

Avaliação da variabilidade genética intravarietal de variedades antigas de videira

Maria Francisca Mendes de Almeida Batalha Reis

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientadora: Doutora Elsa Maria Félix Gonçalves

Júri:

Presidente: Doutor Carlos Manuel Antunes Lopes, Professor associado com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

Doutora Elsa Maria Félix Gonçalves, Professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientadora;

Doutora Maria Isabel Carrasquinho de Freitas, Investigadora auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

Agradecimentos

À Professora Elsa agradeço a disponibilidade em orientar este trabalho, todas as importantes críticas e sugestões, o profissionalismo, bem como a simpatia e a amizade sempre presentes.

A todos os técnicos e investigadores da Rede Nacional de Seleção da Videira e Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira (PORVID) pelo apoio na gestão dos ensaios de seleção e na obtenção dos dados usados neste trabalho.

Ao projeto "Conservação e Seleção de Castas Antigas de Videira" (PDR 784 – 042704).

À Sónia e à Sofia, pela ajuda na discussão de ideias e resultados e, principalmente, pela amizade e incentivo demonstrados ao longo de toda a elaboração deste trabalho.

A todos os meus colegas e amigos, que me acompanharam ao longo do curso e da vida. Em especial à Bibi, à Cate, à Joana, à Leo, à Marta, à Mary, à Tere e à Xixão por me terem aturado nestes anos todos e pela grande amizade que levo para a vida.

À minha família, pelo apoio e incentivo ao longo destes anos.

Resumo

Os diferentes genótipos constituintes de uma variedade antiga de videira são marcadamente distintos, relativamente a características quantitativas. Esta variabilidade constitui a base da seleção genética e proporciona a obtenção de materiais selecionados com elevados ganhos relativamente a várias características quantitativas de alto interesse económico, como o rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago e características da qualidade do mosto. Numa variedade antiga, a quantificação da variabilidade na fase inicial de seleção permite emitir hipóteses quanto à sua antiguidade, avaliar as mais-valias ao fazer seleção e prever os ganhos de seleção do material selecionado policlonal e planear a fase seguinte de seleção (seleção clonal). Pretende-se assim, estudar a variabilidade intravarietal em 17 castas autóctones portuguesas relativamente a várias características de interesse económico, como rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago, acidez total, pH e, no caso das castas tintas, antocianas e fenóis totais.

Foram ajustados modelos lineares mistos a vários conjuntos de dados obtidos ao longo de vários anos, em 25 ensaios de 17 castas autóctones, para quantificação dessa variabilidade intravarietal, fornecendo uma visão atual exaustiva do problema.

Chegou-se a resultados que permitem verificar a existência de castas com variabilidade genética intravarietal bastante elevada para as características avaliadas, o que poderá traduzir elevados ganhos de seleção, mas também a hipótese da antiguidade da domesticação da casta. De um modo geral, as castas que apresentaram maior variabilidade genética intravarietal do rendimento foram também as que revelaram maior nível de variabilidade intravarietal das restantes características.

Palavras-chave: *Vitis vinifera L.*, seleção genética, genética quantitativa, conservação da videira, clones de videira

Abstract

The different genotypes comprising an old vine variety are markedly distinct with respect to quantitative traits. This variability is the basis for genetic selection and provides selected materials with high genetic gains for several quantitative traits of high economic interest, such as yield and must quality traits. In an old variety, the quantification of the variability in the initial phase of selection allows to make hypotheses regarding its antiquity, to evaluate the added value when making selection, to predict the genetic gains of selection of the polyclonal selected material, and to plan the next phase of selection (clonal selection). The aim of this work is to study the intravarietal diversity in 17 Portuguese autochthonous varieties for several economically important traits, such as yield, berry weight, volume of the must of the berry, total acidity, pH, and for red varieties, anthocyanins, and total phenols.

Linear mixed models were fitted to several data sets obtained over several years in 25 field trails of 17 varieties to quantify this intravarietal variability, providing an exhaustive current view of the problem.

The results showed that there are varieties with a very high level of intravarietal genetic variability for all the evaluated traits. This will allow to perform polyclonal selection with high genetic gains, and to formulate hypothesis about the antiquity of the domestication of the variety. In general, the varieties that showed high level of intravarietal variability for yield were also the same that showed high level of variability for the other traits.

KEYWORDS: *Vitis vinifera* L., Genetic selection, Quantitative genetics, Linear mixed models, Grapevine clones

Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
1 Introdução.....	1
1.1 Enquadramento do tema.....	1
1.2 Objetivos do estudo.....	1
2 Revisão Bibliográfica.....	2
2.1 Contexto da viticultura.....	2
2.2 Importância da seleção de castas antigas.....	2
2.3 Metodologia de seleção policlonal e clonal.....	4
2.3.1 Primeira fase: Prospecção de pés mães nas vinhas.....	6
2.3.2 Segunda fase: Avaliação de génotipos em populações de clones.....	6
2.3.3 Terceira fase: Avaliação de clones em campos de comparação clonal.....	7
2.4 Características a estudar.....	7
2.5 Fundamentos de genética quantitativa.....	10
2.5.1 Valores fenotípicos e genotípicos.....	10
2.5.2 Componentes de variância.....	11
2.5.3 Heritabilidade.....	12
2.5.4 Preditor dos efeitos genéticos.....	13
2.5.5 Interação Genótipo×Ambiente (G×E).....	13
3 Materiais e métodos.....	13
3.1 Materiais.....	13
3.2 Métodos.....	14
3.2.1 Avaliação das características.....	14
3.2.2 Modelos matemáticos.....	18

3.2.3	Software	22
4	Resultados e Discussão	22
4.1	Rendimento	22
4.2	Peso do Bago.....	26
4.3	Volume do mosto do bago	28
4.4	Características de qualidade do mosto	30
4.4.1	Sólidos solúveis.....	30
4.4.2	Acidez Total.....	32
4.4.3	pH.....	34
4.4.4	Antocianas e Fenóis Totais	36
4.5	Visão global da variabilidade intravarietal para todas características avaliadas.....	38
5	Conclusão.....	41
6	Bibliografia.....	A

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de seleção policlonal e clonal (Martins & Gonçalves, 2018).....	5
Figura 2. Evolução dos principais metabolitos primários e secundários em concentração (Carbonneau <i>et al.</i> , 2007).....	9

Índice de Quadros

Quadro 1. Caracterização dos ensaios e dos dados a analisar.....	15
Quadro 2. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do rendimento, em populações de clones de 16 castas tradicionais.....	23
Quadro 3. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do peso do bago, em populações de clones de 14 castas tradicionais.....	27
Quadro 4. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do volume do mosto do bago, em populações de clones de 7 castas tradicionais.....	29
Quadro 5. Indicadores de variabilidade genética intravarietal dos sólidos solúveis, em populações de clones de 14 castas tradicionais.....	31
Quadro 6. Indicadores de variabilidade genética intravarietal da Acidez Total, em populações de clones de 14 castas tradicionais.....	33
Quadro 7. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do pH, em populações de clones de 14 castas tradicionais.....	35
Quadro 8. Indicadores de variabilidade genética das Antocianinas, em populações de clones de 8 castas.....	37
Quadro 9. Indicadores de variabilidade genética dos Fenóis Totais, em populações de clones de 8 castas tradicionais.....	37

1 Introdução

1.1 Enquadramento do tema

A antiguidade da viticultura portuguesa, permitiu a existência de uma elevada variabilidade inter e intravarietal das castas antigas cultivadas no país.

A variabilidade intravarietal corresponde à diversidade ao nível de características quantitativas de uma casta, inicialmente homogénea, mas que com o tempo e devido a vários mecanismos de variação somática ou mutações, tornou-se heterogénea (Gonçalves & Martins, 2022a, 2022b). Esta variabilidade constitui a base da seleção genética e proporciona a obtenção de materiais selecionados com elevados ganhos relativamente a características de interesse económico como o rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago e a qualidade do mosto, no caso da uva para vinho.

Em Portugal, este tipo de variabilidade começou a ser mais aprofundado e base da metodologia de seleção nos anos 70 do século passado (Martins *et al.*, 1990). A partir da quantificação da variabilidade intravarietal, é possível, numa fase inicial de seleção, emitir hipóteses quanto à antiguidade da casta, permitindo ter uma ideia da sua idade mas também formular hipóteses sobre a região de domesticação e o seu caminho percorrido ao longo do tempo (Gonçalves & Martins, 2012). Possibilita também, a avaliação das mais-valias, ao fazer seleção e prever os ganhos de seleção do material selecionado policlonal e planear a fase seguinte de seleção (seleção clonal).

1.2 Objetivos do estudo

O objetivo deste trabalho é estudar a variabilidade genética intravarietal de variedades antigas de videira relativamente a várias características quantitativas de interesse económico, como rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago e características de qualidade do mosto, fornecendo uma visão atual exaustiva do problema.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Contexto da viticultura

A vinha foi uma das primeiras culturas perenes domesticadas. A domesticação da *Vitis vinifera subsp. vinifera*, através da *Vitis vinifera subsp. sylvestris*, deu-se há cerca de 6-8 mil anos (McGovern, 2003 citado por Myles et al., 2011) e, desde então, é fortemente cultivada pelo vinho mas também pelo seu fruto, tanto em fresco como seco (uva em fresco e uva passa). Na Península Ibérica, as primeiras referências à viticultura datam do século II AC (Magalhães, 2015), fazendo desta atividade agrícola uma das mais antigas e de maior importância económica e social do Mundo e de Portugal.

Mundialmente, estão plantados cerca de 7,3 mha de vinha com uma produção de vinho estimada de 260 mhl em 2020 (OIV, 2020). Em Portugal, a vinha ocupa aproximadamente 192 028 ha (IVV, 2021a) com uma produção de 6 418 939 hl de vinho em 2021 (IVV, 2021b). Como produtor, Portugal assume a décima primeira posição a nível mundial (OIV, 2020) e a quinta a nível da União Europeia (OIV, 2021).

A antiguidade da viticultura portuguesa, permitiu a existência de uma elevada riqueza de castas antigas. No que diz respeito à produção de vinho, estão autorizadas em Portugal 344 castas (Portaria 380/2012, 22 novembro), das quais 267 são castas autóctones em que cerca de 30 a 40 são de origem ibérica. Com esta elevada diversidade de castas autóctones e tendo em conta a dimensão do território português, Portugal pode ser considerado o país mais rico do mundo em termos de variabilidade intervietal de castas, o que explica a grande diversidade existente na composição das vinhas portuguesas (OIV, 2017).

2.2 Importância da seleção de castas antigas

A consciência da existência de variabilidade intervietal dentro da videira é já registada há vários séculos, em vários livros ampelográficos, com as descrições das diferentes castas existentes como, por exemplo o primeiro livro da descrição ampelográfica das castas portuguesas, datado de 1532 (Böhm, 2007). Atualmente, existem vários programas, bem estabelecidos, de preservação e caracterização em coleções ampelográficas, como por exemplo, a coleção ampelográfica em Vassal (França) (Gonçalves & Martins, 2022b; Yobregat *et al.*, 2011). A diversidade intravietal é uma noção já presente no mundo vitivinícola. Em países como França (Lacombe *et al.*, 2004; Yobregat *et al.*, 2011), Itália (Gardiman & Bavaresco,

2015), Espanha (Hernández *et al.*, 2020), Alemanha (Ruehl *et al.*, 2015) e Suíça (Maigre *et al.*, 2003; Spring *et al.*, 2019) têm sido relatadas estratégias de conservação, apesar da pouca importância dada por estes países (Gonçalves & Martins, 2022a).

A propagação vegetativa da videira, deu origem a populações inicialmente homogêneas que, ao longo de várias multiplicações durante centenas e milhares de anos, foram acumulando pequenas mutações genéticas naturais, associadas a todas as divisões celulares e replicações de DNA, dando origem a populações heterogêneas (Gonçalves *et al.*, 2013; Gonçalves & Martins, 2012). De facto, refere-se a uma casta antiga, aquela que não é selecionada, com uma idade centenária, geneticamente homogênea do ponto de vista morfológico, mas bastante heterogênea do ponto de vista de características agronómicas e enológicas (Gonçalves & Martins, 2022b; Martins & Gonçalves, 2015).

Assim, a riqueza das variedades portuguesas não se baseia somente na diversidade intervarietal, mas também na diversidade intravarietal (Martins & Gonçalves, 2015). É a partir desta, que pode ser assegurada a estabilidade da variedade ao longo do tempo e em ambientes distintos. Uma baixa interação genótipo× ambiente (G×E), traduz essa estabilidade. Por outro lado, a variabilidade intravarietal constitui o material base para qualquer tipo de seleção (Gonçalves & Martins, 2012, 2022b), contribuindo para uma melhor competitividade do setor dos vinhos e da viticultura.

Recentemente, estudos com novos métodos moleculares têm vindo a contribuir para a melhor compreensão da variação genética dentro das castas, assim como, na identificação de diferentes castas (Meneghetti *et al.*, 2012; Myles *et al.*, 2011; Pelsy *et al.*, 2010; Roach *et al.*, 2018; Vondras *et al.*, 2019).

A partir do século XX, tem-se vindo a observar uma degradação acelerada da variabilidade, devido a várias causas. Desde logo, a homogeneização dos processos agronómicos e tecnológicos, e a contenção de custos por parte dos viticultores - pela diminuição do número de castas, mas também por parte dos viveiristas - com a produção em massa de um número reduzido de variedades e clones. Com o uso de materiais homogêneos, a diversidade genética intravarietal está em deterioramento. É a partir da variabilidade intravarietal que se obtém material para (1) fazer face às exigências futuras, ao nível do consumidor e do setor vitivinícola, como aos stresses bióticos e abióticos (Carvalho *et al.*, 2020); (2) preservar a viticultura tradicional; (3) emitir hipóteses quanto à idade e percurso evolutivo das castas (Gonçalves *et*

al., 2013; Gonçalves & Martins, 2022b; Martins & Gonçalves, 2015), sendo por isso, imprescindível a conservação desta variabilidade, podendo assim atenuar a erosão genética.

Em Portugal, a seleção começou em 1978, a partir da metodologia clássica correntemente aplicada em França. Esta metodologia privilegiava a seleção sanitária relativamente à genética, uma vez que incidia sobre um número de clones restrito através de um delineamento simples. As três fases dessa metodologia clássica correspondem a: (1) obtenção de clones (2) conservação de clones selecionados e (3) multiplicação de clones. Entre cada etapa, eram realizados testes ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) aos clones, de maneira a haver um rastreio restrito relativamente à existência de vírus (Martins & Gonçalves, 2015). As observações para a seleção dos clones eram realizadas através de observações fenológicas e quantificações individuais, o que constituía uma elevada limitação deste método. De facto, a seleção fenotípica de uma característica quantitativa é ineficiente, por não ter em conta o elevado peso da influência ambiental no valor fenotípico. Não são distinguidas as componentes genéticas e ambientais, não sendo possível definir qual o peso da sua influência para um determinado ganho (Falconer & Mackay, 1996). Por outro lado, após a seleção, cada casta ficava representada por um número limitado de clones, conduzindo à erosão genética do património varietal a partir de uma diminuição da variabilidade intravarietal (Martins & Gonçalves, 2015).

2.3 Metodologia de seleção policlonal e clonal

Em 1983, Portugal modificou a metodologia de seleção, devido a limitações existentes na metodologia clássica (Martins & Gonçalves, 2015). Com recurso aos princípios da genética quantitativa e a metodologias estatísticas e indo contra a corrente do resto do mundo vitícola, iniciou-se um processo de seleção baseada em avaliações genotípicas, com uma eficiente garantia sanitária e que origina ganhos de produtividade na ordem dos 5 aos 46% (Martins & Gonçalves, 2015). Comparativamente à metodologia clássica, o foco principal é a obtenção de material selecionado com previsão dos ganhos genéticos, com uma menor sensibilidade à G×E e uma menor erosão genética.

Os estudos de avaliação da diversidade intravarietal e de seleção das variedades, assim como as estratégias de conservação são conduzidas pela Rede Nacional de Seleção da Videira e pela Associação Portuguesa para a Diversidade da Videira (PORVID). Até aos dias de hoje, já estão conservados cerca de 30 000 genótipos de mais de 200 variedades antigas. Neste momento

estão 64 castas em processo de seleção e a nível nacional estão plantados mais de 185 ensaios. O objetivo é atingir os 50 000 genótipos, conservando amostras representativas da variabilidade intravarietal de cerca de 250 castas autóctones e, assim, travar a erosão genética da diversidade intravarietal das castas antigas (Gonçalves & Martins, 2022b). Esta metodologia tem estado a correr contra a corrente, uma vez que, no mundo vitícola e na legislação o único material certificado é o material clonal. Porém, em julho de 2019 a metodologia de seleção policlonal foi reconhecida e aprovada pela Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) na resolução OIV-VITI 564B-2019.

De acordo com a Figura 1 a metodologia de seleção policlonal assenta em três fases: (1) prospeção de pés mães nas vinhas; (2) avaliação de genótipos em populações experimentais de clones; e (3) avaliação de clones em campos de comparação clonal.

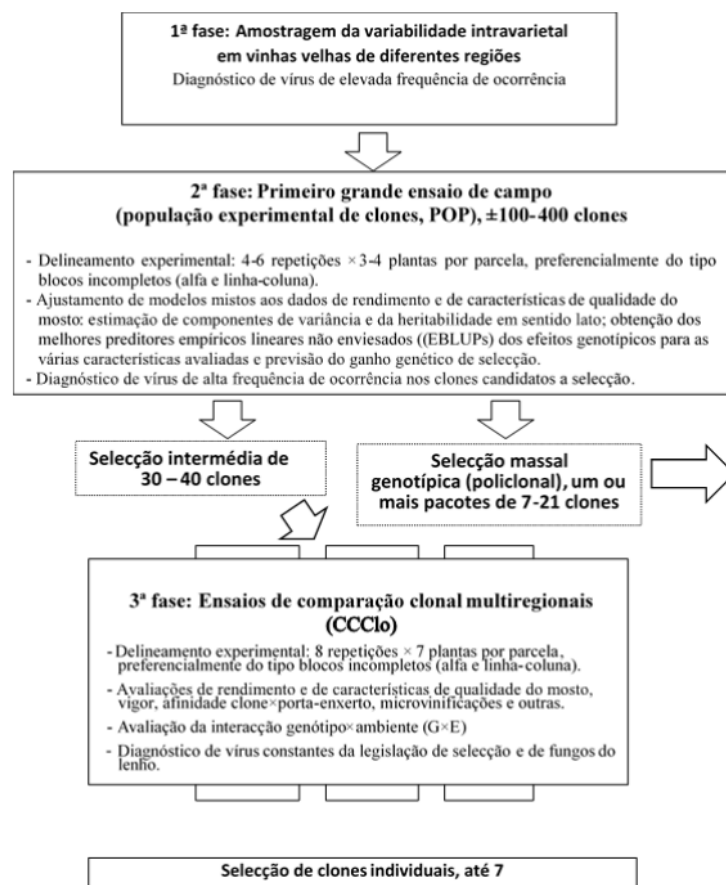


Figura 1. Esquema de seleção policlonal e clonal (Martins & Gonçalves, 2018)

2.3.1 Primeira fase: Prospecção de pés mães nas vinhas

A primeira fase, tem como objetivo a obtenção de uma amostra representativa da variabilidade intravarietal de uma casta. É realizada a prospecção aleatória de pés mães nas vinhas velhas, de todas as regiões onde a casta é cultivada. A partir de vários estudos de simulação, estimou-se que a amostra deverá conter pelo menos 70 plantas de no mínimo 20 vinhas representativas de cada uma região (Gonçalves & Martins, 2019; Martins & Gonçalves, 2015). O material deve ser recolhido em pelo menos 20 parcelas por região, de uma maneira aleatória e sem qualquer objetivo relativamente a características específicas, de modo que a variabilidade intravarietal existente seja abrangida na sua totalidade. É necessário ter em atenção se as plantas apresentam anomalias a nível fenotípico ou sanitário. Por fim, os pés mães são submetidos ao teste serológico (ELISA), para diagnóstico de vírus de elevada frequência. No caso das vinhas portuguesas, o vírus mais frequente é o Enrolamento Foliar da videira tipo 3 (GLRaV3).

Uma vantagem de se efetuar a prospecção de uma casta em várias regiões onde esta é fortemente cultivada, é a possibilidade da formulação de hipóteses sobre a sua evolução geográfica e idade evolutiva.

2.3.2 Segunda fase: Avaliação de génotipos em populações de clones

Na segunda fase, é instalado um ensaio de campo de grande escala, contendo uma amostra representativa da variabilidade da casta em estudo, a partir dos clones prospetados no final da fase de prospecção (cerca de 300 clones). De maneira a combater e diminuir a heterogeneidade espacial, são realizados delineamentos experimentais de 4-6 repetições por clone x 3-4 plantas por parcela, preferencialmente pertencentes à classe dos delineamentos em blocos incompletos: delineamento alfa; delineamento linha-coluna (Gonçalves *et al.*, 2010). Após a entrada em plena produção (2/3 ano após a enxertia) e, durante cerca de 3/4-6 anos, procede-se ao estudo das características a selecionar: rendimento dos clones, peso dos bagos e volume do mosto do bago, assim como de algumas características de qualidade do mosto (sólidos solúveis, acidez total, pH do mosto, antocianinas, fenóis totais). Com base nestes dados faz-se o estudo da variabilidade, ajustando-se modelos lineares mistos, tendo os resultados dois caminhos possíveis. Por um lado, é realizada a seleção dos 7 a 20 génotipos superiores, em que estes são multiplicados e distribuídos aos viticultores como material de seleção massal de clones, ou policlonal, o que constitui o primeiro resultado de seleção. Por outro lado, é realizada uma seleção intermédia com os 30-40 clones superiores, seguindo-se para a terceira fase. À medida

que surgem mais métodos, também poderão ser feitas avaliações de tolerância aos stresses abióticos e bióticos.

2.3.3 Terceira fase: Avaliação de clones em campos de comparação clonal

A última fase de seleção consiste no estabelecimento de ensaios multiregionais com os 30-40 melhores clones oriundos da fase de seleção anterior. Os campos de comparação clonal são estabelecidos segundo um delineamento experimental de 8 repetições (blocos) x 6-7 plantas por parcela, preferencialmente do tipo bloco incompleto: delineamento alfa; delineamento linha-coluna. Uma vez que se pretende selecionar clones individuais, é necessário estudar a interação G×E, de maneira a se obter clones superiores relativamente a características agronômicas e enológicas, mas também que tenham um comportamento estável relativamente a variações ambientais. Para isso, o estudo deverá basear-se na plantação de vários ensaios em vários ambientes representativos, o que significa instalar-se ensaios para uma mesma casta em pelo menos 2-5 regiões distintas, normalmente sobre porta-enxertos diferentes (Gonçalves *et al.*, 2019; Gonçalves & Martins, 2019; Martins & Gonçalves, 2015). São avaliados os mesmos parâmetros da fase anterior, como rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago e características qualitativas do mosto, mas também a interação G×E, vigor, adaptação a porta-enxertos, microvinificações entre outros. No final desta fase de seleção, são selecionados no mínimo 7 clones individuais, para serem submetidos a homologação e posterior distribuição como material certificado, ou como material base.

2.4 Características a estudar

Durante o processo de seleção, o rendimento (kg/planta), constitui uma das características de maior importância económica. Porém, quantidade (rendimento elevado) não é sinónimo de qualidade. Segundo Navarre (1997), características como o teor de açúcar (°Brix), acidez total, pH, compostos fenólicos entre outros, estão na base da qualidade e tipicidade de um bom vinho.

A qualidade da uva é fundamental para a produção de vinhos, sendo a maturação um dos principais processos para um bom produto final (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). É nos bagos que estão presentes os principais compostos para a obtenção de um determinado tipo de vinho. Na película encontram-se os aromas e a pigmentação, na polpa os açúcares, ácidos, compostos fenólicos e a pigmentação no caso das castas tintureiras e nas grainhas os compostos como os taninos (Magalhães, 2015; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Um elemento de elevada importância é a acumulação de açúcar no bago, expresso em °Brix-açúcar / 100 g de mosto. É através desta, que se traduz o potencial alcoólico do vinho, mas também que se desencadeiam as sínteses de compostos metabólicos secundários como os polifenóis, antocianinas, aromas entre outros. Os açúcares estão presentes na polpa dos bagos, sobre a forma de duas hexoses, a frutose e a glucose (Magalhães, 2015; Navarre, 1997; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Durante o crescimento vegetativo, a planta utiliza o açúcar como fonte de energia para o seu crescimento. Quando este cessa, o açúcar proveniente da fotossíntese acumula-se nos bagos até se atingir o ponto ideal da maturação. O teor de açúcar no mosto dita a tipicidade de um vinho- vinhos semi-secos podem alcançar até 20g açúcar/l enquanto os vinhos licorosos podem ter acima de 40g açúcar/l (Navarre, 1997). A fermentação, é por sua vez, condicionada pela quantidade de açúcar no mosto. A fermentação é lenta com uma concentração inicial de açúcar de poucas gramas por litro, ao passo que se torna mais estável, com uma concentração até cerca de 200 g de açúcar/l. É de notar que uma concentração inicial de açúcar muito elevada pode impossibilitar a fermentação completa provocando a sua paragem (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Outra característica de elevada importância é a acidez. É na polpa que se encontram os ácidos málicos e tartáricos, representando cerca de 90% da acidez total (Magalhães, 2015; Navarre, 1997; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Para a determinação da acidez na maturação, é comum recorrer-se à determinação da acidez real e da acidez total. A primeira, também denominada por pH, é provocada pela libertação dos iões H^+ , ou seja, corresponde à absorção do ião K^+ que salidifica o ácido tartárico sob forma de bitartarato (Magalhães, 2015). A acidez total, corresponde à soma das funções ácidas livres na solução, expressa em gramas de ácido tartárico por litro de mosto (Navarre, 1997). A acidez do mosto, influencia a acidez do vinho, a cor, as qualidades sensoriais entre outros (Deloire, 2010). Confere ao vinho frescura e corpo: pouca acidez origina vinhos fracos; muita acidez origina vinhos duros (Navarre, 1997). É também sabido que o pH condiciona a fermentação. Um pH demasiado baixo não favorece a fermentação, mas um pH elevado pode tornar as consequências de uma fermentação parada mais séria. Um pH baixo inibe o crescimento das bactérias tornando a fermentação mais estável (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

A relação entre o rendimento e as características de qualidade está muito condicionada pelas práticas culturais mas também pelas condições climáticas (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). O balanço entre a acidez total e o açúcar é fundamental para determinar um vinho de qualidade.

Estudos indicam que temperaturas elevadas promovem a acumulação de açúcares e por sua vez um elevado potencial alcoólico, sendo o peso e tamanho do bago, reduzido, assim como a concentração dos ácidos totais e as antocianinas (Costa et al., 2020). Em contrapartida, em regiões frias, há uma menor concentração de açúcares e uma maior acidez (Schmit *et al.*, 2013). O tamanho do bago tem uma elevada influência na concentração dos diversos compostos existentes na película e na polpa. Muitos especialistas concordam que é necessário um rendimento baixo para obter uma conveniente maturação da uva, e compostos menos diluídos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

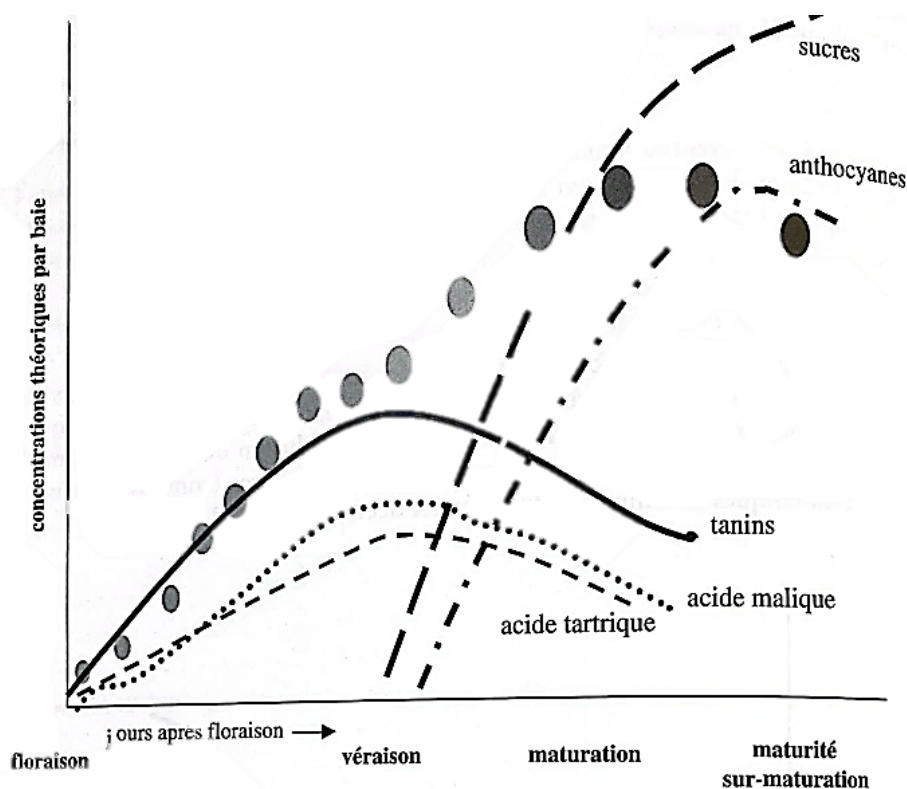


Figura 2. Evolução dos principais metabolitos primários e secundários em concentração (Carbonneau et al., 2007)

Por fim, os objetivos da seleção não são fixos com o tempo. Os objetivos de há 40 anos, no início da seleção, não são os mesmos de hoje. As respostas a novas exigências só são possíveis se existir uma ampla variabilidade genética intravarietal. Portanto, é imprescindível a conservação dessa variabilidade, de maneira a futuramente fazer face a outras necessidades (Martins, 2006).

2.5 Fundamentos de genética quantitativa

A genética é, de uma maneira simples, o estudo dos genes. Um gene é um segmento de ADN que contém a informação transmitida de uma geração para a outra, sendo o seu conjunto, o genoma, o que determina uma determinada espécie. O genótipo é o conjunto da informação genética de uma planta (Martins & Gonçalves, 2018). Da expressão dos alelos constituintes do genótipo resulta o fenótipo, ou seja, a aparência de um indivíduo.

Falar de genética sem falar de George Mendel (1822-1884) é impossível. É conhecido muitas vezes como o “pai da genética”, realizou diversos estudos com ervilheiras que apontavam para a existência de componentes biológicos, conhecidos como genes, que não só determinavam a aparência de um indivíduo como eram transmitidos à sua descendência (Griffiths *et al.*, 2016).

As características observadas por Mendel baseavam-se em características visíveis, como por exemplo a cor (se eram verdes ou amarelas), ou forma (lisas ou rugosas) das ervilhas. Estas características são de carácter qualitativo, exibindo uma distribuição discreta numa população heterogénea e são governadas por genes maiores ou macrogenes. O fenótipo é a expressão de um genótipo face a um determinado ambiente. No caso da vinha, exemplos típicos da expressão de macrogenes numa casta que dão origem a subdivisões são, por exemplo, variações ao nível da cor do bago (por exemplo, Pinot Noir/ Pinot Gris/ Pinot Blanc), ou então a forma da folha (por exemplo, Chasselas/ Chasselas Cioutat) (Gonçalves & Martins, 2012, 2022b).

Pelo contrário, a genética quantitativa consiste no estudo de características quantitativas, mensuráveis, determinadas pela ação cumulativa de vários genes, microgenes, mas também por desvios ambientais, apresentando uma distribuição contínua e normal numa população heterogénea. No caso em estudo, o rendimento ou características de qualidade do mosto constituem características quantitativas da videira (Martins & Gonçalves, 2018). A expressão desses microgenes, ao contrário do que acontece nos macrogenes, não chega a ser um critério de subdivisão da casta em castas distintas.

2.5.1 Valores fenotípicos e genotípicos

O valor fenotípico (P) é composto pela soma do valor genotípico (G) e do desvio ambiental (E).

$$P = G + E$$

O valor genotípico consiste na parte do valor fenotípico de uma característica que é transmissível à descendência, composto por:

$$G = A + D + I \quad (1)$$

em que G é o valor genotípico, A o valor aditivo (reprodutivo), D o desvio de dominância e I o desvio epistático.

O valor reprodutivo (A) traduz o que determinado indivíduo efetivamente transmite à sua descendência em populações de fecundação cruzada. É dado pelo valor médio dos seus descendentes quando cruzado ao acaso com os outros elementos da população (Falconer & Mackay, 1996). O desvio epistático (I) ou desvio de interação deve-se à capacidade que algumas combinações específicas de alelos em determinados *loci* têm para influenciar ou mascarar a expressão dos alelos de outro *locus*.

2.5.2 Componentes de variância

Na genética quantitativa, o estudo de características quantitativas foca-se na análise da sua variabilidade. A partição da variância em componentes atribuíveis a diferentes causas, é a maneira de quantificar a importância relativa das influências genéticas e ambientais.

A variância fenotípica V_P , corresponde à soma das variâncias genotípicas e ambientais, admitindo G e E independentes. Assim,

$$V_P = V_G + V_E$$

em que V_G é a variância genética e V_E a variância dos desvios ambientais.

À semelhança da equação (1), a variância genética (V_G) contém várias componentes,

$$V_G = V_A + V_D + V_I$$

em que V_A é a variância genética aditiva, V_D a variância genética devido a desvios de dominância e V_I a variância genética devido a efeitos epistático, admitindo a independência de A, D e I.

Em populações de fecundação cruzada, a componente de variância aditiva (V_A), ou seja, variância dos valores reprodutivos, é a principal determinante das propriedades genéticas observáveis da população à seleção (Falconer & Mackay, 1996). No caso de plantas de propagação vegetativa, como é o caso de castas antigas de videira, a variância genotípica é tomada para as análises relativas à seleção.

2.5.3 Heritabilidade

Segundo Griffiths *et al.*, (2016), a heritabilidade é o papel que as diferenças nos genes têm nas diferenças fenotípicas entre os indivíduos. É um parâmetro respeitante a uma característica numa determinada população e num determinado ambiente.

Podem ser considerados dois tipos de heritabilidade, em sentido lato e em sentido restrito. A heritabilidade em sentido lato corresponde à fração da variância fenotípica atribuível a causas genotípicas, e é, classicamente definida como:

$$h_G^2 \text{ ou } H^2 = \frac{V_G}{V_P} = \frac{V_G}{V_G + V_E}$$

Esta heritabilidade é utilizada para estudos com plantas de propagação vegetativa, em que o valor genotípico é transmitido à descendência, como é o caso do estudo de castas antigas de videira.

Relativamente a populações de fecundação cruzada, o que se transmite à descendência é o valor aditivo (reprodutivo). É utilizada a heritabilidade em sentido restrito (h_A^2) que correspondente à fração da variância fenotípica atribuível a causas genéticas aditivas. É definida como,

$$h_A^2 = \frac{V_A}{V_P} = \frac{V_A}{V_G + V_E}$$

Ambas as heritabilidades, são parâmetros importantes na genética quantitativa, uma vez que apenas os valores fenotípicos podem ser quantificados diretamente, sendo que é o valor genético que determina a influência de uma característica de geração em geração. Os valores das heritabilidades variam entre 0 e 1, sendo a seleção tanto mais eficaz quanto mais próximo for o seu valor de 1 (Falconer & Mackay, 1996).

2.5.4 Preditor dos efeitos genéticos

Para o estudo e quantificação dos efeitos genotípicos de uma determinada característica, o melhor preditor linear empírico não enviesado (EBLUP) dos efeitos genotípico (Henderson, 1975) é preditor consensualmente utilizado. O EBLUP do efeito genotípico é um indicador mais preciso da mais-valia genética de um genótipo do que o valor fenotípico, uma vez que remove os desvios ambientais. Assim, num processo de seleção, a média dos EBLUPs dos genótipos selecionados corresponde ao ganho genético de seleção (Gonçalves *et al.*, 2013; Isik *et al.*, 2017).

2.5.5 Interação Genótipo×Ambiente (G×E)

É essencial, para a seleção, analisar a interação genótipo G×E, uma vez que o valor fenotípico para uma determinada característica de um determinado clone, é controlado pelo efeito genotípico, efeito ambiental, mas também pelo efeito da interação G×E. (Gonçalves *et al.*, 2020). Esta interação G×E corresponde à alteração do comportamento do genótipo, neste caso do clone, resultante de mudanças de ambiente. É uma alteração específica de cada combinação G×E, não paralela à alteração sofrida por outros genótipos sob análise face à mesma mudança ambiental (Martins & Gonçalves, 2018).

Esta análise tem como objetivo analisar a sensibilidade de cada clone a diferentes ambientes e selecionar clones os menos sensíveis à interação G×E. Uma das formas de avaliar este fenómeno consiste na análise da variância dos EBLUPs dos efeitos da interação nos diferentes ambientes (Gonçalves *et al.*, 2020).

3 Materiais e métodos

3.1 Materiais

Neste trabalho foram utilizados dados de rendimento (kg/planta), peso médio do bago (grama/bago), volume do mosto do bago (ml/bago) e características de qualidade do mosto.

Os dados utilizados são provenientes de ensaios da segunda fase da metodologia de seleção da videira - População Experimental de Clones (POP) descrita no ponto 2.3. Toda a informação relativa às castas estudadas, local e delineamento experimental dos respetivos ensaios, características e respetivos anos de avaliação encontra-se descrita no Quadro 1.

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação das características

A avaliação das características obedece a processos rigorosos para a minimização dos erros e a fiabilidade dos dados obtidos.

3.2.1.1 Rendimento

O rendimento é avaliado através da vindima controlada. Cada técnico presente está encarregue de acompanhar e controlar 2 a 4 vindimadores. A vindima realiza-se por unidade experimental de cada clone, em que o clone está representado, em geral, por 3 plantas (tal depende do ensaio, Quadro 1). Após serem apanhados os cachos de um clone, são pesados em balanças portáteis dinamométricas. Os valores obtidos são registados em folhas de vindima, elaboradas a partir de um mapa de campo, onde consta o nome da casta, identificação dos clones e respetivas posições em campo. Posteriormente, os dados são introduzidos numa folha de cálculo.

3.2.1.2 Características de qualidade do mosto

Para a realização das avaliações das características de qualidade do mosto, colheram-se 60 bagos por clone, uma média de 20 bagos por planta ou cepa (em geral, cada clone é representado por 3 plantas). Os bagos são colhidos o mais aleatoriamente possível, tentando abranger a cepa na sua totalidade (frente/trás; esquerda/direita; cima/baixo).

Após vários estudos metodológicos para determinar qual o tamanho adequado da amostra, chegou-se à conclusão de que os 60 bagos por unidade experimental garantem uma boa representatividade dos elementos a amostrar e permite uma boa exequibilidade do trabalho de campo.

Os bagos são colocados em sacos devidamente etiquetados com o nome da casta, número do clone e a respetiva localização no campo (Clone; Bloco; Linha; Coluna), colocados em malas térmicas e posteriormente congelados até serem analisados em laboratório.

Quadro 1. Caracterização dos ensaios e dos dados a analisar

Casta	Local	Delimitação	Nº Clones	Características	Anos das obs.	Blocos avaliados
Antão Vaz	Évora	r=5, p=5 (RCBD)	210	Rendimento	1988;1989;1990	B1, B2, B3, B4, B5
	Pegões	r=6, k=11, s=10, p=3 (RCD)	110	Rendimento Peso; °Brix; pH; Acidez	2019	B1, B2, B3, B4, B5, B6 B4, B5, B6
Arinto	Pegões	r=6, k=11, s=15, p=3 (RCD)	165	Rendimento Peso; °Brix; pH; Acidez	2019;20;21 2021	B1, B2, B3, B4, B5, B6 B4, B5, B6
	Setúbal	r=5, p=4 (RCBD)	247	Rendimento	1995;1998;1999;2000	B1, B2, B3, B4
Bastardo	Alijó	r=4, p=3 (RCBD)	266	Rendimento	2007;2009;2010	B1, B2, B3, B4
	Pegões	r=4, k=17, s=22, p=3 (RCD)	372	Rendimento	2018;2019;2020;2021	B1, B2, B3, B4
Batoça	Castelo Branco	r=5, k=5, s=19, p=5 (RCD)	92	Rendimento	2021	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; brix; pH Acidez;		B1, B2, B3
Castelão	Palmela	r=5, k=18, s=15, p=3 (RCD)	259	Rendimento	2019	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; vmosto; °Brix; Acidez; pH; Antocianinas; Fenóis		B3, B4, B5
Cerceal Branco	Alijó	r=5, p=3 (RCBD)	50	Rendimento	2009;2011;2012; 2013;2015;2019	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; °Brix; Acidez; pH	2012	B1, B4, B5
				°Brix; Acidez; pH	2013	B1, B4, B5
				Peso; °Brix; Acidez; pH	2019	B2, B3, B4, B5
Encruzado	Alijó	r=4, k=10, s=18, p=3 (RCD)	179	Rendimento	2009;2010;2011;2012; 2013;2014;2015;2016; 2017;2018;2019;2020; 2021	B1, B2, B3, B4
				°Brix; Acidez	2019;2020;2021	B2, B3, B4
				Peso	2019;2020	B2, B3, B4
	Nelas	r=4, k=10, s=18, p=3 (RCD)	179	Rendimento	2004;2005;2006;2007; 2011;2019	B1, B2, B3, B4, B5
Fonte Cal	Covilhã	r=5, p=3 (RCBD)	220	Rendimento	2010;2011;2012;2013; 2015;2019	B1, B2, B3, B4, B5
			220	Peso; °Brix; Acidez; pH	2019	B1, B2, B3, B4, B5
Gouveio	Pegões	r=5, k=14, s=11, p=3 (RCD)	154	Rendimento	2020;2021	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; °Brix; pH; Acidez	2021	B3, B4, B5

Quadro 1. Caracterização dos ensaios e dos dados a analisar (cont.)

Casta	Local	Delineamento	Nº Clones	Características	Anos das obs.	Blocos avaliados
Grenache	Pegões	r=6, k=6, s=21, p=3 (RCD)	126	Rendimento	2020;2021	B1, B2, B3, B4, B5, B6
				Peso; °Brix; pH; Acidez; Fenóis; Antocianas;	2020	B4, B5, B6
	Tomelloso (Espanha)	r=5, p=3 (RCBD)	215	Rendimento	1999;2000;2001;2002	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; °Brix; pH; Acidez; Fenóis; Antocianas;	2002	B1, B2, B5
Moreto	Pegões	r=6, k=11, s=6, p=3 (RCD)	55	Rendimento	2020;2021	B1, B2, B3, B4, B5, B6
				Peso; vmosto; °Brix; pH; Acidez; Fenóis; Antocianas;	2020	B4, B5, B6
Moscatel Graúdo	Palmela	r=5, p=4 (CRD)	187	Rendimento	1989;1990;1992	B1, B2, B3, B4, B5
	Pegões	r=4, p=3 (RCBD)	99	Rendimento	2000;2003;2015	B1, B2, B3, B4
Negra Mole	Algarve	r=5, p=4 (RCBD)	187	Peso; vmosto; °Brix; Acidez; pH; Antocianas; Fenóis	2021	B1, B2, B3
Rufete	Pegões	r=6, k=11, s=22, p=3 (RCD)	242	Rendimento	2020	B1, B2, B3, B4, B5, B6
				Peso; vmosto; °Brix; Acidez; pH; Antocianas; Fenóis		B4, B5, B6
Tinta Barroca	Reguengos	r=4, p=3 (RCBD)	210	Rendimento	2008;2009;2019	B1, B2, B3, B4
				peso; °Brix; pH; vmosto	2021	B1, B2, B3
	Vilariça	r=5, p=4 (RCBD)	67	Rendimento	2001;2005	B1, B2, B3, B4
Tinta Caiada	Pegões	r=6, k=11, s=16, p=3 (RCD)	220	Rendimento	2020;2021	B1, B2, B3, B4, B5, B6
				Peso; vmosto; °Brix; Acidez; pH; Antocianas; Fenóis	2021	B4, B5, B6
	Reguengos	r=5, k=13, s=20, p=3 (RCD)	211	Rendimento	2008;2009	B1, B2, B3, B4, B5
Touriga Franca	Pinhel	r=5, p=4 (RCBD)	110	Rendimento	2010;2011;2019	B1, B2, B3, B4, B5
				Peso; vmosto; °Brix; Acidez; pH; Antocianas; Fenóis	2019	B3, B4, B5

r, repetições (blocos completos); k, nº de linhas dentro do bloco completo; s, nº de colunas dentro do bloco completo; p, plantas; CRD, Delineamento totalmente casualizado; RCD, Delineamento linha-coluna resolúvel; RCBD, Delineamento em blocos completos casualizados, com arranjo linha-coluna.

No laboratório, as análises são efetuadas em dois dias, no caso das castas brancas e três dias, no caso das tintas. No primeiro dia, as amostras são postas a descongelar, retirando-as do saco, deixando-o junto dos bagos para se saber a que amostra se refere. No dia seguinte, os bagos são contados, pesados e esmagados, colocando o líquido em tubos de 50 ml. São efetuadas análises correspondentes ao pH, sólidos solúveis (°Brix) e acidez total do mosto. Os métodos laboratoriais usados para cada medição são: o método refratométrico para o °Brix; potenciometria para o pH; e titulação no caso da acidez total. Para este último, são pipetados 5ml do mosto, adicionando 25 ml de água bidestilada e 1ml de azul de bromotimol. A titulação é realizada com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,1M) até que a solução atinja um pH de 7 com o potenciômetro. No final, a acidez total é calculada através da seguinte expressão:

$$Acidez = (NaOH_f - NaOH_i) \times 1,5$$

sendo $NaOH_f$ a solução de hidróxido de sódio final e $NaOH_i$ a solução de hidróxido de sódio inicial. No caso das castas tintas, ao esmagar os bagos, o mosto é separado da película e grainhas. A parte sólida é colocada em tubos de centrífuga com etanol a 96% e uma solução tampão (pH 3,2). Depois de fechados, são colocados na estufa a 25°C até ao dia seguinte, obtendo-se o extrato segundo o método de Carbonneau & Champagnol (1993). No dia seguinte, o extrato é recolhido e centrifugado durante 10 minutos a 4000 r.p.m. A determinação do índice de fenóis totais e das antocianinas é realizada por espectrofotometria. Na primeira, é realizada uma diluição de 1/100 do extrato obtido (colocando num balão volumétrico de 50 ml 0,5 ml do extrato e perfazendo com água destilada até aos 50ml). A leitura é feita na absorção a 280 nm e utiliza-se como branco uma cuvete com água destilada. Por fim, a determinação das antocianinas é realizada através do método de Ribéreau-Gayon & Stonestreet (1965). Para cada amostra são necessários três tubos de ensaio grandes. No primeiro tubo (tubo A), são colocados 20ml de solução de HCL 2%, 1ml de etanol com HCL 0,1% e 1ml de extrato, agita-se bem o tubo no vórtex. Nos outros dois tubos (tubo 1 e 2), colocam-se 10ml do extrato do tubo A em cada tubo e 4ml de água destilada no tubo 1 e 4ml de solução de metabissulfito de sódio 15% no tubo 2. Agita-se os dois tubos no vórtex e é realizada a leitura na absorção 520 nm, utilizando o tubo 2 como branco.

3.2.2 Modelos matemáticos

O estudo da variabilidade genética intravarietal é realizado na segunda fase da metodologia de seleção da videira (Figura 1), a partir do ajustamento de modelos lineares mistos aos dados de características quantitativas economicamente importantes. Um dos modelos mais simples para a análise de dados colhidos nesses ensaios, resulta de um modelo referente a um delineamento experimental em blocos completos casualizados (o mais simples seria o resultante de casualização global que, neste estudo foi apenas utilizado no ensaio da casta Moscatel Graúdo-Palmela, como descrito no Quadro 1). Uma vez que o número de clones nesses ensaios é elevado, as unidades experimentais em cada bloco completo foram dispostas segundo uma grelha linha×coluna, constituindo cada bloco completo uma repetição resolúvel. Sendo assim, o modelo linear para a análise dos dados de um ensaio organizado segundo um delineamento experimental em blocos completos casualizados (RCBD), assumindo os efeitos dos blocos completos como aleatórios, pode revestir a seguinte forma (Gonçalves, 2008):

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_g\mathbf{u}_g + \mathbf{Z}_r\mathbf{u}_r + \mathbf{e}.$$

Considerando n observações, p efeitos fixos, q_1 genótipos e q_2 repetições resolúveis (blocos completos), tem-se que:

$\mathbf{y}_{(n \times 1)}$ é o vetor de observações;

$\mathbf{X}_{(n \times p)}$ é a matriz de delineamento associada aos efeitos fixos, $\boldsymbol{\beta}_{(p \times 1)}$ é o vetor de efeitos fixos;

$\mathbf{u}_g_{(q_1 \times 1)}$ é o vetor de efeitos genotípicos e $\mathbf{Z}_g = \mathbf{1}_{q_2} \otimes I_{q_1}$ é a matriz de delineamento de dimensão $(n \times q_1)$ associada aos efeitos genotípicos (sendo $\mathbf{1}_{q_2}$ um vetor com q_2 elementos 1, I_{q_1} uma matriz identidade de dimensão $(q_1 \times q_1)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_r_{(q_2 \times 1)}$ é o vetor de efeitos das repetições resolúveis (blocos completos) e $\mathbf{Z}_r = I_{q_2} \otimes \mathbf{1}_{q_1}$ é a respectiva matriz de delineamento de dimensão $(n \times q_2)$ (sendo $\mathbf{1}_{q_1}$ um vetor com q_1 elementos 1, I_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{e}_{(n \times 1)}$ representa o vetor de erros aleatórios.

Uma vez que todos os fatores do modelo se admitiram de efeitos aleatórios, $\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}$ reduz-se a $\mathbf{1}_n\boldsymbol{\mu}$, sendo $\mathbf{1}_n$ um vetor com n elementos 1 e $\boldsymbol{\mu}$ a média geral da população.

Os vetores \mathbf{u}_g , \mathbf{u}_r , e \mathbf{e} admitem-se mutuamente independentes com distribuição normal multivariada de vetor de valores médios nulo e matrizes de variâncias - covariâncias dadas por:

$$\text{Var}[\mathbf{u}] = \mathbf{G} = \mathbf{G}_g \oplus \mathbf{G}_r, \text{ com } \mathbf{G}_g = \sigma_g^2 \mathbf{I}_{q_1} \text{ e } \mathbf{G}_r = \sigma_r^2 \mathbf{I}_{q_2},$$

$$\text{Var}[\mathbf{e}] = \mathbf{R} = \sigma_e^2 \mathbf{I}_n,$$

$$\text{Var}[\mathbf{y}] = \mathbf{V} = \mathbf{Z}_g \mathbf{G}_g \mathbf{Z}_g^T + \mathbf{Z}_r \mathbf{G}_r \mathbf{Z}_r^T + \sigma_e^2 \mathbf{I}_n.$$

No caso de ensaios com delineamento experimental linha-coluna resolúvel (RCD), o modelo de análise dos dados pode ser escrito matricialmente como (Gonçalves, 2008):

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_g \mathbf{u}_g + \mathbf{Z}_r \mathbf{u}_r + \mathbf{Z}_{col(r)} \mathbf{u}_{col(r)} + \mathbf{Z}_{li(r)} \mathbf{u}_{li(r)} + \mathbf{e}.$$

Para n observações, p efeitos fixos, q_1 genótipos, q_2 repetições resolúveis, q_3 colunas por repetição e q_4 linhas por repetição, resulta que:

$\mathbf{y}_{(n \times 1)}$ é o vetor de observações;

$\mathbf{X}_{(n \times p)}$ é a matriz de delineamento associada aos efeitos fixos e $\boldsymbol{\beta}_{(p \times 1)}$ o vetor de efeitos fixos;

$\mathbf{u}_{g_{(q_1 \times 1)}}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos genotípicos e $\mathbf{Z}_g = \mathbf{1}_{q_2} \otimes \mathbf{I}_{q_1}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times q_1)$ (sendo $\mathbf{1}_{q_2}$ um vetor com q_2 elementos 1, \mathbf{I}_{q_1} uma matriz identidade de dimensão $(q_1 \times q_1)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_{r_{(q_2 \times 1)}}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das repetições resolúveis e $\mathbf{Z}_r = \mathbf{I}_{q_2} \otimes \mathbf{1}_{q_1}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times q_2)$ (sendo $\mathbf{1}_{q_1}$ um vetor com q_1 elementos 1, \mathbf{I}_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_{col(r)_{((q_2 \times q_3) \times 1)}}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das colunas dentro das repetições e $\mathbf{Z}_{col(r)} = \mathbf{I}_{q_3} \otimes \mathbf{1}_{q_4} \otimes \mathbf{I}_{q_2}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times (q_2 \times q_3))$; (sendo \mathbf{I}_{q_3} uma matriz identidade de dimensão $(q_3 \times q_3)$, $\mathbf{1}_{q_4}$ um vetor com q_4 elementos 1, \mathbf{I}_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{u}_{li(r)_{((q_2 \times q_4) \times 1)}}$ é um vetor cujos elementos representam os efeitos das linhas dentro das repetições e $\mathbf{Z}_{li(r)} = \mathbf{I}_{q_4} \otimes \mathbf{1}_{q_3} \otimes \mathbf{I}_{q_2}$ é a respetiva matriz de delineamento, de dimensão $(n \times (q_2 \times q_4))$; (sendo \mathbf{I}_{q_4} uma matriz identidade de dimensão $(q_4 \times q_4)$, $\mathbf{1}_{q_3}$ um vetor com q_3

elementos 1, I_{q_2} uma matriz identidade de dimensão $(q_2 \times q_2)$ e \otimes o produto de Kronecker de matrizes);

$\mathbf{e}_{(n \times 1)}$ é o vetor de erros aleatórios.

Os vetores \mathbf{u}_g , \mathbf{u}_r , $\mathbf{u}_{col(r)}$, $\mathbf{u}_{li(r)}$, e \mathbf{e} admitem-se mutuamente independentes com distribuição normal multivariada de vetor de valores médios nulo e matrizes de variâncias - covariâncias são dadas por:

$$Var[\mathbf{u}] = \mathbf{G} = \mathbf{G}_g \oplus \mathbf{G}_r \oplus \mathbf{G}_{col(r)} \oplus \mathbf{G}_{li(r)},$$

com

$$\mathbf{G}_g = \sigma_g^2 \mathbf{I}_{q_1}, \quad \mathbf{G}_r = \sigma_r^2 \mathbf{I}_{q_2}, \quad \mathbf{G}_{col(r)} = \sigma_{col(r)}^2 \mathbf{I}_{(q_2 \times q_3)} \quad \text{e} \quad \mathbf{G}_{li(r)} = \sigma_{li(r)}^2 \mathbf{I}_{(q_2 \times q_4)},$$

$$Var[\mathbf{e}] = \mathbf{R} = \sigma_e^2 \mathbf{I}_n,$$

$$Var[\mathbf{y}] = \mathbf{V} = \mathbf{Z}_g \mathbf{G}_g \mathbf{Z}_g^T + \mathbf{Z}_r \mathbf{G}_r \mathbf{Z}_r^T + \mathbf{Z}_{col(r)} \mathbf{G}_{col(r)} \mathbf{Z}_{col(r)}^T + \mathbf{Z}_{li(r)} \mathbf{G}_{li(r)} \mathbf{Z}_{li(r)}^T + \sigma_e^2 \mathbf{I}_n.$$

A distribuição do vetor \mathbf{y} admite-se normal multivariada, com vetor de valores médios $\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}$ e matriz de variâncias - covariâncias \mathbf{V} : $\mathbf{Y} \cap \mathcal{N}_n(\mathbf{X}\boldsymbol{\beta}, \mathbf{V})$.

Nos modelos lineares mistos descritos anteriormente, as componentes de variância σ_g^2 , σ_r^2 , $\sigma_{col(r)}^2$, $\sigma_{li(r)}^2$, e σ_e^2 foram estimadas pelo método de máxima verosimilhança restrita (REML) (Patterson & Thompson, 1971).

Os estimadores dos efeitos fixos e os preditores dos efeitos aleatórios são obtidos através das equações do modelo misto (Henderson, 1975; Searle *et al.*, 1992). Concretamente, o melhor preditor empírico linear não enviesado (EBLUP) do vetor \mathbf{u} é dado por:

$$\tilde{\mathbf{u}} = \mathbf{G}\mathbf{Z}^T\mathbf{V}^{-1}(\mathbf{Y} - \mathbf{X}\hat{\boldsymbol{\beta}}).$$

Com o ajustamento deste tipo de modelo, no contexto da quantificação da variabilidade intravarietal e seleção, os grandes objetivos são estimar as componentes de variância (com base nas quais se avalia, por exemplo, a variabilidade genética intravarietal) e testar a existência de variabilidade genética intravarietal. Este último teste baseia-se num teste de razão de verosimilhanças restritas, descrito da seguinte forma:

- 1) Hipóteses: $H_0: \sigma_g^2 = 0$ vs $H_1: \sigma_g^2 > 0$;

- 2) Estatística do teste de razão de verosimilhanças restritas e respetiva distribuição,

$$\Lambda = 2(l_{R_1} - l_{R_0}) \sim \chi_v^2,$$

sendo l_{R_1} a log-verossimilhança restrita associada ao modelo definido em H_1 e l_{R_0} a log-verossimilhança restrita associada ao modelo definido em H_0 ; os graus de liberdade (ν) são dados pela diferença entre o número de parâmetros variância dos dois modelos. Neste caso adotou-se a opção conservativa de admitir 1 grau de liberdade;

3) Para o nível de significância (α) definido, rejeita-se H_0 se $\Lambda_{calc} > \chi^2_{\alpha(\nu)}$.

Para a análise da variabilidade intravarietal de cada variedade, foram ainda calculados os indicadores seguidamente descritos:

(1) Precisão da quantificação da diversidade intravarietal, quantificada pelo o rácio $\hat{\sigma}_g^2/SE$ (onde $\hat{\sigma}_g^2$ é a estimativa da variância genotípica do rendimento e SE é o erro padrão associado a essa estimativa); quanto maior for o valor deste rácio, maior será a precisão associada à quantificação da diversidade intravarietal.

(2) Uma medida generalizada de heritabilidade em sentido lato adaptada de (Gonçalves et al., 2013), para avaliar a proporção da variabilidade fenotípica devida a causas genéticas e assim avaliar a eficiência da selecção:

$$H^2 = 1 - \frac{\overline{PEV}}{\hat{\sigma}_g^2},$$

em que \overline{PEV} representa a média da variância dos erros de predição dos efeitos genotípicos.

(3) Coeficiente de variação genotípico (CV_G), uma medida relativa de quantificação da variabilidade genética intravarietal útil quando se pretende comparar a variabilidade genética entre castas (ou da mesma casta entre ensaios, ou entre características diferentes):

$$CV_G(\%) = \frac{\hat{\sigma}_g}{\text{média geral}} \times 100,$$

sendo $\hat{\sigma}_g$ a estimativa do desvio padrão genotípico;

(4) Melhores preditores empíricos lineares não enviesados (EBLUPs) dos efeitos genotípicos (a parte da diferença entre a média fenotípica do genótipo e a média global da população, que é explicada por causas genéticas). O intervalo de variação entre os valores mais baixo e mais alto dos EBLUPs de uma população (expressos em percentagem da média da população) foi utilizado para avaliar o intervalo da variabilidade genética intravarietal e os ganhos potenciais da selecção.

3.2.3 Software

O ajustamento dos modelos lineares mistos descritos no ponto anterior foi efetuado no software RStudio (R) (Team, 2013, 2022) , com recurso ao package ASRemL-R (Butler *et al.*, 2017).

4 Resultados e Discussão

4.1 Rendimento

Os resultados das estimativas dos parâmetros de genética quantitativa para o rendimento estão descritos no Quadro 2. Para todas as castas estudadas, a metodologia aplicada permitiu a identificação da variabilidade intravarietal significativa para o rendimento (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$).

De entre as castas e locais analisados, o coeficiente de variação genotípico (CV_G) variou entre 7,33 e 27,73 e a heritabilidade em sentido lato (H^2) entre 0,31 e 0,83. Dos 24 ensaios, 17 apresentaram valores de H^2 acima de 0,54 em que 8 são acima de 0,70.

As castas Tinta Caiada (estudada em dois ensaios, Reguengos e Pegões) e Arinto (estudada em dois ensaios, Setúbal e Pegões), apresentaram uma variabilidade genética bastante elevada avaliada através do CV_G . Os valores dos indicadores de variabilidade, o coeficiente de variação genotípico e a heritabilidade em sentido lato são bastante expressivos. Aos valores da heritabilidade corresponderam valores de precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$ mais elevados, comparativamente aos restantes ensaios. A amplitude dos EBLUPs (%) é outro tipo de informação diretamente relacionado com a existência de diversidade intravarietal. A elevados valores de CV_G , H^2 e precisão estão associadas as maiores amplitudes dos EBLUPs. Estes níveis de variabilidade garantem a possibilidade de obtenção de elevados ganhos genéticos. (Gonçalves & Martins, 2022a)

É de salientar a casta Batoca, que apresentou um elevado valor de CV_G , mas valores mais moderados de H^2 e de precisão da estimativa da variância genética. Estes valores indicam que, mesmo tendo uma elevada variabilidade ambiental a influenciar, foi possível verificar uma elevada variabilidade genotípica, traduzida também pela amplitude dos EBLUPs (de -49,32% a +77,07%).

Quadro 2. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do rendimento, em populações de clones de 16 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (<i>SE</i>)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{Calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min} (%)	EBLUP_{máx} (%)
Antão Vaz	Évora	2,945	0,378 (0,048)	7,894	238,968 (<0,001)	20,886	0,777	-1,428	+1,434	-48,50%	+48,69%
	Pegões	8,936	1,797 (0,451)	3,986	33,934 (<0,001)	15,004	0,549	-2,738	+2,435	-30,64%	27,25%
Arinto	Pegões	5,259	1,298 (0,179)	7,236	239,410 (<0,001)	21,668	0,8022	-3,187	+3,242	-60,61%	+61,66%
	Setúbal	1,390	0,123 (0,014)	8,839	290,234 (<0,001)	25,276	0,8020	-0,856	+0,810	-61,59%	+58,32%
Batoca	Castelo Branco	2,173	0,349 (0,080)	4,346	47,525 (<0,005)	27,206	0,637	-1,072	+1,675	-49,32%	+77,07%
Bastardo	Alijó	1,837	0,160 (0,021)	7,678	148,264 (<0,001)	21,761	0,678	-1,155	+1,015	-62,86%	+55,27%
	Pegões	4,607	0,604 (0,069)	8,769	182,388 (<0,001)	16,868	0,653	-2,708	+1,792	-58,78%	+38,90%
Castelão	Algeruz	5,873	1,45 (0,182)	7,950	192,138 (<0,001)	20,504	0,706	-3,351	+2,549	-57,05%	+43,41%
Cerceal Branco	Alijó	3,027	0,164 (0,052)	3,149	24,939 (<0,001)	13,367	0,641	-0,870	+0,565	-28,74%	+18,66%
Encruzado	Alijó	3,043	0,209 (0,036)	5,828	73,112 (<0,001)	15,023	0,628	-1,0803	+0,7300	-35,50%	+23,99%
	Nelas	2,266	0,146 (0,032)	4,566	25,378 (<0,001)	16,879	0,532	-0,7940	+0,7361	-35,04%	+32,49%
Fonte Cal	Covilhã	2,361	0,068 (0,020)	3,421	17,039 (<0,001)	11,077	0,316	-0,337	+0,500	-14,29%	+21,18%
Grenache	Pegões	5,870	1,187 (0,213)	5,571	101,981 (<0,001)	18,564	0,710	-2,870	+2,003	-48,89%	+34,12%
	Tomelloso	1,129	0,052 (0,009)	5,809	74,258 (<0,001)	20,284	0,582	-0,581	+0,439	-51,42%	+38,89%
Gouveio	Pegões	3,733	0,696 (0,098)	7,107	231,525 (<0,001)	22,348	0,826	-1,5570	+1,8521	-41,71%	+49,61%
Moscatel Graúdo	Palmela	2,122	0,202 (0,033)	6,164	98,201 (<0,001)	21,177	0,647	-1,038	+0,911	-48,94%	+42,96%
	Pegões	5,809	0,667 (0,165)	4,033	33,464 (<0,001)	14,056	0,589	-1,930	+1,364	-33,22%	+23,49%
Moreto	Pegões	6,407	0,221 (0,102)	2,174	8,106 (0,002)	7,333	0,415	-0,622	+0,722	-9,70%	+11,27%
Rufete	Pegões	3,723	0,224 (0,034)	6,490	101,562 (<0,001)	12,701	0,600	-1,371	+0,893	-36,83%	+23,99%
Tinta Barroca	Reguengos	1,765	0,114 (0,025)	4,557	33,964 (<0,001)	19,107	0,464	-0,542	+0,764	-30,74%	+43,32%
	Vilariça	1,331	0,061 (0,025)	2,462	9,653 (<0,001)	18,587	0,440	-0,268	+0,559	-20,11%	+41,97%
Tinta Caiada	Pegões	5,877	2,647 (0,307)	8,632	382,578 (<0,001)	27,684	0,826	-3,651	+4,041	-62,12%	+68,76%
	Reguengos	2,102	0,340 (0,047)	7,291	166,353 (<0,001)	27,731	0,715	-1,468	+1,389	-69,84%	+66,04%
Touriga Franca	Pinhel	1,803	0,048 (0,020)	2,358	7,924 (0,002)	12,138	0,326	-0,345	+0,354	-19,13%	+19,64%

(MG, média geral do ensaio de campo (kg/planta); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (*SE*); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{Calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (kg/planta) (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

As castas Moreto, Fonte Cal e Touriga Franca, apresentaram uma variabilidade genética do rendimento menor comparativamente a outras castas. Os valores dos indicadores de variabilidade são bastante expressivos: o coeficiente de variação genotípico (entre aproximadamente 7% e 12%) e heritabilidade em sentido lato, variando aproximadamente entre 0,32 e 0,42. Os valores de precisão são mais baixos quando comparados com outras castas/ensaios, existindo por isso uma considerável influência da variabilidade ambiental a mascarar os valores de variabilidade genética.

Como esperado, associado a estes baixos valores de CV_G , H^2 e $\hat{\sigma}_g^2/SE$ estão amplitudes mais reduzidas de EBLUPs quando comparadas com as obtidas noutras castas.

Uma análise interessante e pela primeira vez apresentada neste trabalho, consiste na comparação da quantificação da variabilidade intravarietal obtida para a mesma casta, quando uma amostra da variabilidade intravarietal dessa casta é avaliada em dois ensaios distintos.

Tal análise pode ser efetuada nas castas Antão Vaz, Arinto, Bastardo, Tinta Caiada, Encruzado, Grenache, Moscatel Graúdo e Tinta Barroca.

Relativamente à casta Antão Vaz, no ensaio de Évora obtiveram-se valores dos indicadores de variabilidade genética maiores comparativamente a Pegões, devendo-se ao facto de a H^2 em Évora ser maior. Consequentemente, a amplitude dos EBLUPs (%) foi por sua vez maior em Évora do que em Pegões, assim como o valor da precisão associada à estimativa da variância genotípica. A precisão associada à estimativa da variância genética é bastante inferior em Pegões do que em Évora. Este valor era esperado, pelos valores mais baixos dos indicadores de variabilidade genética (H^2 , CV_G , amplitude dos EBLUPs) em Pegões comparativamente a Évora. Os valores de CV_G são relativamente diferentes por se tratar de amostras diferentes: os génotipos presentes no ensaio de Pegões são apenas uma parte dos presentes em Évora.

No que respeita à casta Arinto, é de notar que os valores dos indicadores de variabilidade genética são muito próximos em ambos os locais (Pegões e Setúbal). Relativamente à H^2 , ambos os valores são idênticos (0,802), assim como os valores de CV_G se encontraram próximos, sendo que a pequena discrepância encontrada se deve ao facto de se tratar de amostras diferentes. Por fim, como era igualmente espectável, a maior amplitude dos EBLUPs (%) foi em Setúbal, o que se justificou pelo valor ligeiramente maior de CV_G e da maior precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$ (com um maior valor de $\hat{\sigma}_g^2/SE$).

Na casta Bastardo, foram obtidos valores de heritabilidade muito próximos em ambos os ensaios (Alijó e Pegões), assim como os de precisão da quantificação da variabilidade genética.

O valor do coeficiente de variação genotípico foi ligeiramente maior em Alijó do que em Pegões e, conseqüentemente, a amplitude dos EBLUPs (%) foi por sua vez maior em Alijó do que em Pegões.

Na casta Tinta Caiada os valores dos indicadores de variabilidade genética foram muito semelhantes em ambos os locais (Pegões e Reguengos), tanto a nível da H^2 , como CV_G e amplitude dos EBLUPs (%). Por fim, a precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$ em ambos os locais foi também muito semelhante, o que já era previsível devido aos valores dos indicadores de variabilidade genética. Estes resultados são muito interessantes, pois verifica-se que uma mesma amostra de variabilidade intravarietal - quando avaliada em dois ensaios em 2 locais distintos - proporcionou os mesmos resultados e, conseqüentemente, as mesmas conclusões sobre a quantificação da variabilidade intravarietal.

Quanto à casta Encruzado, à semelhança do que foi efetuado na casta Tinta Caiada, a mesma amostra de diversidade intravarietal foi avaliada em ensaios instalados em dois locais (Nelas e Alijó). Os valores obtidos para os indicadores de variabilidade genética foram semelhantes em ambos os locais (H^2 , CV_G , amplitude dos EBLUPs).

Quanto à casta Grenache, foram obtidos valores de CV_G muito semelhantes nos dois ensaios, embora ligeiramente maior em Tomelloso (Espanha), que pode ser explicado pelo facto de a amostra de variabilidade em Pegões ser uma parte da presente em Tomelloso. Por outro lado, o valor de H^2 foi maior em Pegões do que em Tomelloso (0,71 e 0,58, respetivamente), o que indica que, para fins de seleção, esta será realizada com maior eficiência no ensaio de Pegões.

Na casta Moscatel Graúdo, as amostras foram avaliadas em ensaios instalados em dois locais (Pegões e Palmela). Os valores obtidos para os indicadores de variabilidade genética foram maiores no ensaio de Palmela comparativamente ao ensaio de Pegões, devendo-se ao facto de a H^2 em Palmela ser maior. Conseqüentemente, e como já era espectável, a amplitude dos EBLUPs (%) e o ratio $\hat{\sigma}_g^2/SE$ foram maiores em Palmela do que em Pegões. Os valores de CV_G são relativamente diferentes por se tratarem de amostras diferentes (a que está em Pegões é uma parte da que está em Palmela).

Relativamente à casta Tinta Barroca, embora as amostras de variabilidade intravarietal avaliada não serem as mesmas nos dois ensaios (Vilariça e Reguengos), os resultados obtidos para o CV_G e H^2 foram semelhantes em ambos os locais. No entanto, os valores de H^2 foram moderados (0,44 e 0,46 respetivamente), sendo os dados fenotípicos consideravelmente afetados por efeitos ambientais. Como consequência, a precisão associada à estimativa da

variância genética foi mais baixa, comparativamente a outras castas, o que se confirma pela proximidade do valor da estimativa da variância da variabilidade genética e do erro padrão (SE). Relativamente à amplitude dos EBLUPs (%), esta foi ligeiramente maior em Reguengos do que em Vilarça, resultado espectável face aos valores de CV_G e H^2 ligeiramente maiores em Reguengos.

4.2 Peso do Bago

Os resultados das estimativas dos parâmetros de genética quantitativa para o peso do bago estão descritos no Quadro 3. Para todas as castas estudadas, a metodologia aplicada permitiu a identificação de variabilidade intravarietal significativa para o peso do bago (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$) com exceção da casta Fonte Cal (não se rejeitou $H_0: \sigma_g^2 = 0; p > 0,05$) onde não foi possível a identificação da variabilidade intravarietal significativa para o peso do bago (não há efeito do genótipo).

De entre as castas e locais analisados, a heritabilidade em sentido lato variou entre 0,092 e 0,72, tendo apresentado a casta Fonte Cal o valor mais baixo (o que está de acordo com o facto de não ter sido detetada variabilidade intravarietal significativa). Para cerca de metade dos ensaios obteve-se uma H^2 abaixo de 0,50, indicando uma considerável contribuição da variabilidade ambiental na característica do peso dos bagos, também confirmada pelos baixos valores de precisão associada à estimativa $\hat{\sigma}_g^2$. Os valores do CV_G variaram entre 3,35 e 10,25, sendo as castas, Antão Vaz, Tinta Barroca e Tinta Caiada as que apresentaram os valores mais elevados e as castas Moreto, Encruzado e Touriga Franca, Fonte Cal e Cerceal Branco os valores mais baixos. Como esperado, as castas com valores mais elevados de indicadores de variabilidade genética estão associadas a amplitudes mais elevadas de EBLUPs, assim como as castas com menores valores de variabilidade apresentaram menores amplitudes de EBLUPs.

Das castas já mencionadas, é de realçar as castas Antão Vaz e Tinta Barroca. Embora os valores de CV_G e amplitudes de EBLUPs (%) tenham sido bastante elevados, o que pressupõe uma elevada variabilidade intravarietal visível, os valores da H^2 e da precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$ foram moderados.

Quadro 3. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do peso do bago, em populações de clones de 14 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Antão Vaz	Pegões	2,084	0,044 (0,013)	3,279	15,535 (<0,001)	10,066	0,474	-0,394	+0,599	-18,90%	+28,73%
Arinto	Pegões	1,354	0,007 (0,001)	6,317	92,602 (<0,001)	6,144	0,717	-0,242	+0,282	-17,87%	+20,82%
Batoca	Castelo Branco	1,789	0,017 (0,006)	2,666	9,614 (<0,001)	7,188	0,419	-0,364	+0,175	-20,33%	+9,78%
Castelão	Algeruz	2,016	0,015 (0,004)	3,909	20,410 (<0,001)	5,982	0,343	-0,233	+0,316	-11,55%	+15,68%
Cerceal Branco	Alijó '12	1,644	0,011 (0,005)	2,349	8,062 (0,002)	6,422	0,500	-0,197	+0,135	-11,96%	+8,19%
	Alijó '19	1,521	0,006 (0,003)	1,668	3,697 (0,027)	4,905	0,334	-0,100	+0,113	-6,58%	+7,42%
Encruzado	Alijó	1,618	0,004 (0,002)	2,309	6,417 (0,006)	3,888	0,216	-0,085	+0,095	-5,23%	+5,90%
Fonte Cal	Covilhã	1,195	0,003 (0,003)	1,075	1,236 (>0,05)	4,872	0,092	-0,054	+0,058	-4,56%	+4,83%
Grenache	Pegões	1,712	0,010 (0,002)	4,740	42,188 (<0,001)	5,921	0,626	-0,399	+0,194	-23,29%	+11,34%
	Tomelloso	0,880	0,004 (0,001)	3,243	13,412 (<0,001)	7,488	0,345	-0,098	+0,183	-11,11%	+20,82%
Moreto	Pegões	2,478	0,007 (0,004)	1,683	3,584 (<0,001)	3,347	0,331	-0,094	+0,169	-3,79%	+6,84%
Negra Mole	Algarve	2,674	0,056 (0,012)	4,641	33,391 (<0,001)	8,853	0,507	-0,714	+0,486	-26,72%	+18,17%
Rufete	Pegões	2,449	0,039 (0,006)	6,885	90,609 (<0,001)	8,063	0,656	-0,450	+0,372	-18,38%	+15,18%
Tinta Barroca	Reguengos	1,714	0,029 (0,006)	4,736	33,924 (<0,001)	10,008	0,490	-0,358	+0,511	-20,89%	+29,82%
Tinta Caiada	Pegões	1,811	0,034 (0,006)	5,798	57,821 (<0,001)	10,251	0,577	-0,638	+0,560	-35,24%	+30,93%
Touriga Franca	Pinhel	1,850	0,006 (0,001)	4,368	35,283 (<0,001)	4,296	0,608	-0,187	+0,133	-10,13%	+7,19%

(MG, média geral do ensaio de campo (g/bago); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (g/bago) (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

Por outro lado, a casta Touriga Franca também merece um comentário, pois apesar de apresentar um valor de CV_G baixo (4,30), o valor obtido para a H^2 (0,61) foi relativamente elevado comparativamente ao observado nas restantes castas/ensaios. Estes valores traduzem uma maior homogeneidade genética relativamente ao peso dos bagos, mas também um razoável controlo da variabilidade ambiental.

Comparando a casta Grenache nos dois locais (Pegões e Tomelloso/Espanha), o coeficiente de variação genotípico em Tomelloso foi ligeiramente mais elevado do que em Pegões. O valor da H^2 foi quase o dobro em Pegões do que em Tomelloso, que indica que, para fins de seleção, esta será realizada com maior eficiência no ensaio de Pegões. Como esperado, ao maior valor de heritabilidade observado em Pegões corresponde uma maior precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$. As amplitudes dos EBLUPs (%) foram relativamente semelhantes em ambos os locais.

4.3 Volume do mosto do bago

Para o volume do mosto do bago foram analisadas as castas Castelão, Moreto, Negra Mole, Rufete, Tinta Barroca, Tinta Caiada e Touriga Franca (Quadro 4). A metodologia aplicada permitiu a identificação de variabilidade intravarietal significativa para o volume do mosto do bago (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$) para todas as castas.

Relativamente à variabilidade intravarietal do volume do mosto do bago, as castas Rufete, Negra Mole, Tinta Caiada e Tinta Barroca, apresentaram valores de variabilidade genética mais elevados comparativamente às castas Touriga Franca, Moreto e Castelão. O coeficiente de variabilidade genotípico variou entre 2,21% e 12,73%. A estes valores correspondem diferentes amplitudes dos EBLUPs, sendo assim também quantificada a variabilidade intravarietal existente nas diferentes castas. A heritabilidade variou entre 0,30 e 0,61, sendo a casta Rufete a única com uma H^2 acima de 0,50. Embora as castas Tinta Barroca, Tinta Caiada e Negra Mole, tenham apresentado elevados valores de CV_G associados a elevadas amplitudes dos EBLUPs (%), os valores da H^2 foram mais baixos que o esperado, sendo consideravelmente afetadas por desvios ambientais. Estes baixos valores de H^2 estão em concordância com os valores mais baixos de precisão associados à estimativa da variância genética.

Quadro 4. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do volume do mosto do bago, em populações de clones de 7 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Castelão	Algeruz	0,570	0,0002 (0,00005)	3,119	11,848 (<0,001)	2,212	0,299	-0,020	+0,027	-3,47%	+4,66%
Moreto	Pegões	1,570	0,004 (0,002)	1,909	4,883 (0,014)	4,236	0,381	-0,082	+0,148	-5,23%	+9,43%
Negra Mole	Algarve	1,662	0,027 (0,007)	4,038	23,280 (<0,001)	9,934	0,446	-0,305	+0,260	-18,37%	+15,61%
Rufete	Pegões	1,523	0,021 (0,003)	6,331	69,621 (<0,001)	9,575	0,609	-0,279	+0,269	-18,35%	+17,64%
Tinta Barroca	Reguengos	0,967	0,015 (0,004)	4,313	26,653 (<0,001)	12,734	0,449	-0,270	+0,095	-27,90%	+9,78%
Tinta Caiada	Pegões	1,118	0,014 (0,003)	4,947	37,388 (<0,001)	10,757	0,499	-0,372	+0,336	-33,32%	+30,05%
Touriga Franca	Pinhel	1,047	0,005 (0,002)	2,887	11,656 (<0,001)	6,499	0,415	-0,135	+0,088	-12,89%	+8,42%

(MG, média geral do ensaio de campo (ml/bago); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (ml/bago) (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

4.4 Características de qualidade do mosto

4.4.1 Sólidos solúveis

A variabilidade intravarietal dos sólidos solúveis foi analisada para várias castas/ensaios (Quadro 5). Para todas as castas estudadas, a metodologia aplicada permitiu a identificação de variabilidade intravarietal significativa para os sólidos solúveis (grau brix) (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$) com exceção da casta Moreto e Cerceal Branco (2013) (não se rejeitou $H_0: \sigma_g^2 = 0; p > 0,05$), onde não foi possível a identificação da variabilidade intravarietal significativa para esta característica (não há efeito do genótipo).

A heritabilidade em sentido lato variou entre 0,21 e 0,87 e o coeficiente de variação genotípico variou entre 1,84% e 6,81%. As castas Negra Mole, Tinta Caiada, Grenache (Pegões) e Cerceal Branco (2012), apresentaram maior variabilidade genética, com o CV_G a variar entre 5,36% e 6,81% e a H^2 entre 0,66 e 0,87. As maiores amplitudes dos EBLUPs estão associadas às castas acima mencionadas, como era espectável devido à maior variabilidade existente comparativamente com as restantes castas, com exceção da casta Cerceal Branco (2012). Por outro lado, Touriga Franca, Cerceal Branco (2019) e Grenache (Tomelloso), apresentaram os menores valores de variabilidade intravarietal encontrados para os sólidos solúveis, com o CV_G a rondar os 2-3% e a H^2 entre 0,45 e 0,53.

É de realçar as castas Castelão e Arinto em que se observaram elevados valores de H^2 e de precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$. Na análise da casta Cerceal Branco, o valor do CV_G no ano de 2012 foi mais elevado do que no ano 2019, assim como o valor da heritabilidade. As amplitudes dos EBLUPs são semelhantes em ambos os anos, assim como a precisão. Estes valores demonstraram o efeito da variabilidade ambiental.

Uma análise pertinente e apresentada pela primeira vez neste trabalho, consiste na quantificação da variabilidade intravarietal dos sólidos solúveis obtida para a casta Grenache, quando uma amostra da variabilidade intravarietal é avaliada em 2 ensaios distintos, um em Tomelloso (Espanha) e outro em Pegões.

Quadro 5. Indicadores de variabilidade genética intravarietal dos sólidos solúveis, em populações de clones de 14 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Antão Vaz	Pegões	18,083	0,734 (0,162)	4,536	39,402 (<0,001)	4,737	0,636	-1,817	+2,540	-10,05%	+14,05%
Arinto	Pegões	23,160	0,717 (0,101)	7,106	148,011 (<0,001)	3,656	0,800	-2,378	+1,564	-10,27%	+6,75%
Batoca	Castelo Branco	20,613	0,601 (0,190)	3,155	15,115 (<0,001)	3,760	0,487	-1,191	+2,545	-5,78%	+12,35%
Castelão	Algeruz	25,278	1,370 (0,150)	9,159	262,280 (<0,001)	4,630	0,817	-5,416	+2,002	-21,43%	+7,91%
Cerceal Branco	Alijó '12	18,546	0,989 (0,011)	2,040	5,790 (0,008)	5,362	0,873	-0,886	+0,871	-4,78%	+4,70%
	Alijó '13	19,897	0,300 (0,245)	1,229	1,801 (>0,05)	2,755	0,241	-0,761	+0,837	-3,82%	+4,21%
	Alijó '19	18,830	0,255 (0,116)	2,206	7,772 (0,003)	2,683	0,452	-1,043	+0,613	-5,54%	+3,26%
Encruzado	Alijó	19,351	0,500 (0,081)	6,204	80,948 (<0,001)	3,655	0,670	-1,623	+1,807	-8,39%	+9,34%
Fonte Cal	Covilhã	23,200	0,759 (0,174)	4,362	27,111 (<0,001)	3,755	0,448	-1,617	+1,512	-6,97%	+6,52%
Grenache	Pegões	23,766	1,880 (0,319)	5,892	89,999 (<0,001)	5,770	0,764	-4,075	+1,632	-17,15%	+6,87%
	Tomelloso	25,588	0,500 (0,097)	5,136	42,312 (<0,001)	2,765	0,530	-2,919	+1,708	-11,41%	+6,68%
Moreto	Pegões	19,730	0,131 (0,109)	1,204	1,734 (>0,05)	1,836	0,207	-0,619	+0,598	-3,14%	+3,03%
Negra Mole	Algarve	21,341	2,114 (0,341)	6,203	78,384 (<0,001)	6,812	0,660	-4,588	+2,715	-21,50%	+12,72%
Rufete	Pegões	22,897	0,472 (0,075)	6,318	72,470 (<0,001)	3,001	0,602	-1,938	+1,413	-8,46%	+6,17%
Tinta Barroca	Reguengos	26,973	1,518 (0,379)	4,002	22,126 (<0,001)	4,568	0,419	-3,213	+2,275	-11,91%	+8,43%
Tinta Caiada	Pegões	21,784	1,969 (0,289)	6,806	95,055 (<0,001)	6,441	0,669	-2,622	+6,569	-12,03%	+30,16%
Touriga Franca	Pinhel	19,761	0,169 (0,049)	3,442	17,700 (<0,001)	2,078	0,492	-0,795	+0,789	-4,02%	+3,99%

(MG, média geral do ensaio de campo (°Brix); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (°Brix) (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

Os indicadores de variabilidade (CV_G e H^2) foram mais elevados em Pegões do que em Tomelloso. A mesma tendência é verificada quanto à amplitude dos EBLUPs e à precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$. Estes resultados indicam que, para fins de seleção, esta será realizada com maior eficiência em Pegões.

4.4.2 Acidez Total

Para todas as castas estudadas relativamente à variabilidade intravarietal da acidez total (Quadro 6), a metodologia aplicada permitiu a identificação de variabilidade intravarietal significativa para esta característica (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$), com exceção da casta Moreto e Cerceal Branco (2019) (não se rejeitou $H_0: \sigma_g^2 = 0; p > 0,05$) onde não foi possível a identificação da variabilidade intravarietal significativa para a acidez total.

É de salientar a influência da variabilidade ambiental existente na análise desta característica. Os valores de H^2 variaram entre 0,17 e 0,76, em que 11 dos 15 ensaios apresentaram valores inferiores a 0,66. A colheita dos bagos para as análises das características do mosto e, concretamente, as análises laboratoriais para a medição da acidez total, poderão estar na origem dos baixos valores de H^2 e, conseqüentemente, na rejeição da existência da variabilidade genética associada à acidez total das castas Moreto e Cerceal Branco (no ano de 2019).

A partir dos resultados do Quadro 6, observou-se também que para a acidez total, a casta Negra Mole destacou-se das restantes, encontrando-se indicadores de variabilidade genética bastante expressivos apresentando maior variabilidade (CV_G de 13%) quando comparada com as restantes castas em estudo, o que favorecerá o sucesso de futuras seleções relativamente a esta característica. Ao valor da H^2 corresponde o maior valor da precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$. De acordo com estes resultados, foi possível verificar uma elevada variabilidade genotípica, traduzida também pela amplitude dos EBLUPs (%) (de -26,28% a +69,69%). Nas castas Grenache, Arinto e Castelão a heterogeneidade genética relativamente à acidez revelou-se ainda superior a outras castas, como Tinta Caiada, Encruzado e Batoca.

As castas Cerceal Branco (2013), Antão Vaz, Rufete, Touriga Franca e Fonte Cal apresentaram valores de H^2 mais baixos e de CV_G relativamente semelhantes, tendo sido a avaliação desta característica sujeita a maiores desvios ambientais.

Quadro 6. Indicadores de variabilidade genética intravarietal da Acidez Total, em populações de clones de 14 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (<i>SE</i>)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{Calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Antão Vaz	Pegões	5,300	0,064 (0,020)	3,279	15,898 (<0,002)	4,779	0,471	-0,381	+0,428	-7,18%	+8,08%
Arinto	Pegões	5,643	0,176 (0,026)	6,714	116,780 (<0,001)	7,444	0,759	-0,662	+2,014	-11,725%	+35,68%
Batoca	Castelo Branco	3,692	0,036 (0,017)	2,194	6,080 (0,007)	5,157	0,344	-0,255	+0,266	-6,90%	+7,21%
Castelão	Algeruz	3,233	0,047 (0,006)	7,255	106,301 (<0,001)	6,682	0,660	-0,470	+1,120	-14,55%	+34,63%
Cerceal Branco	Alijó '13	5,787	0,080 (0,050)	1,615	3,338 (0,034)	4,891	0,336	-0,441	+0,394	-7,62%	+6,80%
	Alijó '19	8,351	0,061 (0,050)	1,389	2,552 (>0,05)	2,966	0,267	-0,261	+0,395	-3,12%	+4,73%
Encruzado	Alijó	7,802	0,184 (0,042)	4,430	28,774 (<0,001)	5,504	0,460	-1,078	+0,868	-13,82%	+11,13%
Fonte Cal	Covilhã	4,320	0,034 (0,016)	2,093	5,020 (0,013)	4,245	0,217	-0,178	+0,273	-4,12%	+6,31%
Grenache	Pegões	3,297	0,085 (0,015)	5,635	76,669 (<0,001)	8,867	0,734	-0,487	+0,999	-14,78%	+30,30%
	Tomelloso	3,315	0,109 (0,030)	3,653	17,770 (<0,001)	9,965	0,386	-0,384	+0,972	-11,58%	+29,32%
Moreto	Pegões	3,772	0,018 (0,017)	1,044	1,229 (>0,05)	3,577	0,173	-0,148	+0,198	-3,92%	+5,25%
Negra Mole	Algarve	3,270	0,187 (0,015)	6,977	118,871 (<0,001)	13,217	0,735	-0,859	+2,279	-26,28%	+69,69%
Rufete	Pegões	3,283	0,021 (0,007)	2,883	9,862 (<0,001)	4,458	0,287	-0,184	+0,430	-5,62%	+13,10%
Tinta Caiada	Pegões	3,982	0,066 (0,014)	4,738	33,269 (<0,001)	6,454	0,478	-0,550	+0,651	-13,81%	+16,34%
Touriga Franca	Pinhel	3,948	0,027 (0,011)	2,515	8,282 (0,002)	4,172	0,361	-0,264	+0,481	-6,70%	+12,19%

(MG, média geral do ensaio de campo (g ác. tartárico/l mosto); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (*SE*); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{Calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (g ác. tartárico/l mosto) (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

As castas Grenache (Tomelloso) e Batoca apresentaram valores de H^2 bastante inferiores (na ordem dos 0,3), o que indica uma elevada influência da variabilidade ambiental a mascarar a variabilidade genética que, mesmo assim, é representada por valores relativamente elevados na casta Grenache e moderado na casta Batoca, quando comparados com as restantes castas. As amplitudes dos EBLUPS e as precisões associadas a $\hat{\sigma}_g^2$ vêm apoiar os resultados de CV_G e H^2 .

Comparando a casta Grenache nos dois locais (Pegões e Tomelloso), foram obtidos valores de CV_G muito semelhantes em ambos os ensaios, embora ligeiramente maiores em Tomelloso do que em Pegões, o que pode ser explicado pelo facto de a amostra de variabilidade em Pegões ser uma parte da presente em Tomelloso. Por outro lado, e à semelhança do que acontece no peso do bago (ponto 4.2), o valor da heritabilidade foi quase o dobro em Pegões, observando-se, conseqüentemente, uma maior precisão associada à estimativa da variância genotípica. Estes valores de H^2 e $\hat{\sigma}_g^2/SE$ em Tomelloso, indicam que, apesar da variabilidade genética intravarietal da acidez total ter sido detetada, houve uma grande influência da variabilidade ambiental. É também de realçar que os elevados valores de H^2 e $\hat{\sigma}_g^2/SE$ indicam que a seleção realizada com base nos dados obtidos em Pegões será mais eficiente.

4.4.3 pH

Para todas as 14 castas estudadas, a metodologia aplicada permitiu a identificação de variabilidade intravarietal significativa para o pH (Quadro 7), rejeitando-se ($H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$), com exceção da casta Cerceal Branco, nos anos 2013 e 2019 (não se rejeitou $H_0: \sigma_g^2 = 0; p > 0,05$).

De um modo geral, a variabilidade genética associada ao pH apresentou-se moderada, uma vez que os valores dos indicadores de variabilidade na maioria das castas foram mais baixos comparativamente aos observados para outras características. O coeficiente de variação genotípico variou aproximadamente de 0,77 a 3,0, valores associados a menores amplitudes dos EBLUPS dos efeitos genotípicos.

A casta com maior amplitude dos EBLUPS foi a Negra Mole (de -9,00 a +5,57). O valor da heritabilidade em sentido lato variou entre 0,19 e 0,73, com cerca de metade dos ensaios a apresentarem valores abaixo de 0,50.

Quadro 7. Indicadores de variabilidade genética intravarietal do pH, em populações de clones de 14 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (<i>SE</i>)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Antão Vaz	Pegões	3,684	0,003 (0,001)	3,876	24,433 (<0,001)	1,482	0,552	-0,100	+0,134	-2,71%	+3,63%
Arinto	Pegões	3,610	0,004 (0,001)	6,429	97,574 (<0,001)	1,646	0,728	-0,148	+0,115	-4,11%	+3,19%
Batoca	Castelo Branco	3,851	0,003 (0,001)	2,709	10,341 (<0,001)	1,325	0,409	-0,066	+0,093	-1,72%	+2,42%
Castelão	Algeruz	3,673	0,005 (0,001)	6,851	89,050 (<0,001)	1,986	0,624	-0,2073	+0,1963	-5,64%	+5,34%
Cerceal Branco	Alijó '12	3,125	0,002 (0,001)	1,651	3,392 (0,033)	1,265	0,341	-0,049	+0,058	-1,57%	+1,86%
	Alijó '13	3,418	0,001 (0,001)	1,437	2,563 (>0,05)	0,866	0,281	-0,063	+0,027	-1,84%	+0,80%
	Alijó '19	3,169	0,0001 (0,0003)	0,356	0,133 (>0,05)	0,365	0	-0,0072	+0,0049	-0,23%	+0,15%
Encruzado	Alijó	3,414	0,0001 (0,0002)	4,054	23,178 (<0,001)	0,774	0,425	-0,0492	+0,0477	-1,44%	+1,40%
Fonte Cal	Covilhã	3,989	0,002 (0,001)	1,887	4,028 (0,022)	1,076	0,194	-0,067	+0,053	-1,69%	+1,34%
Grenache	Pegões	3,817	0,008 (0,002)	5,519	71,130 (<0,001)	2,392	0,720	-0,2186	+0,1356	-5,73%	+3,55%
	Tomelloso	3,669	0,012 (0,003)	4,583	31,218 (<0,001)	2,996	0,477	-0,239	+0,220	-6,53%	+5,99%
Moreto	Pegões	3,974	0,001 (0,001)	1,575	3,053 (0,040)	0,883	0,311	-0,050	+0,043	-1,26%	+1,07%
Negra Mole	Algarve	4,002	0,007 (0,001)	6,939	116,75 (<0,001)	2,057	0,732	-0,360	+0,223	-9,00%	+5,57%
Rufete	Pegões	4,109	0,002 (0,0003)	6,295	70,250 (<0,001)	0,991	0,603	-0,092	+0,078	-2,24%	+1,89%
Tinta Barroca	Reguengos	4,055	0,004 (0,001)	3,478	15,776 (<0,001)	1,460	0,367	-0,238	+0,075	-5,86%	+1,85%
Tinta Caiada	Pegões	4,018	0,007 (0,001)	6,438	79,102 (<0,001)	2,006	0,634	-0,175	+0,179	-4,36%	+4,46%
Touriga Franca	Pinhel	3,668	0,002 (0,001)	2,937	11,709 (<0,001)	1,259	0,426	-0,069	+0,091	-1,89%	+2,48%

(MG, média geral do ensaio de campo; $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (*SE*); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{calc} (p-value), estatística calculada do teste à componente de variância genotípica e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

As castas Grenache (Pegões e Tomelloso), Negra Mole e Tinta Caiada apresentaram valores dos indicadores de variabilidade genética (H^2 , CV_G , amplitude dos EBLUPs) expressivos, quando comparados com as restantes castas. À semelhança do que se observou no peso do bago (ponto 4.2) e na acidez total (ponto 4.3.3), a casta Grenache (Tomelloso) apresentou uma elevada variabilidade intravarietal de pH comparativamente às restantes castas. Contudo, o valor da H^2 foi moderado, assim como o de $\hat{\sigma}_g^2/SE$, indicando uma influência da variabilidade ambiental. As castas Castelão, Arinto, Antão Vaz, Tinta Barroca, Batoca, Cerceal Branco (2012), Touriga Franca e Fonte Cal, apresentaram um nível mais baixo de heterogeneidade genética relativamente a esta característica, com especial atenção para a casta Fonte Cal (H^2 de 0,19). Também as castas Rufete, Moreto e Encruzado apresentaram indicadores de variabilidade genética intravarietal modestos. No entanto, a casta Rufete apresentou um valor bastante satisfatório de H^2 e, conseqüentemente, maior precisão associada à estimativa da variância genotípica.

4.4.4 Antocianas e Fenóis Totais

Para as castas tintas Castelão, Grenache (Pegões e Tomelloso), Moreto, Negra Mole, Rufete, Tinta Caiada, Tinta Barroca e Touriga Franca, foram também analisados outros parâmetros qualitativos no que diz respeito a característica de coloração do vinho - antocianas (Quadro 8) e fenóis totais (Quadro 9).

No caso das antocianas, foi possível a identificação da variabilidade intravarietal significativa para as 8 castas, a partir da metodologia aplicada (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$). Para os fenóis totais, a partir da metodologia aplicada, foi possível a identificação da variabilidade intravarietal (rejeitou-se $H_0: \sigma_g^2 = 0; p < 0,05$) nas castas Negra Mole, Tinta Caiada, Castelão, Grenache (Pegões) e Tinta Barroca. Nas castas Moreto e Rufete não foi possível a identificação da variabilidade intravarietal dos fenóis totais (não se rejeitou $H_0: \sigma_g^2 = 0; p > 0,05$).

Quadro 8. Indicadores de variabilidade genética das Antociananas, em populações de clones de 8 castas

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{Calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Castelão	Algeruz	523,630	6453,690 (874,687)	7,378	112,094 (<0,001)	15,342	0,668	-282,131	+295,189	-53,88%	+56,37%
Grenache	Pegões	179,295	1222,064 (258,375)	4,730	41,98 (<0,001)	19,498	0,626	-76,795	+75,501	-42,83%	+42,11%
	Tomelloso	580,686	3742,63 (1184,933)	3,159	12,620 (<0,001)	10,535	0,336	-92,224	+113,325	-15,88%	+19,52%
Moreto	Pegões	277,668	1071,576 (661,674)	1,619	3,161 (0,038)	11,789	0,308	-44,840	+55,862	-16,15%	+20,12%
Negra Mole	Algarve	30,415	231,163 (42,687)	5,415	51,402 (<0,001)	49,988	0,584	-16,671	+47,534	-54,81%	+156,28%
Rufete	Pegões	253,397	1028,811 (2,738)	2,738	8,610 (0,002)	12,658	0,277	-45,951	+63,020	-18,13%	+24,87%
Tinta Caiada	Pegões	507,058	6693,012 (1300,08)	5,148	41,794 (<0,001)	16,134	0,516	-196,807	+190,844	-38,81%	+37,64%
Touriga Franca	Pinhel	967,866	7395,671 (2964,65)	2,495	8,088 (0,002)	8,885	0,364	-107,460	+152,296	-11,10%	+15,74%

(MG, média geral do ensaio de campo (mg/l); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{Calc} (p-value), estatística calculada do teste à σ_g^2 e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

Quadro 9. Indicadores de variabilidade genética dos Fenóis Totais, em populações de clones de 8 castas tradicionais

Casta	Local	MG	$\hat{\sigma}_g^2$ (SE)	$\hat{\sigma}_g^2/SE$	Λ_{Calc} (p-value)	CV_G (%)	H^2	EBLUP_{min}	EBLUP_{máx}	EBLUP_{min}(%)	EBLUP_{máx}(%)
Castelão	Algeruz	896,16	10553,84 (1710,353)	6,17	64,918 (<0,001)	11,46	0,57	-278,76	+304,87	-31,11%	+34,02%
Grenache	Pegões	458,67	1980,769 (896,319)	2,21	5,960 (0,007)	9,70	0,31	-59,57	+100,61	-12,99%	+21,93%
Moreto	Pegões	566,73	2806,235 (2159,06)	1,30	2,017 (>0,05)	9,35	0,23	-53,30	+78,27	-9,41%	+13,81%
Negra Mole	Algarve	205,40	2293,957 (452,577)	5,07	42,516 (<0,001)	23,32	0,55	-65,46	+186,98	-31,87%	+91,04%
Rufete	Pegões	572,698	1180,038 (1104,237)	1,069	1,152 (>0,05)	6,00	0,084	-31,420	+48,652	-5,47%	+8,50%
Tinta Caiada	Pegões	826,31	13221,49 (2831,052)	4,67	32,334 (<0,001)	13,92	0,47	-185,54	+244,96	-22,45%	+29,64%
Touriga Franca	Pinhel	1641,30	12890,68 (6285,943)	2,05	5,186 (0,011)	6,92	0,30	-127,33	+158,98	-7,76%	+9,69%

(MG, média geral do ensaio de campo (mg/l); $\hat{\sigma}_g^2$, estimativa da variância genotípica e respetivo erro padrão (SE); $\hat{\sigma}_g^2/SE$, precisão associada à estimativa da variância genética; Λ_{Calc} (p-value), estatística calculada do teste à σ_g^2 e respetivo p-value; CV_G (%), Coeficiente de variação genotípico; H^2 , Heritabilidade em sentido lato; mínimo e máximo do melhor preditor empírico não enviesado (EBLUPs) do efeito genotípico (EBLUP_{min} e EBLUP_{máx}, respetivamente); mínimo e máximo dos EBLUPs do efeito genotípico expressos em percentagem da média populacional (EBLUP_{min} (%) e EBLUP_{máx} (%), respetivamente)).

O coeficiente de variação genotípico para as antocianinas variou entre 8,89 e 49,99 e para os fenóis totais entre 6,00 e 23,32. Para ambas as características a casta Negra Mole destacou-se com um valor de CV_G bastante elevado comparativamente às restantes castas/ensaios. Associado aos valores de CV_G , também as amplitudes dos EBLUPs se destacaram para ambas as características, com especial atenção para as antocianinas (de - 54,81% a +156,28%). Contrariamente, a casta Touriga Franca apresentou os menores CV_G nas duas características. Associado a estes baixos valores de CV_G foram também observados valores mais baixos de H^2 e de precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$.

No geral, para ambas as características, os valores de heritabilidade não foram muito elevados, variando no caso das antocianinas de 0,28 a 0,67, com metade acima de 0,50, e no caso dos fenóis totais variaram de 0,08 a 0,57, com 6 de 8 castas abaixo de 0,50. Em ambas as características, as castas Rufete e Moreto apresentaram o menor valor de H^2 associados a valores baixos de $\hat{\sigma}_g^2/SE$, não tendo sido possível identificar variabilidade intravarietal dos fenóis totais. Os resultados obtidos demonstram que na análise laboratorial destas características existem muitos procedimentos que originam muitos desvios ambientais e que a deteção de variabilidade genética fica afetada com tal variação aleatória.

4.5 Visão global da variabilidade intravarietal para todas características avaliadas

Este trabalho faz uma atualização do conhecimento da variabilidade genética intravarietal para várias características quantitativas economicamente importantes de várias castas. Os resultados obtidos no sentido da identificação da variabilidade intravarietal do rendimento em castas antigas de videira a partir de amostras representativas dessa variabilidade, estão de acordo com os obtidos em Portugal por Gonçalves (1996); Gonçalves & Martins (2022a); Martins & Gonçalves (2015). No entanto, em estudos anteriores (Gonçalves, 1996; Gonçalves & Martins, 2012), para características como peso do bago, volume do mosto do bago e de qualidade do mosto, a avaliação da variabilidade intravarietal em amostras representativas foi limitada a um número muito reduzido de castas. Consequentemente, neste trabalho são apresentados os primeiros resultados relativos a essas características para várias castas autóctones.

Também noutros trabalhos, a existência da variabilidade intravarietal foi identificada recorrendo a outras metodologias. Em países como França (Lacombe *et al.*, 2004; Yobregat *et al.*, 2011), Espanha (Hernández *et al.*, 2020), Itália (Gardiman & Bavaresco, 2015) e Alemanha

(Ruehl *et al.*, 2015), a variabilidade intravarietal foi estudada de forma fenotípica - avaliando poucas características comparativamente à metodologia aplicada em Portugal -, e molecular.

De um modo geral, neste estudo, existiu correspondência entre a variabilidade intravarietal encontrada para o rendimento, e as restantes características. Isto é, castas com maior variabilidade genética do rendimento, apresentaram também maior variabilidade intravarietal nas restantes características. Castas como a Moreto, Fonte Cal e Touriga Franca, são castas geneticamente mais homogêneas para o rendimento, assim como para as restantes características analisadas, chegando por vezes, a não ser possível a identificação dessa variabilidade pela metodologia aplicada (exemplo, para a casta Moreto nas características sólidos solúveis, acidez total e fenóis totais e para a casta Fonte Cal para o peso do bago).

Todavia, para as características de qualidade do mosto sólidos solúveis, acidez total e pH, constatou-se que na maioria das castas existe uma menor variabilidade genética intravarietal comparativamente ao rendimento. As características antocianas e fenóis totais, apesar de apresentarem valores mais baixos de H^2 , apresentaram valores de variabilidade intravarietal maiores relativamente às restantes características de qualidade do mosto.

Os valores de H^2 variaram consoante a característica analisada e a casta, dependendo da capacidade de o delineamento experimental controlar a variabilidade ambiental e da variabilidade genotípica existente dentro de cada casta. Quanto maior a capacidade do delineamento experimental controlar a variabilidade ambiental existente e/ou quanto maior a variabilidade intravarietal de uma casta, maior será o valor de H^2 (Gonçalves & Martins, 2022a). Segundo os mesmos autores, a precisão associada à estimativa da variância genotípica depende do tamanho da amostra avaliada. Comparando o número de clones avaliados em cada casta e característica (Quadro 1) e os valores da precisão de $\hat{\sigma}_g^2$ presentes (Quadro 2 ao Quadro 9), observou-se que quanto maior o número de clones avaliados, maior a precisão associada a $\hat{\sigma}_g^2$, por exemplo, a casta Bastardo (ensaio de Pegões), representada por 372 clones/bloco, apresenta um rácio $\hat{\sigma}_g^2/SE$ associado ao rendimento de 8,769, enquanto que a casta Moreto, representada por 55 clones/bloco, apresenta um rácio $\hat{\sigma}_g^2/SE$ bastante inferior 1,04. Um estudo conduzido por Gonçalves & Martins (2022b), concluiu que para a quantificação da variabilidade intravarietal e eficiência da seleção, deve ser usada a média de vários anos de observação, uma vez que esta começa a estabilizar usando a média de pelo menos 5-6 anos. No rendimento, em geral, foram analisadas médias de anos, pois das características estudadas é uma das de avaliação mais expedita. Nas características de qualidade do mosto a análise foi

conduzida com anos individuais ou com médias de 2-3 anos, o que justifica, em parte, os menores valores de H^2 observados.

Comparando os valores de H^2 do rendimento com as características de qualidade do mosto, para o rendimento os valores foram geralmente mais elevados, resultando da capacidade do delineamento experimental de controlar a variabilidade ambiental. O rendimento por planta é uma característica avaliada por excelência em todos os programas de seleção, por ser de fácil avaliação e apresentar uma maior variação de amplitude dos EBLUPs do que outras características (Gonçalves & Martins, 2012; Martins & Gonçalves, 2015). Para as restantes características, quanto mais complexas são as análises laboratoriais, maiores são as fontes de variabilidade ambiental e, conseqüentemente, menores tendem a ser os valores de H^2 (tipicamente o exemplo da avaliação das antocianinas e fenóis totais).

Os resultados obtidos para cada casta e característica devem ser vistos individualmente, uma vez que os parâmetros genéticos quantitativos são específicos para cada população, delineamento experimental, ano e característica avaliada. A variabilidade intravarietal varia em função do tempo desde a domesticação. Quanto maiores os valores de variabilidade, mais antiga deverá ser a domesticação da casta e mais multiplicada deve ter sido a casta ao longo do tempo. Por outro lado, quanto mais recente for a casta, menor a sua variabilidade intravarietal e, conseqüentemente, menor a matéria-prima disponível para seleção. Por exemplo, Touriga Franca, Fonte Cal, Moreto são castas que revelaram menor variabilidade intravarietal. Em contraste, as castas Tinta Caiada e Negra Mole apresentaram uma elevada variabilidade genética intravarietal em todas as características, incluindo características sujeitas a grandes desvios ambientais, como são os casos das antocianinas e fenóis totais. Estes resultados estão de acordo com os obtidos em trabalhos anteriores, nomeadamente em Gonçalves & Martins (2012, 2022a) e Martins & Gonçalves (2015). Estes autores avaliaram a variabilidade intravarietal do rendimento em 59 castas autóctones portuguesas, apresentando a casta Negra Mole uma variabilidade intravarietal elevada para produção (coeficiente de variação genotípico de 36,9% e EBLUP do efeito genotípico do clone superior em rendimento de 104,91% acima da média populacional).

5 Conclusão

A antiguidade e diversidade das castas tradicionais garantem um forte carácter histórico e natural que acrescenta um elevado valor económico à viticultura e ao vinho. Portugal é um país que beneficia muito dessa diversidade, sendo um dos países com maior diversidade de castas, mas também com uma elevada variabilidade intravarietal.

A partir da quantificação e conservação da variabilidade intravarietal de castas antigas, é possível emitir hipóteses quanto à antiguidade e evolução da casta, bem como a obtenção de elevados ganhos genéticos na seleção relativamente ao rendimento e características de qualidade do mosto. Esta variabilidade é a base para a seleção, sendo essencial para a sustentabilidade do setor vitivinícola, através do combate à erosão genética, mas também para fazer face aos stresses bióticos e abióticos, como as alterações climáticas que tanto preocupam o setor a nível futuro.

Neste trabalho é apresentada uma visão atual e detalhada da variabilidade intravarietal de várias características como o rendimento, peso do bago, volume do mosto do bago e características de qualidade do mosto, existente em várias castas antigas portuguesas. Em várias castas, já muito cultivadas em Portugal, foi possível comprovar a existência de elevada variabilidade intravarietal relativamente a várias características quantitativas de interesse económico.

Em geral, o rendimento é já uma característica bastante explorada nos programas de seleção, por ser uma característica de fácil medição e economicamente importante. Neste trabalho, comprovou-se, mais uma vez, a existência de uma elevada variabilidade intravarietal para várias castas, o que permitirá a obtenção de elevados ganhos de seleção. Por outro lado, a mudança de critérios de seleção exige o conhecimento sobre a variabilidade intravarietal de outro tipo de características, como, por exemplo, as de qualidade do mosto (sólidos solúveis, acidez total, antocianas entre outras). Nesta direção, este trabalho apresentou os primeiros resultados referentes a essa quantificação para várias castas autóctones, demonstrando-se a existência de variabilidade intravarietal e, conseqüentemente, a possível realização de seleção com ganhos genéticos das características de qualidade do mosto.

Por fim, a eficiência da metodologia aplicada em Portugal privilegia a seleção, mas também a conservação dos vários génotipos representativos de cada casta. De facto, para a quantificação da variabilidade genética intravarietal é necessária a instalação de um ensaio com uma amostra representativa da variabilidade da casta, sendo este igualmente um meio de conservação dessa

variabilidade. A conservação é imprescindível pois é uma maneira de combater a erosão genética, mas também uma maneira rápida de resposta às exigências futuras do setor. Por outro lado, trata-se de uma metodologia que incentiva a seleção de material policlonal em vez de material clonal.

6 Bibliografia

- Böhm, J. (2007). *PORTUGAL VITÍCOLA. O grande livro das castas* (Chaves Fer).
- Butler, D. G., Cullis, B. R., Gilmour, A. R., Gogel, B. J., & Thompson, R. (2017). ASReml-R reference manual version 4. *VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK*.
- Carbonneau, A., & Champagnol, F. (1993). Nouveaux systèmes de culture intégré du vignoble. *Programme AIR*.
- Carbonneau, Alain, Deloire, A., & Jaillard, B. (2007). *La vigne- physiologie, terroir, culture*.
- Carvalho, L., Gonçalves, E., Amâncio, S., & Martins, A. (2020). Selecting Aragonez Genotypes Able to Outplay Climate Change–Driven Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science, 11*(December), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.599230>
- Costa, C., Graça, A., Fontes, N., Teixeira, M., Gerós, H., & Santos, J. A. (2020). The interplay between atmospheric conditions and grape berry quality parameters in Portugal. *Applied Sciences (Switzerland), 10*(14). <https://doi.org/10.3390/APP10144943>
- Deloire, A. (2010). Berry development – An overview. *Plateau, 104–119*.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetic-DS Falconer.pdf* (4^a).
- Gardiman, M., & Bavaresco, L. (2015). The Vitis germplasm repository at the CRA-VIT, Conegliano (Italy): Conservation, characterization and valorisation of grapevine genetic resources. *Acta Horticulturae, 1082*(January), 239–244. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1082.33>
- Gonçalves, E. (1996). *Variabilidade genética de castas antigas de videira*. Relatório de fim de curso em Engenharia Agronómica. Universidade Técnica de Lisboa (UTL), Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Gonçalves, E. (2008). *Modelos estatísticos espaciais para ensaios de populações vegetais*. Dissertação de doutoramento em Matemática e Estatística. Universidade Técnica de Lisboa (UTL), Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Gonçalves, E., Carrasquinho, I., & Martins, A. (2020). Measure to evaluate the sensitivity to genotype-by-environment interaction in grapevine clones. *Australian Journal of Grape and Wine Research, 26*(3), 259–270. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12432>

- Gonçalves, E., Carrasquinho, I., St. Aubyn, A., & Martins, A. (2013). Broad-sense heritability in mixed models for grapevine initial selection trials. *Euphytica*, 189(3), 379–391. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0787-9>
- Gonçalves, E., Graça, A., & Martins, and A. (2019). Grapevine clonal selection in Portugal: A different approach. *BIO Web of Conferences*, 12, 01003. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191201003>
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2012). Genetic Variability Evaluation and Selection in Ancient Grapevine Varieties. *Plant Breeding*, 333–352. <https://doi.org/10.5772/27903>
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2019). Methods for conservation of intra-varietal genetic variability in ancient grapevine varieties. *BIO Web of Conferences*, 15, 01029. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191501029>
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2022a). Efficient Assessment and Large-Scale Conservation of Intra-Varietal Diversity of Ancient Grapevine Varieties: Case Study Portugal. *Plants*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/plants11151917>
- Gonçalves, E., & Martins, A. (2022b). Optimizing conservation and evaluation of intravarietal grapevine diversity. In J. M. Costa, S. Catarino, J. M. Escalona, & P. Comuzzo (Eds.), *Improving Sustainable Viticulture and Winemaking Practices* (pp. 45–64). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85150-3.00020-7>
- Gonçalves, E., St. Aubyn, A., & Martins, A. (2010). Experimental designs for evaluation of genetic variability and selection of ancient grapevine varieties: A simulation study. *Heredity*, 104(6), 552–562. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.153>
- Griffiths, A., Wessler, S., Carroll, S., & Doebley, J. (2016). Introdução à genética. In *Banbury Rep* (Vol. 53, Issue 9).
- Henderson, C. R. (1975). Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, 31(2), 423–447. <http://www.jstor.org/stable/2529430>
- Hernández, E. B., Reinares, J. P., & Domínguez, E. G.-E. (2020). Procesos actuales de selección clonal de vid en La Rioja. *Cuaderno de Campo*, 63, 28–33.
- Instituto da Vinha e do Vinho, I. P. (IVV). (2021a). *Evolução da área total de vinha - Portugal*. <https://www.ivv.gov.pt/np4/7179.html>
- Instituto da Vinha e do Vinho, I. P. (IVV). (2021b). *Evolução da produção nacional de vinho por região*

vitivinícola. <https://www.ivv.gov.pt/np4/163.html>

- Isik, F., Holland, J., & Maltecca, C. (2017). *Genetic data analysis for plant and animal breeding* (Vol. 400). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-55177-7>
- Lacombe, T., Boursiquot, J. M., & Audeguin, L. (2004). Prospection, conservation et évaluation des clones de vigne en France. *Bulletin de l'OIV*, 77(885–86), 799–809.
- Magalhães, N. (2015). *Tratado de Viticultura. A Videira, a Vinha e o Terroir*.
- Maigre, D., Brugger, J. J., & Gugerli, P. (2003). Safeguarding, conserving and valorizing the genetic diversity of grapevine in Valais (Switzerland). *Bulletin de l'OIV (France)*.
- Martins, A. (2006). As castas de videira portuguesa estão a morrer, mas a sua salvação ainda é possível. *Vida Rural*, 36–37.
- Martins, A., Carneiro, L., & Castro, R. (1990). Progress in mass and clonal selection of grapevine varieties in Portugal. *Vitis (Special Issue)*, 485–489.
- Martins, A., & Gonçalves, E. (2015). Grapevine breeding programmes in Portugal. In *Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-075-0.00008-9>
- Martins, A., & Gonçalves, E. (2018). *Catálogo clones selecionados 2018*. <http://www.advid.pt/imagens/outros/15481539459433.pdf>
- Meneghetti, S., Calò, A., & Bavaresco, L. (2012). A strategy to investigate the intravarietal genetic variability in *Vitis vinifera* L. for clones and biotypes identification and to correlate molecular profiles with morphological traits or geographic origins. *Molecular Biotechnology*, 52(1), 68–81. <https://doi.org/10.1007/s12033-011-9475-6>
- Myles, S., Boyko, A. R., Owens, C. L., Brown, P. J., Grassi, F., Aradhya, M. K., Prins, B., Reynolds, A., Chia, J. M., Ware, D., Bustamante, C. D., & Buckler, E. S. (2011). Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(9), 3530–3535. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009363108>
- Navarre, C. (1997). *Enologia: técnicas de produção do vinho* (Publicações Europa-América (ed.)).
- OIV. (2017). *Distribution variétale du vignoble dans le monde*. 54p. www.oiv.int

- OIV. (2020). State of the world vitivinicultural sector in 2020. *International Organisation of Vine and Wine, April*, 1–19. <http://www.oiv.int/public/medias/7298/oiv-state-of-the-vitivinicultural-sector-in-2019.pdf>
- OIV. (2021). World Wine Production Outlook - OIV First Estimates. *International Organisation of Vine and Wine, November*, 1–9. <https://www.oiv.int/public/medias/8553/en-oiv-2021-world-wine-production-first-estimates-to-update.pdf>
- Patterson, H. D., & Thompson, R. (1971). Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika*, *58*, 545–554. <https://doi.org/10.1093/biomet/58.3.545>
- Pelsy, F., Hocquigny, S., Moncada, X., Barbeau, G., Forget, D., Hinrichsen, P., & Merdinoglu, D. (2010). An extensive study of the genetic diversity within seven French wine grape variety collections. *Theoretical and Applied Genetics*, *120*(6), 1219–1231. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1250-8>
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2006). *Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Ribéreau-Gayon, P., & Stonestreet, E. (1965). Determination of anthocyanins in red wine. *Bulletin de La Societe Chimique de France*, *9*, 2649–2652.
- Roach, M. J., Johnson, D. L., Bohlmann, J., van Vuuren, H. J. J., Jones, S. J. M., Pretorius, I. S., Schmidt, S. A., & Borneman, A. R. (2018). Population sequencing reveals clonal diversity and ancestral inbreeding in the grapevine cultivar Chardonnay. *PLoS Genetics*, *14*(11). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1007807>
- Ruehl, E., Konrad, H., & Lindner, B. (2015). Conserving and utilizing intra-varietal variation in grapevines (*Vitis vinifera* L.) . *BIO Web of Conferences*, *5*, 01007. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20150501007>
- Schmit, T. M., Rickard, B. J., & Taber, J. (2013). Consumer Valuation of Environmentally Friendly Production Practices in Wines, considering Asymmetric Information and Sensory Effects. *Journal of Agricultural Economics*, *64*(2), 483–504. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1477-9552.12001>
- Searle, S. R., Casella, G., & McCulloch, C. E. (1992). Variance components John Wiley & Sons. Inc. New York.

- Spring, J.-L., Reynard, J.-S., Lorenzini, F., Bourdin, G., Viret, O., Favre, G., Burrin, P.-M., & Carlen, C. (2019). Sauvegarde de la biodiversité et sélection clonale des variétés traditionnelles et autochtones suisses à Agroscope. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 51(3), 178–181.
- Team, R. C. (2013). *R: A language and environment for statistical computing*.
- Team, R. C. (2022). *R foundation for statistical computing; Vienna, Austria, 2022*. <https://www.r-project.org/>.
- Vondras, A. M., Minio, A., Blanco-Ulate, B., Figueroa-Balderas, R., Penn, M. A., Zhou, Y., Seymour, D., Ye, Z., Liang, D., Espinoza, L. K., Anderson, M. M., Walker, M. A., Gaut, B., & Cantu, D. (2019). The genomic diversification of grapevine clones. *BMC Genomics*, 20(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6211-2>
- Yobregat, O., Sereno, C., Audeguin, L., Lacombe, T., & J-M., B. (2011). Conservation de la diversité intravariétale de la vigne en France: Situation générale en 2010, perspectives et priorités pour l'avenir-Partie 1/2. *Progrès Agricole et Viticole*, 128.