

TÍTULO DEL PROYECTO: Documentación, caracterización, y racionalización del germoplasma de vid prospectado y conservado en España. Creación de una colección nuclear

Entidades participantes: IMIDRA, IRIAF, IMIDA, ITACyL, EEAD-CSIC, DRIEMA, ICVV-CSIC, IRTA, INCAVI, IVIA, IFAPA, CCBAT, INGACAL, MBG-CSIC, EVEGA, CIFA, NEIKER, UPN, UIB, ULR.

Investigador Coordinador (OPI al que pertenece): Gregorio Muñoz Organero (IMIDRA)

TÍTULO DEL SUBPROYECTO PARTICIPADO POR EL IRIAF: El mismo. Subproyecto I Englobadas las CCAA de Madrid, Castilla-La Mancha, Castilla y León, Extremadura y Murcia.

Organismo Financiador: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y alimentaria (INIA)

Duración: desde: mayo de 2013 hasta: diciembre de 2016 (prorrogado)

Nº de Proyecto: RF2012-00027-CO5-00

Financiación: Total: 132.671,10€ / Subproyecto I: 26.410,44€

PERSONAL INVESTIGADOR DEL SUBPROYECTO PARTICIPADO POR EL IRIAF:

EQUIPO PARTICIPANTE	SITUACIÓN ADMINIST. (*)	DEDICACIÓN (UNICA O COMPARTIDA)	CENTRO
INVESTIGADOR PRINCIPAL: Gregorio Muñoz Organero	Funcionario	Compartida	IMIDRA

PERSONAL INVESTIGADOR			
Félix Cabello Sáenz de Santa M.	Funcionario	Compartida	IMIDRA
Mª Teresa de Andrés	Laboral Fijo	Compartida	IMIDRA
Laura Gaforio Nebreda	Funcionario	Compartida	IMIDRA
María Aller Díez	Contratado	Compartida	IMIDRA
Mario Bravo Cea	Contratado	Compartida	C.R. D.O. Vinos de Madrid
Jesús Martínez Gascueña	Funcionario	Compartida	IVICAM
Juan Luis Chacón Vozmediano	Funcionario	Compartida	IVICAM
Mónica Fernández González	Contratado	Compartida	Univ. Castilla-La Mancha
Adrián Martínez Cutillas	Funcionario	Compartida	IMIDA
Leonor Ruiz García	Funcionario	Compartida	IMIDA
José Antonio Rubio Cano	Contratado	Compartida	ITACYL
Jesús Yuste Bombín	Contratado	Compartida	ITACYL
César Arranz Hernández	Contratado	Compartida	ITACYL
Jesús María Ortiz Marcide	Contratado	Compartida	Univ. Politécnica Madrid
Juan Bautista González Toscano	Funcionario	Compartida	Junta de Extremadura
Eusebio Rangel Baquero	Funcionario	Compartida	Junta de Extremadura
Mª Yolanda Gogorcena Aoiz	Funcionario	Compartida	EEAD-CSIC
Rosa Giménez Soro	Funcionario	Compartida	EEAD-CSIC
Raquel Mené Benedicto	Funcionario	Compartida	Gobierno de Aragón
Luis Javier Andreu Lahoz	Funcionario	Compartida	Gobierno de Aragón
Luis Gonzaga Santesteban	Funcionario	Compartida	Univ. Pública de Navarra
Julián Suberviola Ripa	Funcionario	Compartida	DRIEMA
José Félix Cibriain Zabalza	Funcionario	Compartida	DRIEMA
Ana Sagüés Sarasa	Funcionario	Compartida	DRIEMA
Delia Sola Giménez	Funcionario	Compartida	DRIEMA
Laura Caminero Lobera	Contratado	Compartida	DRIEMA
José Miguel Martínez Zapater	Funcionario	Compartida	ICVV-CSIC
Javier Ibáñez Marcos	Funcionario	Compartida	ICVV-CSIC
José Luis Pérez Sotés	Funcionario	Compartida	ICVV-CSIC
Enrique García Escudero	Funcionario	Compartida	Gobierno La Rioja-ICVV-CSIC
Fernando Martínez de Toda	Funcionario	Compartida	Universidad de La Rioja
Anna Puig Pujol	Contratado	Compartida	IRTA-INCAVI
Robert Savé Montserrat	Contratado	Compartida	IRTA
Felicidad de Herralde Traveria	Contratado	Compartida	IRTA
Josefa Capdevila Mestres	Contratado	Compartida	IRTA-INCAVI
Carme Domingo Gustems	Funcionario	Compartida	INCAVI
Salvador Puig Rodríguez	Funcionario	Compartida	INCAVI
Josefina Bota Salort	Funcionario	Compartida	Universidad Illes Balears
Rafael Montero Silvestre	Becario	Única	IRFAP- Gob. Illes Balears
Domingo Salazar Hernández	Funcionario	Compartida	Universidad Polit. Valencia
Isabel López Cortés	Contratado	Compartida	Universidad Polit. Valencia
Borja Velázquez Martí	Funcionario	Compartida	Universidad Polit. Valencia
Fernando Viana Garrido	Contratado	Compartida	IVIA-Generalitat Valenciana
Camilo Chirivella Romero	Funcionario	Compartida	IVIA-Generalitat Valenciana
Julio García Soler	Funcionario	Compartida	IVIA-Generalitat Valenciana
Mª José Serrano Albarán	Funcionario	Compartida	IFAPA (Rancho de la Merced)
Mª Belén Puertas García	Funcionario	Compartida	IFAPA (Rancho de la Merced)
Mª Pilar Ramírez	Funcionario	Compartida	IFAPA (Cabra)
Enrico Cretazzo Scoccimarro	Contratado	Compartida	IFAPA (Churriana)
Cristo Elías Medina Cabrera	Contratado	Compartida	CCBAT
Francisco Javier González Díaz	Funcionario	Compartida	ICIA
José Antonio Pérez Ortiz	Contratado	Compartida	IFAPA (Rancho de la Merced)
Alfonso Ribas Álvarez	Funcionario	Compartida	INGACAL
Enrico Cretazzo Scoccimarro	Contratado	Compartida	IFAPA (Churriana)
Cristo Elías Medina Cabrera	Contratado	Compartida	CCBAT
Francisco Javier González Díaz	Funcionario	Compartida	ICIA
José Antonio Pérez Ortiz	Contratado	Compartida	IFAPA (Rancho de la Merced)
Emilia Díaz Losada	Contratado	Compartida	EVEGA-INGACAL
Francisco José Rego Martínez	Funcionario	Compartida	EVEGA-INGACAL
Mª Carmen Martínez Rodríguez	Funcionario	Compartida	MBG-CSIC
José Luis Santiago Blanco	Funcionario	Compartida	MBG-CSIC
Mª Soledad Taboada Plasencia	Funcionario	Compartida	MBG-CSIC
Susana Boso Alonso	O. situaciones	Compartida	MBG-CSIC
Iván González Rodríguez	O. situaciones	Compartida	MBG-CSIC
Elena Zubiaurre Murua	O. situaciones	Compartida	MBG-CSIC
Mª Dolores Loureiro Rodríguez	Contratado	Compartida	SERIDA
Mª Rafaela Gutiérrez Luque	Funcionario	Compartida	CIFA
Benito Fernández Rodríguez	Funcionario	Compartida	CIFA
Mónica Hernández Muñoz	Contratado	Compartida	NEIKER
Ana Aragonés Sagredo	Contratado	Compartida	NEIKER
Manuel Lauzirika Alonso	Funcionario	Compartida	Diputación Foral de Vizcaya
Nagore Martínez Pérez	Funcionario	Compartida	Diputación Foral de Vizcaya

OBJETIVOS

Los objetivos de este proyecto eran:

1. Establecer una metodología única de documentación en las colecciones de vid españolas, acorde con el Inventario de Recursos Fitogenéticos mantenidos en instituciones españolas y centralizar dicha información en el Centro de Recursos Fitogenéticos del INIA.
2. Instaurar un sistema normalizado para la identificación y caracterización de las variedades de vid presentes hoy en las colecciones de vid españolas, o que se puedan prospectar e incorporar en el futuro, que permita describirlas y diferenciarlas.
3. Crear una colección nuclear de vid que represente la diversidad genética vitícola en España.
4. Racionalizar el sistema de conservación del germoplasma de forma que se garantizase su pervivencia con el menor coste posible.

RESULTADOS FINALES

Fruto de los trabajos realizados sobre el total de 2.175 accesiones estudiadas (Tabla 1) fue la detección de 94 genotipos que se correspondían con variedades comerciales españolas, 77 eran extranjeras, 34 de mesa, 48 híbridos productores directos o portainjertos, 48 variedades minoritarias conocidas y 311 variedades desconocidas o nuevas minoritarias. Una vez depurada la información, y teniendo en cuenta las coincidencias, resultó que 95 genotipos correspondían a nuevas variedades de vid encontradas. De ellas, 71 se prospectaron con un nombre determinado, pero el resto (24), necesitarían un estudio bibliográfico adicional para poder llegar a la asignación de un nombre de variedad concreto, además de una investigación en las localidades de cultivo con el fin de encontrar sus verdaderas denominaciones históricas.

Tabla 1. Resultados del análisis de identificación de las 2.175 muestras analizadas

CCAA	Muestras analizadas	Variedades minoritarias conocidas	Variedades minoritarias nuevas	Muestras desconocidas	Variedades Registradas RVC
Madrid	257	9	11	6	47
Castilla y León	65	8	18	4	34
Castilla-La Mancha	46	2	40	1	3
Extremadura	25	1	1	1	7
Murcia	20	0	1	1	9
Aragón	411	18	20	42	77
La Rioja	39	2	8	11	18
Navarra	242	7	11	7	43
Cataluña	300	17	15	86	86
Valencia	137	5	8	3	50
Baleares	42	4	2	3	16
Andalucía	87	3	6	3	23
Canarias	140	7	5	10	25
Galicia	204	6	11	18	56
Asturias	27	1	2	1	9
Cantabria	104	2	2	19	20
País Vasco	29	1	2	1	17

De entre las variedades minoritarias de las que ya existía información previa a este trabajo, se han encontrado muchas que todavía se cultivan de manera vestigial en parcelas de diferentes regiones.

Estas variedades se conocen gracias a la conservación en las colecciones de variedades de vid y a las referencias históricas. Algunas se repiten en varias regiones, como las que se detallan en la Figura 5. Estos resultados son importantes porque nos muestran una distribución temporal de lo que se cultivaba en las distintas zonas, en décadas pasadas.

La presencia de variedades como Castellana Blanca (encontrada en 30 parcelas de Aragón, Navarra, Castilla y León, Madrid y Castilla-La Mancha) o Hebén (encontrada en 8 localizaciones de Cataluña, Navarra, Madrid y Castilla-La Mancha), explica ahora en parte, su implicación en el origen de muchas de las variedades de nuestro país (Ibáñez et al., 2012; Lacombe et al., 2013; Mena et al., 2014; Zinelabidine et al., 2015). Al igual que la variedad Benedicto, de origen aragonés e implicada en el origen de la variedad Tempranillo (Ibáñez et al., 2012), encontrada en 6 parcelas de Aragón, Madrid y Castilla-La Mancha. En las regiones del sur, sin embargo aunque también han aparecido variedades minoritarias conocidas, se distribuyen en un número menor de parcelas en comparación con otras Comunidades Autónomas. Dos ejemplos son las variedades Perruno Extremeño (Extremadura) y Albillo de Pozo (Castilla-La Mancha).

Interpretación de los resultados a nivel molecular

Con el total de muestras analizadas se detectaron 142 alelos diferentes, con un promedio de 17,5 alelos por marcador, y un valor promedio de PIC ("polymorphic information content") de 0,82. En la Tabla 3, se muestran los valores de los índices de diversidad obtenidos para cada uno de marcadores utilizados.

Tabla 2. H_{obs} - Heterocigosidad Observada; H_{exp} - Heterocigosidad esperada; PIC-polymorphic information content.

Locus	Nº alelos	Hobs	HExp	PIC
VVIV67	28	0,864	0,879	0,866
VMC4F3-1	21	0,84	0,876	0,863
VVIP31	19	0,877	0,879	0,867
VVS2	19	0,838	0,844	0,826
VVIV37	18	0,798	0,835	0,817
ZAG 79	17	0,82	0,832	0,812
VVMD27	12	0,795	0,841	0,821
VVIN16	8	0,678	0,687	0,63

Aunque el marcador VVIN16 presentó un número de alelos bajo, sus valores de heterocigosidad y las frecuencias alélicas observadas hacen que sea suficientemente informativo. Los rangos alélicos de todo el conjunto de loci analizados se encuentran entre los 121 y 401 pb, con una diferencia de 17 a 71 pb entre los alelos de menor y de mayor tamaño dentro de cada locus. Existen alelos ampliamente dominantes en el material estudiado, como fueron el alelo de 163 pb del marcador VVIV37, el de 251 pb de ZAG79 y el alelo de 131 pb de VVS2. De la misma manera fueron detectados 20 alelos con presencia exclusiva en una accesión. El marcador que presentó un número mayor de alelos de este tipo fue el microsatélite VVIV67, mientras que por el contrario, en el VVMD27 no se detectó ningún alelo exclusivo de accesión. Respecto a la relación de genotipos

heterocigóticos y homocigóticos para cada locus, como era de esperar, todos los marcadores son altamente heterocigóticos.

Documentación de recursos fitogenéticos en el inventario nacional.

Se consiguió unificar los datos de pasaporte de todas las colecciones de vid en España, de acuerdo con las normas internacionales de la FAO. Con este sistema queda determinado el lugar donde se han recolectado todas las muestras conservadas en colección, identificando si son muestras únicas o se han encontrado en distintos sitios. Los resultados de organización de la información por parte de todas las colecciones de vid existentes en España y de normalización de la misma han sido notables (tabla 3). Antes de comenzar el proyecto, el Centro de Recursos Fitogenéticos solo disponía de información de 2 ó 3 colecciones y en algunos casos de manera muy incompleta. En estos momentos se han actualizado y completado todos los datos de pasaporte, con unas normas comunes y utilizadas a nivel internacional y pueden consultarse en el Inventario Nacional de Vid.

Tabla 3: incorporaciones a la base de datos del CRF de accesiones conservadas en colecciones españolas de vid.

Institución	Código	Localización	Entradas en CRF a 30-10-2010	Entradas en CRF a 28-02-2017
Misión Biológica de Galicia (CSIC)	ESP009	Salcedo (PO)	0	139
Rancho de la Merced (IFAPA)	ESP074	Jerez (CA)	352	361
IMIDRA-Madrid	ESP080	Alcalá de Henares (M)	3411	3530
ITACyL-Castilla y León	ESP109	Valladolid	0	125
Gobierno de Aragón	ESP121	Zaragoza	0	397
CCBAT-Canarias	ESP172	Tacoronte (TF)	0	46
U. P. de Navarra	ESP197	Pamplona (NA)	0	255
IRFAP-Baleares	ESP200	Palma de Mallorca	18	46
IVICAM-Castilla-La Mancha	ESP216	Tomelloso (CR)	0	286
INCAVI-Cataluña	ESP220	Villafranca del P. (B)	0	315
EVENA-Navarra	ESP221	Olite (NA)	0	122
EVEGA-Galicia	ESP223	Leiro (OR)	0	259

Estudio molecular complementario con SNPs

En 2016 se llevó a cabo el estudio mediante marcadores SNPs de muestras desconocidas y de especial interés, con el fin de tratar de profundizar en la identificación y las relaciones genéticas entre las muestras estudiadas en el proyecto y también con otras variedades nacionales e internacionales existentes en la base de datos de SNPs del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV). Esta base de datos ya contaba entonces con más de 2600 genotipos diferentes para 48 SNPs. La idea era analizar cada nuevo genotipo con un total de 240 SNPs: se eligieron 363 muestras procedentes de 13 CCAA (Aragón, Asturias, Cantabria, Castilla-La Mancha, Castilla y León, Cataluña, Galicia, Islas Baleares, La Rioja, Navarra, País Vasco y Valencia), que hicieron llegar ADN al ICVV- La Rioja para su estudio.

Con los datos obtenidos y con los que ya contaba el ICVV, se llevó a cabo un análisis de tríos compatibles hijo-madre-padre utilizando el software Cervus 3.0.7. Una primera selección se llevó a cabo teniendo en cuenta el número de marcadores incompatibles en el trío, el LOD o fiabilidad, la

existencia de otros tríos con LOD parecidos, así como la existencia de información en la literatura. Así se seleccionaron tríos para 125 genotipos diferentes (de los 227 genotipados en el proyecto), para 95 de los cuales no existían datos de origen genético en el Catálogo Internacional de Variedades de Vid (www.vivc.de). En algunas ocasiones, la información disponible en la literatura científica junto al análisis de pedigríes permitió identificar con seguridad algunos genotipos, con lo que se aumentó a 106 el número de genotipos del proyecto identificados con SNPs. En cuanto al análisis de pedigríes en sí, uno de los resultados más destacables fue la aparición de la variedad femenina Hebén en 37 tríos, confirmando su papel preponderante en la conformación varietal de la viticultura ibérica y en la diseminación del clorotipo A (Lacombe et al. 2013; Zinelabidine et al. 2015). Asimismo una variedad de Aragón, muestreada en dos localizaciones, y considerada de gran antigüedad, ha resultado ser el progenitor de un número muy importante de variedades (23) entre las que se encuentran Graciano o Trepát.

El resumen global se detalla en la tabla 4, con la distribución del número de Tríos por Institución (Un mismo trío puede involucrar entre 1 y 3 instituciones).

Tabla 4: resultados de los análisis realizados con SNPs

Entidad	nº de muestras	nº de tríos
ITACyL	13	7
IVICAM	49	33
EEAD-Movera	59	49
EVENA	6	4
U. P. de Navarra	6	0
GVA	9	5
INCAVI-IRTA	138	34
UIB	21	12
CIFA	18	3
Dip. VIZCAYA	6	4
EVEGA	29	4
SERIDA	9	1

Caracterización ampelográfica.

Siguiendo la metodología propuesta en el protocolo del proyecto, se realizó la caracterización ampelográfica de las accesiones no identificadas o nuevas. Esta descripción se ha hecho en base a 73 caracteres, que incluyen los 44 caracteres CPVO y los caracteres OIV utilizados en bases de datos internacionales (European Vitis Database). La caracterización se ha realizado en 341 accesiones en base a los siguientes criterios:

1. Variedades que no están descritas en la bibliografía por tratarse de nuevas variedades minoritarias.
2. Variedades encontradas en diferentes Comunidades Autónomas con distintos nombres, a veces incluso sin nombre.

3. Variedades encontradas en una única Comunidad Autónoma pero de la que se han encontrado diferentes muestras en distintas parcelas o se han considerado de interés para su inclusión en el Registro de Variedades Comerciales.

En concreto, en el IVICAM se realizó la caracterización ampelográfica de los 31 genotipos que aparecen en la tabla 5, todos recolectados en Castilla-La Mancha.

Tabla 5: Genotipos caracterizados ampelográficamente en IVICAM

Churriago	Moribel	Rubeliza	Rojal Fusca	Albillo de Pozo
Gallera Negra	Marfileña	Jarrosuelto	Gallera Blanca	Gallera Roja
Moscatel Serrano	Flamenca	Granadera	Gordera Roja	Montonera
Serola	Pintaílla	Pintada	Teta de Vaca Tinta	Blanca del Tollo
Azargón	Tinto Fragoso	Gallera Dorada	Albilla Dorada	Lucomol
Tortozona Tinta	Tinto Bastardo	Crepa	Zurieleles	Haluqui
Mizancho				

Caracterización morfométrica. Hoja media.

Para las accesiones que resultaron “Desconocidas o Nuevas minoritarias” se realizó el estudio de la hoja media por parte de la Misión Biológica de Galicia (CSIC). Se analizaron 31 genotipos del IVICAM, 35 de EVENA, 20 de UPNA, 11 de DFB, 9 de ITACyL, 5 de UIB, 5 de ICVV, 2 de IMIDRA, 13 de INCAVI y 6 de Murcia.

Entre cuajado y envero, para cada genotipo, se recogieron 11 hojas adultas de los nudos 8 ó 9 de pámpanos fructíferos de madera del año. En cada una de las 11 hojas por accesión, se midieron los parámetros necesarios para la reconstrucción de la hoja media típica según la metodología de Martínez y Grenan (1999) (Figura 9). Para ello se realizaron previamente fotografías de cada una de las hojas, que posteriormente fueron medidas mediante el Programa analySIS 3.0 software (Soft Imaging System GmbH, Münster, Germany).

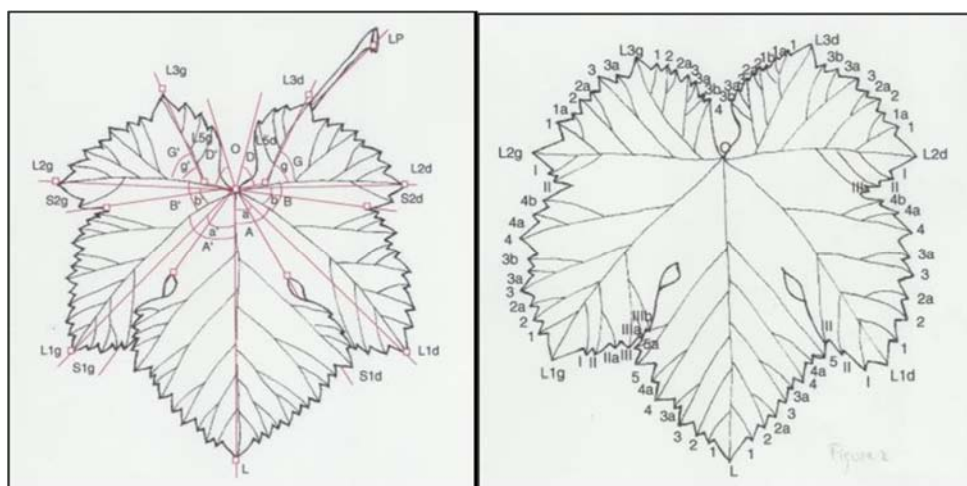


Figura 1: Parámetros medidos para la reconstrucción de la hoja media

En la Figura 2, se presentan los resultados del Análisis en Componentes Principales, en función de las relaciones calculadas a partir de los parámetros base que se muestran en la Figura 1, utilizados también para la reconstrucción de la hoja media típica. Las tres primeras componentes acumulan un 84,38 % de toda la variabilidad.

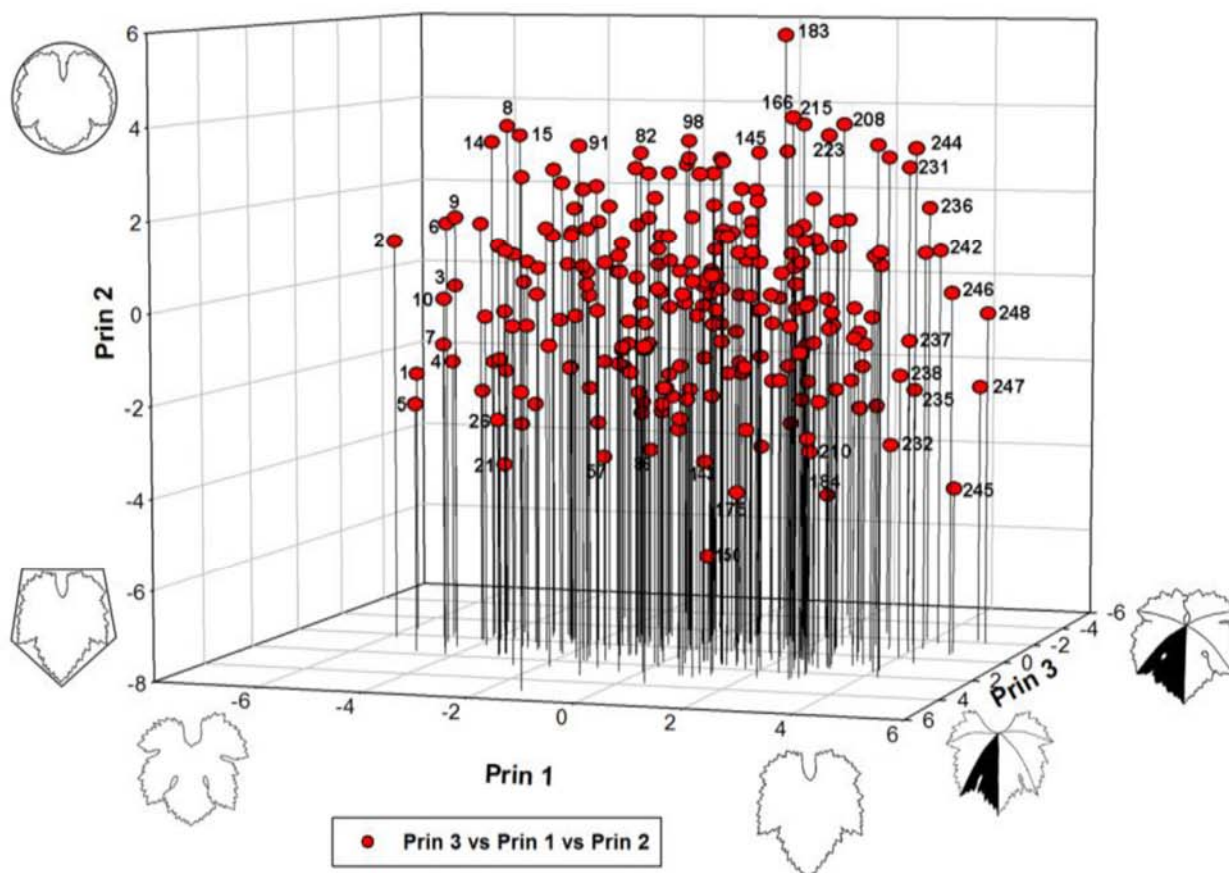


Figura 2: Resultados del Análisis en Componentes Principales (ACP). Distribución de las diferentes accesiones, en función de las tres primeras componentes.

Esta metodología resultó útil para agrupar variedades muy relacionadas genéticamente, concordando con los resultados de análisis molecular y ampelográfico (Fig.3).

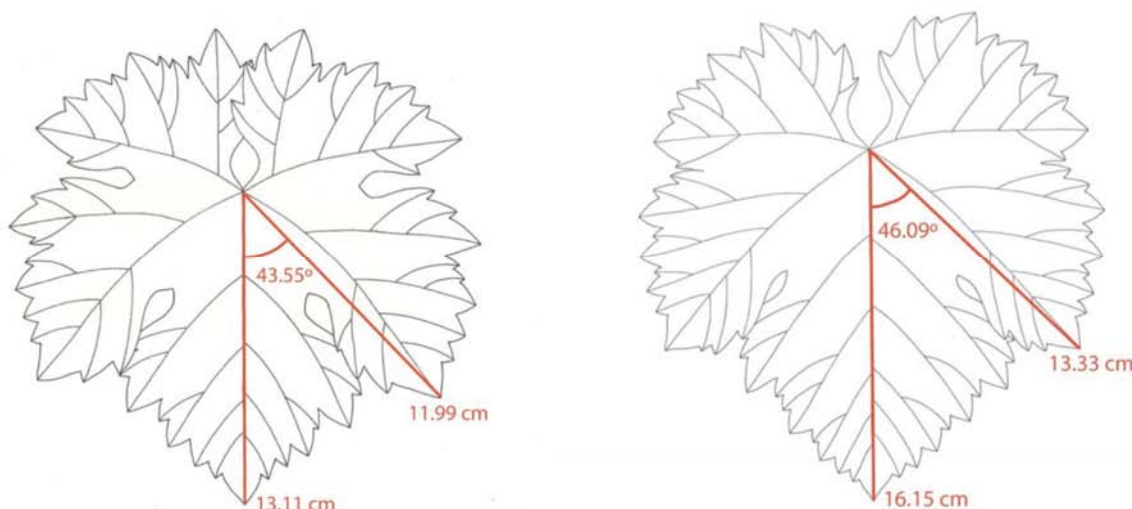


Figura 3: hojas medias de la variedad Albilla Dorada (izda) y Moribel (dcha), de Castilla-La Mancha.

Establecimiento de una colección nuclear.

Otro de los objetivos propuestos en la memoria científica era el establecimiento de una colección nuclear con el material recolectado. Para construir esta colección nuclear se empleó el software MStrat 4.1 (Gouesnard et al. 2001), basado en la “Estrategia M” o Estrategia de Maximización (Schoen y Brown 1993). Esta estrategia selecciona las accesiones integrantes de la colección nuclear maximizando el número de clases observadas en todos los loci. 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.

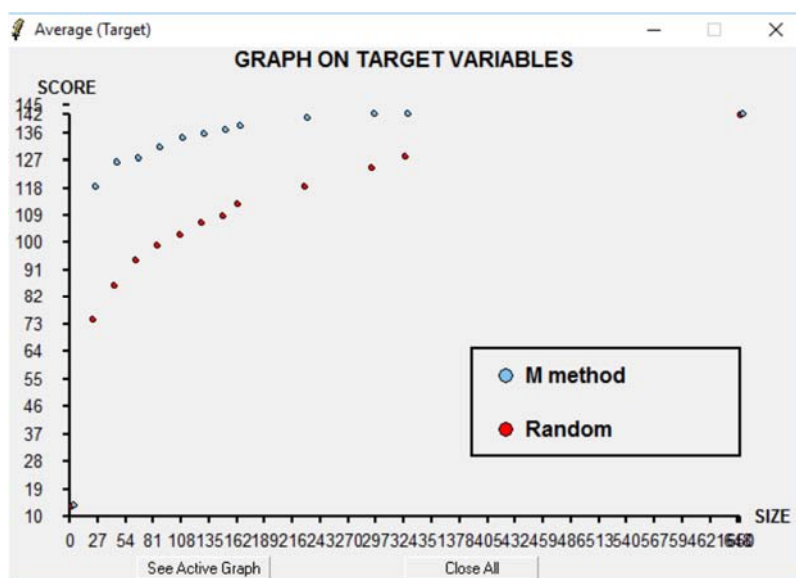


Figura 12. Curva de redundancia obtenidas mediante la Estrategia M frente a la Estrategia R (“Random”) para 9 de marcadores moleculares

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 (en la Figura 4 se muestra un ejemplo de las simulaciones llevadas a cabo).

Tras determinar la redundancia, se generaron colecciones nucleares indicando al software el número de variedades deseado y estableciendo 20 réplicas y 500 iteraciones. 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. De las diferentes colecciones de 20 accesiones obtenidas, se seleccionó aquella que presentó el mayor valor de Índice de Shannon. La colección núcleo así establecida (Tabla 6) contiene el 84% de toda la riqueza alélica detectada en las muestras analizadas en el proyecto.

Tabla 6. Colección núcleo.

	Genotipo nº	Identificación con SSRs
1	1 GEN_0404	TROBAT
2	GEN_0508	NEHELESCOL
3	GEN_0971	THOMUSCAT
4	GEN_0975	MUSKAT USBEKISTANSKII
5	GEN_1158	CHURRIAGO
6	GENP_0033	MILLARDET 41-B
7	GENP_0069	PORTAINJERTO SIN IDENTIFICAR
8	GENP_0252	CASTEL 10628
9	GENP_0756	NEGRAL
10	GENP_1013	ONDARRABI ZURIA
11	INCAVI_34	DESCONOCIDA
12	MEXT_0025	TINTA REDONDA
13	MEXT_1628	CAMPBELL EARLY
14	MEXT_1635	DESCONOCIDA
15	MEXT_1894	DESCONOCIDA
16	MEXT_2021	DESCONOCIDA
17	MEXT_2062	DESCONOCIDA
18	MEXT_3175	DESCONOCIDA
19	MEXT_3177	DESCONOCIDA
20	MEXTpp_0001	PORTAINJERTO SIN IDENTIFICA

Se **podría concluir** diciendo que la colaboración de más de 70 expertos del conjunto de Comunidades Autónomas y la utilización de las técnicas más actuales de identificación molecular permitieron la recuperación de **noventa y cinco** variedades minoritarias autóctonas de vid pertenecientes al patrimonio vitícola común, pero que habían caído en el olvido. Es la primera vez que se realiza en España un estudio de estas características desde la creación de la colección de

Villava (Navarra) por Nicolas García de los Salmones, en 1914. Los resultados derivados del proyecto contribuirán a diversificar nuestro catálogo varietal, así como a poner a disposición del sector y del mercado un material que nos permita hacer frente a las necesidades actuales y de futuro de la viticultura y la enología españolas.

BIBLIOGRAFÍA

- ARADHYA, M.K.; DANGL, G.S.; PRINS, B.H.; BOURSQUOT, J.M.; WALKER, M.A.; MEREDITH, C.P.; SIMON, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet Res.* 2003; 81:179-92.
- BALDA, P.; IBÁÑEZ, J.; SÁNCHEZ, J.C.; MARTÍNEZ DE TODA, F. 2014. Characterization and identification of minority red grape varieties recovered in Rioja, Spain. *Am J Enol Vitic.* 65 (1): 148-152
- CABELLO, F.; ORTIZ, J.M.; MUÑOZ ORGANERO, G.; RODRÍGUEZ TORRES, I.; BENITO, A.; RUBIO, C.; GARCÍA MUÑOZ, S.; SÁIZ, R. 2011. Variedades de vid en España. Editorial Agrícola. ISBN: 978-84-92928-13-2
- CABEZAS, J.A., J. IBÁÑEZ, D. LIJAVETZKY, M.D. VELEZ, G. BRAVO, V. RODRÍGUEZ, I. CARREÑO, A.M. JERMAKOW, J. CARREÑO, L. RUIZ-GARCIA, M.R. THOMAS, J.M. MARTÍNEZ-ZAPATER. 2011. A 48 SNP set for grapevine cultivar identification. *BMC Plant Biol.* 11:153. doi: 10.1186/1471-2229-11-153.
- CPVO. 2009. TP/50 Protocol for distinctness, uniformity and stability test *Vitis* L Grapevine. Community Plant Variety Office.
- GOUESNARD, B., BATAILLON, T. M., DECOUX, G., ROZALE, C., SCHOEN, D. J., & DAVID, J. L. 2001. MSTRAT: an algorithm for building germ plasm core collections by maximizing allelic or phenotypic richness. *Journal of Heredity*, 92(1), 93-94.
- IBÁÑEZ, J.; MUÑOZ ORGANERO, G.; ZINELABIDINE, N.H.; DE ANDRÉS, M.T.; CABELLO, F.; MARTÍNEZ ZAPATER, J.M. 2012. Genetic origin of the grapevine cultivar Tempranillo. *Am J Enol. Vitic.* 63(4): 549-553
- LACOMBE, T., J.-M. BOURSQUOT, V. LAUCOU, M. DI VECCHI-STARAZ, J.-P. PEROS, P. THIS. 2013. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theor. Appl. Genet.* 126:401-414. doi: 10.1007/s00122-012-1988-2.
- MARTINEZ, M. C., & GRENNAN, S. 1999. A graphic reconstruction method of an average vine leaf. *Agronomie*, 19(6), 491-507.
- MAUL, E.; SUDHARMA, K.N.; KECKE, S.; MARX, G.; MÜLLER, C.; AUDEGUIN, L.; BOSELLI, M.; BOURSQUOT, J.M.; BUCCHETTI, B.; CABELLO, F.; CARRARO, R.; CRESPIAN, M.; DE ANDRÉS, M.T.; EIRAS DIAS, J.; EKHVAIA, J.; GAFORIO, L.; GARDIMAN, M.; GRANDO, S.; GYROPOULOS, D.; JANDUROVA, O.; KISS, E.; KONTIC, J.; KOZMA, P.; LACOMBE, T.; LAUCOU, V.; LEGRAND, D.; MAGHRADZE, D.; MARINONI, D.; MALETIC, E.; MOREIRA, F.; MUÑOZ-ORGANERO, G.; NAKHUTSRISHVILI, G.; PEJIC, I.; PETERLUNGER, E.; PITSOLI, D.; POSPISILOVA, D.; PREINER, D.; RAIMONDI, S.; REGNER, F.; SAVIN, G.; SAVVIDES, S.; SCHNEIDER, A.; SERENO, C.; SIMON, S.; STARAZ, M.; ZULINI, L.; BACILIERI, R.; THIS, P. 2012. The European *Vitis* Database (www.eu-vitis.de) – a technical innovation through an online uploading and interactive modification system. *Vitis* 51 (2): 79-85
- MENA, A.; MARTINEZ, J.; FERNÁNDEZ GONZÁLEZ, M. 2014. Recovery, identification and relationships by microsatellite analysis of ancient grapevine cultivars from Castilla-La Mancha: the largest wine growing region in the world. *Genet Resour Crop Evol.* 61(3): 625-637
- OIV. 2009. OIV descriptor list for grape varieties and *Vitis* species (2nd edition). *Org Int Vigne Vin.*

RIAZ, S.; BOURSQUOT, J.M.; DANGL, G. S.; LACOMBE, T.; LAUCOU, V.; TENSCHER, A.C.; WALKER M. A. 2013. Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. BMC Plant Biol. 13:149.

SANTANA, J.C.; HEUERTZ, M.; ARRANZ, C.; RUBIO, J.A.; MARTÍNEZ ZAPATER, J.M.; HIDALGO, H. 2010. Genetic structure, origins and relationships of grapevine cultivars from the Castilian plateau of Spain. Am J Enol Vitic. 61: 214-224

SCHOEN, D. J., & BROWN, A. H. (1993). Conservation of allelic richness in wild crop relatives is aided by assessment of genetic markers. Proceedings of the national academy of sciences, 90(22), 10623-10627.

ZINELABIDINE, L.H.; CUNHA, J.; EIRAS-DIAS, J.E.; CABELLO, F.; MARTÍNEZ ZAPATER, J.M.; IBÁÑEZ, J. 2015. Pedigree analysis of the Spanish grapevine cultivar "Heben". Vitis 54 (Spec. Iss.): 81-86

FORMACIÓN DE PERSONAL EN RELACIÓN AL PROYECTO.

En caso de tesis doctorales indicar para cada una de ellas: título, nombre del doctorando, director de tesis, universidad y facultad o escuela, fechas de comienzo y de lectura, y calificación obtenida.

INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA PROPORCIONADA POR EL PROYECTO.

Artículos científicos y divulgativos, patentes, capítulos de libros, trabajos presentados a congresos, otros trabajos de difusión

El desarrollo de este proyecto permitió documentar la gran diversidad genética de la vid en España después de los vastos programas de prospección y recuperación de variedades realizada en la última década, que completaba y mejoraba los llevados a cabo a finales del siglo XIX por Nicolás García de los Salmenes. Los resultados obtenidos demuestran que en las prospecciones realizadas Por García de los Salmenes no se recogió toda la diversidad varietal de vid existente en España.

A pesar de la erosión genética sufrida por el material vegetal en nuestro país durante los últimos 100 años, se siguieron cultivando a nivel local muchas variedades minoritarias hasta el día de hoy, lo que ha permitido su recuperación.

Las técnicas actuales de identificación de material vegetal de vid, han hecho posible la recuperación de este material, que la tecnología disponible hace 100 años no permitió identificar correctamente, o no se encontró, y por lo tanto no pudo preservarse en colecciones activas.

Además del material nuevo encontrado, se han identificado un número importante de variedades conocidas que son testigos de lo que se cultivó en el pasado en las distintas regiones vitivinícolas. La información que aporta este material es de indudable valor para comprender el origen del patrimonio vitícola en España.

A raíz de los resultados obtenidos, el material nuevo encontrado se puede clasificar tres categorías:

a) Nuevas variedades minoritarias localizadas en una o más CCAA, de las que se conoce o al menos se dispone de un nombre local. Para este material hemos hecho la caracterización completa tanto molecular como morfológica. Son las más susceptibles de registrarse comercialmente si resultan interesantes desde el punto de vista vitícola y enológico.

b) Muestras de las que no se conoce/dispose de ningún nombre local (las hemos llamado Desconocidas) y que se han encontrado en varias parcelas de 1 ó más CCAA. Son variedades que en su momento se cultivaron, pero que en la actualidad sólo tienen un código alfanumérico. En ellas habría que hacer estudios adicionales, especialmente de documentación.

c) Acciones aisladas, de las que se ha localizado sólo 1 o muy pocas plantas, generalmente en una sola parcela o en estado asilvestrado. Se mantendrán de momento en colecciones de las CCAA, ya que podrían ser cruzamientos naturales, pero que estudiadas puedan tener un gran interés enológico.

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

G. Muñoz Organero; Cabello, F; Serrano, M.J.; Cretazzo, E.; Pérez, J.A.; Gogorcena, Y.; Giménez, R.; Andreu, L.J.; Usón, J.J.; Mené, R.; Loureiro, M.D.; Bota, J.; Medina, C.E.; González, F.J.; Gutiérrez, M.R.; Martínez, J.; Chacón, J.L.; Mena, A.; Fernández González, M.; Rubio, J.A.; Arranz, C.; Yuste, J.; Domingo, C.; Puig, S.; Puig, A.; González, J.B.; Díaz, E.; Ribas, A.; Rego, F.; Martínez, M.C.; Santiago, J.L.; Ruiz García, L.; Martínez Cutillas, A.; Fuentes Denia, A.; Cibriain, J.F.; Sagüés, A.; Suberviola, J.; Royo, J.B.; Santesteban, L.G.; Urrestarazu, J.; Lauzirika, M.; Fernández González, M.; Aragonés, A.; Ibáñez, J.; Baroja, E.; Pérez-Sotés, J.L.; Salazar, D.; López, I.; Velázquez, B.; Chirivella, C.; García, J.; Jiménez, C.; Ortiz, J.M.; Martínez, R.; De la Rosa, L.; De Andrés M.T. 2017. **Molecular markers and ampelography of new grape varieties prospected in Spain.** (En preparación)

- J. Ibáñez; G. Muñoz Organero; Cabello, F; Serrano, M.J.; Cretazzo, E.; Pérez, J.A.; Gogorcena, Y.; Giménez, R.; Andreu, L.J.; Usón, J.J.; Mené, R.; Loureiro, M.D.; Bota, J.; Medina, C.E.; González, F.J.; Gutiérrez, M.R.; Martínez, J.; Chacón, J.L.; Mena, A.; Fernández González, M.; Rubio, J.A.; Arranz, C.; Yuste, J.; Domingo, C.; Puig, S.; Puig, A.; González, J.B.; Díaz, E.; Ribas, A.; Rego, F.; Martínez, M.C.; Santiago, J.L.; Ruiz García, L.; Martínez Cutillas, A.; Fuentes Denia, A.; Cibriain, J.F.; Sagüés, A.; Suberviola, J.; Royo, J.B.; Santesteban, L.G.; Urrestarazu, J.; Lauzirika, M.; Fernández González, M.; Aragonés, A.; Baroja, E.; Pérez-Sotés, J.L.; Salazar, D.; López, I.; Velázquez, B.; Chirivella, C.; García, J.; Jiménez, C.; Ortiz, J.M.; Martínez, R.; De la Rosa, L.; De Andrés M.T. J. M. Martínez Zapater. 2017. **Genetic relationships of minor new and old grape varieties found in Spain.** (En preparación).

- Martínez, M.C.1*; Boso, S.1; Gago, P.1; Royo, J.B.2; Urrestarazu, J.2; Santesteban, L.G.2; Mena, A.3; Chacón, J.L.3; Martínez, J.3; Rubio, J.A.4; Barajas, E.4; Arranz, C.4; Domingo, C.5; Puig-Pujol, A.5; Muñoz, G.6; Sáenz de Santamaría, F.6; de Andrés, M.6; Chirivella, C.7; Pérez-Sotés, J.L.8; Baroja, E.8; Ibáñez, J.8; Andreu, L.J.9; Usón, J.J.9; Gogorcena, Y.10; Cibriain, J.F.11; Caminero, L.11; Rodríguez, M. 11; Ibarra, A.12; Lauzirika, M.12; El Aou-ouad, H.13; Bota, J.13; Santiago, J.L. 2017. **Diversity of Spanish grapevines as reflected in the variation of leaf morphology.** (En preparación)