), con muy pocas excepciones. El Grupo A correspondería en general a variedades obtenidas mediante cruzamientos dirigidos en los dos siglos, mientras que el Grupo B está conformado en su mayoría por variedades antiguas, cuyos progenitores son de origen desconocido en muchos casos. Estos dos grandes grupos guardan una gran correspondencia con los resultados obtenidos mediante Structure para $K = 2$ (datos no mostrados, Figura 23, pág. 148).

En el análisis de la CN96 también existe cierta correspondencia entre las poblaciones obtenidas por Structure y los resultados obtenidos mediante el análisis de agrupamientos, aunque la población CN96-Q3 y, especialmente, la CN96-Q6 aparecen dispersas, dividiéndose entre diferentes grupos (Figura 27). En principio, algunas de las poblaciones establecidas con Structure parecen mantenerse en el cladograma, como CN96-Q4 y CN96-Q5, aunque al grupo formado por CN96-Q4 se suman algunas accesiones pertenecientes a CN96-Q6. CN96-Q1 se mantiene, pero se unen a ella, en un pequeño grupo anexo, parte de las accesiones pertenecientes a CN96-Q6. CN96-Q2 también se mantiene, integrándose en él dos accesiones de la población CN96-Q3 mientras otras accesiones de esta población se unen como otro pequeño grupo anexo. Por otro lado, algunas accesiones pertenecientes a CN96-Q3, CN96-Q5 y CN96-Q6 se unen para conformar otro grupo independiente, externo al conformado por CN96-Q4 y CN96-Q5.

En todo caso, para ambas colecciones, la mayoría de las accesiones que aparecen en otros grupos presentan un alto porcentaje de mezcla, con probabilidades de pertenecer a ese otro grupo muy similares a las de pertenecer al grupo en el que se muestran en este trabajo (Tabla 22, pág. 149 y Tabla 23, pág. 153).

Figura 26. Dendrograma de la CN127 obtenido mediante el método UPGMA a partir de una matriz de distancias construida con los datos de 21 loci microsatélite.

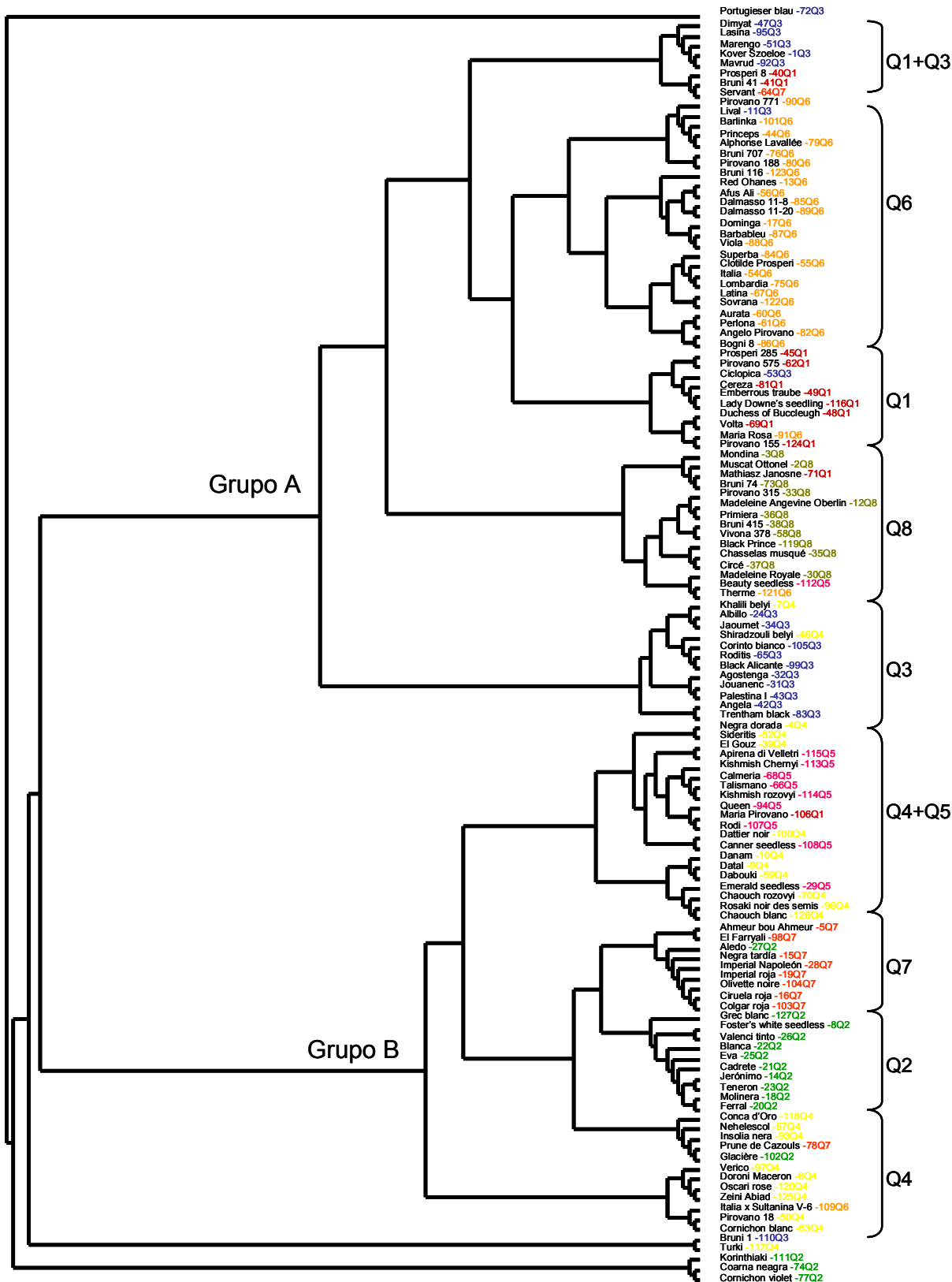
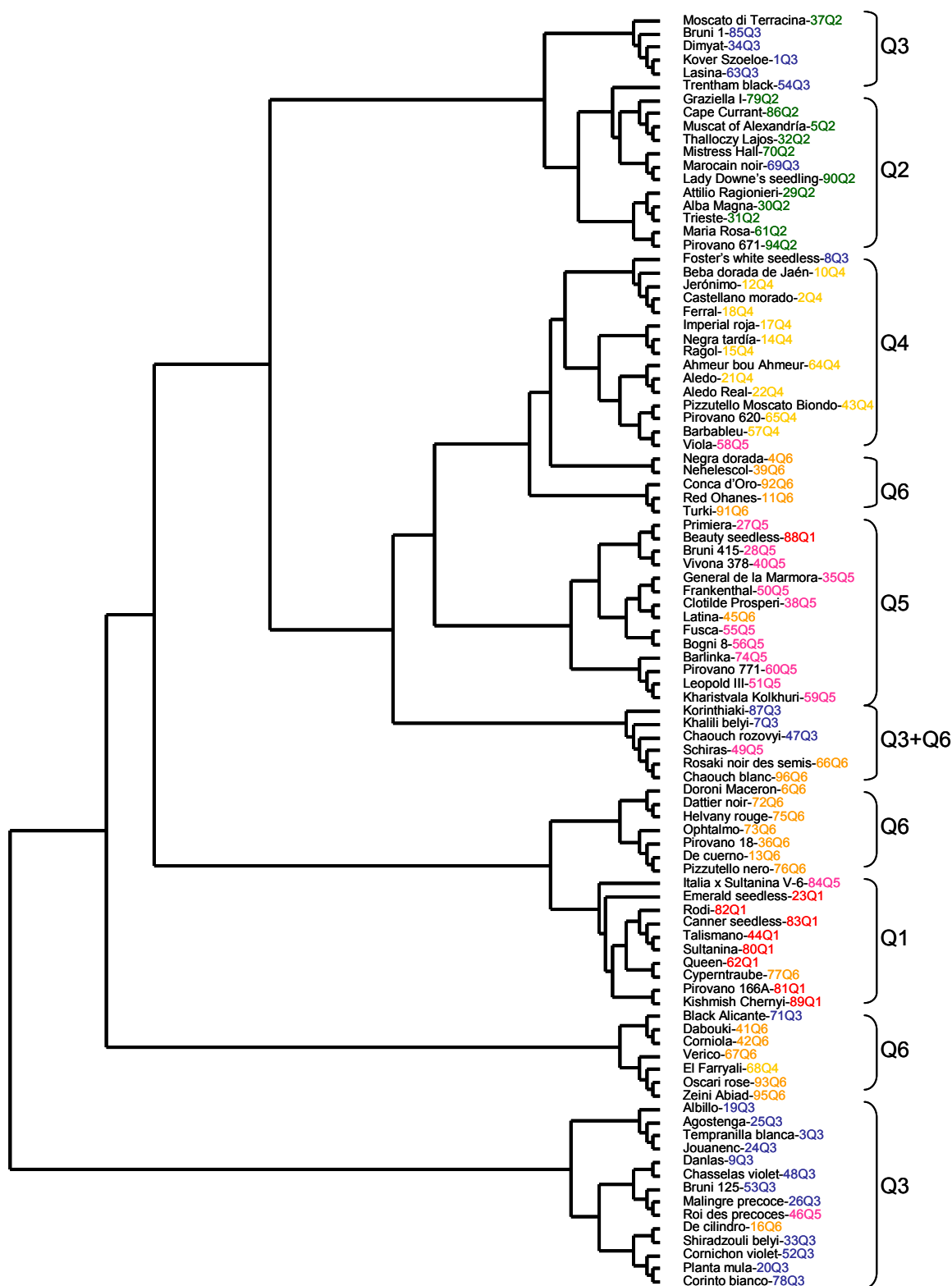


Figura 27. Dendrograma de la CN96 obtenido mediante el método UPGMA a partir de una matriz de distancias construida con los datos de 22 loci microsatélite.



4.2.2. Análisis de secuencias

El análisis de secuencias y la detección de polimorfismos se llevaron a cabo, principalmente, mediante SeqScape 2.5. Dado que en ambos genes se detectaron indels, hubo que eliminar de los análisis los fragmentos de secuencia que no podían leerse.

Los dos genes fueron secuenciados en los dos sentidos con el fin de eliminar errores de la polimerasa y no se detectaron diferencias entre las secuencias complementarias. Tan sólo pequeños fragmentos de secuencia en determinadas accesiones se obtuvieron en un único sentido.

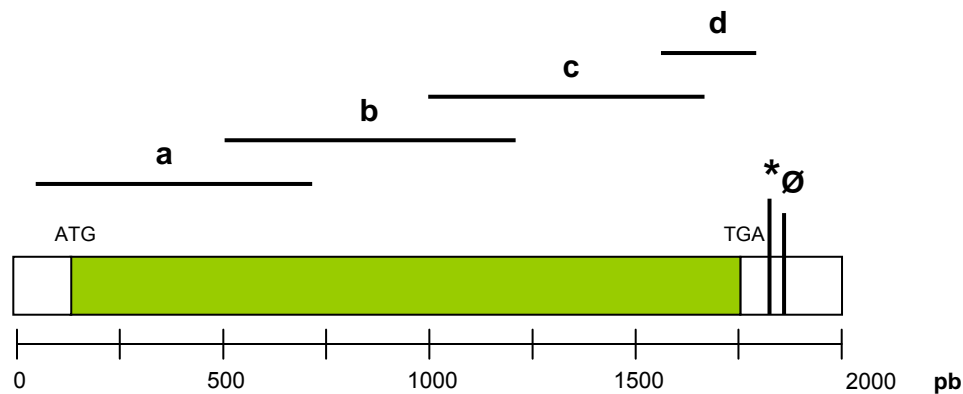
En el Anexo 2 (pág. 321) y en el Anexo 3 (pág. 322) puede encontrarse la secuencia analizada finalmente para cada gen.

VvGAI1

Los fragmentos GAI-a, GAI-b y GAI-c no presentaron problemas de amplificación y las secuencias obtenidas fueron de alta calidad en ambos sentidos, sin embargo, el fragmento GAI-d resultó muy problemático, dada la existencia de un indel de 7 pb localizado en las 1855 pb, seguido de un microsatélite de repetición dinucleotídica (AG₁₇ en la secuencia referencia) en las 1875 pb (Figura 28). Debido a la presencia de estas regiones polimórficas resultaba imposible leer la secuencia a partir de ellas en ambos sentidos en las accesiones heterocigóticas, por lo que fue necesario diseñar un nuevo primer GAI-d Rv que hibridara justo antes del indel para evitar una secuencia doble. Dicho fragmento sólo se secuenció en sentido 3'→5'.

El total de secuencia de alta calidad analizada finalmente fue de 1841 pb. Dicha secuencia comenzaba en el codón de iniciación de transcripción (ATG), comprendía toda la región codificante, que constaba de un solo exón (1-1770), y terminaba 68 pb después del codón de finalización de transcripción (TGA), correspondiendo la región no codificante al 3,7% del total de secuencia analizada.

Figura 28. Esquema del *VvGAI1*. Las líneas a, b, c y d representan la longitud y posición aproximada de cada fragmento secuenciado. Región codificante con fondo verde.

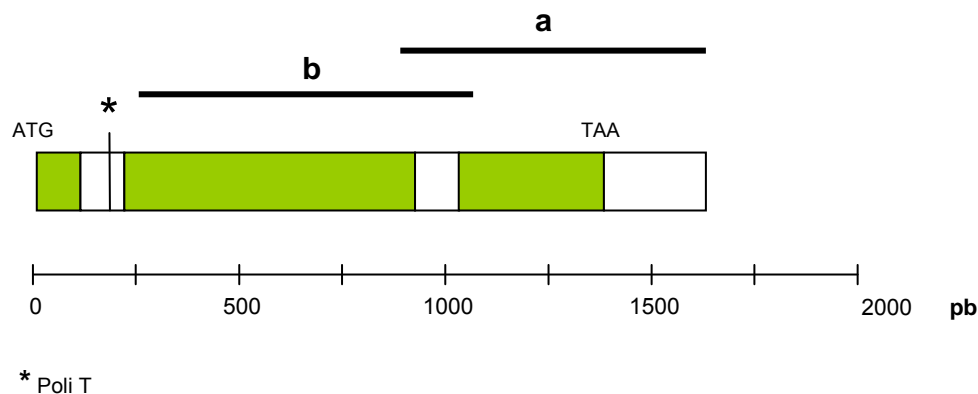


* Indel
 Ø Microsatélite

VvPel

Dado que la secuencia de ADN complementario de *VvPel* publicada en GenBank presenta un tamaño de 1196 pb, en un principio trató de secuenciarse en tres fragmentos. El gen completo consta de tres exones y dos intrones, pero el primer exón y el primer intrón no fueron analizados debido a la presencia de un poliT situado en el primer intrón, a 186 pb del codón de iniciación. Dicho poliT da lugar a un indel que hace imposible la lectura de secuencia en gran parte de uno de los fragmentos, por lo que fue eliminado (Figura 29). La secuencia finalmente analizada constó de 1400 pb, comenzando en las 250 pb a partir del codón de iniciación (ATG) y terminando en las 1642 pb, 252 pb después del codón stop (TAA). Dicha secuencia estaba constituida por 1054 pb correspondientes a región codificante y 346 pb (25%) de región no codificante, repartidas en dos exones, un intrón y la región 3' no traducida (3'UTR).

Figura 29. Esquema de *VvPeI*. Las líneas a y b representan la longitud y posición aproximada de cada fragmento secuenciado. Exones con fondo verde e intrones con fondo blanco.



4.2.3. Análisis de diversidad

4.2.3.1. Análisis de diversidad nucleotídica

VvGAI1

El total de SNPs detectados en el gen *VvGAI1* fueron 15, lo que supone un promedio de 1 cada 123 pb. Todos los polimorfismos eran bialélicos y la mayoría de ellos correspondían a transiciones, siendo el ratio de transiciones/transversiones de 6,5.

De los 15 SNPs detectados, solo uno se encontró en la región no codificante (S_1811), y de los 14 polimorfismos localizados en la región codificante, 9 fueron sinónimos y 5 no sinónimos, dando lugar a cambios aminoacídicos no conservativos, de manera que el cociente de polimorfismos no sinónimos/ sinónimos fue de 0,55.

En cuanto a la diversidad en las diferentes poblaciones, no se detectaron diferencias considerables, excepto en la población Q5, donde se detectaron sólo 6 SNPs, de los cuales 3 eran únicos (Tabla 28).

Los valores de diversidad nucleotídica observados para la colección CN127 completa fueron $\pi = 0,0015$ y $\theta = 0,0013$. Dichos valores apenas variaron entre las diferentes poblaciones, detectándose los valores más bajos de nuevo en la población Q5 ($\pi = 0,0007$ y $\theta = 0,0009$) y los más altos en la Q8 ($\pi = 0,0017$ y $\theta = 0,0018$).

Tabla 28. Número de SNPs e índices de diversidad detectados en el gen *VvGA11* en la CN127 y en cada una de las 8 poblaciones.

Diversidad		CN127	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
Nº individuos		127	12	15	19	22	10	27	10	12
Nº SNPs totales		15	8	11	13	9	6	13	11	12
Nº SNPs únicos		1	0	2	3	2	3	5	4	4
Nº SNPs en región no codificante		1	1	1	1	1	1	1	1	1
Nº SNPs en región codificante	Sinónimos	9	6	7	8	7	4	8	6	7
	No sinónimos	5	1	3	4	1	1	4	4	4
π		0,0016	0,0015	0,0014	0,0016	0,0014	0,0007	0,0014	0,0016	0,0017
θ		0,0013	0,0012	0,0015	0,0017	0,0011	0,0009	0,0016	0,0017	0,0018
Desviación estándar θ		0,0004	0,0005	0,0006	0,0007	0,0005	0,0005	0,0006	0,0007	0,0007

Sólo un SNP de los 15 detectados (S_309) era único, es decir, apareció en una sola accesión (Rosaki noir des semis) de las 127 analizadas, con una frecuencia del nucleótido minoritario de 0,004. La frecuencia más alta detectada para el nucleótido minoritario fue de 0,34, para los SNPs S_369 y S_630 (Tabla 29).

Tabla 29. Frecuencias alélicas y heterocigosidad de cada SNP detectado en *VvGA11*.

Locus	Frecuencia				He	Ho
	A	C	G	T		
S_30	-	0,840	-	0,160	0,271	0,244
S_96	-	0,840	-	0,160	0,271	0,244
S_304	-	0,992	-	0,008	0,016	0,016
S_309	-	0,004	-	0,996	0,008	0,008
S_359	0,040	0,960	-	-	0,083	0,087
S_369	-	0,660	-	0,340	0,450	0,465
S_583	-	0,960	0,040	-	0,083	0,087
S_630	-	0,660	-	0,340	0,450	0,449
S_720	-	0,988	-	0,012	0,023	0,024
S_879	-	0,930	-	0,070	0,132	0,126
S_912	-	0,270	-	0,730	0,396	0,370
S_1026	0,040	-	0,960	-	0,083	0,087
S_1320	0,988	-	0,012	-	0,023	0,024
S_1730	-	0,930	-	0,070	0,125	0,118
S_1810*	0,690	-	0,310	-	0,426	0,504

* región no codificante

Polimorfismos no sinónimos en negrita

VvPel

En el gen *VvPel* se detectaron 32 SNPs bialélicos (1 SNP cada 44 pb), de los cuales, 23 correspondían a transiciones y 9 a transversiones, lo que representa un ratio de transiciones/transversiones de 2,5. En la región codificante (1054 pb) se detectaron 22 SNPs, lo que supone una media de un SNP cada 48 pb, y en la región no codificante (346 pb) 10 SNPs, uno cada 35 pb.

La mayoría de los polimorfismos detectados fueron silenciosos (17 sinónimos y 10 no codificantes) y sólo 5 resultaron no sinónimos o de sustitución, de manera que el ratio no sinónimos/ sinónimos fue de 0,3.

La diversidad nucleotídica en las diferentes poblaciones es muy variable debido al pequeño número de individuos existente en cada una (Tabla 30), aunque resulta destacable el elevado número de SNPs detectados en la población Q6, de los cuales sólo uno es único. En la población Q1 también se ha detectado un elevado número de polimorfismos (26), pero 8 de ellos únicamente han aparecido en una variedad.

Los valores de diversidad nucleotídica observados para la colección CN96 completa fueron $\pi = 0,0042$ y $\theta = 0,0039$. Dichos valores resultaron similares para las 6 poblaciones, variando ambos parámetros entre 0,0031 y 0,0054.

Tabla 30. Número de SNPs e índices de diversidad detectados en la CN96 y en cada una de las 6 poblaciones.

Diversidad	CN96	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	
Nº individuos	96	9	12	23	14	16	22	
Nº SNPs totales	32	26	20	22	27	21	31	
Nº SNPs únicos	0	8	0	1	5	6	1	
Nº SNPs región no codificante	10	6	6	7	7	6	9	
Nº SNPs región codificante	Sinónimos	17	16	11	12	15	12	17
	No sinónimos	5	4	3	3	5	3	5
π	0,0042	0,0047	0,0045	0,0031	0,0040	0,0040	0,0050	
θ	0,0039	0,0054	0,0038	0,0036	0,0050	0,0037	0,0051	
Desviación estándar θ	0,0011	0,0021	0,0015	0,0012	0,0018	0,0014	0,0017	

Para la colección completa, las frecuencias de los alelos minoritarios en los diferentes SNPs oscilaron entre 0,01 (S_1356) y 0,39 (S_147), correspondiendo la frecuencia

mínima a dos individuos, Tempranilla blanca y Ragol. El 34% de los alelos minoritarios presentó una frecuencia inferior a 0,05 (Tabla 31).

Tabla 31. Frecuencias alélicas de los SNPs detectados en el gen *VvPel*.

<i>Locus</i>	<i>Frecuencia</i>				<i>He</i>	<i>Ho</i>
	A	C	G	T		
S_18	-	0,953	-	0,047	0,089	0,031
S_33	-	0,885	-	0,115	0,203	0,188
S_48	-	0,953	0,047	-	0,089	0,031
S_57	-	0,906	-	0,094	0,170	0,167
S_147	-	0,396	-	0,604	0,478	0,479
S_183	-	-	0,719	0,281	0,404	0,396
S_258	0,078	-	0,922	-	0,144	0,135
S_279	0,297	0,703	-	-	0,417	0,448
S_405	-	0,984	-	0,016	0,031	0,031
S_438	0,656	-	-	0,344	0,451	0,479
S_441	0,969	-	-	0,031	0,061	0,063
S_469	0,078	-	0,922	-	0,144	0,156
S_507	-	0,906	-	0,094	0,170	0,167
S_531	-	0,130	-	0,870	0,227	0,219
S_582	-	0,984	-	0,016	0,031	0,031
S_612	-	0,859	-	0,141	0,242	0,198
S_636	-	0,859	-	0,141	0,242	0,198
S_701*	0,214	0,786	-	-	0,336	0,365
S_713*	0,016	-	0,984	-	0,031	0,031
S_727*	0,984	-	0,016	-	0,031	0,031
S_764*	-	0,125	-	0,875	0,219	0,229
S_794	0,141	-	0,859	-	0,242	0,198
S_833	-	0,953	-	0,047	0,089	0,031
S_1027	-	0,208	0,792	-	0,330	0,354
S_1030	-	0,953	-	0,047	0,089	0,031
S_1122	0,120	-	0,880	-	0,211	0,135
S_1161*	0,901	-	0,099	-	0,178	0,198
S_1174*	0,984	-	-	0,016	0,031	0,031
S_1274*	-	0,078	-	0,922	0,144	0,156
S_1295*	-	0,922	-	0,078	0,144	0,156
S_1356*	0,010	-	0,990	-	0,021	0,021
S_1370*	0,922	-	-	0,078	0,144	0,156

* región no codificante

Polimorfismos no sinónimos en negrita

4.2.3.2. Análisis de diversidad haplotípica

VvGAI1

Los haplotipos obtenidos con el software Phase fueron bastante consistentes, puesto que en la definición de cada fase para cada individuo, la mayoría de SNPs mostraron una probabilidad del 100% de encontrarse en la fase adjudicada por el programa. Tan sólo dos polimorfismos detectados en dos accesiones diferentes mostraron una probabilidad inferior al 100% de encontrarse en la fase adjudicada: 50% para el sitio S_309 en la accesión Rosaki noir des semis y 87% para el sitio S_369 en Napoleón.

La heterocigosidad haplotípica esperada fue de 0,76. Se obtuvieron 15 haplotipos con frecuencias entre 0,004 y 0,34 (Tabla 32). Dos de ellos fueron mayoritarios, representando el 64% del total de haplotipos detectados en la colección, y seis únicos (presentes una sola vez en una sola accesión), que correspondieron a las accesiones Dymiat (Q3), Danam (Q4), Pirovano 18 (Q4), Bruni 41 (Q1), Imperial Napoleón (Q7) y Rosaki noir des semis (Q4).

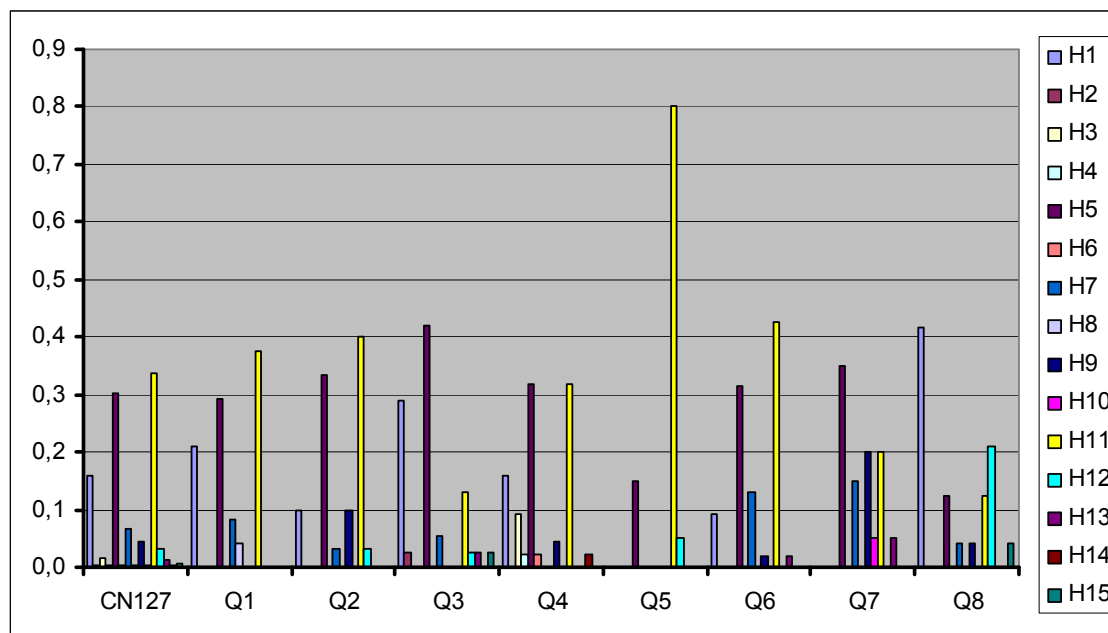
En las CN127-Q3 y CN127-Q4 se detectó el mayor número de haplotipos (8 haplotipos, cuatro únicos). Para la población CN127-Q5 se detectaron sólo tres haplotipos.

Tabla 32. Haplotipos detectados en el gen *VvGAI1*, sus frecuencias en la CN127 y la distribución de cada uno entre las diferentes poblaciones.

Nº Haplotipo	Haplotipo	CN127	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
H1	TTCTCCCCCGACA	0,157	0,122	0,073	0,268	0,171	-	0,122	-	0,244
H2	TTCTCCCCCTGACA	0,004	-	-	1,000	-	-	-	-	-
H3	CCCTCCCCCGACA	0,016	-	-	-	1,000	-	-	-	-
H4	CCCTCCCCCTGACA	0,004	-	-	-	1,000	-	-	-	-
H5	CCCTCCCCCTGACG	0,303	0,091	0,130	0,208	0,182	0,039	0,221	0,091	0,039
H6	CCCTCCCCCTTGACA	0,004	-	-	-	1,000	-	-	-	-
H7	CCCTCCCCCTTGATA	0,067	0,125	0,063	0,125	-	-	0,438	0,188	0,063
H8	CCCTCCCTCCTGACA	0,004	1,000	-	-	-	-	-	-	-
H9	CCCTCCGCCCGACA	0,043	-	0,273	-	0,182	-	0,091	0,364	0,091
H10	CCCTCTCCCCGACA	0,004	-	-	-	-	-	-	1,000	-
H11	CCCTCTCCTGACA	0,339	0,105	0,140	0,058	0,163	0,186	0,267	0,047	0,035
H12	CCCTACCCCCAACA	0,031	-	0,125	0,125	-	0,125	-	-	0,625
H13	CCCTACCTCCAGCA	0,012	-	-	0,333	-	-	0,333	0,333	-
H14	CCCCCCCCCTGACG	0,004	-	-	-	1,000	-	-	-	-
H15	CCTCCCCCGACA	0,008	-	-	0,500	-	-	-	-	0,500

Las frecuencias más altas para las diferentes poblaciones corresponden en general, como en la colección total, a los haplotipos H5 y H11 (Figura 30), detectados en todas las poblaciones, aunque el haplotipo H1 presenta también altas frecuencias, especialmente en las poblaciones CN127-Q3 y CN127-Q8. El haplotipo H12 está representado sobre todo por accesiones de la Q8 y el haplotipo H9 está representado en su mayoría por variedades de las poblaciones Q2 y Q7, españolas sobre todo, seguidas de algunas francesas y turcas. Las variedades de la población Q5 (Sultanina y sus descendientes) presentan en su mayoría el haplotipo H11.

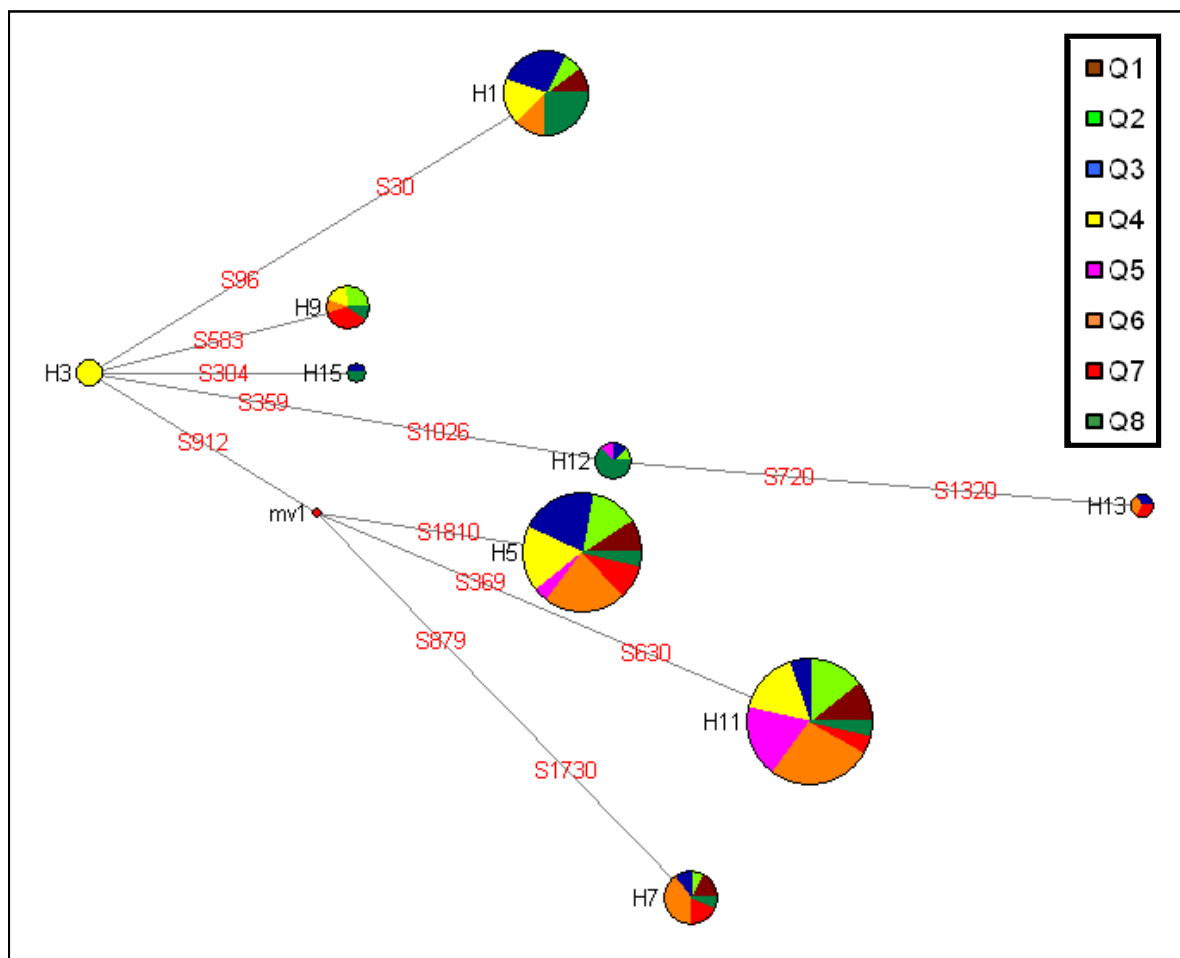
Figura 30. Distribución de haplotipos en la colección CN127 y en cada población.



Con el fin de obtener información acerca de la evolución haplotípica, se obtuvo un diagrama de conexiones en red (“network”) mediante el algoritmo Median Joining, implementado en el software Network 4.5 (Figura 31). Como se ha explicado en Materiales y Métodos, los haplotipos únicos se excluyeron de este análisis. Aunque este diagrama no indica una direccionalidad evolutiva, todos los haplotipos no únicos parecen proceder del haplotipo H3, representado por cuatro accesiones pertenecientes a la población Q4: Daroni Maceron (de origen desconocido), Sideritis (Grecia), Turki (Túnez) y Dabouki (Armenia). El vector mv1 corresponde al haplotipo H4, perteneciente también a la población Q4, que está representado únicamente por la accesión Danam (Dabouki x Muscat Hamburg).

Los haplotipos H5, H7 y H11 están vinculados mediante el haplotipo H4 (mv1), el cual, junto a los haplotipos H9 y H15, sólo acumula una mutación partiendo de H3, mientras que el H13 acumula 4 mutaciones, lo que hace de él el más distante evolutivamente. Este último haplotipo está representado por las variedades Ciclóptica, Prune de Cazouls y Superba, de las cuales Ciclóptica y Superba son obtenciones de Pirovano.

Figura 31. Diagrama de conexiones en red de los haplotipos obtenidos para el gen *VvGAI1* en la CN127. Las áreas de los círculos son proporcionales a las frecuencias haplotípicas y los diferentes colores representan cada población. Mv1: vector que representa al H4 (frecuencia de 0,04).



VvPel

Los haplotipos estimados mediante el software Phase presentaron una fiabilidad del 100% en todas las accesiones excepto en Imperial roja, para la cual tres SNPs (S_1274, S_1295 y S_1370) mostraron una probabilidad del 66% de encontrarse en la fase adjudicada por el programa. Uno de los dos haplotipos resultantes en este caso es único en la colección (H15), apareciendo sólo en dicha variedad.

La heterocigosidad esperada para el gen *VvPel* en la colección CN96 fue de 0,85, mayor que la obtenida para el gen *VvGAI1*. Se obtuvieron 15 haplotipos, con unas frecuencias entre 0,005 y 0,24 en la colección CN96 completa (Tabla 33). Los haplotipos H1 y H6 fueron mayoritarios, con frecuencias superiores a 0,2, cinco haplotipos presentaron una frecuencia intermedia (entre 0,06 y 0,13) y nueve presentaron una frecuencia muy baja (inferior o igual a 0,02), de los cuales dos fueron únicos (H5 y H15), presentes en las variedades Imperial roja (Q4) y General de la Marmora (Q5).

En cuanto a su distribución entre las diferentes poblaciones, cuatro haplotipos estaban presentes en todas (H1, H3, H6 y H11).

Tabla 33. Haplotipos detectados en el gen *VvPel*, sus frecuencias en la CN96 y la distribución de cada uno entre las diferentes poblaciones.

Nº Haplotipo	Haplotipo	CN96	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
H1	CCCCTGGCCAAGCTCCCCGATGCGCGAATCGA	0,240	0,022	0,043	0,348	0,174	0,130	0,283
H2	CCCCTGGCCAAGCTCCCCGATGCGCAAATGT	0,010	-	-	-	0,500	-	0,500
H3	CCCCTGGCCAAGCCCCCGATGCGCGAATCGA	0,130	0,240	0,080	0,120	0,240	0,200	0,120
H4	CCCCTTGCCAAACTCCCCGATGCGCAAATGT	0,063	-	0,167	0,250	0,167	0,083	0,333
H5	CCCCCGCCAAGCTCCCAGATGCGCGGATCGA	0,005	-	-	-	-	1,000	-
H6	CCCCCGCCAAGCTCCCAGATGCCCGAATCGA	0,208	0,075	0,150	0,275	0,150	0,200	0,150
H7	CCCCCTGACTAGCTCCCCGATGCGCGAATCAA	0,010	-	-	0,500	0,500	-	-
H8	CCCCCTGACTAGCTCCCCGATGCGCGGATCGA	0,094	0,111	0,444	0,167	0,056	-	0,222
H9	CCCCCTAAGTACTCCCCGATGCGCGAATCGA	0,078	0,200	-	0,333	-	0,200	0,267
H10	CTCCTTGACTAGCTCCCCGATGCGCGAATCGA	0,021	-	-	0,500	-	0,500	-
H11	CTCTTGACTAGTTCTTCGACACGCGAATCGA	0,094	0,056	0,222	0,111	0,056	0,333	0,222
H12	TCGCTGGCCTAGCTCTTCGACATGTAAATCGA	0,016	0,333	-	-	-	-	0,667
H13	TCGCTGGCCTTGCTTTTCAGTATGTAATTCGA	0,016	0,333	-	-	-	-	0,667
H14	TCGCTTGCTTTACTCTTCGACATGTAAATCGA	0,010	-	-	-	0,500	-	0,500
H15	TCGCTTGCTTTACTCTTCGACATGTAAATGT	0,005	-	-	-	1,000	-	-

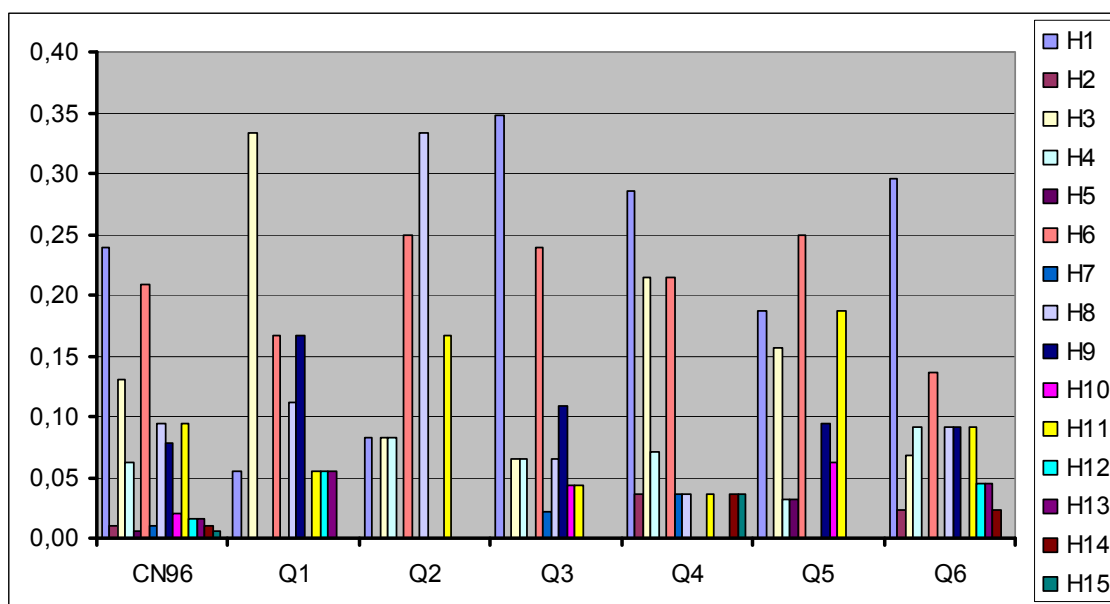
El número de haplotipos en cada población varía entre 6 (CN96-Q2) y 11 (CN96-Q6), como puede observarse en la Figura 32. La mayoría de las poblaciones mantenían como

haplotipos mayoritarios H1 y H6, con la excepción de CN96-Q1, para la cual el haplotipo mayoritario era H3, y CN96-Q2, con H8 como haplotipo mayoritario.

Los haplotipos H12 y H13 sólo se detectaron en las poblaciones CN96-Q1 y CN96-Q6, el haplotipo H14 se detectó exclusivamente en las poblaciones CN96-Q4 y CN96-Q6 (variedades españolas y orientales en general), el H7 en CN96-Q3 y CN96-Q4.

Debido a la detección de seis posibles eventos de recombinación (como se verá en el Apartado 4.2.5. pág. 176), no se obtuvo para esta colección un diagrama de conexiones en red, por la incapacidad del software Network de resolver dichos eventos entre haplotipos.

Figura 32. Distribución de haplotipos en la colección CN96 y en cada población.



4.2.4. Detección de posible selección sobre los genes estudiados

VvGAI1

Para el gen *VvGAI1*, analizándose la colección CN127 completa se obtuvo una *D* de Tajima de 0,4 y una *D** de Fu y Li de 0,9, aunque ningún valor fue significativo (Tabla 34). Para cada población se obtuvieron valores muy heterogéneos, variando la *D* de Tajima entre -0,8 y 0,9 y la *D** de Fu y Li entre -1,1 y 1,3, presentando sólo este último valor, detectado para la población CN127-Q1, una *p* baja ($0,1 > p > 0,05$).

Aunque la D de Tajima obtenida para la población CN127-Q8 fue ligeramente negativa, al realizar el análisis sobre ventanas de 100 pb, se obtuvo una $D = 1,97$ con $p < 0,1$ en la región comprendida entre las 1 y 125 pb. En esta región hay dos SNPs (S_30 y S_96).

Para la colección CN127 se obtuvieron dos posibles estructuraciones ($K = 2$ y $K = 8$), representadas tanto por la corrección de Evanno como por el análisis de agrupamientos (Figura 23, pág. 148 y Figura 26, pág. 161). Aunque se estudió la estructura de 8 poblaciones, que sería la que se emplearía en el análisis de asociación (puesto que era la que sugería el método de Pritchard), se optó por testar también los dos grupos de la estructuración $K = 2$. Se obtuvo una D de Tajima considerablemente mayor para el Grupo A (0,5) que para el Grupo B (0,04), aunque tampoco fue significativa.

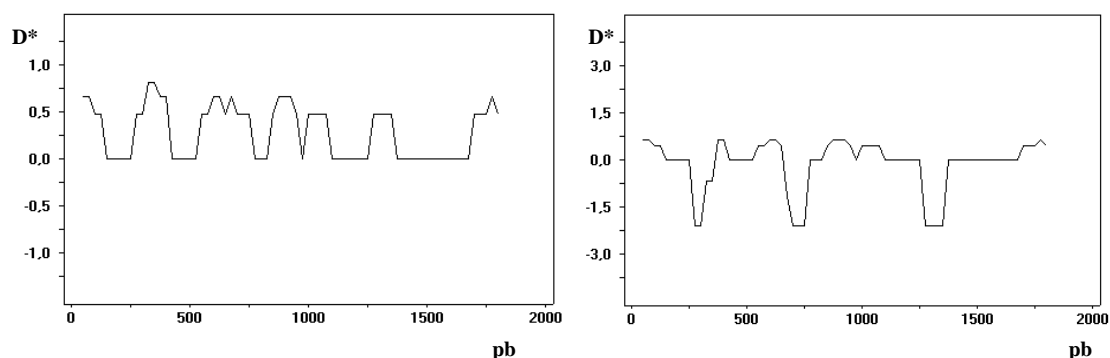
Tabla 34. Evaluación de la selección en *VvGAI1*.

<i>Población</i>	<i>D Tajima</i>	<i>p D</i>	<i>D* Fu y Li</i>	<i>p D*</i>	<i>SNPs no sinónimos/sinónimos</i>
CN127	0,401	-	0,924	-	0,55
Q1	0,953	-	1,334	$0,1 > p > 0,05$	0,17
Q2	-0,183	-	0,437	-	0,43
Q3	-0,194	-	0,084	-	0,5
Q4	0,599	-	0,075	-	0,14
Q5	-0,846	-	-0,856	-	0,25
Q6	-0,207	-	-1,089	-	0,5
Q7	-0,199	-	-0,324	-	0,67
Q8	-0,065	-	-0,282	-	0,57
Grupo A	0,5	-	1,5	$< 0,05$	0,62
Grupo B	0,04	-	-0,25	-	0,44

Los resultados del test D^* de Fu y Li fueron de $D^* = 1,5$ para el Grupo A y $D^* = -0,25$ para el Grupo B. El valor del Grupo A para este test fue significativo ($p < 0,05$). Realizando los análisis sobre ventanas de 100 pb, el valor negativo obtenido para el Grupo B también presentó una p baja ($0,1 > p > 0,05$) entre las 225 y 350 pb, las 650 y 800 pb y las 1225 y 1400pb (Figura 33). Estas regiones se corresponden con los polimorfismos S_304, S_309, S_720 y S_1320, dos de los cuales son de reemplazamiento.

El ratio de polimorfismos no sinónimos / sinónimos detectados en la región codificante del gen *VvGAI1* es de 0,5, y atendiendo a cada población independientemente, los valores variaron entre 0,14 (CN127-Q4) y 0,67 (CN127-Q7).

Figura 33. Representación gráfica de D^* de Fu y Li en el gen *VvGAI1*: Grupo A (izquierda) y Grupo B (derecha).



VvPel

Para el gen *VvPel*, mediante el análisis de la CN96 completa, se obtuvo una D de Tajima de 0,196, que tampoco fue significativa (Tabla 35). Sin embargo, mediante el test de Fu y Li se obtuvo un valor de $D^* = 2,045$ que sí era significativo ($p < 0,02$). Aplicando los tests sobre ventanas de una longitud de 100 pb, el test de Tajima aportó un valor de 2,18 significativo entre 100 y 225 pb (Figura 34), región en la que se localizan los SNPs S_146 y S_182.

Tabla 35. Evaluación de la selección en *VvPel*.

Población	D Tajima	$p D$	D^* Fu y Li	$p D^*$	SNPs no sinónimos/sinónimos
CN96	0,196	-	2,045*	<0,02	0,29
Q1	-0,542	-	0,0008	-	0,25
Q2	0,636	-	1,602*	<0,02	0,27
Q3	-0,464	-	1,377	0,1 > p > 0,05	0,25
Q4	-0,69	-	0,517	-	0,33
Q5	0,276	-	-0,189	-	0,25
Q6	-0,046	-	1,567*	<0,05	0,29

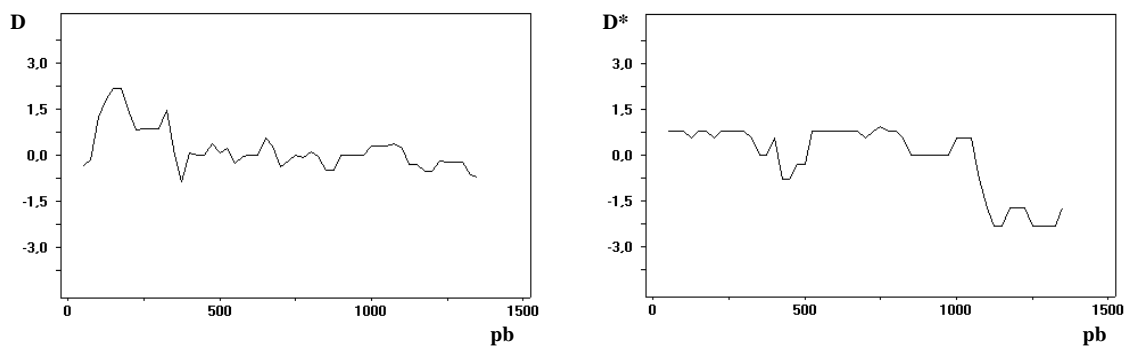
Para cada población independientemente, los valores de Tajima para la secuencia completa tampoco resultaron significativos, aunque entre las 100 y 225 pb, en las poblaciones CN96-Q2 y CN96-Q3 se obtuvieron valores de $D = 1,97$ y de 1,92, respectivamente, con un valor de p más bajo, pero no significativo ($0,1 > p > 0,05$).

Mediante el test D^* de Fu y Li, sólo se obtuvieron valores de 1,6 y 1,57 significativos al nivel de 0,05 para las poblaciones CN96-Q2 y CN96-Q6, respectivamente; para la población CN96-Q3, D^* fue de 1,37, aunque con una p mayor ($0,1 > p > 0,05$). Para la

población CN96-Q5, se obtuvo un valor de $D^* = -2,3$ ($0,1 > p > 0,05$) entre las 1076 y 1375 pb (Figura 34), y en esta región hay cinco SNPs, de entre los cuales uno es de reemplazamiento.

El ratio de polimorfismos no sinónimos / sinónimos fue de 0,29 para la colección completa, variando entre 0,25 y 0,33 para las diferentes poblaciones.

Figura 34. Gráficas de tests de neutralidad: D de Tajima para la CN96 completa (izquierda) y D^* de Fu y Li para la población Q5 (derecha).



4.2.5. Desequilibrio de ligamiento

Dada la importancia del desequilibrio de ligamiento en los estudios de asociación y su interés para la detección de selección, se analizaron los parámetros r^2 y D' (Lewontin 1964) mediante diferentes software. Con DnaSP se obtuvieron los datos de DL a partir de los haplotipos obtenidos con Phase.

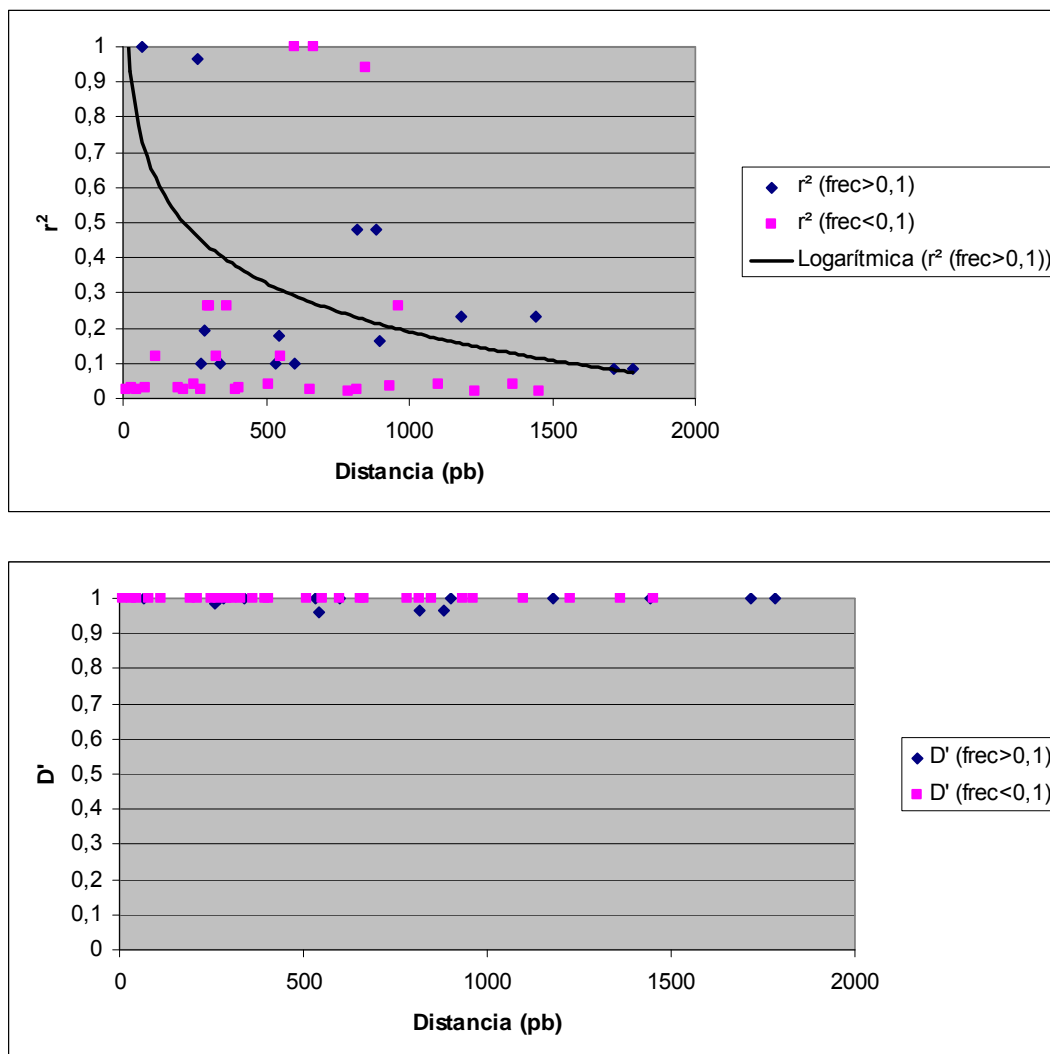
Con el software Tassel se obtuvieron los mismos parámetros a partir de datos genotípicos, lo cual es menos apropiado, pero más visual gráficamente, por lo que se decidió incluirlos para facilitar la interpretación de los resultados de asociación.

VvGAI1

Los resultados obtenidos para los diferentes parámetros sugieren que el desequilibrio de ligamiento en el gen *VvGAI1* se mantiene a lo largo de distancias considerables, debido a la existencia de determinados SNPs relativamente distantes que se encuentran muy ligados. Como puede observarse en la Figura 35, el valor promedio de r^2 se mantiene en

valores superiores a 0,2 hasta aproximadamente 1000 pb, decayendo por debajo de 0,1 en torno a una distancia de aproximadamente 1600 pb. Los valores de D' son muy altos a lo largo de toda la secuencia.

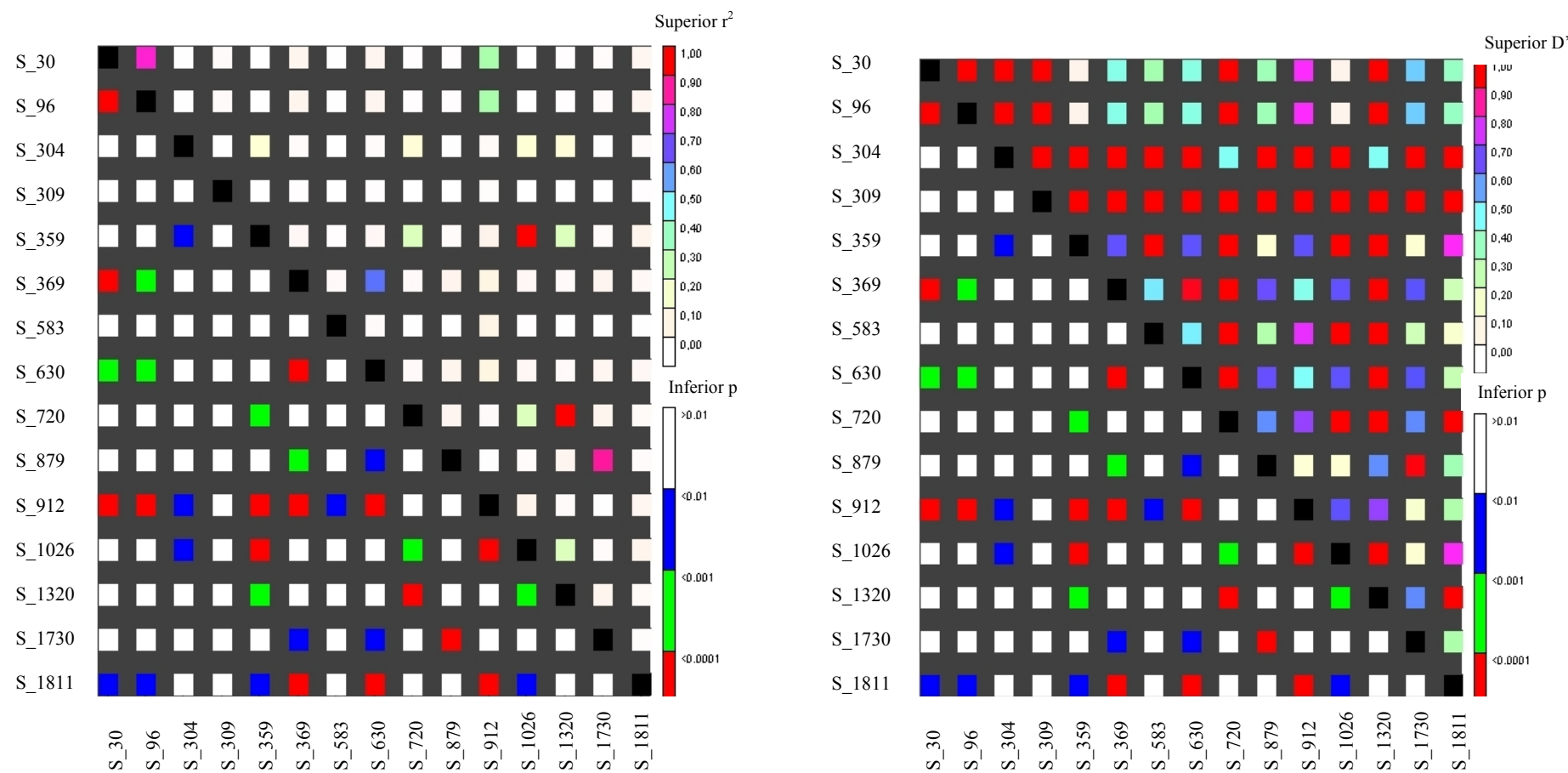
Figura 35. Desequilibrio de ligamiento (r^2 y D') obtenido para el gen *VvGAI1* a partir de datos haplotípicos mediante DnaSP. Todas las asociaciones representadas son significativas al nivel de 0,05 y el 57% son significativas con la corrección de Bonferroni (estas últimas incluyen todas las asociaciones entre SNPs con frecuencia mayor de 0,1).



En los resultados gráficos aportados por el software Tassel (Figura 36) pueden observarse los parámetros r^2 y D' obtenidos a partir de datos genotípicos, visualizándose el DL entre cada par de SNPs en lugar de sobre la distancia en pares de bases, lo que aporta una información más concreta para la interpretación de los resultados de

asociación. Los valores de r^2 , que, a diferencia de D' , considera las frecuencias alélicas, fueron más bajos, mostrando un ligamiento elevado ($r^2 > 0,7$) sólo entre los pares de SNPs S_30 - S_96, S_369 - S_630, S_359 - S_1026, S_720 - S_1320 y S_879 - S_1730. El parámetro D' mostró múltiples asociaciones entre SNPs con valores altos, pero no significativas en su mayoría.

Figura 36. Desequilibrio de ligamiento (r^2 y D') obtenido para el gen *VvGAI1* a partir de datos genotípicos mediante Tassel. Sobre la diagonal se representan los valores de r^2 y debajo la significación, de acuerdo a las escalas que aparecen en el margen derecho.



La estima de la tasa de recombinación (R) de acuerdo a Hudson (1987), mediante DnaSP, fue de 0,0159 para la colección completa, mientras para las diferentes poblaciones osciló entre 0 (CN127-Q5) y 0,0284 (CN127-Q8). En la predicción de los eventos de recombinación según Hudson y Kaplan (1985), se obtuvieron cuatro pares de sitios con cuatro tipos gaméticos para la colección completa (30-912, 96-912, 369-630, 369-912), por lo que debió ocurrir un evento mínimo de recombinación entre los sitios S_369 y S_630. Para la población CN127-Q3 se encontraron dos pares de sitios con cuatro tipos gaméticos (30-912 y 96-912), mientras que para la población CN127-Q7 se detectó uno (369-912).

VvPeI

El DL en el gen *VvPeI* mostró un patrón ligeramente diferente al del gen *VvGA1*, aunque hay que destacar la presencia de muchas más asociaciones significativas entre SNPs. Atendiendo al parámetro r^2 , considerando solo los polimorfismos con una frecuencia superior a 0,1, decayó por debajo de 0,1 en una distancia en torno a 1200 pb (Figura 37). El parámetro D' mostró un patrón similar, manteniéndose el DL a lo largo de todo el gen si se consideran también las asociaciones entre SNPs con frecuencias bajas, y siendo especialmente elevado a lo largo de una distancia de 800 pb.

En cuanto a los resultados obtenidos con el software Tassel para *VvPeI*, atendiendo al parámetro r^2 , se obtuvieron varios grupos de polimorfismos intensamente ligados entre sí ($p < 0,0001$) (Figura 38). Al igual que para *VvGA1*, D' aportó muchas asociaciones entre SNPs, pero no significativas en su mayoría (Figura 39).

Por un lado, el ligamiento fue casi completo entre S_18, S_48, S_441, S_833 y S_1030 (r^2 entre 0,9 y 1), ligados en menor medida ($r^2 = 0,5$) con los SNPs S_405, S_582, S_713, S_727 y S_1174, que a su vez estaban también completamente ligados entre ellos ($r^2 = 1$), exceptuando al S_405. Por otro lado, los SNPs S_469, S_1122, S_1274, S_1295 y S_1370 presentaron una r^2 entre 0,8 y 1. Con un grado de ligamiento también considerablemente alto (r^2 entre 0,5 y 0,9) se encontraban los SNPs S_33, S_57, S_507, S_612, S_636, S_764 y S_794. También se encontraban ligados S_279 y S_438 ($r^2 = 0,6$).

Figura 37. Desequilibrio de ligamiento (r^2 y D') obtenido para el gen *VvPcl* a partir de datos haplotípicos mediante DnaSP. Todas las asociaciones representadas son significativas al nivel de 0,05 y el 60% son significativas para la corrección de Bonferroni.

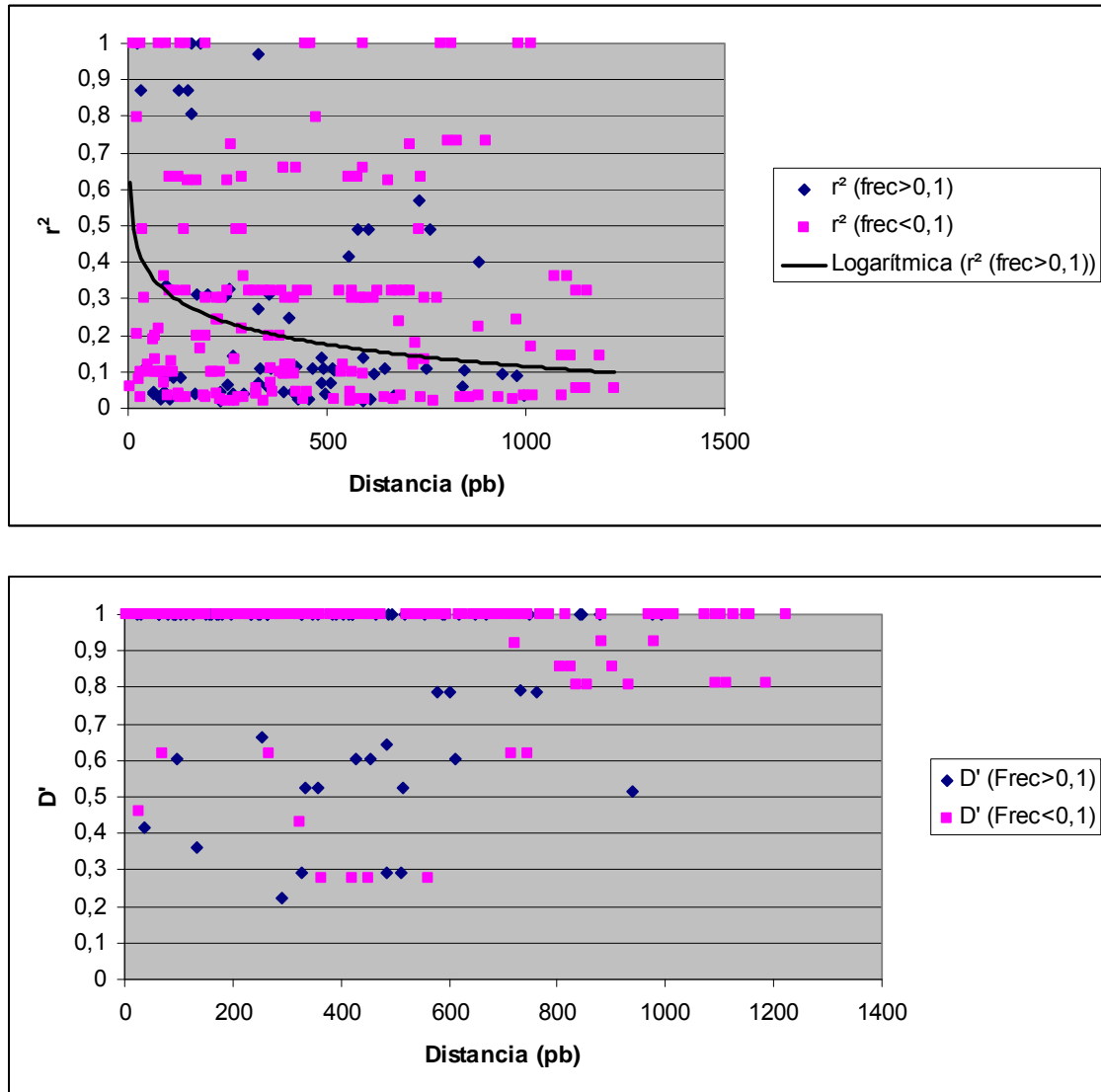


Figura 38. r^2 obtenido para el gen *VvPeI* a partir de datos genotípicos mediante Tassel. Sobre la diagonal se representan los valores de r^2 y debajo la significación, de acuerdo a las escalas que aparecen en el margen derecho.

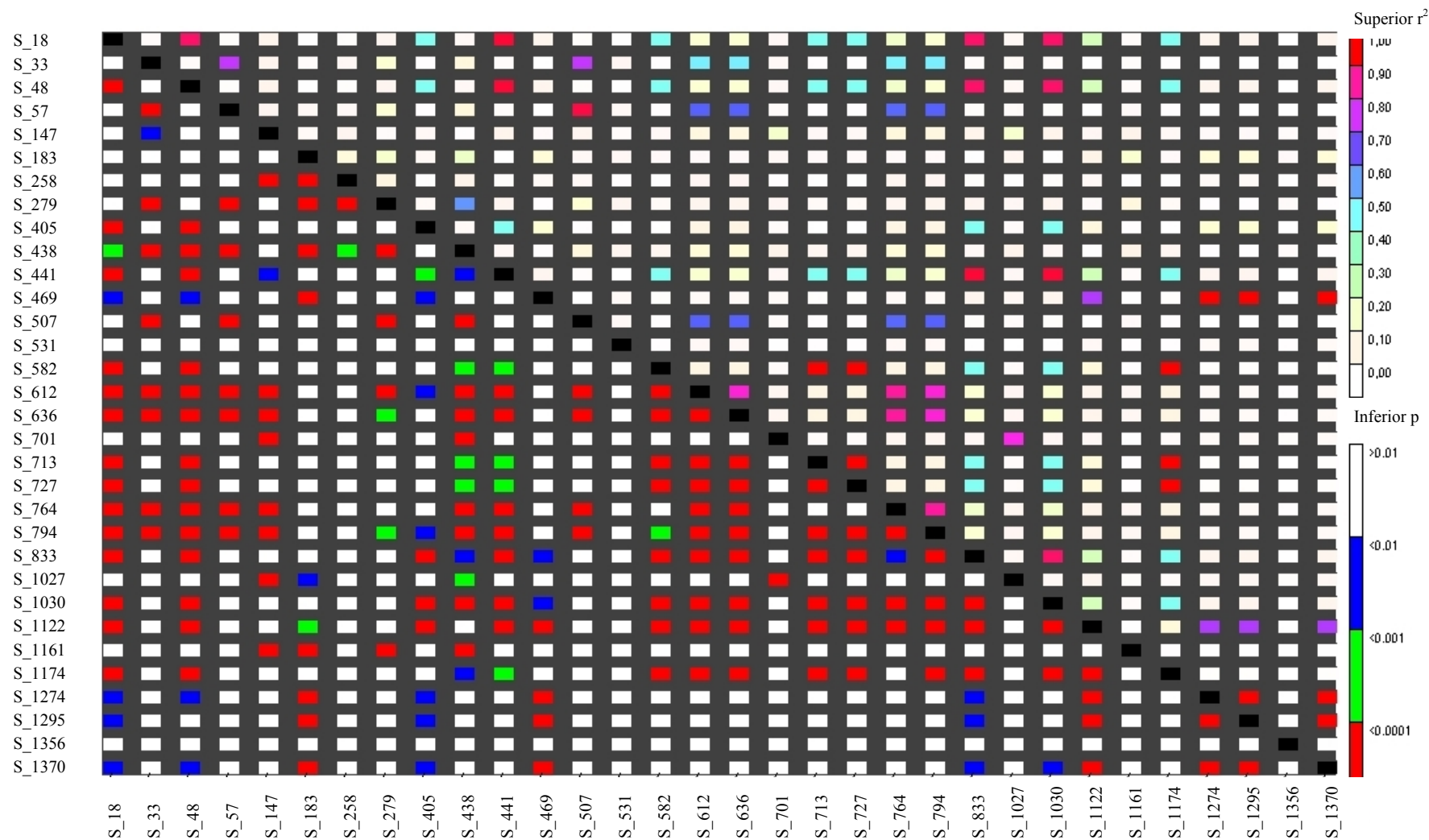
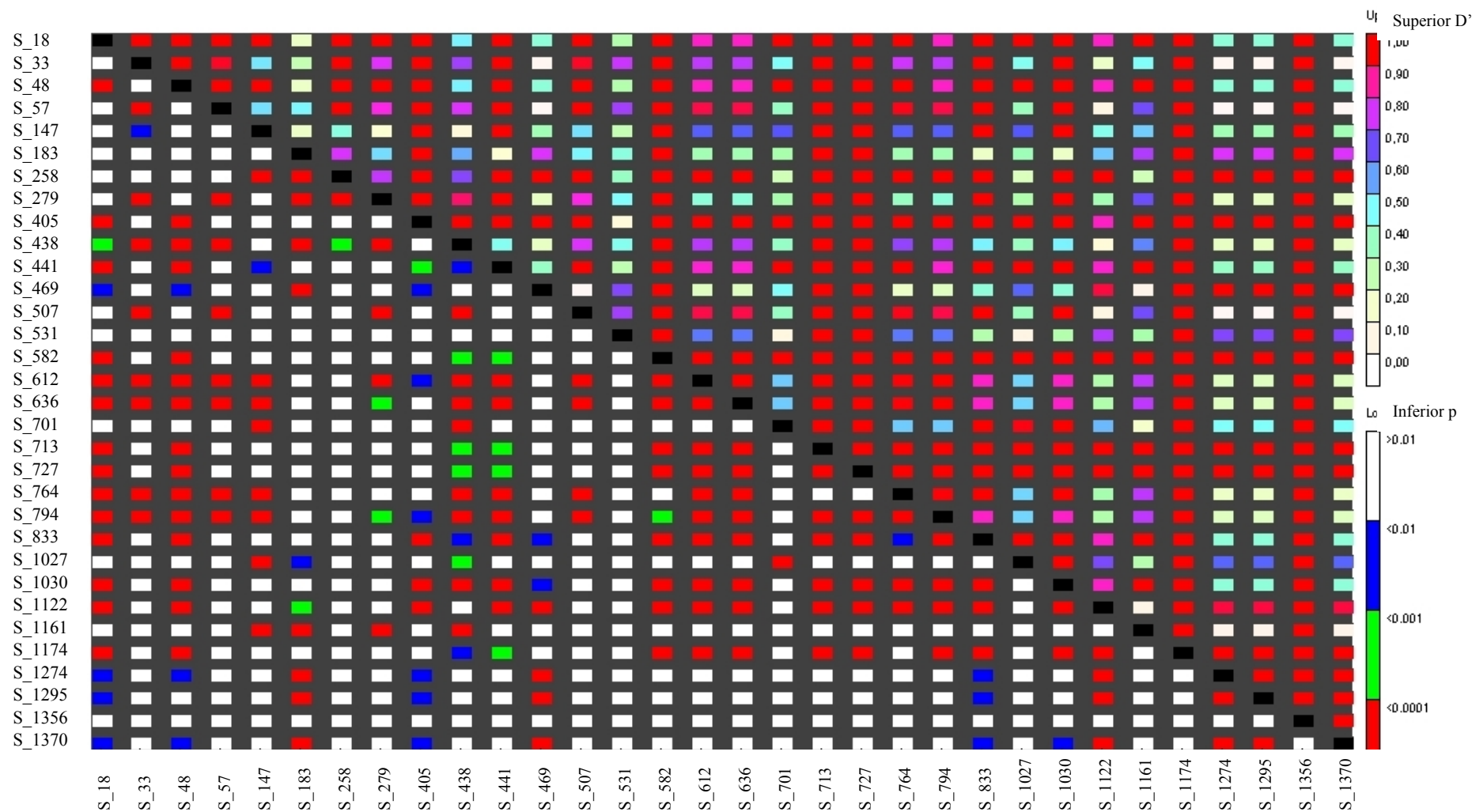


Figura 39. D' obtenido para el gen *VvPe1* a partir de datos genotípicos mediante Tassel. Sobre la diagonal se representan los valores de D' y debajo la significación, de acuerdo a las escalas que aparecen en el margen derecho.



La estima del parámetro de recombinación R , de acuerdo a Hudson (1987), fue de 0,003 para la colección completa, mientras para las diferentes poblaciones varió entre 0,0001 (CN96-Q4) y 0,067 (CN96-Q2). En la predicción de los eventos de recombinación según Hudson y Kaplan (1985), se obtuvieron seis eventos mínimos de recombinación en la CN96, entre los sitios S_147 - S_183, S_183 - S_279, S_441 - S_469, S_469 - S_612, S_764 - S_833 y S_1030 - S_1274. En las poblaciones CN96-Q2, CN96-Q3 y CN96-Q5 se detectaron dos posibles eventos de recombinación (entre S_147 - S_183 y S_183 - S_279) y en la población CN96-Q1 se detectaron tres (S_147 - S_279, S_279 - S_612 y S_764 - S_833), mientras que en las poblaciones CN96-Q4 y CN96-Q6 se detectaron cinco posibles eventos mínimos de recombinación (S_147 - S_183, S_183 - S_279, S_438 - S_469, S_469 - S_612 y S_794 - S_1122 para la CN96-Q4 y S_147 - S_183, S_183 - S_279, S_441 - S_469, S_469 - S_612 y S_764 - S_833 para la CN96-Q6).

4.2.6. Análisis de asociación

4.2.6.1. *VvGAI1*

Mediante el Modelo General Lineal, implementado en Tassel, se efectuó un análisis de asociación entre cada SNP y cada carácter agronómico, teniendo en cuenta el efecto de la estructura genética determinada con Structure. Algunos de los caracteres agronómicos no mostraron una distribución normal, y sólo algunos de ellos pudieron normalizarse. Para éstos, se incluyeron en el análisis tanto los datos originales como los normalizados. En la mayor parte de los casos se obtuvieron resultados similares para ambos tipos de datos (normalizados y no normalizados), por lo que para estos caracteres, en la Tabla 36 sólo se muestra el valor para el dato normalizado.

Para considerar válida una asociación se estableció la restricción de que fuera significativa para dos años (2005 y 2006), excepto para los caracteres de textura y para el número de semillas por baya, para los que se emplearon sólo los datos completos disponibles (2006). Igualmente, sólo se consideraron válidas las asociaciones con un nivel de significación de 0,05, tanto para el test simple como para el test de permutaciones.

Principalmente, se detectaron asociaciones para tres tipos de caracteres: la época de madurez, la anchura de la baya y del racimo y diferentes parámetros de textura.

La *época de madurez* y la *anchura del racimo* se asociaron con los polimorfismos S_879 y S_1730. Las asociaciones obtenidas entre la *época de madurez* de 2005 y dichos SNPs

fueron significativas al nivel de 0,01 (Tabla 36). Sin embargo, hay que destacar las asociaciones detectadas a este nivel de significación para los SNPs S_369 y S_630, puesto que se obtuvieron con varios parámetros de textura (*fuerza al 10%*, *tasa de deformación en el punto de ruptura* y *pendiente de ruptura*). A un nivel de significación de 0,05, estos dos SNPs se asociaban también con los parámetros de *fuerza al 20%* y *distancia de ruptura* de 2006, e incluso, con la *fuerza* de 2005. A este nivel de significación (0,05), se obtuvieron también otras asociaciones con textura del SNP S_1730 (*fuerza al 10%*, *fuerza al 20%* y *fuerza de ruptura*).

Los SNPs S_359 y S_1026, ligados entre sí, también se asociaron con parámetros de textura (*fuerza al 10%* y *al 20%* y *fuerza de ruptura*). Finalmente, se detectaron asociaciones entre la *tasa de deformación* y los SNPs S_30 y S_96 (totalmente ligados entre sí), los cuales se asociaron también con los datos de ambos años de un parámetro tomado con el texturómetro, pero que no corresponde a la textura sino a la anchura de la baya (*anchura TXT* de 2005 y 2006).

Los valores de la varianza explicada por el modelo fueron considerablemente elevados, entre 0,2 y 0,6 para la mayor parte de los descriptores. Sin embargo, la varianza explicada por el marcador resultó muy inferior, mostrando valores entre 0,03 (para la *anchura del racimo* frente al S_1730) y 0,17 (para la *tasa de deformación* frente al S_369 y al S_630).

Tabla 36. Asociaciones significativas para los años 2005 y 2006 (excepto para los datos de textura, que se han considerado válidas para un solo año). En negrita asociaciones significativas al nivel de 0,01 para p del marcador y p del test de permutaciones.

Grupo de caracteres	Descriptor	SNP	Año	p Marcador	p test permutaciones	Varianza explicada por el modelo	Varianza explicada por el marcador
Fenología	Época madurez	S_879	2005	0,00310	0,00400	0,36150	0,07190
			2006	0,02310	0,02300	0,34240	0,05370
		S_1730	2005	0,00420	0,00200	0,35800	0,06840
			2006	0,03260	0,01900	0,33770	0,04900
Dimensiones de baya y racimo	Anchura TXT	S_30	2005	0,02570	0,03500	0,39180	0,04270
			2006	0,00500	0,00600	0,38640	0,08680
		S_96	2005	0,02570	0,02000	0,39180	0,04270
			2006	0,00500	0,01300	0,38640	0,08680
	Anchura racimo	S_879	2005	0,04520	0,05190	0,37750	0,03640
			2006	0,04050	0,05790	0,16440	0,05650
		S_1730	2005	0,04630	0,05190	0,37720	0,03610
			2006	0,03140	0,03600	0,16880	0,06080

Grupo de caracteres	Descriptor	SNP	Año	p Marcador	p test permutaciones	Varianza explicada por el modelo	Varianza explicada por el marcador
Textura	Tasa deformación	S_30	2006	0,03770	0,04000	0,27190	0,06220
		S_96	2006	0,03770	0,03300	0,27190	0,06220
		S_369	2006	0,00004	0,00100	0,38490	0,17520
		S_630	2006	0,00005	0,00100	0,38420	0,17450
	Distancia ruptura	S_369	2006	0,01910	0,02100	0,32980	0,06970
		S_630	2006	0,01910	0,02000	0,32980	0,06980
	Fuerza	S_369	2005	0,00730	0,01000	0,34080	0,06290
		S_630	2005	0,02690	0,03100	0,32470	0,04670
	Ln Fuerza al 10%	S_359	2006	0,02290	0,03800	0,24620	0,05010
		S_369	2006	0,00290	0,00500	0,30530	0,10920
		S_583	2006	0,01360	0,02100	0,25470	0,05860
		S_630	2006	0,00280	0,00300	0,30610	0,11000
		S_879	2006	0,00550	0,01700	0,29420	0,09810
		S_1026	2006	0,02290	0,03200	0,24620	0,05010
		S_1730	2006	0,00590	0,01800	0,29290	0,09690
		S_359	2006	0,04470	0,04700	0,26800	0,04880
		S_369	2006	0,01700	0,01800	0,31540	0,09620
		S_630	2006	0,01440	0,01000	0,31910	0,09990
	Fuerza al 20%	S_879	2006	0,01280	0,02000	0,32150	0,10230
		S_1026	2006	0,04470	0,05890	0,26800	0,04880
		S_1730	2006	0,01280	0,01600	0,32150	0,10230
		S_359	2006	0,04080	0,04600	0,23560	0,04080
	Fuerza ruptura	S_1026	2006	0,04080	0,04200	0,23560	0,04080
		S_1730	2006	0,04070	0,04200	0,25680	0,06190
S_369		2006	0,00510	0,00300	0,36300	0,08990	
Pendiente ruptura	S_630	2006	0,00360	0,00700	0,36840	0,09540	
	S_879	2006	0,00960	0,01000	0,35280	0,07970	
	S_1730	2006	0,00840	0,00700	0,35500	0,08200	

Interacción ambiental

Aunque en general sólo se consideraron las asociaciones significativas para dos años (excepto para los parámetros de textura), se evaluaron las correlaciones entre los datos tomados en las diferentes campañas para cada carácter en la CN127, con el fin de identificar el grado de las influencias ambientales en los descriptores estudiados y la forma en que éstas han podido afectar a la detección de asociación para los dos años (Tabla 37).

De hecho, hay que destacar que aparte de las asociaciones presentadas en la Tabla 36, se obtuvieron múltiples asociaciones significativas para un solo año. Entre ellas, merecen destacarse las asociaciones entre el número de inflorescencias por pámpano en 2005 y

los SNPs S_720 y S_1320 ($p = 0,027$ para ambas) y entre el grosor de piel de 2006 y los polimorfismos S_304 y S_912 ($p = 0,021$ y $0,034$, respectivamente) porque las correlaciones entre los datos de los dos años fueron muy bajas para estos dos caracteres.

Las correlaciones entre los datos tomados durante las diferentes campañas fueron altas ($r > 0,6$) para 10 descriptores o parámetros, moderadas ($r > 0,4$) para cuatro caracteres, bajas ($r < 0,4$) para dos descriptores y no significativas para un descriptor. De los caracteres en los que la correlación entre años fue baja o no significativa, como previamente se ha mencionado, hay que destacar las inflorescencias por pámpano, con un coeficiente de correlación de Pearson de $0,397$, y el grosor de piel, para el que se obtuvo una correlación muy baja y no significativa entre los datos tomados durante 2005 y 2006. Sin embargo, para el grosor de piel medido en 2005 y 2006 en la colección global de 322 accesiones (Tabla 12, pág. 119) se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson de $0,319$ significativa ($p < 0,01$).

Tabla 37. Coeficientes de correlación significativos al nivel de $0,05$ entre los datos de 2005 y 2006 en la CN127 (n.s.: Correlación no significativa; $r > 0,6$ en negrita).

Descriptores cualitativos	Tau-b de Kendall	Descriptores cuantitativos	Coefficiente de correlación de Pearson
Compacidad	0,431	Anchura baya	0,881
Consistencia pulpa	0,454	Anchura racimo	0,622
Época brotación	0,563	Anchura TXT	0,828
Época envero	0,738	Grosor piel	n.s.
Época madurez	0,642	Nº Inflorescencias por pámpano	0,397
		Longitud baya	0,916
		Longitud pedúnculo	0,289
		Longitud racimo	0,536
		Peso 1 baya	0,884
		Peso racimo	0,716
		Rendimiento mosto	0,621
		Volumen 1 baya	0,882

Correlación bilateral entre los diferentes descriptores

En cuanto a la correlación existente entre los diferentes descriptores o parámetros estudiados en cada año (Tablas 38 y 39), hay dos grupos principales de caracteres dentro de los cuales las correlaciones son bastante altas ($r > 0,6$): los referentes a la baya (*anchura, longitud, peso y volumen de baya y rendimiento en mosto*), y la mayoría de los

parámetros de textura obtenidos con el texturómetro, aunque estos últimos no se correlacionaron entre ellos en la misma medida. Las mayores correlaciones se obtuvieron entre la *fuerza al 10%*, la *fuerza al 20%*, la *pendiente al 10%* y la *pendiente de ruptura* ($r > 0,7$). La *fuerza de ruptura* sólo se correlacionó con una $r > 0,6$ con la *fuerza al 20%* y la *energía de ruptura*. Para la *tasa de deformación* se obtuvieron dos correlaciones superiores a 0,6: una correlación negativa ($r = -0,65$) con la *fuerza al 10%* y una positiva con la *distancia de ruptura* ($r = 0,74$). A su vez, la *distancia de ruptura* también se correlacionó intensamente con la *energía de ruptura* ($r = 0,78$). Para el parámetro de *turgor* no se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0,5, siendo las correlaciones más altas con la *fuerza al 10%* ($r = -0,48$), con la *pendiente al 10%* ($r = -0,49$) y con la *tasa de deformación* ($r = 0,39$).

La *fuerza* de 2005, se asoció con una $r = 0,6$ con la *fuerza al 20%*, con una $r = 0,59$ con la *fuerza al 10%* y con una $r = -0,55$ con la *tasa de deformación* de 2006 (datos no mostrados en las tablas por ser de diferentes años). El descriptor organoléptico de *consistencia de la pulpa* presentó también correlaciones significativas con algunos de estos parámetros de textura, siendo las más altas de $r = 0,48$ con la *fuerza* de 2005 y $r = 0,4$ con la *fuerza al 10%* de 2006.

Los caracteres de racimo (*peso*, *anchura* y *longitud de racimo*), aunque en 2005 presentaron correlaciones altas entre sí ($r > 0,6$), en 2006 sólo se obtuvo una correlación alta entre el *peso* y la *anchura del racimo* ($r = 0,79$), mientras los coeficientes de correlación fueron medios entre la *longitud* y el *peso* ($r = 0,58$) y la *longitud* y la *anchura del racimo* ($r = 0,52$).

También se observó un coeficiente de correlación de aproximadamente $r = 0,5$ entre la *época de envero* y de *madurez fisiológica* en los dos años. La *época de brotación* se correlacionó con estos descriptores con un coeficiente de r en torno a 0,3, siendo superior en los dos años la correlación entre la *época de brotación* y la de *envero* que entre la de *brotación* y la de *madurez*.

Por último, la correlación entre el descriptor de *anchura de baya* obtenido mediante diferentes procedimientos (con calibre o texturómetro) fue muy alta ($r > 0,9$) para los dos años.

Tabla 38. Correlaciones entre caracteres descritos en 2005 para la CN127.

	Época brotación	Época envero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Anchura TXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	Consistencia pulpa	Fuerza
Época brotación	1,00	0,34	0,32	n.s.	n.s.	n.s.	0,29	0,26	0,31	0,23	0,23	0,24	0,23	0,24	0,24	n.s.	n.s.	0,17
Época envero	0,34	1,00	0,53	n.s.	n.s.	n.s.	0,37	0,34	0,39	0,26	0,28	0,30	0,30	0,30	0,20	n.s.	0,16	0,33
Época madurez	0,32	0,53	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	0,17	0,24	0,18	0,23	0,22	0,22	0,23	0,17	n.s.	n.s.	0,24
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,22	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,20	n.s.
Compacidad racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,13	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,17	-0,14
Longitud pedúnculo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	0,29	0,37	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,74	0,91	0,55	0,56	0,42	0,53	0,53	0,57	n.s.	n.s.	0,33
Longitud racimo	0,26	0,34	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	0,74	1,00	0,77	0,35	0,38	0,32	0,39	0,39	0,47	n.s.	0,20	0,38
Peso racimo	0,31	0,39	0,24	n.s.	0,13	n.s.	0,91	0,77	1,00	0,59	0,58	0,48	0,59	0,59	0,60	n.s.	0,15	0,41
Anchura baya	0,23	0,26	0,18	n.s.	n.s.	n.s.	0,55	0,35	0,59	1,00	0,93	0,84	0,90	0,89	0,69	n.s.	0,23	0,50
Anchura TXT	0,23	0,28	0,23	n.s.	n.s.	n.s.	0,56	0,38	0,58	0,93	1,00	0,82	0,89	0,88	0,70	n.s.	0,28	0,58
Longitud baya	0,24	0,30	0,22	-0,22	n.s.	0,21	0,42	0,32	0,48	0,84	0,82	1,00	0,88	0,88	0,66	n.s.	0,32	0,59
Peso 1 baya	0,23	0,30	0,22	n.s.	n.s.	n.s.	0,53	0,39	0,59	0,90	0,89	0,88	1,00	0,99	0,77	n.s.	0,30	0,57
Volumen 1 baya	0,24	0,30	0,23	n.s.	n.s.	n.s.	0,53	0,39	0,59	0,89	0,88	0,88	0,99	1,00	0,76	n.s.	0,29	0,57
Rendimiento mosto	0,24	0,20	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	0,57	0,47	0,60	0,69	0,70	0,66	0,77	0,76	1,00	n.s.	0,18	0,45
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,16	n.s.
Consistencia pulpa	n.s.	0,16	n.s.	-0,20	-0,17	n.s.	n.s.	0,20	0,15	0,23	0,28	0,32	0,30	0,29	0,18	0,16	1,00	0,48
Fuerza	0,17	0,33	0,24	n.s.	-0,14	n.s.	0,33	0,38	0,41	0,50	0,58	0,59	0,57	0,57	0,45	n.s.	0,48	1,00

Coefficiente de correlación de Pearson para caracteres cuantitativos y Tau-b de Kendall para caracteres cualitativos y cualitativos- cuantitativos; n.s.: correlación no significativa; $r > 0,6$ en negrita

Tabla 39. Correlaciones entre caracteres descritos en 2006 para la CN127 (ver pie de Tabla 38).

	Época brotación	Época enero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Anchura TXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	Nº semillas	Consistencia pulpa	Fuerza 10%	Fuerza 20%	Fuerza ruptura	Distancia ruptura	Tasa deformación	Energía ruptura	Pendiente 10%	Pendiente ruptura	Turgor	
Época brotación	1,00	0,40	0,27	n.s.	-0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época enero	0,40	1,00	0,53	-0,16	n.s.	n.s.	0,25	n.s.	0,26	0,21	0,23	0,28	0,27	0,27	0,17	0,33	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	n.s.	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época madurez	0,27	0,53	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	0,21	0,21	0,19	0,24	0,23	0,25	0,17	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	-0,16	n.s.	1,00	n.s.	-0,23	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,26	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Compacidad racimo	-0,25	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	-0,16	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,23	-0,25	-0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,27	-0,22	0,19	
Longitud pedúnculo	n.s.	n.s.	n.s.	-0,23	n.s.	1,00	-0,31	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,21	-0,27	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	n.s.	0,25	0,19	n.s.	n.s.	-0,31	1,00	0,52	0,79	0,34	0,37	0,24	0,33	0,33	0,32	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Longitud racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,16	n.s.	0,52	1,00	0,58	0,22	0,23	n.s.	0,20	0,20	0,27	n.s.	n.s.	n.s.	0,33	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Peso racimo	n.s.	0,26	0,21	n.s.	0,17	n.s.	0,79	0,58	1,00	0,50	0,51	0,37	0,49	0,48	0,44	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,15	-0,16	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura baya	n.s.	0,21	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	0,34	0,22	0,50	1,00	0,95	0,79	0,92	0,92	0,78	0,26	n.s.	0,17	0,38	0,31	n.s.	0,29	-0,37	0,28	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura TXT	n.s.	0,23	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	0,37	0,23	0,51	0,95	1,00	0,67	0,88	0,87	0,76	0,22	n.s.	0,16	0,43	0,34	0,18	0,31	-0,39	0,31	n.s.	-0,01	-0,18	
Longitud baya	n.s.	0,28	0,24	-0,26	n.s.	n.s.	0,24	n.s.	0,37	0,79	0,67	1,00	0,87	0,87	0,75	0,33	n.s.	0,23	0,29	0,29	n.s.	n.s.	-0,40	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	
Peso 1 baya	n.s.	0,27	0,23	n.s.	n.s.	n.s.	0,33	0,20	0,49	0,92	0,88	0,87	1,00	0,96	0,86	0,28	n.s.	0,21	0,27	0,22	n.s.	0,18	-0,27	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	
Volumen 1 baya	n.s.	0,27	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	0,33	0,20	0,48	0,92	0,87	0,87	0,96	1,00	0,86	0,29	n.s.	0,21	0,26	0,21	n.s.	0,19	-0,26	0,18	n.s.	n.s.	n.s.	
Rendimiento mosto	n.s.	0,17	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	0,32	0,27	0,44	0,78	0,76	0,75	0,86	0,86	1,00	n.s.	n.s.	0,24	0,33	0,25	n.s.	n.s.	-0,35	n.s.	n.s.	n.s.	-0,15	
Grosor piel	n.s.	0,33	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	0,22	0,33	0,28	0,29	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	
Nº semillas	n.s.	n.s.	n.s.	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Consistencia pulpa	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,23	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,17	0,16	0,23	0,21	0,21	0,24	n.s.	n.s.	1,00	0,40	0,32	n.s.	-0,26	-0,32	n.s.	0,36	0,32	-0,19	
Fuerza 10%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,25	n.s.	n.s.	0,33	n.s.	0,38	0,43	0,29	0,33	0,33	0,44	n.s.	n.s.	0,40	1,00	0,83	0,43	-0,38	-0,65	n.s.	0,83	0,75	-0,48	
Fuerza 20%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,31	0,34	0,29	0,26	0,26	0,32	n.s.	n.s.	0,32	0,83	1,00	0,79	n.s.	-0,44	0,54	0,87	0,84	n.s.	
Fuerza ruptura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,43	0,79	1,00	0,35	0,22	0,83	0,47	0,57	n.s.	
Distancia ruptura	n.s.	0,20	0,19	n.s.	n.s.	-0,21	0,24	n.s.	0,15	0,29	0,31	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	0,22	-0,26	-0,38	n.s.	0,35	1,00	0,74	0,78	-0,55	-0,53	0,25	
Tasa deformación	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,27	n.s.	n.s.	-0,16	-0,37	-0,39	-0,40	-0,41	-0,41	-0,53	n.s.	n.s.	-0,32	-0,65	-0,44	0,22	0,74	1,00	0,53	-0,58	-0,50	0,39	
Energía ruptura	n.s.	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,28	0,31	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,54	0,83	0,78	0,53	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	
Pendiente 10%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,27	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,36	0,83	0,87	0,47	-0,55	-0,58	n.s.	1,00	0,93	-0,49	
Pendiente ruptura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,22	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,32	0,75	0,84	0,57	-0,53	-0,50	0,05	0,93	1,00	-0,15	
Turgor	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,18	-0,24	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	n.s.	-0,19	-0,48	-0,18	0,10	0,25	0,39	0,14	-0,49	-0,15	1,00	

4.2.6.2. VvPel

En el caso del gen *VvPel*, dado que mediante el análisis de asociación con el Modelo General Lineal no se obtuvieron asociaciones significativas para los años 2005 y 2006, se incluyeron también en el análisis datos de 2004 y 2007 para todos los caracteres que habían sido descritos en dichos años. Muchas de las asociaciones obtenidas para los datos de 2006 fueron corroboradas por los de 2004 y, en determinados casos, también por los de 2007 (Tabla 40).

Al igual que para *VvGAI1*, para *VvPel*, los descriptores implicados en asociaciones fueron reducidos, asociándose únicamente algunos de ellos con diferentes SNPs. Considerando los resultados significativos para más de un año, principalmente dos caracteres presentaron asociación de forma generalizada con numerosos polimorfismos: la *consistencia de pulpa* y la *longitud de racimo*. Se obtuvo asociación entre la *consistencia de pulpa* para los años 2004 y 2006 y dos grupos de SNPs ligados entre sí: S_18, S_48, S_441, S_833 y S_1030 por un lado y, por otro, S_701 y S_1027 (Figura 38, pág. 182). Por otro lado, el primer grupo de SNPs, con la excepción de S_441, se asoció significativamente con la *longitud de racimo* para los años 2004, 2006 y 2007. Otros SNPs también ligados con este grupo (S_582, S_713, S_727 y S_1174), aunque en menor medida (con una r^2 de aproximadamente 0,5), se asociaron con la *longitud del racimo* de 2004 y 2006. La mayoría de las asociaciones obtenidas para este descriptor mostraron una $p < 0,01$.

Además de las asociaciones con el descriptor organoléptico de *consistencia de la pulpa*, algunos polimorfismos se asociaron significativamente con determinados parámetros de textura estimados mediante el texturómetro: la *pendiente al 10%* y la *pendiente de ruptura* de la baya se asociaron con el S_701 y el S_1027, la *energía y distancia de ruptura* se asociaron con el S_279 y el S_438, asociándose también la *tasa de deformación* con el S_279, y la *fuerza al 20%* y la *fuerza de ruptura* se asociaron con el S_147 y el S_531. De todas estas asociaciones, hay que destacar las obtenidas entre la distancia y la energía de ruptura y los SNPs S_279 y S_438 por presentar una $p < 0,01$.

Los valores de la varianza explicada por el modelo y por el marcador estuvieron aproximadamente en el mismo rango que los obtenidos para *VvGAI1*, obteniéndose para los descriptores implicados en asociaciones significativas valores entre 0,09 y 0,48 de la varianza explicada por el modelo y entre 0,05 y 0,23 de la varianza explicada por el marcador.

Tabla 40. Asociaciones significativas entre SNPs detectados en el gen *VvPeI* y caracteres morfológicos. En negrita asociaciones significativas al nivel de 0,01 para p del marcador y p del test de permutaciones.

Grupo de caracteres	Descriptor	SNP	Año	p Marcador	p test permutaciones	Varianza explicada por el modelo	Varianza explicada por el marcador	
Consistencia pulpa	S_18	2004	0,0493	0,044	0,4288	0,0529		
		2006	0,0478	0,0519	0,2781	0,0578		
	S_48	2004	0,0493	0,029	0,4288	0,0529		
		2006	0,0478	0,041	0,2781	0,0578		
	S_441	2004	0,0186	0,024	0,4244	0,0485		
		2006	0,0183	0,023	0,273	0,0527		
	S_701	2004	0,0179	0,01	0,4456	0,0696		
		2006	0,0186	0,013	0,2952	0,0748		
	S_833	2004	0,0493	0,038	0,4288	0,0529		
		2006	0,0478	0,037	0,2781	0,0578		
	S_1027	2004	0,0234	0,017	0,4412	0,0652		
		2006	0,0228	0,028	0,2916	0,0712		
	S_1030	2004	0,0493	0,0509	0,4288	0,0529		
		2006	0,0478	0,047	0,2781	0,0578		
	Textura	Tasa de deformación	S_279	2006	0,0314	0,025	0,3562	0,07
			S_279	2006	0,0013	0,002	0,3813	0,1353
		Distancia ruptura	S_438	2006	0,0048	0,004	0,3569	0,111
			S_611	2006	0,0473	0,0559	0,3116	0,0657
S_635			2006	0,0473	0,046	0,3116	0,0657	
S_793			2006	0,0473	0,05	0,3116	0,0657	
Energía ruptura		S_279	2006	0,0006	0,001	0,5064	0,1226	
		S_438	2006	0,0067	0,007	0,4693	0,0855	
		S_531	2006	0,0155	0,025	0,4559	0,072	
Fuerza 20%		S_147	2006	0,0148	0,019	0,3433	0,1321	
		S_531	2006	0,018	0,015	0,3376	0,1264	
Fuerza ruptura		S_147	2006	0,0256	0,022	0,431	0,0658	
		S_531	2006	0,016	0,016	0,4389	0,0737	
Pendiente 10%		S_701	2006	0,0406	0,04	0,2978	0,0705	
		S_1027	2006	0,0486	0,0549	0,294	0,0667	
Pendiente ruptura		S_701	2006	0,0142	0,016	0,2902	0,0961	
		S_1027	2006	0,0265	0,021	0,2769	0,0827	
Arquitectura racimo		Ln Longitud racimo	2004	0,0005	0,002	0,3142	0,1743	
	S_18		2006	0,0066	0,011	0,2659	0,0994	
			2007	0,0093	0,007	0,3071	0,1085	
	2004		0,0005	0,002	0,3142	0,1743		
	S_48		2006	0,0066	0,006	0,2659	0,0994	
			2007	0,0093	0,008	0,3071	0,1085	
	S_582		2004	0,0001	0,002	0,3057	0,1658	

<i>Grupo de caracteres</i>	<i>Descriptor</i>	<i>SNP</i>	<i>Año</i>	<i>p Marcador</i>	<i>p test permutaciones</i>	<i>Varianza explicada por el modelo</i>	<i>Varianza explicada por el marcador</i>
			2006	0,0026	0,005	0,2561	0,0896
	S_713		2004	0,0001	0,002	0,3057	0,1658
			2006	0,0026	0,005	0,2561	0,0896
	S_727		2004	0,0001	0,001	0,3057	0,1658
			2006	0,0026	0,005	0,2561	0,0896
			2004	0,0005	0,002	0,3142	0,1743
	S_833		2006	0,0066	0,009	0,2659	0,0994
			2007	0,0093	0,01	0,3071	0,1085
			2004	0,0005	0,001	0,3142	0,1743
	S_1030		2006	0,0066	0,013	0,2659	0,0994
			2007	0,0093	0,012	0,3071	0,1085
			2004	0,0001	0,001	0,3057	0,1658
	S_1174		2006	0,0026	0,004	0,2561	0,0896

Interacción ambiental

Para la CN96, las correlaciones entre los datos tomados durante las campañas de 2005 y 2006 fueron altas ($r > 0,6$) para los descriptores de *dimensiones* y *peso de racimo y baya*, así como para los *fenológicos*, moderadas ($0,4 < r < 0,6$) para la *compacidad del racimo* y la *consistencia de la pulpa*, y bajas ($r < 0,4$) para el *grosor de piel*, el *número de inflorescencias por pámpano* y la *longitud del pendúnculo* (Tabla 41).

Es importante mencionar que se obtuvieron algunas asociaciones con datos de un solo año (y por ello no reflejadas en la Tabla 40), lo que podría deberse a factores ambientales, por lo que no deben descartarse hasta ser examinadas con datos de al menos otro año. Sólo de un año, pero probablemente debido a la baja correlación existente entre los datos de 2005 y 2006 ($r = 0,32$), hay que destacar la asociación del *grosor de piel* de 2006 con el SNP S_531 ($p = 0,03$). Otro carácter para el que también se obtuvo asociación con los datos de un sólo año es el *número de semillas*, que se describió en los años 2006 y 2007, pero la correlación entre ambos no es muy alta ($r = 0,41$). Para éste, los datos de 2006 se asociaron con el S_441, que explicaba un 0,05 de la varianza del carácter.

A pesar de que no se detectaron asociaciones significativas para los datos de 2005 que sí lo eran con los datos de 2006, los datos de ambos años, tanto para la colección global como para la CN96, mostraron, para casi todos los descriptores, correlaciones más altas

que las obtenidas entre los datos de 2004 y 2006, entre los de 2004 y 2005, y entre todos los años y 2007.

Tabla 41. Coeficiente de correlación entre los datos tomados en diferentes años para cada descriptor en la CN96 (ND: No hay datos; n.s.: correlación no significativa; $r > 0,6$ en negrita).

Descriptores cualitativos	Coeficiente de correlación de Tau-b de Kendall					
	2004-2005	2004-2006	2004-2007	2005-2006	2005-2007	2006-2007
Compacidad racimo	0,478	0,447	n.s.	0,536	0,343	n.s.
Consistencia pulpa	0,409	0,389	0,358	0,425	0,484	n.s.
Época brotación	0,597	0,432	ND	0,602	ND	ND
Época envero	0,389	0,609	ND	0,612	ND	ND
Época madurez	0,554	0,58	ND	0,614	ND	ND

Descriptores cuantitativos	Coeficiente de correlación de Pearson					
	2004-2005	2004-2006	2004-2007	2005-2006	2005-2007	2006-2007
Anchura baya	0,687	0,799	0,702	0,808	0,685	0,841
Anchura racimo	0,435	0,43	n.s.	0,708	0,535	0,522
Grosor piel	ND	ND	ND	0,316	n.s.	0,358
Longitud baya	ND	ND	ND	0,874	0,804	0,912
Longitud pedúnculo	n.s.	0,428	n.s.	0,298	n.s.	n.s.
Longitud racimo	0,417	0,377	0,478	0,708	0,578	0,543
Nº inflorescencias por pámpano	ND	ND	ND	0,295	ND	ND
Nº semillas	ND	ND	ND	ND	ND	0,41
Peso 1 baya	0,777	0,84	0,689	0,873	0,707	0,719
Peso racimo	0,532	0,558	0,411	0,774	0,567	0,539
Rendimiento mosto	ND	ND	ND	0,665	n.s.	0,467
Volumen 1 baya	0,608	0,667	0,588	0,903	0,711	0,721

Correlación entre los diferentes descriptores

En cuanto a la correlación existente entre los diferentes descriptores o parámetros estudiados, al igual que en la colección CN127, se obtuvieron dos grupos principales de caracteres dentro de los cuales las correlaciones eran bastante altas ($r > 0,6$): los referentes a la baya (anchura, longitud, peso y volumen de baya y rendimiento en mosto), y determinados parámetros de textura tomados con el texturómetro (Tablas 42, 43, 44 y 45). En cuanto a estos últimos, principalmente, se obtuvieron correlaciones altas entre *fuerza al 10%*, *fuerza al 20%*, *pendiente al 10%* y *pendiente de ruptura* por un lado, y *distancia de ruptura*, *energía de ruptura* y *fuerza de ruptura* por otro, aunque algunos parámetros de ambos grupos se correlacionaban también con otros, como la *tasa de*

deformación con la *distancia de ruptura*. El parámetro de *turgor* se correlacionó con el resto de parámetros en menor medida, mostrando los mayores coeficientes con la fuerza al 10% ($r = -0,49$), la pendiente al 10% ($r = -0,46$) y la tasa de deformación ($r = 0,48$).

Para los caracteres referentes al racimo (*peso*, *anchura* y *longitud de racimo*) se obtuvieron correlaciones altas ($r > 0,6$) en 2005 y 2006, pero en 2004 y 2007 la *longitud de racimo* correlacionó con una r de 0,5 con los otros dos caracteres o con alguno de ellos.

Entre los descriptores fenológicos, sólo se correlacionaron la *época de envero* y la *época de madurez fisiológica* con una r en torno a 0,5, excepto en 2004, que fue de 0,3.

Para el descriptor organoléptico de la *consistencia de la pulpa* se observó una correlación media (r en torno a 0,4) con los parámetros de textura de 2006 de *fuerza al 10%*, *fuerza al 20%*, *pendiente al 10%* y *pendiente de ruptura* en 2006, siendo algo superior ($r = 0,5$) con la *fuerza* de 2005. El parámetro de *fuerza* de 2005 se correlacionó en mayor grado con los parámetros de *fuerza al 10%* ($r = 0,64$), *fuerza al 20%* ($r = 0,6$) y *pendiente al 10%* ($r = 0,66$) de 2006 (datos no mostrados en las tablas por corresponder a diferentes años). También en relación a los parámetros de textura, hay que destacar que la *fuerza* de 2005 se correlacionó con la *anchura*, la *longitud*, el *peso* y el *volumen de la baya* y el *rendimiento en mosto* con un coeficiente de Pearson de $r > 0,6$, mientras de los parámetros de textura de 2006, sólo se correlacionaron con estos caracteres la *tasa de deformación* ($-0,5 > r > -0,6$), la *fuerza al 10%* ($0,3 < r < 0,4$) y el *turgor* ($r \sim -0,3$). También se obtuvo un coeficiente de correlación de entorno a 0,5 entre el parámetro de *fuerza* de 2005 y los caracteres de racimo (*peso*, *longitud* y *anchura de racimo*). Para los datos de textura de 2006, sin embargo, sólo se obtuvieron correlaciones significativas y no muy altas entre la *longitud del racimo* y los parámetros de 2006 de *fuerza al 10%* ($r = 0,35$), *tasa de deformación* ($r = -0,25$) y *turgor* ($r = -0,24$).

Tabla 42. Correlaciones entre caracteres descritos en 2004 para la CN96.

	Época brotación	Época envero	Época madurez	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Consistencia pulpa
Época brotación	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época envero	n.s.	1,00	0,30	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época madurez	n.s.	0,30	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Compacidad racimo	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	-0,24	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,41
Longitud pedúnculo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	0,23	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,42	0,76	n.s.	n.s.	0,30	n.s.
Longitud racimo	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	0,23	0,42	1,00	0,53	0,23	0,22	0,24	0,23
Peso racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,76	0,53	1,00	0,41	0,35	0,42	n.s.
Anchura baya	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,23	0,41	1,00	0,74	0,69	n.s.
Peso 1 baya	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	0,35	0,74	1,00	0,83	0,19
Volumen 1 baya	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,30	0,24	0,42	0,69	0,83	1,00	0,29
Consistencia pulpa	n.s.	n.s.	n.s.	-0,41	n.s.	n.s.	0,23	n.s.	n.s.	0,19	0,29	1,00

Coefficiente de correlación de Pearson para caracteres cuantitativos y Tau-b de Kendall para caracteres cualitativos y cualitativos- cuantitativos; n.s.: correlación no significativa; $r > 0,6$ en negrita

Tabla 43. Correlaciones entre caracteres descritos en 2005 para la CN96 (ver pie de Tabla 42).

	Época brotación	Época enero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Anchura TXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	Consistencia pulpa	Fuerza
Época brotación	1,00	0,28	0,30	n.s.	n.s.	n.s.	0,27	0,18	0,29	n.s.	0,21	0,22	0,24	0,21	0,21	n.s.	0,28	0,22
Época enero	0,28	1,00	0,46	n.s.	n.s.	n.s.	0,41	0,27	0,42	0,28	0,31	0,30	0,32	0,28	0,26	n.s.	0,27	0,37
Época madurez	0,30	0,46	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	n.s.	0,18	0,20	0,19	0,17	0,19	0,20	0,17	n.s.	n.s.	0,17
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Compacidad racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,18	-0,19
Longitud pedúnculo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	0,27	0,41	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	0,71	0,90	0,50	0,65	0,46	0,60	0,58	0,55	n.s.	0,31	0,50
Longitud racimo	0,18	0,27	n.s.	n.s.	-0,18	n.s.	0,71	1,00	0,74	0,40	0,48	0,41	0,45	0,42	0,47	n.s.	0,34	0,54
Peso racimo	0,29	0,42	0,18	n.s.	n.s.	n.s.	0,90	0,74	1,00	0,51	0,62	0,42	0,60	0,57	0,55	n.s.	0,31	0,51
Anchura baya	n.s.	0,28	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	0,50	0,40	0,51	1,00	0,82	0,73	0,76	0,78	0,63	n.s.	0,28	0,54
Anchura TXT	0,21	0,31	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	0,65	0,48	0,62	0,82	1,00	0,66	0,90	0,87	0,74	0,26	0,35	0,67
Longitud baya	0,22	0,30	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	0,46	0,41	0,42	0,73	0,66	1,00	0,75	0,75	0,64	n.s.	0,41	0,61
Peso 1 baya	0,24	0,32	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	0,60	0,45	0,60	0,76	0,90	0,75	1,00	0,94	0,81	0,22	0,40	0,69
Volumen 1 baya	0,21	0,28	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	0,58	0,42	0,57	0,78	0,87	0,75	0,94	1,00	0,81	0,24	0,34	0,63
Rendimiento mosto	0,21	0,26	0,17	n.s.	n.s.	n.s.	0,55	0,47	0,55	0,63	0,74	0,64	0,81	0,81	1,00	0,24	0,33	0,60
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	n.s.	0,22	0,24	0,24	1,00	0,24	n.s.
Consistencia pulpa	0,28	0,27	n.s.	n.s.	-0,18	n.s.	0,31	0,34	0,31	0,28	0,35	0,41	0,40	0,34	0,33	0,24	1,00	0,52
Fuerza	0,22	0,37	0,17	n.s.	-0,19	n.s.	0,50	0,54	0,51	0,54	0,67	0,61	0,69	0,63	0,60	n.s.	0,52	1,00

Tabla 44. Correlaciones entre caracteres descritos en 2006 para la CN96 (ver pie de Tabla 42).

	Época brotación	Época enero	Época madurez	Nº inflorescencias por pámpano	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Anchura TXT	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	Nº semillas	Consistencia pulpa	Fuerza 10%	Fuerza 20%	Fuerza ruptura	Distancia ruptura	Tasa deformación	Energía ruptura	Pendiente 10%	Pendiente ruptura	Turgor	
Época brotación	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,31	n.s.	
Época enero	n.s.	1,00	0,52	n.s.	n.s.	0,19	0,30	n.s.	0,26	0,20	0,21	0,34	0,25	0,27	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época madurez	n.s.	0,52	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	n.s.	0,17	0,19	0,21	0,24	0,22	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	n.s.	-0,19	n.s.	n.s.	
Nº inflorescencias por pámpano	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	-0,29	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Compacidad racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	0,22	n.s.	0,30	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,22	n.s.	n.s.	-0,21	-0,21	n.s.	
Longitud pedúnculo	n.s.	0,19	n.s.	-0,29	n.s.	1,00	-0,30	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	n.s.	0,27	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Anchura racimo	n.s.	0,30	0,22	n.s.	0,22	-0,30	1,00	0,59	0,78	0,37	0,29	0,32	0,34	0,36	0,39	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Longitud racimo	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,59	1,00	0,61	0,30	n.s.	n.s.	0,27	0,29	0,37	n.s.	n.s.	n.s.	0,35	n.s.	n.s.	n.s.	-0,25	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	
Peso racimo	n.s.	0,26	0,17	n.s.	0,30	n.s.	0,78	0,61	1,00	0,52	0,45	0,35	0,48	0,47	0,49	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Anchura baya	n.s.	0,20	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	0,37	0,30	0,52	1,00	0,96	0,68	0,92	0,92	0,78	0,28	n.s.	0,18	0,42	0,32	n.s.	n.s.	-0,51	n.s.	n.s.	n.s.	-0,27	
Anchura TXT	n.s.	0,21	0,21	n.s.	n.s.	n.s.	0,29	n.s.	0,45	0,96	1,00	0,52	0,89	0,88	0,74	0,28	n.s.	n.s.	0,43	0,30	n.s.	n.s.	-0,47	n.s.	n.s.	n.s.	-0,29	
Longitud baya	n.s.	0,34	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	0,32	n.s.	0,35	0,68	0,52	1,00	0,75	0,78	0,71	0,38	n.s.	0,28	0,18	n.s.	n.s.	n.s.	-0,38	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	
Peso 1 baya	n.s.	0,25	0,22	n.s.	n.s.	n.s.	0,34	0,27	0,48	0,92	0,89	0,75	1,00	0,99	0,85	0,31	n.s.	0,23	0,32	n.s.	n.s.	n.s.	-0,52	n.s.	n.s.	n.s.	-0,27	
Volumen 1 baya	n.s.	0,27	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	0,36	0,29	0,47	0,92	0,88	0,78	0,99	1,00	0,85	0,32	n.s.	0,21	0,32	n.s.	n.s.	n.s.	-0,52	n.s.	n.s.	n.s.	-0,28	
Rendimiento mosto	n.s.	0,19	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,39	0,37	0,49	0,78	0,74	0,71	0,85	0,85	1,00	0,24	n.s.	0,25	0,41	n.s.	n.s.	n.s.	-0,60	n.s.	n.s.	n.s.	-0,30	
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,28	0,28	0,38	0,31	0,32	0,24	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,31	n.s.	
Nº semillas	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	0,33	0,26	n.s.	0,38	n.s.	n.s.	n.s.	
Consistencia pulpa	0,25	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	n.s.	n.s.	n.s.	0,18	n.s.	0,28	0,23	0,21	0,25	n.s.	n.s.	1,00	0,42	0,38	0,19	-0,24	-0,28	n.s.	0,40	0,43	n.s.	
Fuerza 10%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,35	n.s.	0,42	0,43	0,18	0,32	0,32	0,41	n.s.	n.s.	0,42	1,00	0,81	0,42	-0,37	-0,61	n.s.	0,86	0,75	-0,49	
Fuerza 20%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,27	n.s.	n.s.	n.s.	0,32	0,30	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,38	0,81	1,00	0,84	n.s.	-0,36	0,68	0,89	0,85	n.s.	
Fuerza ruptura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,33	0,19	0,42	0,84	1,00	0,36	0,28	0,86	0,52	0,68	n.s.	
Distancia ruptura	n.s.	n.s.	0,19	n.s.	0,22	n.s.	0,24	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	-0,24	-0,37	n.s.	0,36	1,00	0,76	0,73	-0,49	-0,41	0,31	
Tasa deformación	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,25	n.s.	-0,51	-0,47	-0,38	-0,52	-0,52	-0,60	n.s.	n.s.	-0,28	-0,61	-0,36	0,28	0,76	1,00	0,54	1,00	-0,52	-0,37	0,48
Energía ruptura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,38	n.s.	n.s.	0,68	0,86	0,73	0,54	1,00	n.s.	0,25	n.s.	
Pendiente 10%	n.s.	n.s.	-0,19	n.s.	-0,21	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,40	0,86	0,89	0,52	-0,49	-0,52	n.s.	1,00	0,92	-0,46	
Pendiente ruptura	0,31	n.s.	n.s.	n.s.	-0,21	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,31	n.s.	0,43	0,75	0,85	0,68	-0,41	-0,37	0,25	0,92	1,00	n.s.	
Turgor	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,24	n.s.	-0,27	-0,29	-0,24	-0,27	-0,28	-0,30	n.s.	n.s.	n.s.	-0,49	n.s.	n.s.	0,31	0,48	n.s.	-0,46	n.s.	1,00	

Tabla 45. Correlaciones entre caracteres descritos en 2007 para la CN96 (ver pie de Tabla 42).

	Compacidad racimo	Longitud pedúnculo	Anchura racimo	Longitud racimo	Peso racimo	Anchura baya	Longitud baya	Peso 1 baya	Volumen 1 baya	Rendimiento mosto	Grosor piel	N° semillas	Consistencia pulpa
Compacidad racimo	1,00	n.s.	0,39	n.s.	0,46	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,29	n.s.	n.s.	n.s.
Longitud pedúnculo	n.s.	1,00	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura racimo	0,39	n.s.	1,00	0,51	0,73	0,29	0,28	0,33	0,36	0,40	n.s.	n.s.	n.s.
Longitud racimo	n.s.	n.s.	0,51	1,00	0,62	n.s.	n.s.	0,31	0,33	0,51	n.s.	n.s.	n.s.
Peso racimo	0,46	n.s.	0,73	0,62	1,00	0,43	0,31	0,59	0,64	0,63	n.s.	n.s.	n.s.
Anchura baya	n.s.	n.s.	0,29	n.s.	0,43	1,00	0,73	0,84	0,80	0,51	n.s.	n.s.	0,36
Longitud baya	n.s.	n.s.	0,28	n.s.	0,31	0,73	1,00	0,76	0,73	0,57	0,35	n.s.	0,30
Peso 1 baya	n.s.	n.s.	0,33	0,31	0,59	0,84	0,76	1,00	0,95	0,78	n.s.	n.s.	0,35
Volumen 1 baya	n.s.	n.s.	0,36	0,33	0,64	0,80	0,73	0,95	1,00	0,81	n.s.	n.s.	0,33
Rendimiento mosto	0,29	n.s.	0,40	0,51	0,63	0,51	0,57	0,78	0,81	1,00	n.s.	n.s.	n.s.
Grosor piel	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,35	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.	n.s.
N° semillas	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1,00	n.s.
Consistencia pulpa	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,36	0,30	0,35	0,33	n.s.	n.s.	n.s.	1,00

4.2.7. Análisis de la estructura proteica

4.2.7.1. Estructura primaria: Secuencia de aminoácidos

La estructura primaria de una proteína viene determinada por la secuencia de aminoácidos que la conforman. Conocer la secuencia de aminoácidos y localizar los posibles polimorfismos existentes en la misma es fundamental para detectar un posible funcionamiento anormal de la proteína que podría desembocar en variaciones fenotípicas. Por ello, de los SNPs detectados en la secuencia nucleotídica, en este apartado se analizarán detenidamente los que provocan un cambio en el aminoácido para el que codifican.

VvGAI1

Sólo cinco SNPs de los 15 detectados fueron no sinónimos o de reemplazamiento, provocando variaciones aminoacídicas, y todos ellos presentan frecuencias relativamente bajas (entre 0,008 y 0,07) en la colección analizada. Como puede observarse en la Tabla 46, dos de estos reemplazamientos ocurren entre aminoácidos que presentan diferentes propiedades físicas; es el caso del aminoácido situado en la posición 102 (aa102), entre una prolina y una serina, y el aminoácido aa195, entre una prolina y una alanina. La prolina es hidrofóbica y polar, de manera que al intercambiarse por serina, la cual es polar, ese sitio perdería la propiedad de hidrofobicidad. En el segundo caso, al ser la prolina sustituida por una alanina, que es hidrofóbica, el sitio perdería la propiedad de polaridad. Los aminoácidos hidrofóbicos tienden a interactuar en la parte interna de la estructura tridimensional de la proteína, mientras los aminoácidos polares tienden a formar parte de la superficie de la proteína, interactuando con otras sustancias polares.

Además, el aa102 está localizado cerca de la región DELLA, cuya función es de gran importancia en la proteína (Figura 40). La posición aa195 de la proteína, en la que se produce el reemplazamiento de prolina por alanina perdiéndose la polaridad, aunque no está en una región conservada, también se encuentra muy cerca de un motivo conservado, VVLVD, que para otras especies con las que se ha comparado es VVVVD (Anexo 4, pág. 323).

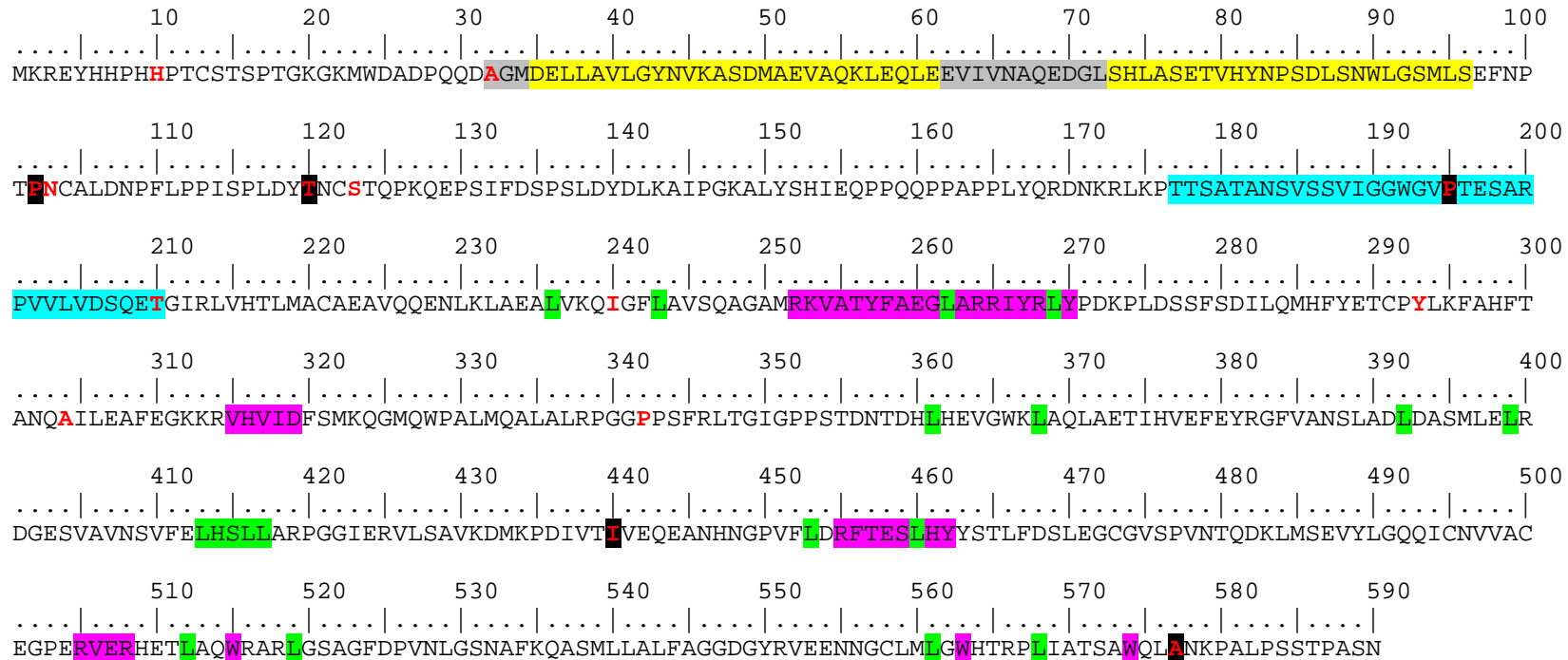
Tabla 46. Características de los aminoácidos que han sido reemplazados como consecuencia de un SNP en *VvGAI1*.

<i>Posición SNP</i>	<i>Posición aminoácido</i>	<i>Reemplazamiento aminoacídico</i>	<i>Propiedades físicas</i>
S_304	aa102	Pro → Ser	Hidrofóbico/ polar → Polar
S_359	aa120	Thr → Asn	Polar → Polar
S_583	aa195	Pro → Ala	Hidrofóbico/ polar → Hidrofóbico
S_1320	aa440	Ile → Met	Hidrofóbico → Hidrofóbico
S_1730	aa577	Ala → Val	Hidrofóbico → Hidrofóbico

Hay otro reemplazamiento en la posición proteica aa577 que, aunque no supone una variación en las propiedades físicas, resulta de interés por estar localizado junto al motivo SAW (Figura 40), motivo conservado y característico de las proteínas de la subfamilia DELLA y, en general, de las de la familia GRAS.

Ninguno de los 5 polimorfismos detectados en la proteína forma parte de alguno de los principales motivos descritos para las proteínas de la subfamilia DELLA. Tan sólo 3 de los 15 SNPs forman parte de aminoácidos totalmente conservados para el resto de especies con las que se ha comparado (Anexo 4, pág. 323). Dos de ellos (S_879 y S_912) se encuentran en una región aparentemente conservada y localizada cerca del motivo VHVID; sin embargo son sinónimos. El tercero es un polimorfismo de reemplazamiento localizado en una región con diversos fragmentos relativamente conservados (S_1320), que produce un cambio aminoacídico en la posición aa440 de la proteína de isoleucina a metionina, y corresponde a una valina en el resto de especies.

Figura 40. Motivos característicos de la proteína *VvGA11* y sitios polimórficos.



X Sitios que incluyen un SNP sinónimo.

X Sitios polimórficos con reemplazamiento de aminoácido.

X Región DELLA (principales motivos: DELLA y TVHYNP, implicados en la recepción de giberelinas)

X Regiones no conservadas en la región DELLA.

X Motivos conservados GRAS [NLS (localización nuclear de señal), LHR I (homodimerización), VHVID, LHR II - LXXLL (interacción proteína – proteína), RFTESLHY (sitio de fosforilación de tirosina quinasa), SAW (RVER + W-W-W)].

X Dominio regulador de la actividad supresora (rico en Ser, Val y Thr).

VvPel

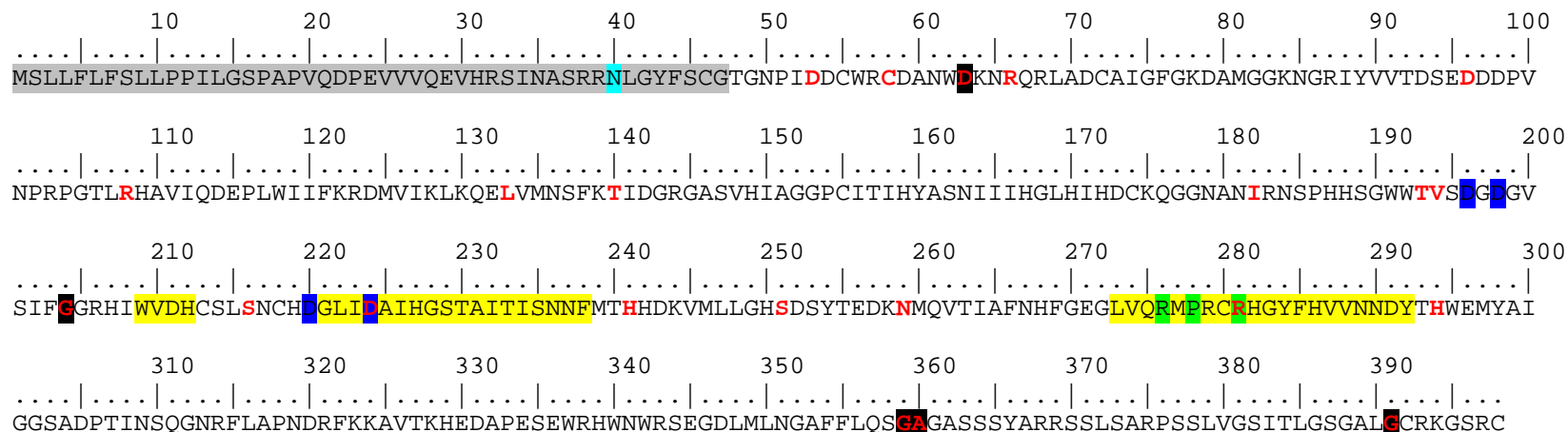
A pesar del elevado número de polimorfismos detectados en el gen *VvPel*, sólo cinco son de reemplazamiento o no sinónimos (Tabla 47), de los cuales, dos provocan un cambio entre aminoácidos con diferentes propiedades físicas: en la posición aa359 ocurre una variación entre glicina y alanina, siendo la primera polar y la segunda hidrofóbica, mientras que en la posición aa391 el cambio ocurre entre un aminoácido polar (glicina) y uno con carga negativa (ácido aspártico). Los dos SNPs que provocan ambos cambios (S_1027 y S_1122, respectivamente) presentan unas frecuencias considerablemente altas (de 0,21 y 0,12, respectivamente).

Tabla 47. Características de los aminoácidos que han sido reemplazados como consecuencia de un SNP en *VvPel*.

<i>Posición SNP</i>	<i>Posición aminoácido</i>	<i>Reemplazamiento aminoacídico</i>	<i>Propiedades físicas</i>
S_48	aa63	Asp → Glu	Carga negativa → Carga negativa
S_469	aa204	Gly → Ser	Polar → Polar
S_1027	aa359	Gly → Ala	Polar → Hidrofóbico
S_1030	aa360	Ala → Val	Hidrofóbico → Hidrofóbico
S_1122	aa391	Gly → Asp	Polar → Carga negativa

En cuanto a la posición de estos reemplazamientos en la secuencia proteica, ninguno está localizado en un motivo funcional, aunque aa204 se encuentra muy cerca del motivo I, posiblemente implicado en la estructura secundaria (Figura 41). Los sitios aa359 y aa360 se encuentran próximos a una región altamente conservada en las diferentes especies comparadas (Anexo 5, pág. 325).

Figura 41. Motivos característicos de la proteína *VvPel* y sitios polimórficos.



- X Sitios que incluyen un SNP sinónimo.
- ~~X~~ Sitios polimórficos con reemplazamiento de aminoácido.
- X Posible sitio de glicosilación
- X Motivos conservados de la pectato liasa B: motivo I (WiDH: núcleo de la hélice □ paralela); motivo II y motivo III
- D Sitio de unión de Ca⁺⁺
- X Sitios catalíticos
- X Secuencia no analizada

4.2.7.2. Predicción de la estructura secundaria

La estructura secundaria de una proteína consiste en el plegamiento de la cadena polipeptídica debido a la formación de puentes de hidrógeno entre los átomos que forman el enlace peptídico.

El software SSPfinder implementado en la web Softberry permite predecir, usando cadenas de Markov, qué fragmentos de la secuencia de aminoácidos conformarían una estructura en hélice α o en lámina β . Mediante dicho software, se predijo la estructura secundaria de la proteína correspondiente a cada uno de los 15 haplotipos detectados mediante el software Phase para cada uno de los genes objeto de estudio.

VvGAI1

Todos los haplotipos mostraron idéntica estructura, excepto el haplotipo H13, en el que, debido al SNP S_1320, tiene lugar la sustitución de una isoleucina por una metionina en la posición aa440 de la secuencia de aminoácidos. En dicho haplotipo, la región comprendida entre los aminoácidos aa437 y aa446 conformaría una estructura en hélice α , mientras que en el resto de haplotipos, según la predicción llevada a cabo, la región comprendida entre los aminoácidos aa437 y aa443 conformaría una estructura en lámina β (Figura 42).

Figura 42. Comparación entre la estructura secundaria obtenida para el haplotipo H13 frente al resto de haplotipos.

Haplotipo H13

	410	420	430	440	450
Estructura	$\beta\beta\beta$	$\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$	$\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$	$\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$	
Secuencia aa	DGESVAVNSVFEHLSLLARPGGIERVLSAVKDMKPDIVTIVEQEANHNGP				

Resto de haplotipos

	410	420	430	440	450
Estructura	$\beta\beta\beta$	$\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$	$\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha\alpha$	$\beta\beta\beta\beta\beta\beta$	
Secuencia aa	DGESVAVNSVFEHLSLLARPGGIERVLSAVKDMKPDIVTIVEQEANHNGP				

VvPel

El caso del gen *VvPel* resultó similar al de *VvGAI1*, existiendo un haplotipo para el que el software mostró una estructura secundaria diferente a la predicha para el resto de haplotipos. La proteína resultante del haplotipo H6 presentaba una estructura en hélice α entre los aminoácidos aa334 y aa345 y entre los aminoácidos aa348 y aa359, mientras el resto de haplotipos daban lugar a proteínas con una estructura secundaria en lámina β entre los aminoácidos aa348 y aa350 y entre aa353 y aa357, sin mostrar hélice α entre las posiciones aa334 y aa345 (Figura 43).

En esta región existen dos reemplazamientos aminoacídicos consecutivos, localizados concretamente en las posiciones aa359 y aa360, ocasionados por los polimorfismos S_1027 y S_1030. En el haplotipo H6, dichos polimorfismos darían lugar a dos alaninas, mientras que en la mayoría de haplotipos darían lugar a glicina-alanina, con la excepción de los haplotipos H12, H13, H14 y H15, en los que darían lugar a glicina-valina. No obstante, solo la sustitución de glicina-359 por alanina-359 da lugar al cambio conformacional en la estructura secundaria.

Figura 43. Comparación entre la estructura secundaria obtenida para el haplotipo H6 frente al resto de haplotipos.

Haplotipo H6

	310	320	330	340	350
Estructura		ββββ	αααααααα	αααααααααα	ααα
Secuencia aa	GGSADPTINSQGNRFLAPNDRFKKAVTKHEDAPESEWRHWNWRSEGLML				
	360	370	380	390	
Estructura	αααααααα		ββββββββ		
Secuencia aa	NGAFFLQSAAGASSSYARASSLSARPSSLVGSITLGGALGCRKGSRC				

Resto de haplotipos

	310	320	330	340	350
Estructura		ββββ	αααααααα		βββ
Secuencia aa	GGSADPTINSQGNRFLAPNDRFKKAVTKHEDAPESEWRHWNWRSEGLML				
	360	370	380	390	
Estructura	ββββ		ββββββββ		
Secuencia aa	NGAFFLQSGAGASSSYARASSLSARPSSLVGSITLGGALGCRKGSRC				

4.2.7.3. Predicción de la estructura terciaria

Con el fin de detectar posibles anomalías en la estructura terciaria de las proteínas resultantes de ambos genes, se predijeron, mediante el software CYS_REC de Softberry, las posibles uniones covalentes mediante puentes disulfuro, que se establecen entre los átomos de azufre del aminoácido cisteína.

VvGAI1

Sólo cinco cisteínas de las nueve existentes en la proteína presentaron cierta probabilidad de formar enlaces. En función de las diferentes combinaciones posibles entre estas cisteínas se obtuvieron tres estructuras posibles. Para la mayoría de haplotipos se obtuvieron dos posibles uniones mediante puentes disulfuro entre las cisteínas C13-C122 y C104-C473. Para el haplotipo H7, el patrón de uniones entre cisteínas más probable según el software fue entre los pares C13-C122 y C104-C495. Por último, para los haplotipos H12 y H13 se obtuvo una sola unión posible entre las cisteínas C104-C122. No obstante, la probabilidad para estos resultados fue muy baja en todos los casos.

VvPel

El total de cisteínas detectadas en la proteína *VvPel* fueron 11, de las cuales cinco presentaron cierta probabilidad de formar puentes disulfuro. Para todos los haplotipos se obtuvo un posible enlace entre las cisteínas C46-C392. Además de este posible enlace, se predijo otro entre las cisteínas C55-C58 para los haplotipos H1, H3, H5, H7, H8, H9, H10 y H11, un enlace entre C58-C213 para los haplotipos H2, H4 y H6, y otro enlace entre las cisteínas C55-C213 para los haplotipos H12, H13, H14 y H15. Así, al igual que para el gen *VvGAI1*, para *VvPel* se obtuvieron tres posibles estructuras con diferentes combinaciones de uniones entre cisteínas, aunque la probabilidad solo fue alta para el par C46-C392, obtenido para todos los haplotipos.

5. DISCUSIÓN

5.1. CARACTERIZACIÓN

5.1.1. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

5.1.1.1. Obtención de datos STMS

Desarrollo y optimización de un sistema de análisis con PCR múltiple

Debido a la gran cantidad tanto de muestras como de marcadores STMS con los que se programaba trabajar, se planteó la posibilidad de amplificar simultáneamente todos los loci posibles en una misma reacción, es decir, mediante PCR múltiple. Un inconveniente de esta variante de PCR es que resulta difícil conseguir una amplificación homogénea de todos los microsatélites debido a la competencia existente entre los mismos, por lo que su optimización resulta a veces compleja.

La puesta a punto de la mix B resultó más ardua que la de la mix A. En la mezcla de reacción de la mix A, el rango de concentraciones entre los diferentes cebadores es de 0,05 a 0,17 μM , mientras en la mix B puede observarse un mayor desequilibrio, con unas concentraciones de 0,35 y 0,30 μM para VVMD5 y VVIV67 respectivamente, debido a la dificultad para amplificar estos loci (Tabla 8, pág. 105). Igualmente, el programa de PCR de la mix B contiene 10 ciclos finales a 50°C (Tabla 9, pág. 105), añadidos para facilitar la amplificación de los microsatélites problemáticos, que probablemente son causantes de la aparición de un artefacto (amplificación inespecífica) de color rojo en torno a los 145 pb.

El ajuste de estas PCRs múltiples significó una mejora considerable de la técnica, puesto que no solo se consiguió un importante ahorro en costes, sino también en tiempo, además de la disminución de posibles errores al reducirse la manipulación de muestras.

La amplificación del VVIV67 resultó menos eficiente que la del resto de marcadores y la interpretación de resultados para el VMC4F3-1 resultó más complicada debido a la presencia de un artefacto. Sin embargo, ambos microsatélites son los más polimórficos de los 20 estudiados y presentan una alta heterocigosidad, haciendo de ellos dos de los más informativos, por lo que merece la pena su análisis. El VVIP60 resultó muy problemático debido a que mostraba una amplitud de “bin” de 1,5 pb para algunos alelos. Dado que, tras hacer determinadas pruebas, los resultados apuntaban a que no se debía

al efecto "+A", es posible que se trate de alelos que difieren en 1 pb. Hasta que no se dilucide esta hipótesis, el uso de dicho microsatélite no es aconsejable.

Otro marcador poco aconsejable es el VVIN73, pero en este caso debido a su baja heterocigosidad y polimorfismo, ya que la información que aporta es mínima. Frente a éste, el VVIP31 es un locus con un número de alelos intermedio, pero presenta el mayor NEA y la mayor heterocigosidad de los 20 empleados en este trabajo, haciendo de él otro de los más informativos. De hecho, con este marcador y tres más (VMC4F3-1, VVMD28 y VVIV37) pudo diferenciarse el total de genotipos detectados.

Detección de terceros alelos: Posibles quimeras

En el análisis genético de vid mediante marcadores microsatélite, se han observado ocasionalmente más de dos alelos en algún locus. Esto no es un fenómeno esperado en especies diploides, como es el caso de la vid, en el cual se esperan dos alelos para un determinado locus microsatélite. Recientes estudios señalan que el genoma de la vid es el resultado de una hexaploidización ancestral (Jaillon *et al.* 2007), lo que podría explicar la aparición de más de dos alelos en diferentes loci. Sin embargo, el porcentaje de terceros y cuartos alelos en genotipos publicados de vid es muy bajo, exceptuando el trabajo de Martínez *et al.* (2006).

Se ha identificado como otra posible fuente de tales anomalías el fenómeno que lleva por nombre quimerismo periclinal: tejidos distintos citoplasmática o nuclearmente, dispuestos en capas concéntricas. Este fenómeno puede afectar a la identificación varietal y a los análisis de pedigríes en vid.

Dado que la aparición de tres alelos en vid se ha explicado generalmente como la existencia de quimeras, en este trabajo hablaremos de posibles quimeras en espera de una futura confirmación experimental.

En la vid existen diferentes partes de la planta que presentan dos capas celulares denominadas L1 y L2 (Einset y Pratt 1954; Thompson y Olmo 1963), entre ellas las que proceden de la yema del pámpano, como las anteras o las hojas, por ejemplo. El tercer alelo se ha generado por mutación en una de las dos capas celulares. Mediante reproducción vegetativa, esta mutación y el genotipo original se han mantenido en el tiempo. Al extraer el ADN procedente de la hoja, el genotipo resultante es una mezcla de los genotipos de las dos capas, L1 y L2. El hecho de que la hoja presente este fenómeno

no quiere decir que todos los órganos de la planta lo tengan, ya que no todas las partes de la vid presentan las dos capas celulares.

El quimerismo se ha confirmado en estudios en los que mediante embriogénesis somática se han obtenido individuos procedentes de una sola célula, bien perteneciente a la capa celular L1 o a la L2, consiguiendo con ello estudiar el perfil genético correspondiente a cada una de ellas y su fenotipo (Franks *et al.* 2002; Hocquigny *et al.* 2004; Bertsch *et al.* 2005; Moncada *et al.* 2006).

De las posibles quimeras detectadas en este estudio, resulta especialmente interesante el grupo de las Chasselas, ya que aparece quimerismo en varios sports: Chasselas musqué, Chasselas rouge, Chasselas blanca, Chasselas apyrene y Corneille, que presentan una posible quimera en el locus VMC4F3-1; sin embargo, únicamente en Chasselas rouge y Corneille se añade una segunda posible quimera en el locus VVIP31 (Figuras 11 y 12, pág. 110). Estas variedades son sports que varían en caracteres morfológicos, como la apirenia y el color de la baya. No parece haber una conexión morfológica entre las accesiones que comparten alguno de los quimerismos. Chasselas apyrene es apirena frente al resto de accesiones y el color de la baya es muy variable de unas variedades a otras (en Corneille es verde-amarillo y en Chasselas rouge es rojo), mientras respecto a otras características, como la compacidad, todas son similares entre sí. Estas posibles quimeras podrían indicar que cualquiera de las Chasselas que no presentan quimerismo podría ser la más antigua, mientras que los más recientes de estos sports podrían ser Corneille y Chasselas rouge; Chasselas rouge podría haberse originado a partir de Corneille, puesto que es la única variedad roja de este grupo que presenta quimerismo.

Otro caso que puede resultar de interés es el caso de Quiebratinaja blanco (variedad que no es blanca, sino rosa), que quizás sea una mutación de Quiebratinajas tinto (variedad roja). Quiebratinaja blanco presenta los mismos alelos para los 20 loci que Quiebratinajas tinto, sin embargo, en el locus VVMD25 aparece un tercer alelo en Quiebratinaja blanco que no aparece en Quiebratinajas tinto (Figura 13, pág. 111).

A pesar de que estas quimeras aparecen en diferentes sports, los loci en los que aparecen tres alelos no se encuentran en los mismos grupos de ligamiento que determinados genes o QTLs responsables del color o de la apirenia [GL2 (Lijavetzky *et al.* 2006) y GL18 (Cabezas *et al.* 2006), respectivamente], por tanto no están ligados a dichos loci y no es probable que estas mutaciones guarden alguna relación con las variaciones fenotípicas existentes entre estos sports. Esta coincidencia podría apuntar a que estas variedades presenten una alta tasa de mutación o a que se trate de variedades

muy antiguas, acumulando una mayor cantidad de mutaciones a lo largo del tiempo (especialmente Chasselas).

El hecho de que en los loci VMC4F3-1, VVIP31 y VVMD32 ocurra este fenómeno de forma independiente en dos genotipos (considerando al grupo de Chasselas un solo genotipo) concuerda con que se trata de loci bastante polimórficos, que deben tener una elevada tasa de mutación en comparación a otros loci. De hecho, los loci que presentan tres alelos en alguna accesión son algunos de los más polimórficos de entre los 20 analizados.

En la variedad A-406-49-SRLH aparecen tres alelos en varios loci, pero no se trataría de una quimera sino de una variedad triploide (Ibáñez 2000), puesto que procede del cruce entre Cannon Hall y Regal. Cannon Hall está descrito como un autotetraploide de Muscat of Alexandria (Galet 2000).

5.1.1.2. Análisis de diversidad

Análisis de diversidad alélica

En general, los resultados obtenidos en este trabajo (Tabla 11, pág. 114) son similares a los de otros trabajos publicados en los que se ha analizado un número elevado de muestras, como el de Ibáñez *et al.* (2003) (111 variedades y 13 microsatélites), en el que se obtuvieron una heterocigosidad observada y un número de alelos por locus ligeramente menores (0,707 y 9,85, respectivamente). Martín *et al.* (2003) (176 variedades y 6 microsatélites) y Aradhya *et al.* (2003) (366 variedades y 8 microsatélites), obtuvieron una heterocigosidad algo mayor (0,83 aproximadamente), lo que podría deberse a la elección de los loci, puesto que de entre los aquí empleados, el locus VVIN73 tiene una heterocigosidad observada de 0,232, que reduce la heterocigosidad media en un alto porcentaje.

En cambio, frente al trabajo de Halasz *et al.* (2005) (101 variedades y 6 loci), el grupo de microsatélites aquí empleado resulta más informativo en general, presentando mayor número de alelos por locus, menor PI y mayor heterocigosidad esperada y observada (ellos obtuvieron 7,5 alelos por locus, PI de $7,9 \times 10^{-5}$ y heterocigosidad observada de 0,7). Igualmente ocurre con el de Sefc *et al.* (1999), bastante más similar a éste en cuanto al número de loci empleados (18 microsatélites y 120 variedades), en el que los resultados obtenidos son una heterocigosidad total y una media de alelos por locus inferiores a los nuestros (0,68 y 9 alelos por locus, respectivamente). Sin embargo, en

otro trabajo, Sefc *et al.* (1998c) obtuvieron una PI de $3,4 \times 10^{-24}$ en el análisis de 52 variedades con 32 microsatélites, muy inferior a la PI obtenida en este trabajo, aunque es lógico dado el alto número de loci frente a un número de accesiones considerablemente menor.

Respecto a los microsatélites en común con los analizados por los autores anteriormente mencionados (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27 y VVMD28), los resultados son muy similares, excepto para el locus VVMD28, en el que se han encontrado dos alelos más que en los análisis de Ibáñez *et al.* (2003), pero cinco menos que en el de Aradhya *et al.* (2003). Por otro lado, para VVMD21 se han encontrado tres alelos más que en el de Halasz *et al.* (2005). El locus VVMD5 ha sido considerado el más informativo en la mayoría de los trabajos citados, sin embargo, en este estudio hay algunos loci más informativos.

La heterocigosidad para cada locus en el análisis de Aradhya *et al.* (2003) es bastante similar a la aquí observada (excepto para VVMD28, que es algo mayor), sin embargo, en comparación con los otros trabajos, en este estudio la heterocigosidad observada en VVMD5 y VVMD27 es menor, mientras en VVMD7 y VVMD21 es mayor.

Destaca el hecho de que en la mayoría de los trabajos realizados en uva de vinificación con un menor tamaño muestral que el nuestro la heterocigosidad media observada obtenida sea bastante mayor (Lopes *et al.* 1999; Lefort y Roubelakis-Angelakis 2001; Zulini *et al.* 2002; Fatahi *et al.* 2003; Hvarleva *et al.* 2004; Boccacci *et al.* 2005; Costantini *et al.* 2005; Martínez *et al.* 2006). Esto demuestra que existe una menor heterocigosidad entre las variedades dedicadas a la producción de uva de mesa con respecto a las de vinificación. Este hecho viene condicionado por el distinto origen de ambos tipos de variedades: en la uva de vinificación, en general, el hombre se ha limitado a seleccionar cruzamientos naturales, mientras que en la uva de mesa se han diseñado esos cruzamientos, utilizando unos pocos progenitores, algunos de los cuales presentan los principales caracteres de calidad; por ejemplo, la variedad Sultanina el carácter de apirenia o Muscat of Alexandria el sabor moscatel.

Existen menos trabajos de este tipo centrados en uva de mesa, y fueron elaborados sobre un menor número de variedades que éste, como el estudio de Sánchez-Escribano *et al.* (1999), que aportó resultados similares a los nuestros, y el de Crespan *et al.* (1999), que obtuvo más o menos la mitad de alelos en los loci coincidentes en ambos trabajos (VVS2, VVMD5 y VVMD7). Pero hay que tener en cuenta que, en este último estudio, un número considerable de las variedades estaban emparentadas entre sí. Costantini *et al.* (2007) analizaron 13 variedades de mesa con 298 loci microsatélite y la heterocigosidad

observada es menor que la obtenida en este estudio (0,638), lo que se debe a que en este trabajo la mayoría de marcadores se seleccionaron en función de su heterocigosidad, entre otras características, mientras que en el análisis de 298 loci puede haber muchos microsatélites con una baja heterocigosidad.

Martín *et al.* (2003) encontraron una frecuencia muy baja para uno o dos alelos de cada uno de los microsatélites (correspondiente a un alelo único), al igual que ocurre con 23 alelos, correspondientes a 13 de los STMS aquí analizados. El interés de estos alelos radica en que podrían ser indicadores de variedades raras (alejadas geográfica y/o filogenéticamente del resto de la colección estudiada, por ejemplo), o, igualmente su baja frecuencia podría señalar que se trata de alelos relativamente nuevos. En este trabajo parece tratarse de la primera opción, puesto que la mayoría se encuentran en variedades orientales, que son minoritarias en la colección estudiada: 10 de estos alelos son presentados por variedades de países árabes (Irán, Marruecos, Túnez, Turquía, Líbano, Daghestan, Azerbaijan), 2 por variedades emparentadas con Sultanina (Afganistán), 4 aparecen en variedades españolas, 3 en variedades de procedencia italiana, 2 en una variedad francesa, 1 en una húngara y 1 en una variedad de origen desconocido. El trabajo realizado por Le Cunff *et al.* (2008) sobre una muestra mucho más amplia que las analizadas en todos estos trabajos (2262 variedades de vinificación y mesa) mostró que de 326 alelos, 55 presentaron una frecuencia inferior a 0,05.

Análisis de diversidad genotípica

En general, las etiquetas (valores) asignadas a los alelos varían entre laboratorios, por los diferentes sistemas empleados. La comparación de resultados con otros trabajos en los que se han analizado variedades comunes con los mismos microsatélites no resulta complicada en general, aunque adaptar bases de datos con diferentes variedades es más difícil. Mediante el proyecto europeo Genres trataron de unificarse los datos de diferentes equipos de investigación para seis loci, asignando un código a cada alelo de las variedades más extendidas (This *et al.* 2004). Sólo cuatro de dichos loci se han empleado en este trabajo (VVS2, VVMD5, VVMD7 y VVMD27).

Los valores alélicos en los loci VVMD5 y VVMD7 varían de forma regular entre diferentes laboratorios, sin embargo, para el locus VVS2, los valores obtenidos por los diferentes trabajos no guardan una correspondencia lineal, es decir, a pesar de que cada alelo obtenido en un trabajo se corresponde con un alelo del resto, el número de nucleótidos de diferencia entre alelos en los diferentes trabajos no siempre es el mismo, lo cual

parece deberse a diferencias en la electroforesis y /o al binning, ya que esas diferencias se aprecian entre trabajos en los que todos los valores son impares y trabajos en los que existen valores pares e impares.

Esta comparación entre diferentes trabajos ha revelado algunas pequeñas variaciones no asignables a estos problemas de denominación o "binning" entre genotipos obtenidos para la misma variedad. Por ejemplo, Sánchez-Escribano *et al.* (1999) detectaron cuatro alelos en el locus VVS2 de Danuta (135:149:151:155), lo que atribuyeron a una posible duplicación del locus o a la posible naturaleza tetraploide de la variedad. Cabe destacarse que, al igual que Ibáñez (2000), en este estudio solo se han encontrado dos alelos en esta variedad (133:149), que podrían ser equivalentes a 135:151 de Sánchez-Escribano *et al.* (1999) (Anexo 1). El resultado obtenido por Sánchez-Escribano *et al.* (1999) podría explicarse por la tendencia del locus VVS2 a amplificar artefactos de forma irregular, lo que se ha observado en otras ocasiones en nuestro laboratorio. La accesión estudiada en los tres trabajos fue la misma, por lo que no parece probable que se deba a una mutación, aunque tampoco se puede descartar.

También Ibáñez (2000) obtuvo diferentes valores a los de Sánchez-Escribano *et al.* (1999) en Cardinal para los loci VVMD5 y VVMD7: Ibáñez (2000) obtuvo 224:234 para VVMD5 y 248:248 para VVMD7, mientras que Sánchez-Escribano *et al.* (1999) obtuvieron 236:236 para VVMD5 y 238:248 para VVMD7. En este trabajo, el genotipo obtenido para esta variedad coincide con el de Ibáñez (2000): 223:233 y 246:246 para VVMD5 y VVMD7 respectivamente. Otras diferencias aquí encontradas con respecto a los resultados de Sánchez-Escribano *et al.* (1999) aparecen en Early Muscat, en la que se observa el genotipo 236:244 para VVMD7 y 131:146 para VVS2, mientras ellos obtuvieron 247:249 y 133:135 respectivamente.

Dado que la diferencia se debe en la mayoría de los casos a la ausencia o presencia de uno de los alelos, coincidiendo el otro, el motivo de estas diferencias podría ser la ausencia de detección de uno de los alelos a causa del método de análisis. Sánchez-Escribano *et al.* (1999) emplearon gel de poliacrilamida, mientras que aquí se ha utilizado un secuenciador AB 3130.

Por otro lado, se han observado algunas diferencias respecto al trabajo de Zulini *et al.* (2002) en las variedades Perle von Csaba, Prunesta y Aleático. Ellos detectaron, en Perle von Csaba, los alelos 135:135 para VVS2 y 226:236 para VVMD5, mientras que los aquí detectados han sido 131:155 y 233:233, respectivamente, lo que podría deberse a la ausencia de detección de un alelo. En comparación a los resultados de Aradhya *et al.* (2003), la accesión de la Colección de El Encín parece ser correcta. Prunesta debería

equivaler a la accesión de El Encín denominada Prunesta nera, puesto que supuestamente son sinónimas (Galet 2000), sin embargo, los genotipos para VVS2, VVMD5 y VVMD7 también son diferentes. En este caso, podríamos pensar que ambas variedades no sean verdaderas sinonimias o que alguna de ellas sea un error de banco. En cuanto a Aleático, tampoco parece tratarse de la misma variedad, puesto que en este trabajo se han obtenido los genotipos 131:131 para VVS2 y 245:249 para VVMD7, mientras ellos obtuvieron 135:137 y 239:249, respectivamente. Por otro lado, los genotipos obtenidos por Costantini *et al.* (2005) para Aleático no coinciden con ninguno de los anteriores. Es decir, existen al menos tres accesiones de diferentes bancos de germoplasma denominadas Aleático que son diferentes entre sí, pero resulta difícil averiguar si se trata de homonimias o de errores de banco; de hecho, es posible que nuestra accesión no sea Aleático, sino Moscato d'Adda, o que nuestro Aleático sea una sinonimia de Moscato d'Adda, como se explica más adelante.

Otro caso similar al de Aleático, en el que se han detectado tres variedades con el mismo nombre pero diferentes en tres colecciones distintas, es el de Pedro Ximenes, siendo el genotipo aquí obtenido diferente al obtenido por García-Beneytez *et al.* (2002). A su vez, ambos genotipos son diferentes al obtenido por Martínez *et al.* (2006) para una variedad argentina denominada Pedro Giménez, de manera que dicha variedad podría ser una homonimia o un error, porque la accesión aquí estudiada debe ser correcta, dado que coincide con la descrita por García de Luján *et al.* (1990).

Otra variedad argentina genotipada en ese mismo trabajo es Cereza, para la que detectaron tres alelos en el locus VVMD7 (207:232:249), de los cuales sólo coincide uno con los alelos detectados en este trabajo (247:249).

Otra variedad en la que se pueden encontrar diferencias entre los genotipos publicados en distintos trabajos es Admirable de Courtiller. Dettweiler *et al.* (2000) detectaron que el genotipo publicado por Sefc *et al.* (1997) y Grando y Frisinghelli (1998) para Admirable de Courtiller de Klosterneuburg no coincidía con el que ellos obtuvieron para la variedad que se correspondía con el tipo de Geilweilerhof, sino que era equivalente al de Madeleine Royale. Los genotipos de las accesiones denominadas Madeleine Royale y Admirable de Courtiller aquí estudiadas coinciden con los de Dettweiler *et al.* (2000).

En comparación con el trabajo de Di Vecchi *et al.* (2007), se ha detectado una diferencia en Muscat of Alexandria en el locus VVIV67, para la cual el genotipo aquí obtenido es 375:389, mientras según dichos autores es 371:371. Dicha discrepancia podría deberse a que no se haya detectado el segundo alelo, quizás debido a un corto tiempo de

electroforesis capilar, dado que el alelo 389, por su elevado tamaño en pares de bases, requiere más tiempo del habitual para ser detectado.

Diversidad clorotípica

Las frecuencias clorotípicas de las 147 accesiones de mesa genotipadas con STMS cloroplásticos concuerdan en general con los resultados obtenidos por Arroyo-García *et al.* (2006). Los cuatro clorotipos obtenidos en este trabajo son los mismos que ellos obtuvieron para variedades de mesa (A, B, C y D) (Tabla 18, pág. 129). Sus frecuencias son también bastante parecidas, aunque las frecuencias de A y B son algo más altas en este trabajo que en el de Arroyo-García *et al.* (2006) (0,16 y 0,13 frente a 0,1 y 0,09, respectivamente). Ambos trabajos coinciden en que el clorotipo mayoritario en variedades de mesa es C, presentando una frecuencia de 0,43 en este trabajo y de 0,47 en el de dichos autores.

Arroyo-García *et al.* (2006) obtuvieron para el clorotipo A una frecuencia mayor en variedades de vinificación. En este trabajo, se detectó en variedades empleadas frecuentemente como progenitores para la obtención de nuevas variedades, como Afus Ali o Koenigin der Weingaerten. Algo similar ocurre con el clorotipo B, presente en Muscat of Alexandria y Alphonse Lavallée, heredándolo este último de Kharistvala Kolkhuri (sin. Gros Colman), lo que apoya la conclusión de Arroyo-García *et al.* (2006), otorgando a este haplotipo una posición ancestral, puesto que tanto Kharistvala Kolkhuri como Muscat of Alexandria son variedades antiguas de supuesto origen natural. La presencia de estos dos clorotipos en algunas de las variedades que aparecen con mayor frecuencia como parentales en esta colección explica el incremento de sus porcentajes respecto a los resultados de Arroyo-García *et al.* (2006).

En cuanto a los clorotipos C y D, aparecen en algunas de las principales variedades de mesa empleadas en mejora: Sultanina, Italia, Bicane y Ohanes presentan el clorotipo C, mientras que Chasselas y Muscat Hamburg presentan el clorotipo D, lo que explica sus elevadas frecuencias.

5.1.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

La caracterización agronómica (2004-2007) fue una herramienta fundamental para la consecución de los estudios de sinonimias, de pedigrees y, especialmente, de asociación.

Se trató de realizar las descripciones con la mayor objetividad posible: para los caracteres cuantitativos se emplearon aparatos de medición (calibre, micrómetro, texturómetro,...), mientras para los cualitativos se llevaron a cabo reuniones entre los diferentes observadores para la estandarización de las clases y cada variedad fue descrita por dos personas en la mayor parte de los casos (las parejas iban rotando a lo largo del tiempo). Aunque el hecho de describir entre varias personas podría dar lugar a ligeras desviaciones en la distribución de clases debido a la subjetividad, de cara a otros grupos de investigación, podría aportar objetividad a la información obtenida, especialmente a los datos consensuados de dos años. En todo caso, la caracterización de un elevado número de accesiones no puede realizarse por una sola persona, debido a la maduración simultánea de muchas variedades que deben ser descritas en el momento de su cosecha.

En cuanto a la colección completa de 406 accesiones de uva de mesa, es importante destacar la elevada variabilidad detectada, ya que en casi todos los descriptores se observaron todas las clases establecidas por la OIV, con la excepción de algunas poco comunes en uva de mesa, como la pigmentación antocianica de la pulpa o el sabor foxé, por ejemplo.

Mediante un análisis de correlaciones en la colección de 322 accesiones, se evaluó la consistencia de los datos tomados en los diferentes años (Tabla 12, pág.119). Los caracteres que mostraron mayores correlaciones fueron los que se habían descrito con aparatos de medición, como las dimensiones y el peso de la baya, seguidos de las medidas del racimo. El *grosor de la piel* presentó una correlación entre años bastante baja, probablemente debido a que en 2005 se empleó un calibre, menos preciso que el micrómetro empleado en 2006.

El descriptor organoléptico de la *consistencia de la pulpa*, el *número de inflorescencias por pámpano* y los descriptores fenológicos mostraron correlaciones más bajas, lo que podría deberse en parte a la subjetividad que la descripción de estos caracteres conlleva. Sin embargo, se trata de descriptores directamente relacionados con las condiciones ambientales, especialmente los fenológicos, por lo que es probable que la variación entre años se deba en mayor medida a este factor.

En cuanto a las correlaciones entre los caracteres descritos cada año (Tabla 13, 14, 15 y 16, pág. 121 y siguientes), las mayores se obtuvieron, en los cuatro años, entre los caracteres de baya (anchura, longitud, peso y volumen de baya, y rendimiento en mosto) y entre diferentes parámetros de textura (excepto el *turgor*). El *peso del racimo* guardó una mayor correlación con la *anchura del racimo* que con su *longitud* o las dimensiones

de baya. De los descriptores fenológicos, la *época de envero* y la *época de madurez* fisiológica presentan una correlación media-alta, guardando la *época de brotación* una correlación bastante menor con éstas. En general, los coeficientes de correlación obtenidos entre los diferentes caracteres para la colección global de 322 accesiones fueron muy similares a los obtenidos para las dos colecciones nucleares, lo que indica una representación muy equilibrada de éstos en las colecciones nucleares.

Resulta interesante destacar los datos obtenidos con el texturómetro, ya que, a pesar de ser una herramienta frecuentemente utilizada para el análisis de diversos productos alimenticios, hasta la fecha, apenas se ha empleado para el análisis de uva. En algunos de los trabajos existentes sobre la textura del fruto de *Vitis* se han empleado equipos tales como el texturómetro o el reómetro, ambos destinados a describir determinados parámetros de textura basados en la fuerza necesaria para provocar una deformación en la baya (Bernstein y Lustig 1981; Sato *et al.* 1997; Vargas *et al.* 2000).

Sato *et al.* (1997), usando una sonda de 8 mm de diámetro, detectaron altas correlaciones ($r > 0,8$) entre los descriptores organolépticos de *dificultad de masticación*, *firmeza de la pulpa* y *correosidad* y los parámetros de *tasa de deformación en el primer pico de fuerza*, *fuerza máxima* y *trabajo en el primer pico de fuerza*, respectivamente. Así, observaron que combinándose los diferentes parámetros obtenidos mediante este método, podrían expresarse, en datos cuantitativos, las clases organolépticas “correoso”, “tierno”, “crocante”, “firme” y “blando”. En este trabajo, sin embargo, no se obtuvieron correlaciones tan altas para el descriptor de *consistencia de pulpa* con ningún parámetro de textura, siendo las más elevadas con la *fuerza* en 2005 ($r = 0,46$) y con la *fuerza al 10%* ($r = 0,39$), la *pendiente al 10%* ($r = 0,39$) y la *pendiente de ruptura* ($r = 0,36$) en 2006.

Vargas *et al.* (2000) observaron que la *fuerza de ruptura* y la *pendiente de ruptura* no reflejaban una misma característica física, puesto que la *fuerza de ruptura* presentaba una mayor capacidad de discriminar diferencias en las propiedades mecánicas de la baya y sus valores disminuían rápidamente a medida que se acumulaban sólidos solubles. Así, la *fuerza de ruptura* sería la propiedad que mejor explica la madurez de la uva. En nuestro caso, la *fuerza de ruptura* y la *pendiente de ruptura* mostraron una correlación alta ($r=0,6$). Posteriormente, en otro trabajo, Vargas *et al.* (2001) observaron una alta correlación entre el parámetro *pendiente* y la *firmeza total* de la baya. Por otro lado, la firmeza de la pulpa contribuía en un 51,3% a la firmeza total, mientras que la piel sólo contribuía en un 26,1%. Por ello, según dichos autores, este parámetro puede ser empleado como un buen indicador de la consistencia de la pulpa. Como se ha

mencionado en el párrafo anterior, el descriptor organoléptico de *consistencia de pulpa* evaluado en este trabajo presenta algunos de los mayores coeficientes de correlación con los parámetros de *pendiente al 10%*, *pendiente de ruptura* y *fuerza al 10%*, aunque no con la *fuerza de ruptura* ($r = 0,12$), por lo que según nuestros resultados parece no haber una diferencia importante entre los parámetros de fuerza y pendiente cuando se empieza a ejercer presión contra la baya, pero sí en el punto de ruptura, en el cual la pendiente representa mejor la consistencia de la pulpa.

Al igual que en este trabajo, en el que todos los parámetros, excepto el *turgor*, presentan altas correlaciones entre sí, dichos autores observaron un bajo coeficiente de correlación entre el turgor y el resto de parámetros (Vargas *et al.* 2000; 2001). Sin embargo, al comparar los valores de turgor con los de firmeza de la pulpa exclusivamente (sin considerar la firmeza de la piel), el coeficiente de correlación fue bastante mayor, lo que explicaron que podría deberse a que el grado de turgencia de la baya no sólo se manifiesta como la fuerza del contenido sobre la piel, sino también dentro de las células del mesocarpo.

Recientemente, Letaief *et al.* (2008), mediante la compresión de la baya hasta el 25% de deformación con una sonda de 35 mm de diámetro, midieron la dureza, la cohesividad, la gomosidad, la elasticidad, la masticación y la capacidad de recuperación de la baya. En general, observaron altas correlaciones entre los diferentes parámetros, y, aunque detectaron diferencias entre años, concluyeron que el mayor determinante de la textura es el genotipo, apoyando observaciones previas de que existen diferencias notables en la composición de la pared celular de distintas variedades, especialmente en la pulpa [Chardonnet 1994, citado por Letaief *et al.* 2008)]. También observaron, mediante una sonda de aguja de 2 mm, que el grosor de la piel y la dureza de la piel no estaban relacionados. Asimismo observaron que la dureza de la baya (medida como la fuerza ejercida al 25% de deformación) se relacionaba con el grosor de piel en 2004, mientras en 2005 estaba relacionada con la fuerza de ruptura de la piel. En nuestro trabajo sin embargo, el grosor de piel no presentó correlaciones altas con ningún parámetro de textura, obteniéndose la mayor con la pendiente de ruptura ($r = -0,25$).

Dado que para el estudio de asociación no se empleó la colección completa sino dos colecciones nucleares con un menor número de accesiones (CN127 y CN96), se analizó la distribución de los datos morfológicos para estas colecciones en comparación con la distribución en las colecciones globales empleadas para obtener dichas colecciones nucleares (una de 322 accesiones y otra de 245 genotipos únicos). Además, se estudió la correlación existente entre los datos tomados en diferentes años para un carácter y entre

diferentes caracteres en cada año para las accesiones de las colecciones nucleares CN127 y CN96, lo que será discutido en el apartado de asociación.

5.1.3. APLICACIONES DE LOS STMS

5.1.3.1. Estudio de posibles sinonimias y sports

En la viticultura es esencial esclarecer la problemática referente a la existencia de una gran cantidad de sinonimias y homonimias entre las diferentes variedades cultivadas. Estas variedades resultan fácilmente identificables por medio de un análisis de regiones microsátélites con la única limitación de los mutantes somáticos o “sports”. Algunos de estos mutantes han sido mantenidos a lo largo de los siglos por aportar una cualidad especial o exótica para el agricultor. Ejemplos de mutaciones somáticas muy extendidas son, entre otros, diferencias de color de la epidermis de la baya (Sultanina, Sultanina roja, Sultanina rosada), en la densidad de los pelos del envés de la hoja (Garnacha, Garnacha peluda), en la forma de la hoja (Chasselas, Chasselas cioutat), o incluso en la presencia/ausencia de pepitas (Chasselas, Chasselas apyrene). La mayor parte de estos mutantes no pueden ser diferenciados estudiando loci microsátélites, presentando generalmente el mismo genotipo.

Un ejemplo bastante conocido en el que podemos encontrar diferentes sinonimias y sports, confirmadas mediante este estudio, es el grupo de las Chasselas, representadas aquí por 9 accesiones, de entre las cuales, 6 son sports de Chasselas blanca (Tabla 17, pág. 126). La mayoría son variedades distintas dadas sus características morfológicas: Chasselas rose, Chasselas rouge y Chasselas violet son sports de color, Chasselas musqué es un sport de sabor, Chasselas apyrene de apirenia y Chasselas cioutat presenta una hoja morfológicamente diferente al resto. Chasselas de Montauban y Chasselas Gros Coulard son consideradas sinónimas de Chasselas blanca por Galet (2000), aunque Chasselas Gros Coulard es un autotetraploide según Branas y Truel (1965).

Aunque se podrían citar otros grupos ya descritos de variedades importantes que resultan iguales genotípicamente, requieren especial atención las nuevas relaciones detectadas, así como los errores encontrados en la colección objeto de estudio (Tabla 17, pág. 126), que son discutidos a continuación.

Es importante remarcar la dificultad para distinguir entre errores, homonimias o sinonimias para determinadas accesiones, puesto que en muchos casos no se conoce el

momento en que se asignó un posible nombre erróneo a una variedad y cuál es el grado de su expansión geográfica. De estos factores, entre otros, depende la decisión de denominar errónea a una accesión, y, en este trabajo se ha optado por clasificar todos los casos como “sinonimias”, “sports” o “errores”, pero dada la subjetividad que ello implica en determinados casos, estos apartados deben interpretarse con precaución. Para tomar dicha decisión, se han empleado fuentes bibliográficas (que también podrían contener errores), fotografías del archivo de El Encín y algunas accesiones se han estudiado en campo. Con el fin de facilitar la lectura, el nombre de la variedad descrita como nueva sinonimia, sport o error en la colección, se muestra en cursiva.

Posibles nuevas sinonimias detectadas

En el *Vitis* Internacional Variety Catalogue existen dos accesiones diferentes con el nombre de *Corazón de cabrito*, una blanca y sinónima de Cornichon blanc, y otra tinta y sinónima de Quiebratinajas tinto. La accesión estudiada (14C05), sin embargo, muestra un genotipo igual al de Ahmeur bou Ahmeur. Rojas Clemente y Rubio (1807) describió para *Corazón de cabrito*, además de las dos homonimias anteriores, otra que parece corresponder a esta sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur. Dicho autor menciona tres caracteres bastante especiales (pocas variedades los presentan) y observados también en la accesión Ahmeur bou Ahmeur en nuestra colección: su uva es crujiente, muy carnosa y muy poco jugosa.

Eva es una supuesta sinonimia de Beba, sin embargo, su genotipo no es igual al de ésta, sino al de Diagalves, siendo a su vez ambas accesiones iguales a Mantúo. Diagalves, *Eva*, Mantúo y Beba presentan un carácter muy peculiar, que pudo haber dado lugar a la confusión: sus pedicelos y raspones se parten con mucha facilidad. Aunque el racimo es muy similar en estas variedades, las hojas de *Eva* y Diagalves son diferentes a las de Beba, presentando, entre otros detalles, un seno peciolar en lira, mientras Beba muestra un seno peciolar muy cerrado. En resumen, *Eva* no es sinónima de Beba sino de Diagalves y Mantúo.

Existen dos variedades con el nombre de *Jantar*, aunque la aquí estudiada es una variedad búlgara procedente de un cruce entre Afus Ali y Koenigin der Weingaerten. Es sinónima de la accesión denominada Zariza Na Losiata x Bolgar 19-2, puesto que Zariza Na Losiata es una sinonimia de Koenigin der Weingaerten y Bolgar es sinónima de Afus Ali.

Jaumin y *Jaoumet* podrían ser sinónimas. *Jaumin* es una variedad de supuesto origen español cultivada en Cataluña desde hace mucho tiempo (Galet 2000). *Jaoumet* es de origen francés, aunque su nombre es “Jacques” en catalán. Los caracteres morfológicos principales de *Jaumin*, descritos en Galet (2000) parecen ser indistinguibles de los de *Jaoumet*. Ambas presentan una hoja con lóbulos superiores superpuestos y seno peciolar en lira, un racimo compacto, una baya pequeña esférica-aplastada y una maduración temprana.

Moscato d’Adda es una variedad de uva de mesa italiana, obtenida por Pirovano en 1892 a partir de una semilla de Muscat Hamburg. *Aleático*, también italiana pero de vinificación (aunque actualmente empleada también para mesa), ha resultado idéntica genotípicamente a la primera. Las dos presentan una morfología muy similar y ambas tienen sabor moscatel, por lo que podrían ser sinónimas. Sin embargo, existen dos datos que podrían apuntar hacia un posible error: existen tres accesiones de diferentes bancos denominadas *Aleático* [la accesión aquí estudiada y las analizadas por Zulini *et al.* (2002) y Costantini *et al.* (2005)] y que presentan diferentes genotipos entre sí, de manera que esta accesión podría ser un error, tratándose en realidad de Moscato d’Adda. Por otro lado, sus genotipos no son compatibles con el de Muscat Hamburg, supuesto progenitor de Moscato d’Adda, lo que podría apuntar hacia un posible error por parte de esta última, aunque dada la gran cantidad de errores en los pedigríes descritos detectados en este trabajo, no es un dato resolutivo, y es importante tener en cuenta la perfecta adecuación morfológica de ambas accesiones a sus descripciones bibliográficas.

Queen Kearny es otra accesión presente en dos colecciones españolas y, de acuerdo a nuestros datos morfológicos y moleculares, corresponde a una sinonimia de Queen. Las dos variedades son de origen americano, así, Queen Kearney podría ser un nombre derivado de Queen, ya que no aparece como tal en la literatura.

Regina es un nombre empleado para diferentes variedades (Afus Ali, Koenigin der Weingaerten y Regina). La accesión estudiada mostró el mismo genotipo que Italia y, morfológicamente, presentan una hoja y un racimo muy similares, por lo que podría tratarse de una sinonimia.

Galletta rosa y *Pirovano 620* son idénticas genotípicamente y morfológicamente. *Galletta rosa* es descrita por Galet como una variedad italiana de baya roja, arqueada y crujiente, sinónima de Galleta del Vesubio, la que, al mismo tiempo, podría ser sinónima de Cornichon rose. La *Galletta rosa* estudiada presenta un color blanco rosáceo (que equivaldría a un color “especial” según el descriptor de la OIV), como *Pirovano 620*, aunque en el resto de descriptores parece coincidir con *Galletta del Vesubio*. Por otro

lado, de acuerdo al VIVC, es una variedad blanca, sinónima de Pirovano 592, y fue obtenida por Pirovano de un cruce entre Pirovano 122 y Aurora según los archivos de El Encín. La accesión estudiada es compatible con Aurora (Pirovano 122 no está disponible en la colección). Además esta variedad solo aparece en la colección de El Encín (y no sería blanca como indica el VIVC, sino de un tono blanco rosáceo), lo que indica que, actualmente, la única variedad disponible con ese nombre podría ser la aquí estudiada. Aunque no se conocen los progenitores de *Pirovano 620*, podría tratarse de la misma variedad, de manera que *Galletta rosa* posiblemente no sea sinónima de *Galletta del Vesubio*, sino de *Pirovano 620*. Tampoco puede descartarse que una sea un sport de hoja de la otra, porque las fotografías de los archivos de El Encín muestran ciertas diferencias entre las hojas de ambas accesiones; esto explicaría los diferentes nombres posiblemente adjudicados por Pirovano. Sin embargo, una fotografía de una hoja no es suficiente para admitir esta última hipótesis.

Lombardia y *Rosso Grosso Precoz* son dos variedades italianas y, aunque no se ha encontrado información bibliográfica referente a la morfología de *Rosso Grosso Precoz*, dada la similitud morfológica (de hoja y racimo) entre ambas accesiones y que presentan el mismo perfil genotípico, podrían ser sinónimas.

Roseti, Razaki Isla de Creta, Kérino, Actoni Macerón y Hafiz Ali son sinonimias reconocidas de Afus Ali, sin embargo a éstas habría que añadir una posible nueva sinonimia: *Princes chasselas*, variedad de la que no se ha encontrado información en la bibliografía.

Precocisimo es una accesión de la colección de El Encín idéntica genotípica y morfológicamente a Primera y ambos nombres hacen referencia a una época de maduración temprana. Es posible que se trate de variedades sinónimas, aunque no se puede descartar que *Precocisimo* sea un error de banco, ya que no aparece en la bibliografía y los archivos de El Encín reflejan ciertas dudas sobre su verdadera existencia.

Para terminar, *Don Bueno* es morfológica y genotípicamente idéntico a Pedro Ximenes. Dicha variedad ha sido cultivada durante mucho tiempo en Andalucía, donde Pedro Ximenes es principalmente cultivada desde la antigüedad. Esta sinonimia ha sido recientemente descrita (Vargas *et al.* 2007).

Posibles nuevos sports

Entre las mutaciones somáticas detectadas en este trabajo, las más comunes consisten en variaciones en la forma de la hoja. Un caso es el de *Tchaoutc*, que muestra igual genotipo al de Beba, sin embargo, *Tchaoutc* debería ser femenina, con bayas ovoides y grandes (Galet 2000). Por otro lado, la accesión de El Encín presenta una hoja diferente a la de Beba y más parecida a la de la variedad denominada Chaouch (syn. *Tchaouch*) y descrita por Branas y Truel (1965), aunque con dientes algo más romos. Es difícil llegar a una conclusión categórica, pero *Tchaoutc* podría ser un sport de Beba que habría recibido esa denominación por el parecido morfológico entre sus hojas y las de Chaouch. Molinera y *Castellano morado* son dos variedades españolas (la primera andaluza y la segunda catalana) que presentan idénticos caracteres morfológicos: bayas rojas, grandes, troncocónicas y de consistencia dura. Fenológicamente también coinciden en una época de brotación temprana. Sin embargo, según Branas y Truel (1965) y Galet (2000), la hoja de *Castellano morado* presenta un seno peciolar en elipse con los bordes cerrados, mientras la de Molinera muestra un seno peciolar en lira abierta, de manera que, dada la coincidencia en 20 microsatélites, una de ellas podría ser un sport de hoja de la otra.

Otro tipo de sports muy comunes en las variedades de vid es el de color, sin embargo, sólo se ha detectado uno que no estuviera previamente publicado. *Quiebratinaja blanco* podría ser un sport de Quiebratinajas tinto, del cual se diferencia por el color de la baya (Quiebratinajas tinto es rojo, mientras que *Quiebratinaja blanco* es rosa).

La accesión denominada *Corneille*, aunque no presenta aparentemente diferencias respecto a Chasselas blanca, aparece como una variedad diferente en la bibliografía consultada. El hecho de que comparta dos mutaciones somáticas con Chasselas rouge en dos microsatélites de los 20 analizados, siendo una de las cuales, a su vez, compartida con otras Chasselas, descarta que se trate de un error y que en realidad se trate de Chasselas blanca, puesto que Chasselas blanca no presenta una de estas quimeras. Por otro lado, estos datos indican que Chasselas rouge podría ser un sport de *Corneille* y a su vez, *Corneille*, de cualquiera de las Chasselas con una quimera. Aunque está claro que la accesión aquí estudiada con el nombre de *Corneille* es un sport de alguna Chasselas, no se puede asegurar que dicha accesión corresponda realmente a la variedad *Corneille*, sin embargo un dato que apoya su relación con el grupo de las Chasselas es que dicha variedad tiene una sinonimia denominada Chasselas *Corneille*.

Fraoula kokkini es una variedad griega, de racimo suelto, muy largo, y de baya roja, crujiente y elíptica, que presenta igual perfil genotípico que la variedad siria denominada Helvany. Ambas variedades muestran caracteres morfológicos similares en todos los aspectos, excepto en cuanto al tamaño y forma de la baya, que en Helvany es considerablemente más grande y ligeramente arqueada, por lo que una podría ser un sport de baya de la otra.

Aunque menos comunes, son de gran interés los sports de apirenia, puesto que la ausencia de semillas ha sido en los últimos años un carácter altamente codiciado por los mejoradores de uva de mesa. Un ejemplo bastante conocido es el de Cape Currant, mutación partenocárpica de Muscat a petits grains blancs (Adam-Blondon *et al.* 2001). Se ha publicado recientemente otra mutación partenocárpica de una importante variedad: Pedro Ximenes (Vargas *et al.* 2007). La variedad denominada Corinthe blanc en la Colección de El Encín es en realidad *Corinto bianco*, una accesión existente en las colecciones de El Encín y Vassal. Dicha variedad es idéntica genotípicamente a Pedro Ximenes y su hoja tampoco presenta diferencias, sin embargo, presenta una baya característica de la apirenia partenocárpica o tipo corinto, es decir, muy pequeña y con ausencia total de pepitas. Dado el interés que esta accesión podría suscitar y con el fin de evitar confusiones con Corinthe blanc, (Vargas *et al.* 2007) han propuesto un nuevo nombre para esta variedad: "*Pedro Ximenes Seedless*".

Posibles errores en la colección

Entre un total de 352 accesiones estudiadas, un 6,8% no correspondían a su descripción original, clasificándose en este trabajo como posibles errores en la colección. No obstante, resulta complicado diferenciar entre posibles errores o posibles sinonimias que pudieran existir en una región determinada en algún momento, sin quedar un registro bibliográfico.

Angelo Pirovano y *Pergolese* presentan el mismo perfil genético, ambas son italianas, rosas y morfológicamente similares. Pergolese es una denominación genérica, empleada para variedades conducidas en pérgola o parral. Esta variedad, según Galet, presenta un racimo suelto, una baya muy grande y una maduración tardía, pero la accesión estudiada presenta un racimo de compacidad media, una baya mediana y no es tardía, mostrando una gran similitud con Angelo Pirovano. Estos datos sugieren que podría tratarse de un error en la colección, es decir, que no sería Pergolese, sino Angelo Pirovano. Tampoco

se puede descartar que se denominase a Angelo Pirovano con el nombre de Pergolese en algún momento, tratándose de variedades sinónimas en ese caso.

Gros vert y Servant son sinónimas según el VIVC, como corroboran nuestros resultados. Sin embargo, *Teneron de Vaucluse*, aparece descrita en la bibliografía como una variedad diferente, aunque nuestros resultados muestran que posee idéntico perfil genotípico a las anteriores. Según Galet, esta variedad debería presentar racimos sueltos y bayas grandes o muy grandes, caracteres no apreciados en la accesión estudiada; la hoja también es diferente a la descrita por Branas y Truel (1965) y muy similar a la de Servant y Gros vert. Esta accesión podría ser un error en la colección de El Encín, aunque no se puede descartar que la confusión ocurriera en los cultivos de Vaucluse (región de Provenza, Francia), donde Gros vert es cultivada principalmente (Galet 2000). En este último caso, si Gros vert se extendió bajo el nombre de Teneron de Vaucluse, deberían considerarse variedades sinónimas.

Dabouki y *David* poseen genotipos idénticos y son muy similares morfológicamente a pesar de estar descritas como variedades diferentes. Según la bibliografía, David tiene sabor moscatel, carácter que no presenta la accesión estudiada con ese nombre, lo que señala que podría ser un error y tratarse de Dabouki en realidad.

DataI debe ser un error, tratándose en realidad de Danlas, ya que de los dos pedigrees descritos, son los de este último los que resultan compatibles con el genotipo mostrado por ambas accesiones.

Professor Aberson, *Sabalkanskoi* y *Marawi*, que presentan idéntico genotipo a Afus Ali, son errores del banco, puesto que los caracteres morfológicos que presentan estas accesiones no concuerdan con los descritos en la bibliografía para cada una y son similares a los de Afus Ali.

Conca d'oro parece ser en realidad Gallurazeni di Damasco, puesto que es una supuesta progenie de Chasselas rose, pero sus genotipos son incompatibles. Además, su baya es descrita por Galet como esférica, mientras que la accesión estudiada presenta una baya elíptica corta.

Madeleine Angevine Oberlin debe ser un error, en realidad es Madeleine Angevine, puesto que la primera debería tener flores hermafroditas, pero son femeninas, tal y como está descrito para Madeleine Angevine.

Moscato di Madresfield es una entrada errónea en nuestra colección, tratándose en realidad de Muscat Hamburg, puesto que, aunque ambas accesiones en nuestra colección presentan el mismo perfil genotípico, la variedad descrita en la bibliografía como *Moscato di Madresfield* es claramente diferente de Muscat Hamburg.

Enverrous Traube es una variedad presente únicamente en colecciones españolas y en los archivos de El Encín figura que se trata de una variedad húngara supuestamente obtenida por Teleki (1854-1910). Es morfológica y genotípicamente idéntica a Mathiasz Janos Diadala, variedad también húngara obtenida por Mathiasz (1838-1921), por lo que es posible que se trate de un error en el envío.

Perle von Csaba rot fue obtenida de un cruce entre Mathiasz Janosne y Perle von Csaba, sin embargo, es idéntica a Mathiasz Janosne, y no es compatible con Perle von Csaba. Estos datos señalan que se trata de un error en el BGV de El Encín.

La accesión conservada como *Zibibbo* es en realidad Principessa di Piemonte, puesto que Zibibbo es uno de los numerosos nombres que recibe Muscat of Alexandria, con la que no comparte genotipo.

Las accesiones denominadas *Prosperi 37* y *Prosperi 262* parecen corresponder morfológicamente a la variedad *Prosperi 37*. Por otra parte, la accesión *Prosperi 37* tiene pepitas, y según Galet (2000), esta variedad es apirena, pero no según Branas y Truel (1965). Esta confusión enturbia la conclusión, pero lo más probable es que *Prosperi 262* sea un error, y podría tratarse de *Prosperi 37* o de un sport de ésta.

Alfonso Lavalle x Ferral es un error, puesto que no cuadra con el cruce que le da nombre. Esta accesión presenta idéntico genotipo a *Chasselas Michel Tompa*, la cual, a su vez, tampoco cuadra con la descripción efectuada por Branas y Truel (1965) y Galet (2000), puesto que debería tener una baya grande, de manera que ambas accesiones pueden ser errores, aunque no se puede determinar de qué variedad se trata.

Jubilej y *Opale* son iguales genotípicamente a Italia. *Opale* aparece claramente descrita como una variedad diferente en la bibliografía, y, al igual que Italia, fue obtenida por Pirovano, pero de un cruce entre Pirovano 57 y Muscat of Alexandria, siendo incompatible con la segunda. Por ello, posiblemente se trate de un error. *Jubilej* parece no guardar relación con Italia: aunque hay diferentes variedades con este nombre, la aquí estudiada es una variedad búlgara (VIVC) de la que no se han encontrado descripciones en la bibliografía, lo que hace difícil asegurar que no se trata de una sinonimia.

Tampoco se ha encontrado información acerca de *Doroni Macerón*, accesión presente exclusivamente en dos colecciones españolas, pero los resultados del análisis de microsatélites muestran un genotipo idéntico al de Lattuario nero. Probablemente sea un error y se trate de Lattuario nero, ya que su procedencia no está clara en los archivos de El Encín.

La resolución de algunos de los posibles errores anteriormente citados ha sido complicada, y la determinación de algunas de las accesiones continúa siendo dudosa, sin

embargo, la detección de otros errores en el banco ha resultado bastante más sencilla debido a que se trata de variedades que ni siquiera presentan el color descrito para ellas. Este es el caso de *Napoleón*, *Niger*, *Moscatel encarnado*, *Regina Elisabetta* y *Pirovano 155*.

Se han analizado diversas accesiones de *Napoleón* (sinónima de Don Mariano, tinta), y una de ellas presenta un genotipo igual al de Dominga (variedad blanca); esta accesión (22034) es un error, es decir, no se trata de Napoleón sino de Dominga. Lo mismo ocurre con *Niger*, también genotípicamente idéntico a Dominga, a pesar de estar descrita como una variedad tinta (como su nombre indica) y como progenie de Delizia di Vaprio, con la cual no resulta compatible.

Moscatel encarnado presenta igual genotipo a Muscat a petits grains blancs, por lo que posiblemente sea un error tratándose en realidad de esta última, ya que la accesión estudiada es blanca y la variedad descrita en el VIVC tinta.

Pirovano 671 es Maria rosa, una variedad blanca-rosa, moscatel, que en C. Vassal 85 figura como Blanche rosé. *Pirovano 155* es una variedad blanca y con baya elipsoide grande, pero en nuestra colección presenta una baya esférica, mediana, de un color blanco rosáceo y sabor especial. Ambas presentan iguales genotipos, por lo que lo más probable es que *Pirovano 155* sea un error en la colección.

Regina Elisabetta podría ser Queen en realidad, puesto que, según Galet (2000), es una variedad blanca, sin embargo esta accesión es rosa.

Otros errores detectados a lo largo de todo el trabajo por comparaciones bibliográficas o con otras accesiones no incluidas en este estudio han sido:

- *Lord Rothermere*, que está descrita en la bibliografía como una variedad blanca, pero la accesión estudiada es roja, y uno de sus progenitores debería ser Mathiasz Janosne, con la que no es compatible. Estos datos indican que probablemente sea un error.
- *Superzibibo*, variedad obtenida a partir de un cruzamiento entre Prodigiosa y Muscat of Alexandria, no es compatible en 12 loci con esta última. Además, debería tener racimo compacto, baya elíptica muy grande y sabor herbáceo, pero la accesión estudiada no muestra estas características. Probablemente se trate de Benediction de Pecs, variedad no incluida en este estudio por tratarse de un híbrido interespecífico, puesto que presentan el mismo genotipo y una morfología similar.

- *Flame Tokay* es una supuesta sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur, pero el genotipo de la accesión de El Encín es diferente al del resto de accesiones analizadas, incluyendo al de Ahmeur bou Ahmeur. Dado su color gris-rosáceo, podría tratarse en realidad de la variedad Flame coloured Tokay (Galet 2000).

El hecho de que mediante este análisis se haya detectado un número tan elevado de posibles sinonimias o sports, justifica la demanda de aclarar la actual situación de las variedades de *V. vinifera*.

La cantidad de errores detectados en la colección de uva de mesa de El Encín, es comparable al porcentaje detectado en otros estudios y colecciones. Por ejemplo, De Andrés *et al.* (2007), mediante el análisis de 83 accesiones de portainjertos (66 de las cuales pertenecían a la Colección de El Encín), detectó que un 27% de éstas presentaban problemas en su clasificación. Según Dettweiler (1992), entre un 5% y un 10% de las accesiones existentes en las colecciones internacionales de vid no están correctamente etiquetadas. Esta problemática no solo atañe a bancos de germoplasma, sino también a los cultivos para la producción de uva; Vélez (2007) detectó, sobre un muestreo de 229 plantaciones, un 10% de plantas erróneas, distribuidas en 20 plantaciones. La resolución de estas confusiones es básica tanto para la investigación como para la comercialización de vino o uva de mesa, dada la importancia de las “Etiquetas de Calidad” en uva de mesa o las Denominaciones de Origen en vino.

5.1.3.2. Estudio de pedigríes

El modo de herencia mendeliano codominante hace de los microsatélites nucleares un marcador genético ideal para el estudio de pedigríes (Bowers y Meredith 1997; Sefc *et al.* 1997; Sefc *et al.* 1998c; Bowers *et al.* 1999a; Piljac *et al.* 2002). Los microsatélites cloroplásticos, debido a su transmisión monoparental [materna en el caso de la vid (Arroyo-García *et al.* 2002)], son de gran utilidad para diferenciar entre el progenitor femenino y masculino de una determinada variedad. En este trabajo, mediante 5 microsatélites cloroplásticos, ha podido diferenciarse entre el progenitor masculino y el femenino del 91,4% del total de pedigríes estudiados.

Se estudiaron 93 posibles pedigríes del total de cruces compatibles obtenidos, que pueden agruparse en tres apartados diferentes (Tabla 18, pág. 129). En un primer apartado se pueden catalogar 54 pedigríes previamente descritos en la literatura vigente, que han sido confirmados mediante este estudio (Tabla 18A). En otro apartado se

enmarcan 15 posibles errores bibliográficos detectados en los supuestos cruzamientos que habrían dado lugar a determinadas variedades, para las que se aporta información sobre los que podrían ser sus verdaderos progenitores (Tabla 18B). Por último, se describen 24 posibles pedigríes nuevos o cuya descripción está incompleta en la bibliografía (Tabla 18C).

Confirmación de pedigríes previamente descritos

De los 54 pedigríes previamente descritos confirmados en este estudio, las 20 progenies apirenas sustentan los resultados obtenidos por Ibáñez (2000) mediante el análisis de seis loci, de entre los cuales, tres coinciden con los aquí analizados (VVS2, VVMD5 y VVMD7). Por otro lado, nueva información es aportada para muchos de estos pedigríes, puesto que la dirección de los cruces era desconocida en la mayoría de los casos.

Los cruces descritos que originaron Danam y Bruni 90 son compatibles sólo si se admite un alelo nulo en el locus VVIV37. La presencia de esta mutación en dos pedigríes ya descritos corrobora la existencia de alelos nulos en este locus.

La variedad Sultanina es compatible como progenitor en 11 de las variedades estudiadas. Este resultado no es sorprendente, dado que este cultivar ha sido empleado como parental recurrentemente en muchos cruzamientos. Sin embargo, para que tres de estos cruces fueran totalmente compatibles (Pasiga, Rodi y Sultana moscata), debería haber aparecido una mutación en el locus VVIV67 del alelo 399 a 401 en algún clon de la variedad mantenida como Sultanina, ya que otras cuatro variedades descendientes de Sultanina presentan el alelo 399 (el genotipo de Sultanina en este locus es 357:399). Ambos alelos, 399 y 401, segregan y se han detectado en diferentes progenies de descendientes de Sultanina. Cabe mencionar, por otra parte, que se trata de dos alelos detectados exclusivamente en Sultanina y variedades directa o indirectamente emparentadas con ésta.

Puesto que no existen datos publicados para el locus VVIV67 en Sultanina, con el fin de confirmar que no se trata de una mutación exclusiva de este banco, se han analizado cinco accesiones correspondientes a la variedad Thompson seedless (sinonimia de Sultanina) pertenecientes a cinco fincas ubicadas en diferentes países: El Encín (Alcalá de Henares, España), CIFA Rancho de la Merced (Jerez, España), Jardín de Variedades La Platina (Santiago de Chile, Chile), Pitts Farm (California, USA) y Kosie van Niekerk Boerdery (Western Cape, Sudáfrica). En todas ellas aparece el alelo 399 en lugar del 401, así como en sus sports Sultanina roja y Sultanina rosada.

Casos similares han sido descritos en la literatura, por ejemplo, Ibáñez *et al.* (2000) detectaron una mutación de este tipo en el locus VVMD7 en las variedades sinónimas Black Currant y Mavri Corinthiaki, diferenciándose también en dos pares de bases. Más interesante, por referirse a la variedad en cuestión, resulta el estudio de Crespan *et al.* (1999), en el que se detectó una diferencia en el locus VVMD8 entre Sultanina y Thompson seedless. Lo mismo ocurrió en el caso de Marroo seedless en el locus VVS3 (Sánchez-Escribano *et al.* 1999).

La mutación detectada en el locus VVIV67 podría ser una mutación puntual en algún clon de Sultanina, el cual habría dado lugar a Sultana moscata, Rodi y Pasiga. De dichas variedades, las dos primeras fueron obtenidas en Italia por Pirovano, en 1913 y 1926 respectivamente, mientras Pasiga fue obtenida por Gargiulo en Argentina. Otras variedades obtenidas tanto por Pirovano como por Gargiulo (Perlette y Perlón, respectivamente) presentan el alelo 399, por lo que resulta difícil localizar la supuesta planta mutante.

La confirmación de pedigríes descritos también ha servido para comprobar que las variedades implicadas (progenitores y progenie) son correctas. En algunos de los pedigríes posiblemente erróneos en la bibliografía, determinadas variedades podrían resultar dudosas, como Delizia di Vaprio o Mathiasz Janosne. Sin embargo, su participación en otros pedigríes descritos en la literatura confirma que se trata de la variedad correcta.

Posibles errores bibliográficos

Como en el estudio de sinonimias y sports, para facilitar la lectura, de aquí en adelante la progenie está escrita en cursiva. Las razones de verosimilitud obtenidas para los nuevos pedigríes propuestos son altas, como puede observarse en la Tabla 18B (pág. 129).

Generalmente, los errores en la descripción de determinados pedigríes suelen deberse al progenitor masculino por la utilización de una variedad incorrecta o la contaminación en el proceso de polinización. Este último parece ser el caso de Cardinal y Bogni 17.

Cardinal es una variedad de mesa importante desde el punto de vista comercial, y sus supuestos progenitores son Alphonse Lavallée y Flame Tokay (Branas y Truel 1965), (Galet 2000). Sin embargo, como se ha descrito recientemente (Ibáñez *et al.* 2006c; Akkak *et al.* 2007), no es compatible con Flame Tokay, y, según el análisis con microsatélites, sus verdaderos parentales podrían ser Alphonse Lavallée y Koenigin der

Weingaerten, aunque asumiendo la existencia de un alelo nulo para el locus VVIN16 en Alphonse Lavallée y/o *Cardinal*.

Bogni 17 procedería de un cruce entre Bicané y Bonarda, aunque Galet (2000) ya explicó que posiblemente no proviniera de dicho cruzamiento debido a su sabor moscatel. Existen varias variedades con el nombre de Bonarda que deberían ser analizadas, sin embargo, los resultados indican que, en lugar de este cultivar, el verdadero progenitor podría ser Muscat Hamburg, lo cual sustentaría la observación de Galet.

Foster's white seedling y *Lady Downe's seedling* son dos variedades inglesas, obtenidas por Foster en 1835 a partir de diferentes cruces entre Black Morocco (sin. Marocain noir) y Sweet Water (sin. Chasselas). Sin embargo, Chasselas es incompatible en 10 loci con *Foster's white seedling* y en 12 loci con *Lady Downe's seedling*. Los verdaderos parentales de *Foster's white seedling* podrían ser Marocain noir y Frankenthal, y la confusión entre Chasselas y Frankenthal podría haberse producido por la existencia de un sport de Frankenthal denominado Frankenthal blanc y sinónimo de Buckland Sweet Water, de manera que el nombre de Sweet Water podría haber inducido al error. Además, Frankenthal presenta un sabor herbáceo, descrito también para la accesión correspondiente a *Foster's white seedling* en la colección estudiada.

Por otro lado, Marocain noir y Muscat of Alexandria resultan compatibles como progenitores de *Lady Downe's seedling*, lo que podría ser en parte corroborado por el hecho de que la accesión denominada *Lady Downe's seedling* en la colección de El Encín presenta un ligero sabor moscatel en bayas maduras, característica también señalada por Perold (Branas y Truel 1965).

Madeleine Angevine fue obtenida de semillas en 1857, y es una supuesta progenie de Madeleine Royale y Malingre Precoce. Aunque Madeleine Royale es compatible como progenitor, Malingre Precoce es incompatible en 11 loci microsatélite, siendo Circé el posible verdadero progenitor en su lugar. Tanto Madeleine Royale como Circé fueron obtenidas en el mismo centro en Angers (Francia). Una característica que corroboraría este pedigrí es el hecho de que *Madeleine Angevine* y Circé tienen flores femeninas.

Algunos de los errores detectados hacen referencia al origen de ciertas variedades obtenidas por Pirovano, quien empleó recurrentemente determinadas variedades como progenitores, tales como Delizia di Vaprio, Angelo Pirovano o Muscat of Alexandria. *Delizia di Vaprio* es una variedad italiana obtenida en 1908 de un supuesto cruce entre Muscat of Alexandria y *Foster's white seedling*, sin embargo, en lugar de *Foster's white seedling*, el verdadero progenitor podría ser Sicilien (sin. Panse Precoce). Según Galet,

Foster's white seedling era denominado Panse Precoce en Italia, de manera que la existencia de dos Panse Precoce homónimas en Italia habría dado lugar a la confusión.

A partir de Delizia di Vaprio, en diferentes cruces con Madeleine Royale, Pirovano obtuvo *Primiera* y *Pirovano 315*, pero Madeleine Royale resulta incompatible con ambas variedades, pudiendo haber sido confundida con Madeleine Angevine, que sí cuadra como progenitor femenino en estos pedigríes. En este caso, la confusión se asocia al progenitor femenino, probablemente un error en la colección de base de Pirovano, quizá debido a que Madeleine Angevine es una progenie de Madeleine Royale y a la similitud de sus nombres.

En la bibliografía consultada, *Pirovano 159* es descrita como una progenie de un cruce entre Moscato d'Adda y Olivette noire, pero su genotipo es incompatible en 5 loci con la primera y en 12 con la segunda. Los resultados muestran que Delizia di Vaprio y Angelo Pirovano (ambas variedades también obtenidas por Pirovano) podrían ser los parentales correctos de esta variedad.

Un caso similar es el de *Pirovano 531*, en el que el verdadero progenitor parece ser un descendiente del supuesto parental. Esta variedad provendría, de acuerdo a la bibliografía, de un cruce entre Kharistvala Kolkhuri (sin. Gros Colman) y Olivette noire, pero esta última resulta incompatible en 4 loci, mientras Barbableu, progenie de Olivette noire x Muscat Hamburg, podría ser el verdadero progenitor en su lugar.

Princeps es otra variedad de Pirovano, para la que los parentales descritos son Angelo Pirovano y Sultana Moscata, sin embargo, ambos son incompatibles en 7 loci diferentes, pudiendo ser Muscat Hamburg x Kharistvala Kolkhuri el cruce que realmente dio lugar a esta variedad.

Antoine Besson obtuvo *Olivette Barthelet* en Francia en 1864, variedad descrita como descendiente de Olivette blanche x Cornichon blanc. Sin embargo, la accesión analizada en este estudio, vendría de un cruce entre Olivette blanche y Beba. Cornichon blanc es incompatible en 11 microsatélites, mientras Beba y *Olivette Barthelet* comparten un carácter bastante especial: sus pedicelos rompen fácilmente separándose del racimo. Una posible fuente de error podría ser una confusión entre Beba y Cornichon blanc, dado que Beba es una variedad antigua principalmente cultivada en Andalucía y Cornichon blanc ya era descrita por un autor árabe en Málaga en el S. XIII (Rojas Clemente y Rubio 1807).

El obtentor húngaro Mathiasz obtuvo la variedad *Mathiasz Janosne*, en el año 1902, de un cruce entre Chasselas rouge y Muscat Ottonel. Muscat Ottonel, sin embargo, es incompatible con Mathiasz Janosne en 3 loci, y en 13 si se considera a Chasselas como

segundo progenitor. En su lugar, Muscat of Alexandria podría ser el progenitor femenino. En este caso, de nuevo el progenitor masculino es el correcto, mientras el error se asocia al femenino, probablemente debido a una confusión entre dos variedades moscatel.

A su vez, Mathiasz Janosne habría dado lugar a *Bruni 41* en un cruce con Panse Precoce. En cambio, Mathiasz Janosne es incompatible en 8 loci microsatélite con el pedigrí descrito, pudiendo ser Szauter Gusztav, también obtenido por Mathiasz, el parental correcto. Szauter Gusztav debe ser una accesión correcta, ya que está descrito como progenie de Muscat of Alexandria x Calabrisi bianco, y, aunque el segundo no está en la colección de El Encín, el primero es compatible como progenitor masculino.

Por último, *Prosperi 285* es descrita como progenie de un cruce entre Bicane y Moscato di Terracina, pero resulta incompatible en 12 loci con Bicane, en lugar de la cual, Muscat of Alexandria podría ser el verdadero progenitor.

Además de estos errores, corregidos aportando los posibles verdaderos progenitores, se han detectado cinco posibles pedigríes erróneos para los cuales no se ha encontrado ningún cruce compatible. Dos de ellos son *Italia x Sultanina V-6* e *Italia x Sultanina VI-4*, variedades búlgaras para los que Sultanina resulta incompatible en 8 y 11 loci respectivamente. *Ohanes*, cuyo origen se piensa que podría ser un cruzamiento entre Jaen y Ragol (Alonso *et al.* 2006), debido a que sus características morfológicas podrían ser consideradas el resultado de la unión entre las características de esas variedades, y a que los cultivos de Jaen suelen estar rodeados de Ragol, ha resultado incompatible con ambas variedades. *Talismano*, variedad española descrita como progenie de Italia x Ohanes, es incompatible igualmente con los dos cultivares. Para ninguna de estas variedades se ha detectado un posible verdadero origen, excepto para Talismano, para el que se ha detectado uno de los posibles progenitores: Sultanina, con la que comparte cierto parecido, aunque no el carácter de apirena. *Superfrankental*, descrita como progenie de Frankenthal y Delizia di Vaprio, tampoco resulta compatible con dicho cruce, pero no se ha detectado ninguna otra variedad compatible.

Nuevos pedigríes propuestos

La variedad *Admirable de Courtiller* fue obtenida por Auguste Courtiller en Francia, pero el cruce a partir del cual se originó es desconocido. Mediante el análisis con microsatélites se ha detectado que Chasselas podría ser el parental masculino de *Admirable de Courtiller*, mientras Bicane sería su progenitor femenino. Dos datos que

apoyan indirectamente este cruzamiento son la existencia de una sinonimia llamada Chasselas de Courtilier y su similitud con Chasselas Cioutat (Branas y Truel 1965).

Alphonse Lavallée es una variedad histórica, también francesa, de origen desconocido. Aunque anteriormente se ha sugerido que sus progenitores podrían ser Lady Downe's seedling y Bellino (Sánchez-Escribano 1998; García de Luján y Lara 1998), Lady Downe's seedling es incompatible en 8 loci como progenitor. La variedad Bellino no está disponible en la Colección de Variedades de *Vitis* de El Encín, pero tras el análisis de progenitores, se han detectado Muscat Hamburg y Kharistvala Kolkhuri (sin. Gros Colman) como posibles progenitores de esta variedad. Una de las razones que parecen indicar que este último parental podría ser el implicado es el parecido que presentan las bayas de *Alphonso Lavallée* y las de Kharistvala Kolkhuri (Galet 2000). Kharistvala Kolkhuri es una variedad de origen natural procedente de Rusia y anterior a *Alphonse Lavallée* (Branas y Truel 1965; Galet 2000). Por otro lado, Muscat Hamburg es un parental recurrente en diversos cruzamientos para la obtención de nuevas variedades con sabor amoscotelado. Sin embargo, debe prestarse atención a una razón de verosimilitud relativamente baja ($6,74 \times 10^2$) de este cruce frente a la de un cruce entre Kharistvala Kolkhuri y una variedad relacionada con Muscat Hamburg.

Calmeria, descrita como progenie de una polinización abierta de Ohanes (Branas y Truel 1965; Sánchez-Escribano 1998; Galet 2000), parece concordar según nuestro análisis como descendiente de Ohanes x Sultanina. Esta variedad fue seleccionada en Estados Unidos en 1941.

Otras variedades descritas como polinizaciones abiertas son *Bruni 12* y *Bruni 36*, pero en este caso la madre es Madeleine Angevine. De acuerdo a los resultados obtenidos, Baresana, una variedad italiana de la región de Bari, podría ser el progenitor desconocido de *Bruni 12*, que también se cultiva en esta región. En cuanto a *Bruni 36*, la donadora de polen habría sido otra variedad italiana: Luglienga bianca, que presenta determinados caracteres similares a *Bruni 36*, como un racimo compacto y una maduración temprana.

Bruni 707 podría proceder de una autopolinización de Cardinal ($LR = 7,07 \times 10^{21}$). Ambas variedades solo difieren en cuatro loci y son morfológicamente muy parecidas. Sin embargo, otro cruce podría haber dado lugar a *Bruni 707* aceptando la existencia de un alelo nulo en el locus VMC1B11: Cardinal x Koenigin der Weingaerten. Cardinal es descendiente de Koenigin der Weingaerten, por lo que ambas variedades comparten al menos un alelo por locus, lo que hace muy difícil descartar uno de ellos como progenitor. La razón de verosimilitud para este segundo cruce es más baja que la del primero ($LR =$

1,25 x 10¹⁷), lo que, sumado a la incompatibilidad en un locus, aporta una mayor probabilidad a que el origen correcto de *Bruni 707* sea una autopolinización de Cardinal. Vibert y su sucesor Moreau-Robert obtuvieron numerosas variedades en Angers (Francia) durante el S. XIX, de las cuales, tres podrían proceder de un cruce entre Chasselas y Schiras de acuerdo a los resultados obtenidos: *Sullivan blanc*, *Circé* y *Duc de Magenta*. *Sullivan blanc* presenta la apariencia de Chasselas (Galet 2000) y *Circé* tiene flores femeninas, al igual que Schiras, datos que podrían corroborar estos resultados. Para considerar este cruce como origen de *Duc de Magenta*, sin embargo, habría que aceptar la presencia de un alelo nulo en el locus VVIP60. Schiras y Chasselas también podrían ser los parentales de *Black Prince*, variedad para la que no se ha encontrado información acerca del obtentor. Existen dos homonimias denominadas Black Prince: una de California y otra importada de Inglaterra y cultivada en Sudáfrica, siendo esta última la accesión presente en el Encín.

Otra variedad obtenida en Angers por Moreau-Robert fue *Gradisca*, para la que empleó también Chasselas como polinizador, mientras el progenitor femenino sería Bicane. Al igual que Chasselas doré, *Gradisca* es una variedad blanca con tonalidad dorada en la madurez; de hecho, tiene una sinonimia llamada Moranet doré.

Pinot ha sido descrito como el progenitor de muchas variedades de vino cultivadas en Europa (Bowers *et al.* 1999a). *Madeleine Royale*, también obtenida en Angers, podría proceder, de acuerdo al análisis con microsatélites, de un cruce entre Pinot y Frankenthal.

Aunque no se encontró información sobre el origen de *Malingre Precoce*, obtenida por Malingre en 1840 en las cercanías de París, su genotipo sugiere que podría proceder también de Pinot, pero en un cruzamiento con Bicane. *Malingre Precoce* es una variedad blanca de racimo suelto, como Bicane, y maduración temprana, al igual que Pinot. Otra variedad francesa de maduración temprana, *Roi des Precoces*, podría ser también progenie de Pinot, siendo Cinsaut el progenitor femenino.

El sabor moscatel ha sido un carácter fuertemente seleccionado en la obtención de nuevas variedades, por lo que podría corroborar algunos de los pedigrís detectados. Muscat a petits grains blancs podría ser el parental masculino de las variedades *Duchess of Buccleugh* y *Misket vratchanskii*, cuyos progenitores femeninos serían Bicane y Coarna alba respectivamente. *Duchess of Buccleugh* fue obtenida por Thomson en 1863, en Escocia, y presenta sabor moscatel y racimos compactos, como Muscat a petits grains blancs, mientras podría haber heredado el comportamiento de maduración tardía y la tendencia al millerandage de Bicane. *Misket vratchanskii* es una variedad blanca,

moscatel y con racimos y bayas similares a los de Moscatel de grano menudo; por otro lado, se trata de una variedad búlgara, mientras que su progenitora Coarna alba es rumana.

La variedad femenina Marocain noir y Muscat of Alexandria podrían ser los parentales de *Mistress Hall*, una variedad inglesa que presenta ligero sabor moscatel, probablemente heredado de Muscat of Alexandria, y racimos compactos, bayas azul-negras y maduración tardía, como Marocain noir. Aunque el obtentor de esta variedad es desconocido, Foster obtuvo otras variedades usando Marocain noir como progenitor femenino (Galet 2000).

La variedad *Vivona 378*, probablemente obtenida por Antonino Vivona en Italia, podría haberse originado a partir de un cruce entre Muscat of Alexandria y Bruni 415, heredando el racimo suelto, la baya aplastada y la maduración temprana de la segunda.

Existen otras dos accesiones italianas con diferente genotipo denominadas Pizzutello nero, ambas de origen desconocido. Una es una sinonimia de Olivette noire y la otra es una accesión presente en distintas colecciones. Según los resultados, los parentales de esta segunda *Pizzutello nero* podrían ser Cornichon blanc y Prune de Cazouls, siendo esta última una variedad negra de posible origen oriental y cultivada en Sicilia [Longo, citado en Galet (2000)].

Finalmente, existen cuatro variedades españolas de origen desconocido que podrían estar estrechamente relacionadas: *Imperial roja*, *Ciruela roja*, *Colgar roja* y *Almería nera*. Las cuatro podrían compartir como progenitor femenino a la variedad Ohanes. Esta variedad femenina procede de un pueblo almeriense llamado Rágol, desde donde fue llevada a otro pueblo cercano (a 13 Km) denominado Ohanes, que daría su nombre a la variedad (Alonso *et al.* 2006). Por otro lado, el pueblo Rágol también dio nombre a otra variedad de mesa, Ragol. Las cuatro accesiones aquí propuestas como progenies de Ohanes fueron colectadas en Almería, y tres de ellas presentan a Ragol como progenitor masculino.

Imperial roja ha sido descrita como una sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur (Galet 2000), probablemente debido a su similitud morfológica, pero el genotipo de la accesión presente en el Encín es distinto de Ahmeur bou Ahmeur y del resto de variedades analizadas. Los resultados señalan que esta variedad podría haberse originado a partir de un cruce entre Ohanes y Ragol. Ragol ha sido utilizada frecuentemente como un polinizador comercial de Ohanes en Almería mediante la técnica de “engarpe” (Hidalgo 1999). Por otro lado, según el *Vitis International Variety Catalogue*, Ragol es considerada una sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur, mientras que en Almería es llamada Encarnada

de Ragol y Uva de Colgar, nombres que a su vez son considerados sinonimias de Ahmeur bou Ahmeur por Galet (2000). El genotipo de Ragol presente en El Encín no coincide con el de Ahmeur bou Ahmeur, aunque no se puede descartar la existencia de dos homonimias denominadas Ragol, la sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur y otra Ragol de Almería, estudiada en este trabajo.

Adicionalmente, otros cruces entre Ohanes y Ragol habrían dado lugar a *Ciruela roja* y *Colgar roja*. Ambos híbridos presentan una maduración tardía, característica de Ohanes. Aunque *Colgar roja* es considerada por el *Vitis* International Variety Catalogue una variedad americana, dados sus progenitores, debería ser considerada de origen español. Además, una sinonimia de *Colgar roja* llamada Colgar rioja, hace referencia a otro pueblo con el nombre de Rioja, también muy cercano a los pueblos de Rágol y Ohanes.

Estos resultados apuntan a un origen natural para estas tres variedades, causado por polinizaciones espontáneas en Almería. Entre los millones de cruces naturales entre Ragol y Ohanes necesarios para producir bayas en las plantas de Ohanes, probablemente solo unos pocos dieron lugar a plantas maduras, y al menos tres de ellas fueron seleccionadas como nuevas variedades, siendo mantenidas hasta la actualidad.

El cuarto descendiente de Ohanes es *Almería nera*, considerada sinónima de Alphonse Lavallée (Galet 2000), aunque ambas variedades en nuestra colección son morfológica y genéticamente diferentes. Esta supuesta sinonimia probablemente se deba a la similitud de su nombre con Almería negra, verdadera sinonimia de Alphonse Lavallée. Por otra parte, de acuerdo al *Vitis* International Variety Catalogue, *Almería nera* sería sinónima de Imperial Napoleón, una sinonimia de Don Mariano, pero, según nuestro análisis, también presenta un genotipo distinto de ésta. Los resultados del estudio de pedigrís muestran que *Almería nera* podría proceder de un cruce entre Ohanes, con la que comparte una maduración tardía, y Prunesta (sin. Prunesta nera), de la que habría heredado el color rojo y el segundo nombre.

Las razones de verosimilitud obtenidas para los nuevos pedigrís propuestos son del mismo orden o superiores que las obtenidas para los pedigrís previamente descritos en la literatura, lo que ratifica la veracidad de los nuevos pedigrís propuestos en este trabajo. A su vez, son también similares o ligeramente superiores a las razones de verosimilitud de un cruce consistentemente confirmado por diferentes estudios (Cabernet Sauvignon = Cabernet franc x Sauvignon blanc) (Bowers y Meredith 1997; Sefc *et al.* 1997), así como a las obtenidas por otros autores (Sefc *et al.* 1998a; Bowers *et al.* 1999a; Piljac *et al.* 2002; Vouillamoz *et al.* 2003; Di Vecchi *et al.* 2007), encontrándose aquí unos valores de entre $8,33 \times 10^{12}$ y $2,84 \times 10^{22}$ para el cociente entre la probabilidad de que los

parentales propuestos sean los verdaderos progenitores y la probabilidad de que dos parentales escogidos al azar lo sean y unos valores de entre $4,64 \times 10^2$ y $4,22 \times 10^4$ para el cociente entre la probabilidad de los cruces propuestos y la probabilidad del cruce de uno de los progenitores propuestos por una variedad emparentada con el otro progenitor. Sin embargo, por otra parte, las razones de verosimilitud aquí obtenidas son, en general, inferiores a la obtenida por Vouillamoz *et al.* (2004) analizando 31 loci en 400 variedades, lo que podría deberse a la diferencia en el número de microsatélites empleados.

Aunque existen trabajos de pedigríes en vid como los recién citados, generalmente se centran en los descendientes de un cruzamiento entre dos variedades importantes o en alguna genealogía concreta. Hasta la actualidad, no existe otro trabajo en vid semejante a éste en cuanto al estudio de tantos cruzamientos con tan elevado número de progenitores diferentes.

5.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN

El poder de resolución de los estudios de asociación depende de la estructura del desequilibrio de ligamiento (DL) a lo largo del genoma, el cual es generalmente dependiente de la historia de recombinación entre polimorfismos. Por otra parte, determinados factores como la deriva genética, la selección y la estructura poblacional pueden también causar DL entre marcadores y caracteres. En la aplicación de este tipo de estudios a plantas cultivadas, es común la obtención de falsas asociaciones positivas debido principalmente a que se trata de poblaciones altamente estructuradas y sometidas a una fuerte selección artificial.

Por otro lado, dado el elevado número de accesiones existentes en la colección de uva de mesa de El Encín, fue necesario reducir la cantidad de muestras a analizar hasta un set de individuos adecuado para llevar a cabo un estudio de asociación significativo (aproximadamente 100 accesiones), manteniendo costes abordables.

Por estas razones, se construyeron dos colecciones nucleares representativas de la mayor diversidad posible existente en la colección global y se trató de estudiar lo más profundamente posible la estructura de cada colección, así como la posible presencia de selección sobre los genes *VvGAI1* y *VvPe1* y la extensión del DL en ellos.

5.2.1. Evaluación de las colecciones objeto de estudio

Redundancia en las colecciones de partida

El porcentaje de accesiones requeridas para conformar una colección nuclear representativa de la variabilidad total existente en una colección de 322 variedades de mesa de *V. vinifera* fue del 19,2% y para representar la variabilidad de una colección de 245 genotipos únicos fue del 23,6%; un 11,5% y un 15,5% del total de accesiones de ambas colecciones globales, respectivamente, fueron necesarios para representar un 95% de la diversidad alélica. Estos resultados se encuentran entre los valores obtenidos por otros autores: partiendo de una colección global de 279 accesiones de *Annona cherimola*, con un 10,75% de la colección global, lograron representar el total de la variabilidad alélica (Escribano *et al.* 2008), y en una colección de 346 líneas de *Medicago truncatula*, fue necesario el 31% de las accesiones para representar el total de la variabilidad (Ronfort *et al.* 2006).

La vid cultivada, a diferencia de estas especies, es una especie altamente heterocigótica y en la que, especialmente en variedades de mesa, muchos de los cultivares se han obtenido por polinización cruzada. Además, al partirse de una colección exclusivamente de variedades de uva de mesa, se pierde otra parte de la diversidad existente en la especie (variedades de vinificación y silvestres). Por ello, el porcentaje necesario para representar toda la variabilidad debería ser inferior al necesario por *A. cherimola* y, especialmente, por *M. truncatula*, siendo únicamente inferior a esta última.

Le Cunff *et al.* (2008) tan sólo requirieron de un 4% del total de accesiones para representar toda la diversidad existente en una colección de *V. vinifera* de 2.262 genotipos únicos. No obstante, este porcentaje tan bajo de accesiones se debe a que excluyeron los alelos con una frecuencia inferior 0,05. En otro trabajo centrado exclusivamente en uva de mesa, se requirió de menos de un 6% del total de accesiones para representar todos los alelos con frecuencia superior a 0,05 existentes en una colección de 352 genotipos únicos (Jiménez-Cantizano *et al.* 2008). Para representar todos los alelos, incluidos los de baja frecuencia, estos últimos autores requirieron del 14% del total de accesiones, lo que supone un porcentaje más parecido al obtenido en este trabajo.

Otros factores responsables de las diferencias detectadas entre diferentes colecciones podrían ser, además de las características de cada especie, el número de marcadores empleados para la construcción de la colección nuclear y el tamaño muestral de la

colección de partida. En los trabajos mencionados de *Medicago*, *Annona* y *Vitis* usaron 13, 16 y 20 marcadores STMS, respectivamente, mientras en este trabajo se han empleado, además de 20 marcadores STMS, 24 y 55 descriptores morfológicos para la construcción de las colecciones CN127 y CN96, respectivamente. Sin embargo, en un estudio en maíz, mediante el análisis con un alto número de marcadores microsatélite (74 SSRs), consiguieron representar el 98,5% de diversidad con tan sólo el 13% de la colección global (Hao *et al.* 2006). Dado que el número de marcadores es bastante elevado, el reducido porcentaje obtenido podría deberse a que partieron de 1.189 accesiones. Le Cunff *et al.* (2008) partieron de 2.262 y achacan el pequeño número de accesiones necesarias para representar la diversidad genética de esta colección a la existencia de una gran redundancia provocada por la presencia de numerosas relaciones de parentesco. Según van Hintum *et al.* (2003), cuando la colección a partir de la cual se desarrolla una colección nuclear es muy grande, el tamaño porcentual puede ser muy inferior al 5%, hecho observado en diferentes colecciones, como la Colección nuclear internacional de Cebada, que tiene menos del 0,3% de las accesiones de cebada conservadas en el mundo, o la colección nuclear de sorgo del ICRISAT (Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, India), que contiene un 1,5% de una colección inicial de 40.000 accesiones.

Construcción de colecciones nucleares

En los últimos años, se han descrito diversas estrategias para la construcción de colecciones nucleares basadas en diferentes criterios y dependiendo de si la colección está estratificada o no. Existen diferentes estudios en los que la efectividad de las diferentes estrategias es evaluada en profundidad (Schoen y Brown 1993; Bataillon *et al.* 1996; Gouesnard *et al.* 2001; Franco *et al.* 2006; Escribano *et al.* 2008) y la Estrategia M es, en general, la más efectiva en cuanto a la eliminación de la redundancia proveniente de alelos no informativos (debido a la correlación entre loci, influenciada por factores como la deriva genética, el desequilibrio de ligamiento, la autofecundación...).

Por otra parte, Bataillon *et al.* (1996) detectaron que la Estrategia M no funciona tan bien cuando existen elevados índices de migración y polinización cruzada en la colección, aunque la efectividad aumenta en función del número de marcadores empleados. La intensa selección humana en *V. vinifera* podría hacer que el comportamiento poblacional de esta especie se asemeje, aunque artificialmente, a este patrón de elevada migración y polinización cruzada. Sin embargo, nuestros resultados mostraron una clara superioridad

de la Estrategia M frente a la Estrategia R, probablemente debido a la elevada redundancia existente en la colección.

La eficiencia de la Estrategia M es evaluada por el software MStrat comparando el número de clases capturadas en colecciones de diferente tamaño mediante este método con el número de clases capturadas mediante la construcción de colecciones por medio de una selección aleatoria de accesiones. En este trabajo se ha obtenido una ganancia en diversidad en torno al 15% de la Estrategia M frente a la Estrategia R (del 16% para la colección de 245 genotipos únicos y del 14% para la colección de 322 accesiones) (Figura 16, pág. 133 y Figura 19, pág. 138). Estos resultados son similares a los obtenidos en otros estudios, puesto que McKhann *et al.* (2004) observaron en *A. thaliana*, una ganancia del 10% y Le Cunff *et al.* (2008), en *V. vinifera*, del 15%, aunque Ronfort *et al.* (2006), en *Medicago truncatula*, apenas detectaron diferencia entre las Estrategias M y H respecto a la estrategia al azar, achacándolo a la escasa redundancia, así como a los reducidos niveles de desequilibrio de ligamiento, existentes en su colección global.

Las dos colecciones fueron construidas mediante diferentes procedimientos, lo que ha permitido comparar la eficacia de las diferentes metodologías. Aunque ambas se obtuvieron mediante la Estrategia M implementada en MStrat, probablemente responsable de la obtención de dos colecciones con un alto número de variedades coincidentes (55 accesiones), hay que destacar tres diferencias importantes en el proceso de construcción:

- Para la construcción de la CN127 se partió de una colección nuclear con el tamaño mínimo para contener el 100% de variabilidad, a partir de la cual se añadieron accesiones hasta completar el tamaño final deseado. Para la construcción de la CN96, sin embargo, se sumaron tres colecciones independientes con una alta variabilidad, pero no la total.
- Para la selección de las accesiones integrantes de la CN127 se atendió al Índice de Shannon, elijiéndose la réplica (de entre 20) con mayor índice, mientras para la selección de las accesiones de la CN96 (y por tanto de las CN1, CN2 y CN3) se fueron seleccionando y fijando las accesiones que más se repetían en las diferentes réplicas.
- Se emplearon más variables morfológicas para la construcción de la CN96, estando las cuantitativas duplicadas, ya que se introdujeron también transformadas en valores cualitativos de acuerdo a las clases publicadas por la

OIV. Para las variables cuantitativas coincidentes, también se estableció diferente número de clases para las dos colecciones (Tablas 5 y 6, pág. 87 y 88).

Los trabajos anteriormente citados, entre otros como los de Amalraj *et al.* (2006) y Hao *et al.* (2006), representan diversos estudios acerca de la construcción y evaluación de colecciones nucleares anidadas en diversas especies. La utilidad de este tipo de colecciones radica en que, al tratarse de varias colecciones nucleares con diferente número de accesiones incluidas unas dentro de otras, se pueden emplear para estudiar más o menos individuos en función de la aplicación deseada, evitando a su vez analizar diferentes accesiones para cada estudio. En este trabajo, para llevar a cabo los análisis de asociación, se consideró necesario emplear aproximadamente un centenar de accesiones y las dos colecciones construidas, CN127 y CN96, comprenden otras colecciones de menor tamaño. La CN127 contiene, de forma anidada, una colección nuclear de 23 accesiones que representa el 80% de la variabilidad total y otra de 58 accesiones que representa el 100% de la variabilidad. La CN96 comprende tres colecciones independientes, representativas de un alto porcentaje de variabilidad, pero no de la total existente en la colección.

Uno de los criterios empleados para la construcción de la colección para el estudio del gen *VvGAI1* consistió en concentrar el 100% de la variabilidad en un número suficiente de accesiones para llevar a cabo un estudio de asociación significativo. Para la construcción de cada una de las tres colecciones para el estudio de *VvPeI*, sin embargo, el criterio consistió en conseguir el mínimo número de accesiones que representaran más del 90% de la variabilidad existente en la colección completa. El hecho de que no estuviera representado el 100% de la variabilidad en la colección no suponía un problema para el estudio de asociación. De hecho, las clases únicas pueden dar lugar a la aparición de falsos positivos, además de que en muchos casos, aún existiendo una asociación real, el hecho de aparecer sólo una vez puede ser insuficiente para conseguir significación. Mediante la construcción de tres colecciones nucleares independientes, se garantizaba, además, obtener una representación de cada clase por triplicado con el fin de evitar, durante los análisis de asociación, falsas asociaciones positivas consecuencia de la relación casual entre caracteres únicos y SNPs de baja frecuencia.

Los autores previamente citados construyeron sus colecciones usando marcadores moleculares y atendiendo, en primer lugar, a la riqueza alélica. Pero dado que diferentes colecciones presentaban la misma variabilidad alélica, emplearon un segundo criterio para la selección de una de ellas: el Índice de Nei (Nei 1987) o el Índice de Shannon

(Poole 1974), que miden el equilibrio de la distribución de las frecuencias alélicas o de las clases de una variable en la muestra. Atendiendo a estos índices se seleccionaría la colección con la distribución de clases más equilibrada, aunque no aseguraría una representación múltiple de cada clase. Por ello, para la obtención de la CN96 se decidió proceder a la construcción de tres colecciones independientes para su posterior fusión, en lugar de tratar de obtener la distribución de clases más equilibrada atendiendo a los índices de Nei o Shannon.

A su vez, cada colección individual tampoco se construyó atendiendo a estos índices, sino que, siguiendo una sugerencia del propio programa MStrat, se fueron seleccionando y fijando las accesiones con mayor representación en las 20 repeticiones de MStrat, y repitiendo el proceso tantas veces como fuera necesario hasta alcanzar el número de accesiones deseado. Esta metodología asegura la selección de las variedades que mayor variabilidad aportan en general.

Con el fin de evaluar si la representación de clases era más equilibrada u homogénea obteniendo la colección nuclear mediante la suma de diferentes colecciones (como se construyó la CN96) que partiendo de una colección con el 100% de variabilidad (58 accesiones) y añadiendo accesiones hasta el tamaño deseado (como se construyó la CN127), se llevaron a cabo dos análisis. Dado que tanto el tamaño final de las colecciones nucleares como las colecciones de partida eran diferentes, se construyó, por un lado, una colección de 96 accesiones partiendo de la CN58 y usando la TGU245, seleccionando entre 20 réplicas la de mayor Índice de Shannon (como se obtuvo la CN127) y por otro lado, una colección de 96 accesiones partiendo de la CN1 y usando la tabla inicial de 322 accesiones, siguiendo el mismo procedimiento.

El Índice de Shannon obtenido para la colección de 96 accesiones construída a partir de la CN58 y usando la TGU245 fue muy inferior al obtenido para la CN96 mediante la adición de tres colecciones independientes (69,95 y 106,04, respectivamente). La gran diferencia entre ambos índices podría deberse a que se partió de distinto número de variables y de clases, y sugiere que ambas colecciones no son comparables, impidiendo alcanzar conclusiones.

En cambio, tras construir una colección de 96 accesiones a partir de las 37 accesiones de la CN1, se puede inferir que mediante el método empleado para la construcción de la CN96 se obtiene una colección con una distribución de clases más equilibrada que mediante el método empleado para la construcción de la CN127: El Índice de Shannon fue mayor para la adición de las tres colecciones independientes (CN1, CN2 y CN3)

(106,4) que para la construcción de una colección nuclear del mismo tamaño partiendo de una de las tres (103).

No sólo existen diferencias en la estrategia de construcción entre ambas colecciones, también existen diferencias en cuanto a la introducción de los datos agronómicos en MStrat, ya que en la CN96 se emplearon 31 descriptores más que en la CN127 (aunque 11 de ellos, especialmente interesantes para el estudio de asociación, estaban duplicados). Además, para la codificación de los caracteres cuantitativos llevada a cabo por el software, se designó diferente número de clases para los mismos descriptores en las diferentes colecciones. El modo de introducir los datos es un factor importante para los datos cuantitativos, ya que debe existir un equilibrio relativo del número de clases establecido para las diferentes variables para evitar dar a unas mayor peso que a otras. La introducción de una misma variable en diferentes formatos, como se hizo para la CN96, también puede aportar mayor peso a dicha variable. Aunque esto podría no ser conveniente para la obtención de una colección nuclear para otros propósitos, para los estudios de asociación puede contribuir a la obtención de una colección más adecuada porque es importante una representación múltiple de una misma clase para evitar asociaciones espurias. Dado que, en este trabajo, el estudio de asociación se iba a realizar con los caracteres cuantitativos, duplicándolos se facilitaría la representación de una clase varias veces.

Todas estas diferencias en la construcción de las colecciones CN127 y CN96 han debido influir en la obtención de dos colecciones con una estructura genética ligeramente diferente, como se discute en el siguiente apartado. A pesar de ello, ambas colecciones son altamente representativas de las colecciones globales, encontrando un 100% y un 98% de la variabilidad total en las colecciones CN127 y CN96, respectivamente.

En conclusión, aunque la estrategia empleada para la construcción de la CN96 es más adecuada para este tipo de estudios, principalmente porque se espera una representación múltiple de cada clase, con lo que deberían disminuir las asociaciones espurias, el hecho de que la CN127 tenga 31 accesiones más que la CN96 hace que ambas sean aptas para llevar a cabo un estudio de asociación.

Evaluación de la diversidad alélica en las colecciones CN127 y CN96

Un índice que puede informar de la diversidad de la colección nuclear y, por tanto de su calidad, es la heterocigosidad observada, que para la CN127 fue de 0,75 y para la CN96

de 0,76, siendo ambas ligeramente mayores que las observadas para la TGU245 y para la colección global de 322 accesiones (0,74). De hecho, lo esperado sería que la heterocigosidad observada en una colección nuclear fuera mayor que la observada en la colección global, ya que en la colección nuclear debe existir una eliminación de redundancia, en la que lo lógico es pensar que haya una mayor exclusión de accesiones homocigóticas, puesto que aportan menos variabilidad que las heterocigóticas. El hecho de que apenas exista diferencia entre la heterocigosidad de las cuatro colecciones podría deberse a que la elevada heterocigosidad de la vid no permita una reducción considerable en el porcentaje de individuos homocigóticos, indicando que la heterocigosidad observada en la colección global y en la TGU ya es un valor máximo para el conjunto de loci empleados.

Ambas colecciones mostraron una tendencia de las frecuencias alélicas a equilibrarse, aunque esta fue más notable en la CN96, lo que podría sugerir que la metodología empleada para su construcción favorece un mayor equilibrio de las clases que la empleada para la construcción de la CN127.

Evaluación de la diversidad agronómica en las colecciones CN127 y CN96

En cuanto a la diversidad morfológica, la CN127 contiene un 100% y la CN96 contiene un 99% de la variabilidad total existente en la colección global. Quizás el estadístico más informativo en este estudio y para estos descriptores cuantitativos sea la desviación típica, puesto que es mayor en las colecciones nucleares que en las colecciones globales. Esto probablemente se deba al aumento de las frecuencias minoritarias, que por lo general, suelen corresponder a valores extremos, indicando una distribución de clases más equilibrada en las colecciones nucleares.

Le Cunff *et al.* (2008) observaron una diferencia importante entre la efectividad de los marcadores moleculares y los morfológicos, evaluándola en loci no empleados para la construcción de diferentes colecciones. Analizaron tres secuencias génicas en dos colecciones construidas a partir de diferentes marcadores. En una colección nuclear de 141 accesiones construida mediante el uso de 50 descriptores morfológicos obtuvieron 25 SNPs, mientras en una colección de 92 accesiones construida a partir de 20 marcadores microsatélite detectaron 41 SNPs. Pero lo que llama aún más la atención es que sólo en 12 accesiones seleccionadas con los 20 STMSs observaron 30 SNPs, cinco más que en la colección de 141 accesiones construida con marcadores morfológicos.

Estos datos indican claramente la superioridad de los marcadores moleculares para la construcción de colecciones nucleares. Además, una caracterización morfológica es muy costosa, por lo que no tiene sentido construir una colección nuclear a partir de datos morfológicos, sino que lo lógico es obtener dicha colección a partir de datos moleculares para reducir el trabajo en este tipo de caracterización. En este trabajo se han empleado todos los recursos disponibles (moleculares y morfológicos), ya que no era importante obtener el mínimo número de accesiones representativas de toda la variabilidad, sino capturar toda la diversidad posible en un número relativamente elevado de variedades.

La construcción de colecciones nucleares es una herramienta cada vez más empleada en el estudio de colecciones de germoplasma, ya que concentran el total o gran parte de la variabilidad en un reducido número de muestras, haciendo posibles diversos estudios genéticos o fenotípicos que sería difícil llevar a cabo sobre colecciones de centenares o miles de accesiones. Por ello, la contribución de este trabajo acerca de la metodología empleada para la construcción de estas colecciones puede ser de interés para otros autores.

5.2.2. Estructura genética de las colecciones objeto de estudio

Aunque en anteriores trabajos se ha descrito que el criterio sugerido por Pritchard *et al.* (2000a) para la elección del número de poblaciones puede resultar problemático debido a un aumento del LK con el incremento del número de poblaciones, en este trabajo resultó de gran utilidad, especialmente para el análisis de la colección CN127, puesto que nuestros resultados mostraron un patrón en el cual el LK presentaba un punto de inflexión en un determinado número de poblaciones, descendiendo a partir de éste (Figura 22, pág. 148). Los resultados obtenidos siguiendo el criterio de Evanno *et al.* (2005) fueron consistentes en el caso de la colección CN96, presentando un pico claro de ΔK en $K = 6$, que coincidía con el punto de inflexión en la representación del LK frente a K . Sin embargo, para la colección CN127, se obtuvieron dos picos de una altura similar, aunque bastante baja, en $K = 2$ y $K = 8$ (Figura 23, pág. 148). Por ello, para decidir el número de poblaciones existentes en la CN127, se atendió sobre todo al criterio de Pritchard *et al.* (2000a).

El hecho de que los resultados obtenidos para la CN96 muestren una estructura más clara que para la CN127 podría, por otra parte, estar indicando que la colección CN96 representa un muestreo más adecuado, con una representación de variedades “tipo” de cada población, con menor grado de mezcla, corroborando que el procedimiento

empleado para su construcción fue más eficiente que el empleado para la construcción de la colección CN127. Sin embargo, existe un porcentaje de accesiones con una probabilidad de pertenecer a “su” población inferior a 0,5 muy similar en la CN127 y en la CN96 (Tabla 22, pág. 149 y Tabla 23, pág. 153). Hay que tener presente que tanto la Estrategia M como el índice de Shannon favorecen la incorporación de individuos con alto grado de mezcla, que aportan más riqueza, por lo que es esperable que si ambas colecciones han sido construídas usando una o ambas estrategias, las dos muestren variedades con un grado de mezcla similar.

Los resultados obtenidos para el AMOVA muestran que la variabilidad encontrada entre las poblaciones establecidas con el software Structure no es muy elevada. Además, el valor medio del índice de fijación (F_{st}) es de 0,085 para la colección CN127 y de 0,069 para la colección CN96, lo que indica una débil estructuración genética entre las diferentes poblaciones de ambas colecciones (Tablas 25 y 26, pág. 158). La diferenciación genética entre poblaciones tampoco fue significativa. No obstante, esto podría deberse a que el software Arlequín no tiene en cuenta la presencia de variedades con elevado grado de mezcla genética. De hecho, Vélez (2007) obtuvo un índice de fijación similar (0,07) a pesar de que el set de muestras empleado en su trabajo estaba considerablemente estructurado en poblaciones mucho más claras que el aquí empleado, puesto que incluía variedades de mesa, de vinificación e híbridos interespecíficos.

Ambas colecciones cumplieron el equilibrio de Hardy-Weinberg para el total de marcadores empleados aplicando la Corrección de Bonferroni y para la mayoría de los loci a un nivel de significación de 0,05 (Tabla 27, pág. 159). Este es uno de los requisitos principales en los que se basa el software Structure, por lo que su cumplimiento avala en parte los resultados obtenidos. Además, con dicho software se obtiene una estructura que se ajusta relativamente bien a las relaciones de parentesco existentes entre las diferentes variedades e incluso a su origen geográfico. Sin embargo, es obvio que no se trata de verdaderas poblaciones panmícticas, sino de una representación de la trama de cruzamientos varietales dirigidos por el hombre durante el proceso de domesticación. Esto es bastante esperable al trabajar con especies en las que la distribución de la diversidad está condicionada por una intensa selección artificial.

De hecho, la obtención de dos picos de ΔK mediante la corrección de Evanno para la colección CN127 podría estar indicando dos posibles estructuras. El pico de ΔK en $K = 8$ muestra una estructura muy similar a la obtenida para la CN96, basada en gran medida en el origen geográfico y, especialmente, en las relaciones de parentesco existentes

entre las diferentes accesiones. Sin embargo, el pico de ΔK en $K = 2$, representado también en el análisis de agrupamientos (Figura 26, pág. 161), parece corresponderse con un grupo de variedades antiguas (Grupo B), muchas de ellas de probable origen natural, y otro grupo de variedades recientes (Grupo A), obtenidas y seleccionadas por mejoradores italianos y franceses en su mayoría, a partir de cruzamientos artificiales entre un número reducido de variedades con determinados caracteres de interés. Esta estructura podría corresponderse con un efecto fundador en el Grupo A, conformado por variedades que fueron obtenidas a partir del cruzamiento de una pequeña muestra de individuos (parentales recurrentes), provocando una reducción en la diversidad. Esto queda reflejado en la distribución de las frecuencias alélicas en las dos poblaciones, existiendo una mayor diversidad en el Grupo B, así como un porcentaje bastante alto de alelos específicos en comparación al Grupo A (Tabla 24, pág. 157). En el caso de la vid cultivada existe un solapamiento de generaciones debido al mantenimiento de las variedades durante siglos mediante reproducción vegetativa, por lo que el Grupo B podría representar una primera “generación”, de la cual se seleccionaron las accesiones fundadoras del Grupo A, que representaría la segunda “generación”. A diferencia del proceso evolutivo en una población natural, en la vid, se ha mantenido en el tiempo, solapando con la segunda generación. Esta estructura genética resulta de gran interés para el estudio de evolución molecular, ya que podría estar representando el proceso de selección artificial en variedades de uva de mesa.

No obstante, la estructura de 8 poblaciones es coherente con las relaciones de parentesco y geográficas, por lo que debería ser de mayor utilidad en el análisis de asociación para evitar las posibles asociaciones espurias derivadas de la estructura genética de la colección. Esta estructura ($K = 8$) es también apoyada en gran medida por el análisis de agrupamientos, existiendo una fuerte correspondencia entre los resultados obtenidos por ambos métodos (Tabla 22, pág.149 y Figura 26, pág. 161).

De acuerdo al dendrograma obtenido para la CN127, el Grupo A estaría compuesto por la población CN127-Q1, que corresponde en general a descendientes de variedades con sabor moscatel; la población CN127-Q3, que comprende variedades procedentes del este de Europa por un lado y variedades de Centro Europa por otro; la población CN127-Q6, que son variedades obtenidas por mejoradores italianos principalmente, que usaban un conjunto de progenitores reducido; y la población CN127-Q8, que integra algunas variedades francesas antiguas y sus descendientes. El Grupo B estaría compuesto por las poblaciones CN127-Q2 y CN127-Q7, muy cercanas e integradas ambas por

variedades procedentes de la Península Ibérica en su mayoría; por la población CN127-Q5, que corresponde al grupo de Sultanina y sus descendientes (Sultanina es una variedad muy antigua procedente de Afganistán, por lo que, aunque el resto de variedades sean obtenciones recientes, tiene sentido que se encuentren en este grupo); y por la población CN127-Q4, representada en su mayoría por variedades orientales que aunque aparecen dispersas, se encuentran todas en el Grupo B, con la excepción de Khalili belyi y Shiradzouli belyi. Esta distribución de las 8 poblaciones entre los dos grupos principales corrobora que el Grupo B es un grupo de variedades antiguas, provenientes de oriente (CN127-Q4), que pudieron haber entrado en Europa a través de la Península Ibérica cuando ésta estaba habitada por los árabes, por lo que hay un número considerable de variedades ibéricas (CN127-Q2 y CN127-Q7) estrechamente relacionadas con las orientales. El Grupo A comprende variedades europeas bastante recientes, obtenidas en su mayoría mediante mejora genética (CN127-Q1 y CN127-Q6), con la excepción de algunas antiguas como Chasselas o Afus Ali, usadas como progenitores recurrentes. No obstante, la población CN127-Q3 también está conformada por algunas variedades antiguas como Albillo o Corinto bianco (mutante de Pedro Ximenes), y por variedades del este de Europa, posiblemente también antiguas y bastante diferentes genéticamente a las de occidente. Es posible que esta población sea la huella de un centro de domesticación europeo, diferente al oriental representado en el Grupo B.

En la estructura genética obtenida para la colección CN96 (Tabla 23, pág. 153, y Figura 27, pág. 162), al observar tanto la historia y las características de las diferentes variedades como las frecuencias alélicas en cada población, este proceso de selección no es tan evidente. Las poblaciones CN96-Q1, CN96-Q2 y CN96-Q5 parecen ser grupos de variedades sobre las que se ha efectuado una intensa selección, puesto que CN96-Q1 corresponde a un grupo de variedades apirenas descendientes de Sultanina, CN96-Q2 a descendientes de variedades moscatel (especialmente de Muscat of Alexandria) y CN96-Q5 son variedades obtenidas por mejoradores italianos en su mayoría, aunque presenta algunas variedades supuestamente antiguas como Frankenthal o Schiras. La apirenia y el sabor moscatel han sido dos caracteres de gran interés para la mejora genética y las frecuencias alélicas de estas tres poblaciones apuntan también a la existencia de dicha selección, presentando un número de alelos totales y específicos bajo en comparación con las poblaciones CN96-Q3 y CN96-Q6 (Tabla 24, pág. 157).

La población CN96-Q4 resulta interesante, puesto que la información existente acerca de las variedades que la componen indica que se trata de un grupo de variedades antiguas

de posible origen natural procedentes, en su mayoría, de la Península Ibérica. Esto apunta a que este grupo podría proceder de una verdadera población natural geográfica, en la que las variedades no se obtuvieron a partir de cruzamientos dirigidos.

Las poblaciones CN96-Q3 y CN96-Q6 son las más conflictivas, puesto que en el análisis de agrupamientos se dispersan y no existen como tales. Se trata de dos poblaciones en las que se mezclan variedades antiguas de diferentes orígenes, principalmente orientales y españolas, aunque también aparece Chasselas (francesa) en la CN96-Q3, así como algunos descendientes directos de estas variedades. La división de estos cultivares entre estos dos grupos no está clara, como indica el análisis de agrupamientos, pero en la población CN96-Q6 coinciden varias accesiones de baya arqueada, carácter muy poco frecuente, cuyo origen o uno de sus orígenes podría asociarse a oriente.

Existe una alta correspondencia entre las poblaciones obtenidas para las dos colecciones, de manera que en ambas hay una población de variedades descendientes de Sultanina (CN127-Q5 y CN96-Q1), otra de descendientes de variedades moscatel (CN127-Q1 y CN96-Q2), otra de variedades orientales (CN127-Q4 y CN96-Q6), otra de variedades antiguas españolas (CN127-Q2 y CN127-Q7 y CN96-Q4), otra de selecciones recientes italianas y francesas en su mayoría (CN127-Q6 y CN127-Q8 y CN96-Q5) y otra de una mezcla de variedades antiguas europeas sobre todo, con algunas orientales en la CN96 (Q3 en ambas colecciones). El diferente número de poblaciones detectado en cada colección posiblemente se deba al muestreo, ya que al haber un menor número de accesiones en la CN96, las poblaciones CN127-Q6 y CN127-Q8 se concentran en la CN96-Q5 y las poblaciones CN127-Q2 y CN127-Q7 se concentran en la CN96-Q4, aunque CN127-Q7 muestra una gran correspondencia con CN96-Q4, mientras CN127-Q2 integra numerosas variedades de uso mixto. El hecho de que se haya detectado una estructuración tan similar entre dos colecciones de variedades de mesa, con muchas accesiones diferentes (55 comunes), avala en parte la existencia de esta estructura o alguna muy similar entre las variedades de uva de mesa.

Por otro lado, a pesar de que en la CN96 no existe una diferenciación tan clara en dos grupos definidos representativos del proceso de selección como puede observarse en la CN127, las ramas externas del dendrograma (que representan variedades más próximas entre sí) comprenden las poblaciones CN96-Q2, CN96-Q4, CN96-Q5 y parte de CN96-Q3 y de CN96-Q6, que están integradas en general por variedades europeas (francesas, italianas, españolas y de algunos países del este), mientras que en las ramas internas, y más distantes del resto, se localiza la población CN96-Q1 y la mayoría de variedades

integrantes de la CN96-Q6, representando a las variedades orientales. Sin embargo, la mayoría de accesiones de la CN96-Q3, entre las que se encuentran variedades antiguas europeas, se localizan en la rama más interna. Esto apunta a que dichas variedades antiguas procedentes de centro Europa probablemente no tengan antepasados orientales, representando un centro de domesticación independiente.

En general, diversos trabajos basados en frecuencias haplotípicas y genotípicas, coinciden en la hipótesis de la existencia de al menos dos centros de domesticación: uno en oriente y otro en occidente (Arroyo-García *et al.* 2002; Grassi *et al.* 2003; Imazio *et al.* 2005; Arroyo-García *et al.* 2006; Grassi *et al.* 2008). Esta hipótesis, por otro lado, es avalada por una correspondencia morfológica: las variedades orientales, denominadas de acuerdo a Negrul (1938) “grupo *orientalis*”, se caracterizan por poseer una baya grande, mientras las occidentales o “grupo *occidentalis*” se caracterizan por una baya pequeña, rasgos también característicos de la uva de mesa y la uva de vinificación, respectivamente. Existe otro grupo, denominado “*pontica*”, con características intermedias. Por otro lado, un estudio paleobotánico [Hopf 1991, citado por Arroyo-García (2006)] sugiere que la vid euroasiática fue explotada en el Neolítico en la Península Ibérica antes de su contacto con oriente, apoyando también dicha hipótesis.

Hasta la fecha, no se ha realizado ningún estudio acerca de la estructura de variedades de mesa exclusivamente, aunque los trabajos de Aradhya *et al.* (2003), Arroyo-García *et al.* (2006) y Vélez (2007) incluyeron una proporción considerable de estas variedades, junto a otras, y observaron cierta diferenciación entre los grupos que correspondían a híbridos interespecíficos, variedades silvestres, variedades de vinificación, variedades de uso mixto (vinificación y mesa) y variedades de mesa. Dentro del grupo de mesa, Aradhya *et al.* (2003) detectaron dos grupos principales. El primer grupo incluía dos subgrupos: uno de variedades orientales (*orientalis*), en el que se encuentran variedades como Sultanina y Khalili belyi, y otro de variedades centroeuropeas de mesa y de uso mixto con características intermedias entre orientales y occidentales (*pontica*). En un segundo grupo se encontraban diferentes subgrupos de mesa y de vinificación, repartiéndose las variedades de mesa entre tres de ellos, uno de los cuales contenía diversas variedades moscatel.

Esta estructura no se corresponde exactamente con la nuestra, pero hay que tener en cuenta que la inclusión de variedades con un fondo genético claramente diferente (variedades de vinificación y silvestres) puede influir en gran medida en los resultados de un método de agrupamientos. A pesar de ello, los resultados obtenidos en este trabajo

parecen apoyar los de Aradhya *et al.* (2003), puesto que, aunque el grupo de descendientes de Sultanina aparece como un grupo independiente en este trabajo mientras que en el de Aradhya *et al.* (2003) se fusiona con otras variedades orientales, en los dendrogramas se puede observar cómo está estrechamente relacionado con otras variedades orientales. Por otro lado, en ambos trabajos encontramos un grupo de variedades moscatel o descendientes de éstas y se puede observar como las variedades orientales se reparten en más de un grupo. Aunque parece no haber una población equivalente a la de variedades antiguas españolas en su estudio (CN127-Q7 y CN96-Q4), es muy posible que se deba a la diferencia de muestreo.

A partir de estos resultados, Aradhya *et al.* (2003) sugirieron que la mezcla entre variedades de mesa y de vinificación existente en el grupo de variedades centroeuropeas probablemente se deba a la introducción de variedades de mesa orientales por el sur de Europa y su fusión con las variedades de vino de estas regiones. Nuestros resultados podrían apoyar esta teoría en dos sentidos: por un lado, la población CN127-Q2 detectada en la CN127 parece corresponder a este grupo de variedades centroeuropeas de uso mixto (*pontica*), y por otro, en los dendrogramas para ambas colecciones se observa una dispersión de las poblaciones que contienen las variedades orientales, dividiéndose en tres subgrupos en general: uno independiente, otro que se agrupa con la población de descendientes de Sultanina y otro que se agrupa con las variedades antiguas españolas (que también contiene a las marroquíes Ahmeur bou Ahmeur y El Farryali), sugiriendo que las variedades orientales podrían haber entrado por Marruecos en la Península Ibérica.

Por otro lado, Arroyo-García *et al.* (2006), en el estudio de variedades silvestres y cultivadas (de mesa y vinificación), observaron una clara diferenciación en dos grupos: uno en el que se incluían variedades cultivadas de la Península Ibérica con silvestres de Europa central, de la Península Ibérica y del norte de África, y otro con variedades cultivadas de todas las localizaciones excepto de la Península Ibérica, altamente relacionadas con silvestres orientales. Gassi *et al.* (2006), sin embargo, obtuvieron dos haplotipos representados mayoritariamente en Armenia, Turkmenistán, Afganistán y la Península Ibérica, frente a otros dos representados en el Cáucaso y la Península Itálica, sugiriendo posteriormente (Grassi *et al.* 2008) que estas dos últimas regiones habrían sido las principales rutas de refugio, a partir de las cuales se volvió a expandir la vid silvestre tras las glaciaciones.

Esto no sólo refleja el considerable aporte de variedades de mesa orientales a occidente, sino que dicho aporte pudo realizarse por diferentes vías: por la Península Ibérica a través del Norte de África, como parecen indicar este trabajo, el de Aradhya *et al.* (2003) y el de Grassi *et al.* (2006), y por el este de Europa o por otros países mediterráneos como indican los trabajos de Arroyo-García *et al.* (2006) y Grassi *et al.* (2006; 2008).

La diferencia entre los resultados obtenidos mediante el método bayesiano y el análisis de agrupamientos con UPGMA fue también apreciada por Rosenberg *et al.* (2001), que explicaron que los métodos para la obtención de cladogramas presentan menor capacidad que el software Structure para agrupar individuos con regularidad en especies domesticadas, debido, entre otras causas, a que la historia poblacional de dichas especies podría no seguir un modelo de bifurcación. Dichos autores explican, además, que el considerable intercambio genético entre poblaciones históricas puede explicar la baja fiabilidad de determinadas ramas del árbol, fenómeno que también puede observarse en los cladogramas realizados en este trabajo, puesto que las variedades que contienen una mezcla de poblaciones equilibrada aparecen en diferentes grupos al aplicar diferentes métodos. A las dificultades en la ejecución del análisis de agrupamientos con especies con altas tasas de mezcla poblacional hay que añadir que, según Moazami-Goudarzi *et al.* (1997), incluso 30 marcadores son insuficientes para distinguir poblaciones relacionadas mediante este tipo de análisis.

El número de individuos y de marcadores empleados pueden también condicionar la obtención de una estructura fiable con el software Structure, por lo que las contradicciones observadas en la asignación de determinados individuos a ciertos grupos podrían deberse al análisis de un número insuficiente de individuos, ya que Rosenberg *et al.* (2001) concluyeron que deberían ser genotipados más de 12-15 marcadores en 15-20 individuos por población hipotética en especies con poblaciones poco divergentes, y en varias poblaciones de las obtenidas con Structure para ambas colecciones el número de accesiones es inferior a 15. Con el fin de evitar en la medida de lo posible el error que podría ocasionar un número bajo de accesiones, se empleó un número de pasos de desmemorización y de la cadena de Markov muy elevado, bastante superior al empleado en los principales estudios realizados con el software (Pritchard *et al.* 2000a; Evanno *et al.* 2005).

A pesar de la dificultad para realizar un estudio de estructura genética en colecciones de variedades de mesa, dada su elevada mezcla debida al cruzamiento entre variedades de diferentes poblaciones, los resultados aportados por el software Structure resultan bastante relevantes gracias a la capacidad de este programa para analizar la estructura

permitiendo mezcla entre poblaciones. Por otro lado, debido a la existencia de tales relaciones de parentesco, es necesario tener en cuenta que probablemente la estructura obtenida para las colecciones analizadas no represente una verdadera estructura geográfica, sino la red de relaciones genealógicas existentes (aunque exista cierta correspondencia).

En resumen, aunque de los análisis de la estructura genética con Arlequín puede deducirse que no existe una estructuración significativa en ninguna de las colecciones estudiadas, tanto con el método Bayesiano implementado en Structure como con el método de agrupamientos UPGMA, se obtuvo una estructura muy similar para y entre las dos colecciones analizadas, con la excepción de algunas accesiones que se localizan en diferentes grupos en función del tipo de análisis, aunque estas divergencias parecen deberse a su elevado grado de mezcla. No obstante, dada la importancia de la consideración de la estructura en los análisis de asociación y teniendo en cuenta que para ambas colecciones se observaron unas estructuras bastante lógicas, se emplearon las probabilidades de cada accesión de pertenecer a cada una de las poblaciones para el estudio de los genes *VvGAI1* y *VvPeI*.

5.2.3. Análisis de secuencias

La presencia de indels y microsatélites supuso un gran problema para la obtención de secuencias de alta calidad. Dado que se detectaron polimorfismos de este tipo en ambos genes, fue necesario eliminar del análisis los fragmentos de secuencia afectados. En el gen *VvGAI1* se detectaron un indel de 7 pb y un microsatélite, pero ambos localizados en la región 3'UTR.

En el caso del gen *VvPeI*, aunque el indel detectado se encontraba en un intrón, interfería en parte de la secuencia codificante, de manera que las primeras 249 pb a partir del codón de iniciación no fueron analizadas. Este fragmento de 249 pb incluía un intrón de 93 pb, por lo que la región codificante no analizada fue de 156 pb, correspondientes a 52 aminoácidos. A diferencia del análisis de *VvGAI1*, el análisis de la proteína de *VvPeI* no fue completo, por lo que hay que ser prudente al interpretar los resultados y tener presente que podría haber un polimorfismo responsable de alguna variación fenotípica en la región que no ha sido analizada. No obstante, el desequilibrio de ligamiento permite esperar que se pudiera detectar asociación en algún polimorfismo no analizado, incluso de las zonas promotoras.

5.2.4. Análisis de diversidad

Diversidad nucleotídica

Atendiendo a los resultados obtenidos para 1841 pb del gen *VvGAI1* en una colección de 127 accesiones de uva de mesa, la variabilidad detectada es aparentemente inferior a la obtenida en otros trabajos realizados en vid. La frecuencia de SNPs observados para este gen (1 cada 123 pb) fue muy inferior a la obtenida por Lijavetzky *et al.* (2007) (1 cada 64 pb), Salmaso *et al.* (2004) (1 cada 47 pb), This *et al.* (2007) (1 cada 61 pb) y Le Cunff *et al.* (2008) (1 cada 49 pb) para 1 Mb, 12 Kb, 2196 pb y 2010 pb de fragmentos génicos, respectivamente. Dichos estudios incluían regiones codificantes y no codificantes, mientras en este trabajo la porción secuenciada de región no codificante es del 4% del total de la secuencia analizada. Además, Lijavetzky *et al.* (2007) incluyeron *V. vinifera* ssp. *sylvestris* y Salmaso *et al.* (2004) incluyeron *V. riparia*, lo que podría suponer la causa principal de la elevada diversidad detectada. Considerando exclusivamente la región codificante analizada en esos estudios, Lijavetzky *et al.* (2007) detectaron un SNP cada 69 pb, Salmaso *et al.* (2004) 1 cada 43 pb y Le Cunff *et al.* (2008) 1 cada 127 pb, siendo este último resultado bastante similar al obtenido en este trabajo, lo que indica que la baja diversidad detectada en *VvGAI1* probablemente se deba, en parte, a que la secuencia analizada consiste, casi en su totalidad, en región codificante. Por otro lado, el trabajo de Le Cunff *et al.* (2008) es más parecido a éste tanto en el tamaño y los taxones de la colección empleada (92 accesiones de *V. vinifera* ssp. *sativa*), como en la longitud de secuencia analizada (2010 pb).

El número de SNPs detectados en el gen *VvPel* es, sin embargo, similar a los resultados de estos autores, con una media de un SNP cada 44 pb. Teniendo en cuenta que se trata exclusivamente de variedades de mesa, el elevado número de polimorfismos detectado indica que se trata de un gen con una elevada tasa de mutación. El hecho de que el número de SNPs detectados sea mayor en la región codificante posiblemente se deba a que la longitud de secuencia no codificante analizada fue mucho menor, de 346 pb frente a 1054 de región codificante, y probablemente no sea un tamaño de secuencia suficiente para obtener resultados significativos.

Los valores de diversidad nucleotídica obtenidos para el gen *VvGAI1* ($\pi = 0,0015$ y $\theta = 0,0013$) han sido aproximadamente 3,5 veces inferiores a los obtenidos por Lijavetzky *et al.* (2007) para 1 Mb de fragmentos génicos ($\pi = 0,0051$ y $\theta = 0,0046$) e, incluso aún menores que los obtenidos por Salmaso *et al.* (2004) para unas 12 Kb ($\pi = 0,0098$). Para

VvPel se obtuvieron unos valores diversidad más altos que en *VvGAI1* ($\pi = 0,0042$ y $\theta = 0,0039$), aunque continúan siendo inferiores a los que obtuvieron los autores citados. Esta diferencia probablemente se deba, como ya se ha mencionado, a que dichos autores emplearon además otras especies y subespecies de vid, frente a la escasa variabilidad existente entre variedades de uva mesa.

Una causa para la baja diversidad del *VvGAI1* podría ser la posibilidad de que se trate de un gen muy conservado en comparación a otros genes debido a la importancia de su función biológica como regulador de una hormona fundamental en el desarrollo, de manera que el análisis de numerosos genes repartidos por diferentes regiones del genoma aumentaría el promedio de diversidad. Por otra parte, debería estar tan conservado como su ortólogo en maíz, el gen *d8*, y presentar una diversidad similar, sin embargo, para dicho gen, se detectaron 38 polimorfismos en 1747 pb de región codificante. Por lo tanto, su baja diversidad probablemente no se deba sólo a la elevada conservación del gen, sino también a otros factores como la selección, lo que se discutirá en el apartado de evolución molecular.

En general, en comparación a otras especies, el número de polimorfismos obtenidos en este trabajo para *VvGAI1* está en el mismo rango que el observado en regiones codificantes de diferentes genes de maíz o girasol [1 SNP cada 124 y 90 pb, respectivamente (Ching *et al.* 2002; Simko *et al.* 2006)], aunque es bastante inferior al descrito para *Arabidopsis thaliana* en exones de genes (1 cada 47 pb), que es a su vez similar al detectado en *VvPel*. Los promedios de los parámetros de diversidad nucleotídica π y θ para un número de genes varían considerablemente entre las diferentes especies vegetales (Wright y Gaut 2005), aunque los aquí obtenidos para *VvGAI1* son de los más bajos descritos (en torno a 0,001), en el orden de los observados para la soja (Zhu *et al.* 2003) o incluso para el ser humano (Frisse *et al.* 2001). No obstante, es importante considerar que θ puede verse también afectado por diferentes procesos de evolución poblacional que den lugar a una desviación de la neutralidad. Por ejemplo, una reducción de este parámetro en maíz respecto a su congénere *Zea mays* ssp. *parviglumis*, refleja un cuello de botella durante el proceso de domesticación (Tenailon *et al.* 2004). En nuestro caso, apenas se observa diferencia entre las poblaciones, pero hay que tener en cuenta que todas contienen exclusivamente variedades de mesa.

Diversidad haplotípica

La definición de las fases haplotípicas resulta de gran interés para numerosas aplicaciones, entre ellas los estudios de asociación, de genética de poblaciones o de evolución molecular. Sin embargo, su obtención directa mediante métodos experimentales, como la clonación por ejemplo, resulta costosa. Por ello, en los últimos años se han diseñado diferentes algoritmos para la obtención de haplotipos a partir de datos genotípicos. El algoritmo implementado en Phase permite conocer la probabilidad de la fase determinada por el software para cada SNP, lo que supone una gran ventaja frente a otros métodos.

En el análisis de *VvGAI1*, el conjunto de haplotipos inferidos mostró una alta fiabilidad; sólo dos polimorfismos en dos accesiones diferentes presentaron una probabilidad inferior al 100% de encontrarse en la fase propuesta por el software. Uno de dichos SNPs (S_309) era único en la colección, lo que explica una probabilidad del 50% de que la fase obtenida sea la correcta. Este SNP se detectó en la variedad Rosaki noir des semis y dio lugar al haplotipo H14, único en la colección. Sin embargo, la fase para el polimorfismo S_369 en la variedad Napoleón se obtuvo con una probabilidad del 87%, dando lugar al haplotipo único H10, y este SNP presentaba una de las frecuencias más altas. Esto podría deberse a que se trata de un SNP totalmente ligado a S_630 en la colección analizada, excepto para esta variedad, que es heterocigótica en un locus y homocigótica en el otro. Este hecho podría ser fruto de una recombinación en algún antecesor de Napoleón o de una reversión de la mutación en uno de los loci en dicha variedad.

Los resultados de la estimación de haplotipos en el gen *VvPef* fueron también muy fiables, con una probabilidad del 100% de encontrarse en la fase designada para cada SNP, excepto para la fase de tres SNPs (S_1273, S_1294 y S_1369) detectados en Imperial roja, que presentaron una probabilidad del 66% de que la fase propuesta sea la correcta, dando lugar a un haplotipo único (H15).

El número de haplotipos fue 15 para los dos genes, igual al número de SNPs detectados en el caso de *VvGAI1*, lo que representa más del doble que los detectados por Lijavetzky *et al.* (2007) y Salmaso *et al.* (2004), en torno a 6 haplotipos por gen, correspondiendo según Salmaso *et al.* (2004) a 0,7 veces el número de SNPs por gen. Este número de haplotipos tan alto frente a una diversidad nucleotídica considerablemente baja es difícil de explicar, pero podría deberse a la baja tasa de mutación que parece mostrar este gen, sumada a una posible selección artificial equilibrada sobre el mismo, con la que se

estarían manteniendo prácticamente todos los haplotipos existentes a lo largo de muchos siglos. El análisis de las diferentes poblaciones independientemente parece indicar que ciertas variedades antiguas que forman parte de la población CN127-Q4, con 4 haplotipos únicos, podrían ser en parte responsables de la alta diversidad haplotípica.

Para *VvPel*, sin embargo, 15 haplotipos corresponden a 0,47 veces el número de SNPs detectados, representando un número muy bajo de haplotipos en comparación a los detectados por Lijavetzky *et al.* (2007) y Salmaso *et al.* (2004). Una selección positiva después de la “domesticación”, con la que habrían desaparecido gran cantidad de haplotipos no favorecidos, podría haber dado lugar a esta baja diversidad haplotípica.

La heterocigosidad haplotípica detectada en este gen fue de 0,76 para *VvGAI1* y 0,85 para *VvPel*, superior a la obtenida para vid por Lijavetzky *et al.* (2007) y Salmaso *et al.* (2004) (0,64) y, en comparación a otras especies, bastante más alta que la descrita para maíz (0,56) por Ching *et al.* (2002).

En cuanto a las frecuencias haplotípicas, se detectaron dos haplotipos mayoritarios con frecuencias de 0,34 y 0,30 para *VvGAI1* y dos con frecuencias de 0,24 y 0,21 para *VvPel*, mientras que Lijavetzky *et al.* (2007) observaron un promedio para la frecuencia del haplotipo mayoritario en 230 genes de 0,49. Esto podría deberse al elevado número de genes estudiados y a que sólo se analizaron 11 accesiones muy diferentes genéticamente.

El análisis de conexiones en red (network) de los haplotipos obtenidos para el gen *VvGAI1* en la CN127, mostró que todos los haplotipos podrían proceder del haplotipo H3, presente en variedades de procedencia oriental (Figura 31, pág. 171). Estos resultados avalan las hipótesis propuestas por otros autores (Aradhya *et al.* 2003; Imazio *et al.* 2005; Arroyo-García *et al.* 2006), que sugieren que las variedades de mesa tuvieron una mayor diversificación en Próximo Oriente, probablemente por ser el centro de origen. Desde allí, se extendieron a occidente introduciéndose por el sur de Europa. Este diagrama no representa aparentemente la existencia de un centro de domesticación secundario.

Los dos haplotipos más frecuentes en la colección, H5 y H11, junto a H7, provendrían del haplotipo H4, presente únicamente en la accesión Danam. Esta variedad, aunque es francesa, es una progenie de un cruce entre Dabouki y Muscat Hamburg. Dabouki procede de Armenia y Muscat Hamburg es descendiente de Muscat of Alexandria (egipcia) x Frankenthal (de posible origen alemán), por lo que podría tratarse de un haplotipo ancestral, dada la antigüedad de estas últimas variedades. Además, la población CN127-Q6 (de variedades recientes obtenidas por mejoradores italianos) es

representada en su mayoría por los haplotipos H5, H7 y H11, seguidos del H1, por lo que estos tres haplotipos, conectados por la variedad Danam, quizás sean los más representativos de la intensa mezcla llevada a cabo mediante cruzamientos dirigidos durante los últimos siglos. Por otro lado, las variedades de la población CN127-Q5 (descendientes de Sultanina) presentan casi exclusivamente el haplotipo H11, volviendo a sugerir un vínculo de las variedades europeas con oriente.

Por otra parte, resulta interesante mencionar el hecho de que una línea independiente habría dado lugar al haplotipo H9, representado en su mayoría por variedades españolas de posible origen natural y algunas turcas y francesas (Tabla 32, pág. 169). Estos resultados apoyan los obtenidos en el estudio de la estructura genética de CN96, que sugieren la existencia de una posible población de variedades españolas (CN96-Q4), que en la CN127 corresponderían a las poblaciones CN127-Q2 y CN127-Q7. Esta población Q7 podría constituir una población natural. Consiste en un grupo de variedades muy relacionadas entre sí genotípica y morfológicamente, varias de ellas provenientes del cruzamiento entre Ohanes y Ragol, que pudieron originarse a partir de una o varias orientales que podrían haber entrado en la Península Ibérica a través de Marruecos, dada la presencia de variedades marroquíes en esta población y la similitud entre Ragol y Ahmeur bou Ahmeur (existe de hecho una sinonimia de Ahmeur bou Ahmeur denominada Ragol). Otro dato que avala esta hipótesis es un escrito sobre Ohanes del vicecónsul francés en Almería de principios del siglo XX en el que dice: “No se conoce el origen de las cepas que produce la Almería; cultivada bajo la dominación musulmana al menos, los historiadores lo dicen, ¿se debe su existencia a la solicitud de los árabes que las habrían aportado del Norte de África, o se encontraba ya en la región cuando ellos se hicieron dueños?” [citado en Fernández Albéndiz (2002)].

Como puede observarse en la Figura 30 (pág. 170), los haplotipos mayoritarios están representados por las 8 poblaciones, lo que refleja la intensa mezcla existente en las variedades de uva de mesa, que no permite asignar estos haplotipos a una población u otra. Esto, por otra parte, vuelve a aportar una idea de la escasa diferenciación genética entre las poblaciones establecidas para esta colección.

5.2.5. Estudio de evolución molecular

Los genes implicados en variaciones fenotípicas evidentes, como son los caracteres que se pretenden estudiar en este trabajo, podrían perfectamente constituir dianas de selección artificial. Por ello, resulta de gran interés estudiar la historia evolutiva de los

genes *VvGAI1* y *VvPe1*, con el fin de desenmascarar posibles huellas de presión selectiva que apoyaran las posibles asociaciones existentes entre determinados polimorfismos y ciertos caracteres morfológicos de interés en la uva, probablemente seleccionados por el ser humano a lo largo de la historia de domesticación de la vid.

La domesticación suele estar ligada a una pérdida en diversidad, debido principalmente a dos procesos que se producen durante la misma: una selección direccional sobre los caracteres de interés y un cuello de botella genético resultante de la elección de determinados individuos empleados como progenitores comunes en mejora. En las variedades de uva de mesa, el proceso de mejora ha sido especialmente intenso durante los dos últimos siglos, aunque en vid en general el proceso de domesticación ocurrió hace unos 8.000 años. En maíz, de 30 genes candidatos para constituir dianas de selección, 9 mostraron selección durante el proceso inicial de domesticación, mientras 15 mostraron evidencia de una selección más reciente (Hufford *et al.* 2007). Para los genes aquí estudiados, dadas sus funciones, se esperaría a priori que el gen *VvGAI1* fuera objeto de selección durante la domesticación y que *VvPe1* hubiera estado sometido a selección más recientemente, durante el proceso de mejora de la uva de mesa.

Un método muy extendido para detectar procesos de selección consiste en testar la Teoría Neutral de Evolución Molecular. A pesar de que la vid cultivada no constituye poblaciones panmícticas y no cumple esta teoría al no cumplir con la asunción de cruzamiento al azar y tamaño de población constante a lo largo de las generaciones, testarla podría aportar resultados interesantes para comprender el comportamiento evolutivo de los genes estudiados. Para ello, se aplicaron los test de Tajima (1989) y de Fu y Li (1993) a la colección completa y a cada población independientemente. El principal problema de estos tests radica en que una desviación de la neutralidad puede ser provocada, además de por una selección positiva o equilibrada, por diversos factores como los cuellos de botella, la expansión o la subdivisión poblacional. En este trabajo concretamente, podría ser provocada por el efecto fundador detectado en el Grupo A de la CN127, así como por un muestreo inadecuado. Por ello, es importante tener cautela en la interpretación de los resultados.

Para el gen *VvGAI1*, los resultados del Test de Fu y Li indicaron que el Grupo A podría haber experimentado una selección equilibrada, puesto que se obtuvo un valor de $D^* = 1,5$ significativo. El hecho de que para D de Tajima no se obtuvieran valores significativos podría deberse a que este test tiene en cuenta la recombinación, mientras que el de Fu y

Li no. La existencia de selección exclusivamente en el Grupo A indicaría que, al contrario de lo esperado a priori, dicha selección habría sido reciente.

Sin embargo, resulta difícil saber si esta selección se ha efectuado sobre el gen *VvGAI1* o sobre todo el genoma, puesto que mediante el proceso de mejora genética se realiza una selección equilibrada al seleccionar diferentes clases de determinados caracteres, considerándose especialmente interesantes las clases extremas. Por otro lado, tras un cuello de botella reciente, se espera un mayor valor de D^* , por pérdida de los polimorfismos de baja frecuencia, por tanto, el posible efecto fundador descrito en el Grupo A podría ser el principal responsable del incremento de D^* en dicho grupo con respecto al B.

Por otro lado, en el grupo B, se detectó una $D^* = -2,1$ con una $p < 0,1$ en algunas regiones correspondientes a determinados SNPs (S_304, S_309, S_720 y S_1320), de los cuales, S_304 y S_1320 son no sinónimos, lo que podría indicar la existencia de una selección positiva en esta población sobre dichos sitios (Figura 33, pág. 175).

En el caso de *VvPef*, los resultados del test de Fu y Li apuntan a la posible existencia de una selección equilibrada, ya que para la secuencia completa se obtuvo una $D^* = 2,045$ significativa. Los resultados del test de Tajima sólo fueron significativos en regiones concretas del gen (Tabla 35, pág. 175).

En cuanto a los resultados obtenidos para las diferentes poblaciones de ambas colecciones, el reducido número de individuos en cada una de ellas hace difícil la obtención de resultados fiables. Sin embargo, hay que mencionar que para *VvPef* se obtuvieron valores de D^* en torno a 1,5 para las poblaciones CN96-Q2 ($p < 0,02$), CN96-Q3 ($0,1 > p > 0,05$) y CN96-Q6 ($p < 0,05$). Estos resultados apuntan a la existencia de selección equilibrada, especialmente sobre tres poblaciones en las que se pueden encontrar determinadas variedades antiguas que han sido empleadas recurrentemente como parentales para la producción de nuevas variedades de mesa, como son Muscat of Alexandria (CN96-Q2), Chasselas (CN96-Q3) o Dabouki (CN96-Q6). Por ello, es posible que la selección detectada fuera efectuada sobre todo el genoma de estas variedades y no sobre el gen *VvPef* concretamente, aunque quede reflejada en el mismo.

Para confirmar estos resultados sería necesario analizar variedades de vinificación y silvestres, puesto que en el caso del gen *VvGAI1* sería conveniente estudiar si existió selección durante la domesticación, que vendría marcada por diferencias entre las variedades silvestres y el resto de cultivares. En el caso de *VvPef*, si no se obtuviera evidencia de selección en las variedades de vinificación y silvestres, en las que la

importancia de la textura es menor, quizá podría confirmarse una selección reciente sobre este gen en variedades de mesa.

Los estudios realizados en maíz sobre su proceso de domesticación y la selección de determinados genes asociados con caracteres de interés son numerosos (Remington *et al.* 2001; Palaisa *et al.* 2003; Innan y Kim 2004; Palaisa *et al.* 2004; Hufford *et al.* 2007), pero un ejemplo obligatorio en este trabajo es el del gen *d8*, ortólogo de *VvGAI1*. Diversos trabajos han aportado evidencias de que existe selección sobre este gen, para el cual se obtuvo una *D* de Tajima de -1,82. Este valor es más bajo que el obtenido para *hm2* (*D* = -1,63), un gen implicado en la defensa de la planta y supuestamente sujeto a selección positiva (Tenaillon *et al.* 2004). Por otra parte, un polimorfismo en el promotor de *d8* se asocia con la época de floración, pudiendo haberle proporcionado ventajas adaptativas en poblaciones naturales (Thornsberry *et al.* 2001).

El desequilibrio de ligamiento (DL) también puede aportar información para la detección de la existencia de selección sobre un gen en una población, puesto que, en presencia de selección sobre un determinado locus las frecuencias de los loci neutros contiguos se verán afectadas en concordancia con las del locus seleccionado, incrementándose el DL. Sin embargo, como ocurre con el parámetro *D* de Tajima, tras un cuello de botella también se espera un incremento del DL, lo que puede enturbiar la resolución de las causas del mismo. Esto fue observado en maíz al detectar una mayor tasa de recombinación (inversamente proporcional al DL) en el antecesor del maíz que en el mismo maíz, confirmando que el DL incrementó tras el cuello de botella causado por el proceso de domesticación (Tenaillon *et al.* 2004).

Atendiendo al DL en el gen *VvGAI1*, r^2 decae por debajo de 0,2 en torno a 1000 pb, manteniéndose a lo largo de prácticamente toda la secuencia sin decaer por debajo de 0,1 (Figura 35, pág. 177). Es un decaimiento lento en comparación con los valores medios de 230 fragmentos génicos de vid, para los que decae en un rango de 100-200 pb (Lijavetzky *et al.* 2007). El DL de *VvPel* parece decaer más rápido que el de *VvGAI1*, decayendo r^2 por debajo de 0,2 en torno a 400 pb y manteniéndose en torno a 0,1 a lo largo de toda la secuencia analizada (Figura 37, pág. 181). Para el gen *VvmybA1*, responsable de color de la baya y, por tanto, probablemente objeto de una fuerte selección artificial, se observó un patrón muy similar, puesto que r^2 se mantenía entre 0,1 y 0,2 hasta las 700 pb aproximadamente, tras las que decaía por debajo de 0,05. En el gen *d8* de maíz, supuestamente sometido a una fuerte selección positiva como se ha comentado antes, el DL es algo más extenso, manteniéndose r^2 entre 0,2 y 0,4 casi hasta

las 1500 pb y no llegando a decaer por debajo de 0,1 en un rango de 2500 pb (Remington *et al.* 2001). Por ello, dada la extensión del DL en *VvGAI1* y *VvPeI*, no puede descartarse la posible existencia de selección sobre los mismos.

La tasa de recombinación es inversamente proporcional al DL, por lo que, mediante el método de Hudson y Kaplan (1985), trataron de detectarse el número mínimo de eventos de recombinación posibles en cada gen para contrastar los parámetros D' y r^2 . En el gen *VvGAI1*, se detectó un posible el evento de recombinación que, aunque en la colección completa supuestamente habría ocurrido entre los sitios S_369 y S_630, en la población Q3 podría haber ocurrido entre los sitios S_96 y S_912, mientras que en la población Q7 habría ocurrido entre S_369 y S_912. Ambas poblaciones presentan variedades antiguas, lo que apoyaría la presencia de recombinación en ellas. La existencia de un único evento de recombinación podría explicar en parte el mantenimiento del DL a lo largo de 1 Kb.

En *VvPeI*, sin embargo, se detectaron 6 posibles eventos de recombinación para la colección CN96 completa, dando lugar a un DL algo más bajo que en *VvGAI1*. La causa de que el DL se mantenga relativamente con una tasa de recombinación tan elevada, podría ser que únicamente en las poblaciones CN96-Q4 y CN96-Q6 existen cinco eventos de recombinación, coincidiendo con los grupos de variedades más antiguos, mientras en el resto de poblaciones el número de eventos es menor. La baja frecuencia de estos haplotipos antiguos entre los que podría haber ocurrido un mayor número de eventos de recombinación podría permitir la existencia de un DL alto, basado en el resto de haplotipos más recientes, representados por el resto de poblaciones, con dos o tres eventos de recombinación.

En resumen, aunque el DL es relativamente alto en comparación con otros genes de vid, resulta muy bajo en comparación con otras especies, como *Arabidopsis* (10 kb; Kim *et al.* 2007), soja (>50 Kb; Zhu *et al.* 2003) o patata (~70 kb; Simko *et al.* 2006). En todo caso, es lo suficientemente bajo como para aportar una buena resolución en el estudio de asociación.

5.2.6. Análisis de asociación

En un estudio de asociación es importante tener en cuenta la posible presencia de asociaciones espurias debidas a diversos factores, tales como una estructuración de la colección o las bajas frecuencias de los polimorfismos. Por otra parte, el desequilibrio de ligamiento puede dar lugar a asociaciones con polimorfismos que estén ligados al

verdadero polimorfismo implicado en el carácter. Para evitar en la medida de lo posible estos falsos positivos, se ha incluido en el modelo la estructura genética de las colecciones analizadas y se han llevado a cabo estudios de diversidad y desequilibrio de ligamiento en cada gen. Además, el estudio de las posibles variaciones aminoacídicas y conformacionales en la proteína ha sido un paso final determinante para la selección de algunas posibles verdaderas asociaciones.

El estudio de dos genes diferentes, ha permitido comparar los resultados y observar grandes diferencias que aportan cierta fiabilidad a los mismos. Para los dos genes se han encontrado numerosas asociaciones significativas, pero, en general, no se han considerado las que ocurrían con los datos de un solo año. En principio, se sometieron a análisis los datos de 2005 y 2006. A diferencia de los resultados obtenidos para *VvGAI1*, que mostraron algunas asociaciones de SNPs con el mismo carácter tomado en los diferentes años, en el caso de *VvPel*, los datos de 2005 no se asociaron con ningún SNP, aunque sí lo hicieron los de 2006. Por ello, se decidió incluir también los datos de 2004 y 2007 en los análisis, con el fin de comprobar si se habían asociado los datos de un solo año por azar o si podría deberse a las condiciones ambientales de los diferentes años.

En general, en este trabajo, los diferentes SNPs que se asocian con algún carácter significativamente explican porcentajes de varianza entre 3% y 17% (Tabla 36, pág. 185 y Tabla 40, pág. 192): Estos valores son bajos en comparación al QTL de apirenia SFW18a, que explica entre un 41% y un 62% de la varianza total, aunque similares al QTL SFW14, que explica entre un 8% y un 17% de la varianza total del carácter de apirenia (Cabezas *et al.* 2006). Sin embargo, en todas las asociaciones significativas se han obtenido porcentajes relativamente altos (16-39%) de varianza explicada por el modelo (Carácter = SNP + Estructura + error), indicando que la distribución de cada carácter podría también estar altamente relacionada con la estructura genética de la colección estudiada (o ser consecuencia del error).

De los resultados presentados en la Tabla 36 (pág. 185) y en la Tabla 40 (pág. 192), los más interesantes son que presentan una $p < 0,01$, los que explican un mayor porcentaje de varianza del carácter y los que producen cambios aminoacídicos, por lo que sólo éstos serán discutidos a continuación.

VvGAI1

Existen diversos estudios en plantas acerca de mutaciones detectadas en determinados genes de la familia GRAS, que son responsables de variaciones fenotípicas. Algunos casos drásticos, como el enanismo, generalmente se deben a mutaciones en el dominio regulador (DELLA) del gen, como ocurre por ejemplo en Pinot meunier, en la que se produce una sustitución, en la región I del motivo DELLA del gen *VvGAI1*, de la segunda leucina por una histidina (Boss y Thomas 2002). Algunos mutantes con polimorfismos en el dominio DELLA, como los de *Arabidopsis*, cebada y arroz (*rga-Δ17*, *sln-d* y *slr1*), sugieren que los motivos DELLA y VHYNP son esenciales en la degradación inducida por giberelinas de las proteínas DELLA, de manera que su truncamiento produce una ganancia de función (Dill *et al.* 2004).

En otros casos descritos, las mutaciones ocurren en determinados motivos conservados en el dominio funcional (GRAS). Aunque el dominio N-terminal DELLA es importante en la degradación de la proteína inducida por GA, el dominio C-terminal GRAS es esencial, además de en esta degradación, en la función represiva, por lo que mutaciones en este dominio también pueden provocar cambios fenotípicos drásticos (Dill *et al.* 2004).

Por ejemplo, mediante un estudio acerca del gen ortólogo de *VvGAI1* en *Brassica rapa* (*Brrga1-d*), se detectó que una mutación en un residuo conservado cerca del motivo VHVID era la responsable del mutante enano *dwf2* (Muangprom *et al.* 2005). La variación de isoleucina-440 a metionina-440 en *VvGAI1* detectada en este trabajo ocurre en una región conservada muy próxima al sitio de fosforilación de tirosina quinasa y entre los motivos LHR II y RVER (Figura 40, pág. 202). Por otro lado, este aminoácido está muy conservado en las proteínas GRAS, por lo que podría jugar un papel importante en el funcionamiento de la proteína.

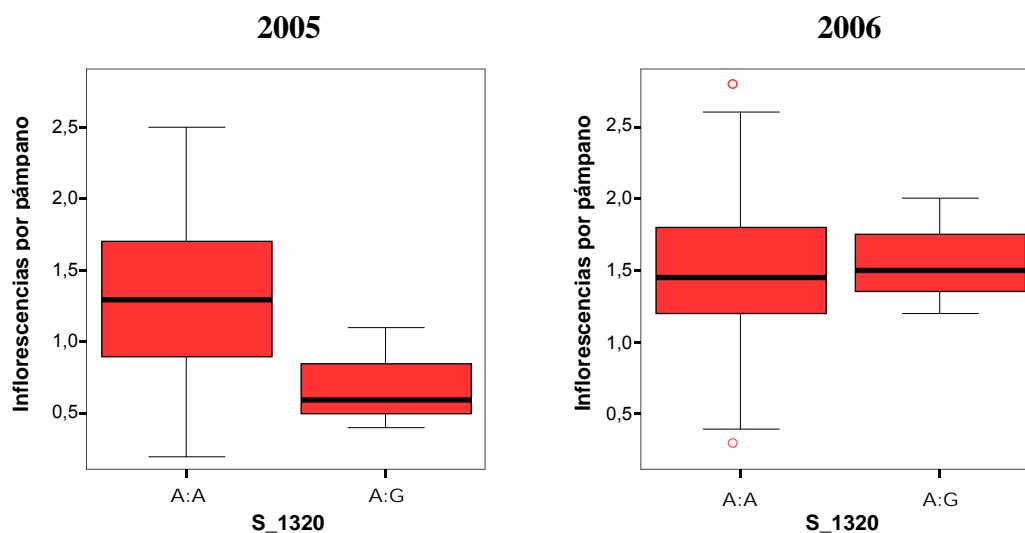
Aunque el reemplazamiento de un aminoácido en un sitio clave de la proteína puede desembocar en una anomalía en su funcionamiento, si éste se produce en un sitio que, a pesar de no ser decisivo para alguna función, provoca un cambio en la conformación estructural proteica, pueden producirse igualmente variaciones fenotípicas. Este es el caso del reemplazamiento recién mencionado de isoleucina-440 a metionina-440, que, aunque se encuentra en una región conservada, no está descrita como ninguna región funcional o reguladora concreta. Sin embargo, podría producir una variación en la estructura secundaria de lámina β a hélice α (Figura 42, pág. 205), lo que podría interferir en la interacción proteica con factores externos, ya que se encuentra próxima al sitio de

fosforilación de la tirosina quinasa y al motivo LHSL, supuestamente implicado en la interacción proteína-proteína (Silverstone *et al.* 1998). El SNP responsable de este reemplazamiento es el S_1320, sobre el que, mediante el test de Fu y Li, se detectó la posible existencia de selección positiva (Figura 33, pág. 175), apoyando su posible implicación en algún carácter de interés.

A pesar de ser este aminoácido un perfecto candidato para la asociación con alguna variación fenotípica, no se ha detectado asociación significativa con ningún carácter para los dos años descritos, apareciendo sólo una asociación a un nivel de significación de 0,05: con el número de inflorescencias por pámpano en 2005. La varianza del número de inflorescencias por pámpano explicada por el SNP S_1320 fue del 3% y la varianza explicada por el modelo fue del 25%.

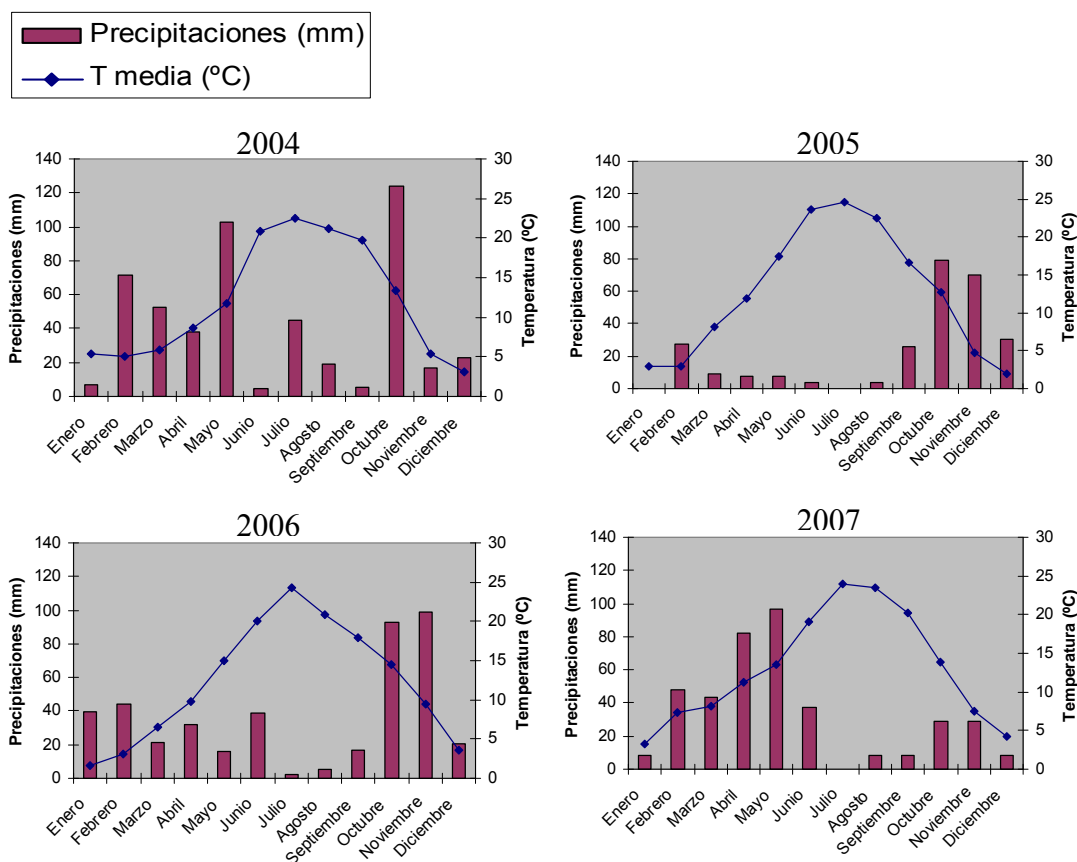
Dado que trabajos previos apuntan a una relación evidente entre este carácter y el gen *VvGAI1*, dicha asociación se ha estudiado a fondo. El trabajo de Boss y Thomas (2002) indica que el *VvGAI1* parece estar implicado en la fertilidad y el *d8* de maíz, según Thornsberry *et al.* (2001), está implicado en la época de floración, por lo que podría esperarse cierta asociación con este descriptor. Por otro lado, las giberelinas son necesarias para la iniciación del meristemo lateral (a partir del cual se desarrolla la inflorescencia), pero inhiben su desarrollo en inflorescencia, favoreciendo la formación de un zarcillo (Srinivasan y Mullins 1980). Por ello, una mutación en el gen *VvGAI1* podría provocar un incremento o descenso en el número de inflorescencias por pámpano, dependiendo de si existe pérdida o ganancia de función. En el mutante de Pinot meunier *Vvgai1*, debido a una ganancia de función, no se producen zarcillos, sólo inflorescencias. El número de inflorescencias por pámpano es uno de los caracteres que presenta menor correlación entre los años estudiados (2005 y 2006), presentando un coeficiente de correlación de Pearson de 0,397, lo que podría explicar una intensa influencia ambiental sobre el mismo. De hecho, la temperatura y la luz son factores condicionantes del número de inflorescencias por pámpano (Carmona *et al.* 2008). Por lo tanto, es un carácter para el que no debe descartarse una posible asociación con el gen *VvGAI1* condicionada por el efecto ambiental. En la Figura 44 puede observarse la diferencia entre los años 2005 y 2006 atendiendo a la distribución de los valores para el descriptor frente a cada genotipo para el SNP S_1320. Aunque la distribución de clases para el genotipo AA apenas difiere entre los dos años, para el genotipo AG pueden observarse unos valores mucho más bajos en 2005, mientras en 2006 el promedio del número de inflorescencias por pámpano para el genotipo AG es muy similar al del genotipo AA.

Figura 44. Diagramas de cajas y bigotes para el número de inflorescencias por pámpano frente al genotipo para el SNP S_1320. La caja engloba el 50% de los datos centrales (percentil 25 - percentil 75), la línea dentro de la caja representa la mediana y los bigotes engloban el resto de datos, con la excepción de los atípicos, representados por círculos.



Para entender la escasa correlación existente entre los datos de fertilidad tomados en las campañas de 2005 y 2006 es primordial la observación de los datos meteorológicos para ambos años. La principal diferencia observada consiste en las precipitaciones, que en 2005 fueron muy escasas en comparación al resto de años, especialmente durante primavera (Figura 45). Aunque en las temperaturas no existe tanta diferencia entre años como en las precipitaciones, las de 2005 fueron superiores a las de 2006, y existen evidencias de que temperaturas más bajas incrementan el tamaño de la inflorescencia y el número de flores (Petrie y Clingeleffer 2005), por lo que no debería descartarse una posible relación con el número de inflorescencias. Una hipótesis que podría explicar la asociación con los datos de 2005 sería una “activación” del efecto del polimorfismo exclusivamente en condiciones de estrés hídrico. De esta manera, una sequía extrema, acompañada de altas temperaturas, podría ser la responsable de una diferenciación clara de las variedades con un genotipo que da lugar a una fertilidad baja, mientras que la abundancia de agua equipararía la fertilidad de todas las variedades, sin permitir observarse el efecto del polimorfismo.

Figura 45. Gráficas de pluviometría y temperaturas para los años 2004, 2005, 2006 y 2007 (datos de la Estación Meteorológica de El Encín).



Recientemente, se ha sugerido que el gen *RGA* de *Arabidopsis* podría regular el desarrollo de las flores activando otros genes relacionados con el estrés (Hou 2008), lo cual sustentaría nuestra hipótesis. No obstante, sería necesario llevar a cabo experimentos en los que se sometiera a diferentes cultivos a distintos grados de estrés hídrico y de temperatura, pero dadas las características biológicas de la vid, esto es muy difícil de realizar. Por ello, sería interesante describir este carácter al menos otro año en cada condición (estrés / no estrés).

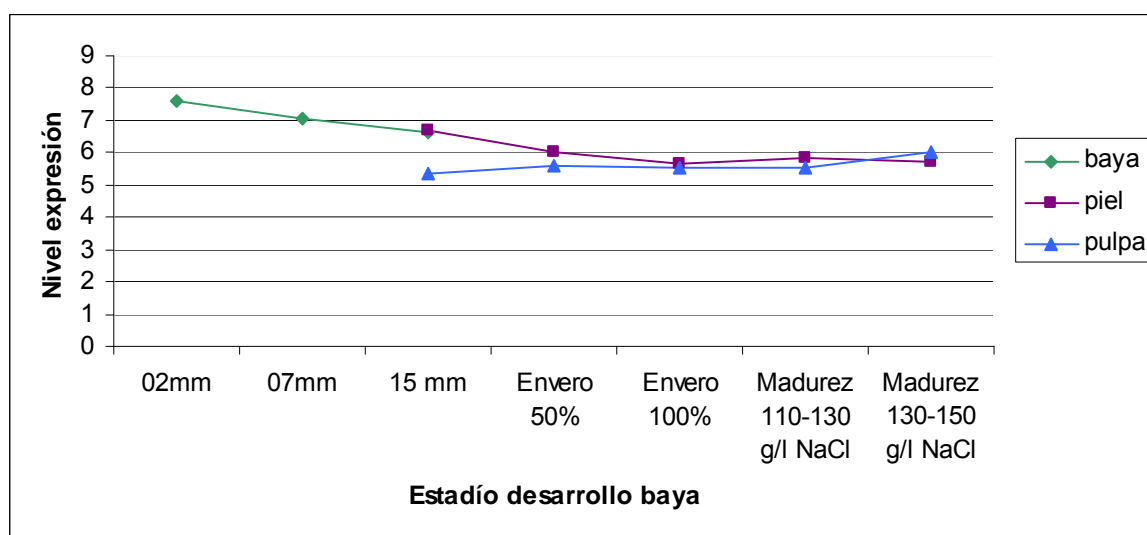
De cara a la mejora genética, conocer qué genotipos son los menos afectados por el ambiente, permitiría emplearlos en cruzamientos para obtener variedades con caracteres deseados y que en años con condiciones ambientales negativas no redujeran su productividad de forma notable, por lo que este polimorfismo podría ser de gran interés para mejorar la producción en vid.

Otras asociaciones detectadas apuntan a que el gen *VvGA11* podría estar implicado en el carácter fenológico de época de madurez fisiológica y en la textura de la baya (Tabla 36,

pág. 185), caracteres entre los que no existe una correlación significativa (Tabla 39, pág. 190).

VvGA1 se expresa a lo largo de todo el desarrollo de la baya (Lijavetzky *et al.* 2008, comunicación personal) (Figura 46), lo que podría apuntar a una función biológica importante del gen durante esta etapa. Este patrón de expresión es concordante con las asociaciones detectadas en este trabajo.

Figura 46. Perfil transcripcional de VvGA1 en la variedad Muscat Hamburg. Los estadios anteriores al pre-envero corresponden al tamaño de la baya y la maduración se cuantifica mediante flotación de la baya en diferentes concentraciones de NaCl.



En cuanto a su posible implicación en la época de madurez fisiológica, se obtuvieron asociaciones significativas para los datos de los años 2005 y 2006 con el polimorfismo S_1730, con una varianza explicada por el marcador del 7% para los datos de 2005 y del 5% para los de 2006. La época de envero también se asoció con dicho SNP, pero sólo para los datos de 2005. La correlación entre los datos de 2005 y 2006 para la época de envero es muy alta ($r = 0,7$). Sin embargo, la correlación entre la época de envero y la época de madurez, aunque fue similar en ambos años, resultó ligeramente inferior en 2006 (Tablas 38 y 39, pág. 189 y 190).

El polimorfismo S_1730 da lugar a un reemplazamiento en el aminoácido aa577 de una alanina por una valina, el cual a su vez podría provocar, en el haplotipo H7, la sustitución del enlace entre las cisteínas C104 y C473 por un enlace entre las cisteínas C104 y C495, ya que es el único cambio que presenta este haplotipo en la estructura primaria

con respecto al resto. Variaciones en la estructura terciaria de la proteína podrían desembocar en anomalías funcionales que dieran lugar a cambios fenotípicos.

La baja probabilidad de las uniones predichas por el software CYS_REC, no permiten alcanzar la conclusión de que realmente existan anomalías en la estructura terciaria, que podrían ser responsables de las asociaciones detectadas con determinados caracteres morfológicos y fenológicos. Sin embargo, a pesar de que no existieran esas diferencias en cuanto a las uniones entre cisteínas, los reemplazamientos que resultan implicados en asociaciones significativas, se encuentran localizados relativamente cerca de motivos muy conservados en las proteínas DELLA. El reemplazamiento de alanina por valina, producido por el polimorfismo S_1730, que se asocia principalmente con la época de maduración, está junto al motivo SAW, altamente conservado en la mayoría de las proteínas GRAS.

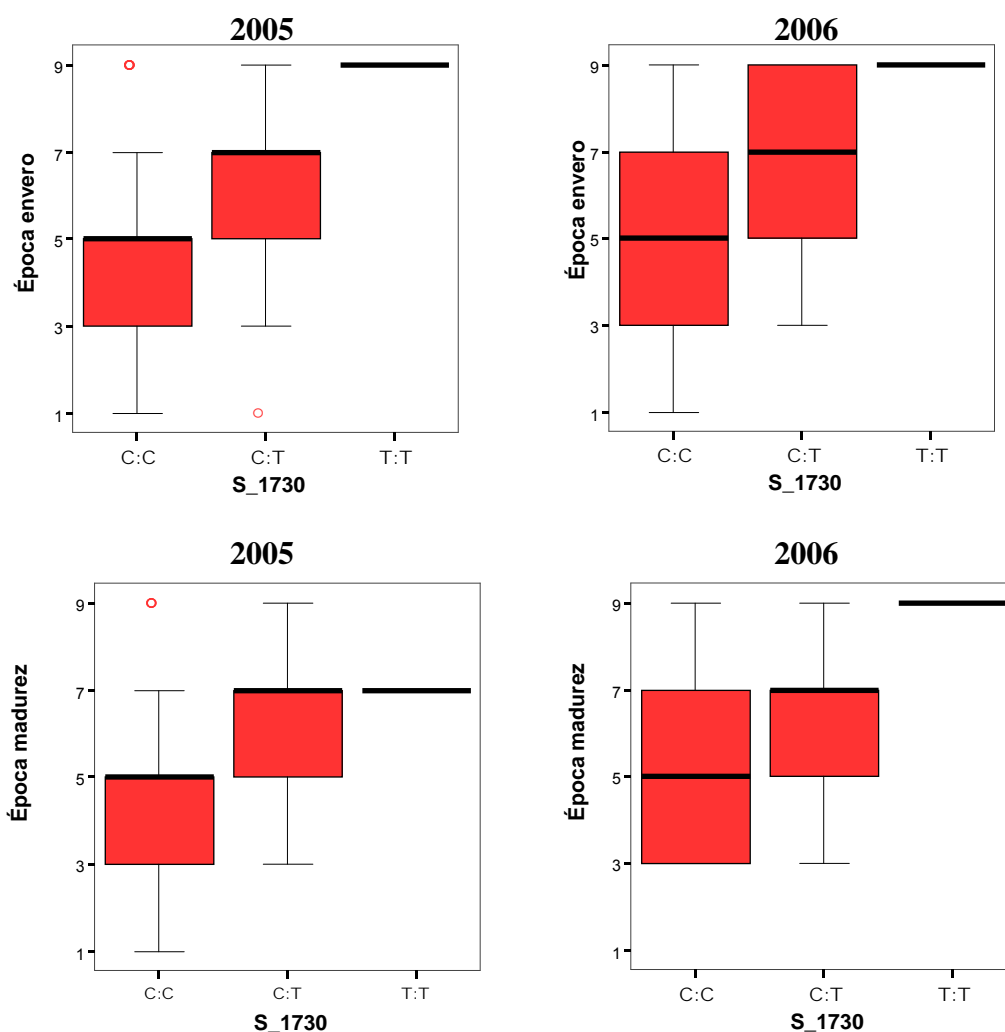
Aunque para la época de enero en 2006 no se obtuviera una asociación significativa ($p=0,07$), existe cierta correspondencia de la distribución de los datos tomados este año con los diferentes genotipos para el S_1730, como puede observarse en la Figura 47. No obstante, dicha correspondencia es mucho más clara para los datos de enero y madurez de 2005 que para los de 2006. De hecho, los valores de p son menores para la época de maduración en 2005, lo que apunta a que estos rasgos también están influenciados por los efectos ambientales.

Además, la escasez de precipitaciones observada en la primavera de 2005 debe condicionar la fenología (Figura 45), lo que es avalado por Letaief *et al.* (2008) en Italia (donde también hubo sequía en 2005), que observaron que las uvas en el momento de cosecha presentaron menor índice de madurez en 2005 que en 2004, con menor contenido en azúcar, mayor acidez y menor pH. La presencia de una valina en la proteína se asocia con una época de enero y maduración tardía. Discernir entre la influencia del polimorfismo en homocigosis o en heterocigosis es difícil debido a que solo aparece en homocigosis en una accesión, pero parece indicar que la presencia de T retrasa la época de madurez y TT produce un efecto de doble dosis.

Aunque la asociación sea positiva, hay algunas variedades tardías en la colección que no presentan el polimorfismo, lo que apunta a que, en caso de que el gen *VvGAI1* esté realmente implicado en este carácter, debe haber además otros genes implicados en estos rasgos fenológicos. Costantini *et al.* (2008) observaron que los caracteres fenológicos eran controlados mediante tres regiones cromosómicas principales, localizadas en los grupos de ligamiento 2, 6 y 16, aunque existían regiones con efectos pequeños en la época de floración en el cromosoma 1, aproximadamente a 13 y 30 cM

del gen *VvGAI1*. A dichas distancias, estas regiones probablemente no se encuentren ligadas al gen *VvGAI1*.

Figura 47. Diagramas de cajas y bigotes para los datos fenológicos frente a los genotipos del S_1730. La caja engloba el 50% de los datos centrales (percentil 25 - percentil 75), la línea dentro de la caja representa la mediana y los bigotes engloban el resto de datos, con la excepción de los atípicos, representados por círculos.



Resulta interesante mencionar que el hecho de que un polimorfismo en el promotor del gen ortólogo de *VvGAI1* en maíz (*d8*) se asocie con variaciones en la época de floración, podría sustentar la posible implicación de este gen en otros caracteres fenológicos como la época de enero o de madurez fisiológica.

El carácter de la época de madurez fisiológica es de gran importancia comercial en uva de mesa, aportando las variedades más tempranas y tardías mayores beneficios económicos para el productor. Por ello, sería especialmente interesante estudiar en profundidad la posible implicación de este polimorfismo en dicho carácter, ya que podría constituir un QTL valioso para futuros programas de mejora.

Los resultados aportados por el test de asociación también apuntan a una posible relación del gen con la textura de la baya, puesto que determinados parámetros obtenidos mediante el texturómetro se asociaron con diferentes polimorfismos (Tabla 36, pág. 185).

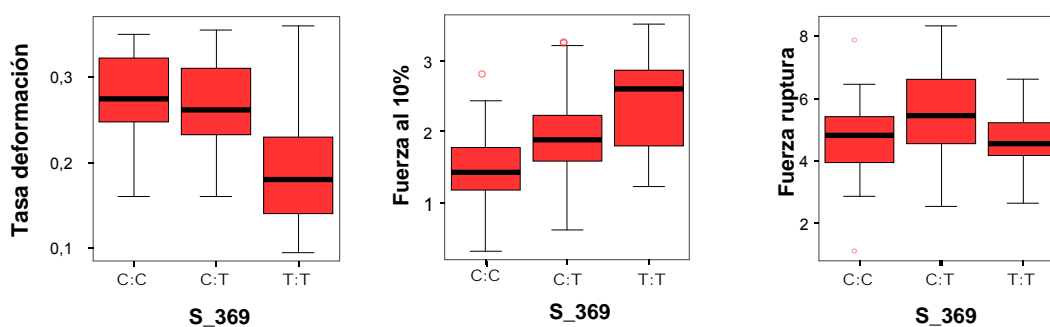
Algunos parámetros de textura de 2006 se asociaron también con el S_1730, aunque cabe destacar su asociación con la *pendiente de ruptura* por presentar una $p = 0,008$, para la que explicaba un 8% de la varianza.

A su vez, los parámetros de textura *fuerza al 10%* y *al 20%* y *fuerza de ruptura* se asociaron con el SNP S_359. Este polimorfismo da lugar a un reemplazamiento de treonina por asparagina en la posición aa120 de la proteína, que es exclusivo de los haplotipos H12 y H13, en los cuales podría producirse un cambio en la estructura terciaria provocada por una unión entre las cisteínas C104 y C122, dada la cercanía entre el aa120 y la cisteína C122. Por otra parte, el reemplazamiento de treonina por asparagina producido por el polimorfismo S_359, asociado principalmente con parámetros de textura, se localiza relativamente cerca del dominio DELLA. La *fuerza al 10%* se asoció también con el S_583, el cual explicaba un 6% de la varianza y produce un cambio aminoacídico de prolina a alanina en la posición aa195, relativamente cerca del motivo LHR I, implicado en procesos de dimerización. Precisamente, la prolina es un aminoácido con propiedades tanto hidrofóbicas como polares, mientras la alanina solo es hidrofóbica, perdiéndose en la sustitución la capacidad de interactuar con factores externos, que es en principio la función del motivo LHR I.

De entre los polimorfismos que se asociaron con parámetros de textura, hay que destacar dos, S_369 y S_630, dada la baja p obtenida, especialmente con la *tasa de deformación* ($p = 0,00004$ y $0,00005$, respectivamente), explicando un porcentaje considerable de su varianza (17%). También se obtuvieron asociaciones significativas al nivel de 0,01 de estos SNPs con la *fuerza al 10%* y la *pendiente de ruptura*. La distribución de la *tasa de deformación* frente a cada genotipo para el S_369 muestra un patrón en el que los individuos con el genotipo T:T presentarían una menor *tasa de deformación* de la baya en

el punto de ruptura que los de genotipo C:T y C:C (Figura 48). La correlación entre este parámetro y la *fuerza al 10%* fue negativa y relativamente alta ($r = -0,65$) y, de hecho, el genotipo T:T presenta los mayores valores de *fuerza al 10%*. Esto indica que las bayas de este genotipo presentan una resistencia inicial alta (*fuerza 10%*), pero la piel se rompe pronto, es decir la baya no se deforma mucho antes de romper. Estas dos características unidas parecen corresponderse con bayas crujientes, carácter de gran interés desde el punto de vista comercial. La correlación entre la *fuerza de ruptura* y los otros dos parámetros (*tasa de deformación* y *fuerza al 10%*) fue, sin embargo bastante baja ($r = 0,2$ y $0,4$, respectivamente), lo que apunta a que no se trate de una asociación espuria. Además, la distribución de los valores de este parámetro entre los diferentes genotipos muestra un patrón diferente a los otros dos, en el que el genotipo heterocigótico es el más alto, distinguiéndose de los homocigóticos.

Figura 48. Diagramas de cajas y bigotes para la *tasa de deformación*, la *fuerza al 10%* y la *fuerza de ruptura* frente a los genotipos del S_369. La caja engloba el 50% de los datos centrales (percentil 25 - percentil 75), la línea dentro de la caja representa la mediana y los bigotes engloban el resto de datos, con la excepción de los atípicos, representados por círculos.



Los SNPs S_369 y S_630 están ligados entre sí ($r^2 = 0,6$ y $D' = 1$, $p < 0,0001$) y no producen ninguna variación aminoacídica. El polimorfismo S_630 está también ligado en cierta medida con S_1730 ($D' = 0,7$, $p < 0,01$), aunque posiblemente no tanto como para que se reflejen las mismas asociaciones en ambos. Cabe la probabilidad de que estos SNPs estén ligados a algún polimorfismo no detectado en este análisis, posiblemente en la región promotora, que sea el verdadero responsable de todos estos caracteres relacionados con el ablandamiento de la baya. Podrían también estar ligados a un polimorfismo en otro gen cercano, pero el decaimiento del DL en torno a unos 1000 pb

indica que es improbable, puesto que, de los genes descritos hasta ahora en el genoma de vid, el gen más cercano a *VvGAI1* se encuentra a unas 7 Kb de acuerdo a la anotación de Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr>).

Dado el alto porcentaje de varianza explicada por estos SNPs para la *tasa de deformación*, sería interesante estudiar la región promotora del gen *VvGAI1*, para tratar de detectar el verdadero polimorfismo responsable de la variación fenotípica.

VvPel

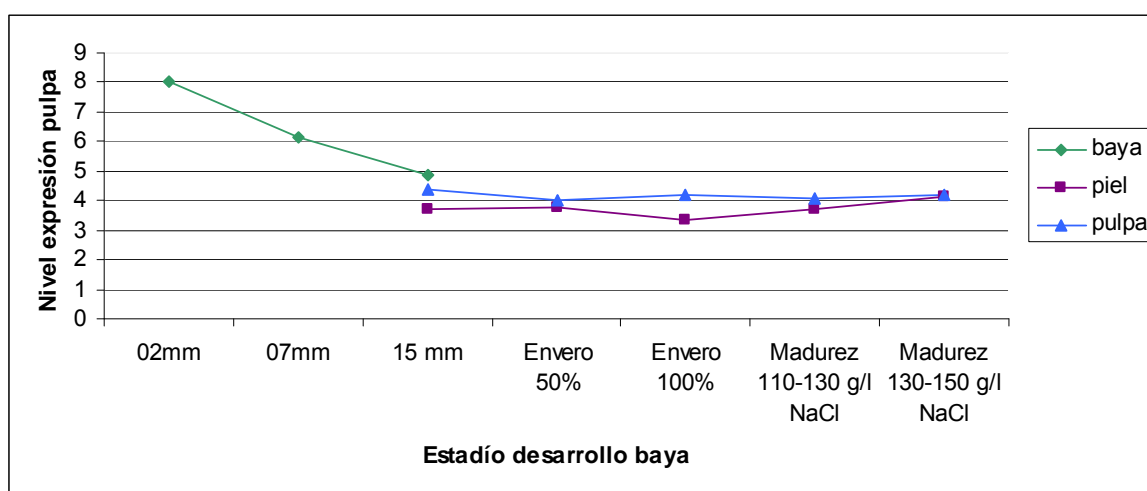
La pectato liasa (PL) es una proteína directamente implicada en procesos de maduración y ablandamiento del fruto. En los últimos años, se han publicado diversos estudios de expresión génica en diferentes especies vegetales que aportan información de gran interés para la comprensión de la función de esta enzima durante dichos procesos, desconocida y, en cierto modo, ignorada, anteriormente.

En el momento en el que se seleccionó este gen, apenas existían trabajos sobre él en vid, en los que se había descrito una sola PL, cuya expresión era bastante alta tras el envero, aunque también se observaba cierta expresión antes del envero, desde la floración hasta los 28 días después de la misma (Nunan *et al.* 2001; Ishimaru y Kobayashi 2002). Aunque la secuencia de esta pectato liasa no estaba completa, había otra secuenciada completamente (la estudiada en este trabajo), sobre la cual aún no se habían publicado estudios de expresión.

Más recientemente, Glissant (2008), reportó la existencia de tres isoformas de pectato liasa en vid. Mediante un escrutinio del patrón de expresión de 3.175 isogenes desde un estadio temprano del crecimiento de la baya (cuando ésta aún presenta tamaño de guisante) hasta la sobremaduración, observaron que dos de dichas isoformas se expresaban desde el envero hasta un estadio de maduración media, mientras la tercera se expresaba desde el primer estadio medido (tamaño de guisante) hasta el envero. La primera isoforma de Glissant *et al.* (2008), AY043234, corresponde a aquella descrita por Nunan *et al.* (2001) que se expresaba antes y después del envero. La segunda isoforma (RT033H11) corresponde a una también estudiada por Schlosser *et al.* (2008), que mostraba un incremento de la expresión durante el envero y la maduración. La tercera isoforma corresponde a aquella publicada en GenBank (AF243475) por Papadakis y Kanellis (2000), que ha sido la estudiada en esta tesis, y se expresa desde que la baya presenta un tamaño de guisante hasta el envero, siendo más intensa la expresión durante el envero y especialmente baja justo antes del mismo.

Otro estudio de expresión génica en vid que se está llevando a cabo actualmente (Lijavetzky *et al.* 2008, comunicación personal) revela un perfil de la *VvPcl* estudiada en este trabajo con una tendencia descendente durante el desarrollo de la baya (Figura 49), lo que no coincide exactamente con los resultados de Glissant *et al.* (2008), según los cuales la expresión era más intensa durante el envero que antes de éste.

Figura 49. Perfil transcripcional de *VvPcl* en la variedad Muscat Hamburg. Los estadios anteriores al pre-envero corresponden al tamaño de la baya y la maduración se cuantifica mediante flotación de la baya en diferentes concentraciones de NaCl.



En mango, sin embargo, se observó expresión de la enzima exclusivamente durante la maduración de fruto (Chourasia *et al.* 2006). En otros frutos, como el plátano, ya se confirmó hace tiempo la implicación de la pectato liasa en el ablandamiento del fruto durante la maduración (Domínguez-Puigjaner *et al.* 1997), observándose posteriormente, que en frutos climatéricos, el etileno podría estar implicado en la regulación de la expresión de ésta (Pua *et al.* 2001).

Por ello, hay que destacar los diversos estudios llevados a cabo con fresa, por estar centrados concretamente en esta proteína, y por tratarse de un fruto no climatérico, al igual que la uva. Estos trabajos corroboran dicha función de la pectato liasa mediante análisis de expresión en diferentes ambientes (enriquecido en CO₂ y con aplicación exógena de auxinas), análisis de inmunolocalización con anticuerpos (Benítez-Burraco *et al.* 2003), obtención de líneas transgénicas con expresión reducida de la proteína (Jiménez-Bermúdez *et al.* 2002), análisis secuencial de extractos de pared celular de

dichas líneas (Santiago-Domenech *et al.* 2008) y estudios de textura en mermeladas obtenidas a partir de esos transgénicos (Sesmero *et al.* 2007). Bajo una reducción de la expresión de pectato liasa, se observa un incremento en la firmeza del fruto. (Chourasia *et al.* 2006) también observaron correlación entre un incremento de la solubilización de pectinas y un incremento en la actividad de la pectato liasa, sugiriendo un papel principal de la enzima en el ablandamiento del fruto.

En este trabajo se trató, mediante un estudio de asociación, de obtener información acerca de la función de la pectato liasa en vid, dada su posible implicación en el ablandamiento de la baya.

A diferencia de los resultados obtenidos para *VvGAI1*, que mostraron algunas asociaciones de SNPs con el mismo carácter tomado en diferentes años, en el caso de *VvPeI*, ningún SNP se asoció con los datos de 2005 y 2006, aunque sí se obtuvieron asociaciones sólo con los de 2006. Por ello, se decidió incluir también los datos de 2004 y 2007 en los análisis, con el fin de comprobar si se habían asociado los datos de un solo año por azar o si podría deberse a las condiciones ambientales de los diferentes años, ya que 2005 fue un año especialmente seco (Figura 45, pág. 270). Determinadas asociaciones detectadas para datos del año 2006 fueron corroboradas por los datos de 2004 y 2007. La escasez de agua es un factor determinante en la textura de la baya, aportándole principalmente turgor. En consecuencia, se consideraron los datos organolépticos de 2004 y 2006. Los datos de textura de 2007 no resultaban fiables debido a la presencia de oidio en la mayoría de las variedades, aunque sí fueron considerados los descriptores que en principio no parecían verse afectados por el hongo. La mayoría de los caracteres implicados en las asociaciones obtenidas podrían clasificarse en dos grupos diferentes, uno conformado por diferentes descriptores y parámetros relacionados con la textura de la baya y otro en el que se incluye exclusivamente la longitud del racimo.

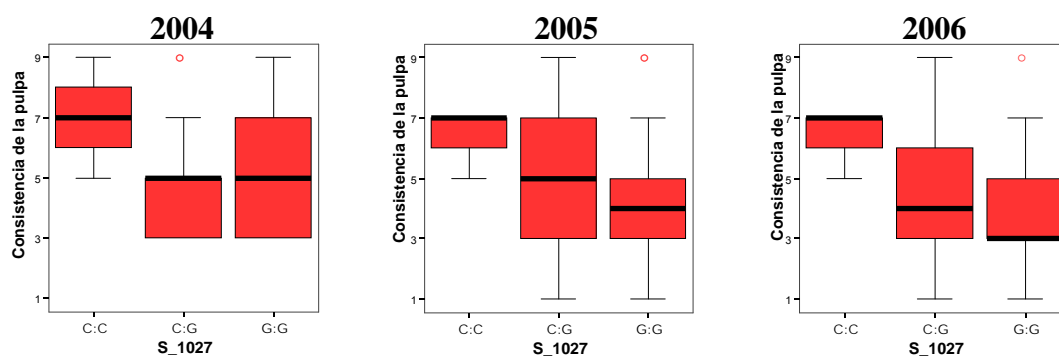
En cuanto a la textura, la *consistencia de la pulpa* de 2004 y 2006 se asoció con los polimorfismos S_48 y S_1027 (Tabla 40, pág. 192). El SNP S_48 es un polimorfismo de reemplazamiento y explicaba en torno a un 5% de la varianza del carácter para los dos años, sin embargo, presenta una frecuencia muy baja (0,047 para el nucleótido minoritario) (Tabla 31, pág. 168), por lo que no se puede descartar que se trate de una asociación espuria.

El S_1027, también de reemplazamiento, explicaba en torno al 7% de la varianza de los datos de ambos años de *consistencia de la pulpa*. Además, se asoció con los parámetros

de textura de *pendiente de ruptura* y *pendiente al 10%*, explicando el 8% y el 7% de la varianza de cada parámetro, respectivamente. Este polimorfismo presenta una frecuencia considerablemente alta (0,2 para el nucleótido minoritario), que aporta una mayor fiabilidad a los resultados de asociación.

El hecho de que no se obtuvieran asociaciones significativas entre el SNP S_1027 y los datos de *consistencia de la pulpa* de 2005 ($p = 0,053$) podría deberse a las condiciones meteorológicas de dicho año (Figura 45, pág. 270). A pesar de ello, las mayores correlaciones para casi todos los descriptores se encontraron entre los datos de 2005 y 2006, obteniéndose un coeficiente de correlación de Pearson entre la *consistencia de la pulpa* tomada en ambos años de $r = 0,39$ (Tabla 41, pág. 194). De hecho, la distribución de los datos para cada genotipo del SNP S_1027 es similar en dichos años, como puede observarse en la Figura 50. El hecho de obtener asociación significativa para los datos de 2004 y no para los de 2005 podría deberse a un solapamiento de los valores de consistencia de la pulpa para los genotipos C:C y C:G en 2005, mostrando el genotipo C:C valores más altos que C:G en 2004 y 2006.

Figura 50. Diagramas de cajas y bigotes para los datos de consistencia de pulpa tomados en los diferentes años frente a los genotipos del S_1027. La caja engloba el 50% de los datos centrales (percentil 25 - percentil 75), la línea dentro de la caja representa la mediana y los bigotes engloban el resto de datos, con la excepción de los atípicos, representados por círculos.



Schlosser *et al.* (2008) observaron, al final del envero y al principio de la maduración, un decrecimiento de la expresión de otra isoforma de pectato liasa en el exocarpo y un incremento en el mesocarpo, manteniéndose una expresión bastante más elevada en el mesocarpo que en el exocarpo durante la maduración. De hecho, el S_1027, que

constituye el mejor candidato para provocar variaciones fenotípicas, se asoció con la *pendiente de ruptura* y la *pendiente al 10%*, que son parámetros que pueden ser considerados como índices de la consistencia de la pulpa (Vargas *et al.* 2001), dependiendo por tanto de la consistencia del mesocarpo en mayor medida que el resto de parámetros.

Estos dos SNPs, S_48 y S_1027, podrían ser responsables de cambios conformacionales en la proteína que podrían haber provocado variaciones fenotípicas. Mediante los software SSPFinder y CYS-REC se predijo la posible presencia de dos estructuras secundarias y tres estructuras terciarias diferentes para la *VvPel* entre el total de accesiones estudiadas. El responsable de la estructura secundaria detectada para el haplotipo H6, diferente a la predicha para el resto de haplotipos, sería el SNP S_1027, que provoca un reemplazamiento en la posición aa359 de la proteína de glicina a alanina. La glicina es un aminoácido polar y la alanina hidrofóbico, y de hecho, el haplotipo H6, que contiene la alanina, daría lugar a una proteína con una estructura en hélice α desde aminoácido aa348 hasta el aa359, mientras el resto de haplotipos, que continenen una glicina en esa posición, darían lugar a una estructura con fragmentos en lámina β en esa región (Figura 43, pág. 206). Esta región coincide con una región altamente conservada entre diferentes especies (desde el aa337 hasta el aa355) (Anexo 5, pág. 325), que podría estar implicada en alguna función importante de la pectato liasa, viéndose considerablemente afectada por un cambio conformacional de la proteína. Por otro lado, esta variación en la conformación de la estructura secundaria también provocaría un cambio en la estructura terciaria dando lugar a un enlace entre las cisteínas C58 y C213.

Los haplotipos restantes darían lugar a dos posibles estructuras terciarias diferentes, una en la que el puente disulfuro ocurriría entre las cisteínas C55 y C58, y otra con el enlace entre C55 y C213, pudiendo ser provocada esta última por el reemplazamiento en la posición aa63 de ácido aspártico por ácido glutámico, provocado por el polimorfismo S_48. El aa63 está relativamente próximo al posible sitio de glicosilación (asparagina-40), cuya función podría verse afectada por un cambio en el puente disulfuro formado por la cisteína C55. Por otro lado, en una pectato liasa de *Xanthomonas campestris*, una mutación localizada cerca de esta posición produjo una pérdida de función (Xiao *et al.* 2008), avalando que variaciones en esta región podrían producir cambios fenotípicos.

También se detectó asociación entre los parámetros de textura y otros SNPs sinónimos, ligados entre sí en su mayoría, entre los que cabe destacar el S_279 por presentar la p más baja en sus asociaciones con la *energía de ruptura* y la *distancia de ruptura* ($p =$

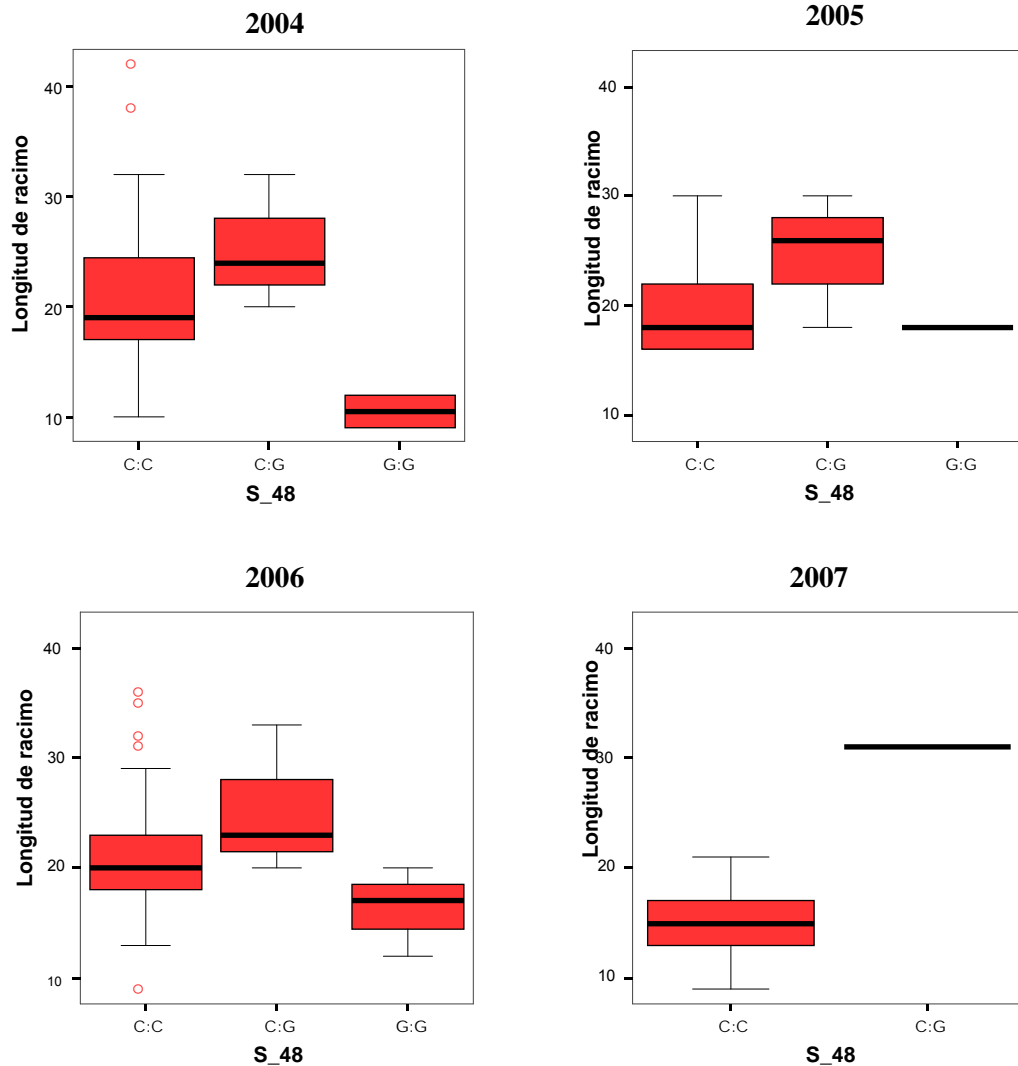
0,0006 y 0,0013, respectivamente). La varianza de estos parámetros explicada por dicho SNP representa un 12% y un 14%, respectivamente. Por otro lado, presenta una frecuencia relativamente alta (0,3 para el alelo minoritario) (Tabla 31, pág. 168), apoyando los resultados de asociación. Esto podría estar apuntando hacia la existencia de otro SNP en el gen, posiblemente ligado a este polimorfismo, y directamente relacionado con la textura de la baya. Dado que no se ha analizado el gen completo ni el promotor y teniendo en cuenta la reducida extensión del DL en la secuencia analizada, es muy posible que se encuentre en estas regiones, por lo que sería interesante analizarlas en futuros estudios.

La *longitud del racimo* de 2004, 2006 y 2007 se asoció con el polimorfismo S_48 ($p < 0,01$), explicando en torno a un 17% de la varianza de los datos de 2004 y en torno a un 10% de la varianza de los datos de 2006 y 2007. Este es un porcentaje alto en comparación a la varianza de otros caracteres explicada por otros SNPs detectados en este trabajo.

Aunque para los datos de 2005 no se obtuviera una asociación significativa con el S_48 ($p = 0,5$), como se ha observado en casos similares y anteriormente discutidos, mediante la representación de diagramas de cajas y bigotes (Figura 51) puede apreciarse que el patrón de la distribución de los datos correspondientes a cada genotipo del polimorfismo S_48 es relativamente similar en los cuatro años (aunque en 2007 sólo existen datos para dos genotipos, debido a una mayor frecuencia de datos perdidos). Atendiendo a los datos de 2004 y 2006, el genotipo G:G parece corresponderse con los valores menores de longitud de racimo, el genotipo C:C representa valores intermedios, y los individuos heterocigóticos (C:G) presentan los valores mayores. No obstante, el genotipo C:C presenta en los dos años valores atípicos superiores a los del genotipo C:G, que podrían ser consecuencia del efecto de otros factores genéticos.

Resulta curioso que, aunque las dimensiones de la baya no aparecen entre los resultados significativos, sí existe asociación con la longitud del racimo. Esto podría deberse a la implicación de la pectato liasa en un estadio temprano del crecimiento del racimo, afectando también al raquis y no solo al fruto, como se ha observado en la mayoría de trabajos de expresión génica, lo cual es posible considerando que Nunan *et al.* (2001) detectaron cierta expresión de *VvPeI* durante la floración, prolongándose hasta 28 días tras ésta y desapareciendo previamente al envero.

Figura 51. Diagramas de cajas y bigotes para los datos de longitud de racimo tomados en los diferentes años frente a los genotipos del S_48. La caja engloba el 50% de los datos centrales (percentil 25 - percentil 75), la línea dentro de la caja representa la mediana y los bigotes engloban el resto de datos, con la excepción de los atípicos, representados por círculos.



Existen dos mecanismos responsables del crecimiento de la inflorescencia y de los cuales depende la arquitectura del racimo: la división celular y el alargamiento celular. Shavrukov *et al.* (2004) observaron que la expansión celular es en vid el principal factor implicado en la longitud del internodo, y por tanto, del racimo. Ésta ocurre antes de la anthesis (desde el inicio del crecimiento del primordio), por lo que, aunque Nunan *et al.* (2001) observaron expresión de *VvPel* durante la floración, es posible que se produzca expresión antes de ésta. La pectato liasa está implicada en el crecimiento celular

mediante la degradación de la pared celular, por lo que, dada su asociación con la longitud del racimo, es muy posible que esté estrechamente relacionada con este estadio del desarrollo.

Por otro lado, *VvPel* se agrupa con la pectato liasa de *Zinnia elegans* (familia *Asteráceae*), la cual muestra una expresión relacionada con la diferenciación vascular en floema y xilema y con células que constituyen productos recientes de divisiones meristemáticas (Domingo *et al.* 1998), apoyando también su posible implicación en el crecimiento del racimo mediante la división celular.

El interés de los resultados obtenidos para el gen *VvPel* radica, no sólo en su posible implicación en la textura de la baya, que era esperable al observar su función en otras plantas, sino en su posible relación con la longitud del racimo, carácter para el que aún no existen QTLs y cuya regulación es desconocida. Este carácter es de gran interés, no sólo comercial, sino también agronómico, ya que de él depende en parte la compacidad del racimo, condicionando la mayor o menor tendencia de la planta a adquirir enfermedades fúngicas (en racimos muy compactos el hongo prolifera con mayor facilidad).

Para poder confirmar los resultados obtenidos en este trabajo, aparte del estudio de los promotores de los dos genes estudiados, así como de la región inicial de la proteína *VvPel*, no analizada aquí, sería necesario llevar a cabo estudios de expresión, tanto en diferentes etapas del desarrollo de la baya como en diferentes condiciones ambientales. Otras opciones serían realizar otro estudio de asociación con un mayor número de individuos estudiados fenotípicamente en un número mayor de años, o diseñarse experimentos caso-control centrándose en determinadas accesiones con fenotipos extremos o de interés, con lo que se reducirían costes.

6. CONCLUSIONES

1. El estudio de 352 accesiones de variedades de uva de mesa con 20 microsatélites nucleares ha permitido establecer 263 genotipos únicos. Entre los 89 genotipos redundantes, se han identificado 12 posibles sinonimias y 6 posibles sports o mutaciones que no habían sido previamente descritos. Además, se ha detectado un 6,8% de posibles errores en la colección.
2. Los microsatélites más útiles para la caracterización molecular de variedades de uva de mesa son los loci VVIP31 y VMC4F3-1, seguidos de VVMD28 y VVIV37, debido a su elevada heterocigosidad y polimorfismo observados para las muestras analizadas. Con estos cuatro microsatélites pueden discriminarse todas las variedades de uva de mesa no redundantes de la Colección de Vid de El Encín.
3. Se ha confirmado el pedigrí de 54 variedades de uva de mesa; se han detectado 20 pedigrís descritos en la literatura probablemente erróneos, proponiéndose para 15 de esas progenies sus progenitores probables; y se han descrito 24 posibles pedigrís nuevos o cuya descripción está incompleta en la bibliografía.
4. Las dos colecciones nucleares generadas presentan una estructura genética muy similar, que podría representar una estructuración general en la uva de mesa. Se pueden diferenciar varios grupos muy claros: un grupo de variedades orientales, otro de variedades descendientes de cultivares con sabor moscatel, otro de variedades apirenas o descendientes de Sultanina y un grupo de variedades antiguas españolas estrechamente relacionadas con las orientales.
5. El gen *VvGAI1* se encuentra altamente conservado en la colección estudiada, frente al *VvPeI* que presenta una elevada tasa de mutación. La diversidad haplotípica, sin embargo, es similar en los dos genes.
6. El diagrama de conexiones en red de los haplotipos inferidos para el gen *VvGAI1* apunta a un posible origen oriental de todos los haplotipos, apoyando la hipótesis

- de que las variedades de uva de mesa tienen su origen y su principal punto de diversificación en Oriente.
7. El DL detectado en ambos genes fue bajo, lo que permitió obtener una buena resolución en los estudios de asociación realizados.
 8. Se ha detectado asociación entre el carácter fenológico época de madurez fisiológica y un polimorfismo de reemplazamiento en el gen *VvGAI1* (S_1730), explicando un promedio para dos años del 6% de la varianza total del carácter.
 9. El gen *VvGAI1* podría estar también relacionado con la textura de la baya, para la que se han detectado asociaciones fuertemente significativas con dos SNPs sinónimos (S_369 y S_630), que explican un 17% de la varianza de la tasa de deformación de la baya en el punto de ruptura. Dado el rápido decaimiento del DL en el gen, estos SNPs podrían estar ligados a algún otro polimorfismo directamente responsable del carácter.
 10. El gen *VvPef* podría estar relacionado con la consistencia de la pulpa. El SNP S_1027, que podría provocar una variación en la estructura secundaria y terciaria de la proteína, se ha asociado con el descriptor organoléptico de consistencia de la pulpa y con ciertos parámetros de textura tomados con el texturómetro, explicando en torno a un 7% de su varianza. Además, se han observado asociaciones fuertemente significativas entre SNPs sinónimos (S_279 y S_438) y otros parámetros de textura, explicando entre un 9 y 14% de su varianza total, lo que podría indicar que exista otro polimorfismo ligado a éstos en la región no secuenciada del gen, responsable de las variaciones fenotípicas.
 11. El gen *VvPef* también podría estar implicado en la longitud del racimo, carácter con el que se asoció el polimorfismo S_48, explicando hasta un 17% de la varianza total del descriptor.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Adam-Blondon, A.-F., F. Lahogue-Esnault, A. Bouquet, J.M. Boursiquot y P. This (2001). Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivars. *Vitis* 40(3): 147-155.
- Akkak, A., P. Boccacci y R. Botta (2007). 'Cardinal' grape parentage: a case of a breeding mistake. *Genome* 50(3): 325-328.
- Alonso, F., J. Cuevas, J.J. Hueso, B. Marzo, J.J. Pérez y A. Sánchez (2006). *La uva de Almería. Dos siglos de cultivo e historia de la variedad Ohanes*. CajaMar, Almería.
- Alleweldt, G. y J.V. Possingham (1988). Progress in grapevine breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 75: 669-673.
- Amalraj, V.A., R. Balakrishnan, A.W. Jebadhas y N. Balasundaram (2006). Constituting a core collection of *Saccharum spontaneum* L. and comparison of three stratified random sampling procedures. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(8): 1563-1572.
- Aradhya, M.K., G.S. Dangl, B.H. Prins, J.M. Boursiquot, M.A. Walker, C.P. Meredith y C.J. Simon (2003). Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genetical Research* 81(3): 179-192.
- Arroyo-García, R., F. Lefort, M.T. de Andrés, J. Ibáñez, J. Borrego, N. Jouve, F. Cabello y J.M. Martínez-Zapater (2002). Chloroplast microsatellite polymorphisms in *Vitis* species. *Genome* 45(6): 1142-1149.
- Arroyo-García, R., L. Ruiz-García, L. Bolling, R. Ocete, M.A. López, *et al.* (2006). Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology* 15(12): 3707-3714.
- Barnaud, A., T. Lacombe y A. Doligez (2006). Linkage disequilibrium in cultivated grapevine, *Vitis vinifera* L. *Theoretical and Applied Genetics* 112(4): 708-716.
- Bataillon, T.M., J.L. David y D.J. Schoen (1996). Neutral genetic markers and conservation genetics: Simulated germplasm collections. *Genetics* 144(1): 409-417.
- Benítez-Burraco, A., R. Blanco-Portales, J. Redondo-Nevado, M.L. Bellido, E. Moyano, J.L. Caballero y J. Muñoz-Blanco (2003). Cloning and characterization of two ripening-related strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Chandler) pectate lyase genes. *Journal of Experimental Botany* 54(383): 633-645.
- Bernstein, Z. y I. Lustig (1981). A new method of firmness measurement of grape berries and other juicy fruits. *Vitis* 20(1): 15-21.

- Bertsch, C., F. Kieffer, P. Maillot, S. Farine, G. Butterlin, D. Merdinoglu y B. Walter (2005). Genetic chimerism of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay 96 is maintained through organogenesis but not somatic embryogenesis. *BMC Plant Biology* 5(20).
- Bishopp, A., A.P. Mahonen y Y. Helariutta (2006). Signs of change: hormone receptors that regulate plant development. *Development* 133(10): 1857-1869.
- Boccacci, P., D.T. Marinoni, G. Gambino, R. Botta y A. Schneider (2005). Genetic characterization of endangered grape cultivars of Reggio Emilia province. *American Journal of Enology and Viticulture* 56(4): 411-416.
- Borrego, J., M.T. de Andrés, J.L. Gómez y J. Ibáñez (2002). Genetic study of Malvasia and Torrontes groups through molecular markers. *American Journal of Enology and Viticulture* 53(2): 125-130.
- Borrego, J., J.F. Gallego, L. Serrano, J.L. Gómez y I. Martínez (1990). *Descripciones ampelográficas nacionales*. Comunidad de Madrid, Madrid.
- Boss, P.K. y M.R. Thomas (2002). Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation. *Nature* 416(6883): 847-850.
- Bourquin, J.C., A. Sonko, L. Otten y B. Walter (1993). Restriction fragment length polymorphism and molecular taxonomy in *Vitis vinifera* L. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 431-438.
- Bowers, J.E., J.M. Boursiquot, P. This, K. Chu, H. Johansson y C.P. Meredith (1999a). Historical genetics: the parentage of Chardonnay, Gamay, and other wine grapes of northeastern France. *Science* 285: 1562-1565.
- Bowers, J.E., G.S. Dangl y C.P. Meredith (1999b). Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(3): 243-246.
- Bowers, J.E., G.S. Dangl, R. Vignani y C.P. Meredith (1996). Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39: 628-633.
- Bowers, J.E. y C.P. Meredith (1997). The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* 16(1): 84-87.
- Bradbury, P.J., Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss y E.S. Buckler (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23: 2633-2635.
- Branas, J. y P. Truel (1965). *Variétés de raisins de table. Nomenclature, description, sélection, amélioration*. Le Progrès Agricole et Viticole, Montpellier.
- Brookes, A.J. (1999). The essence of SNPs. *Gene* 234(2): 177-186.

- Brookfield, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5: 453-455.
- Brown, A.H.D. (1989). Core collections - a practical approach to genetic-resources management. *Genome* 31(2): 818-824.
- Brummell, D.A. y M.H. Harpster (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47(1-2): 311-340.
- Cabezas, J.A., M.T. Cervera, L. Ruiz-García, J. Carreno y J.M. Martínez-Zapater (2006). A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome* 49(12): 1572-1585.
- Carmona, M.J., J. Chieb, J.M. Martínez-Zapater y M.R. Thomas (2008). A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* 59(10): 2579-2596.
- Carreño, J., A. Martínez-Cutillas, L. Almela y J.A. Fernández-López (1995). Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. *Food Research International* 28(4): 373-377.
- Carreño, J., A. Martínez-Cutillas, E. García, M. Ortiz, M.F. Pinilla y M.G. García (1997). Cultivo de embriones de vid (*Vitis vinifera* L.) para la obtención de nuevas variedades de uva de mesa sin semillas. *Viticultura/enología Profesional* 52(Octubre/Diciembre): 37-45.
- Cervera, M.T., J.A. Cabezas, C. Gómez y J.M. Martínez Zapater (2001). Análisis de la variabilidad intravarietal de la vid mediante el empleo de marcadores de alta eficacia. *ACE: Revista de Enología* 14.
- Chávez, J. y J.M. Ortiz (2000). Ampelometría. *Varietades de la vid en la Comunidad de Madrid*. Comunidad de Madrid. Consejería de Medio Ambiente. Dirección General de Educación y Promoción Ambiental.
- Clark, A.G. (1990). Inference of haplotypes from pcr-amplified samples of diploid populations. *Molecular Biology and Evolution* 7(2): 111-122.
- Costantini, L., J. Battilana, F. Lamaj, G. Fanizza y M.S. Grando (2008). Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): From Quantitative Trait Loci to underlying genes. *BMC Plant Biology* 8(38).
- Costantini, L., M.S. Grando, S. Feingold, S. Ulanovsky, N. Mejia, *et al.* (2007). Generation of a common set of mapping markers to assist table grape breeding. *American Journal of Enology and Viticulture* 58(1): 102-111.

- Costantini, L., A. Monaco, J.F. Vouillamoz, M. Forlani y M.S. Grando (2005). Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44(1): 25-34.
- Crespan, M. (2004). Evidence on the evolution of polymorphism of microsatellite markers in varieties of *Vitis vinifera* L. *Theoretical and Applied Genetics* 108(2): 231-237.
- Crespan, M., R. Botta y N. Milani (1999). Molecular characterization of twenty seeded and seedless table grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 38(3): 87-92.
- Cheng, H., L.J. Qin, S.C. Lee, X.D. Fu, D.E. Richards, D.N. Cao, D. Luo, N.P. Harberd y J.R. Peng (2004). Gibberellin regulates *Arabidopsis* floral development via suppression of DELLA protein function. *Development* 131(5): 1055-1064.
- Ching, A., K.S. Caldwell, M. Jung, M. Dolan, O.S. Smith, S. Tingey, M. Morgante y A.J. Rafalski (2002). SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *Bmc Genetics* 3 (19).
- Chourasia, A., V.A. Sane y P. Nath (2006). Differential expression of pectate lyase during ethylene-induced postharvest softening of mango (*Mangifera indica* var. Dashehari). *Physiologia Plantarum* 128(3): 546-555.
- Chung, S.M. y J.E. Staub (2003). The development and evaluation of consensus chloroplast primer pairs that possess highly variable sequence regions in a diverse array of plant taxa. *Theoretical and Applied Genetics* 107(4): 757-767.
- Churchill, G.A. y R.W. Doerge (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138(3): 963-971.
- De Andrés, M.T., J.A. Cabezas, M.T. Cervera, J. Borrego, J.M. Martínez-Zapater and N. Jouve (2007). Molecular characterization of grapevine rootstocks maintained in germplasm collections. *American Journal of Enology and Viticulture* 58(1): 75-86.
- Deka, R., L. Jin, M.D. Shriver, L.M. Yu, S. Decroo, J. Hundrieser, C.H. Bunker, R.E. Ferrel y R. Chakraborty (1995). Population genetics of dinucleotide (dC-dA)_n . (dG-dT)_n polymorphisms in world populations. *American Journal of Human Genetics* 56: 461-474.
- Dennis, C. y C. SurrIDGE (2000). *A. thaliana* genome. *Nature* 408(6814): 791-791.
- Dettweiler, E., A. Jung, E. Zyprian y R. Töpfer (2000). Grapevine cultivar Müller-Thurgau and its true to type descent. *Vitis* 39: 63-66.
- Di Vecchi, M., R. Bandinelli, M. Boselli, P. This, J.M. Boursiquot, V. Laucou, T. Lacombe y D. Varès (2007). Genetic structuring and parentage analysis for evolutionary studies in grapevine: Kin group and origin of the cultivar Sangiovese revealed. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 132(4): 514-524.

- Dill, A., S.G. Thomas, J.H. Hu, C.M. Steber y T.P. Sun (2004). The *Arabidopsis* F-box protein SLEEPY1 targets gibberellin signaling repressors for gibberellin-induced degradation. *Plant Cell* 16(6): 1392-1405.
- Doco, T., P. Williams, M. Pauly, M.A. O'Neill y P. Pellerin (2003). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part II. Structural characterization of the xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 53(3): 253-261.
- Doebley, J.F., B.S. Gaut y B.D. Smith (2006). The molecular genetics of crop domestication. *Cell* 127(7): 1309-1321.
- Doligez, A., A. Bouquet, Y. Danglot, F. Lahogue, S. Riaz, C.P. Meredith, K.J. Edwards y P. This (2002). Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theoretical and Applied Genetics* 105(5): 780-795.
- Domingo, C., K. Roberts, N.J. Stacey, I. Connerton, F. Ruiz-Teran y M.C. McCann (1998). A pectate lyase from *Zinnia elegans* is auxin inducible. *Plant Journal* 13(1): 17-28.
- Domínguez-Puigjaner, E., I. Llop, M. Vendrell y S. Prat (1997). A cDNA clone highly expressed in ripe banana fruit shows homology to pectate lyases. *Plant Physiology* 114(3): 1071-1076.
- Einset, J. y C. Pratt (1954). "Giant" sports of grapes. *American Society for Horticultural Science* 63: 251-256.
- Escribano, P., M.A. Viruel y J.I. Hormaza (2008). Comparison of different methods to construct a core germplasm collection in woody perennial species with simple sequence repeats markers. A case study in cherimoya (*Annona cherimola*, *Annonaceae*), an underutilised subtropical fruit tree species. *Annals of Applied Biology*.
- Evanno, G., S. Regnaut y J. Goudet (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14(8): 2611-2620.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Excoffier, L. y M. Slatkin (1995). Maximum-likelihood-estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Molecular Biology and Evolution* 12(5): 921-927.

- Falush, D., M. Stephens y J.K. Pritchard (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164(4): 1567-1587.
- Fatahi, R., A. Ebadi, N. Bassil, S.A. Mehlenbacher y Z. Zamani (2003). Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42(4): 185-192.
- Felsenstein, J. (1993). PHYLIP (phylogeny inference package). Department of Genome Sciences and Department of Biology. University of Washington, Seattle.
- Fernández Albéndiz, M.C. (2002). Almería: uva de mesa, cultivo y comercio. Informe del viceconsul francés. En *Farua* 4-5: 273-293.
- Franco, J., J. Crossa, S. Taba y H. Shands (2005). A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Science* 45(3): 1035-1044.
- Franco, J., J. Crossa, M.L. Warburton y S. Taba (2006). Sampling strategies for conserving maize diversity when forming core subsets using genetic markers. *Crop Science* 46(2): 854-864.
- Frankel, O.H. (1984). Genetic perspectives of germplasm conservation. Genetic manipulation: impact on man and society. Cambridge, Cambridge University Press: 161-170.
- Franks, T.R., R. Botta, M.R. Thomas y J. Franks (2002). Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 104(2-3): 192-199.
- Frisse, L.M., A. Bartoszewicz, J.D. Wall, R.R. Hudson y A. Di Rienzo (2001). Sequence variation and linkage disequilibrium in the human genome. *American Journal of Human Genetics* 69(4): 418-418.
- Fu, Y.X. y W.H. Li (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 133(3): 693-709.
- Fusari, C.M., V.V. Lia, H.E. Hopp, R.A. Heinz y N.B. Paniago (2008). Identification of Single Nucleotide Polymorphisms and analysis of Linkage Disequilibrium in sunflower elite inbred lines using the candidate gene approach. *BMC Plant Biology* 8(7).
- Galet, P. (1956-1964). *Cépages et Vignobles de France*. Le Paysan du Midi, Montpellier.
- Galet, P. (2000). *Dictionnaire Encyclopédique des Cépages*. Hachette, Paris.
- García-Beneytez, E., M.V. Moreno-Arribas, J. Borrego, M.C. Polo y J. Ibáñez (2002). Application of a DNA analysis method for the cultivar identification of grape musts and experimental and commercial wines of *Vitis vinifera* L. using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6090-6096.

- García de Luján, A., B. Puertas and M. Lara (1990). *Variedades de vid en Andalucía*. Dirección General de investigación y Extensión Agrarias. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, Sevilla.
- García de Luján, A. y M. Lara (1998). *Variedades de uva de mesa en Andalucía*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, Sevilla.
- Goff, S.A., D. Ricke, T.H. Lan, G. Presting, R.L. Wang, *et al.* (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp *japonica*). *Science* 296(5565): 92-100.
- González-Martínez, S.C., N.C. Wheeler, E. Ersoz, C.D. Nelson y D.B. Neale (2007). Association genetics in *Pinus taeda* L. I. Wood property traits. *Genetics* 175(1): 399-409.
- Gouesnard, B., T.M. Bataillon, G. Decoux, C. Rozale, D.J. Schoen y J.L. David (2001). MSTRAT: An algorithm for building germ plasm core collections by maximizing allelic or phenotypic richness. *The Journal of Heredity* 92(1): 93-94.
- Grando, M.S. y C. Frisinghelli (1998). Biodiversity of the ancient Trentino grapevine germplasm. Symposium on Plant Biotechnology as a Tool for the Exploitation of Mountain Lands. Scannerini, S., A. Baker, B.V. Charlwood *et al.*: 143-148.
- Grassi, F., F. De Mattia, G. Zecca, F. Sala y M. Labra (2008). Historical isolation and Quaternary range expansion of divergent lineages in wild grapevine. *Biological Journal of the Linnean Society* 95(3): 611-619.
- Grassi, F., M. Labra, S. Imazio, R.O. Rubio, O. Failla, A. Scienza y F. Sala (2006). Phylogeographical structure and conservation genetics of wild grapevine. *Conservation Genetics* 7(6): 837-845.
- Grassi, F., M. Labra, S. Imazio, A. Spada, S. Sgorbati, A. Scienza y F. Sala (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 107(7): 1315-1320.
- Guo, S. y E. Thompson (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Hagenblad, J., C.L. Tang, J. Molitor, J. Werner, K. Zhao, H.G. Zheng, P. Marjoram, D. Weigel y M. Nordborg (2004). Haplotype structure and phenotypic associations in the chromosomal regions surrounding two *Arabidopsis thaliana* flowering time loci. *Genetics* 168(3): 1627-1638.
- Halasz, G., A. Veres, P. Kozma, E. Kiss, A. Balogh, Z. Galli, A. Szoke, S. Hoffmann y L. Heszky (2005). Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis* 44(4): 173-180.

- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
- Hao, C.Y., X.Y. Zhang, L.F. Wang, Y.S. Dong, X.W. Shang y J.Z. Jia (2006). Genetic diversity and core collection evaluations in common wheat germplasm from the Northwestern Spring Wheat Region in China. *Molecular Breeding* 17: 69-77.
- Harding, R.M., A.J. Boyce, J.B. Clegg (1992). The evolution of tandemly repetitive DNA: recombination rules. *Genetics* 132: 847-859.
- Hidalgo, L. (1999). *Tratado de Viticultura General*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Hocquigny, S., F. Pelsy, V. Dumas, S. Kindt, M.C. Heloir y D. Merdinoglu (2004). Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome* 47(3): 579-589.
- Holliday, R. y G.W. Grigg (1993). DNA methylation and mutation. *Mutation Research* 285(1): 61-67.
- Hou, X.L., W.W. Hu, L.S. Shen, L.Y.C. Lee, Z. Tao, J.H. Han y H. Yu (2008). Global identification of DELLA target genes during *Arabidopsis* flower development. *Plant Physiology* 147(3): 1126-1142.
- Hudson, R.R. (1987). Estimating the recombination parameter of a finite population-model without selection. *Genetical Research* 50(3): 245-250.
- Hudson, R.R. y N.L. Kaplan (1985). Statistical properties of the number of recombination events in the history of a sample of DNA-sequences. *Genetics* 111(1): 147-164.
- Hudson, R.R., M. Kreitman y M. Aguadé (1987). A test of neutral molecular evolution based on nucleotide data. *Genetics* 116: 153-159.
- Hufford, K.M., P. Canaran, D.H. Ware, M.D. McMullen y B.S. Gaut (2007). Patterns of selection and tissue-specific expression among maize domestication and crop improvement loci. *Plant Physiology* 144(3): 1642-1653.
- Hussain, A. y J.R. Peng (2003). DELLA proteins and GA signalling in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Growth Regulation* 22(2): 134-140.
- Hvarleva, T., K. Rusanov, F. Lefort, I. Tsvetkov, A. Atanassov y I. Atanassov (2004). Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis. *Vitis* 43(1): 27-34.
- Ibáñez, J. (1998). Los microsatélites en la identificación del material vegetal. Identificación molecular de Germoplasma de vid. Ortiz, J.M. Fundación Premio Arce, Madrid. IMIA: 113-127.

- Ibáñez, J. (2000). Estudio genético de variedades de uva de mesa sin semillas (*Vitis vinifera* L.) mediante marcadores moleculares y su aplicación a la protección legal. Departamento de Genética, Madrid. Universidad Complutense: 310.
- Ibáñez, J., M.T. de Andrés y J. Borrego (2000). Allelic variation observed at one microsatellite locus between the two synonym grape cultivars Black Currant and Mavri Corinthiaki. *Vitis* 39(4): 173-174.
- Ibáñez, J., M.T. de Andrés, M.C. Fajardo, M.P. Fernández, E. García-Abad, *et al.* (2006a). "Sinonimias y homonimias de las variedades de la D.O. Vinos de Madrid. (I) Variedades Tintas". XXVII Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros. Badajoz. Págs. 111-121.
- Ibáñez, J., M.T. de Andrés, M.C. Fajardo, M.P. Fernández, E. García-Abad, *et al.* (2006b). "Sinonimias y homonimias de las variedades de la D.O. Vinos de Madrid. (II) Variedades Blancas". XXVII Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros. Badajoz. Págs. 123-135.
- Ibáñez, J., M.T. de Andrés, A. Molino y J. Borrego (2003). Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *American Journal of Enology and Viticulture* 54(1): 22-30.
- Ibáñez, J. y F.A.v. Eeuwijk (2003). Microsatellite profiles as a basis for Intellectual Property protection in grape. *Acta Horticulturae*. Botos, E.P., E. Hajdu y É. Borbás. Leiden (The Netherlands), ISHS. 603: 41-47.
- Ibáñez, J., A. Vargas, M. Palancar, J. Borrego y M.T. de Andrés (2006c). A genetic study on table grape varieties through microsatellite analysis. 9th International Conference on Grape Genetics and Breeding, Udine.
- Ibáñez, J., A. Vargas, M. Palancar, J. Borrego y M.T. de Andrés (2009). Genetic relationships between table grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture* 60(1): 35-42.
- Ikeda, A., M. Ueguchi-Tanaka, Y. Sonoda, H. Kitano, M. Koshioka, Y. Futsuhara, M. Matsuoka y J. Yamaguchi (2001). Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the SLR1 gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D8*. *Plant Cell* 13(5): 999-1010.
- Imazio, S., M. Labra, F. Grassi, A. Scienza y O. Failla (2005). Chloroplast microsatellites to investigate the origin of grapevine. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(5): 1003-1011.

- Innan, H. y Y. Kim (2004). Pattern of polymorphism after strong artificial selection in a domestication event. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(29): 10667-10672.
- IPGRI, UPOV y OIV (1997). *Descriptores para la vid (Vitis spp.)*. Unión Internacional para la protección de las obtenciones vegetales. Oficina Internacional de la viña y el vino, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Ginebra (Suiza), París (Francia), Roma (Italia).
- Ishimaru, M. y S. Kobayashi (2002). Expression of a xyloglucan endo-transglycosylase gene is closely related to grape berry softening. *Plant Science* 162(4): 621-628.
- Itoh, H., M. Ueguchi-Tanaka, Y. Sato, M. Ashikari y M. Matsuoka (2002). The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei. *Plant Cell* 14(1): 57-70.
- Jaillon, O., J.M. Aury, B. Noel, A. Policriti, C. Clepet, *et al.* (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449(7161): 463-468.
- Jannoo, N., L. Grivet, A. Dookun, A. D'Hont y J.C. Glaszmann (1999). Linkage disequilibrium among modern sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 99(6): 1053-1060.
- Jansen, R.K., C. Kaittanis, C. Saski, S.B. Lee, J. Tomkins, A.J. Alverson y H. Daniell (2006). Phylogenetic analyses of *Vitis* (*Vitaceae*) based on complete chloroplast genome sequences: effects of taxon sampling and phylogenetic methods on resolving relationships among rosids. *Bmc Evolutionary Biology* 6:32.
- Jiménez-Bermúdez, S., J. Redondo-Nevado, J. Muñoz-Blanco, J.L. Caballero, J.M. López-Aranda, V. Valpuesta, F. Pliego-Alfaro, M.A. Quesada y J.A. Mercado (2002). Manipulation of strawberry fruit softening by antisense expression of a pectate lyase gene. *Plant Physiology* 128(2): 751-759.
- Jiménez-Cantizano, A., A.M. Vargas, M.T. de Andrés, A. García de Luján, J.M. Martínez-Zapater y J. Ibáñez (2008). Colecciones nucleares anidadas de las variedades de uva de mesa existentes en España. IV Congreso de mejora genética de plantas. Córdoba.
- Keen, N.T. y S. Tamaki (1986). Structure of 2 pectate lyase genes from *Erwinia chrysanthemi* ec16 and their high-level expression in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 168(2): 595-606.

- Kim, S., V. Plagnol, T.T. Hu, C. Toomajian, R.M. Clark, S. Ossowski, J.R. Ecker, D. Weigel y M. Nordborg (2007). Recombination and linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics* 39(9): 1151-1155.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at molecular level. *Nature* 217(5129): 624-626.
- Kimura, M. (1983). *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- Kimura, M. y J.F. Crow (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
- Kraakman, A.T.W., R.E. Niks, P. Van den Berg, P. Stam y F.A. Van Eeuwijk (2004). Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics* 168(1): 435-446.
- Kreitman, M. (2000). Methods to detect selection in populations with applications to the human. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 1: 539-559.
- Kulikauskas, R. y S. McCormick (1997). Identification of the tobacco and *Arabidopsis* homologues of the pollen-expressed LAT59 gene of tomato. *Plant Molecular Biology* 34(5): 809-814.
- Kumar, S., C. Echt, P.L. Wilcox y T.E. Richardson (2004). Testing for linkage disequilibrium in the New Zealand radiata pine breeding population. *Theoretical and Applied Genetics* 108(2): 292-298.
- Lander, E.S. y N.J. Schork (1994). Genetic dissection of complex traits. *Science* 265(5181): 2037-2048.
- Le Cunff, L., A. Fournier-Level, V. Laucou, S. Vezzuli, T. Lacombe, A. Adam-Blondon, J.M. Boursiquot y P. This (2008). Construction of nested genetic core collections to optimize the exploitation of natural diversity in *Vitis vinifera* L. subsp *sativa*. *BMC Plant Biology* 8(31).
- Lefort, F. y K.A. Roubelakis-Angelakis (2001). Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling. *American Journal of Enology and Viticulture* 52(2): 101-108.
- Letaief, H., L. Rolle y V. Gerbi (2008). Mechanical behavior of winegrapes under compression tests. *American Journal of Enology and Viticulture* 59(3): 323-329.
- Levinson, G. y G.A. Gutman (1987). Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution* 4: 203-221.
- Lewontin, R.C. (1964). Interaction of selection + linkage .i. General considerations - heterotic models. *Genetics* 49(1): 49-67.

- Lijavetzky, D., J.A. Cabezas, A. Ibáñez, V. Rodríguez y J.M. Martínez-Zapater (2007). High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *Bmc Genomics* 8 (424).
- Lijavetzky, D., L. Ruiz-García, J.A. Cabezas, M.T. De Andrés, G. Bravo, *et al.* (2006). Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Molecular Genetics and Genomics* 276(5): 427-435.
- Lodhi, M.A., M.J. Daly, G.N. Ye, N.F. Weeden y B.I. Reisch (1995). A molecular marker based linkage map of *Vitis*. *Genome* 38: 786-794.
- Lodhi, M.A. y B.I. Reisch (1995). Nuclear content of *Vitis* species, cultivars and other genera of the *Vitaceae*. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 11-16.
- Long, A.D. y C.H. Langley (1999). The power of association studies to detect the contribution of candidate genetic loci to variation in complex traits. *Genome Research* 9(8): 720-731.
- Lopes, M.S., K.M. Sefc, E. Eiras Dias, H. Steinkellner, M. Laimer da Câmara Machado y A.d. Câmara Machado (1999). The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 733-739.
- Maletic, E., K.M. Sefc, H. Steinkellner, J.K. Kontic y I. Pejic (1999). Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. *Vitis* 38: 79-83.
- Marín-Rodríguez, M.C., J. Orchard y G.B. Seymour (2002). Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. *Journal of Experimental Botany* 53(377): 2115-2119.
- Martín, J.P., J. Borrego, F. Cabello y J.M. Ortiz (2003). Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome* 46: 10-18.
- Martínez, L.E., P.F. Cavagnaro, R.W. Masuelli y M. Zuniga (2006). SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties. *Plant Science* 170(6): 1036-1044.
- McDonald, J.H. y M. Kreitman (1991). Adaptive protein evolution at the ADH locus in *Drosophila*. *Nature* 351(6328): 652-654.
- McKhann, H.I., C. Camilleri, A. Bérard, T.M. Bataillon, J.L. David, *et al.* (2004). Nested core collections maximizing genetic diversity in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 38: 193-202.

- Medina-Escobar, N., J. Cárdenas, E. Moyano, J.L. Caballero y J. Muñoz-Blanco (1997). Cloning, molecular characterization and expression pattern of a strawberry ripening-specific cDNA with sequence homology to pectate lyase from higher plants. *Plant Molecular Biology* 34(6): 867-877.
- Merdinoglu, D., G. Butterlin, L. Bevilacqua, V. Chiquet, A.F. Adam-Blondon y S. Decroocq (2005). Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Molecular Breeding* 15(4): 349-366.
- Meredith, C.P., J.E. Bowers, S. Riaz, V. Handley, E. Bandman y G.S. Dangl (1999). The identity and parentage of the variety known in California as Petite Sirah. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(3): 236-242.
- Meredith, C.P., G.S. Dangl y J.E. Bowers (1996). Clarifying the identity of some California winegrapes by DNA profiling. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 49: 65-68.
- Minch, E., A. Ruiz-Linares, D. Goldstein, M. Feldman y L.L. Cavalli-Sforza (1997). Microsat: A computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J.P. Furet y F. Grosclaude (1997). Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics* 28(5): 338-345.
- Moncada, X., F. Pelsy, D. Merdinoglu y P. Hinrichsen (2006). Genetic diversity and geographical dispersal in grapevine clones revealed by microsatellite markers. *Genome* 49(11): 1459-1472.
- Muangprom, A., S.G. Thomas, T.P. Sun y T.C. Osborn (2005). A novel dwarfing mutation in a green revolution gene from *Brassica rapa*. *Plant Physiology* 137(3): 931-938.
- Mullins, M.G., A. Bouquet y L.E. Williams (1992). *Biology of grapevine*, Cambridge, UK.
- Negrul, A.M. (1938). Evolution of cultivated forms of grapes. *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences De L Urss* 18: 585-588.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science of USA* 70: 3321-3323.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei, M. (2005). Selectionism and neutralism in molecular evolution. *Molecular Biology and Evolution* 22(12): 2318-2342.
- Niu, T.H., Z.H.S. Qin, X.P. Xu y J.S. Liu (2002). Bayesian haplotype inference for multiple linked single-nucleotide polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 70(1): 157-169.

- Nordborg, M., J.O. Borevitz, J. Bergelson, C.C. Berry, J. Chory, *et al.* (2002). The extent of linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics* 30(2): 190-193.
- Nunan, K.J., C. Davies, S.P. Robinson y G.B. Fincher (2001). Expression patterns of cell wall-modifying enzymes during grape berry development. *Planta* 214(2): 257-264.
- Olsen, K.M., S.S. Halldorsdottir, J.R. Stinchcombe, C. Weinig, J. Schmitt y M.D. Purugganan (2004). Linkage disequilibrium mapping of *Arabidopsis* CRY2 flowering time alleles. *Genetics* 167(3): 1361-1369.
- Olszewski, N., T.P. Sun y F. Gubler (2002). Gibberellin signaling: Biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14: S61-S80.
- Ortiz, J.M., Ed. (1998). Identificación molecular de Germoplasma de vid. Jornadas de Agronomía. Fundación Premio Arce. IMIA, Madrid.
- Osterberg, M.K., O. Shavorskaya, M. Lascoux y U. Lagercrantz (2002). Naturally occurring indel variation in the *Brassica nigra* COL1 gene is associated with variation in flowering time. *Genetics* 161(1): 299-306.
- Paetkau, D., W. Calvert, I. Stirling y C. Strobeck (1995). Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4: 347-354.
- Page, R.D.M. (1996). TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12(4): 357-358.
- Palaisa, K., M. Morgante, S. Tingey y A. Rafalski (2004). Long-range patterns of diversity and linkage disequilibrium surrounding the maize Y1 gene are indicative of an asymmetric selective sweep. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(26): 9885-9890.
- Palaisa, K.A., M. Morgante, M. Williams y A. Rafalski (2003). Contrasting effects of selection on sequence diversity and linkage disequilibrium at two phytoene synthase loci. *Plant Cell* 15(8): 1795-1806.
- Park, S.J. (2001). Microsatellite Toolkit for Excel. Smurfit Institute of Genetics. Trinity College, Dublin.
- Peng, J.R., P. Carol, D.E. Richards, K.E. King, R.J. Cowling, G.P. Murphy y N.P. Harberd (1997). The *Arabidopsis* GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes & Development* 11(23): 3194-3205.
- Petrie, P.R. y P.R. Clingeleffer (2005). Effects of temperature and light (before and after budburst) on inflorescence morphology and flower number of Chardonnay grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11(1): 59-65.

- Pilatzke-Wunderlich, I. y C.L. Nessler (2001). Expression and activity of cell-wall-degrading enzymes in the latex of opium poppy, *Papaver somniferum* L. *Plant Molecular Biology* 45(5): 567-576.
- Piljac, J., E. Maletic, J.K. Kontic, G.S. Dangl, I. Pejic, N. Mirosevic y C.P. Meredith (2002). The parentage of Posip bijeli, a major white wine cultivar of Croatia. *Vitis* 41(2): 83-87.
- Pindo, M., S. Vezzulli, G. Coppola, D.A. Cartwright, A. Zharkikh, R. Velasco y M. Troglio (2008). SNP high-throughput screening in grapevine using the SNPlex (TM) genotyping system. *BMC Plant Biology* 8(12).
- Poole, R.W. (1974). *An Introduction to Quantitative Ecology*. McGraw Hill, Tokyo.
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donnelly (2000a). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Pritchard, J.K., M. Stephens, N.A. Rosenberg y P. Donnelly (2000b). Association mapping in structured populations. *American Journal of Human Genetics* 67(1): 170-181.
- Pua, E.C., C.K. Ong, P. Liu y J.Z. Liu (2001). Isolation and expression of two pectate lyase genes during fruit ripening of banana (*Musa acuminata*). *Physiologia Plantarum* 113(1): 92-99.
- Regner, F., A. Stadlbauer, C. Eisenheld y H. Kaserer (2000a). Genetic relationships among Pinots and related cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 51(1): 7-14.
- Regner, F., E. Wiedeck y A. Stadlbauer (2000b). Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39(3): 103-107.
- Remington, D.L., J.M. Thornsberry, Y. Matsuoka, L.M. Wilson, S.R. Whitt, J. Doeblay, S. Kresovich, M.M. Goodman y E.S. Buckler (2001). Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(20): 11479-11484.
- Rodríguez Torres, I. (2001). Caracterización de variedades de vid por métodos ampelográficos y bioquímicos. Resolución de homonimias y sinonimias. Departamento de Biología Vegetal. Universidad Politécnica de Madrid: 351, Madrid.
- Rojas Clemente y Rubio, S.d. (1807). *Ensayo sobre las variedades de la vid común que vegetan en Andalucía. Edición facsímil (2002)*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, Sevilla.

- Ronfort, J., T. Bataillon, S. Santoni, M. Delalande, J.L. David y J.-M. Prospero (2006). Microsatellite diversity and abroad scale geographic structure in a model legume: building a set of nested core collection for studying naturally occurring variation in *Medicago truncatula*. *BMC Plant Biology* 6: 28-40.
- Rosenberg, N.A., T. Burke, K. Elo, M.W. Feldmann, P.J. Freidlin, *et al.* (2001). Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159(2): 699-713.
- Rozen, S. y H. Skaletsky (2000). Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Molecular Biology* 132: 365-86.
- Salmaso, M., G. Faes, C. Segala, M. Stefanini, L. Salakhutdinov, E. Zyprian, R. Toepfer, M.S. Grando y R. Velasco (2004). Genome diversity and gene haplotypes in the grapevine (*Vitis vinifera* L.), as revealed by single nucleotide polymorphisms. *Molecular Breeding* 14(4): 385-395.
- Sánchez-Escribano, E.M. (1998). Identificación de variedades de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) mediante marcadores genéticos (isoenzimas, microsatélites, RAPDs y AFLPs). Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Murcia: 253, Murcia.
- Sánchez-Escribano, E.M., J.P. Martín, J. Carreño y J.L. Cenis (1999). Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. *Genome* 42: 87-93.
- Santiago-Domenech, N., S. Jiménez-Bemúdez, A.J. Matas, J.K.C. Rose, J. Muñoz-Blanco, J.A. Mercado y M.A. Quesada (2008). Antisense inhibition of a pectate lyase gene supports a role for pectin depolymerization in strawberry fruit softening. *Journal of Experimental Botany* 59(10): 2769-2779.
- Sato, A., M. Yamada, H. Iwanami y N. Mitani (2004). Quantitative and instrumental measurements of grape flesh texture as affected by gibberellic acid application. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 73(1): 7-11.
- Sato, A., H. Yamane, N. Hirakawa, K. Otobe y M. Yamada (1997). Varietal differences in the texture of grape berries measured by penetration tests. *Vitis* 36(1): 7-10.
- Schlosser, J., N. Olsson, M. Weis, K. Reid, F. Peng, S. Lund y P. Bowen (2008). Cellular expansion and gene expression in the developing grape (*Vitis vinifera* L.). *Protoplasma* 232(3-4): 255-265.
- Schoen, D.J. y A.H.D. Brown (1993). Conservation of allelic richness in wild crop relatives is aided by assessment of genetic markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90: 10623-10627.

- Searle, S.R. (1987). *Linear Models for Unbalanced Data*. John Wiley and Sons, New York.
- Sefc, K.M., S. Guggenberger, F. Regner, C. Lexer, J. Glossl y H. Steinkellner (1998a). Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. *Vitis* 37: 123-125.
- Sefc, K.M., M.S. Lopes, F. Lefort, R. Botta, K.A. Roubelakis-Angelakis, *et al.* (2000). Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 498-505.
- Sefc, K.M., F. Regner, J. Glossl y H. Steinkellner (1998b). Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 37(1): 15-20.
- Sefc, K.M., F. Regner, E. Turetschek, J. Glössl y H. Steinkellner (1999). Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* 42: 367-373.
- Sefc, K.M., H. Steinkellner, J. Glossl, S. Kampfer y F. Regner (1998c). Reconstruction of a grapevine pedigree by microsatellite analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 227-231.
- Sefc, K.M., H. Steinkellner, H.W. Wagner, J. Glossl y F. Regner (1997). Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. *Vitis* 36(4): 179-183.
- Sesmero, R., M.A. Quesada y J.A. Mercado (2007). Antisense inhibition of pectate lyase gene expression in strawberry fruit: Characteristics of fruits processed into jam. *Journal of Food Engineering* 79(1): 194-199.
- Shavrukov, Y.N., I.B. Dry y M.R. Thomas (2004). Inflorescence and bunch architecture development in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10(2): 116-124.
- Shindo, C., M.J. Aranzana, C. Lister, C. Baxter, C. Nicholls, M. Nordborg y C. Dean (2005). Role of FRIGIDA and FLOWERING LOCUS C in determining variation in flowering time of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 138(2): 1163-1173.
- Silverstone, A.L., C.N. Ciampaglio y T.P. Sun (1998). The *Arabidopsis* RGA gene encodes a transcriptional regulator repressing the gibberellin signal transduction pathway. *Plant Cell* 10(2): 155-169.
- Simko, I., K.G. Haynes y R.W. Jones (2006). Assessment of linkage disequilibrium in potato genome with single nucleotide polymorphism markers. *Genetics* 173(4): 2237-2245.

- Singh, K., R.J. Weaver y J.O. Johnson (1978). Effect of applications of gibberellic-acid on berry size, shatter, and texture of thompson seedless grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 29(4): 258-262.
- Sneath P.H.A. y R.R. Sokal (1973). The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman, San Francisco.
- Spielman, R.S. y W.J. Ewens (1993). Transmission Disequilibrium Test (TDT) for linkage and linkage disequilibrium between disease and marker. *American Journal of Human Genetics* 53(3): 863-863.
- Srinivasan, C. y M. Mullins (1976). Reproductive anatomy of the grapevine (*Vitis vinifera* L.): Origin and development of the Anlage and its derivatives. *Annals of Botany* 38: 1079-1084.
- Srinivasan, C. y M.G. Mullins (1980). Effects of temperature and growth regulators on formation of anlagen, tendrils and inflorescences in *Vitis vinifera* L. *Annals of Botany* 45: 439-446.
- Stephens, M. y P. Donnelly (2003). A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction. *American Journal of Human Genetics* 73: 1162-1169.
- Stephens, M., N.J. Smith y P. Donnelly (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics* 68(4): 978-989.
- Stephens, M., N.J. Smith y P. Donnelly (2004). Documentation for Phase, version 2.1. Department of Statistics. University of Washington, Seattle.
- Strand, M., T.A. Prolla, R.M. Liskay y T.D. Pettes (1993). Destabilization of tracks of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature* 365: 274-276.
- Straub, R.E., M.C. Speer, Y. Luo, K. Rojas, J. Overhauser, J. Ott, y T.C. Gilliam (1993). A microsatellite genetic linkage map of human chromosome 18. *Genomics* 15: 48-56.
- Szalma, S.J., E.S. Buckler, M.E. Snook y M.D. McMullen (2005). Association analysis of candidate genes for maysin and chlorogenic acid accumulation in maize silks. *Theoretical and Applied Genetics* 110(7): 1324-1333.
- Tajima, F. (1989). Statistical-method: for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123(3): 585-595.
- Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17(16): 6463-6471.

- Tenaillon, M.I., J. U'Ren, O. Tenaillon y B.S. Gaut (2004). Selection versus demography: A multilocus investigation of the domestication process in maize. *Molecular Biology and Evolution* 21(7): 1214-1225.
- Terrier, N., D. Glissant, J. Grimplet, F. Barrieu, P. Abbal, *et al.* (2005). Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta* 222(5): 832-847.
- This, P., A. Jung, P. Boccacci, J. Borrego, R. Botta, *et al.* (2004). Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 109(7): 1448-1458.
- This, P., T. Lacombe, M. Cadle-Davidson y C.L. Owens (2007). Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theoretical and Applied Genetics* 114(4): 723-730.
- This, P., T. Lacombe y M.R. Thomas (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* 22(9): 511-519.
- Thomas, M.R. y N.S. Scott (1993). Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics* 86: 985-990.
- Thomas, M.R. y N.S. Scott (1994). Sequence-tagged site markers for microsatellites: simplified technique for rapidly obtaining flanking sequences. *Plant Molecular Biology Reporter* 12(1): 58-64.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins y T.J. Gibson (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- Thompson, M.M. y H.P. Olmo (1963). Cytological studies of cytochimeric and tetraploid grapes. *American Journal of Botany* 50: 901-906.
- Thornsberry, J.M., M.M. Goodman, J. Doebley, S. Kresovich, D. Nielsen y E.S. Buckler (2001). *Dwarf8* polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nature Genetics* 28(3): 286-289.
- Troggio, M., S. Vezzulli, M. Pindo, G. Malacarne, P. Fontana, *et al.* (2008). Beyond the genome, opportunities for a modern viticulture: A research overview. *American Journal of Enology and Viticulture* 59(2): 117-127.
- Tuskan, G.A., S. Di Fazio, S. Jansson, J. Bohlmann, I. Grigoriev, *et al.* (2006). The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* 313: 1596-1604.

- van Hintum, T.J.L., A.H.D. Brown, C. Spillane y T. Hodgkin (2003). Colecciones núcleo de recursos fitogenéticos. *Boletín Técnico del IPGRI* 3.
- Vandenbussche, F., A.C. Fierro, G. Wiedemann, R. Reski y D. Van der Straeten (2007). Evolutionary conservation of plant gibberellin signalling pathway components. *BMC Plant Biology* 7(65).
- Vargas, A., J. Pérez, J.P. Zoffoli y A. Pérez (2000). Evolución de la textura de bayas de uva del cv. Thompson Seedless. *Ciencia e Investigación Agraria* 27(2): 117-126.
- Vargas, A., J. Pérez, J.P. Zoffoli y A. Pérez (2001). Comparación de variables de textura en la medición de firmeza de bayas de uva Thompson Seedless. *Ciencia e Investigación Agraria* 28(1): 37-42.
- Vargas, A.M., M.D. Vélez, M.T.d. Andrés, V. Iaucou, T. Lacombe, J.M. Boursiquot, J. Borrego y J. Ibáñez (2007). Corinto bianco: A seedless mutant of Pedro Ximenes. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 540-543.
- Velasco, R., A. Zharkikh, M. Troggio, D.A. Cartwright, A. Cestaro, *et al.* (2007). A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS ONE* 2(12): e1326.
- Vélez, M.D. (2007). Estudio de un sistema de marcadores microsatélites para la protección y defensa legal de variedades de vid (*Vitis vinifera* L.). Departamento de Biología Celular y Genética. Universidad de Alcalá, Madrid.
- Viala, P. y V. Vermorel (1901). *Ampélographie*. Masson, Paris.
- Vidal, S., P. Williams, M.A. O'Neill y P. Pellerin (2001). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 45(4): 315-323.
- Vos, P., R. Hogers y *et al.* (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407-4414.
- Vouillamoz, J., D. Maigre y C.P. Meredith (2003). Microsatellite analysis of ancient alpine grape cultivars: pedigree reconstruction of *Vitis vinifera* L. 'Cornalin du Valais'. *Theoretical and Applied Genetics* 107(3): 448-454.
- Wagner, H.W. y K.M. Sefc (1999). Identity. Centre for Applied Genetics, BOKU, Vienna.
- Watterson, G.A. (1975). Number of segregating sites in genetic models without recombination. *Theoretical Population Biology* 7(2): 256-276.
- Weir, B.S. (1996). *Genetic Data Analysis II*. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA (USA).

- Weising, K. y R.C. Gardner (1999). A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* 42: 9-19.
- Welsh, J. y M. McClelland (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7213-7218.
- Wilson, L.M., S.R. Whitt, A.M. Ibanez, T.R. Rocheford, M.M. Goodman y E.S. Buckler (2004). Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association. *Plant Cell* 16(10): 2719-2733.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski y S.V. Tingey (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Wing, R., J. Yamaguchi, S. Larabell, V. Ursin y S. McCormick (1989). Floral specific complementary DNA species from tomato encode proteins homologous to pectate lyase from the plant pathogen *Erwinia*. *Journal of Cellular Biochemistry Supplement* 13(D): 294.
- Winkler, A.J., J.A. Cook, W.M. Kliewer y L.A. Lider (1974). *General viticulture*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Wolff, R.K., R. Plaetke, A.J. Jeffreys y R. White (1989). Unequal crossing over between homologous chromosomes is not the major mechanism involved in the generation of new alleles at VNTR loci. *Genomics* 5: 382-384.
- Wright, S.I. y B.S. Gaut (2005). Molecular population genetics and the search for adaptive evolution in plants. *Molecular Biology and Evolution* 22(3): 506-519.
- Xiao, Z.H., H. Bergeron, S. Grosse, M. Beauchemin, M.L. Garron, D. Shaya, T. Sulea, M. Cygler y P.C.K. Lau (2008). Improvement of the thermostability and activity of a pectate lyase by single amino acid substitutions, using a strategy based on melting-temperature-guided sequence alignment. *Applied and Environmental Microbiology* 74(4): 1183-1189.
- Zhu, Y.L., Q.J. Song, D.L. Hyten, C.P. Van Tassell, L.K. Matukumalli, *et al.* (2003). Single-nucleotide polymorphisms in soybean. *Genetics* 163(3): 1123-1134.
- Zulini, L., M. Russo y E. Peterlunger (2002). Genotyping wine and table grape cultivars from Apulia (Southern Italy) using microsatellite markers. *Vitis* 41(4): 183-187.

8. ANEXOS

Anexo 1. Genotipos para la colección de 352 accesiones de uva de mesa de El Encín y para las 36 accesiones de vinificación y de otros centros empleadas en el estudio de pedigrís.

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
620 PIROVANO	BGVCAM7004	173:185	187:206	290:294	165:167	151:151	263:263	188:190	321:321	82:84	161:163	357:365	225:229	241:247	265:265	208:208	247:253	183:194	238:246	260:270	131:135
A-406-49-SRLH	BGVCAM1719	175:185	173:181	290:294	167:167	151:159	263:263	188:192	317:317	82:86	163:171	375:375	225:235	247:249	249:255	212:212	247:253	179:185	262:270	262:270	133:149
ACTONI MACERON	BGVCAM1400	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
ADMIRABLE DE COURTILLER	BGVCAM1720	173:185	179:187	290:290	165:169	151:159	263:263	182:182	317:321	84:88	152:163	363:365	223:233	237:241	249:249	208:208	239:253	185:194	236:270	239:239	131:135
AGOSTENGA	BGVCAM0923	171:183	165:173	288:298	175:179	151:153	263:263	180:194	319:321	82:84	152:171	361:372	229:233	245:245	249:249	208:208	239:253	185:189	236:260	239:250	133:144
AHMEUR BOU AHMEUR	BGVCAM1375	185:185	189:189	290:294	167:169	151:153	263:263	184:192	321:321	82:88	158:161	357:365	229:235	237:247	249:255	208:208	253:265	183:194	250:256	250:254	133:146
AH-ZUM-BELI	BGVCAM1819	167:167	173:181	294:298	149:167	151:153	256:263	180:188	317:319	84:84	148:163	365:365	225:237	245:247	247:255	206:208	239:239	185:185	220:260	248:268	123:144
ALBA MAGNA	BGVCAM1216	185:185	185:206	290:298	167:167	151:159	263:263	176:192	317:325	88:88	152:152	361:372	223:223	245:247	243:255	208:212	247:253	185:185	236:270	250:262	131:133
ALBERTA	BGVCAM1438	185:189	183:206	290:294	165:167	153:157	263:263	180:182	321:321	84:88	161:177	357:375	225:229	237:241	249:249	208:208	237:253	181:194	236:246	260:270	131:133
ALBILLO	BGVCAM1105	185:189	167:173	290:294	167:169	151:153	256:256	192:194	319:327	84:88	163:177	361:365	225:225	231:237	243:255	208:210	237:237	185:189	246:246	250:270	133:155
ALEÁTICO	BGVCAM0933	185:185	173:206	294:298	167:167	151:153	263:263	182:192	321:325	82:88	152:175	372:375	223:225	245:249	255:265	212:218	239:247	179:185	270:270	260:262	131:131
ALEDO	BGVCAM1191	167:189	187:189	294:294	167:167	151:153	263:263	190:192	321:321	84:88	161:163	357:372	229:237	237:241	255:255	208:210	237:253	181:189	246:250	270:270	131:142
ALEDO	BGVCAM1344	167:189	187:189	294:294	167:167	151:153	263:263	190:192	321:321	84:88	161:163	357:372	229:237	237:241	255:255	208:210	237:253	181:189	246:250	270:270	131:142
ALEDO REAL	BGVCAM1402	167:189	175:187	294:294	167:169	151:153	263:263	186:192	321:321	88:88	152:163	357:365	229:235	237:247	243:255	208:210	237:253	189:194	236:246	254:270	131:135
ALFONSO LAVALLÉE x FERRAL	BGVCAM2335	173:185	173:206	290:294	167:167	149:157	263:263	182:192	317:321	82:84	158:163	363:389	225:235	245:249	265:265	212:212	247:253	185:194	238:246	262:239	133:149
ALMERIA NEGRA	BGVCAM1464	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
ALMERIA NERA	BGVCAM1467	185:185	183:189	290:290	167:167	149:153	263:263	180:190	327:327	84:88	161:161	361:361	231:237	249:249	249:255	208:210	253:253	183:183	246:250	270:270	131:133
ALPHONSE LAVALLÉE	BGVCAM1279	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
ANGELO	BGVCAM0793	173:175	173:173	290:294	165:167	151:159	263:263	180:182	321:321	86:88	163:163	363:389	229:233	245:245	249:265	208:212	253:253	185:185	220:246	270:239	133:142
ANGIOLA BIANCA	BGVCAM1772	183:189	169:189	290:298	167:169	153:159	263:263	180:192	321:321	82:84	152:158	359:359	223:229	245:245	243:255	208:212	237:239	183:185	238:248	248:260	131:131
ANNA MARIA	BGVCAM1773	167:173	206:208	294:294	165:167	151:157	263:263	180:192	321:329	82:82	163:175	365:372	223:233	245:247	243:247	208:212	237:239	181:194	220:236	262:270	131:131
APESORGIA NERA	BGVCAM1217	167:189	187:189	290:298	167:169	151:151	263:263	180:190	327:327	84:88	161:161	357:357	229:231	241:251	243:249	208:208	237:253	185:194	260:262	250:270	131:135
APIRENA DI VELLETRI	BGVCAM1820	167:167	179:189	290:290	165:167	153:157	261:263	180:196	321:321	84:84	163:181	375:399	225:231	237:247	243:255	208:212	239:247	181:189	246:250	248:270	144:151
ARTURO MARESCALCHI	BGVCAM1403	173:185	173:206	294:294	165:167	159:159	263:263	180:188	321:321	86:88	163:171	375:389	229:235	245:245	249:255	208:212	247:253	185:194	220:246	250:239	133:149
ATTILIO RAGGIONERI	BGVCAM1474	171:185	173:173	290:294	165:167	151:159	263:263	176:182	317:323	82:88	161:175	375:375	223:223	231:245	255:265	208:212	237:247	179:185	236:270	250:260	131:131

Anexos

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
AUGUSTA	BGVCAM1475	171:185	165:167	288:290	167:169	151:153	256:263	184:196	317:319	84:88	163:171	361:365	223:225	245:247	249:255	208:208	247:247	185:185	236:248	256:260	131:155
AUGUSTE SUISSE	BGVCAM1756	173:173	179:179	288:294	165:165	151:157	263:263	180:190	317:329	88:88	171:171	372:372	225:233	241:245	243:249	208:216	237:253	179:194	236:246	270:239	133:135
AURATA	BGVCAM1445	173:185	187:206	290:294	165:167	151:151	263:263	180:188	317:321	82:88	163:177	375:389	235:235	241:247	249:249	208:212	247:253	179:179	238:250	270:239	133:135
AURORA	BGVCAM1404	185:185	187:202	290:294	161:167	151:153	263:263	182:190	321:321	84:88	161:173	357:365	225:235	247:247	249:265	208:208	247:253	183:194	238:246	260:270	131:135
AUSONIA	BGVCAM1322	185:189	173:202	290:290	161:165	153:157	263:263	188:192	321:321	84:86	161:177	357:372	233:235	245:247	249:255	208:208	247:253	179:181	238:246	250:270	133:149
BALBAL	BGVCAM1757	167:185	183:189	290:294	161:167	151:151	256:267	178:184	317:317	82:84	152:161	357:365	223:225	243:245	249:255	206:212	237:247	176:179	238:260	250:270	133:151
BARBABLEU	BGVCAM0941	173:185	189:206	290:294	167:167	151:153	263:263	186:188	321:321	82:88	152:171	357:372	229:235	237:247	249:255	208:212	247:253	185:194	246:250	270:270	135:149
BARESANA	BGVCAM1376	167:171	165:202	290:294	161:167	153:153	263:263	176:186	317:331	82:88	152:158	359:372	231:233	245:251	255:265	208:208	247:253	179:194	246:246	270:270	133:151
BARLINKA	BGVCAM1427	167:175	200:206	290:294	167:167	151:151	263:263	184:188	321:321	84:84	158:158	357:389	223:237	249:253	243:249	208:212	253:253	185:185	246:260	270:270	133:151
BASILE LOGOTHETIS	BGVCAM1264	185:185	189:206	290:294	165:167	149:157	261:263	180:188	317:321	82:88	158:175	357:389	225:231	247:251	255:265	212:218	237:247	194:194	246:246	248:262	144:149
BEAUTY SEEDLESS	BGVCAM0797	171:189	167:191	290:290	165:167	151:157	256:263	180:184	317:317	84:88	158:163	372:399	231:233	245:251	255:255	212:220	239:247	179:181	220:236	248:270	131:151
BEBA DE HUELVA	BGVCAM2340	185:189	187:187	290:294	165:167	151:153	256:263	190:192	317:321	82:84	161:163	365:372	233:237	241:247	249:255	208:210	253:253	181:189	246:260	254:270	133:142
BEBA DE JAÉN	BGVCAM2341	185:189	187:187	290:294	165:167	151:153	256:263	190:192	317:321	82:84	161:163	365:372	233:237	241:247	249:255	208:210	253:253	181:189	246:260	254:270	133:142
BEBA DE PALOS	BGVCAM2343	185:189	187:187	290:294	165:167	151:153	256:263	190:192	317:321	82:84	161:163	365:372	233:237	241:247	249:255	208:210	253:253	181:189	246:260	254:270	133:142
BICANE	BGVCAM0798	171:185	173:187	290:290	165:165	151:159	263:263	180:182	317:321	88:88	152:177	365:375	223:235	241:247	249:255	208:208	237:253	179:194	236:250	250:239	131:135
BLACK ALICANTE	BGVCAM1477	173:175	173:206	288:307	167:167	151:153	263:263	180:188	306:327	82:84	161:171	357:361	233:235	245:247	243:249	208:212	237:255	181:185	262:256	248:250	131:151
BLACK CURRANT	BGVCAM1212	171:179	187:208	294:294	167:177	149:151	256:256	190:190	321:329	82:84	177:177	357:357	233:237	241:247	243:255	208:218	237:247	179:185	236:260	270:270	135:142
BLACK MONUCCA	BGVCAM1722	167:185	183:189	290:290	165:167	157:157	261:263	180:186	321:321	84:84	181:181	357:379	231:237	251:251	249:249	218:218	247:253	181:194	220:246	248:254	139:151
BLACK PRINCE	BGVCAM1759	175:183	173:208	290:290	167:169	151:159	263:263	190:194	321:329	88:88	163:163	357:365	233:235	237:241	243:249	208:218	253:253	179:189	220:238	254:239	133:142
BLANCA	BGVCAM2216	167:189	167:206	288:290	165:167	153:153	263:263	190:190	306:327	84:88	161:163	372:375	223:237	237:255	243:255	208:210	239:253	179:194	238:238	254:254	142:144
BOGNI 08	BGVCAM1377	173:173	173:181	290:294	167:167	151:159	263:263	180:192	321:321	82:88	163:177	365:389	229:233	241:245	249:255	208:212	243:253	179:185	220:236	248:270	133:153
BOGNI 17	BGVCAM1405	167:171	173:173	290:294	165:167	157:159	263:263	180:188	317:317	82:88	152:163	372:375	229:235	247:247	249:249	208:212	237:247	179:179	236:246	250:270	131:149
BRUNI 012	BGVCAM1724	167:175	202:208	290:294	161:165	153:153	263:263	176:190	329:331	82:88	152:163	357:372	231:233	245:245	243:265	208:218	253:253	194:194	220:246	239:270	133:133
BRUNI 036	BGVCAM1796	171:173	173:208	288:294	165:169	153:157	263:263	190:196	317:319	84:88	163:171	357:365	233:233	245:245	243:249	208:218	239:239	181:185	246:248	250:270	144:155
BRUNI 041	BGVCAM1481	167:185	181:187	294:307	165:167	151:151	261:263	184:194	321:321	82:84	152:163	357:389	223:235	247:247	249:249	208:212	237:247	194:194	248:250	239:270	131:149
BRUNI 045	BGVCAM1482	173:185	179:189	290:298	165:167	157:159	263:263	184:194	319:321	84:88	158:163	357:363	231:233	245:251	249:265	208:218	247:253	181:189	246:270	248:239	142:151
BRUNI 074	BGVCAM1483	175:183	173:173	294:294	167:167	159:159	263:263	182:182	321:321	86:88	161:163	363:389	229:233	237:237	265:265	212:212	239:239	179:181	220:246	262:270	131:131
BRUNI 090	BGVCAM1484	167:167	189:206	290:294	167:167	151:157	263:263	180:192	321:321	84:88	163:163	379:389	229:237	247:251	249:265	212:218	247:253	189:194	220:246	254:239	131:139
BRUNI 100	BGVCAM1795	185:185	173:187	290:294	161:165	153:159	263:263	190:194	317:321	88:88	173:177	365:375	235:235	245:247	249:265	208:208	237:253	183:194	220:246	239:260	131:135
BRUNI 102	BGVCAM1478	173:185	173:179	288:294	167:167	151:159	263:263	180:196	319:321	82:86	171:171	361:365	225:225	237:237	249:249	208:216	239:253	179:179	246:266	250:270	151:155
BRUNI 116	BGVCAM1468	185:189	167:189	290:298	165:167	157:157	263:263	174:180	317:317	84:84	150:158	357:361	223:231	237:247	249:265	208:208	237:239	185:194	236:246	248:270	131:144
BRUNI 116	BGVCAM1479	185:189	167:189	290:298	165:167	157:157	263:263	174:180	317:317	84:84	150:158	357:361	223:231	237:247	249:265	208:208	237:239	185:194	236:246	248:270	131:144
BRUNI 125	BGVCAM1480	167:173	179:206	288:294	165:169	151:151	263:263	188:196	306:321	82:88	158:163	357:365	225:235	237:247	249:249	208:216	237:237	179:185	246:266	250:270	131:151
BRUNI 415	BGVCAM1723	167:173	202:208	290:294	165:165	153:157	263:263	180:190	317:329	82:88	163:163	365:372	233:233	245:247	243:249	218:218	253:253	194:194	228:246	239:239	133:133

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
BRUNI 707	BGVCAM1774	175:175	167:167	294:294	167:167	157:157	256:263	180:188	317:321	84:88	158:163	372:372	223:233	247:247	249:265	208:208	253:253	179:185	270:270	250:270	133:133
CADRETE	BGVCAM1938	185:185	179:187	290:290	167:169	153:159	263:263	176:180	317:321	84:88	161:171	365:372	219:231	237:247	243:249	208:210	253:260	179:194	260:260	260:270	142:151
CALMERIA	BGVCAM1485	167:185	187:191	294:298	165:167	149:153	263:263	180:180	317:317	84:88	152:181	357:361	231:231	231:237	249:255	208:208	247:253	183:194	246:246	248:260	131:151
CANNER SEEDLESS	BGVCAM1378	167:189	165:191	290:298	140:167	151:157	261:263	184:190	317:319	82:88	161:181	357:399	229:231	237:237	249:249	218:218	245:247	194:194	220:246	248:272	142:151
CANNON HALL	BGVCAM1340	167:185	181:206	290:294	167:167	149:151	263:263	188:192	317:321	82:82	163:175	375:389	225:229	247:249	255:265	212:212	247:247	179:194	246:270	262:270	131:149
CAPE CURRANT	BGVCAM1726	185:189	167:206	290:294	167:167	149:149	261:263	184:188	317:317	82:82	163:165	365:375	225:233	231:247	249:265	212:218	239:247	179:194	248:270	262:270	131:131
CARDINAL	BGVCAM2202	175:185	167:167	290:294	167:167	157:157	256:263	180:188	317:321	84:88	158:163	357:372	223:233	247:247	249:265	208:208	253:253	179:185	246:270	250:270	133:133
CARDINAL	BGVCAM1280	175:185	167:167	290:294	167:167	157:157	256:263	180:188	317:321	84:88	158:163	357:372	223:233	247:247	249:265	208:208	253:253	179:185	246:270	250:270	133:133
CASTELLANO MORADO	BGVCAM2246	187:189	167:187	290:290	167:169	151:153	263:263	186:190	317:321	84:88	161:163	372:375	231:235	241:247	249:249	210:210	239:253	181:194	236:260	250:270	135:144
CAVUS	BGVCAM1760	167:183	183:189	290:294	161:167	151:153	256:263	184:188	321:321	84:88	152:175	357:357	225:235	245:247	255:255	206:218	247:253	179:183	260:260	250:270	133:151
CEREZA	BGVCAM1120	167:185	167:181	290:294	167:169	151:151	263:263	192:192	317:321	82:84	167:175	361:375	225:229	247:249	249:265	208:212	237:247	179:189	246:246	256:270	133:149
CHAOUCH ROSE	BGVCAM1727	167:185	167:189	294:294	167:167	151:153	256:263	188:196	317:321	84:88	152:169	357:375	235:243	237:247	255:257	212:218	247:253	179:179	236:260	262:270	133:142
CHASSELAS APYRENE	BGVCAM1379	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS BLANCA	BGVCAM1994	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS CIOUTAT	BGVCAM?034	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS DE MONTAUBAN	BGVCAM0954	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS GROS COULARD	BGVCAM1728	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS MICHEL TOMPA	BGVCAM0805	173:185	173:206	290:294	167:167	149:157	263:263	182:192	317:321	82:84	158:163	363:389	225:235	245:249	265:265	212:212	247:253	185:194	238:246	262:239	133:149
CHASSELAS MUSQUÉ	BGVCAM0955	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS ROSE	BGVCAM1380	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS ROUGE	BGVCAM1381	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CHASSELAS VIOLET	BGVCAM1798	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CICLÓPICA	BGVCAM0807	177:183	173:173	294:294	167:167	151:159	263:263	180:194	321:321	82:82	152:171	361:365	237:237	245:247	249:249	208:212	239:247	179:185	246:270	270:239	144:149
CIMINNITA	BGVCAM1219	185:185	183:202	290:294	167:167	151:153	263:263	180:190	317:321	84:88	152:161	357:375	231:235	241:247	249:255	208:210	253:253	185:194	246:262	260:270	133:135
CINSAUT	BGVCAM0956	167:171	173:189	290:294	165:169	151:151	263:263	182:188	317:321	88:88	161:171	365:365	223:223	241:245	249:255	208:212	237:247	179:181	230:236	254:260	131:131
CIRCA	BGVCAM1729	175:183	179:208	290:294	165:167	153:159	263:263	190:194	317:329	84:88	163:163	357:363	225:237	237:245	243:265	212:218	239:253	189:194	220:238	239:254	131:133
CIRUELA ROJA	BGVCAM1456	167:185	187:189	290:290	145:167	153:153	263:263	180:186	327:327	82:88	152:161	357:357	229:231	231:241	255:255	208:208	253:265	183:194	246:250	250:270	131:146
CLOTILDE PROSPERI	BGVCAM1355	185:185	173:189	294:294	165:167	151:157	263:263	174:180	317:321	84:86	150:171	357:375	229:235	237:245	249:255	208:208	247:253	185:194	236:260	250:256	133:149
COARNA BIANCA	BGVCAM1382	183:185	167:208	294:294	167:167	151:151	263:263	184:196	317:329	84:88	158:171	357:365	235:243	237:237	255:257	208:208	237:247	179:181	236:238	262:270	131:142
COARNA NEAGRA	BGVCAM1383	173:185	187:189	290:294	177:177	151:153	263:263	180:190	319:319	84:88	158:177	357:372	233:233	245:247	243:243	208:208	239:247	179:185	236:246	254:272	135:142
COLGADERO	BGVCAM1888	175:189	183:187	290:290	167:167	151:153	263:263	176:190	317:321	84:84	152:171	361:367	223:231	237:241	249:255	208:214	247:253	183:185	246:260	254:260	135:157
COLGAR ROJA	BGVCAM1465	167:185	187:191	290:294	145:167	153:153	263:263	184:190	321:327	82:84	152:161	357:357	223:231	231:241	255:255	208:208	237:253	185:194	246:248	250:270	131:131
CONCA D'ORO	BGVCAM1434	167:189	167:200	290:294	167:167	151:151	263:263	180:186	319:327	84:88	161:171	361:389	229:237	241:245	249:255	208:212	243:247	185:185	238:260	250:254	142:153

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
CORAZÓN DE CABRITO	BGVCAM2251	185:185	189:189	290:294	167:169	151:153	263:263	184:192	321:321	82:88	158:161	357:365	229:235	237:247	249:255	208:208	253:265	183:194	250:256	250:254	133:146
CORINTHE BLANC	BGVCAM1447	169:189	167:173	290:307	167:167	149:153	263:263	176:188	321:321	88:88	163:177	365:365	233:237	237:237	243:249	208:212	239:247	181:185	260:266	248:270	131:144
CORNEILLE	BGVCAM0960	173:175	173:179	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:321	84:88	152:163	363:365	225:233	237:245	249:265	208:212	239:253	185:189	220:270	239:239	131:142
CORNICHON VIOLET	BGVCAM1448	173:185	175:187	294:307	169:177	151:153	263:267	180:184	319:321	84:88	158:171	357:365	233:237	237:245	243:249	208:212	239:247	179:187	238:238	254:272	135:142
CORNIOLA DI MILAZZO	BGVCAM1220	173:175	183:185	290:290	167:181	151:151	263:263	186:192	317:327	82:86	152:161	357:375	235:235	245:249	243:249	208:218	237:239	194:194	260:260	270:270	131:133
DABOUKI	BGVCAM1384	167:189	202:202	290:290	167:177	151:153	263:263	180:184	327:327	84:86	161:161	357:357	233:233	245:247	243:255	208:222	239:243	179:183	260:260	248:270	133:151
DALMASSO III-33	BGVCAM1487	173:185	167:173	294:294	167:167	151:157	263:263	184:188	317:321	84:86	150:163	357:372	223:235	237:245	249:255	208:212	253:253	179:185	238:260	270:270	133:133
DALMASSO VI-03	BGVCAM1488	185:185	167:173	290:290	165:179	151:151	263:263	174:180	317:317	82:88	150:152	357:365	223:223	237:241	249:255	208:208	253:253	185:194	250:260	270:239	133:135
DALMASSO VI-06	BGVCAM1439	171:185	173:189	290:294	165:167	151:159	263:263	174:182	317:321	82:88	150:152	357:365	223:235	241:247	255:255	208:208	237:247	185:194	236:260	250:256	131:131
DALMASSO XI-08	BGVCAM1489	173:185	173:189	290:294	167:167	151:157	263:263	174:180	317:317	82:82	150:171	361:389	223:229	245:247	249:255	208:212	247:247	185:185	246:260	270:270	131:149
DALMASSO XI-20	BGVCAM1490	173:185	167:173	294:294	167:179	151:157	263:263	174:188	317:321	84:86	163:171	361:389	223:235	237:245	255:255	208:212	247:253	179:185	246:260	270:270	131:133
DALMASSO XVIII-03	BGVCAM1440	173:185	187:206	290:294	167:167	151:157	263:263	176:188	317:321	86:88	152:171	365:372	223:229	241:247	249:255	208:212	253:253	185:185	236:246	270:239	133:135
DANAM	BGVCAM2348	167:167	173:202	290:294	167:177	151:151	263:263	180:184	321:327	86:86	171:171	357:372	229:231	247:247	243:255	212:222	243:253	183:185	238:260	270:270	149:151
DANLAS	BGVCAM2349	167:175	173:202	290:294	169:177	151:159	263:263	184:194	317:327	86:88	152:161	357:365	225:231	237:247	243:265	208:222	239:243	179:185	220:260	239:270	131:151
DANUGUE	BGVCAM1385	189:189	183:206	290:290	167:167	151:151	256:263	176:184	321:321	84:88	152:171	357:365	225:231	231:237	243:255	208:208	239:253	194:194	238:246	260:270	135:144
DARKAIA NERA	BGVCAM0809	175:183	189:208	290:290	169:169	151:153	263:263	192:196	319:321	82:84	163:171	357:361	223:233	241:251	243:249	208:212	237:253	179:185	248:260	250:250	131:133
DATAL	BGVCAM2350	167:175	173:202	290:294	169:177	151:159	263:263	184:194	317:327	86:88	152:161	357:365	225:231	237:247	243:265	208:222	239:243	179:185	220:260	239:270	131:151
DATTIER NOIR	BGVCAM1491	185:189	165:202	290:290	140:161	151:153	263:263	174:190	317:317	82:88	154:161	357:359	225:229	237:251	249:265	208:218	243:247	181:194	246:246	248:272	142:149
DAVID	BGVCAM1386	167:189	202:202	290:290	167:177	151:153	263:263	180:184	327:327	84:86	161:161	357:357	233:233	245:247	243:255	208:222	239:243	179:183	260:260	248:270	133:151
DE CILINDRO	BGVCAM1610	167:185	175:202	290:294	169:169	149:153	263:263	176:184	317:331	88:88	163:181	357:359	231:235	237:251	243:243	208:212	239:243	185:194	248:260	254:270	144:151
DELIGHT	BGVCAM1253	167:185	167:189	290:294	167:167	157:157	261:263	180:184	317:319	84:88	158:163	361:399	231:233	237:247	255:255	208:208	237:253	179:181	236:246	248:270	133:144
DELIZIA DI VAPRIO	BGVCAM0965	167:185	173:206	294:307	167:167	151:151	261:263	192:194	321:321	82:84	163:175	365:389	223:229	247:249	247:255	208:212	237:247	194:194	236:246	262:270	131:131
DIAGALVES	BGVCAM1730	185:189	187:187	290:290	167:167	153:153	263:263	176:180	319:327	88:88	161:161	357:372	231:235	241:251	249:249	208:208	253:253	181:185	236:262	250:270	142:151
DOMINGA	BGVCAM0811	167:173	189:189	290:307	167:167	151:151	263:263	190:192	317:321	84:88	150:163	372:389	223:243	237:247	243:249	208:212	247:253	185:194	236:246	270:270	135:149
DOMINGA	BGVCAM2145	167:173	189:189	290:307	167:167	151:151	263:263	190:192	317:321	84:88	150:163	372:389	223:243	237:247	243:249	208:212	247:253	185:194	236:246	270:270	135:149
DON BUENO	BGVCAM0968	169:189	167:173	290:307	167:167	149:153	263:263	176:188	321:321	88:88	163:177	365:365	233:237	237:237	243:249	208:212	239:247	181:185	260:266	248:270	131:144
DON MARIANO	BGVCAM2127	167:189	187:189	290:294	167:167	153:153	263:263	184:186	321:321	84:88	152:161	361:365	231:235	247:249	249:255	208:210	237:253	183:194	246:250	254:270	131:133
DON MARIANO	BGVCAM2181	167:189	187:189	290:294	167:167	153:153	263:263	184:186	321:321	84:88	152:161	361:365	231:235	247:249	249:255	208:210	237:253	183:194	246:250	254:270	131:133
DONA MARIA	BGVCAM1827	167:185	189:206	290:290	167:179	149:151	263:263	174:188	317:321	82:84	163:175	361:375	223:225	237:249	255:255	208:212	247:253	185:194	236:270	256:262	133:149
DORONA DI VENEZIA	BGVCAM1441	175:185	189:202	290:294	169:169	149:153	256:263	190:196	321:327	82:84	152:171	363:372	229:229	241:247	249:255	208:208	239:239	185:194	236:238	248:260	131:144
DORONI MACERON	BGVCAM2351	185:185	189:202	290:290	179:181	149:151	263:263	180:186	317:321	84:88	161:171	359:370	235:243	245:251	249:265	208:218	243:247	179:194	246:260	258:260	149:155
DUC DE MAGENTA	BGVCAM1493	175:179	173:189	294:294	167:169	153:159	256:263	190:194	317:317	84:88	163:175	357:363	233:235	237:241	243:265	212:218	239:253	185:194	260:270	239:270	131:133
DUCHESS OF BUCCLEUGH	BGVCAM1731	171:189	167:173	290:294	165:167	149:151	261:263	182:184	317:321	82:88	152:165	365:375	233:235	247:247	249:265	208:218	239:253	179:194	250:270	250:262	131:135
EARLY MUSCAT	BGVCAM1824	185:189	167:189	290:294	167:167	151:151	263:263	180:188	321:321	86:88	171:175	361:389	233:235	237:245	255:265	212:212	239:253	179:183	270:270	254:270	131:146

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
EL FARRYALI	BGVCAM1494	171:171	187:189	290:290	165:167	153:157	263:263	180:192	317:331	88:88	152:181	350:375	231:235	231:247	249:255	208:208	253:253	183:194	250:254	254:239	131:135
EL GOUZ	BGVCAM1732	167:167	189:202	290:294	167:167	151:153	261:263	184:192	317:319	84:88	161:181	357:389	231:237	237:247	243:255	208:212	237:260	179:183	250:260	248:254	151:151
ELETTRA	BGVCAM1323	183:185	173:181	290:290	165:167	149:151	263:263	182:188	317:321	82:88	154:175	375:389	229:233	241:245	249:255	212:218	247:253	179:185	248:270	250:239	133:149
EMERALD SEEDLESS	BGVCAM1472	167:185	181:187	290:294	167:169	151:157	256:261	186:188	317:317	82:88	158:171	372:401	225:233	237:247	243:255	208:212	237:247	194:194	220:260	248:250	133:151
EMERALD SEEDLESS	BGVCAM1472	167:185	181:187	290:294	167:169	151:157	256:261	186:188	317:317	82:88	158:171	372:401	225:233	237:247	243:255	208:212	237:247	194:194	220:260	248:250	133:151
EMPEROR	BGVCAM1336	167:185	187:187	290:294	167:169	151:153	256:263	186:190	317:319	82:88	163:171	365:372	233:233	241:247	243:249	208:208	237:253	181:194	250:260	250:270	131:133
ENVERROUS TRAUBE	BGVCAM0969	185:185	181:206	294:294	167:167	151:151	263:263	184:192	317:321	82:88	163:171	365:389	225:225	237:249	249:255	208:212	247:247	179:181	238:270	262:270	142:149
EVA	BGVCAM1462	185:189	187:187	290:290	167:167	153:153	263:263	176:180	319:327	88:88	161:161	357:372	231:235	241:251	249:249	208:208	253:253	181:185	236:262	250:270	142:151
FERRAL	BGVCAM0815	185:189	187:187	290:290	167:169	151:153	263:263	176:190	321:321	84:84	161:161	357:365	231:235	231:241	249:255	208:210	239:253	181:194	260:262	260:270	133:144
FLAME TOKAY	BGVCAM1905	189:189	187:187	290:294	165:167	151:153	256:263	186:190	317:321	84:88	161:161	365:372	237:237	241:247	249:255	208:208	253:253	181:181	260:260	254:270	133:135
FONDO DE ORZA	BGVCAM0972	185:185	167:187	290:294	167:169	149:151	263:263	176:184	317:317	82:88	161:163	361:375	229:233	237:247	255:265	208:212	247:253	179:194	250:270	256:262	131:133
FOSTER'S WHITE SEEDLESS	BGVCAM2355	189:194	179:187	290:307	165:167	153:159	263:267	180:190	306:327	84:88	163:165	372:375	229:231	241:247	249:249	208:210	239:253	181:181	236:260	239:254	144:151
FOSTER'S WHITE SEEDLING	BGVCAM0974	173:185	173:173	288:294	167:167	151:157	263:263	180:192	306:321	86:88	171:171	359:372	225:233	245:247	249:255	208:212	239:253	185:185	246:262	250:270	151:155
FRANKENTHAL	BGVCAM1356	173:173	173:183	294:294	167:167	151:157	263:263	180:192	317:321	84:86	158:171	372:372	233:235	245:245	249:249	208:212	239:253	181:185	238:246	250:270	133:155
FRAULA KAKINI	BGVCAM1293	185:185	165:202	290:307	140:179	153:153	263:263	190:190	317:327	82:88	161:171	357:359	223:229	241:251	243:249	218:218	243:243	181:194	246:260	254:272	142:149
FUSCA	BGVCAM1221	175:185	173:187	290:294	165:165	151:151	263:263	180:180	321:321	88:88	150:163	363:365	229:235	241:245	249:265	208:212	237:253	179:185	246:246	239:239	131:133
GALLETTA ROSA	BGVCAM1324	173:185	187:206	290:294	165:167	151:151	263:263	188:190	321:321	82:84	161:163	357:365	225:229	241:247	265:265	208:208	247:253	183:194	238:246	260:270	131:135
GALLURA ZENNI DE DAMASCO	BGVCAM1270	167:189	167:200	290:294	167:167	151:151	263:263	180:186	319:327	84:88	161:171	361:389	229:237	241:245	249:255	208:212	243:247	185:185	238:260	250:254	142:153
GATETA	BGVCAM0981	175:189	173:175	290:307	167:169	151:151	256:256	176:192	306:317	84:84	158:171	365:365	237:237	237:247	249:249	208:208	239:253	181:183	246:260	239:250	144:151
GEMRE	BGVCAM1387	185:189	173:183	290:290	179:179	151:153	263:263	174:182	317:321	84:84	158:163	357:357	231:233	241:247	249:255	208:208	237:247	185:185	238:260	254:256	131:144
GENERAL DE LA MARMORA	BGVCAM1388	173:185	173:173	290:294	167:169	157:159	263:263	182:192	317:321	86:88	163:163	372:375	233:233	241:245	249:255	212:212	253:253	181:185	236:238	250:239	133:142
GLACIÈRE	BGVCAM1495	175:185	165:189	290:290	167:169	151:151	263:263	190:196	321:321	84:88	161:173	357:361	229:237	241:241	243:255	208:210	239:253	179:185	248:260	248:250	133:144
GOLD	BGVCAM1825	167:185	173:206	290:290	165:167	151:157	263:263	180:188	317:321	86:88	163:181	372:372	231:235	237:247	249:255	208:218	253:253	179:179	238:246	248:270	133:133
GOLDEN HILL	BGVCAM1762	185:185	183:202	290:294	167:167	151:153	263:263	180:190	317:321	84:88	152:161	357:375	231:235	241:247	249:255	208:210	253:253	185:194	246:262	260:270	133:135
GRADISKA	BGVCAM2125	171:173	173:173	290:294	165:165	151:159	263:263	180:194	317:321	88:88	152:177	363:375	225:235	241:245	249:255	208:212	253:253	185:194	250:270	250:239	135:142
GRAZIELLA I	BGVCAM1325	167:185	179:189	290:294	167:167	151:157	261:263	180:188	317:319	82:82	152:175	357:363	231:233	247:247	249:249	208:212	237:247	179:194	246:270	262:270	144:149
GRAZIELLA II	BGVCAM1414	167:185	179:189	290:294	167:167	151:157	261:263	180:188	317:319	82:82	152:175	357:363	231:233	247:247	249:249	208:212	237:247	179:194	246:270	262:270	144:149
GREC	BGVCAM0820	185:189	183:183	290:290	167:167	153:153	263:263	190:196	317:317	82:84	163:171	365:365	231:233	237:237	249:255	208:218	237:247	185:189	260:262	254:270	133:142
GROS COLMAN	BGVCAM0984	175:185	167:167	294:294	165:167	151:151	256:256	188:190	317:327	82:84	158:163	357:357	223:233	245:253	249:249	208:208	237:253	179:185	230:246	250:270	131:133
GROS MAROC	BGVCAM1271	175:185	173:173	288:294	167:167	151:159	263:263	180:196	306:317	82:88	171:171	359:361	225:235	237:247	249:255	208:208	253:260	179:185	262:266	248:270	151:151
GROS VERT	BGVCAM1449	171:185	173:187	294:294	167:169	151:151	263:263	182:190	321:321	84:88	152:171	357:372	223:235	241:247	249:255	208:212	237:253	179:194	236:250	270:239	131:135
HAFIZ ALI	BGVCAM1763	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
HELVANY ROUGE	BGVCAM1496	185:185	165:202	290:307	140:179	153:153	263:263	190:190	317:327	82:88	161:171	357:359	223:229	241:251	243:249	218:218	243:243	181:194	246:260	254:272	142:149

Anexos

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
HIMONIATICO	BGVCAM1734	167:167	181:189	290:294	167:167	151:151	263:263	188:192	317:321	84:88	158:175	357:389	229:233	237:247	255:265	208:212	237:243	181:181	246:246	248:248	131:149
IGNEA	BGVCAM1407	175:185	173:206	290:294	165:167	151:159	263:263	182:194	321:321	84:88	163:163	363:389	229:233	245:249	255:265	208:212	247:253	185:194	236:246	262:239	131:142
IMPERIAL ROJA	BGVCAM1615	185:189	187:187	290:290	145:167	153:153	263:263	184:190	327:327	82:88	152:152	361:375	229:231	241:249	255:255	208:208	237:253	183:194	248:250	254:270	131:131
IMPERO	BGVCAM1389	167:185	187:206	290:294	165:165	151:157	263:263	182:188	321:321	84:86	152:171	365:372	229:235	241:247	255:255	208:212	237:247	179:179	246:246	270:270	135:149
INZOLIA NERA	BGVCAM1435	167:167	173:191	290:290	167:167	151:157	263:263	192:196	319:331	84:88	163:171	357:375	225:237	237:245	243:249	208:208	237:253	183:185	236:260	248:256	131:133
ITALIA	BGVCAM0986	173:185	173:206	290:294	165:167	157:159	263:263	180:188	321:321	86:88	171:177	372:375	229:235	241:245	249:255	208:212	237:247	179:194	236:246	250:270	131:149
ITALIA X SULTANINA V-6	BGVCAM1331	167:173	173:202	290:307	165:165	157:159	263:263	174:188	321:321	88:88	158:171	357:372	231:235	245:247	247:255	208:212	237:237	179:181	246:246	248:270	131:144
ITALIA X SULTANINA VI-4	BGVCAM1332	167:185	189:206	294:307	165:165	157:159	263:263	174:188	317:321	88:88	171:177	357:372	225:235	245:247	249:249	208:212	239:247	194:194	220:246	250:256	131:149
JANTAR	BGVCAM1812	185:185	167:189	290:294	167:167	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:150	361:372	229:233	247:247	255:265	208:212	239:253	179:185	260:270	256:270	131:133
JAOMET	BGVCAM1390	173:185	167:173	288:290	140:167	151:159	256:256	190:194	321:321	82:88	163:177	365:365	235:237	231:237	249:255	208:208	237:239	185:194	236:236	250:270	131:131
JAPINKAY	BGVCAM0988	185:189	175:206	290:307	167:167	151:151	256:263	188:190	319:321	84:84	163:167	365:365	225:237	237:247	243:249	208:208	239:239	185:194	238:250	254:256	131:144
JAUMIN	BGVCAM0990	173:185	167:173	288:290	140:167	151:159	256:256	190:194	321:321	82:88	163:177	365:365	235:237	231:237	249:255	208:208	237:239	185:194	236:236	250:270	131:131
JERÓNIMO DE TUDELA	BGVCAM0825	185:189	167:187	290:294	167:169	153:153	263:263	184:190	321:327	84:88	152:161	361:372	231:235	241:241	249:249	208:210	253:253	194:194	250:260	248:270	133:142
JOUANENC	BGVCAM0826	171:185	165:173	288:290	169:175	153:153	256:263	194:196	319:321	84:88	171:177	365:372	225:233	245:245	249:255	208:208	239:247	185:185	236:248	250:260	144:155
JUBILEJ	BGVCAM1813	173:185	173:206	290:294	165:167	157:159	263:263	180:188	321:321	86:88	171:177	372:375	229:235	241:245	249:255	208:212	237:247	179:194	236:246	250:270	131:149
JULY MUSCAT	BGVCAM1826	173:189	167:173	290:294	167:167	151:151	263:263	180:188	317:317	84:86	150:171	372:389	233:235	245:247	255:255	212:212	239:253	179:185	246:270	270:270	131:133
KALILI	BGVCAM2362	167:194	173:183	290:294	149:167	151:153	256:267	188:188	317:321	84:88	163:163	357:365	231:237	233:247	249:255	208:212	237:239	179:185	246:260	248:260	123:133
KÉRINO	BGVCAM1294	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
KOVER SZOLO	BGVCAM2255	185:185	173:173	294:298	167:169	151:151	263:263	184:196	321:323	82:88	158:163	365:375	225:237	237:253	249:257	208:208	237:239	179:194	248:262	250:270	131:144
LACRIMA DI MARIA	BGVCAM1222	167:185	189:206	290:307	169:177	151:153	263:263	190:190	321:321	84:88	171:175	372:389	223:237	231:237	249:255	208:212	247:253	185:194	246:250	248:250	135:149
LADY DOWNE'S SEEDLING	BGVCAM1497	167:185	173:181	288:294	167:167	149:151	263:263	192:196	317:317	82:88	163:171	359:375	225:229	247:247	249:255	208:212	247:260	179:185	246:262	248:262	149:151
LASSINA	BGVCAM1238	167:185	167:173	290:294	165:169	151:153	263:263	184:190	323:327	82:84	163:171	361:365	225:243	231:237	249:257	206:212	237:237	179:181	238:248	254:239	131:131
LATINA	BGVCAM1326	173:185	173:183	290:294	167:167	151:157	263:263	188:192	321:321	88:93	161:171	357:375	225:229	237:245	249:255	208:212	247:253	181:194	236:238	260:270	133:149
LATTUARIO NERO	BGVCAM0994	185:185	189:202	290:290	179:181	149:151	263:263	180:186	317:321	84:88	161:171	359:370	235:243	245:251	249:265	208:218	243:247	179:194	246:260	258:260	149:155
LEOPOLD III	BGVCAM1338	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
LIVAL	BGVCAM2440	175:185	173:206	288:294	167:175	151:153	256:256	188:194	321:327	84:88	158:171	357:365	223:233	245:253	249:249	208:212	237:247	185:185	236:246	260:270	131:155
LOCAL BLACK	BGVCAM1213	167:173	183:189	290:294	167:169	151:157	263:263	192:192	317:321	82:88	150:158	357:389	229:235	237:243	249:249	212:212	237:247	181:194	246:246	248:254	131:149
LOCAL WHITE XYNISTERI	BGVCAM1210	167:185	173:183	290:290	167:167	151:153	256:263	184:192	319:327	82:82	152:163	357:357	225:225	237:245	249:255	208:212	237:237	187:194	238:238	250:270	131:142
LOMBARDIA	BGVCAM1408	175:185	173:173	294:294	165:167	157:159	263:263	180:182	321:321	86:86	163:177	363:372	229:235	245:245	249:249	208:212	247:253	185:194	236:246	250:270	133:149
LOOSE PERLETTE	BGVCAM1458	167:189	167:189	290:290	167:167	151:157	261:263	174:180	317:319	84:88	150:181	372:399	231:233	245:251	249:255	208:208	237:239	179:181	236:246	248:270	131:144
LORD ROTHERMERE	BGVCAM1436	173:173	173:173	290:294	165:169	151:159	263:263	180:182	317:321	86:86	163:163	357:389	233:233	245:245	249:265	212:218	253:253	179:185	220:228	270:270	133:133
LUGLIENGA BIANCA	BGVCAM0997	171:185	165:173	288:290	169:175	153:153	256:263	194:196	319:321	84:88	171:177	365:372	225:233	245:245	249:255	208:208	239:247	185:185	236:248	250:260	144:155
LUISA BLANCA	BGVCAM0998	173:189	175:189	290:294	167:167	149:151	263:263	180:186	321:327	84:88	152:177	357:361	231:231	231:237	255:255	208:208	253:253	183:194	246:250	260:270	135:142
MADELEINE ANGEVINE	BGVCAM0999	173:175	183:208	290:294	165:169	153:157	263:263	180:190	317:329	84:88	163:171	357:372	233:237	245:245	243:249	212:218	239:253	181:194	220:246	239:270	133:155

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
MADELEINE ANGEVINE OBERLIN	BGVCAM2363	173:175	183:208	290:294	165:169	153:157	263:263	180:190	317:329	84:88	163:171	357:372	233:237	245:245	243:249	212:218	239:253	181:194	220:246	239:270	133:155
MADELEINE ROYALE	BGVCAM1000	167:173	173:183	294:294	167:169	157:159	263:263	180:184	317:321	84:88	163:171	372:372	225:233	241:245	249:249	212:214	239:247	181:189	220:246	250:270	151:155
MAGDALENA REAL	BGVCAM2257	167:173	173:183	294:294	167:169	157:159	263:263	180:184	317:321	84:88	163:171	372:372	225:233	241:245	249:249	212:214	239:247	181:189	220:246	250:270	151:155
MANTUO DE PILAS	BGVCAM2262	185:189	183:189	307:307	167:169	151:153	263:263	176:190	317:327	84:88	161:161	372:375	223:231	245:247	243:249	208:208	237:253	179:181	246:248	270:270	131:142
MARAWI	BGVCAM1514	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
MARENGO	BGVCAM1337	167:185	173:173	290:307	167:169	151:151	261:263	180:194	321:321	82:88	161:163	365:365	223:229	237:247	249:255	208:208	237:237	183:194	236:238	260:270	131:131
MARIA PIROVANO	BGVCAM1223	167:167	181:189	290:294	165:167	149:157	261:263	180:192	319:321	82:88	175:181	357:389	225:231	237:247	249:265	208:212	237:247	194:194	246:246	248:262	144:149
MARIA ROSA	BGVCAM1327	173:183	173:181	290:290	165:167	151:159	263:263	182:188	321:321	88:88	150:154	375:389	223:223	247:249	249:255	208:212	237:253	179:185	248:270	250:262	131:133
MARSIGLIANA	BGVCAM1391	167:171	202:202	290:290	167:177	149:157	263:263	184:192	317:321	84:88	171:181	375:389	231:235	231:245	249:255	206:212	237:243	179:194	246:250	248:254	131:155
MATHIASZ JANOS DIADALA MUSKOTALY	BGVCAM1739	185:185	181:206	294:294	167:167	151:151	263:263	184:192	317:321	82:88	163:171	365:389	225:225	237:249	249:255	208:212	247:247	179:181	238:270	262:270	142:149
MAVRI KORINZIAKI	BGVCAM1296	171:179	187:208	294:294	167:177	149:151	256:256	190:190	321:329	82:84	177:177	357:357	233:237	241:247	243:255	208:218	237:247	179:185	236:260	270:270	135:142
MAWRUD	BGVCAM1333	175:185	173:173	290:294	169:169	151:151	263:265	184:190	317:331	88:88	163:171	359:365	229:237	237:247	249:249	208:212	237:239	179:181	260:262	254:270	131:144
MISTRESS HALL	BGVCAM1498	185:185	173:181	294:294	167:167	149:159	263:263	180:188	317:321	82:82	171:175	361:375	225:229	247:247	255:255	208:212	247:253	179:185	246:262	248:270	131:151
MOLINERA	BGVCAM1423	187:189	167:187	290:290	167:169	151:153	263:263	186:190	317:321	84:88	161:163	372:375	231:235	241:247	249:249	210:210	239:253	181:194	236:260	250:270	135:144
MOLLAR CANO	BGVCAM2319	185:189	167:204	290:290	169:169	151:153	263:263	176:192	321:321	84:88	163:163	352:365	219:237	237:237	243:265	206:210	239:253	181:181	246:260	250:270	142:144
MONARCA DEL VESUBIO	BGVCAM1018	167:171	165:202	290:294	161:167	153:153	263:263	176:186	317:331	82:88	152:158	359:372	231:233	245:251	255:265	208:208	247:253	179:194	246:246	270:270	133:151
MONDINA	BGVCAM2265	173:189	179:204	290:294	165:169	153:153	263:263	182:184	319:319	84:88	163:171	365:372	223:229	237:258	247:265	212:214	237:239	189:189	220:220	239:239	131:137
MOSCATEL DE ALEJANDRÍA	BGVCAM1997	167:185	181:206	290:294	167:167	149:151	263:263	188:192	317:321	82:82	163:175	375:389	225:229	247:249	255:265	212:212	247:247	179:194	246:270	262:270	131:149
MOSCATEL DE HAMBURGO	BGVCAM1024	167:173	173:206	294:294	167:167	151:157	263:263	180:188	317:321	82:86	163:171	372:389	229:235	245:247	249:255	212:212	247:253	179:185	238:246	270:270	133:149
MOSCATEL ENCARNADO	BGVCAM1874	185:189	167:206	290:294	167:167	149:149	261:263	184:188	317:317	82:82	163:165	365:375	225:233	231:247	249:265	212:218	239:247	179:194	248:270	262:270	131:131
MOSCATO	BGVCAM2371	185:189	167:206	290:294	167:167	149:149	261:263	184:188	317:317	82:82	163:165	365:375	225:233	231:247	249:265	212:218	239:247	179:194	248:270	262:270	131:131
MOSCATO DEL ADDA	BGVCAM1028	185:185	173:206	294:298	167:167	151:153	263:263	182:192	321:325	82:88	152:175	372:375	223:225	245:249	255:265	212:218	239:247	179:185	270:270	260:262	131:131
MOSCATO DI MADRESFIELD	BGVCAM0842	167:173	173:206	294:294	167:167	151:157	263:263	180:188	317:321	82:86	163:171	372:389	229:235	245:247	249:255	212:212	247:253	179:185	238:246	270:270	133:149
MOSCATO DI TERRACINA	BGVCAM1357	183:185	167:183	294:294	165:167	149:153	263:263	184:188	317:327	82:88	161:165	363:365	223:225	247:247	243:265	212:218	237:239	179:194	250:260	256:270	131:133
MOSCATO GUSTAV SZAUTER	BGVCAM1029	167:185	167:181	290:294	165:167	151:151	263:263	184:188	321:321	82:88	152:163	365:389	223:229	247:247	249:265	212:218	247:253	194:194	246:250	239:262	131:149
MUSCAT MADAME MATHIASZ	BGVCAM1392	167:175	173:206	294:294	167:169	151:159	263:263	182:192	321:321	82:88	163:163	363:389	225:229	237:247	265:265	212:212	239:247	179:189	246:270	262:239	131:131
MUSCAT OTTONEL	BGVCAM2267	173:185	173:206	294:294	165:169	149:159	261:263	184:194	317:321	88:88	163:163	363:372	223:225	237:241	265:265	212:212	247:253	179:189	260:270	239:262	131:142
MUSCAT SAINT LAURENT	BGVCAM1393	167:175	173:206	294:294	165:169	149:159	261:263	182:184	317:321	88:88	163:177	363:372	223:225	237:241	265:265	212:212	247:253	179:189	220:248	262:239	131:142
NÁPARO	BGVCAM1717	185:189	187:187	290:290	167:167	151:153	263:263	186:190	321:327	88:88	161:163	365:375	231:237	237:247	243:249	208:210	239:253	181:183	236:260	248:270	135:144
NÁPARO	BGVCAM1717	185:189	187:187	290:290	167:167	151:153	263:263	186:190	321:327	88:88	161:163	365:375	231:237	237:247	243:249	208:210	239:253	181:183	236:260	248:270	135:144
NAPOLEON	BGVCAM2143	167:173	189:189	290:307	167:167	151:151	263:263	190:192	317:321	84:88	150:163	372:389	223:243	237:247	243:249	208:212	247:253	185:194	236:246	270:270	135:149
NAPOLEÓN	BGVCAM1907	167:189	187:189	290:294	167:167	153:153	263:263	184:186	321:321	84:88	152:161	361:365	231:235	247:249	249:255	208:210	237:253	183:194	246:250	254:270	131:133

Anexos

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
NAPOLEÓN	BGVCAM1770	167:189	187:189	290:294	167:167	153:153	263:263	184:186	321:321	84:88	152:161	361:365	231:235	247:249	249:255	208:210	237:253	183:194	246:250	254:270	131:133
NEGRA DORADA	BGVCAM2270	167:171	187:202	290:294	167:169	149:153	263:263	176:180	317:317	84:88	161:161	375:389	223:223	247:251	249:255	212:212	247:253	179:194	236:246	248:250	135:151
NEGRA TARDÍA	BGVCAM1410	167:185	187:191	290:294	145:167	151:153	263:263	176:186	317:321	88:88	152:163	357:375	223:229	237:241	243:249	208:208	237:265	185:194	248:250	254:254	133:146
NEHELESCOL	BGVCAM1394	167:185	185:185	290:290	167:181	153:157	263:263	176:182	321:321	82:84	161:161	357:372	233:233	231:241	243:249	208:208	247:253	179:185	246:248	248:250	131:142
NIGER	BGVCAM?033	167:173	189:189	290:307	167:167	151:151	263:263	190:192	317:321	84:88	150:163	372:389	223:243	237:247	243:249	208:212	247:253	185:194	236:246	270:270	135:149
NOIR HÂTIF DE MARSEILLE	BGVCAM1033	173:183	173:183	288:290	167:169	151:159	263:263	184:184	317:317	82:88	161:163	365:372	225:225	241:247	249:255	214:218	237:239	179:189	220:260	250:270	131:135
NORE	BGVCAM0846	167:185	179:183	290:290	167:167	151:153	263:263	190:190	317:317	88:88	152:163	361:361	223:231	231:237	243:255	210:218	253:253	181:194	260:262	248:270	135:142
NYMRANG	BGVCAM1821	167:185	173:189	290:290	167:167	153:153	256:263	174:186	323:323	82:84	158:181	357:365	225:231	241:245	249:255	208:218	247:253	185:194	238:246	248:256	142:151
OHANES	BGVCAM2050	185:189	187:189	290:294	167:167	149:153	263:263	180:190	317:327	84:88	152:161	357:361	231:233	231:249	255:255	208:208	253:253	183:194	246:250	260:270	131:135
OHANES	BGVCAM1424	185:189	187:189	290:294	167:167	149:153	263:263	180:190	317:327	84:88	152:161	357:361	231:233	231:249	255:255	208:208	253:253	183:194	246:250	260:270	131:135
OILLADE NOIR	BGVCAM0847	167:183	173:173	294:294	169:169	151:153	263:263	182:194	319:319	82:88	161:163	365:365	223:235	241:241	249:249	208:208	237:247	179:189	230:238	260:270	131:151
OJO DE BUEY	BGVCAM1978	167:189	167:189	290:294	167:167	153:153	263:263	176:186	317:321	88:88	161:163	365:372	235:237	237:237	249:255	208:208	253:253	181:194	236:246	254:270	133:144
OLIVETTA NERA	BGVCAM1358	185:189	187:189	290:290	167:167	151:153	263:263	186:190	321:321	84:88	152:171	357:357	229:231	231:237	249:255	208:208	237:253	185:194	248:250	250:270	131:135
OLIVETTE BARTHELET	BGVCAM1740	185:189	183:187	290:294	167:167	151:153	263:263	190:192	321:321	84:84	161:161	357:365	233:235	247:247	249:249	208:208	253:253	189:194	246:246	254:270	133:135
OLIVETTE BLANCHE	BGVCAM1450	185:185	183:202	290:294	167:167	151:153	263:263	180:190	317:321	84:88	152:161	357:375	231:235	241:247	249:255	208:210	253:253	185:194	246:262	260:270	133:135
OPALE	BGVCAM1224	173:185	173:206	290:294	165:167	157:159	263:263	180:188	321:321	86:88	171:177	372:375	229:235	241:245	249:255	208:212	237:247	179:194	236:246	250:270	131:149
OPHTALMO	BGVCAM1214	179:183	183:202	290:290	167:169	151:153	263:263	174:192	317:327	88:88	150:158	352:357	229:235	247:251	249:265	218:222	239:253	179:185	246:246	248:256	133:149
OSCARI ROSE	BGVCAM1272	171:173	189:202	290:290	179:181	149:151	263:263	180:192	317:317	84:88	152:161	357:375	235:235	245:249	249:255	208:212	247:247	181:194	248:250	254:270	151:151
PALESTINA I	BGVCAM1741	185:185	173:173	290:290	165:175	151:153	263:263	182:194	317:321	84:88	152:171	365:372	225:235	241:245	255:255	208:208	239:253	185:194	236:248	250:250	135:144
PANSE PRECOCE	BGVCAM1742	167:185	173:187	290:307	165:167	151:159	261:263	182:194	317:321	84:88	163:177	357:365	223:235	241:247	247:249	208:212	237:237	189:194	236:248	270:239	131:131
PARADISIA	BGVCAM1765	183:183	167:167	288:294	165:167	151:153	263:263	184:190	321:331	82:82	158:161	361:361	231:237	245:245	249:255	208:208	237:253	179:189	238:262	248:270	131:131
PERGOLESE	BGVCAM0855	173:175	173:173	290:294	165:167	151:159	263:263	180:182	321:321	86:88	163:163	363:389	229:233	245:245	249:265	208:212	253:253	185:185	220:246	270:239	133:142
PERLA DE CSABA	BGVCAM1268	173:189	167:208	290:294	165:167	149:157	263:263	180:194	317:329	82:88	163:163	365:372	233:233	245:247	243:265	208:212	239:239	179:181	220:270	270:270	131:155
PERLA NERA	BGVCAM0856	173:185	173:187	290:294	165:167	151:151	263:263	180:182	321:321	86:88	150:163	365:389	233:235	245:249	249:265	208:212	243:253	179:185	246:246	239:248	142:153
PERLE DE CSABA ROUGE	BGVCAM1499	167:175	173:206	294:294	167:169	151:159	263:263	182:192	321:321	82:88	163:163	363:389	225:229	237:247	265:265	212:212	239:247	179:189	246:270	262:239	131:131
PERLETTE	BGVCAM1254	167:189	167:189	290:290	167:167	151:157	261:263	174:180	317:319	84:88	150:181	372:399	231:233	245:251	249:255	208:208	237:239	179:181	236:246	248:270	131:144
PERLONA	BGVCAM1411	173:185	173:173	290:294	165:167	151:159	263:263	180:180	317:321	82:88	152:163	365:372	235:235	241:245	255:255	208:212	253:253	179:179	236:246	250:270	131:133
PEROLA DAS GESTOSA	BGVCAM2273	175:185	189:206	290:294	165:167	149:149	263:263	184:188	321:327	84:88	161:161	357:372	223:231	237:247	249:255	208:210	253:253	185:194	246:250	250:260	131:133
PIRIQUITA	BGVCAM1201	173:189	187:206	288:290	167:169	153:153	263:263	176:180	317:321	84:88	163:177	365:375	233:235	241:255	249:249	208:208	239:253	181:181	238:250	250:250	142:144
PIROVANO 093	BGVCAM1745	175:183	167:173	288:290	167:167	151:151	263:263	182:184	321:321	82:88	158:163	361:389	231:233	245:245	249:249	208:212	237:253	185:189	246:262	270:270	131:142
PIROVANO 155	BGVCAM1500	173:173	167:181	290:290	165:167	151:159	263:263	182:188	317:321	82:82	163:175	375:389	223:223	245:249	249:265	208:212	247:253	179:179	248:270	262:239	133:149
PIROVANO 159	BGVCAM1501	173:185	173:206	290:307	165:167	151:159	261:263	182:192	321:321	82:86	163:163	363:389	223:233	245:247	249:249	212:212	247:253	185:194	220:246	262:239	131:142
PIROVANO 166A	BGVCAM?003	167:185	173:189	290:294	165:167	151:157	263:263	180:194	321:321	82:84	175:181	379:389	229:231	247:251	249:255	212:218	237:253	194:194	236:246	248:262	131:139
PIROVANO 18	BGVCAM0857	167:171	173:202	290:290	167:169	149:151	263:263	182:188	319:321	82:88	171:173	348:375	225:243	237:247	249:265	212:212	237:237	181:181	246:260	260:260	142:144

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
PIROVANO 188	BGVCAM1502	167:175	173:206	294:307	167:167	151:159	261:263	180:194	321:321	84:88	163:163	389:389	223:233	245:247	249:255	208:208	247:253	185:194	220:246	262:270	131:133
PIROVANO 235	BGVCAM1743	173:185	173:183	294:294	167:167	151:157	263:263	180:192	321:321	84:86	158:163	372:389	223:233	245:247	249:255	212:212	237:239	185:194	246:246	270:270	131:155
PIROVANO 315	BGVCAM1443	173:185	173:208	294:307	165:167	151:157	263:263	190:192	317:321	84:88	163:171	372:389	223:233	245:249	249:249	208:218	247:253	194:194	220:246	239:262	131:133
PIROVANO 531	BGVCAM1503	173:185	167:206	290:294	167:167	151:153	256:263	186:190	317:321	82:88	158:171	357:357	233:235	237:253	249:249	208:212	237:253	179:185	230:246	250:270	131:135
PIROVANO 575	BGVCAM1744	167:185	167:189	290:294	167:167	151:153	263:263	188:190	321:327	82:88	161:165	363:389	223:231	237:247	249:265	218:218	239:247	179:183	246:260	256:270	131:149
PIROVANO 671	BGVCAM1504	173:173	167:181	290:290	165:167	151:159	263:263	182:188	317:321	82:82	163:175	375:389	223:223	245:249	249:265	208:212	247:253	179:179	248:270	262:239	133:149
PIROVANO 771	BGVCAM1328	173:175	173:187	290:294	165:165	151:151	256:263	182:188	317:327	88:88	158:163	357:389	233:233	245:245	249:249	208:208	253:253	185:185	236:246	250:239	133:133
PIZZUTELLO BIANCO	BGVCAM1045	167:185	167:202	290:290	161:167	149:153	263:263	182:196	317:317	88:93	173:181	348:357	233:243	245:247	249:265	208:212	237:247	179:181	246:260	256:260	144:149
PIZZUTELLO MOSCATO BIONDO	BGVCAM1329	173:185	187:202	290:294	165:167	151:151	263:263	182:192	321:321	88:88	161:163	357:375	223:225	241:247	249:265	208:208	237:253	183:194	238:246	260:270	131:135
PIZZUTELLO NERO	BGVCAM1225	185:189	167:173	290:290	167:169	149:153	263:263	182:186	317:321	84:93	171:173	357:357	229:233	241:245	249:265	208:212	239:247	181:185	248:260	256:260	131:149
PLANTA MULA	BGVCAM1158	169:189	173:175	290:307	167:167	151:159	263:263	188:192	317:321	84:88	171:177	357:365	233:237	237:247	243:255	208:212	239:239	181:183	246:256	254:270	131:131
PORTUGUES AZUL	BGVCAM2017	173:175	173:173	294:298	169:179	151:153	256:265	174:194	306:323	82:88	152:163	361:372	223:229	241:253	249:257	208:216	247:247	181:194	230:262	250:270	142:151
PRECOCE DE MALINGRE	BGVCAM1746	171:173	173:179	288:290	165:169	151:159	263:265	180:180	317:317	88:88	163:177	365:375	225:235	237:241	249:255	208:216	237:253	179:189	236:238	250:270	135:135
PRECOCSIMO	BGVCAM2277	167:175	183:206	290:294	165:167	151:157	263:263	190:194	317:321	84:88	163:175	372:389	229:233	245:249	249:255	208:212	239:247	181:194	236:246	239:270	131:155
PRIMIERA	BGVCAM0859	167:175	183:206	290:294	165:167	151:157	263:263	190:194	317:321	84:88	163:175	372:389	229:233	245:249	249:255	208:212	239:247	181:194	236:246	239:270	131:155
PRINCEPS	BGVCAM1184	173:185	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	317:317	84:86	158:171	357:389	223:235	247:253	249:249	208:212	247:253	185:185	246:246	250:270	133:149
PRINCES CHASSELAS	BGVCAM2381	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
PRINCIPESA DI PIAMONTE	BGVCAM1775	173:185	181:189	290:294	165:167	151:151	263:263	182:188	321:321	82:88	150:175	365:389	223:229	241:249	255:265	208:212	237:247	179:179	246:270	250:262	131:149
PROFESSOR ABERSON	BGVCAM1395	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
PROSPERI 008	BGVCAM1747	167:183	167:187	290:307	165:167	149:151	263:263	188:194	317:321	82:84	163:163	357:365	225:235	241:245	247:265	208:212	237:247	179:194	236:260	270:270	131:131
PROSPERI 037	BGVCAM1748	171:173	187:206	290:294	165:167	151:159	263:263	180:180	321:321	86:88	171:177	372:375	223:235	241:247	249:249	208:212	253:253	185:194	238:250	270:239	133:135
PROSPERI 102	BGVCAM1359	167:185	173:206	290:294	165:167	151:159	263:263	180:182	317:321	86:88	171:177	372:375	223:229	241:245	249:255	208:212	237:247	179:185	246:250	270:239	131:149
PROSPERI 262	BGVCAM1505	171:173	187:206	290:294	165:167	151:159	263:263	180:180	321:321	86:88	171:177	372:375	223:235	241:247	249:249	208:212	253:253	185:194	238:250	270:239	133:135
PROSPERI 285	BGVCAM1227	167:185	167:206	294:294	165:167	149:153	263:263	188:192	321:327	82:88	161:175	365:389	225:225	247:247	243:255	212:218	239:247	179:194	250:270	256:262	131:149
PRUNE DE CAZOULS	BGVCAM1451	171:189	173:189	290:290	167:169	153:153	263:263	186:196	321:321	84:88	161:171	357:357	229:229	237:241	243:249	208:208	237:239	185:194	238:248	250:260	131:144
PRUNESTA NERA	BGVCAM1396	185:189	183:189	290:290	167:167	151:153	263:263	186:190	321:327	84:88	161:161	357:361	231:237	241:249	249:255	208:210	237:253	183:185	246:260	248:270	131:133
QUEEN	BGVCAM1397	167:173	173:191	290:294	165:167	153:157	263:263	180:180	317:321	82:88	171:181	357:372	229:231	237:247	249:249	212:218	247:253	179:181	238:246	248:270	133:151
QUEEN KEARNEY	BGVCAM1473	167:173	173:191	290:294	165:167	153:157	263:263	180:180	317:321	82:88	171:181	357:372	229:231	237:247	249:249	212:218	247:253	179:181	238:246	248:270	133:151
QUIEBRATINAJA BLANCO	BGVCAM0860	175:189	183:187	290:290	167:167	151:153	263:263	176:190	317:321	84:84	152:171	361:367	223:231	237:241	249:255	208:214	247:253	183:185	246:260	254:260	135:157
QUIEBRATINAJAS	BGVCAM1258	175:189	183:187	290:290	167:167	151:153	263:263	176:190	317:321	84:84	152:171	361:367	223:231	237:241	249:255	208:214	247:253	183:185	246:260	254:260	135:157
RAGOL	BGVCAM1426	167:185	187:191	290:290	145:167	153:153	263:263	184:186	321:327	82:88	152:161	357:375	223:229	241:241	249:255	208:208	237:265	183:185	248:250	250:254	131:146
RAZAKI ISLA DE CRETA	BGVCAM1299	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
RED OHANES	BGVCAM2470	185:189	179:189	294:294	167:167	151:151	263:263	174:176	317:327	84:88	150:163	361:361	223:229	237:247	243:255	208:218	239:247	185:185	236:236	256:270	133:144

Anexos

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
REGINA	BGVCAM1347	173:185	173:206	290:294	165:167	157:159	263:263	180:188	321:321	86:88	171:177	372:375	229:235	241:245	249:255	208:212	237:247	179:194	236:246	250:270	131:149
REGINA DE BEYROUTH	BGVCAM1444	185:185	187:189	290:290	165:167	151:157	263:263	176:182	317:321	84:88	161:177	357:375	223:233	231:247	249:255	208:208	253:253	185:194	236:236	250:270	133:135
REGINA DEI VIGNETI	BGVCAM1776	185:189	167:167	290:294	167:167	151:157	263:263	174:180	317:317	84:88	150:163	361:372	223:233	245:247	255:265	208:212	239:253	179:185	236:270	270:270	131:133
REGINA ELISABETTA	BGVCAM0862	167:173	173:191	290:294	165:167	153:157	263:263	180:180	317:321	82:88	171:181	357:372	229:231	237:247	249:249	212:218	247:253	179:181	238:246	248:270	133:151
RIBIER	BGVCAM1339	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
RODI	BGVCAM1265	185:185	191:206	290:298	165:167	149:157	261:263	184:188	319:321	82:88	175:181	375:401	229:231	237:247	255:265	212:218	247:247	181:194	246:246	248:262	149:151
RODITIS	BGVCAM1300	175:179	173:189	294:307	140:167	153:153	263:263	176:180	321:321	82:88	161:163	365:372	223:225	245:247	243:249	208:208	237:239	185:194	238:250	250:270	131:144
ROI DES PRECOCES	BGVCAM1506	167:173	173:173	294:294	165:169	151:159	263:263	182:184	317:321	88:88	161:163	365:365	223:235	241:245	249:249	212:216	237:237	181:185	230:238	254:270	131:135
ROSAKI NOIR DES SEMIS	BGVCAM1507	183:185	183:189	290:294	161:167	151:153	263:267	178:188	319:321	82:88	152:158	357:357	223:225	245:247	249:255	218:218	237:247	183:185	246:260	250:254	131:151
ROSETI	BGVCAM2163	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
ROSSO GROSSO PRECOZ	BGVCAM0863	175:185	173:173	294:294	165:167	157:159	263:263	180:182	321:321	86:86	163:177	363:372	229:235	245:245	249:249	208:212	247:253	185:194	236:246	250:270	133:149
ROYAL	BGVCAM1766	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
ROYAL TERHEYDEN	BGVCAM1341	167:175	167:206	294:294	165:167	151:151	256:263	188:188	321:327	82:84	158:163	357:372	223:235	247:253	249:249	208:212	237:253	185:185	246:246	250:270	131:133
RUSAKE	BGVCAM2038	185:189	187:187	294:294	167:167	151:153	256:263	186:190	317:321	82:82	152:163	357:372	233:235	247:247	255:255	208:210	253:253	189:194	246:250	254:260	133:142
SABALKANSKOI	BGVCAM2278	185:185	167:189	290:294	167:179	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:163	357:361	223:229	237:247	255:255	208:208	247:253	185:185	236:260	256:270	131:133
SCHIRADZOULI BIANCO	BGVCAM1065	167:185	167:202	290:307	167:167	151:153	256:263	180:196	321:321	88:88	158:161	357:367	231:235	237:243	243:249	208:208	237:239	185:189	260:262	243:270	135:135
SCHIRAZ	BGVCAM1066	179:183	189:208	290:294	161:167	151:153	256:263	184:190	329:329	84:88	163:175	357:357	235:237	241:245	243:255	208:218	247:253	179:194	238:260	254:270	133:135
SELECCION BRUNI 1	BGVCAM0866	183:185	173:179	290:290	167:169	149:151	263:263	176:182	321:321	82:82	161:165	359:365	223:229	231:260	249:249	206:208	237:253	181:194	250:256	250:239	131:142
SERVANT	BGVCAM1070	171:185	173:187	294:294	167:169	151:151	263:263	182:190	321:321	84:88	152:171	357:372	223:235	241:247	249:255	208:212	237:253	179:194	236:250	270:239	131:135
SHAMI	BGVCAM1515	167:171	189:202	290:294	167:167	149:153	263:263	178:192	317:325	84:84	158:161	375:389	231:243	231:245	243:249	208:212	237:247	179:194	246:246	248:270	142:151
SIDERITIS	BGVCAM1301	185:189	183:202	290:294	167:167	153:157	263:263	176:176	327:327	84:88	161:181	357:359	233:237	245:245	249:265	212:216	243:253	185:194	246:260	270:270	146:151
SLAVJANKA	BGVCAM1817	167:185	173:189	290:298	165:165	157:159	263:263	180:184	317:317	88:88	158:177	357:365	223:231	237:241	249:249	208:212	237:239	181:181	220:236	248:250	131:131
SMEDEREVKA	BGVCAM1230	171:185	167:173	294:294	167:169	151:151	263:263	184:184	317:323	82:84	158:163	365:365	237:243	237:247	249:255	208:208	247:253	179:181	248:248	248:262	142:142
SMEDEREVKA	BGVCAM1230	171:185	167:173	294:294	167:169	151:151	263:263	184:184	317:323	82:84	158:163	365:365	237:243	237:247	249:255	208:208	247:253	179:181	248:248	248:262	142:142
SOVRANA	BGVCAM1754	173:185	173:173	294:307	167:167	151:157	261:263	180:192	317:321	82:86	171:175	372:389	229:233	245:247	247:249	208:212	237:253	181:194	236:238	250:270	131:133
SULIVAN	BGVCAM1076	175:179	173:208	290:294	167:169	151:159	263:263	190:194	317:329	84:88	163:163	357:365	233:235	237:241	243:249	212:218	239:247	179:185	238:270	239:254	131:135
SULTALHAMA	BGVCAM1903	167:185	189:191	290:298	165:167	153:157	261:263	180:184	317:319	84:88	158:181	357:399	231:231	237:251	249:255	208:218	237:247	181:194	220:246	248:248	144:151
SULTANA MOSCATA	BGVCAM1266	167:185	181:191	290:294	167:167	151:157	261:263	180:188	317:317	82:88	158:175	375:401	225:231	237:247	249:255	212:218	247:247	194:194	220:270	248:262	149:151
SULTANINA	BGVCAM1077	167:185	189:191	290:298	165:167	153:157	261:263	180:184	317:319	84:88	158:181	357:399	231:231	237:251	249:255	208:218	237:247	181:194	220:246	248:248	144:151
SULTANINA ROJA	BGVCAM1302	167:185	189:191	290:298	165:167	153:157	261:263	180:184	317:319	84:88	158:181	357:399	231:231	237:251	249:255	208:218	237:247	181:194	220:246	248:248	144:151
SULTANINA ROSADA	BGVCAM1167	167:185	189:191	290:298	165:167	153:157	261:263	180:184	317:319	84:88	158:181	357:399	231:231	237:251	249:255	208:218	237:247	181:194	220:246	248:248	144:151
SUPERBA	BGVCAM1508	173:185	173:206	294:294	167:167	159:159	263:263	180:184	321:327	82:88	152:171	365:375	229:235	245:245	249:255	208:208	237:253	185:194	236:236	270:239	131:133
SUPERFRANKENTHAL	BGVCAM1509	173:173	173:181	290:290	165:167	159:159	263:263	180:182	321:321	82:88	163:177	365:389	229:233	245:249	249:249	208:208	243:253	179:185	236:246	248:239	133:153
SUPERIOR SEEDLESS	BGVCAM2498	167:185	167:187	290:298	167:167	151:157	256:263	186:188	317:321	88:88	181:181	357:372	223:233	237:247	243:249	208:208	253:253	179:181	236:250	248:270	133:133

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
SUPERZIBIBBO	BGVCAM1801	175:185	173:187	290:294	165:169	159:159	263:263	182:194	317:317	88:88	163:177	365:365	223:233	241:245	249:265	208:212	237:253	189:194	236:270	250:239	131:142
TALISMANO	BGVCAM1330	167:171	183:191	290:298	167:167	151:153	263:263	180:184	317:321	88:88	181:181	375:401	231:231	237:251	249:255	208:218	237:247	181:194	220:220	248:260	139:144
TCHAUOTC	BGVCAM1360	185:189	187:187	290:294	165:167	151:153	256:263	190:192	317:321	82:84	161:163	365:372	233:237	241:247	249:255	208:210	253:253	181:189	246:260	254:270	133:142
TEMPRANILLA BLANCA	BGVCAM2281	185:185	167:173	288:290	169:175	153:159	256:263	176:194	319:321	84:88	161:177	365:372	225:235	237:245	253:255	208:210	237:239	185:185	236:260	250:270	131:144
TENERON DE VAUCLUSE	BGVCAM0867	171:185	173:187	294:294	167:169	151:151	263:263	182:190	321:321	84:88	152:171	357:372	223:235	241:247	249:255	208:212	237:253	179:194	236:250	270:239	131:135
TETA DE VACA	BGVCAM1877	173:185	173:189	288:290	167:177	151:151	261:263	180:188	306:317	82:88	158:171	357:375	225:229	247:251	243:249	208:208	253:253	179:185	250:266	248:250	131:151
THALLOCY LAJOS	BGVCAM1361	167:185	173:181	290:307	167:167	151:151	263:263	188:194	317:317	82:84	163:177	357:375	229:235	247:247	249:265	212:212	237:247	179:194	236:270	270:270	131:149
THERMI	BGVCAM1818	171:185	167:173	290:294	165:167	151:151	263:263	180:182	317:321	84:88	150:171	365:372	223:233	245:245	249:265	212:212	239:247	179:179	230:270	254:270	131:133
TINTA DE ORÁN	BGVCAM1638	173:185	187:206	290:290	165:167	151:151	261:263	184:190	321:321	88:88	158:158	357:375	229:235	231:251	255:255	208:214	237:237	179:185	250:262	250:250	131:131
TRENTAM BLACK	BGVCAM1510	167:173	173:187	288:294	167:177	153:159	263:263	188:194	317:331	82:84	152:163	361:367	223:229	245:247	249:255	208:208	237:247	179:189	230:246	250:260	131:151
TRIESTE	BGVCAM1755	185:185	173:206	290:294	167:167	151:159	263:263	176:182	317:321	82:88	161:175	361:375	223:225	247:249	243:265	208:218	239:253	179:185	236:270	262:270	131:133
TURCHESCA	BGVCAM1090	167:171	165:202	290:294	161:167	153:153	263:263	176:186	317:331	82:88	152:158	359:372	231:233	245:251	255:265	208:208	247:253	179:194	246:246	270:270	133:151
TURKI	BGVCAM1511	167:185	181:185	290:290	167:167	151:151	263:263	182:192	319:321	82:84	171:175	352:365	223:229	237:243	251:255	206:208	239:243	185:194	246:260	256:270	151:153
UVA DE ALMERIA	BGVCAM1091	185:189	187:189	290:294	167:167	149:153	263:263	180:190	317:327	84:88	152:161	357:361	231:233	231:249	255:255	208:208	253:253	183:194	246:250	260:270	131:135
UVA JIJONA	BGVCAM1095	183:185	173:189	288:294	167:167	151:159	263:263	180:184	319:323	88:88	163:177	361:365	223:229	237:247	249:249	208:212	239:260	179:191	230:260	254:260	135:151
VALENCÍ BLANCO	BGVCAM1853	185:185	167:167	290:290	167:169	153:153	263:263	176:190	317:321	88:88	161:177	357:372	225:237	237:241	249:253	210:218	239:253	179:194	250:260	248:270	142:144
VALENCÍ TINTO	BGVCAM1179	185:189	175:187	290:294	165:167	151:153	256:263	190:192	321:321	84:84	152:163	365:372	225:233	237:241	249:255	208:210	253:253	181:189	260:262	239:254	135:142
VERDEA	BGVCAM1823	183:183	167:167	288:294	165:167	151:153	263:263	184:190	321:331	82:82	158:161	361:361	231:237	245:245	249:255	208:208	237:253	179:189	238:262	248:270	131:131
VÉRICO	BGVCAM1215	167:183	165:189	290:290	161:179	149:151	263:263	186:190	317:321	82:84	152:175	361:370	229:237	237:249	249:249	208:208	237:247	194:194	250:260	248:254	144:151
VERNACCIA NERA	BGVCAM1512	185:185	167:175	288:294	167:177	153:153	263:263	176:190	306:321	88:88	158:171	352:357	237:243	237:237	243:255	208:212	237:260	183:185	236:260	248:270	133:151
VIVONA 378	BGVCAM1437	173:185	181:208	290:294	165:167	151:153	263:263	188:190	317:329	82:88	163:163	372:375	225:233	245:249	243:255	212:218	247:253	179:194	228:246	270:239	133:149
VOLTA	BGVCAM1101	173:183	173:173	288:290	165:167	149:151	263:263	174:184	317:317	82:88	152:154	361:375	225:233	237:247	249:265	218:218	247:253	179:185	238:248	262:270	133:151
WRATCHANSKI MISKET	BGVCAM1334	185:185	206:208	294:294	167:167	149:151	263:263	184:196	317:329	82:84	163:171	365:375	233:243	237:247	255:265	208:212	237:239	179:179	236:270	262:270	131:131
ZARIZA NA LOSIATA X BOLGAR 19-2	BGVCAM1335	185:185	167:189	290:294	167:167	151:151	263:263	174:184	317:317	82:84	150:150	361:372	229:233	247:247	255:265	208:212	239:253	179:185	260:270	256:270	131:133
ZEINI ABIAD	BGVCAM1513	171:171	183:189	290:290	177:181	149:151	263:263	180:184	317:317	84:88	158:161	357:375	221:235	231:249	249:255	208:212	247:247	181:194	250:260	270:270	151:151
ZIBIBBO	BGVCAM1413	173:185	181:189	290:294	165:167	151:151	263:263	182:188	321:321	82:88	150:175	365:389	223:229	241:249	255:265	208:212	237:247	179:179	246:270	250:262	131:149
Accesiones usadas exclusivamente en el estudio de pedigries																					
SYRAH	BGVCAM1078	167:189	173:206	290:294	165:167	151:153	263:263	182:190	319:319	88:88	163:165	361:381	223:229	237:237	247:265	208:214	239:239	189:191	220:230	239:270	131:131
MARSANNE	BGVCAM1147	183:189	173:179	288:294	165:167	151:153	263:263	180:184	321:327	88:88	177:177	365:381	223:229	237:251	243:249	206:212	239:247	189:191	236:260	239:250	131:131
UGNI BLANC	BGVCAM2001	185:185	173:187	294:294	165:169	151:151	256:263	184:190	327:333	82:88	163:171	365:375	223:229	247:251	243:249	208:208	239:253	179:183	246:250	248:270	131:142
PINOT NOIR	BGVCAM1713	167:173	173:179	288:294	165:169	151:159	263:265	180:184	317:319	88:88	152:163	365:372	225:235	237:241	249:249	214:216	237:247	185:189	220:238	239:270	135:151
ALBARRAZ	BGVCAM0791	185:189	167:173	290:307	167:167	151:153	263:263	176:188	317:321	84:86	161:177	372:375	231:235	237:237	249:249	208:210	239:239	181:185	236:236	260:270	131:144

Nombre accesión	Número accesión	VMC1B11	VMC4F31	VVIB01	VVIH54	VVIN16	VVIN73	VVIP31	VVIP60	VVIQ52	VVIV37	VVIV67	VMD5	VVMD7	VVMD21	VVMD24	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VVS2
COJONATA	BGVCAM2153	185:189	173:189	290:290	167:169	153:153	263:263	176:184	321:321	82:84	158:163	357:365	229:233	237:241	243:255	208:208	239:265	181:194	250:250	250:270	144:146
CARIÑENA	BGVCAM2194	175:185	179:187	290:294	167:167	151:153	263:263	176:178	317:327	82:84	163:171	361:375	223:225	237:237	249:253	208:214	239:253	181:185	250:260	248:250	142:144
MALVAR	BGVCAM1141	185:189	187:187	290:290	165:169	151:153	263:263	176:190	321:327	82:84	161:161	365:365	233:237	237:241	243:253	208:214	239:253	179:179	260:260	254:270	142:144
NEGRA	BGVCAM2222	173:189	179:202	294:307	169:169	151:159	263:263	176:180	306:321	84:88	163:163	365:375	231:235	247:255	249:255	208:210	247:253	181:189	260:260	250:270	135:151
TORRALBA	BGVCAM1084	185:189	183:187	290:294	167:167	151:153	263:263	176:190	321:321	88:88	152:163	361:372	231:237	231:237	249:255	210:210	239:253	181:194	236:246	248:270	133:144
BOCALILLA	BGVCAM1110	167:185	167:187	290:294	167:169	151:153	256:263	184:192	317:317	82:88	152:163	361:365	225:229	247:247	243:255	208:208	239:253	189:194	246:246	254:254	131:133
INZOLIA BIANCA	BGVCAM1735	167:171	173:189	290:298	167:167	151:153	263:263	176:196	317:321	84:84	161:163	357:365	223:237	237:245	243:249	208:208	239:253	179:183	230:260	250:256	133:142
DONGINE	BGVCAM1492	173:189	173:204	290:294	165:167	153:159	263:263	182:190	317:321	84:88	152:171	365:372	223:225	245:258	249:249	208:214	237:239	185:189	220:270	260:239	131:137
DAWN SEEDLESS	-	167:167	167:173	290:290	165:167	151:157	261:263	180:188	319:321	84:88	181:181	372:399	231:231	245:247	249:255	208:208	237:253	179:181	238:246	248:270	133:144
ALVINA	-	167:175	189:206	290:294	165:167	151:157	261:263	184:188	317:321	84:88	163:181	357:372	231:235	247:251	249:255	208:208	237:237	185:194	246:246	248:250	131:144
AUTUMN SEEDLESS	-	167:167	187:191	294:298	167:167	149:157	263:263	180:188	317:321	84:88	152:175	361:389	229:231	231:251	249:249	208:212	247:247	183:194	220:246	260:262	149:151
BLACK SEEDLESS	-	171:185	191:193	290:298	165:167	149:157	256:261	180:184	317:321	84:88	158:171	361:399	231:231	247:251	249:255	208:220	243:247	181:194	220:248	248:248	151:155
BLUSH SEEDLESS	-	167:185	187:206	290:294	165:167	153:157	256:263	186:188	317:319	88:88	163:163	365:372	233:235	241:245	243:249	208:208	237:247	181:185	250:270	250:270	131:151
CENTENNIAL SEEDLESS	-	185:185	173:191	290:290	165:167	157:157	256:263	186:188	317:321	82:88	158:181	372:372	233:235	237:237	243:249	208:218	237:253	179:194	220:238	262:270	133:133
DANUTA	-	167:185	189:191	294:294	167:167	151:157	261:263	184:188	317:317	84:88	150:158	361:375	223:231	237:247	249:255	208:218	247:253	185:194	236:270	248:256	133:149
EMPERATRIZ	-	185:185	187:189	290:294	165:167	153:153	256:263	184:186	317:317	88:88	163:181	357:372	231:233	241:251	243:255	208:218	237:253	194:194	246:250	248:250	133:144
FANTASY SEEDLESS	-	167:167	189:191	290:294	147:167	153:157	256:263	180:186	321:321	84:84	161:161	372:372	231:235	237:247	249:249	208:212	247:253	194:194	246:246	248:270	133:151
FLAME SEEDLESS	-	167:167	167:167	290:294	167:167	153:157	263:263	184:190	317:317	84:88	150:181	357:372	231:233	237:251	249:255	208:208	239:247	181:185	246:246	248:270	131:151
MADINA	-	167:175	167:189	290:290	165:167	157:157	263:263	180:184	317:317	88:88	158:181	372:399	223:231	237:247	249:255	208:218	247:253	179:194	246:246	248:250	133:151
MARROO SEEDLESS	-	167:185	187:189	290:294	165:169	149:151	256:256	190:196	317:321	82:84	158:163	365:365	233:233	237:247	249:255	208:218	247:253	194:194	236:270	270:270	133:151
MOSCATUEL	-	185:185	167:167	294:294	167:167	151:157	263:263	188:188	317:321	82:84	158:175	372:375	223:225	237:247	249:255	208:212	247:253	179:181	246:270	250:270	133:149
PASIGA	-	175:185	167:189	290:294	165:165	151:157	256:261	184:188	317:321	84:88	158:181	372:401	231:235	251:253	249:249	208:208	237:253	185:194	220:246	248:250	133:144
PERLON	-	185:189	167:187	290:294	167:169	153:157	263:263	174:186	319:319	88:88	163:181	372:399	233:233	241:245	243:255	208:208	239:253	181:181	246:260	248:270	131:133
RUBY SEEDLESS	-	167:185	181:187	290:294	167:169	151:153	256:263	188:190	317:317	82:88	163:175	372:401	225:233	237:247	249:255	208:218	237:247	194:194	260:270	262:270	131:151
RUTILIA	-	167:171	173:189	290:294	165:169	151:157	263:263	180:180	319:321	84:88	152:181	357:365	231:231	237:241	249:255	208:208	247:253	181:194	230:246	248:248	142:151
SULTANA CRIMSON	-	179:185	167:189	290:294	165:167	151:157	256:261	176:184	317:321	82:88	163:181	361:361	231:237	237:247	255:255	208:208	247:247	185:194	236:246	248:248	131:151
EXOTIC	-	175:185	189:206	290:294	167:169	151:151	256:263	184:188	321:321	82:84	158:158	357:372	235:235	237:247	249:255	208:212	253:253	185:194	246:256	254:270	133:133
MATILDE	-	185:185	167:173	290:294	165:167	157:157	256:263	188:188	317:321	86:88	163:171	357:375	233:235	245:247	255:265	208:212	237:253	179:185	246:246	250:270	131:133
MICHELE-PALIERI	-	167:187	167:167	290:294	167:169	151:153	263:263	188:190	321:321	82:88	163:163	372:375	235:235	241:253	249:249	208:210	253:253	185:194	236:246	250:270	133:135
RED-GLOBE	-	167:185	191:202	290:294	169:169	151:157	263:263	174:186	321:321	82:88	163:181	375:375	233:235	237:247	243:265	208:208	247:253	181:181	246:260	250:270	133:151
ARAMÓN	-	171:183	173:187	294:294	167:169	151:153	263:263	176:180	321:321	82:88	152:171	357:365	231:231	237:241	249:249	208:208	239:253	181:194	230:262	248:248	131:142

Anexo 2. Secuencia analizada de *VvGA1* y polimorfismos detectados (región no codificante en minúscula).

ATGAAGAGGGAGTATCATCATCCTCATCA**T**CCA**A**CTTGCTCCACGTCCCCAC
CGGCAAGGGTAAGATGTGGGATGCCGACCCCCAGCAAGACG**T**GGCATGGAT
GAGCTTCTCGCTGTTTTGGGCTACAACGTCAAGGCCTCCGACATGGCTGAGGT
GCTCAGAAGCTTGAACAGCTTGAGGAAGTTATTGTTAATGCTCAGGAGGATGG
CCTCTCTCATCTCGCTTCCGAGACTGTTCA**T**TACAACCCCTCCGATCTGTCTAA
CTGGCTTGGAAGCATGCTCTCCGAGTTCAACCC**A**CT**C**CAA**T**TGCGCCCTTGA
CAACCCATTCTTGCTCCCATCTCCCCTCTTGATTACA**C**CAATTGCAG**C**ACCCA
ACCAAAACAGGAGCCTTCCATCTTTGACTCCCCGTCTTTGGATTACGATCTCAA
AGCAATTCCAGGTAAGGCTCTTTATTCCCATATCGAACAGCCGCCGAACAGC
CACCGGCCCTCCTCTCTATCAAAGGGATAACAAGCGATTGAAGCCCACGACT
TCAGCTACAGCCAACTCGGTTTCCTCTGTTATTGGGGGTTGGGGAGTT**C**CCACC
GAGTCCGCTCGCCAGTTGTCCTTGTTGACTCGCAAGAGAC**C**GGAA**T**CAGGCA
AGTCCACACCCTAATGGCCTGTGCAGAAGCGGTCCAGCAGGAAAATCTGAAGC
TGGCTGAAGCACTTGTCAAGCAAAT**C**GGGTTCTGGCCGTGTCTCAGGCGGGA
GCCATGCGGAAGGTAGCCACCTACTTCGCCGAAGGTCTAGCTCGTCGAATCTA
CCGACTCTATCTGATAAGCCTCTCGACTCCTCGTTCTCCGATATTCTCCAGAT
GCACTTCTATGAGACCTGCCCTA**C**CTCAAATTCGCCCACTTCACCGCCAATCA
AGC**C**ATCCTTGAAGCCTTCGAGGGGAAAAAGCGGGTTCACGTCATCGATTTCA
GCATGAAACAAGGGATGCAGTGGCCTGCGCTGATGCAAGCCCTAGCCCTCCGT
CCCGGCGGGCC**G**CCCTCGTTCCGTCTAACCGGAATTGGGCCTCCTTCCACGGA
CAACACCGATCATCTGCATGAAGTGGGTTGGAAATTGGCCAGCTGGCGGAGA
CGATTCATGTGGAGTTCGAATACAGAGGTTTCGTGGCCAACAGTTTGGCAGAT
CTCGACGCATCCATGCTTGA**A**CTGCGAGATGGGGAGTCCGTGGCAGTGAATC
GGTGTTCGAGTTGCATAGTTT**G**CTGGCTCGCCCTGGGGGATTGAGAGGGT**G**CT
GTCGGCGGTGAAAGATATGAAACCAGACATAGTGACGAT**A**GTAGAGCAGGAA
GCCAACCACAACGGCCCCGTTTTCTAGACCGGTT**C**ACCGAGTCGCTTCACTAC
TACTCCACTCTGTTT**G**ACTCATTGGAAGGGTGTGGTGTGTCGCCGGTGAACACC
CAGGACAAGCTGATGTCGGAGGTATACTTGGGGCAACAGATCTGTAACGTGGT
GGCCTGCGAGGGGCCTGAGCGAGTGGAGCGGCACGAAACGCTGGCTCAGTGG
AGAGCCCGGTTGGGATCGGCGGGGTT**C**GACCCAGTGAACCTAGGGTCCAACGC
TTTCAAGCAAGCGAGTATGCTGCTGGCTCTATT**C**GCGGGTGGGGATGGGTACA
GGGTGGAGGAGAA**C**AATGGGTGTCTGATGCTGGGTTGGCACACTCGCCCCCTC
ATTGCCACCTCCGCCTGGCAACTCG**C**TAACAACCTGCCTTGCCCTCCTCCACA
CCTGCCTCCA**A**CTGAgtcgagtccccctgtgttcgtgttcactaccaacgagttgactaccctaaccgcttgtatg
acc

Anexo 4. Alineamiento de *VvGAI1* con sus proteínas homólogas en otras cinco especies vegetales.

```

          10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
VvGAI1      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
MKREYHHHPHP-----TCSTSPGTG-----KGKMWADADPQQDAG---MDELLAVLGYNVKASDMAEVAQKLEQLLVEEVIVN-----AQEDGLSHLA
RHT1 trigo  ....QDAGSGGGG--GGMG.SED-----KM.VS.AAG---EGEEV.....A...K.R.....D.....MAMGMGGVG-AGAAPDDSFAT...
d8 maíz     ....QDAGSGGG--DMG.SKD-----KM.AA.AGAGEQEEDV.....A...K.RS....D.....MAMGMGGVGGAGAT.DDGFV....
GAI Arabidopsis  ...DH..H.Q-----DK.TMMMNED.GNG--.....K.RS.E..D.....VMMS-----V...D..Q..
GAI arroz    ....QEAGSSGGSSADMG.CKD-----KV.AG.AG---EEEDV.....A...K.RS....D.....MAMGMGGVSAPGA-.DDGFV....
RGL1 Arabidopsis  ...HN.RES-----AGEG.-----SSS.TTVIKEEA.---V...V...K.RS....D..H.....M.LG-----I.N.S
RGA1 Arabidopsis  ...DH.QFQGRLSNHGTSS.S.SIS-----D..MMVKKEE.G.GNMD.....K.RS.E....L.....TMMS-----V.....
RGA1 Brassica  ...DL.QFQG--PNHGTSIAG.S.SSPAVFG.D..MMVKEEE.-----G...K.RS.E....L.....TMMG-----A...

          110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
VvGAI1      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
SETVHYNPSDLNWLGSMLSEFNPTPCALDNPFLPPISPLDYTNCSTQ----PKQEPSIFDPSLDYDLKAI PGKALYSHIEQPPQPPAPPLYQRDN
RHT1 trigo  TD.....T...S.VE....L.AP.PPLPPA.Q.N--ASTSS.VTGSG---GYFDL.PSV..S.SI.A.RP..SP.GATAPADLSADSVRD.KRM.TG
d8 maíz     TD.....S.VE....L.AP.APLPPATPA.RLASTSS.VT.GAAAGAGYFDL.PAV..S.ST.A..P..SPVAAPS-AD.STDSARE.KRM.TG
GAI Arabidopsis  T.....AE.YT..D..TDL..P---SS.-----AE.....D.ILN---FAIDS-.SSSN.GGG
GAI arroz    TD.....S.VE....L.APLPPIPPA.PAARHASTSS.VTGGG--GSGFFEL.AAA..S.ST.A.RP.SLPVVATA-DPSAADSARDTKRM.TG
RGL1 Arabidopsis  D.....G.VE...DLD..RIQEKPD-----SE...R...S.V.P-----RDEHVT.RS
RGA1 Arabidopsis  TD.....E.YS..DN...L..P.LP.SS.GLD.VLP-----S.E.CGF.AS...V..N.I.QFPAIDSSSS-SNNQNK.LK
RGA1 Brassica  TD.....AE.YS..DN..T.L..PAATTGS.ALN.E.N-----NNNNNN.FFTGG.....N.VCRRSN.FAFAV-DSSSNK.LK

          210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
VvGAI1      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
KRLKPTTSATANSVS----SVIGGWGVPTE-----SARPVVLVDSQETGIRLVHTLMACAEAVQQENLKLAEALVKQIGFLAVSQAGAMRKVATYF
RHT1 trigo  GSSTSSSS.SSSS.LGGG-AR.SVVEAAP.VAAAAANAT--P.L..V..T..A.....A.L.....SA.....PL..A..G.....A..
d8 maíz     GGSTSSSS.SSSS.MDGRTR.SVVEAAP.ATQASAAANGP.V..V..T..A.....A.L.....FSA.....PM..S..G.....A..
GAI Arabidopsis  GDTYT.NKRLKC.N-----G.VETTTATA.-----T.H.....N.V...A.L.....K...TV.....I.....
GAI arroz    GGSTSSSS.SSSS.LGGGASRGSVVEAAP.ATQGAAAANAP.V..V..T..A.....A.L.....FAA.....PT..A..G.....A..
RGL1 Arabidopsis  ..TRIESELS-----T.S..VL.....V...A.L.....N....D...HV.L..S.....
RGA1 Arabidopsis  SCSS.DSMV.ST.TGTQ-IGG...TTVTT.TTTTAAAE.T.S.I.....N.V...A.....I..N..T.....C.....
RGA1 Brassica  PSSS.DSMV.SP.P-----AG...TTVTTVT-----E.T..LI....DN.V...A.....SS..T.....

          310     320     330     340     350     360     370     380     390     400
VvGAI1      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
AEGLARRIYRLY--PDK-PLDSSFSFILQMHFYETCPYLKFAHFTANQAILEAFEGKRVHVIDFSMKQGMQWALMQLALRPGGPPSFRLTGIGPPST
RHT1 trigo  G.A...VF.FRPQ..SSL..AA.A.L.HA...S.....A.CR...V..GI.....L.....V...QP
d8 maíz     G.A...V..FRPP..SSL..AA.A.L.HA...S.....A.CR...V..GI.....L.....V...QP

```

Anexos

```

GAI Arabidopsis  ..A.....S--.SQS.I.H.L..T.....Q.....S..L.....V.....AP
GAI arroz       G.A...V..FR-PA.STL..AA.A.L.HA...S.....A.CH...V..GI.....L.....V...QP
RGL1 Arabidopsis.....I.--.RDDVAL....T..I....S.....V.ATAEK....LGLNH.L....I.....N...D.....YSL.
RGA1 Arabidopsis..A.....S--.PQNQI.HCL..T.....N..L.....E...T.....AP
RGA1 Brassica   ..A.....S--.PQTQI.H.L..T.....N..L.....E.....AA

                410      420      430      440      450      460      470      480      490      500
VvGAI1          DNTDHLHEVWGKLAQLAETIHVEFEYRGFVANSVLADLDASMLELR-----DGESVAVNSVFELHSLRLARPGGIERVLSAVKDMKPDIVTIVEQEANHN
RHT1 trigo     .E..A.QQ.....F.H..R.D.Q...L..AT...EPF..QPEGEEDPNEEP.VI.....M.R...Q..AL.K..GT.RAVR.R..V.....
d8 maíz       .E..A.QQ.....F.H..R.D.Q...L..AT...EPF..QPEG-DDTDDEP.VI.....R...Q..AL.K..GT.RAVR.R..V.....
GAI Arabidopsis..F.Y....C...H...A.....T.....P----SEI.....K..G...A.DK..GV.NQI..E.F.V...S...
GAI arroz     .E..A.QQ.....F.H..R.D.Q...L..AT...EPF..QPEGEADANEEP.VI.....R...Q..AL.K..GT.HAVR.R..V.....
RGL1 Arabidopsis..---IQ.....G...S..G.N..FKSIAL.N.S..KPE..DI.P----GL.....R...H...S.DKF..TI.SIR..M.V.....
RGA1 Arabidopsis..S.....C.....A.....P----S.T.A.....K..G.....K..GV..QI..V.F.V...S...
RGA1 Brassica  ..S.....C.....A.....P----SET.A.....K..G.T...K.FGV..QI..V.F.V...S...

                510      520      530      540      550      560      570      580      590      600
VvGAI1          GPVFLDRFTESLHYSTLFDLSLEGCGVSPV-----NTQDKLMSEVYLGQQICNVVACEGPERVERHETLAQWRARLGSAGFDPVNLGSNAF
RHT1 trigo     SGT.....M.....GSSGGPSEVSSGAAAAPAAAGT.QV.....R.....A..T.....G...N...N...ET.H....Y
d8 maíz       SGT.....M.....A.AGSG---QSTDASPAAGGT.QV.....R.....A..T.....G...S...GS..A..H....Y
GAI Arabidopsis.S.I.....VPSG-----V.....K.....D..D.....S...N.F...AAAHI....
GAI arroz     SGS.....M.....GSSGQA---ELSPPAAGGGGT.QV.....R.....A..T.....G...N...R...E..H....Y
RGL1 Arabidopsis.T.....S.....PPSQ-----RV...LF..R..L.L...ED.....N...N.F.LG..K..SI...Y
RGA1 Arabidopsis.....VPN-----V.....K...L...D.....S..GN.F..S.LA.AH.....
RGA1 Brassica  .....APS-----V.....K...L...D.....S..SN.F..S..A.AH.....

                610      620      630      640      650
VvGAI1          KQASMLLALFAGGDGYRVEENNGCLMLGWHTRPLIATSAWQLANKPALPSSTPASN
RHT1 trigo     ....T.....K...KE...T.....R..GP-----
d8 maíz       ....T.....KD...T.....RV.AAA.P-----
GAI Arabidopsis.....N..E.....SD.....K..STN-----
GAI arroz     ....T.....KE...T.....RV.AA-----
RGL1 Arabidopsis.....Y..A...N...E...L...Q.....R.INRVE-----
RGA1 Arabidopsis.....SV.NS.Q.....S.....T...K.STAAH-----
RGA1 Brassica  ....T....N..E.....S.....T...K.S-AVH-----

```

Anexo 5. Alineamiento de *VvPel* con sus proteínas homólogas en otras siete especies vegetales.

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
Vitis vinifera      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
-----MSLLFLFSLLPILGSP-----APVQDPEVVVQEVHRSINAS--RRNLG---Y
Arabidopsis thaliana MVIFS--RSFLAL.TTLLIILA.CINSSTMAQETEDLNS-----HSSSNSSTANKLPNDDGAWNEHA.KN..E.AAM.DMK.KN.TE..R.---F
Nicotiana tabacum    -----MDVYRIRI.VF..LV..TFAALT-----TATNIP..Q.SNKK.
Fragaria x ananassa MRLASSIATMHFY.TP.L.LLA.LVCVSASVENGKPVQSRFVEVVEEPRSSFNSMADRS---NDHWNEHA.DN..EIASL.DT..RN.ST..E.----
Fragaria chiloensis MRLASSRATMHFY.TP.L.LLA.LVCVSASVENGKPVQSRFVEVVEEPKSSFNSSMADRS---NDHWNEHA.DN..EIASL.DT..RN.ST..E.----
Prunus persica      -----CFVAAIAE.S.NRNGGTEELQ-----SSSNSMAARVAEDDESFNKHA.D..E..AM.DM..RN.TE..K.---F
Salix gilgiana      -----MNKERA.TIPLSL.I.LLLILA.N-----FISCS.....E.....K.---F
P59 Solanum lycopersicum -----MGGPKIKY.--...LCITFATII.SLMAHIGHYDEVWRRRAEEAKEYARNIYEPHPENVTLAFNQKLRDTPMKELKKVKGTHNNST..G..TKK.

      110      120      130      140      150      160      170      180      190      200
Vitis vinifera      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
FS-CGTGNPIDDCWRCDANWDKNRQLADCAIGFGKDAMGGKNGRIYVVTDSEDDDPVNPRPGLRLRAVHIQDEPLWIIIFKRDVMVTKLQELVMNSFKTID
Arabidopsis thaliana ..-A.....R..HLR.K..N.....RN.I..RD..Y.....PS.H.A.....R...V.....T.T...I.....
Nicotiana tabacum    KGP.RAE.A..K....P..AE...KM...L...SN.I...L.....NS...V.D.K.....YG...K.....GKN.K...SR..IVT.N....
Fragaria x ananassa ..-A.....PQ.QRH.K.P.N.G...RN.V..RD.KY...S.PGH.....R...V.....T...I.....
Fragaria chiloensis ..-A.....PQ.QRH.K..N.G...RN.V..RD.KY...S.PGH.....R...V.....T...I.....
Prunus persica      ..-.....S..Q...K...G...RN.I..RD..F...PG.....N...V.....Q...I.....
Salix gilgiana      L-.....PK.GE.....H.I..RD.K..A...G.....K...Y.....V.A.....RE..I.....
P59 Solanum lycopersicum TGP.MVT...K....P..AD..KK....M...SK.I...D.EF....NS..-YND.K.....K.....G.N.R.H..MI.Q.D...

      210      220      230      240      250      260      270      280      290      300
Vitis vinifera      ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
GRGASVHIAGGPCITITHYASNIIHGLHIHDCKQGGNANIRNSPHHSGWWTVSDGDGVSIFGGRHIWVDHCSLSNCHDGLIDAIHGSTAITISNFMTHH
Arabidopsis thaliana ...VN.A...A...Q.VT.....INV...RRT..MV.S..S.Y..R.MA..AI...SS..I..N...A.....M.....Y...
Nicotiana tabacum    ...FN...QN.AG.K.QS.....SN.R..NIVPTPGGLL.E.ED.V.LRGSDE...I...SSH...I..I.M.RAT.....VAA..N....CHF.D.
Fragaria x ananassa A..VN...Y.G...QFVT.V.....PT...MV.S..S.Y..R.MA...I...SS.....N...A.....M.....YF...
Fragaria chiloensis A..VN...Y.G...QFVT.V.....PT...MV.S..S.Y..R.MA...I...SS.....N...A.....M.....YF...
Prunus persica      ...VN...N.A...QFVT.....PT...LV.S..S.F..R.MA...A...SS.....N...A...V..VM.....HF...
Salix gilgiana      .....Q.VT.....VN...R...HV.D..S.Y..R.....S.V.....N.....YL...
P59 Solanum lycopersicum A..VN...TK.AG..LQ.IK.V.....IVE.NGGMV.DAVD.I.IR.K...I...ASY..I..V.MQR.Y.....VE...G....GHF.D.

```

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
Vitis vinifera	DKVMLLGHS	SDSYTEDKNMQVTIAFNHFGEGLVQRMPCRHRGYPFHVVNNDYTHWEMYAIGGSADPTINSQGNRFLAPNDRFKKAVTKHEDAPESE--WRHW							
Arabidopsis thaliana	NE...M.....R..L.....Y.....I.....V.....N.....GNP.A.E...RVGSWQG.--KQ.									
Nicotiana tabacum	E...F.AN.H.VL..D.KI.L.Y...KR.D.....F.F..L.....R.....SGA..I.....I.EDELLV.E..YR.KLTA.VAE.MK.									
Fragaria x ananassa	NE.....R..Q.....Y.....I.....Y...N..A.E..HRVQT-TGR--....									
Fragaria chiloensis	NE.....R..Q.....Y.....I.....Y...N..A.E..HRVQT-TGR--....									
Prunus persica	NE.....R..A.....Y.....I.....E.....YA..TNP.A.E...RVET.TTQ--.KS.									
Salix gilgiana	N.....KQ.....K.....N.E.....Q.A--.KG.									
P59 Solanum lycopersicum	NE...F.A...SSI.QV..I.L.....KR.I.....W..I.....N.....MH..IH....I..P.I...Q...R.YN...V--.MQ.									

	410	420	430	440	450	460
Vitis vinifera	NWRSEGLMLNGAFFLQSGAGASSYARRSS--LSARPSSLVGSITLGSGALGCRKGSRC-----				
Arabidopsis thalianaQ.....Y.TK...A.PA...A.--.G.K.A.V.SML.YS...K..ID.SLPPLVNLGQL					
Nicotiana tabacum	T.I.D..D.E...T.TP..DQNLLDKIDHLN-LIKPE...K..IL.KF...S.V..RP.-----					
Fragaria x ananassaL...Y.-----					
Fragaria chiloensisL...Y.VNNPEMVNAASILQ-----					
Prunus persicaL...Y.TP.....A...A.--.G.KS.AM..A..S....P..R.HP.-----					
Salix gilgianaL...Y.TA.....KA.--.G..S...S...A.A.S.V.K.....					
P59 Solanum lycopersicum	T.....N.FM...Y.TE..DPEW..KHKDLYDGI..A.AED.TWM.RFA.V...KP.KP.-----					

Anexo 6. Lista de software empleados en este trabajo.

- Arlequín 3.11 (<http://lgb.unige.ch/arlequin/>): Análisis de Equilibrio de Hardy-Weinberg, de diferenciación entre poblaciones y análisis molecular de la varianza (AMOVA).
- BioEdit 7.0.0 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>): Análisis y alineamiento de secuencias.
- Cruces 2.0 (no publicado): Estudios de parentesco.
- CYS_REC (<http://www.softberry.ru/berry.phtml>): Predicción de la estructura proteica terciaria.
- DnaSP 4 (<http://www.ub.edu/dnasp/>): Estudios de diversidad, de DL, de recombinación y de procesos de selección.
- GeneMapper 3.7 (Applied Biosystem): Análisis de perfiles microsatélites.
- Identity 1.0 (<http://www.boku.ac.at/zag/identity.htm>): Estudios de diversidad y de parentesco.
- Microsat 2 (<http://hpgl.stanford.edu/projects/microsat/>): Construcción de matrices de distancias.
- Microsatellite Toolkit (<http://animalgenomics.ucd.ie/sdeparck/ms-toolkit/>): Estudios de diversidad.
- Mstrat 4.1 (<http://www1.montpellier.inra.fr/gap/MSTRAT/mstratno.htm>): Construcción de colecciones nucleares.
- Network 4.5 (<http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>): Construcción de diagramas en red de haplotipos.
- Phase 2.1 (<http://www.stat.washington.edu/stephens/phase.html>): Inferencia de posibles haplotipos a partir de datos genotípicos.
- Phylip 3.67 (<http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>): Construcción de dendrogramas mediante UPGMA.
- Primer3 0.2 (<http://fokker.wi.mit.edu/primer3/input.htm>): Diseño de primers.
- SeqScape 2.5 (Applied Biosystem): Alineamiento de secuencias y detección de polimorfismos.
- SSPFinder (<http://www.softberry.ru/berry.phtml>): Predicción de la estructura proteica secundaria.

- Structure 2.0 (<http://pritch.bsd.uchicago.edu/software.html>): Análisis de estructura genética.
- Tassel 1.9.5
(<http://www2.maizegenetics.net/index.php?page=bioinformatics/tassel/index.html>): Análisis de asociación incluyendo la estructura en los modelos y análisis de desequilibrio de ligamiento (DL).
- Treview (<http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview.html>): Representación gráfica de dendrogramas.

9. SUMMARY

Introduction

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) is an ancient crop with a long history of human selection. Although wine grape is economically more important, table grape breeding is currently becoming more and more significant, and every year the number of new table grape varieties increases (International Union for the Protection of the New Varieties of Plants, 2006).

The extension of the grapevine culture has given place to certain confusion respecting the names of the cultivars, originating many synonyms and homonyms. So, it is difficult to know how many varieties there actually exist, though the approximate number is between 5,000 and 10,000 different cultivars. This fact makes very important the maintenance of the diversity of the species in germplasm collections and to characterize correctly the material to clarify that confusion. Given the high number of accessions integrating some collections, it is difficult to characterize them completely, and it is very useful the establishment of core collections to carry out certain studies. Such collections must be representative of most of the variability present in the total collection and the methodology existing to construct them is variable.

Some decades ago, the technique generally used to characterize the grapevine varieties consisted of morphological descriptions, but nowadays this methodology is complemented with different molecular approaches. The usage of microsatellite markers is the technique more extended in the analysis and characterization of *V. vinifera*, because they are highly polymorphic and co dominant.

Starting from a characterized collection, there exist numerous applications for the genetic improvement of grapevine. For example, pedigree studies can be interesting to know the variety transmitting a trait to the progeny to employ it in other crosses. Nevertheless, it is possible to go beyond it. Currently, one of the main aims of the genetic studies in cultured plants consists of the identification of the genes implicated in certain interesting traits and the understanding of its interaction with other genetic or environmental factors. Association studies are one of the approaches used at present for genetics research, which consist of the detection of correlation between certain mutations, haplotypes, genes or genome regions and certain phenotypes or quantitative traits.

Association analyses have been extensively used in humans for the study of the genetic basis of different diseases, but their application to plants is more recent. In grapevine,

some QTLs (Quantitative Trait Loci) have been detected and mapped, for example for the absence of seeds (seedlessness), the berry weight or some phenology traits. These studies give information about genomic regions in which there could be a gene involved in the trait. However, they identify neither the gene nor the possible polymorphism responsible of the phenotypic variation. Association studies in candidate genes imply to sequence them and to find correlation between the trait and a certain polymorphism, generally Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), which are the most abundant mutations in the genome. In grapevine, this type of studies only has been carried out with the gene *VvmybA* and the color of the grape.

The use of extant natural diversity provides advantages in resolution and breadth of survey, but can also present added difficulties in accurately assessing the true cause of an association. The most serious false positives can result when unlinked markers produce a positive association because of underlying population structure. Phenotype and polymorphism frequencies can be distinct in different populations, so if one phenotype presents a high frequency in one population, any polymorphism with a high frequency in that population will result associated with that phenotype, even if they are not related.

The resolution power of an association analysis depends on the linkage disequilibrium (LD) in the region around the candidate gene: the lower LD, the better resolution. Moreover, it is interesting knowing the evolutionary history of the gene, because if it has been subjected to selection during the domestication or the improvement process, probably it is responsible of an important trait.

In summary, in an association study it is not enough to make a statistics test, but it is required to study the population structure of the collection, the LD extension in the candidate gene and the possible existence of selective pressure. Finally, knowing if the associated polymorphism produces a change in the protein structure can be a definitive support, especially if the functionality is presumably affected.

In last decades, the Muscat flavor and the absence of seeds have been the main interesting traits in table grape. In this work, we decided to study the genetic basis of the traits related to the berry texture and size, the fertility and the bunch architecture and size. There could be many genes involved in these traits, but given previous studies, a negative regulator of gibberellins response (*VvGAI1*) and the gene of the pectate lyase (*VvPel*) were selected.

The gene *VvGAI1* (DELLA subfamily, GRAS family) was described for a mutant derived from cultivar Pinot meunier in which one polymorphism in the DELLA domain gave place

to a dwarf phenotype with a high fertility, consequence of the development of certain buds into inflorescences instead of tendrils.

The pectate lyase is a cell wall degradation enzyme that catalyses the eliminative cleavage of de-esterified pectin, which is a major component of the primary cell walls of many higher plants. Previous studies in other species have reported a relation between this enzyme and the fruit softening.

Materials and methods

The material used in this work consisted of 406 table-grape accessions belonging to the Collection of grapevine varieties at the Finca El Encín (IMIDRA). A variable number of accessions were used for the different studies. Firstly, a molecular and agronomic characterization was done using most of the material.

Characterization

For the molecular characterization, 352 accessions were used. DNA extractions were carried out from young leaves using the DNeasy 96 Plant Kit from Qiagen. Twenty nuclear STMS (VMC1B11, VMC4F3-1, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VVIB01, VVIH54, VVIN16, VVIN73, VVIP31, VVIP60, VVIQ52, VVIV37, VVIV67 and VVS2) were analyzed by means of multiplex PCR. Diversity analysis was carried out using 263 unique genotypes and the software Identity and Microsatellite toolkit.

An agronomic characterization of 406 accessions was done by five persons during four years (2004-2007). The more complete descriptions were made during 2005 and 2006, in which five bunches were described for accession. Only one bunch was described in 2004 and a lower number of varieties were described during 2007, because it was focused in the revision of the uncertain data taken in previous years. Twenty-four descriptors for phenology, inflorescence, bunch and berry were used. Correlation analyses between the different traits described each year and within the same trait described in different years were done with SPSS15.

Pedigree study

For the pedigree study, five chloroplast microsatellites (Ccmp3, Ccmp5, Ccmp10, ccSSR9 and ccSSR14) were also analyzed in 147 accessions. Statistical analysis was carried out by means of likelihood ratios in the cases where parent / offspring combinations were found. The likelihood ratio is the quotient of the probability of the progeny genotype if it had the presumptive parents, and the probability of that genotype if it had random unrelated parents.

Association study

A standard methodology to carry out an association study in candidate genes consists of different steps. Firstly, it is important to select a candidate gene possibly involved in the trait to study, based on the literature or a QTL previously reported. Secondly, it is necessary to select a collection representing a high variability and to study its genetic structure. Thirdly, the traits must be described and the candidate gene must be sequenced in the collection. Once the polymorphisms have been identified, the haplotypes can be inferred to do an in-depth diversity and LD analysis. Knowing if selection has ever been occurred over the gene could be interesting to corroborate possible associations. Finally, the association test must be done taking in account the genetic structure of the collection, and the significant correlations can be evaluated observing the possible structural (and functional) changes in the protein generated by the polymorphisms.

Two core collections were constructed (one for each gene), using the software MStrat 4.1. The structure analysis for each core collection was carried out by means of the software Structure 2.0 and Microsat 2, Phylip 3.67 and Treeview, and five additional nuclear microsatellites were used (ssrVrZAG29, ssrVrZAG62, ssrVrZAG67, ssrVrZAG83 and ssrVrZAG112).

The primers for the amplification and sequencing of each gene were designed with Primer3 0.2. Both genes were sequenced with an AB3130 sequencer and analyzed with SeqScape 2.5 and BioEdit 7.0.0. Haplotypes were inferred with the software Phase 2.1, and the diversity, LD and selection analyses were performed using DnaSP 4 and Tassel 1.9.5. Association was evaluated taking into account the population structure, as implemented in Tassel. The possible protein structure was evaluated with the software SSPfinder y CYS_REC, implemented in the web www.softberry.com.

Results and conclusions

Characterization

The table grape varieties collection at El Encín was characterized for 42 agronomic descriptors and 20 microsatellite markers. A total of 263 unique genotypes were obtained from the analysis of 352 accessions. Only four markers (VVIP31, VMC4F3-1, VVMD28 and VVIV37) were needed to differentiate them. The Total Probability of Identity was 5.8×10^{-12} , the averaged number of alleles per locus was 10.5 and the observed heterozygosity was 0.74. The chlorotypes analysis carried out for the pedigree study supported the results obtained by other authors, with two main haplotypes represented in table grape varieties.

A data base was constructed with the agronomic descriptions. The morphologic diversity was very high in the collection studied since almost all the classes for each descriptor were observed. The fact that the descriptions were performed by different observers contributed to the objectivity of the data. The descriptions reliability was evaluated by means of correlation analyses. The texture of grapes was studied using a texture-meter and resulting values could be of interest, given the non frequent use of this instrument in grapevine.

Redundant genotypes and pedigree study

The 89 redundant genotypes corresponded to 35 possible synonyms, 15 possible sports, 5 other mutations (autotetraploid cultivars, for example) and 24 possible mistaken accessions. From them, 12 possible synonyms and 6 possible sports or mutations had not been previously described.

For the pedigree analysis, 301 non redundant genotypes were analyzed and 93 of the possible crosses obtained were studied in-depth. The pedigrees reported were classified within three different groups. Firstly, 54 pedigrees previously described in the literature were confirmed. Secondly, mistakes were detected in the literature regarding the parentage of 15 cultivars and possible real parents for them were suggested. Finally, we propose progenitors for 24 cultivars for which no pedigree information was previously available in the literature or it was incomplete. The chlorotype analysis allowed differentiating between the male and female progenitors for each hybrid in most cases. The high likelihood ratios obtained supported the reliability of the crosses.

Association study

Two core collections were constructed in different ways. The core collection for the study of the gene *VvGAI1* consisted in 127 accessions (CN127) and the collection for the study of *VvPeI* had 96 accessions (CN96). Their diversity was evaluated in comparison with the global collection from which they were obtained and between them. Both collections captured a high diversity (the CN127 accounted for the 100% and the CN96 contained the 98% of the total agronomic and molecular variability), though the way used to construct the CN96 contributed to obtain a higher Shannon Index, which indicates a more even distribution of class frequencies.

The CN127 presented 8 possible populations, which could be clustered in two bigger groups representing a possible bottleneck: one of recent cultivars obtained and selected during the improvement process (Group A) and another one of ancient varieties (Group B). The CN96 presented 6 possible populations; nevertheless, the structures of both collections were very similar. They showed one group of eastern varieties, another group of Muscat cultivars and their progenies, another of seedless varieties related to Sultanina and one group of ancient Spanish varieties, very related to the oriental cultivars.

The coding region of the gene *VvGAI1* was completely sequenced, but that of the gene *VvPeI* was not as a result of an indel, being the analyzed sequence of 1841 bp (1770 coding bp and 71 non coding bp) for the former and 1400 bp (1054 coding bp and 346 non coding bp) for the latter. Fifteen SNPs were detected in *VvGAI1* (one each 123 bp) and 32 SNPs were detected in *VvPeI* (one each 44 bp). The nucleotide diversity was $\theta = 0.0013$ for *VvGAI1* and $\theta = 0.0039$ for *VvPeI*.

Fifteen haplotypes were inferred for both genes, with two major ones in the collections analyzed. The network obtained for *VvGAI1* showed that the more ancient haplotype, which would have given place to the rest, was only present in the eastern population.

Traces of balanced selection have been detected over the gene *VvGAI1* in the group of recent cultivars (Group A) of the CN127 and over the gene *VvPeI* in the CN96. However, it is difficult to know if really there has existed selection or those traces are a consequence of other evolutionary processes, like the bottleneck happened in the Group A of the CN127. The existence of possible balanced or positive selection has been detected over certain regions of both genes too, but it could be caused by the LD with other genes of the genome, promoted by the selection of the latter and frequent in cultured species.

The LD along each gene was low enough to provide a good resolution in the association analyses. The parameter r^2 declined below 0.1 over 1600 bp in *VvGAI1* and 1200 bp in *VvPeI*.

According to the results obtained in the association analyses, the gene *VvGAI1* could be involved in the fertility, the ripening time and the berry texture.

Ripening time associated with the S_1730 for two years, explaining a 6% of the variance for that trait. Veraison time associated with the same SNP in 2005.

Certain berry texture parameters associated with the polymorphisms S_359, S_583 and S_1730. The SNPs S_359 and S_1730 could give place to a change in the tertiary structure of the protein, while the S_583 could interfere with the LHR I motive, involved in dimerization processes. The synonymous SNPs S_369 and S_630 associated with the berry deformation rate at the rupture point, showing a very low p and explaining a 17% of the variance. So, these SNPs maybe linked to another polymorphism responsible of the trait variation, possibly placed in the promoter region.

The *VvPeI* could be involved in the berry texture, as it was thought, but also in the bunch length. The data taken in 2004 and 2006 for the consistency of the flesh and different texture-meter parameters associated with the polymorphism S_1027, which could give place to changes in the secondary and tertiary protein structure. Moreover, two synonymous SNPs (S_279 and S_438) associated with some texture parameters showing a stronger significance, fact that could indicate the existence of a polymorphism linked to them, with larger effects in the texture and placed in the non-analyzed region.

The S_48 associated with the data of 2004, 2006 and 2007 for bunch length, accounting for the 17% of the total descriptor variance. The association between *VvPeI* and the bunch length is especially interesting since that possible function had not been previously described for this gene.

The results obtained in this work could be interesting for the present genetic improvement programs, given the importance of texture and ripening date for the table grape market. The bunch architecture is also very interesting, because it has major implications for disease control in the vineyard. For example, the susceptibility of different grape cultivars to Botrytis bunch rot, caused by *Botrytis cinerea*, is closely correlated with bunch architecture.