



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola d'Enginyeria Agroalimentària
i de Biosistemes de Barcelona

ESTAT DE L'ART DE LA MILLORA GENÈTICA DE LA VINYA

Treball final de grau
Enginyeria de Sistemes Biològics

Autor: Paula Mestre Pluvinet
Directora: Anna Gras Moreu
Codirector: Joan Casals Missio
20 / setembre / 2023

Resum

En aquest treball es fa una revisió sobre l'estat de l'art de la millora genètica en vinya (*Vitis vinifera*), espècie pertanyent a la família *Vitaceae*. Forma part del gènere botànic *Vitis*, que conté unes 60 espècies, essent la més coneguda i més cultivada *Vitis vinifera*. Tot i l'arribada de la fil·loxera (*Dactylospheera vitifoliae*) i la importació de patògens Nord-americans, que van provocar una elevada mortalitat entre les vinyes europees, no s'han perdut les diferents espècies silvestres emparentades a Europa, tot i que en el procés van estar en perill d'extinció.

Actualment es coneixen unes 10.000 varietats de vinya cultivades, de les quals moltes es conserven en bancs de germoplasma arreu del món. Hi ha molts estudis que mostren que tot i existir un gran nombre de noms designant varietats, es pot estimar que gairebé el 50% de la diversitat estimada són duplicats.

Les varietats vinificables més cultivades a nivell mundial són el Cabernet Sauvignon, la Sultanina, el Merlot i el Tempranillo. Aquestes varietats són tradicionals, es a dir, no han sigut obtingudes a partir de programes de millora genètica dirigits. Tot i que en el món de la vinya només s'accepten varietats obtingudes mitjançant mètodes tradicionals, degut a la restrictiva legislació que existeix en el sector del vi, actualment hi ha molta investigació sobre l'ús d'altres tècniques com la mutagènesis, la variació soma-clonal, l'embriogènesi somàtica, l'enginyeria genètica o el CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Aquesta última sembla ser la que tindrà un ús més notori en un futur, ja que es la tècnica més nova i amb més precisió per poder editar genèticament "a la carta". Principalment, els investigadors es centren en la millora de la resistència a patògens i la millora del raïm per a que aquest tingui millors característiques organolèptiques.

Aquest treball presenta un resum de totes les tècniques que s'han fet servir per millorar la vinya, ja sigui només treball experimental sense transferència al sector productiu o treballs que s'han transformat en programes de millora genètica per obtenir varietats que finalment s'han arribat a cultivar.

Resumen

En este trabajo se realiza una revisión sobre el estado del arte de la mejora genética en la vid (*Vitis vinifera*), una especie perteneciente a la familia Vitaceae. Forma parte del género botánico *Vitis*, que incluye unas 60 especies, siendo la más conocida y cultivada la *Vitis vinifera*. A pesar de la llegada de la filoxera (*Dactylospheera vitifoliae*) y la importación de patógenos de América del Norte, lo que causó una alta mortalidad en las vides europeas, no se han perdido las diferentes especies silvestres relacionadas con Europa, aunque durante el proceso estuvieron en peligro de extinción.

Actualmente se conocen unas 10,000 variedades de vid cultivadas, muchas de las cuales se conservan en bancos de germoplasma en todo el mundo. Hay muchos estudios que muestran que, a pesar de existir un gran número de nombres que designan variedades, se estima que casi el 50% de la diversidad estimada son duplicados.

Las variedades viníferas más cultivadas a nivel mundial son el Cabernet Sauvignon, la Sultanina, el Merlot y el Tempranillo. Estas variedades son tradicionales, es decir, no han sido obtenidas a partir de programas de mejora genética dirigidos. Aunque en el mundo de la vid solo se aceptan variedades obtenidas mediante métodos tradicionales debido a la restrictiva legislación en el sector del vino, actualmente existe mucha investigación sobre el uso de otras técnicas como la mutagénesis, la variación somaclonal, la embriogénesis somática, la ingeniería genética o el CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Esta última parece ser la que tendrá un uso más destacado en el futuro, ya que es la técnica más nueva y precisa para la edición genética "a medida". Principalmente, los investigadores se centran en mejorar la resistencia a patógenos y las características organolépticas del racimo.

Este trabajo presenta un resumen de todas las técnicas utilizadas para mejorar la vid, ya sea solo en trabajos experimentales sin transferencia al sector productivo o en programas de mejora genética para obtener variedades que finalmente se han llegado a cultivar.

Abstract

In this work, a review is conducted on the state of the art of genetic improvement in grapevine (*Vitis vinifera*), a species belonging to the Vitaceae family. It is part of the botanical genus *Vitis*, which includes about 60 species, with the most well-known and widely cultivated being *Vitis vinifera*. Despite the arrival of phylloxera (*Dactylosphaera vitifoliae*) and the importation of North American pathogens, which caused high mortality among European vines, the different wild species related to Europe have not been lost, although they were at risk of extinction during the process.

Currently, about 10,000 cultivated grapevine varieties are known, many of which are preserved in germplasm banks worldwide. There are many studies showing that, despite many names designating varieties, it is estimated that almost 50% of the estimated diversity consists of duplicates.

The most widely cultivated wine grape varieties globally are Cabernet Sauvignon, Sultanina, Merlot, and Tempranillo. These varieties are traditional, meaning they have not been obtained through directed genetic improvement programs. Although in the world of grapevines, only varieties obtained through traditional methods are accepted due to restrictive legislation in the wine sector, there is currently a lot of research on the use of other techniques such as mutagenesis, somaclonal variation, somatic embryogenesis, genetic engineering, or CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). The latter seems to be the one that will have a more prominent role in the future, as it is the newest and most precise technique for genetically editing "on demand." Primarily, researchers focus on improving resistance to pathogens and the organoleptic characteristics of the grapes.

This work provides a summary of all the techniques that have been used to improve grapevines, whether only in experimental studies without transfer to the production sector or in genetic improvement programs to obtain varieties that have ultimately been cultivated.

Sumari

1. Introducció	5
2. Objectius	6
3. Origen i domesticació	6
3.1. Espècies silvestres emparentades	7
3.2. Domesticació	8
3.3. Recursos fitogenètics	10
4. Varietats cultivades actuals	11
4.1. Descripció de les varietats cultivades	11
4.2. Diversitat genètica en les varietats cultivades	14
5. Genoma de <i>Vitis vinífera</i>	15
6. Objectius de millora actuals	17
6.1. Millora per tolerància a estressos	17
6.1.1. Estressos biòtics	17
6.1.2. Estressos abiòtics	18
7. Mètodes de millora	19
7.1. Selecció massal	19
7.2. Hibridació	19
7.3. PIWIs (Pilzwiederstandsfähig)	20
7.4. Mutagènesis	21
7.5. Variació somaclonal	22
7.6. Quimerisme a la vinya i la segregació de fenotips mitjançant l'embriogènesi somàtica	22
8. Integració de noves biotecnologies en programes de millora genètica	26
8.1. In vitro	26
8.2. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)	27
9. Conclusions	29

1. Introducció

En primer lloc en aquest treball es fa una fotografia de quin és l'estat del cultiu de la vinya (*Vitis vinifera*) actualment a nivell mundial i espanyol, les varietats cultivades i la seva diversitat genètica; per finalment centrar-me en la millora genètica, és a dir quin és l'estat dels estudis, avenços i noves tècniques que s'estan emprant avui en dia en relació a la millora de varietats de vinya. Aquest és un àmbit de recerca molt nou, en el que s'ha treballat poc i les empreses que s'hi dediquen ho fan des de fa relativament poc temps.

Hi ha una gran diferència d'opinions en el món dels agricultors i enòlegs sobre si donar suport o no a la millora genètica. N'hi ha que opten per un cultiu ecològic i natural on no hi hagi cap modificació ni intervenció humana, i n'hi ha d'altres que donen suport a aquestes noves tecnologies ja que aposten per incorporar totes les tècniques que la ciència pugui aportar per poder millorar rendibilitats, produccions i resistència a malalties i climes adversos. Tot i això la majoria dels agricultors tenen plantacions amb porta-empelts, un tipus de millora agronòmica molt coneguda i poc innovadora actualment, però que ha resultat ser de gran importància en el món vitivinícola degut a la resistència que aquests ofereixen a diferents plagues.

Afegir que a Catalunya la regulació de les varietats de vinya que es poden cultivar està sota la responsabilitat del Departament d'Acció Climàtica, Alimentació i Agenda Rural. De la mateixa manera que a Espanya, a Catalunya hi ha un registre oficial de varietats de vinya autoritzades pel seu cultiu i comercialització. El registre principal és el Catàleg de Varietats de Vinya de Catalunya, que està regulada per la Resolució ARP/2254/2014 del Departament d'Acció Climàtica i Agenda Rural. En aquest catàleg s'hi inclouen les varietats de vinya autoritzades per al seu cultiu a una regió determinada. Per a que aquesta varietat estigui inclosa en el catàleg ha de complir amb uns certs requisits que es basen en criteris agronòmics, enològics i d'adaptabilitat a les condicions climàtiques i geogràfiques de la zona de cultiu. A més a més existeixen unes altres organitzacions anomenades Denominacions d'Origen que poden establir requisits addicionals pel cultiu i ús de certes varietats dins del seu àmbit geogràfic.

L'organisme públic encarregat de promoure, regular i controlar el sector vitivinícola català, incloent la gestió de les Denominacions d'Origen, la promoció de vins catalans i l'impuls de la investigació i de la innovació en aquest àmbit és l'Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI), un organisme autònom de la Generalitat de Catalunya creat l'any 1980.

A nivell europeu La Unió Internacional per a la Protecció de les Obtencions Vegetals (UPOV) és l'organització internacional encarregada de proporcionar i fomentar un sistema per a la protecció de les varietats vegetals. Tot i que és la Comissió Europea, mitjançant la Direcció General d'Agricultura i Desenvolupament Rural, qui és l'encarregada de formular i executar les polítiques agrícoles, incloses les relacionades amb la vinya i el tipus de vi. De la mateixa manera que a nivell de Catalunya, també hi ha un registre comunitari de varietats de vinya autoritzades pel seu cultiu i posterior comercialització en tots els països membres.

2. Objectius

El principal objectiu d'aquest treball és realitzar una revisió de l'estat de l'art de la millora genètica en la vinya. Per tal de realitzar aquesta revisió s'han definit els següents objectius específics:

- (a) Fer una revisió sobre la història de la domesticació i evolució genètica de *Vitis vinifera*.
- (b) Fer una radiografia de les varietats cultivades actualment arreu del món i de les varietats permeses a nivell europeu i català.
- (c) Fer una revisió dels mètodes de millora genètica emprats en la millora de la vinya i de les principals varietats comercials obtingudes.
- (d) Discutir el potencial de les noves biotecnologies en la millora de la vinya en el context agrícola actual.

3. Origen i domesticació

La família *Vitaceae* està formada per plantes enfiladisses de lianes llenyoses o herbàcies amb circells i inflorescències oposades a les fulles. El gènere botànic *Vitis* inclou varies espècies vegetals, però la més coneguda i també àmpliament cultivada és *Vitis vinifera*, que és la vinya de la qual s'obté el raïm per poder fer vi i altres productes derivats d'aquest.

Vitis vinifera és una espècie monoica, amb flors masculines i femenines, de pol·linització generalment anemòfila i amb fruits que es desenvolupen en raïms. Al llarg del procés de domesticació es va produir una selecció espontània d'individus amb flors hermafrodites que s'auto-pol·linitzen mitjançant la transferència de pol·len entre els estams i els estigmes per generar fruits i llavors. La gran majoria de les varietats de vinya cultivades actualment són hermafrodites i altament fèrtils i totes elles pertanyen a l'espècie *Vitis vinifera* (Arroyo-García et al., 2016).

La vinya, *Vitis vinifera*, forma part del gènere *Vitis* dins de la família de les *Vitaceae*. La seva classificació botànica l'inclou dins de la divisió *Spermatophyta*, subdivisió *Magnoliophytina* (*Angiospermae*), classe *Magnoliatae* (*Dicotyledonae*), subclasse *Rosidae*, superordre *Celastranaer*, ordre *Rhamnales*. El gènere de *Vitis* inclou unes 60 espècies, les quals totes comparteixen dos característiques: totes tenen el mateix nombre de cromosomes, 19; i totes són inter-fèrtils, tenen la capacitat de reproduir-se entre les diferents espècies produint descendència fèrtil, fet que constitueix un reservori natural de variació genètica que és útil en la millora de *Vitis vinifera* (This et al., 2006).

Dues formes encara co-existeixen a Euràsia i al nord d'Àfrica: la forma cultivada, *V. vinifera* subsp. *vinifera* (o *sativa*) i la forma silvestre *V. vinifera* subsp. *silvestris* (o *sylvestris*), de vegades considerada com una sub-espècie diferent. Aquesta separació històrica en sub-espècies es va determinar en base a diferències morfològiques (This et al., 2006).

Fa pocs anys es van comparar les característiques ecològiques i la diversitat genètica que hi ha entre poblacions silvestres i porta-empelts naturalitzats i no es va poder determinar l'existència d'algun tipus de flux genètic entre elles (Arrigo et al., 2007). Tot i que si que s'ha detectat entre espècies silvestres i cultivades. En aquest cas s'ha estimat fins un 3% en la migració del pol·len entre la vinya cultivada i poblacions situades a prop de vinya silvestre (Di Vecchi-Staraz et al., 2009). De fet, es podria afirmar que aquest flux de pol·len pot arribar a tenir algun efecte significatiu en l'evolució de les poblacions de *Vitis*.

3.1. Espècies silvestres emparentades

Avui en dia es poden trobar diferents tipus de varietats silvestres a Europa oriental i occidental, en països com Espanya, Portugal, França, Itàlia, Grècia, Suïssa, Romania, Bulgària, Hongria, Àustria i la regió dels Balcans. Entre ells, Espanya i Itàlia contenen el major nombre de poblacions (Arnold et al. 1998). Les vinyes silvestres eren abundants a Europa fins mitjans del segle XIX, quan la importació de malalties Nord-americans (oïdi i mildiu) (*Uncinula necator* i *Plasmopara Viticola*, respectivament) i plagues com la fil·loxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), tot sumat a la destrucció dels hàbitats, va conduir a que les formes silvestres estiguessin en perill d'extinció (Walter and Gillett 1998).

Va ser a l'any 1868, quan la fil·loxera, una plaga d'insectes paràsits que atacaven a les fulles i arrels de la vinya, va començar a provocar la mort dels cultius. Anys més tard, a Estats Units es va descobrir la manera de poder cultivar la vinya i que no fos atacada per aquest insecte. S'utilitzava un empelt de la varietat escollida amb un peu americà resistent a la fil·loxera. Va ser així com es va dur a terme la primera modificació a la vinya, amb un porta-empelt americà que

encara avui en dia conserven i es fa servir, tot i que aquests han evolucionat i han obtingut millores. Els porta-empelts actuals són híbrids de varietats americanes diferents i que posteriorment s'han seleccionat. Pel que fa a la normativa, els porta-empelts estan subjectes a les mateixes regulacions i controls que les varietats de raïm en moltes regions vitivinícoles. Les autoritats reguladores poden establir requisits específics per als porta-empelts, com ara certificacions de qualitat i controls per garantir la seva autenticitat i seguretat. Les normatives varien segons la regió, però l'objectiu és assegurar que els porta-empelts compleixin els estàndards necessaris per a la producció de vi de qualitat i la salut de les vinyes.

Utilitzant la tècnica de l'ús del porta-empelt americà es van poder salvar moltes varietats autòctones, que d'una altra forma haguessin desaparegut, i com a conseqüència, a partir d'aquell moment totes les noves plantacions de la vinya es fan amb el peu americà. De fet, les varietats silvestres han estat a punt d'extingir-se durant els últims dos segles, pel gran impacte que va tenir en elles la fil·loxera, l'oïdi o el mildiu importats d'Amèrica (Arnold et al., 1998, Arnold 2002).

Les poblacions silvestres més àmplies es troben en hàbitats amb una manca d'activitat antròpica, on la vinya silvestre competeix per captar una intensitat lumínica adequada, ja que aquesta ha de competir amb altres espècies per poder fer-se un lloc i no veure's a l'ombra d'altres poblacions. Aquests peus silvestres, que creixen en terrenys humits o fins i tot entollats, han permès a la vinya, mantenir-se lliures de l'atac de la fil·loxera i poder sobreviure fins avui en dia (Ocete et al., 1994).

Avui en dia, costa molt trobar aquest tipus de vinyes, ja que el cultiu de noves terres, la urbanització de moltes zones... han provocat una disminució de les àrees naturals on sobreviuen les formes silvestres. Les poblacions que es poden arribar a trobar en hàbitats naturals són considerades una barreja de formes silvestres, exemplars cultivats naturalitzats i porta-empelts escapats cultivats (This et al. 2006).

3.2. Domesticació

La domesticació de la vinya sembla estar relacionada amb el descobriment del vi, tot i que no està molt clar quin procés és anterior a l'altre (McGovern et al., 2004). Durant la domesticació, un dels caràcters que es van seleccionar és el contingut de sucres, amb l'objectiu de millorar la fermentació i el rendiment del cultiu. En aquest procés els canvis en la mida del raïm i el sistema de reproducció (pas de plantes silvestres dioiques a plantes cultivades monoiques monomòrfiques (hermafrodites)) van ser crucials (Pouget et al., 1988) (Figura 1).

També es van produir canvis en la morfologia de les llavors (Marinval et al., 1997). Tot i que se'n desconeix el significat biològic, aquest tret s'utilitza en l'anàlisi de restes arqueològiques per poder diferenciar restes de raïm silvestre o cultivat (Terral et al., 2002). Es desconeix si aquests canvis es van produir a través de creuaments sexuals i selecció natural o humana, o a través de mutacions, selecció i una posterior propagació per multiplicació vegetativa.

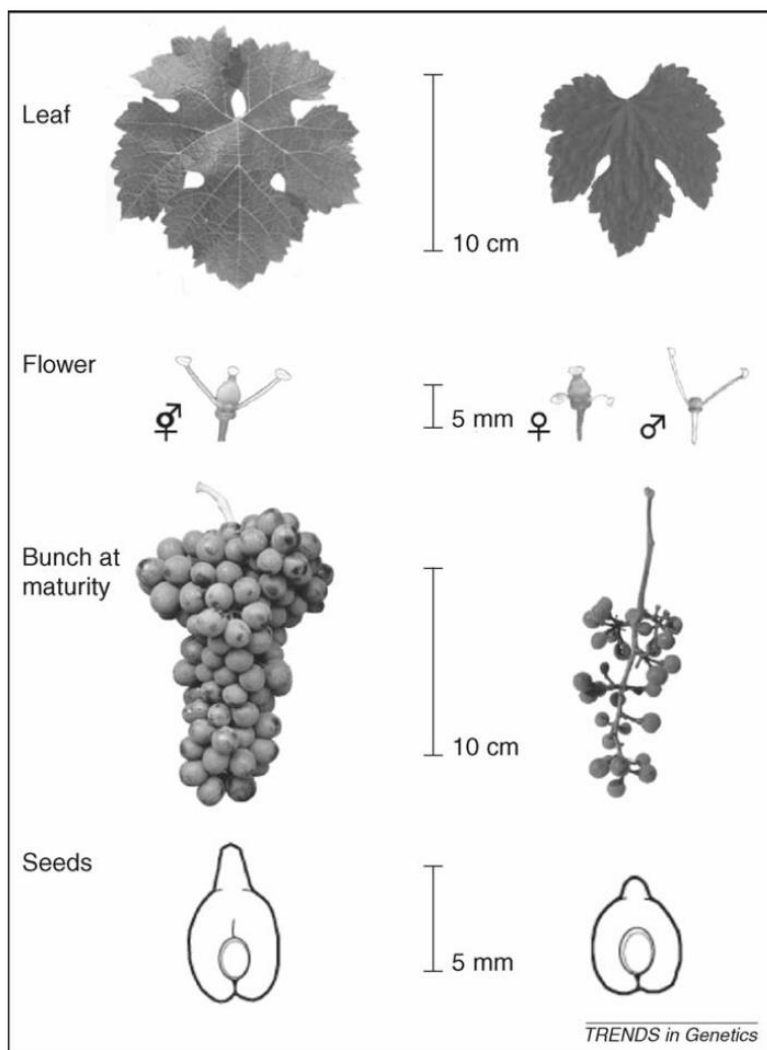


Figura 1. Diferències morfològiques entre vinyes cultivades (sub-espècie *vinífera*) i vinyes silvestres (sub-espècie *silvestris*). Es mostren les diferències en la fulla, la flor (masculina i femenina per *silvestris*), el raïm madur i les llavors (This et al., 2006).

Es va descobrir que hi havia dos zones geogràfiques on es va domesticar inicialment el cultiu de vinya, una en el Caucàs i l'altre en una part occidental d'Àsia. Les dades també mostren que la domesticació en les dos regions es va produir més o menys al mateix temps, aproximadament fa 11.000 anys, període que també coincideix amb les etapes inicials de l'agricultura (Yirka, 2023). La reproducció sexual i la sembra de les llavors semblen tenir un paper molt

important en la domesticació i l'expansió de la viticultura en noves regions. Es creu que les llavors van ser el mètode preferit per la migració del cultiu a llargues distàncies, com suggereixen les restes arqueològiques (Long, 1987).

Avui en dia es poden obtenir mitjançant mètodes més directes, com als anàlisis de ADN, el reconeixement de parentius. Aquests estudis de parentius demostren la importància dels creuaments sexuals en el passat per la generació de nous fenotips i l'adopció i difusió per propagació vegetativa (esqueixos) de genotips específics amb característiques desitjables (Sefc et al., 2001).

La hibridació inter-específica ha estat un motor important en l'evolució de la vinya cultivada. Això ha estat un motor molt important en l'evolució de la vinya, generant nous genotips que han tingut interès a nivell agronòmic i per això els agricultors els van anar adoptant. Apareixen al 1900 i actualment estan prohibits.

3.3. Recursos fitogenètics

Els recursos fitogenètics són la diversitat genètica de les plantes cultivades, així com també dels seus parents silvestres més pròxims, que es conserven i s'utilitzen pel seu ús en l'agricultura i l'alimentació. La conservació dels recursos fitogenètics és important per garantir la diversitat genètica de les plantes cultivades i l'adaptació a diferents condicions ambientals, tant com per garantir la qualitat com la seguretat alimentària de la producció agrícola (Ocete et al., 2020). Aquesta diversitat genètica és fonamental per a la supervivència de les espècies i per al desenvolupament de noves varietats amb característiques desitjables, com ara resistència a plaques o malalties, adaptació a condicions ambientals extremes o millora de la qualitat.

Els recursos fitogenètics es conserven en bancs de germoplasma, que són col·leccions sistemàtiques de mostres de llavors, teixits, cèl·lules o altres materials vegetals, que es mantenen en condicions de refrigeració o congelació per a la seva conservació a llarg termini. Aquests bancs de germoplasma permeten preservar la diversitat genètica de les plantes i faciliten el seu ús en investigació i millora genètica.

A nivell mundial un dels bancs de germoplasma de *Vitis vinífera* més important és l'Institut Nacional d'Investigació per a l'Agricultura, Alimentació i el Medi ambient (INRAE) (França) que conté una de les col·leccions més grans i prestigioses. Una altra col·lecció molt important en aquesta espècie és la mantinguda pel departament d'Agricultura dels Estats Units. Aquesta col·lecció alberga més de 3.900 accessions de vinya, que en botànica i en la conservació de recursos genètics, es refereix a una unitat individual o mostra de material vegetal que ha sigut recol·lectada i conservada pel seu estudi, investigació i preservació; incloent varietats comercials, històriques i silvestres. Un altre

exemple a nivell europeu es la col·lecció de vinya de Weinsberg (Alemanya) guardada a l'Escola Estatal d'Enologia i Fruticultura de Weinsberg. Aquesta col·lecció alberga al voltant de 1600 accessions de varietats de països viticultors d'arreu del món.

A Espanya existeixen 13 bancs de germoplasma de vinya (Chomé et al., 2003), però els més importants pel número d'accessions que conserven són el Banco de Germoplasma de El Encín, a Alcalà de Henares, gestionada per "El instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario" (IMIDRA) que compta amb la col·lecció de varietats de vinya més important d'Espanya i la segona d'Europa; i el Banco de Germoplasma del IFAPA Centro Rancho de la Merced, situat al terme municipal de Jerez de la Frontera (Cádiz). Actualment la col·lecció de El Encín està formada per 3532 accessions. Per grups hi ha 852 porta-empelts, 69 híbrids productors directes, 1852 varietats de *Vitis vinifera*, de les quals 1.178 són de vinificació, 674 de varietats de taula i 648 de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*. El IFAPA conserva una col·lecció que consta de 1376 accessions, 120 *Vitis* spp., de les quals 104 són porta-empelts, 53 híbrids productors directes i 1064 noves *Vitis vinifera* obtingudes per creuaments. A més a més de 70 accessions de *Vitis vinifera* sups. *sylvestris* (García de Luján et al., 1997).

4. Varietats cultivades actuals

4.1. Descripció de les varietats cultivades

Arreu del món es coneixen un total de 10.000 varietats cultivades de vinya, de les quals les 13 varietats mostrades a la Taula 1 ocupen més d'un terç de la superfície total. Hi ha varietats que tenen una àrea de cultiu molt important, les quals són anomenades varietats internacional, en són exemples el Cabernet Sauvignon, una de les varietats més plantades arreu del món (5% del total), el Tempranillo o el Merlot.

Taula 1. Taula de distribució de varietats cultivades més utilitzades arreu del món, el color del raïm que produeixen i el seu ús (Focus OIV, 2017).

VARIETAT	COLOR	ÚS	AREA (ha)
Kyoho	Negre	Taula	365.000
Cabernet Sauvignon	Negre	Vinificació	341.000
Sultanina	Blanc	Taula i vinificació	273.000
Merlot	Negre	Vinificació	266.000
Tempranillo	Negre	Vinificació	231.000
Airén	Blanc	Vinificació i Brandy	218.000
Chardonnay	Blanc	Vinificació	210.000
Syrah	Negre	Vinificació	190.000
Red Globe	Negre	Taula	159.000
Garnatxa negra	Negre	Vinificació	163.000
Sauvignon Blanc	Blanc	Vinificació	123.000
Pinot Noir	Negre	Vinificació	112.000
Trebbiano Toscano	Blanc	Vinificació i Brandy	111.000

Segons la OIV (Organització Internacional de la Vinya i el Vi) la Unió Europea és la regió del món on hi ha més producció de vinya. La llista de països productors de vi més importants del món es pot veure a la Taula 2. Com es pot observar, la llista l'encapçala Itàlia, seguida de França i en tercer lloc Espanya. Els tres països agrupen un total del 53% de la producció mundial de vi (Tecnovino, 2018).

Taula 2. Producció de vi els anys 2019 i 2020 en els països productors més importants del món i el percentatge que implica en el 2020 sobre el total. Dades en Mhl (milions d'hectolitres) (Focus OIV, 2017).

	2019 (milions d'hectolitres)	2020 (milions d'hectolitres)	% 2020
Itàlia	47,5	49,1	18,87
França	42,2	46,6	17,91
Espanya	33,7	40,7	15,64
USA	25,6	22,8	8,76
Argentina	13,0	10,8	4,15
Austràlia	12,0	10,6	4,07
Sud Àfrica	9,7	10,4	4,00
Xile	11,9	10,3	3,96
Alemanya	8,2	8,4	3,23
Xina	7,8	6,6	2,54
Portugal	6,5	6,4	2,46
Rússia	4,6	4,4	1,69
Romania	3,8	3,6	1,38
Nova Zelanda	3,0	3,3	1,27
Hongria	2,7	2,4	0,92
Àustria	2,5	2,4	0,92
Grècia	2,4	2,3	0,88
Brasil	2	1,9	0,73
Geòrgia	1,8	1,8	0,69
Altres	16,6	15,4	5,92

A nivell nacional, la varietat més extensa segons dades de MAPA (2021) és el Tempranillo amb un total de 202.198 hectàrees, seguit de l'Arién amb 200.084 hectàrees plantades i en tercer lloc la Garnatxa negra amb 59.122 hectàrees. Les segueixen Viura i Bobal amb 56.000 i 55.000 hectàrees, respectivament. Segons dades de l'Institut d'Estadística de Catalunya (IDESCAT) a l'any 2020, la superfície total de vinya a Catalunya era d'aproximadament 31.759 hectàrees, de les quals les varietats amb més superfície cultivada en les comarques

productores de vi més grans de Catalunya es descriuen a la Taula 3. Aquestes varietats són només algunes de les 59 varietats que Catalunya autoritza plantar i produir vins segons el Real Decret 111/2022 del 8 de febrer.

Taula 3. Varietats de vinya més cultivades a Catalunya classificades per comarques. L'ordre de les varietats en la taula indica més hectàrees cultivades d'aquesta varietat (DUN, 2022).

Comarca	Hectàrees cultivades	Varietats		
Alt Camp	6.558	Macabeu	Parellada	Xarel·lo
Alt Empordà	1.774,98	Garnatxa negra	Carinyena negra	Cabernet Sauvignon
Alt Penedès	17.475,06	Xarel·lo	Macabeu	Parellada
Anoia	2.162,58	Macabeu	Parellada	Xarel·lo
Baix Penedès	3.650,81	Xarel·lo	Macabeu	Parellada
Conca de Barberà	4.220,71	Trepat	Macabeu	Parellada
Priorat	3.354,23	Garnatxa negra	Carinyena negra	Sirà
Segrià	1.960,24	Chardonnay	Xarel·lo	Cabernet Sauvignon
Tarragonès	1.311,29	Macabeu	Xarel·lo	Parellada
Terra Alta	6.025,55	Garnatxa blanca	Garnatxa negra	Macabeu
Urgell	1.338,93	Parellada	Macabeu	Ull de llebre
Urgell	1.338,93	Parellada	Macabeu	Ull de llebre

4.2. Diversitat genètica en les varietats cultivades

La diversitat genètica en les varietats cultivades (*vitis vinífera*) és bastant àmplia. S'estima que existeixen entre 6.000 i 10.000 cultivars arreu del món, principalment en col·leccions de vinya. 11.000 varietats són descrites al Vitis International Variety Catalogue (Manual et al., 2008).

La diversitat cultivada s'ha preservat gairebé intacta degut a la multiplicació vegetativa, fet que ha permès conservar cultivars durant segles. L'anàlisi del polimorfisme a nivell molecular pot permetre reduir bastant el número de varietats diferents, ja que hi ha una gran abundància de sinonímies i homonímies (és a dir, duplicats) entre el material vegetal conservat en bancs de germoplasma (This et al., 2006). En un treball publicat per Martín et al. (2003) es van caracteritzar 318 accessions de vinya del banc de germoplasma de El Encín (IMIDRA) fent

servir marcadors moleculars de tipus microsatèl·lits i van identificar un número de genotips diferents equivalents a quasi la meitat (55,3%). En concret es van diferenciar 176 genotips diferents entre totes les accessions analitzades. En un altre article publicat per Laucou et al. (2011) van analitzar 4370 accessions corresponents a 3.727 accessions de *Vitis vinifera* ssp. *sativa*, 80 individus de *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*, 364 accessions d'híbrids inter-específics i 199 accessions de porta-empelts conservades al banc de germoplasma del INRA "Domaine de Vassal". L'estudi del polimorfisme amb 20 microsatèl·lits va permetre identificar un total de 2.836 genotips diferents que corresponien al 64,9% de les accessions analitzades. Per tant, com mostren aquests estudis, tot i existir un gran nombre de noms designant varietats, podem estimar que gairebé el 50% de la diversitat estimada en base al nom de les varietats és, de fet, un artefacte lingüístic i són duplicats d'altres varietats.

5. Genoma de *Vitis vinifera*

Tot i que ja es practicava la millora genètica en altres cultius, va ser sobre els inicis del segle XIX quan es va començar a desenvolupar a la vinya a Nord-Amèrica. I va ser cap al 1822 quan investigadors de la Universitat de Harvard van començar a recomanar l'ús del desenvolupament d'híbrids entre vinyes europees i americanes. Va ser degut a la invasió de la fil·loxera quan es va començar a investigar sobre la millora genètica de la vinya a Europa, les investigacions més importants, les quals van ser al 1824 quan Louis Bouschet va obtenir la varietat "Petit Bouschet" i posteriorment el seu fill va obtenir la varietat Garnatxa Tintorera (Santiago et al., 2008). A partir d'aquells anys la millora genètica en la vinya va començar a fer-se un nom en el món de la millora vegetal i va impulsar l'estudi del genoma de la vinya per mitjà dels mapes genètics.

El primer mapa genètic que es va construir de la vinya va ser publicat l'any 1995 per Lodhi i col·laboradors, a l'article "*A marker based linkage map of Vitis*" (Lodhi et al., 1995). El principal motiu que va generar la necessitat de l'elaboració d'un mapa genètic va ser l'inici de la investigació sobre la millora genètica d'aquesta espècie, i era necessari un mapa genètic. Per poder-lo elaborar es va utilitzar selecció assistida per mitjà de mapes de lligament mitjançant l'ús de marcadors per la tècnica de *Polimorfismes de longitud de fragments de restricció* (RFLP, de l'anglès *Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Lodhi et al., 1995).

El genoma de *Vitis vinifera* es bastant complex, i el número exacte de gens pot variar segons les fonts i les versions del genoma que s'utilitzin. El genoma de referència actual es l'anomenat PN40024. S'ha estimat que conté al voltant de 30.000 a 40.000 gens codificadors de proteïnes, i al voltant de 487 milions de parells de bases (Mb) (NCBI). Les versions anteriors del genoma de referència de la vinya consisteixen típicament en milers de fragments als quals els falten

centròmers i telòmers, la qual cosa limita l'accessibilitat de les seqüències repetitives, les regions centromèriques i telomèriques, i l'estudi de l'herència d'importants caràcters agronòmics en aquestes regions (Shi et al., 2023). Bona part d'aquests treballs incloïen el desenvolupament de marcadors moleculars, fragments de ADN repartits pel genoma dels quals es podia determinar la seva distància i que permetien construir mapes genètics que s'han acabat saturant (figura 3). És en aquest nou article "*The complete reference genome for grapevine (Vitis vinifera L.) genetics and breeding*" (Shi et al., 2023) on completen el genoma de referència.

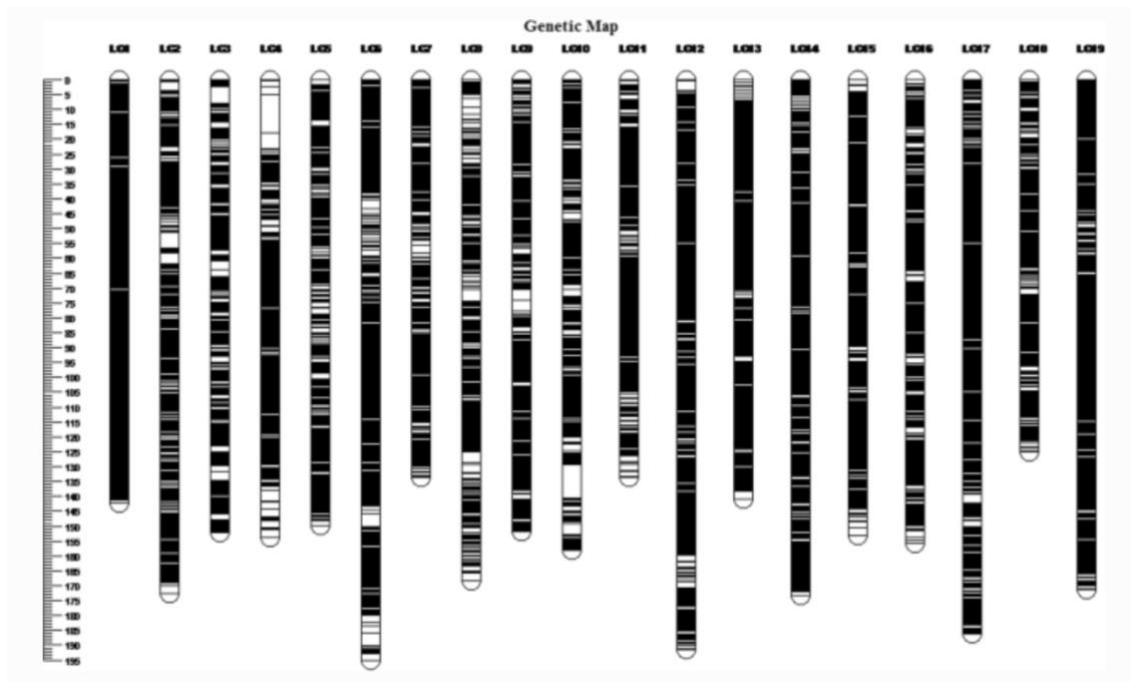


Figura 2. Mapa integrat que mostra la mida i la distribució de marcadors moleculars (línies negres) en els 19 grups de lligament. La distància a l'escala vertical està en cM (cèntimòrgans) (Zhu et al., 2018).

A més a més, en els últims anys s'han generat assemblatges genòmics de diversos cultivars de vinya com els de 'Cabernet Sauvignon' (Minio et al., 2022), 'Chardonnay' (Zhou et al., 2019) o 'Carménère' (Minio et al., 2019). Com que la vinya és una planta dicotiledònia model en els arbres fruiters, el seu genoma d'alta qualitat facilitarà enormement la investigació sobre la funció gènica, l'estructura genètica i l'evolució de les espècies del gènere *Vitis* i espècies del grup de les eudicotiledònies (Shi et al., 2023). *Vitis vinifera* presenta un total de 35.134 gens codificants (Ensembl Plants).

6. Objectius de millora actuals

A diferència d'altres espècies cultivades on l'obtenció de varietats amb resistències a diferents patògens, o fins i tot la millora de les qualitats del fruit, la millora genètica ha estat el procediment més habitual, en el cas de la vinya no ha sigut així. Probablement degut a les peculiaritats legislatives i comercials del vi, en les que es condiona les varietats a cultivar en cada una de les zones de producció. Això va lligat a la a la qualitat i tipicitat dels vins en cada una de les zones geogràfiques de producció (Denominacions d'Origen Geogràfic Protegides, IGP, DO, DQO, ...). Han sigut factors com el canvi climàtic, l'augment de plagues i malalties, i el poder aconseguir produccions més sostenibles el que ha fet replantejar-se al sector començar a investigar la possibilitat de fer millora en vinya i incorporar varietats modernes a la producció de vi.

De fet les últimes publicacions en revistes del món del vi, com "infowine" (*InfoWine: Internet Journal of Viticulture and Oenology*) apunten que el futur de la vitivinicultura passa per adaptar-se mitjançant la millora genètica a les noves condicions de creixement associades a un augment de la temperatura, de la concentració de CO₂ alteracions en el règim hídric històric de les zones de cultiu. Aquests canvis climàtics poden comportar l'aparició de nous patògens i plagues o malalties i canvis en el metabolisme del fruit que afectin a la qualitat del raïm i en conseqüència del vi.

6.1. Millora per tolerància a estressos

6.1.1. Estressos biòtics

Els problemes que pot arribar a patir la vinya, poden ser deguts a un estrès de tipus biòtic o abiòtic. L'estrès biòtic està relacionat amb les infeccions causades per organismes fitopatògens com les bacteries, nematodes, fongs, oomicets i virus, entre altres. Aquests patògens obtenen els elements necessaris pel seu creixement i la reproducció dels hostes de la planta, causant-li a aquesta danys que poden arribar a ser irremediabls (Armijo et al., 2016). Les pèrdues ocasionades, a Espanya, per les malalties causades per fongs i virus són molt limitants en el cultiu de la vinya, ocasionant fins a un màxim d'un 80% de pèrdues en una collita o reduint-ne la qualitat d'aquesta. S'estima, però, que anualment plagues i malalties provoquen la pèrdua (mortalitat) d'un 5% de ceps adults. Tot això comporta a un increment dels costos de producció i reducció del vigor i longevitat de les plantes cultivades (Giralda et al., 2021).

Alguns dels fitopatògens més comuns a la vinya són:

- La podridura grisa del raïm (*Botrytis cinerea*), es tracta d'un fong que ataca un ampli espectre d'espècies vegetals on es pot veure una necrosis del teixit foliar i del fruit que es manifesta amb una podridura gris, tova i aquosa.
- L'oïdi (*Uncinula necator*), és una malaltia fúngica d'espècies del gènere *Vitis* la qual es manifesta amb unes taques blanques.
- El míldiu (*Plasmopara viticola*) que és un paràsit obligat que es desenvolupa als teixits de la vinya (CORFO)

Hi ha dos gens que estan involucrats en la resposta a estressos biòtics com abiòtics, aquest son anomenats VvBSL1 i VvBSL2 que pertanyen a la família de factors de transcripció R2R3MYB (Acevedo et al., 2014). En aquest article, fan ús de la RT-PCR van determinar que VvBSL1 es induït tant per la infecció per *Botrytis cinerea*, Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) i salinitat. Al igual que els nivells de transcrit de VvBSL2 son augmentats també en elevada radiació UV-B i salinitat.

També s'ha estudiat diferents locis com poden ser RUN1 i REN1 que ofereixen resistència a l'oïdi (Carrera et al., 2017)

6.1.2. Estressos abiòtics

En canvi l'estrès abiòtic està relacionat amb els canvis ambientals als que està exposada la vinya, com són per exemple els règims hídrics, la deficiència o excés de nutrients, el calor extrem o les baixes temperatures, excés de llum o dèficit d'aquesta (Keller et al., 2015). Els estressos abiòtics, al igual que els biòtics, tenen una repercussió a la planta, i aquesta reacciona de certa manera depenent del tipus d'estrès a la que es sotmet. Quan qualsevol planta es veu sotmesa a un estrès es reproduceix una resposta hormonal en cascada per poder protegir-se. Ferrandino i Lovisolo (2014) estudien les respostes de la vinya als principals factors abiòtics, destacant el paper de l'àcid abscísic en el control dels efectes de l'estrès ambiental sobre el metabolisme secundari, especialment en la vinya.

S'han estudiat l'ús de proteïnes de xoc tèrmic (Heat Shock Proteins, HSP) que són un tipus de proteïnes essencials per la síntesis, protecció o transport entre altres, en condicions normals i d'estrès (Muñoz, 2010). Degut a la poca investigació que hi ha sobretot en aquesta espècie, no hi ha molta informació sobre gens que confereixen tolerància a estressos abiòtics.

7. Mètodes de millora

La millora de les espècies vegetals en general és una pràctica que ha tingut com a resultat la generació de plantes que presenten combinacions noves de caràcters i/o caràcters nous. Principalment s'ha fet servir per poder obtenir plantes de més qualitat, amb més rendiment o més resistents a diferents condicions ambientals i patògens. Hi ha diferents tècniques per obtenir variabilitat genètica, a partir de mutacions produïdes a l'atzar o de manera induïda. Actualment hi ha moltes més opcions per poder editar especialment la part del genoma que està involucrada en un procés o resposta que sigui d'interès i poder obtenir de manera més ràpida i eficient les plantes desitjades. Hi ha molts tipus de mètodes de millora vegetals, com poden ser la selecció massal, la mutagènesis, la variació soma-clona o l'embriogènesi somàtica, entre d'altres.

7.1. Selecció massal

La selecció massal és una tècnica de millora genètica de la vinya que consisteix en seleccionar individus dins d'una parcel·la on existeix variabilitat genètica i basant-se en el seu fenotip. Un cop seleccionades les plantes més interessants es multiplica el material vegetal d'interès per reproducció sexual. A diferència de la selecció clonal, que busca obtenir plantes genèticament idèntiques, la selecció massal busca conservar i millorar la diversitat genètica d'una varietat en concret. La vinya principalment es multiplica per clonació, ja que al dur a terme la selecció massal s'obté descendència per reproducció sexual, generant noves combinacions al·lèliques, sobre la qual es pot dur a terme la selecció sobre la diversitat de fenotips obtinguda. Una vegada identificat un fenotip d'interès es multiplica per clonació obtenint finalment una nova varietat. Aquest procés es duu a terme seleccionant plantes amb unes característiques desitjables, com poden ser la resistència a malalties o infeccions, més rendiment, millor qualitat del fruit o més bon sabor; tot depèn de les característiques que es busquin millorar (Prieto, 2015).

7.2. Hibridació

Les hibridacions van ser de les primeres millores en vinya. Els creuaments entre dos varietats o espècies diferents de vinya, que poden donar lloc a plantes capaces de produir raïm de manera efectiva sense la necessitat d'un procés de creuament posterior s'anomenen híbrids productors directes. Aquests híbrids poden ser especialment rellevants en l'agricultura ja que poden ser dissenyats per poder tenir certes característiques desitjables. És a dir, són creuaments entre espècies que produeixen plantes amb la capacitat de produir fruits, en aquest cas raïm, o llavors de manera directa, sense la necessitat de creuaments continus. Aquests van aparèixer al 1900 però actualment estan prohibits.

Un exemple d'hibridació és el Marselan i el Folignan, han estat inscrites per l'INRA (Institut Nacional per la Investigació Agronòmica) al 1980 i han tingut molt èxit. És important també senyalar que totes les varietats que seran proposades per l'INRA en els propers 20 anys per poder ser admeses a França seran i sempre han sigut obtingudes mitjançant mètodes tradicionals de millora genètica, per tant tota la investigació que es duu a terme mitjançant mètodes no tradicionals es purament de recerca.



Figura 3. Fruit de la varietat Marselan a l'esquerra i del Folignan a la dreta

7.3. PIWIs (Pilzwiederstandsfähig)

En aquests últims anys, han aparegut diferents iniciatives per a la millora de noves varietats resistents a factors biòtics com el míldiu i l'oïdi. Aquestes varietats se les coneix amb el nom de varietats PIWI (Pilzwiederstandsfähig), que és sinònim de resistència a fongs, entre els quals es troben els dos esmentats. Aquestes varietats s'obtenen mitjançant creuaments inter-específics entre la varietat *Vitis vinifera* amb altres de *Vitis* ssp. (Barajas, 2022).

Aquestes varietats no pretenen proporcionar un cultiu lliure de tractaments fitosanitaris, ja que és molt complicat poder aconseguir aquests resultats mitjançant creuaments, i fins i tot la pròpia evolució dels patògens ho pot complicar superant els mecanismes de resistència que poden introduir-se en les varietats. Per tant, amb aquestes noves varietats el que es vol aconseguir és

poder reduir les aplicacions fitosanitàries, que a la seva vegada aconseguirà un benefici econòmic i ambiental.

Un llistat d'algunes varietats obtingudes serien les següents:

- Fleurtaï (Blanca)
- Soreli (Blanca)
- Sauvignon Rytos (Blanca)
- Merlot Khorus (Negra)
- Merlot Kanthus (Negra)
- Cabernet Eidos (Negra)

Aquestes varietats han estat obtingudes per l'institut de Genòmica Aplicada i la Universitat de Udine, a Itàlia. Algunes d'aquestes varietats ja han estat autoritzades a França i Itàlia, tot i que a Espanya encara s'està treballant per aconseguir creuaments amb varietats autòctones (Barajas, 2022). A França també s'han aprovat 4 varietats franceses PIWI (Artaban, Vidosc, Floreal i Voltis), que han sigut classificades com *Vitis vinifera*. Aquest esdeveniment pot donar lloc a una possible classificació com a vi AOC ("Appellation d'Origine Contrôlée"). Fins i tot la Champagne ha aprovat la plantació de fins a un 5% de Voltis (Boiling, 2022).

7.4. Mutagènesis

La mutagènesis és un procés mitjançant el qual es produeixen canvis o mutacions en el material genètic d'un organisme. Les mutacions en general, poden ser de manera espontània o induïda. L'espontània és el resultat d'errors aleatoris que es produeixen durant la replicació del ADN, mentre que la induïda és causada per agents externs, com podrien ser productes químics, certs virus o radiació. Aquesta última es fa servir de manera controlada en la investigació científica i amb aplicacions pràctiques com és la millora genètica de cultius i la producció de plantes amb característiques desitjables com podria ser la resistència a malalties com ja s'ha comentat anteriorment, augmentar la variabilitat o millorar la qualitat del fruit (Ahloowalia et al., 2001).

L'encreuament tradicional en espècies de cultius perennes de propagació vegetativa, com la vinya, està subjecte a limitacions de temps i espai de creixement, per tant la inducció de mutacions pot ser una estratègia de millora valuosa (Predieri, 2001). Pot arribar a ser especialment aplicable sobretot en programes on és important mantenir la identitat varietal i només millorar uns aspectes específics per arribar a produir vins de qualitat.

Només existeix una mutació que es va desenvolupar el 1986 a Rússia, i és l'única que s'ha registrat fins ara a la base de dades de mutants de l'Agència Internacional de l'Energia Atòmica (IAEA) (base de mutants IAEA). L'objectiu de provocar mutacions a la vinya és augmentar la variabilitat genètica a partir de la qual es poden seleccionar trets agronòmics específics.

7.5. Variació soma-clonal

La variació soma-clonal es l'aparició de variabilitat genètica en plantes regenerades a partir de teixits vegetals cultivats in vitro, com poden ser ex-plants o cal·lus. Aquests teixits vegetals se sotmeten a tècniques de cultiu de teixits com són la micropropagació o l'embriogènesi somàtica per poder generar múltiples plantes a partir d'un sol teixit. És durant aquest procés de regeneració quan poden ocórrer canvis genètics o epigenètics en les cèl·lules dels teixits vegetals, resultant amb l'aparició de fenotips o característiques noves en les plantes regenerades. Les variacions soma-clonals poden tenir les seves bases en canvis epigenètics i ser inestables o poden derivar de canvis de cariotip, reordenacions cromosòmiques i mutacions gèniques (Palombi et al., 2002). Aquests canvis genètics poden ser heretats i es produeixen amb una freqüència superior a la que es produeixen espontàniament en llavors o plantes empeltades (Prado et al., 2010).

Un altre tipus de variació soma-clonal en la vinya pot venir de la separació de capes cel·lulars genotípicament diferents mitjançant l'embriogènesi somàtica. Per exemple, en la varietat 'Brancellao' es van produir la majoria de poliploides (28,6%) dels sis cultivars espanyols de *V. vinifera* regenerats mitjançant embriogènesi somàtica (Prado et al., 2010). En les plantes cultivades al camp es va mostrar mixo-ploidia.

7.6. Quimerisme a la vinya i la segregació de fenotips mitjançant l'embriogènesi somàtica

El quimerisme és un fenomen genètic pel qual un organisme conté cèl·lules amb diferents composicions genètiques. Això vol dir que un individu quimèric conté cèl·lules amb un conjunt de gens diferents al de les cèl·lules presents en una altra part del seu organisme. El quimerisme ocorre de manera genètica, un organisme es forma a partir de la fusió de dos embrions diferents en les primeres etapes del desenvolupament, donant com a resultat un organisme amb cèl·lules amb material genètic procedent de dos embrions. També existeix el quimerisme adquirit, que succeeix quan les cèl·lules d'un organisme es fusionen amb cèl·lules d'un altre organisme, ja sigui de la mateixa espècie o d'una altra; aquest fenomen podria ocórrer en casos de trasplantaments de teixits.

L'embriogènesi somàtica pot provocar canvis importants en la composició genètica de cultius propagats clonalment com la vinya; això és degut a l'existència de cultivars que tenen quimeres. Les espècies dicotiledònies generalment tenen tres capes cel·lulars diferents en els seus meristems apicals que donen lloc a diferents teixits. En la vinya, es considera que el meristema apical del brot està format només per dues capes cel·lulars (L1 i L2) (Thompson et al., 1963). Es poden identificar tres tipus diferents de quimeres basant-se en la disposició espacial de les capes cel·lulars genèticament diferents: periclinal, mericlinal i sectorial (Marcotrigiano et al., 1995). Com que els embrions somàtics de la vinya es deriven de cèl·lules individuals (Faure et al., 1996), la embriogènesi somàtica donarà lloc a la separació de les capes cel·lulars de la quimera original que representa el clon i, per tant, les característiques clonals no es transferiran a la descendència.

Franks et al. (2002) van demostrar aquest fenomen utilitzant marcadors microsatèl·lits a "Pinot Meunier". El locus VVS2 per a cadascuna de les quatre accessions "Pinot Meunier" que van estudiar presentava tres al·lels, mentre que les plantes de "Pinot Noir", "Pinot Gris" i "Pinot Blanc" tenien dos al·lels en aquest locus. Aquest fenomen el van atribuir a una mutació en un dels dos al·lels (diploides) en una de les diferents capes cel·lulars de "Pinot Meunier" i al seu manteniment mitjançant la propagació vegetativa com en el cas d'una quimera periclinal (Franks et al., 2002). Així, un dels al·lels originals, no el mutat, es produirà a les dues capes cel·lulars, mentre que l'al·lel mutat diferirà entre les dues capes cel·lulars, produint tres al·lels diferents a la planta. Van demostrar que mitjançant la embriogènesi somàtica es poden regenerar dos morfotips a partir de "Pinot Meunier": el "tipus nan" de la capa cel·lular L1 i el "tipus alt" que s'assembla a "Pinot Meunier" de la capa L2, que té la mutació al locus VVS2 que el distingeix d'altres cultivars de Pinot (Franks et al., 2002). Tot i que no van analitzar el quimerisme amb més detall, Franks et al. (2002) van trobar una variació similar en el lloc VVS19 a 'Primitivo di Giola'. Els filaments d'anteres consisteixen en capes cel·lulars L1 i L2, i tots dos són competents per formar calls embriogènics (Franks et al., 2002).

Estudis més recents han confirmat que la variabilitat intra-cultivar tant a "Pinot Noir" com a "Chardonnay" també es deu a mutacions a les dues capes cel·lulars i, per tant, quimèriques (Bertsch et al., 2005). Per tant, cal tenir en compte la possible naturalesa quimèrica de molts cultivars antics de vinya, abans d'utilitzar l'embriogènesi somàtica per a la micro-propagació, la conservació genètica o la transformació. Sens dubte l'embriogènesi somàtica és una eina important per augmentar la comprensió de la composició genètica i l'origen dels conreus antics i les relacions entre ells (Riaz et al., 2002).

7.7. Enginyeria genètica

Actualment es poden introduir i expressar segments d'ADN de manera transitòria o estable en diferents varietats, cosa que ofereix una possibilitat extraordinària per poder investigar la base molecular de processos importants que han estat dificultosos d'investigar mitjançant mètodes convencionals, com serien les complexes vies de transducció de senyals i les jerarquies de regulació genètica que s'oculten a les interaccions planta-patogen, el desenvolupament del fruit, la senescència i altres processos fisiològics importants.

Els protocols de transformació de plantes estables es basen en la introducció d'ADN a les cèl·lules vegetals, seguida de la proliferació cel·lular i la regeneració de plantes senceres. Per tant, són necessaris dos requisits previs essencials per als protocols de transformació de plantes: un mètode eficient per introduir ADN a les cèl·lules vegetals i la disponibilitat de cèl·lules o teixits que puguin regenerar plantes senceres de manera fàcil i reproduïble (Carimi et al., 2012).

Tot i que en els últims anys s'han fet grans avenços en la transformació genètica de la vinya com són els treballs de Gabriela Paz Madrid (2018) o de Susan Ingrid Araya (2006), ambdós de la Universitat de Concepción de Chile. No obstant, encara s'està esperant un protocol de transformació i regeneració senzill i àmpliament aplicable. Com que no hi ha mètodes universalment aplicables per a la transformació de *Vitis*, cal adaptar els protocols per a cada genotip i teixit.

La transformació estable i heretable s'ha aconseguit amb èxit, mitjançant la integració d'*Agrobacterium tumefaciens* o mitjançant el lliurament de gens biolístics, tot i que amb una freqüència de recuperació molt baixa per diverses varietats importants (Carimi et al., 2012). A més, s'han desenvolupat nous protocols de transformació basats en l'agro-infiltració de fulles de vinya *in vitro* (Zottini et al., 2008). Aquest mètode es pot considerar una eina útil per a diversos propòsits: per estudiar els mecanismes de silenciament de gens resistents (gen que confereix resistència a certs tractaments, condicions o agents externs a un organisme), per caracteritzar els factors promotors i de transcripció *in vivo*, per investigar la localització sub-cel·lular i el tràfic intracel·lular de productes gènics o com a eina per investigar la biofísica dels canals iònics de les plantes.

Hi ha hagut diversos investigadors que han proporcionat informació sobre l'efecte de diferents factors que poden arribar a afectar a la regeneració i transformació deguda al *Agrobacterium* en la vinya. Alguns dels factors més importants inclouen:

- La interacció entre el genotip i l'ex-plant
- La soca d'*Agrobacterium*
- El gen marcador
- Les condicions d'inoculació i cultiu
- El medi de cultiu i la regeneració de teixits

Tot i que al final els dos factors clau per la producció beneficiosa de la vinya transgènica són el genotip i el tipus d'ex-plant utilitzat com a teixit diana. La interacció entre aquests dos paràmetres pot afectar fortament l'eficiència de la transformació, ja que les cèl·lules diana han de ser competents per a la transformació i per a la posterior regeneració de les plantes (Prado et al., 2010). Per exemple, l'eficiència en la transferència d'ADN per organogènesi està restringida per les diferències cel·lulars en la sensibilitat d'*Agrobacterium* i la capacitat regenerativa (Colby et al., 1991).

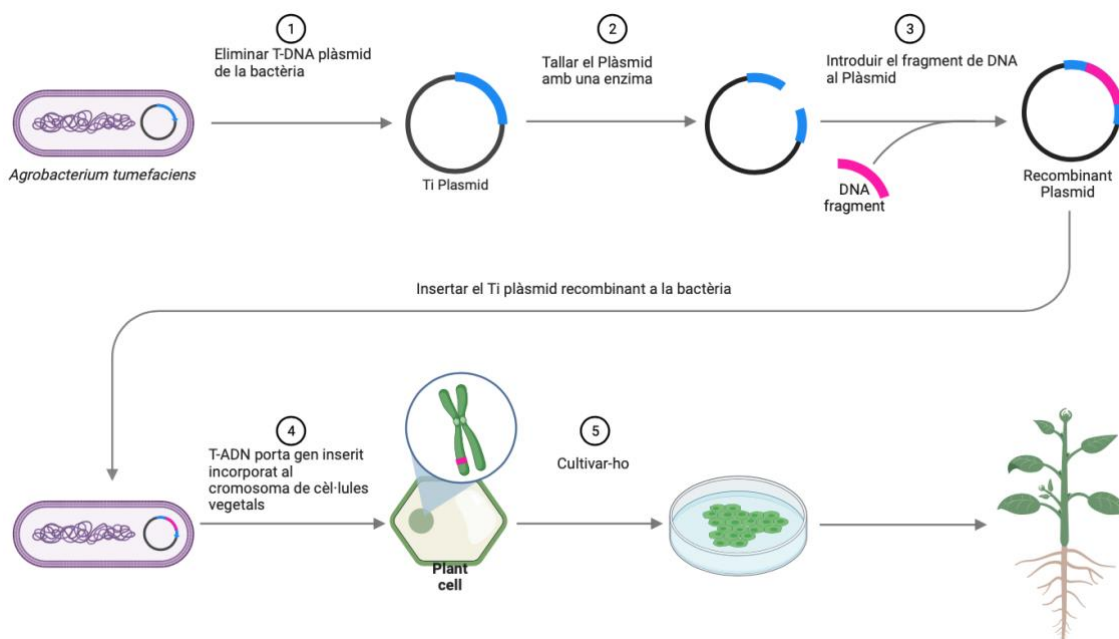


Figura 4. Resum del procés d'enginyeria genètica mitjançant l'ús d'*Agrobacterium*.

Un exemple de l'ús de l'enginyeria genètica seria el treball de Dai et al., (2016). En aquest treball aïllen i caracteritzen una proteïna d'una espècie silvestre de *Vitis* que mostra una transcripció molt elevada després d'una infecció per míldiu. Van sobre-expressar el gen encarregat de produir aquesta proteïna mitjançant

una transformació mediada per *Agrobacterium tumefaciens* veient finalment un augment de la resistència a aquesta malaltia.

Un altre treball relacionat seria el de Cheng et al. (2016), en el qual també es centren en sobre-expressar un gen relacionat a oferir resistència al mildiu mitjançant l'ús d'*Agrobacterium*.

Actualment no hi ha plantacions de vinya transgènica cultivada per a l'ús alimentari: per ara tot es limita a la investigació.

8. Integració de noves biotecnologies en programes de millora genètica

8.1. In vitro

El cultiu in vitro és una tècnica utilitzada per al creixement i desenvolupament de cèl·lules, teixits o organismes en condicions controlades fora del seu entorn natural, generalment en un medi de cultiu estèril. Té moltes aplicacions diferents però unes de les més utilitzades és la propagació de plantes, la conservació d'espècies en perill d'extinció o la modificació gènica per obtenir diferents varietats com ja s'ha comentat anteriorment.

El cultiu de cèl·lules de vinya va ser descrit per primera vegada per Morel (1944) i des de llavors s'han descrit casos de regeneració d'arrels per Fallo (1955) o regeneració d'embrions somàtics a partir d'òvuls no fecundats per Mullins i Srinivasan (1976). Posteriorment aquests dos investigadors van introduir la organogènesi a partir de cal·lus de diferents cultivars híbrids.

La regeneració de brots s'ha obtingut a partir de diferents tipus d'òrgans, com poden ser àpexs de brots fragmentats o fulles joves extirpades de brots axil·lars. Un nou mètode que s'ha adoptat fa pocs anys, i que es útil per la propagació es basa en la formació de teixit meristemàtic a granel amb una alta capacitat regenerativa, obtingut a partir de brots adventicis (Carimi et al., 2012). “*L'organogènesi vegetal és el procés pel qual es produeixen nous òrgans a partir de teixits cultivats en condicions físiques i químiques específiques*” (Thorpe, 1980). És possible observar organogènesi directa o indirecta en presència o absència de call. L'organogènesi directa s'ha descrit en diversos cultivars de *V. vinifera* a partir de diferents tipus d'ex-plants (Stamp et al., 1990). L'èxit depèn estrictament del genotip, com s'ha observat també en moltes altres espècies llenyoses i no llenyoses (Carimi et al., 2012).

El cultiu in vitro es necessari dur-lo a terme en moltes tècniques de millora com pot ser la variació soma-clonal, la mutagènesi o l'enginyeria genètica.

8.2. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)

La transformació genètica també es pot fer servir en programes de cultiu com una eina addicional per millorar diferents característiques d'interès a través de la enginyeria genètica. La majoria de casos modificats genèticament actuals s'han portat a terme mitjançant la tècnica del CRISPR, ja que es la única que encara no està regulada per la llei com un organisme genèticament modificat.

CRISPR/Cas9 és una nova tècnica d'edició gènica que permet realitzar modificacions precises a l'ADN de diferents organismes, inclosos plantes, animals o microorganismes. El mecanisme CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) o també anomenat Repeticions Palindròmiques Curtes Agrupades i Regularment Espaiades es va descobrir gràcies a l'estudi de les bacteries *Streptococcus pyogenes*. La Cas9 és una endonucleasa associada a CRISPR, coneguda per actuar a mode de tisores moleculars, ja que talla i edita el ADN. El procés consta de dos etapes, en la primera el ARN guia s'associa a l'enzim Cas9, aquest ARN és específic d'una seqüència concreta de ADN, de tal manera que s'hibridarà. A continuació actua Cas9 tallant el ADN i la segona etapa es on actua el mecanisme *indel* (inserció-deleció). Aquest just després del tall produït per Cas9 insereix uns nucleòtids més o n'elimina, creant així una pèrdua de la funció original de la seqüència d'aquell segment de ADN. Les funcions d'aquesta eina són principalment regular l'expressió gènica, identificar i modificar funcions de gens i alhora poder corregir-los.

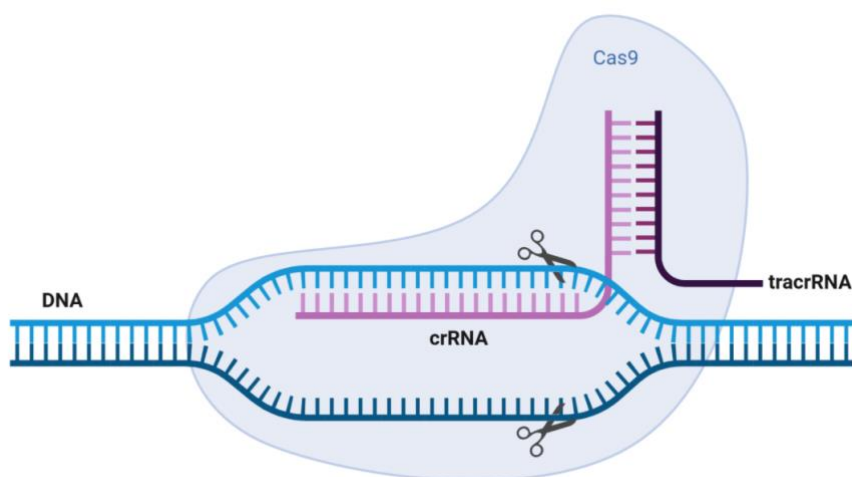


Figura 5. Dibuix explicatiu del funcionament de Cas9

Actualment en *Vitis vinifera* s'estan duent a terme diferents investigacions per poder fer varietats resistents al mildiu modificant el gen VvPR4b, com per exemple en l'article "*CRISPR/Cas9-mediated VvPR4b editing decreases downy*

mildew resistance in grapevine (Vitis vinifera L.)” (Li et al., 2020). En aquest article demostren que, mitjançant tècniques de modificació genètica per disminuir l'activitat del gen VvPR4b, hi ha una disminució de la resistència al míldiu. Aquest fet demostra que aquest gen en concret és essencial per a la resistència de la vinya a aquesta malaltia.

Altres grups de recerca han publicat articles com “*CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of VvbZIP36 promotes anthocyanin accumulation in grapevine (Vitis vinifera)*” (Tu et al., 2022) en el qual treballen amb l'acumulació d'antocianines a la vinya ja que són un regulador de moltes funcions biològiques de la vinya, incloent-hi la pigmentació del fruit, fent que aquest s'intensifiqui.

9. Conclusions i perspectives de futur

El vi elaborat a partir de *Vitis vinifera* és apreciat per la seva llarga història i tradició en les cultures europees, ja que contribueix a mantenir una cultura pròpia. És per aquesta raó que, en el passat, les motivacions per la millora varietal en aquesta espècies eren pràcticament nul·les, donat que les varietats històriques o tradicionals representaven la identitat dels territoris. No va ser fins a l'arribada de la fil·loxera que va sorgir la necessitat d'implementar programes de millora genètica per avançar en l'agronomia del cultiu. Això va donar origen a l'ús del porta-empelt, essent una de les primeres millores genètiques modernes aplicades a la vinya.

Les varietats cultivades actualment arreu del món són moltes, però són el cabernet sauvignon, el merlot, el tempranillo i l'Airén les més extenses. A nivell nacional la varietat més extensa és el tempranillo, seguit de l'airén i en tercer lloc la garnatxa negra.

Actualment, per mantenir aquest valor associat al *terroir*, s'ha mantingut el cultiu de les varietats autòctones, creant-se així un fort lligam entre consumidors i les varietats antigues. Cada vegada més, la població en general és conscient del canvi climàtic que estem patint i de com això afecta la vinya. Per aquest motiu, s'està incrementant la investigació de la millora genètica en viticultura. Actualment hi ha diverses tècniques de millora, alguns exemples en són la hibridació, la mutagènesi, la variació somaclonal, l'ús de quimerismes i els PIWIs, així com també la tecnologia CRISPR. No obstant això, l'acceptació actual sembla restringir-se als PIWIs, ja que permeten crear varietats que conserven les característiques de les varietats autòctones, associades amb el *terroir* i la qualitat organolèptica, alhora que ofereixen resistències a diferents malalties, especialment el míldiu. Cal esmentar que el CRISPR encara està pendent d'aprovació i pot ser una eina amb molt potencial per poder impulsar una nova generació de varietats de vinya millorades.

Actualment els esforços dels programes de millora genètica estan centrats en la protecció contra malalties com el míldiu. Un dels grans reptes actuals és l'ús excessiu del coure com a producte de prevenció, el qual té repercussions mediambientals importants. Aquest problema ha conduït a la necessitat d'adoptar noves mesures, com ara l'ús dels PIWIs en el cultiu.

Tot i els avenços científics, hi ha molts obstacles legals que dificulten la introducció de noves varietats. Aquestes restriccions han limitat la investigació en aquest àmbit. No obstant això, a mesura que el futur s'apropa, serà necessari considerar canvis per proporcionar resistència als diferents factors com són l'augment de temperatura, la sequedat o malalties com l'oïdi i el míldiu, que afecten la vinya.

BIBLIOGRAFIA

- Acevedo, J. S. S. (2014). Estudio De Los Genes VvBSL1 Y VvBSL2, Que codifican para putativos Factores De Transcripción, En La Respuesta a Estrés En *Vitis vinifera* L. Pontificia Universidad Católica de Chile (Chile). Tesis doctoral.
- Ahloowalia, B. S., & Maluszynski, M. (2001). Induced mutations—A new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, 118, 167-173.
- Araya Salas, S. I. (2006). Embriogénesis somática y transformación genética de vid (*Vitis vinifera* L.). Universidad de Concepción (Chile). Facultad de Agronomía. Tesis per a optar al grau de Magisteri en Ciències menció Producció Vegetal.
- Armijo, G., Espinoza, C., Loyola, R., Restovic, F., Santibáñez, C., Schlechter, R., ... & Arce-Johnson, P. (2016). Grapevine biotechnology: molecular approaches underlying abiotic and biotic stress responses. *Grape and Wine Biotechnology*, 3-42. InTech. doi: 10.5772/64872
- Arnold, C. (2002). Ecologie de la vigne sauvage, *Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris* (Gmelin) Hegi, dans les forêts alluviales et colluviales d'Europe. Académie Suisse des Sciences Naturelles, n.76, Zurich, Suïssa.
- Arnold, C., Gillet, F., & Gobat, J. M. (1998). Situation de la vigne sauvage *Vitis vinifera* ssp. *silvestris* en Europe. *Vitis*, 37(4), 159-170.
- Arrigo, N., & Arnold, C. (2007). Naturalised *Vitis* rootstocks in Europe and consequences to native wild grapevine. *Plos one*, 2(6), e521.
- Base mutants AIEA [en línia] [consulta: 10 abril 2023] Disponible a: <https://www.iaea.org/resources/databases/mutant-varieties-database>
- Benítez, M. L., & Rubio, R. O. (1994). Consideraciones sobre la ausencia de síntomas de ataque por filoxera en poblaciones autóctonas de *Vitis vinifera silvestris* (Gmelin) Hegi. *Boletín de sanidad vegetal, Plagas*, 20(3), 631-636.
- Bertsch, C., Kieffer, F., Maillot, P., Farine, S., Butterlin, G., Merdinoglu, D., & Walter, B. (2005). Genetic chimerism of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay 96 is maintained through organogenesis but not somatic embryogenesis. *BMC Plant Biology*, 5(1), 1-7.
- Carimi, F., Pathirana, R., & Carra, A. (2012). Biotechnologies for grapevine germplasm management and improvement. *Grapevines: varieties, cultivation and management*, 199-249. Nova Science Publishers, New York.
- Cheng, S., Xie, X., Xu, Y., Zhang, C., Wang, X., Zhang, J., & Wang, Y. (2016). Genetic transformation of a fruit-specific, highly expressed stilbene synthase gene from Chinese wild *Vitis quinquangularis*. *Planta*, 243, 1041-1053.

Chomé, P., Sotés, V., Benayas, F., Cayuela, M., Hernández, M., Cabello, F., Ortiz, J., Rodríguez, I. and Chaves, J. (2003). Variedades de vid. Registro de Variedades Comerciales. MAPA. Madrid.

Chris Boilling [en línia] 2022 [consulta: 23 agosto 2023] PIWIs: the most promising varieties Disponible a: <https://www.internationalwinechallenge.com/Canopy-Articles/piwis-the-most-promising-varieties.html>

Colby, S. M., Juncosa, A. M., & Meredith, C. P. (1991). Cellular differences in *Agrobacterium* susceptibility and regenerative capacity restrict the development of transgenic grapevines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(2), 356-361.

Colección de variedades de vid [en línia] [consulta: 10 maig 2023] Disponible a: <https://www.comunidad.madrid/servicios/medio-rural/coleccion-variedades-vid>

Corporación del Fomento de la Producción (CORFO) [en línia] [consulta: 25 maig 2023] Disponible a: https://www.corfo.cl/sites/cpp/sala_de_prensa/regional/18_06_2021_visita_vice_ohiggins

Cretazzo, E., Meneghetti, S., De Andrés, M. T., Gaforio, L., Frare, E., & Cifre, J. (2010). Clone differentiation and varietal identification by means of SSR, AFLP, SAMPL and M-AFLP in order to assess the clonal selection of grapevine: the case study of Manto Negro, Callet and Moll, autochthonous cultivars of Majorca. *Annals of applied biology*, 157(2), 213-227.

Dai, L., Wang, D., Xie, X., Zhang, C., Wang, X., Xu, Y., ... & Zhang, J. (2016). The novel gene *VpPR4-1* from *Vitis pseudoreticulata* increases powdery mildew resistance in transgenic *Vitis vinifera* L. *Frontiers in Plant Science*, 7, 695.

De la Rosa, L., Martín, I., & Guash, L. [en línia] 2022 [consulta: 18 maig 2023] Los recursos fitogenéticos en la base de la innovación varietal vegetal: la red de bancos españoles. Disponible a: <https://www.plataformatierra.es/innovacion/los-recursos-fitogeneticos/>

Di Vecchi-Staraz, M., Laucou, V., Bruno, G., Lacombe, T., Gerber, S., Bourse, T., ... & This, P. (2009). Low level of pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris*. *Journal of Heredity*, 100(1), 66-75.

Enrique Barajas Toma [en línia] 25 juny 2022 [consulta: 23 agosto 2023] Variedades de vid PIWI. ¿Qué son y qué posibilidades nos brindan? Disponible a: <https://www.campocyl.es/vinedo/variedades-de-vid-piwi-que-son-y-que-posibilidades-nos-brindan/>

Ensembl Plants s.f. [en línia] [consulta: 25 maig 2023] Disponible a: <https://plants.ensembl.org/index.html>

Faure, O., Aarouf, J., & Nougarede, A. (1996). Ontogenesis, differentiation and precocious germination in anther-derived somatic embryos of grapevine (*Vitis vinifera* L.): proembryogenesis. *Annals of Botany*, 78(1), 23-28.

Ferrandino, A., & Lovisolo, C. (2014). Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid-mediated consequences on secondary metabolism and berry quality. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 138-147.

Focus OIV, International Organization of Vine and Wine [en línia] 2017 [consulta: 7 abril 2023] Distribution of the world's grapevine varieties. Disponible a: <https://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties.pdf>

Franks, T., Botta, R., Thomas, M. R., & Franks, J. (2002). Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 192-199.

Frioni, T., Bertoloni, G., Squeri, C., Garavani, A., Ronney, L., Poni, S., & Gatti, M. (2020). Biodiversity of local *Vitis vinifera* L. germplasm: A powerful tool toward adaptation to global warming and desired grape composition. *Frontiers in Plant Science*, 11, 608.

García de Lujan, A., Puertas, B., Lara M. (1997) Variedades de Vid en Andalucía. Dirección general de investigación y extensión agrarias, Sevilla, Espanya.

García, R. A. A., Cantos, M., Benítez, M. L., Martínez, M. A. L., Cano, A. G., Pérez, C. A. O., ... & Rubio, R. O. (2016). Characterization of the largest relic Eurasian wild grapevine reservoir in Southern Iberian Peninsula. *Spanish journal of agricultural research*, 14(3), 16.

Giralda-Arellano, M., & Barrios-Acosta, D. (2021). Empleo de levaduras nativas como agentes de biocontrol de hongos fitopatógenos en uva (*Vitis vinifera subsp. vinifera* L.). *Journal of Microbiology & Health Education*, 3(1), 85-91.

Ibáñez, J., Carreño, J., Yuste, J., & Martínez-Zapater, J. M. (2015). Grapevine breeding and clonal selection programmes in Spain. *Grapevine breeding programs for the wine industry*, 183-209. Elsevier, La Rioja.

InfoWine: Internet Journal of Viticulture and Oenology. (s. f.). [en línia] [consulta: 22 juny 2023] Disponible a: <https://www.infowine.com/en/default.asp>

Jean Leon [en línia] 19 abril 2017 [consulta: 18 maig 2023] Disponible a: <https://www.jeanleon.com/variedades-y-hectareas-una-a-una/>

Julio Prieto [en línia] 17 octubre 2015 [consulta: 18 maig 2023] Selección massal de vides para viñedos top. Disponible a: <https://julioprieto.es/seleccion-masal-de-vides-para-vinedos-top/>

Keller, M. (2015). Environmental constraints and stress physiology. The science of grapevine: anatomy and physiology, 2nd ed. Elsevier/Academic Press: London, 267-341.

Keller, M. (2020). The science of grapevines. Academic press: London

Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne, F., Siret, R., Bruno, J. P., Dessup, M., ... & This, P. (2011). High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. Theoretical and applied genetics, 122(6), 1233-1245.

Li, M. Y., Jiao, Y. T., Wang, Y. T., Zhang, N., Wang, B. B., Liu, R. Q., ... & Liu, G. T. (2020). CRISPR/Cas9-mediated VvPR4b editing decreases downy mildew resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L.). Horticulture research, 7.

Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Reisch, B. I., & Daly, M. J. (1995). A molecular marker based linkage map of *Vitis*. Genome, 38(4), 786-794.

Long, L. (1987) Les épaves du Grand-Congloué: étude du journal de fouille de Fernand Benoit. Archéonautica 7, 9–36

Los recursos fitogenéticos en la base de la innovación varietal vegetal: la red de bancos españoles [en línia] 16 març 2022 [consulta: 21 maig 2023] Disponible a: <https://www.plataformatierra.es/innovacion/los-recursos-fitogeneticos/>

Madrid Caviedes, G. P. (2018). Desarrollo de un vector viral para la edición génica mediante CRISPR/Cas9 en *Vitis vinifera*. Tesis pregrado, Consorcio Biofrutales y CORFO-Chile 13CTI-21520-SP7 y Laboratorio de Biotecnología INIA, La Platina

Magris, G., Jurman, I., Fornasiero, A., Paparelli, E., Schwöpe, R., Marroni, F., ... & Morgante, M. (2021). The genomes of 204 *Vitis vinifera* accessions reveal the origin of European wine grapes. Nature Communications, 12(1), 7240.

Manual, E., Topfer, R. and Eibach, R. [en línia] 2008 [consulta: 18 juny 2023] Vitis International Variety Catalogue. Disponible a: <http://www.vivc.de>

MAPA (Ministeri de Agricultura, pesca i alimentació) [en línia] [consulta: 18 juliol 2023] Disponible a: <https://www.mapa.gob.es/es/default.aspx>

Marcotrigiano, M., & Bernatzky, R. (1995). Arrangement of cell layers in the shoot apical meristems of periclinal chimeras influences cell fate. The Plant Journal, 7(2), 193-202.

Marinval, P. (1997) Vigne sauvage et Vigne cultivée dans le Bassin méditerranéen: Emergence de la viticulture – Contribution archéobotanique. In L'Histoire du Vin, une Histoire de Rites (Office International de la Vigne et du Vin, eds), pp. 137–172, Salomon

Martín, J. P., Borrego, J., Cabello, F., & Ortiz, J. M. (2003). Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome*, 46(1), 10-18.

McGovern, P.E. (2004) *Ancient wine: the search for the origins of viniculture*. Princeton University Press. Princeton, EEUU.

Miguel, J., & Zapater, M. (2006). Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology*, 15, 3707–3714.

Minio, A., Cochetel, N., Vondras, A. M., Massonnet, M., & Cantu, D. (2022). Assembly of complete diploid-phased chromosomes from draft genome sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 12(8), jkac143.

Minio, A., Massonnet, M., Figueroa-Balderas, R., Vondras, A. M., Blanco-Ulate, B., & Cantu, D. (2019). Iso-Seq allows genome-independent transcriptome profiling of grape berry development. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(3), 755-767.)

Moreno, I. P. (2002). La filoxera o el invasor que vino de América. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 30, 218-220.

Muñoz, S. S. [en línia] 2010 [consulta: 10 maig 2023] Caracterización molecular y funcional de genes que codifican proteínas de choque térmico de plantas bajo condiciones de estrés abiótico. Disponible a: <http://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1010/690>

Ocete, C. A., Ocete, R., Ayala, M. D. G., Del Río, J. C., Lara, M., Hidalgo, J., Valle, J. W. F., & Miranda, Á. R. (2020). Microvinifications in wild grapevine relic populations of Spain and France. *Munibe Ciencias Naturales. Natur Zientziak*, 68.

Ocete, R., & Lara, M. (1994). Consideraciones sobre la ausencia de síntomas de ataque por filoxera en poblaciones autóctonas de *Vitis vinifera silvestris* (Gmelin) Hegi. *Bol. San. Veg. Plagas*, 20(3), 631-636.

Palombi, M., & Damiano, C. (2002). Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Reports*, 20, 1061-1066.

Pouget, R. (1988) *Vitis vinifera*, histoire et évolution. La vigne et le vin. La Manufacture et la Cité des sciences et de l'industrie, (eds.), pp. 15–25, Graficas.

Prado M.J., Rodriguez E., Rey L., Gonzalez M.V., Santos C., Rey M. (2010) Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 10:349-359.

Predieri, S. (2001). Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant cell, tissue and organ culture*, 64(2-3), 185-210.

Riaz, S., Garrison, K. E., Dangl, G. S., Boursiquot, J. M., & Meredith, C. P. (2002). Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(4), 508-514.

Santiago, J. L., González, I., Gago, P., Alonso-Villaverde, V., Boso, S., & Martínez, M. C. (2008). Identification of and relationships among a number of teinturier grapevines that expanded across Europe in the early 20th century. *Australian journal of grape and wine research*, 14(3), 223-229.

Sefc, K.M. et al. (2001) Microsatellite markers for grapevine: a state of art. *Molecular Biology & Biotechnology of Grapevine* (Roubelakis-Angelakis, K.A., eds), pp. 433–463, Kluwer Academic Publishers.

Shi, X., Cao, S., Wang, X., Huang, S., Wang, Y., Liu, Z., ... & Zhou, Y. (2023). The complete reference genome for grapevine (*Vitis vinifera* L.) genetics and breeding. *Horticulture Research*, 10(05), uhad061.

Stamp J.A., Colby S.M., Meredith C.P., (1990) - Improved shoot organogenesis from leaves of grape. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115, 1038- 1042.

Tecnovino [en línia] març 2018 [consulta: 3 juliol 2023] Las variedades de uva más cultivadas en el mundo: ranking, tendencias y más. Disponible a: <https://www.tecnovino.com/las-variedades-de-uva-mas-cultivadas-en-el-mundo-ranking-tendencias-y-mas/>

Terral, J.F. (2002) Quantitative anatomical criteria for discriminating wild grapevine (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) from cultivated vines (*Vitis vinifera* ssp. *vinifera*). *British Archaeological Reports, International Series 1063*, 59–64

This, P., Lacombe, T., & Thomas, M. R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *TRENDS in Genetics*, 22(9), 511-519.

Thompson, M. M., & Olmo, H. P. (1963). Cytohistological studies of cytochimeric and tetraploid grapes. *American Journal of Botany*, 50(9), 901-906.

Thorpe T.A., (1980) Organogenesis in vitro: structural, physiological, and biochemical aspects. *Int. Rev. Cytol. Suppl.*, 11, 71–111.

Torregrosa, L., Fernandez, L., Bouquet, A., Boursiquot, J. M., Pelsy, F., & Martínez-Zapater, J. M. (2011). Origins and consequences of somatic variation in grapevine. *Genetics, genomics, and breeding of grapes*, 68, 92.

Tu, M., Fang, J., Zhao, R., Liu, X., Yin, W., Wang, Y., ... & Fang, Y. (2022). CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of VvbZIP36 promotes anthocyanin accumulation in grapevine (*Vitis vinifera*). *Horticulture Research*, 9, uhac022.

Vicens et al., Va de Vi, Catalunya i les 59 varietats [en línia] 30 gener 2023 [consulta: 18 maig 2023] Disponible a: <https://vadevi.elmon.cat/reportatges/catalunya-i-les-59-varietats-85879/>

Vitis vinifera [en línia] [consulta: 22 maig 2023] Disponible a: https://plants.ensembl.org/Vitis_vinifera/Location/Genome?r=4:8016530-8116530

Walter, K. S., & Gillett, H. J. (Eds.). (1998). 1997 IUCN red list of threatened plants. IUCN.

Zhou, Y., Minio, A., Massonnet, M., Solares, E., Lv, Y., Beridze, T., ... & Gaut, B. S. (2019). The population genetics of structural variants in grapevine domestication. *Nature plants*, 5(9), 965-979.

Zhu, J., Guo, Y., Su, K., Liu, Z., Ren, Z., Li, K., & Guo, X. (2018). Construction of a highly saturated genetic map for Vitis by next-generation restriction site-associated DNA sequencing. *BMC plant biology*, 18, 1-12.

Zottini, M., Barizza, E., Costa, A., Formentin, E., Ruberti, C., Carimi, F., & Lo Schiavo, F. (2008). Agroinfiltration of grapevine leaves for fast transient assays of gene expression and for long-term production of stable transformed cells. *Plant Cell Reports*, 27, 845-853.