



RESOLUCIÓN OIV-VITI 564B-2019

PROCEDIMIENTO DE LA OIV PARA LA RECUPERACIÓN Y LA CONSERVACIÓN DE LA DIVERSIDAD INTRAVARIETAL Y PARA LA SELECCIÓN POLICLONAL DE VARIEDADES DE VID CON UNA GRAN VARIABILIDAD GENÉTICA

LA ASAMBLEA GENERAL,

A PROPUESTA de la Comisión I “Viticultura”,

VISTO el artículo 2, párrafo 2 b) i y c) iii del Acuerdo de 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino, y habida cuenta del punto 1.c.iii del Plan Estratégico 2015-2019 de la OIV, que prevé “valorizar los conocimientos relativos a la genómica funcional de la vid y de los microorganismos”,

CONSIDERANDO los trabajos presentados en las reuniones de los grupos de expertos, en particular del Grupo de expertos “Recursos Genéticos y Selección de la Vid” (GENET), del Grupo de expertos “Protección de la Vid” (PROTEC), y a propuesta de dichos Grupos,

CONSIDERANDO las resoluciones relativas a la obtención, reproducción, conservación y propagación de clones; las Resoluciones OIV-VITI 6-1990 y OIV-VITI 1-1991, relativas al procedimiento estándar para la selección clonal de la vid, y la Resolución OIV-VITI 564A-2017, relativa al procedimiento de la OIV para la selección clonal de la vid,

DECIDE adoptar la siguiente definición de “selección policlonal” y el siguiente procedimiento de la OIV para la recuperación y la conservación de la diversidad intravarietal y para la selección policlonal de variedades de vid con una gran variabilidad genética.

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



Índice

A.	INTRODUCCIÓN	3
B.	DEFINICIÓN DE “SELECCIÓN POLICLONAL”	3
C.	METODOLOGÍA	3
1	Marco metodológico	3
2	Primer ciclo: prospección/muestreo de plantas madres en viñedos viejos de la variedad antigua.....	3
3	Segundo ciclo: ensayo de campo a gran escala con los genotipos elegidos en la prospección para la selección policlonal y la conservación de la diversidad.....	5
4.	Homologación	8
5.	Otros resultados secundarios y recomendaciones	8
6.	Resumen del procedimiento	9
	ANEXO I: GLOSARIO.....	10
	ANEXO II: SELECCIÓN GENÉTICA Y FITOSANITARIA DE LA VID (ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA)	13
1.	Bases teóricas de la genética cuantitativa para la realización de selecciones genéticas	13
2.	Evolución histórica de los métodos de selección aplicados a los cultivos agrícolas y a las variedades de vid	15
3.	Situación actual y riesgos relacionados con los recursos genéticos de <i>Vitis vinifera</i>	17
	BIBLIOGRAFÍA Y CITAS.....	19



A. INTRODUCCIÓN

Esta metodología está pensada principalmente para su aplicación a variedades antiguas de vid (*V. vinifera* L.) con una gran diversidad intravarietal.

El procedimiento se basa en la genética cuantitativa y la estadística. En particular, se basa en las innovadoras ideas propuestas por Rives (1) para la selección de la vid, desarrolladas, ensayadas y evaluadas principalmente en Portugal a partir de la década de 1970 (2). Además, en otros países, existen protocolos de selección clonal, recogidos y descritos en la Resolución OIV-VITI 2017-564A, en los que se aborda la definición de la selección clonal y los procedimientos para llevarla a cabo.

B. DEFINICIÓN DE “SELECCIÓN POLICLONAL”

La selección policlonal consiste en la selección de un conjunto de genotipos según la siguiente metodología.

C. METODOLOGÍA

1 Marco metodológico

La metodología consta de dos ciclos:

- 1) el primer ciclo se centra en la prospección e identificación —dentro de una variedad dada— del “material genético de partida” (diversidad intravarietal) con vistas a la selección;
- 2) el segundo ciclo se centra en el estudio de los genotipos muestreados y en el proceso de selección policlonal, que, a la larga, permitirá la plantación de nuevos viñedos con mejoras genéticas estables y el suministro de plantas y datos para la selección clonal.

2 Primer ciclo: prospección/muestreo de plantas madres en viñedos viejos de la variedad antigua

Para lograr la mayor variabilidad posible, se recomienda el muestreo “cuasialeatorio” de plantas sin signos visibles de virosis u otras enfermedades en el viñedo frente a la selección basada en valores fenotípicos de caracteres de interés, ya que las desviaciones ambientales sobre las plantas individuales son muy elevadas. Las plantas de la muestra se propagarán tras comprobar la ausencia de los virus más frecuentes. Solo entonces se plantarán en el terrero para el segundo ciclo.

2.1 Identificación de la(s) zona(s) de muestreo

La prospección y el muestreo del material de partida deberán realizarse en una o varias regiones vitivinícolas en las que la variedad objeto del ensayo sea tradicional (consultar fuentes históricas, literarias y administrativas con información sobre la distribución geográfica de la variedad antigua), ya que es más probable que estas regiones acumulen una gran diversidad genética dentro de dicha variedad. Restringir la selección a una sola región reduce la cantidad de diversidad sometida a selección y, por consiguiente, las mejoras genéticas que pueden obtenerse. La identificación exacta de las regiones permite una posterior extrapolación de los resultados a dichas regiones y descubrir el centro de la diversidad de la

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



variedad antigua (el lugar donde es más probable que fuera domesticada) y su evolución geográfica.

2.2 Número de viñedos y plantas que deben marcarse

El objetivo general es salvaguardar la diversidad intravarietal presente en cada región seleccionando un número adecuado de plantas. De acuerdo con distintos experimentos y simulaciones por ordenador (3), este número oscila entre 50 y 70 plantas por región: cuando una variedad está presente solo en una región, el número de plantas puede superar ampliamente las 70. En teoría, los mejores resultados se obtienen muestreando pocas plantas en cada uno de los viñedos elegidos. Por norma general, en cada región, se deben muestrear 2-3 plantas por cada 20-30 viñedos, separados y, a ser posible, de distintos propietarios (las cifras se refieren a plantas exentas de los virus de mayor prevalencia).

2.3 Criterios de elección de los viñedos y de las plantas en el viñedo

Las plantas de los viñedos elegidos para la prospección no deben estar injertadas con material procedente de procesos de selección previos (material comercial sometido a procesos de selección masal y clonal), es decir, su plantación debe ser anterior a la puesta en marcha de programas de selección y a la distribución de plantas injertadas o estacas de vivero.

La distribución geográfica de los viñedos que vayan a muestrearse deberá corresponder aproximadamente a la frecuencia de distribución de los viñedos de la región considerada en los que esté presente la variedad objeto de la selección. Es preferible muestrear en viñedos plantados con materiales que no estén relacionados entre sí (p. ej., viñedos de distintos propietarios cuando se plantaron).

En cada viñedo, se deben elegir plantas con una separación de 5 filas (como mínimo) y de más de 20 metros dentro de la fila.

Dado que, en esta fase, el objetivo principal es obtener una muestra representativa de la diversidad intravarietal de la variedad antigua con una gran variabilidad genética, se deberá evitar elegir las plantas en función de determinados caracteres. No obstante, se aconseja descartar plantas claramente indeseables (con signos de virosis o de enfermedades de la madera, anomalías fenotípicas, malformaciones, etc.) y/o plantas cuya morfología no se corresponda con la de la variedad seleccionada.

Se debe crear y mantener un sistema de referencia sencillo, tan universalmente comprensible como sea posible, para identificar la ubicación de las plantas elegidas y los viñedos de origen, permitir la posterior verificación de la representatividad del muestreo y garantizar la trazabilidad desde el genotipo seleccionado final hasta la planta madre inicial o su ubicación.

2.4 Diagnóstico virológico mediante ELISA

En esta fase es conveniente realizar pruebas de detección (ELISA) de los virus nocivos, en función del marco normativo en materia de certificación de vides vigente en cada país. No obstante, pueden obviarse en esta fase las pruebas de diagnóstico de virus con una baja prevalencia demostrada en la región, que se realizarán en una fase posterior.



3 Segundo ciclo: ensayo de campo a gran escala con los genotipos elegidos en la prospección para la selección policlonal y la conservación de la diversidad

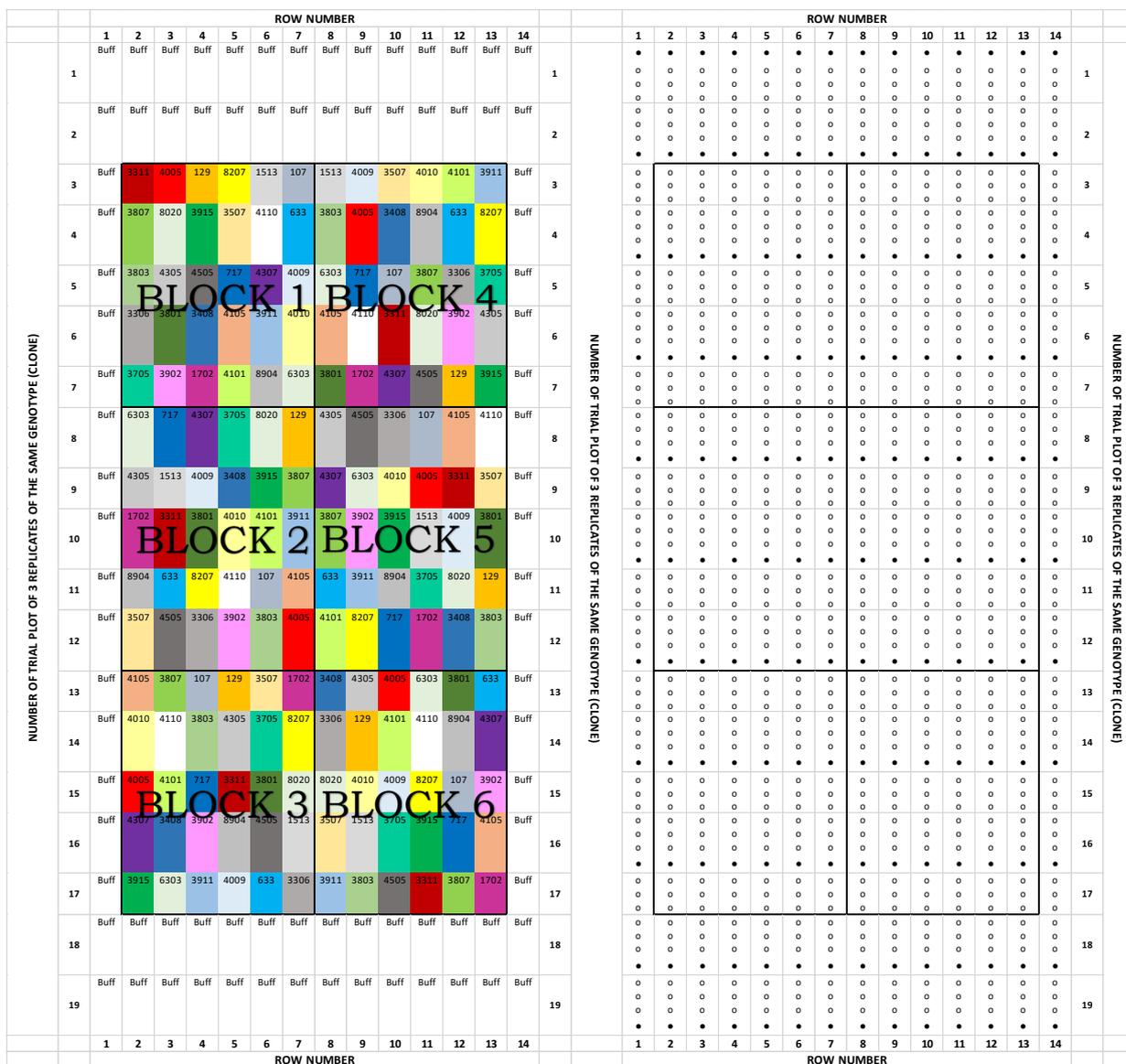


Figura 1. Ejemplo de un ensayo de campo diseñado en bloques completos aleatorizados (BCA) para comparar 30 genotipos de vid de una variedad con poca diversidad. A la izquierda, detalles de la aleatorización de los 30 genotipos en cada uno de los 6 bloques. Cada celda representa 3 plantas; los genotipos seleccionados se indican con números y colores. Las plantas que rodean el terreno de ensayo reducen la heterogeneidad de los bordes. A la derecha, se muestran las vides (o) y los postes (•) dentro de las parcelas (líneas claras) y bloques (líneas oscuras). En este ejemplo, hay 18 plantas de cada genotipo: una parcela de 3 plantas en cada uno de los 6 bloques. No obstante, para mayor claridad, el diseño se puede aplicar a ensayos con un mayor número (cientos) de genotipos, que es lo que se recomienda en el caso de variedades antiguas.

Este ciclo consiste en la plantación de un ensayo a gran escala que contenga una muestra de toda la diversidad de la variedad estudiada. Un ensayo de campo de estas características

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



permite aplicar las herramientas metodológicas de la genética cuantitativa en condiciones óptimas. El viñedo experimental reúne las dos condiciones imprescindibles para que la selección tenga éxito: 1) contiene todo el material de partida identificado (diversidad) y 2) su diseño permite aplicar modelos de análisis de datos, lo que posibilita la evaluación fenotípica de los caracteres. Asimismo, permite llevar a cabo análisis para evaluar la distancia entre los valores obtenidos y los valores genéticos reales.

3.1 Elección del diseño experimental

El diseño experimental es fundamental para controlar la variación ambiental real en un único conjunto de plantas compuesto por cientos de genotipos. Las soluciones van desde los bloques completos aleatorizados (BCA, 5-6 bloques × 3 plantas, figura 1) a otras más eficaces, como los diseños alfa o los diseños en filas y columnas, dependiendo de los medios metodológicos e informáticos disponibles. Para una delimitación más segura de las unidades experimentales, cada parcela deberá corresponder a la mitad de las plantas entre dos postes consecutivos (normalmente 3 plantas).

3.2 Preparación del viñedo experimental

En general, el manejo del conjunto de genotipos estudiados se realiza según las técnicas agronómicas habituales de la región en cuestión (densidad de plantación, sistema de conducción, métodos de poda, etc.) y garantizando que la aplicación de las operaciones agronómicas sea rigurosamente homogénea. No obstante, dado el gran número de genotipos y de repeticiones, es necesario llevar un rigurosísimo control durante la plantación. El control es más eficaz si se injerta en campo (se planta el portainjerto y, al año siguiente, se injertan los genotipos). Si se utilizan plantas-injerto, se recomienda enraizarlas en macetas etiquetadas para reducir al mínimo los errores. Los portainjertos se elegirán en función de las características del suelo en el que vayan a plantarse; se empleará el mismo portainjerto para todas las plantas del ensayo.

3.3 Recogida de datos

En principio, en las plantas del ensayo de campo deberían evaluarse todos los caracteres de interés a efectos de la selección. Sin embargo, el número de análisis que puede llevarse a cabo con varios cientos de parcelas (el número de genotipos multiplicado por el número de repeticiones) suele estar limitado por la viabilidad de la evaluación con los recursos disponibles. En la práctica, los caracteres más importantes son el rendimiento, la fertilidad, el tamaño del racimo y de la baya, así como la concentración de sólidos solubles totales, la acidez, el pH, los fenoles y las antocianinas del mosto. Los componentes de la calidad del mosto se analizan en muestras de, como mínimo, 60 bayas por repetición, recogidas en todas las repeticiones (para agilizar y facilitar el proceso cuando se cuente con escasos recursos, se pueden utilizar solo las 3 repeticiones más homogéneas). Sin embargo, en vista de los recientes avances en materia de análisis automáticos (como la espectrometría FTIR) y sensores de suelo, existen perspectivas realistas de que en el futuro puedan evaluarse más caracteres.

El rendimiento se evalúa por pesada directa de la uva (por parcela) sobre el terreno. Por lo general, la recogida de datos empieza el segundo o, mejor aún, el tercer año posterior a la plantación de las plantas-injerto o al injerto en campo y dura al menos 3 años. Los resultados del análisis inicial de los datos de estos 3 años (o más, si se dispone de ellos) son indicativos de



la necesidad o no de realizar nuevas evaluaciones. Se pueden recoger datos adicionales (ampelográficos, fenológicos, etc.) en función de los objetivos de selección especiales y dependiendo de los recursos disponibles.

Opcionalmente, antes de la selección final de un conjunto de genotipos (para su uso inmediato) de variedades destinadas a la producción de vino, podría ser útil llevar a cabo microvinificaciones, según un protocolo estandarizado, con ese grupo y con una muestra representativa de todo el conjunto en el viñedo experimental, utilizando aproximadamente entre 20 y 30 genotipos elegidos al azar. Los dos vinos resultantes deberán ser catados a ciegas por expertos, en un ensayo dúo-trío, para determinar si el vino elaborado a partir del grupo seleccionado posee las características sensoriales típicas de la variedad. Si las diferencias son significativas desde el punto de vista estadístico, se deberá proceder a un análisis sensorial descriptivo para determinar de forma objetiva las diferencias sensoriales entre el grupo seleccionado y todo el conjunto del ensayo.

3.4 Análisis de los datos y selección policlonal

Para el análisis de los datos, son adecuados los modelos mixtos. El objetivo final es estimar los componentes de la varianza, hallar los mejores predictores lineales insesgados empíricos (EBLUP) de los efectos genotípicos y calcular la mejora genética (R).

Con datos equilibrados y modelos con estructura de covarianza más sencillos, la selección puede basarse en la clasificación por valores fenotípicos medios de los genotipos (dado que, en estos casos, equivale a la clasificación por EBLUP de los efectos genotípicos). En estas condiciones, se aplican las herramientas clásicas de la genética cuantitativa. Es decir, seleccionar implica ordenar un conjunto de genotipos estudiados según sus valores fenotípicos, para elegir un subconjunto de los más interesantes atendiendo a un carácter dado y calcular la diferencia con respecto a la media general (diferencial de selección, S), así como cuantificar la distancia entre los valores fenotípicos (observados) y los valores genotípicos (heredabilidad en sentido amplio, h^2), para calcular la mejora genética (R) según la siguiente fórmula:

$$R = S \times h^2$$

Con datos desequilibrados y modelos más complejos, la selección genotípica debe basarse en la clasificación por EBLUP de los efectos genotípicos, calculándose la predicción de la mejora genética como la media de los EBLUP de los clones seleccionados.

La selección puede hacerse a favor de un carácter evaluado o de varios, considerados individualmente o en forma de índice de selección.

El número de genotipos seleccionados que constituirán el material policlonal es el resultado del compromiso entre la mejora deseada (aumenta al disminuir el número de genotipos) y la estabilidad del comportamiento del conjunto de genotipos seleccionados en diferentes ambientes, es decir, una baja interacción entre genotipo y ambiente (G×E). A mayor número de genotipos seleccionados, mayor estabilidad. Los resultados experimentales recogidos en la literatura científica (3) indican que la estabilidad del grupo aumenta apreciablemente en el intervalo de 1 a 7 genotipos, y con más moderación por encima de esa cifra. De estos resultados se infiere que el material policlonal obtenido deberá consistir en mezclas equilibradas de 7 a 20 genotipos, dependiendo de las condiciones específicas de la selección. El número de clones puede ser superior a 20, pero en ningún caso inferior a 7. Que la mezcla sea

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019

El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



equilibrada supone que cada genotipo esté representado en el grupo con una frecuencia de $1/n$, siendo n el número total de genotipos de la mezcla. Por motivos de viabilidad, así como por la dependencia del material disponible de cada genotipo y otros factores coyunturales, debe admitirse cierto grado de tolerancia en relación con estos límites. En cualquier caso, la frecuencia individual de cualquier genotipo no debe ser nunca superior al doble de la frecuencia del genotipo menos frecuente.

3.5 Segundo diagnóstico virológico de los genotipos que componen el grupo policlonal

Los requisitos fitosanitarios para esa selección deben ajustarse al marco normativo del país en el que se realice la selección o en el que vaya a utilizarse el material para su plantación (el que sea más estricto).

3.6 Diagnóstico molecular de los genotipos del grupo policlonal

La selección de genotipos debe ir precedida de un análisis molecular que confirme su identidad varietal; deben aplicarse los mejores métodos disponibles.

3.7 Mantenimiento del plantel de multiplicación del grupo policlonal

Para formar el plantel de multiplicación, se multiplican a pequeña escala los genotipos seleccionados, sometidos a diagnóstico fitosanitario y varietal.

Las plantas deberán conservarse en condiciones de alta seguridad sanitaria, con capacidad de sustitución en caso de infección y ajuste de sus efectivos a las exigencias del mercado. Una posibilidad consiste en cultivar el plantel de multiplicación enraizado en un sustrato inerte fertilizado, dentro de un invernadero protegido de vectores de virus.

3.8 Conservación de la biodiversidad

Tanto el viñedo del ensayo de campo a gran escala como los datos de campo obtenidos en él pueden tener usos complementarios distintos de la selección policlonal, como la conservación de la diversidad intravarietal, que contrarresta la erosión genética actual. La conservación debiera ser garantizada por el viñedo del ensayo durante su vida útil y debe prolongarse con otros métodos.

4. Homologación

Dado el caso, la homologación del material policlonal deberá ajustarse al marco normativo del país en el que se realice la selección. Es deseable que las normas de homologación de genotipos seleccionados estén armonizadas en los distintos Estados que opten por esta vía.

5. Otros resultados secundarios y recomendaciones

Tanto el viñedo del ensayo descrito anteriormente como los datos de campo obtenidos en él pueden tener usos complementarios distintos de la selección policlonal.

Los datos experimentales se deberán mantener bajo medidas de seguridad óptimas, como la multiplicación de medios informáticos y de bases de datos. Estos datos permitirán realizar nuevas selecciones *in situ* en función de los nuevos retos a los que se enfrente el sector vitivinícola, en constante evolución.



Además, se pueden analizar el rendimiento y otros datos para cuantificar la diversidad intravarietal de la variedad mediante la representación gráfica de las curvas normales de densidad de probabilidad de esos caracteres o mediante el cálculo de los coeficientes de variación genotípica. De este modo, es posible entender el origen y la expansión geográfica de la variedad, condición indispensable para el estudio objetivo de la diversidad intravarietal.

La fase experimental del proceso de selección policlonal (véase el apartado 3) se puede considerar también como la primera fase de la selección clonal propiamente dicha. En ese caso, se necesitaría un mayor número de genotipos seleccionados para proceder a un segundo ciclo de ensayos de adaptación regional, con el fin de seleccionar clones individuales.

6. Resumen del procedimiento

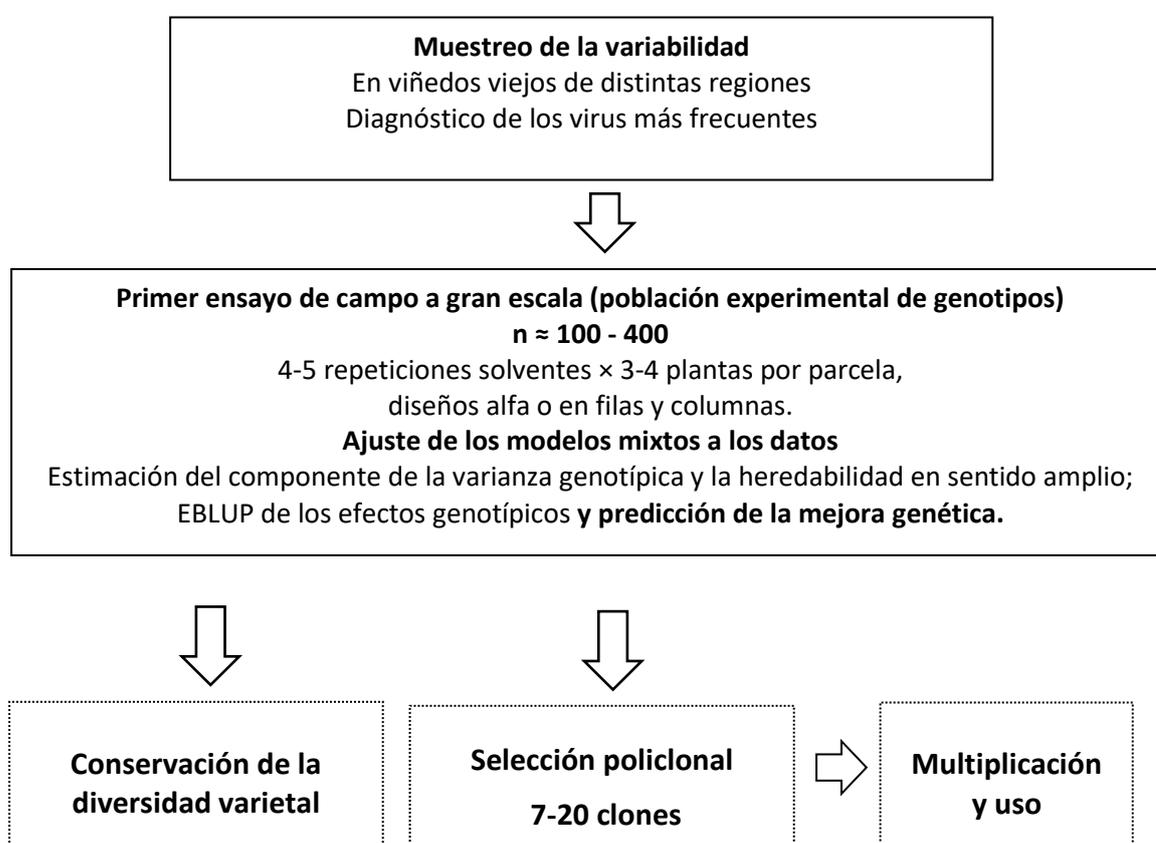


Figura 2. Metodología para la selección policlonal y la conservación de la diversidad de la vid



ANEXO I: GLOSARIO

Este glosario y su terminología deben aplicarse exclusivamente en el ámbito de la presente resolución para garantizar que el contexto de la definición corresponda al texto de la resolución.

Heredabilidad en sentido amplio (h^2)

Varianza genotípica de un carácter cuantitativo (respecto de un conjunto de genotipos de una variedad antigua en un ensayo de campo específico) dividida por la varianza fenotípica total. La varianza genotípica no se puede determinar directamente, sino que se obtiene restando la varianza ambiental a la varianza total observada en el ensayo.

Certificación

Sistema de control para verificar el cumplimiento de los imperativos legales en materia de multiplicación y distribución del material vegetal de propagación. Por lo general, de este sistema se derivan distintas categorías de materiales, basadas en el estado sanitario y otros factores. En la Unión Europea, la existencia de la categoría “material certificado” no impide que también puedan considerarse certificadas otras categorías (“inicial”, “de base”, “estándar”).

Clon

Véase la definición en la Resolución OIV-VITI-564A-2017 (4).

EBLUP (mejores predictores lineales insesgados empíricos del valor genotípico)

Para conocer el valor genotípico, los EBLUP son más exactos que el valor fenotípico, pues permiten eliminar la variación ambiental de forma más eficaz. Por ello, cuando se expresan como desviación con respecto a la media total, también permiten cuantificar directamente la mejora genética.

Desviación ambiental (E en la fórmula de cálculo del valor fenotípico: $P = G + E$)

Parte del valor fenotípico determinada por el ambiente; se supone que sigue una distribución con media cero y varianza distinta de cero (5) (6) (7) (8). La desviación ambiental no se puede determinar directamente, pero puede

determinarse experimentalmente la varianza de la desviación ambiental en un conjunto experimental de genotipos.

Plantel de multiplicación

Pequeña muestra de plantales que representa a una selección propuesta para obtener la homologación oficial. Estos plantales se gestionan de acuerdo con estrictas condiciones que favorecen la estabilidad genética y la protección sanitaria.

Mejora genética predecible (R en la fórmula $R = S \times h^2$)

Para un carácter dado, diferencia entre el valor de dicho carácter en la descendencia vegetativa de uno o más genotipos seleccionados de un conjunto experimental de clones y el valor medio de dicho carácter en la descendencia vegetativa de todos los clones del conjunto. Se calcula como el producto del diferencial de selección (S) por la heredabilidad en sentido amplio (h^2) o como la suma de la media de los EBLUP de los efectos genotípicos de los clones seleccionados (1) (9).

Selección genética

Selección de un subconjunto de clones de una variedad antigua heterogénea, atendiendo a caracteres cuantitativos y basada en la estimación de los valores genotípicos (mediante valores fenotípicos, EBLUP u otros métodos) de uno o más caracteres y que conduce a una mejora genética objetiva de dichos caracteres.

Genotipo

Constitución genética de un organismo o grupo de organismos con respecto a un carácter individual, un conjunto de caracteres o todo un complejo de caracteres.

Interacción entre genotipo y ambiente ($G \times E$)

La interacción entre genotipo y ambiente se puede definir como un cambio del comportamiento relativo de un carácter de dos o más genotipos medido en dos o más ambientes. Por lo tanto, las interacciones pueden suponer cambios en el orden jerárquico de los genotipos entre los ambientes y cambios



en la magnitud absoluta y relativa de las varianzas genéticas, ambientales y fenotípicas entre los ambientes (10).

Valor genotípico (G en la fórmula de cálculo del valor fenotípico: $P = G + E$)

Parte del valor fenotípico determinada genéticamente que se transmite por propagación vegetativa. El valor genotípico no se puede determinar directamente, pero puede estimarse mediante varios predictores basados en las relaciones entre varianzas.

En un ensayo de campo, la varianza de los valores genotípicos es igual a la diferencia de la varianza fenotípica y la varianza ambiental de dicho ensayo.

Diversidad intravarietal

Diferencias observadas en los caracteres cuantitativos de los plantales de una variedad antigua que comenzó siendo homogénea, pero que se volvió heterogénea debido a la acumulación de mutaciones vegetativas en los clones y a otros mecanismos de variación relacionados con la multiplicación somática. Esta diversidad es la materia prima en la que se basan la selección genética y otros usos de las variedades antiguas.

Modelos mixtos

Modelos con efectos fijos y aleatorios.

Valor fenotípico de un carácter (P en la fórmula de cálculo del valor fenotípico: $P = G + E$)

Valor de un carácter de un plantel o clon de un conjunto experimental evaluado mediante observación directa o por cualquier otro método. Según el modelo clásico, el valor fenotípico es la suma del valor determinado genéticamente (valor genotípico, G) y una determinada desviación ambiental (E) con media cero y varianza distinta de cero ($P = G + E$). Los valores fenotípicos se pueden determinar experimentalmente, de modo que la varianza de estos valores en un conjunto experimental se obtiene directamente mediante sencillos cálculos a partir de los valores observados.

Selección policlonal

En el marco de esta resolución, por *selección policlonal* se entiende la selección de un grupo de entre 7 y 20 genotipos de un conjunto experimental de genotipos de una variedad antigua, que contiene la mayor parte de su diversidad intravarietal. La selección se basa en varias herramientas de la genética cuantitativa para reducir las desviaciones ambientales de forma eficaz y para conseguir mejoras genéticas sustanciales, estables y predecibles. En circunstancias excepcionales, el número de genotipos seleccionados puede ser superior a 20, pero nunca inferior a 7, para evitar interferencias con la interacción $G \times E$. En la selección final destinada a la multiplicación y posterior explotación, todos los genotipos deberán ser iguales en cantidad. Sin embargo, es admisible cierta tolerancia, siempre que ningún genotipo exceda en frecuencia un efectivo igual al doble del efectivo del genotipo menos frecuente. Los caracteres objeto de evaluación y selección deberán ser, como mínimo: el rendimiento, los sólidos solubles y la acidez del mosto y, en el caso de las variedades tintas, también los antocianos del hollejo.

En este contexto, una mezcla de genotipos resultante de varios procesos de selección independientes no corresponde a esta definición de selección policlonal y, para evitar confusiones, debería denominarse "mezcla multiclona".

Carácter cualitativo

Carácter que, en un conjunto heterogéneo de plantas, presenta una distribución discreta como resultado del determinismo monogénico u oligogénico y de desviaciones ambientales moderadas.

Genética cuantitativa

Principios genéticos que permiten comprender y analizar los caracteres cuantitativos. Las distribuciones de caracteres cuantitativos son sumas de distribuciones genéticas y distribuciones de desviaciones ambientales, por lo que entender las primeras implica la reducción de desviaciones aleatorias, la descomposición de la varianza y procesos relacionados. En resumen, la genética

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



cuantitativa es la estadística aplicada a la genética de los caracteres cuantitativos.

Carácter cuantitativo

Carácter que, en un conjunto heterogéneo de plantas, presenta una distribución continua y normal como resultado de un determinismo poligénico y/o de fuertes desviaciones ambientales.

Selección sanitaria

Diagnóstico de patógenos sistémicos intra- o intercelulares transmitidos por propagación vegetativa (y otros mecanismos). En la práctica, se aplica principalmente a los virus.

Diferencial de selección (S en la fórmula de la mejora genética:

$$R = S \times h^2)$$

Diferencia entre los valores medios de los genotipos seleccionados de un conjunto experimental de una variedad antigua y la media general de los genotipos de dicho conjunto.

Variedad antigua (en el sentido botánico) y variedad cultivada o cultivar

En botánica, la variedad se define como un grupo de plántulas que procede de la evolución natural y que comparte caracteres similares que pueden reproducirse con fidelidad al tipo varietal de generación en generación. Según el Código Internacional de Nomenclatura de Plantas Cultivadas (CINPC), con *variedad cultivada* o *cultivar* se hace referencia al conjunto de plantas a) seleccionado por un carácter o una combinación de caracteres, b) distinto, uniforme y estable para dichos caracteres, y c) que conserva dichos caracteres cuando se propaga por los medios adecuados. Según estas definiciones, algunas variedades antiguas de vid, como Pinot noir o Tempranillo, no son variedades botánicas, ya que sus orígenes y evolución son principalmente consecuencia de la acción del ser humano. Tampoco son exactamente cultivares, porque no han sido seleccionadas en función de caracteres concretos por un seleccionador conocido y distan de ser homogéneas en relación con varios caracteres enológicos y de cultivo fundamentales. La definición de *cultivar*

del CINPC sí se corresponde con las partes de la variedad antigua seleccionadas por diferentes seleccionadores que pueden presentar diferencias notables entre sí, homogéneas y estables. En el marco de esta resolución, y hasta que se adopte una definición mejor, para denominarlas se utiliza el término *variedad antigua*.



ANEXO II: SELECCIÓN GENÉTICA Y FITOSANITARIA DE LA VID (ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA)

1. Bases teóricas de la genética cuantitativa para la realización de selecciones genéticas

Al principio de la domesticación de la vid, principalmente en el espacio geográfico de la Eurasia mediterránea, la antigua variedad de vid habría comenzado siendo una población naturalmente homogénea. Sin embargo, la posterior multiplicación vegetativa de esa población varietal supuso infinidad de mitosis y otras tantas replicaciones de ADN, donde entran en juego las mutaciones genéticas y otros mecanismos de variación genética. Dichas mutaciones se reflejan a menudo en el color de la baya, la forma de la hoja y otros caracteres cualitativos mutantes.

Casi todos los caracteres de la vid, entre ellos los de importancia económica, son cuantitativos (el rendimiento; el azúcar, la acidez y los antocianos de la baya, y muchos otros), lo que los convierte en el blanco natural de la selección genética. Los caracteres cuantitativos vienen determinados por conjuntos de genes con efectos pequeños y acumulativos (microgenes o poligenes) y que también pueden sufrir mutaciones.

La amplitud de la variación intravarietal de un carácter fruto de la acumulación de mutaciones durante siglos o milenios puede alcanzar niveles altísimos: el grado de variación del rendimiento entre genotipos de una variedad tradicionalmente muy extendida en un territorio dado puede ser de 1:10, mientras que el grado de variación del contenido de azúcar, la acidez y el contenido de antocianos de las bayas pueden ser de 1:2. Esta diversidad es la materia prima de la selección y supone una oportunidad para lograr grandes mejoras genéticas que impliquen importantes beneficios económicos. Por esta vía se podrían modificar naturalmente las variedades antiguas para adaptarlas a nuevas circunstancias bióticas y abióticas, entre ellas el cambio climático. Para aprovechar este potencial, el tamaño de la muestra de genotipos objeto de la selección debe ser suficiente para representar toda la diversidad natural de la variedad antigua que sea posible. Según diversos ensayos experimentales y simulaciones por ordenador, la muestra debe estar compuesta por entre 100 y 400 genotipos. Con muestras de este tamaño, se maximiza la diferencia entre el valor de un solo genotipo (o la media de un grupo de genotipos) para cualquier carácter cuantitativo dado y la media de toda la muestra (diferencial de selección, S). El diferencial de selección será el primer factor para evaluar la mejora genética. Sin embargo, este factor todavía está sobreestimado por la desviación ambiental y la interacción entre genotipo y ambiente, ambas no hereditarias, por lo que es necesario realizar una corrección cuantificando la parte genética de la variación con respecto a la variación total dentro de todo el conjunto de la muestra.

La diversidad intravarietal viene determinada por numerosos genes, cada uno de los cuales controla una cierta distribución de la diversidad. A estos factores genéticos se suman las desviaciones ambientales al azar, que se caracterizan por tener media cero, varianza distinta de cero y distribución casi normal. Es decir, la distribución de la diversidad total es una suma aleatoria de distribuciones, que, según las bases teóricas de la estadística, siempre será una distribución normal. De esto se desprende que, para un carácter dado, el valor fenotípico (observado) de un genotipo de un conjunto experimental sometido a selección responde al modelo siguiente:



$$P = G + E + G \times E$$

Valor fenotípico	Valor genotípico	Desviación ambiental	Interacción entre genotipo y ambiente
-----------------------------	-----------------------------	---------------------------------	--

El valor fenotípico (P) de un genotipo dado es el único valor que se puede medir directamente. Sin embargo, el valor genotípico (G), que permanece oculto, es el único que se transmite a la “descendencia” y, por lo tanto, el único blanco de la selección policlonal. Por este motivo, el objetivo principal de todo el proceso de selección deberá ser reducir al máximo los valores de E y G×E, para que P se aproxime a G. De este modo, P —medible— se convierte en un estimador fiable de G.

El primer paso para lograr este objetivo es realizar la selección en ensayos de campo, donde cada genotipo se replica varias veces. De esta forma, las desviaciones ambientales se anulan entre sí y su media tiende a cero a medida que aumenta el número de repeticiones. Esto se explica por un principio básico de la estadística: la varianza de las medias de muestras con *n* elementos de un conjunto de plantas es igual a la varianza del conjunto dividida por *n*.

En las simulaciones por ordenador se llega a la misma conclusión. En la práctica, esto se traduce en que la selección de plantas individuales es muy ineficaz porque la varianza de las desviaciones ambientales y la varianza de la interacción entre el genotipo y el ambiente representan entre el 70 % y el 100 % de la varianza total. Por consiguiente, la varianza genética varía del 30 % al 0 % de la varianza total. Por el contrario, los ensayos de selección con 15 plantas de cada genotipo y un diseño experimental clásico en parcelas de 3 a 4 plantas y 4 a 5 repeticiones en bloques completos aleatorizados permiten reducir la desviación ambiental y la interacción G×E a valores que van del 10 % al 40 %, de modo que la varianza genética aumenta hasta alcanzar valores de entre el 60 % y el 90 % (3).

Los valores de la varianza genética divididos por el total de la varianza fenotípica observada corresponden a la heredabilidad en sentido amplio (h^2) y proporcionan los factores de corrección de los diferenciales de selección (S) para predecir la mejora genética (R):

$$R = S \times h^2$$

Mejora genética	Diferencial de selección	Heredabilidad en sentido amplio
--------------------	--------------------------------	---------------------------------------

En ensayos de selección a gran escala basados en estos principios de la genética cuantitativa y la estadística y llevados a cabo con variedades antiguas de vid procedentes de Europa central y occidental, con frecuencia se obtienen mejoras de rendimiento de entre un 10 % y un 40 % y mejoras de los caracteres de calidad del mosto de hasta un 10 % con respecto a la variedad antigua original no seleccionada.

Además de utilizar los valores fenotípicos de los genotipos como predictores de los valores genotípicos como hemos descrito anteriormente, en contextos optimizados se pueden utilizar métodos que permiten obtener predictores más exactos, como los mejores predictores lineales insesgados empíricos (EBLUP) del valor genotípico. Son métodos basados en ensayos con un diseño experimental



en bloques incompletos, datos adaptados a modelos mixtos y estimación de los componentes de la varianza por máxima verosimilitud restringida (REML).

Las metodologías anteriores se aplican a un gran ensayo inicial que incluye toda la diversidad de la variedad antigua para obtener un grupo seleccionado de genotipos que muestren una mejora significativa para el carácter o caracteres deseados. Al igual que sucede con la desviación ambiental (E), cuando dicho grupo se planta completamente mezclado, las interacciones G×E de diferentes clones se anulan entre sí, de modo que tanto la interacción G×E del grupo como la desviación ambiental tienden a cero. Dicho grupo será el resultado de la selección policlonal y presentará un comportamiento estable en distintos ambientes.

En esta metodología, la desviación ambiental (E) y la interacción G×E se tratan juntas; no es necesario separarlas y calcular sus respectivos valores.

2. Evolución histórica de los métodos de selección aplicados a los cultivos agrícolas y a las variedades de vid

Los orígenes de la mejora vegetal se remontan a la primera mitad del siglo XIX. Por entonces, se llevaron a cabo cruzamientos con plantas (hortalizas, cereales, árboles frutales, etc.) para obtener plantas más productivas para los agricultores. Fue un momento muy fructífero, pese a que en aquella época se desconocían las bases de la genética, postuladas por Mendel en sus trabajos con la planta del guisante (11) y aceptadas por la comunidad científica a principios del siglo XX, a raíz del redescubrimiento de su obra.

En el último cuarto del siglo XIX, comenzaron a aplicarse a la vid las técnicas de mejora por hibridación (cruzamiento de *Vitis vinifera* con especies de *Vitis* americanas) con gran éxito y repercusión; no en vano, fue posible superar las graves crisis del mildiu, el oídio y la filoxera, que habían llevado a la viticultura europea al borde de la desaparición. Los primeros trabajos sobre selección masal y clonal de variedades antiguas datan de esta época y proceden en su mayoría de Alemania.

A pesar de estos hitos históricos, la mejora vegetal no adquiere continuidad y relevancia, como ciencia y como práctica, hasta la década de 1920. Este desarrollo tardío puede deberse al hecho de que casi todos los caracteres relevantes de las plantas (también los de los animales) son cuantitativos, por lo que no siguen los patrones de herencia mendeliana. Sin embargo, también en la década de 1920, empieza a desarrollarse una nueva disciplina científica que permite entender mejor este tipo de caracteres: la bioestadística o genética cuantitativa.

Uno de los impulsores de este desarrollo fue el investigador Ronald Fisher, que se interesó por la mejora y la selección vegetal, entre otros temas, mientras trataba de desarrollar métodos que permitieran analizar la ingente cantidad de datos de la Estación Experimental de Rothamsted (Inglaterra). El teorema fundamental de la selección natural de Fisher dice que “el ritmo con el que aumenta la aptitud biológica de un organismo en un momento dado es igual a su varianza genética respecto de la aptitud biológica en ese momento” (12). Las necesidades que planteaba la mejora vegetal motivaron el nacimiento de la genética cuantitativa y de otras importantes ramas de la estadística (análisis de la varianza, regresión, etc.). Naturalmente, la aplicación de varias innovaciones metodológicas supuso un gran estímulo para el desarrollo de la mejora vegetal tras su formalización y estructuración.

Gracias a este y otros estímulos, la mejora vegetal conoció un rápido desarrollo a partir de la década de 1930. Entre los casos más notorios se encuentra la exitosa mejora del maíz llevada a cabo en los EE. UU. y otros países gracias a los trabajos en materia de heterosis y mejora vegetal del Centro

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo¹ (CIMMYT), que contribuyeron a paliar el hambre de millones de personas en todo el mundo.

Recientemente, varios autores (3) han señalado que el notable aumento de rendimiento y calidad que han experimentado los principales cultivos en Estados Unidos y en todo el mundo en los últimos 100 años se debe, en un 50 %, a la mejora vegetal (tanto como todas las demás técnicas agrícolas juntas). En la actualidad, se utilizan varios métodos muy eficaces para obtener variedades mejoradas genéticamente, entre las que cabe destacar los siguientes: los híbridos comerciales (que aprovechan la heterosis de las plantas cruzadas, como el maíz), las líneas puras (plantas homocigóticas y autógamas, como el trigo), las variedades alógamas (heterogéneas, obtenidas por selección masal, como las especies forestales híbridas) y los clones (el tipo de variedad más homogéneo, utilizado para la multiplicación vegetativa).

La vid (*Vitis vinifera*) es un caso especial en el ámbito de la mejora vegetal, principalmente porque el concepto de la calidad del vino incluye muchos factores históricos y psicológicos que hacen que se prefieran las variedades antiguas de origen natural. Por este motivo, las técnicas de mejora que suponen generar nueva variabilidad (como la hibridación, entre otras) provocan cierto rechazo en la práctica. Sin embargo, la selección masal y clonal se basa en la variabilidad intravarietal natural, no tiene ninguna contraindicación y, por lo tanto, se debería aplicar sin reservas.

La primera condición para la selección masal y clonal de la vid es que exista diversidad intravarietal y que se conozca su amplitud, su distribución geográfica, los caracteres implicados, etc. La cuestión se estudió por primera vez en la década de 1930 en Alemania y los EE. UU., pero los resultados que se obtuvieron parecían no concordar: se encontró variabilidad intravarietal en las variedades tradicionales alemanas, pero no en las variedades cultivadas en los EE. UU. Para más información: (13) (14) (15). En la década de 1950, en Francia, Levadoux volvió a interpretar dichas observaciones discordantes y señaló que la diversidad intravarietal observada en Alemania se debía a la antigüedad de las variedades, mientras que la escasa diversidad observada en los EE. UU. podría deberse a que las plantas se habían importado de Europa (previa selección de unas pocas accesiones por variedad) y solo contenían una mínima parte de la diversidad (16). Sin embargo, en estos estudios no se aclaró el origen de la diversidad, no se llevó a cabo una cuantificación objetiva y no se determinó la distribución geográfica de la variabilidad ni su influencia en la obtención de las mejoras genéticas que cabría esperar de la selección.

El segundo elemento de la mejora genética, la heredabilidad en sentido amplio, que es el resultado de separar la varianza total en sus componentes genéticos (heredables) y ambientales (no heredables), no se estudió en profundidad para su aplicación en el contexto de la selección de la vid. En Francia, Rives llevó a cabo un minucioso trabajo de síntesis de los fundamentos genéticos para actualizar la selección y aumentar su eficacia, pero sus propuestas no tuvieron una gran acogida (1).

No obstante, ha habido algunos intentos para adecuar los métodos de selección de la vid a los principios de la mejora vegetal de las especies de interés agrícola en general (3).

En resumen, la metodología propuesta en este documento se basa en teorías consolidadas y ampliamente demostradas de la estadística y la genética cuantitativa, en varios trabajos de referencia

¹ <http://www.cimmyt.org/>



en materia de mejora vegetal procedentes de diversas partes del mundo y en casos de aplicación práctica a la vid debidamente documentados.

3. Situación actual y riesgos relacionados con los recursos genéticos de *Vitis vinifera*

Se supone que, en un principio, las variedades antiguas de vid eran un genotipo homogéneo que empezó a generar y acumular diversidad, debido principalmente a mutaciones somáticas de caracteres cuantitativos. En el pasado, la mayoría de las plantas se propagaban de forma asexual, por lo que sus genes no desaparecían al morir, sino que se transmitían a las nuevas plantas y seguían acumulando mutaciones. Este proceso se repetía de generación en generación.

La extraordinaria diversidad que se observa hoy en muchas variedades antiguas se originó de este modo a lo largo de milenios. Sin embargo, al empezar a utilizarse plantas-injerto comerciales, procedentes de un número muy reducido viñedos especializados (dedicados a la multiplicación), en las nuevas plantaciones, el proceso se vio limitado. De esta forma, todas las plantas de la variedad antigua siguen cultivándose y acumulando mutaciones, pero estas ya no se transmiten a las plantas de nuevos viñedos. El proceso por el que se acumulaba y transmitía la variabilidad surgida cada año se ha reducido.

Este fenómeno se ve agravado por la generalización del uso de la selección varietal, en particular cuando es muy restrictiva (cultivo de pocos genotipos seleccionados).

Esta situación solo puede conducir a la homogeneización de todos los viñedos y al “bloqueo genético” de la variedad, algo que, a medio o incluso corto plazo, termina por imposibilitar la selección, a menos que en la selección clonal clásica de una variedad concreta se ejerza una presión selectiva débil que conduzca a la selección de muchos clones. El plazo de desaparición de la diversidad intravarietal en un determinado país depende fundamentalmente de los trabajos de selección clonal iniciados en la década de 1970 por entidades públicas y privadas, de cuándo empezaron a utilizarse plantas-injerto y del ritmo de renovación de los viñedos más viejos. En Eurasia, donde la especie *Vitis vinifera* tiene mayor diversidad, puede que algunos países ya hayan perdido la mayor parte de la diversidad que tenían inicialmente y que otros todavía estén a tiempo de poner en marcha estrategias de conservación.

Las opciones de conservación son escasas: la conservación de amplio espectro en cultivo (en explotaciones) es poco factible, pues supone cultivar plantas muy heterogéneas, algo difícil de compatibilizar con la viticultura moderna y competitiva. Para evitar la erosión de la selección clonal clásica, solo es viable su conservación en viñedos habilitados expresamente con muestras representativas de la diversidad de cada variedad antigua.

Algunos países ya han desarrollado un marco teórico para este tipo de conservación. Para ser representativa, la muestra deberá estar formada, como mínimo, por 70 genotipos de cada región en la que se cultive la variedad antigua; en el caso de variedades antiguas que lleven cultivándose mucho tiempo en varias regiones de distintos países, el número de genotipos puede ser del orden de varios cientos. El sistema de conservación deberá ser redundante y, si es posible, se basará en dos colecciones distintas: una dedicada exclusivamente a la conservación (puede ser en macetas) y otra en un viñedo de producción, mantenido mediante las prácticas agrícolas habituales y destinado a la conservación y la evaluación de todos los genotipos de la muestra.

La conservación es una actividad experimental íntimamente ligada a la selección. En primer lugar, los genotipos objeto de prospección para uno y otro fin coinciden en muchos casos. En segundo lugar, la



evaluación de los clones conservados puede servir para la selección y, a la inversa, los ensayos de selección pueden servir como estructuras de conservación.

En resumen, la conservación de la diversidad intravarietal es, en la actualidad, una tarea prioritaria para garantizar la continuidad de los trabajos de selección y las notables mejoras genéticas y beneficios económicos que conllevan.

Certificado conforme Ginebra, 19 de julio de 2019
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Pau ROCA



BIBLIOGRAFÍA Y CITAS

- (1) Rives M. (1971) Génétique et amélioration de la vigne. In: Ribereau-Gayon J, Peynaud E (eds) *Traité d'ampélogie, Sciences et Techniques de la Vigne*. Dunod, Paris, pp.171-219.
- (2) Gonçalves, E. and Martins, A. (2012) *Genetic variability evaluation and selection in ancient grapevine varieties*, 333-352, In: Abdurakhmonov IY (ed) *Plant Breeding*, Intech. http://cdn.intechopen.com/pdfs/25564/InTech-Genetic_variability_evaluation_and_selection_in_ancient_grapevine_varieties.pdf
- (3) Martins, A., Gonçalves, E. (2015) *Grapevine breeding programs in Portugal*. In: Reynolds, A. (ed.) *Grapevine breeding programs for wine industry*, Woodhead Publishing. Partially available in https://books.google.pt/books?id=LNfzAwAAQBAJ&pg=PA159&lpg=PA159&dq=martins+gon%C3%A7alves+Grapevine+breeding+diversity&source=bl&ots=WMS4xnhrsA&sig=H2gnTYEPn_1vq_WTWW6H8M_wN_uE&hl=pt-PT&sa=X&ved=0CC4Q6AEwAWoVChMIInpjK0J-XyAIVAX4aCh0n7wi8#v=onepage&q=martins%20gon%C3%A7alves%20Grapevine%20breeding%20diversity&f=false
- (4) OIV (2017) Resolution VITI 564A-2017 on "OIV Process for the clonal selection of vines".
- (5) Mood, A.M. & Graybill, F.A. (1963). *Introduction to the Theory of Statistics*. McGraw-Hill, New York.
- (6) Lynch, M., Walsh, B. (1997) - *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- (7) Chase, W. & Brown, F. (1997) *General Statistics* (3th ed.). J. Willey, New York.
- (8) Conner JK, Hartl DL (2004). *A Primer of Ecological Genetics*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA.
- (9) Falconer, D. & Mackay, T. (1996). *An introduction to quantitative genetics*. 4th edn. Prentice Hall, ISBN 0582-24302-5, London.
- (10) Bowman J.C. (1972) Genotype x environment interaction. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 4: 117-123.
- (11) Mendel, J.G. (1866). "Versuche über Pflanzenhybriden", *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn*, Bd. IV für das Jahr, 1865, Abhandlungen: 3-47.
- (12) Fisher, R.A. (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*, Clarendon Press, Oxford.
- (13) Sartorius, O. (1926). Zur Rebenselektion unter besonderer Berücksichtigung der Methodik unter der Ziele auf Grund von 6-14 jährigen Beobachtungen an einem Klon. *Z für Pflanzenz*, 11, 31-74.
- (14) Sartorius, O. (1928). Über die wissenschaftlichen Grundlagen der Reben selektion in reinen Beständen. *Z für Pflanzenz*, 13, 79-86.
- (15) Bioletti, F. T. (1926). *Selection of planting stock for vineyards*. University of Calif..
- (16) Levadoux, L. (1951) *L'hybridation et la sélection chez la vigne*. (Vol. 23). Déhan.