

## ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE VID EN EL PRINCIPADO DE ASTURIAS MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITE

**P. Moreno-Sanz\*, B. Suárez y M.D. Loureiro**

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA)

Área de Tecnología de los Alimentos. Apdo. 13, 33300 – Villaviciosa, Asturias, España.

\*e-mail:paums@serida.org

**Palabras clave:** Asturias, cultivar, germoplasma, SSR, *Vitis vinifera*.

### Resumen

El abandono sufrido por el viñedo asturiano durante el siglo XX ha reducido la extensión de este cultivo a poco más de 100 ha en la actualidad, provocando la pérdida de diversidad genética y la existencia de una gran confusión varietal. Con el fin de estudiar el patrimonio genético vitícola del Principado de Asturias, se procedió a su caracterización mediante el análisis de 6 marcadores microsatélite (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 y VrZAG79). El análisis reveló 44 genotipos diferentes, 17 de los cuales aún no han sido identificados.

### INTRODUCCIÓN

El ataque filoxérico y el posterior auge de la minería han reducido la superficie de viñedo cultivada en el Principado de Asturias de 5.500 ha existentes a mediados del siglo XIX a las 100 ha actuales (Feo, 1986). Este hecho ha provocado una importante erosión genética y gran confusión varietal. El cese de la minería ha originado que la viticultura vuelva a adquirir interés como recurso económico. Con objeto de esclarecer el panorama varietal asturiano, y garantizar un mejor control de los cultivares empleados en la elaboración de los vinos acogidos a la denominación *Vino de la Tierra de Cangas*, se realizó, durante los años 2005 a 2007, la prospección de cultivares de vid (*Vitis vinifera* L.) en el Principado de Asturias. En este trabajo se muestran los resultados de la caracterización molecular mediante 6 marcadores microsatélite de los ejemplares prospectados.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se aisló el ADN de 233 cepas a partir de hoja joven usando el kit de extracción DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen). Se analizaron 6 marcadores microsatélite, considerados internacionalmente como los más apropiados para la identificación de cultivares de vid (Proyecto europeo GENRES 081, <http://www.genres.de/vitis/>): VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 y VrZAG79. Para la mezcla de PCR se siguió el protocolo descrito por García-Beneytez et al. (2002) con las siguientes modificaciones: 0,06  $\mu$ M de VVS2 y 0,1  $\mu$ M de VVMD7 y VrZAG62. El ciclo de PCR utilizado fue el descrito por Martín et al. (2003) añadiéndole un último ciclo de 90 min a 65°C. El análisis de fragmentos se realizó en un secuenciador ABI PRISM 3100 y se empleó el software de análisis Peak Scanner (Applied Biosystems) para la lectura de los resultados.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis microsatélite de las 233 cepas reveló 44 genotipos distintos. Se identificaron 27 cultivares (Tabla 1), 24 de ellos mediante comparación con los perfiles de la base de datos del Banco Nacional de Germoplasma de Vid de El Encín; los otros tres, ‘Amor-nao-me-deixes’, ‘Furmint’ y ‘Teta de Cabra’, cotejándolos con perfiles obtenidos por el Dpto. de Biología Vegetal de

la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid (J. Ortiz, com. pers.). Un 25,9% de los cultivares identificados son de origen francés ('Alicante Bouschet', 'Cabernet Sauvignon', 'Savagnin Blanc', 'Chasselas Doré', 'Chasselas Rosé', 'Petit Bouschet' y 'Morrastel-Bouschet'), indicativo de que los técnicos franceses que ayudaron en la recuperación del viñedo tras la crisis filoxérica introdujeron algunos cultivares en la región. Los 17 genotipos no identificados se siguen cotejando con otras bases de datos.

## REFERENCIAS

- Feo, F. 1986. El viñedo en Asturias: cultivo marginal en vías de extinción. Boletín del Real Instituto de Estudios Asturianos. Año nº 40, 118: 589-610.
- García-Beneytez, E.; Moreno-Arribas, M.V.; Borrego, J.; Polo, M.C. and Ibáñez, J. 2002. Application of a DNA analysis method for the cultivar identification of grape musts and experimental and commercial wines of *Vitis vinifera* L. using microsatellite markers. J. Agric. Food. Chem. 50: 6090-6096.
- Martín, J.P.; Borrego, J.; Cabello, F. and Ortiz, J.M. 2003. Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. Genome 46: 10-18.

Tabla 1. Cultivares identificados y perfiles microsatélite correspondientes

Cultivar	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	VrZAG62	VrZAG79
Albarín Blanco	128 147	219 236	239 257	177 185	184 192	245 247
Albarín Tinto	138 147	223 236	253 257	175 185	186 198	251 251
Albillo / Chasselas Doré	128 138	225 234	239 247	181 185	192 202	251 259
Amor-nao-me-deixes	128 138	232 232	239 243	177 190	186 194	243 257
Cabernet Sauvignon	134 147	230 238	239 239	172 185	186 192	247 247
Carrasquin	138 147	223 236	239 257	175 185	186 192	251 251
Chasselas Rosé	128 138	225 234	239 247	181 185	192 202	251 259
Cigüente	132 147	219 232	239 249	177 177	184 202	247 247
De José Blanco	120 128	225 225	247 255	181 181	179 202	249 249 <sup>1</sup>
Furmint	128 149	223 238	239 249	175 190	186 202	236 249
Garnacha Tintorera / Alicante Bouschet	128 140	223 236	239 243	177 190 <sup>2</sup>	186 186	243 257
Garnacho / Morrastel-Bouschet	134 147	223 232	239 243	177 179	186 186	243 259
Godello	147 153	223 236	239 243	181 185	184 186	251 251
Italia	128 145	230 236	243 247	175 175 <sup>3</sup>	190 202	255 257
Lairén	128 140	225 236	239 247	181 190 <sup>1</sup>	184 192	239 257
Mandón	138 147	223 238	239 239	179 190	184 186	257 259
Mencia	140 147	223 234	249 257	177 185	186 192	247 251
Moscatel blanco de grano menudo	128 128	225 234	233 249	175 190	184 194	251 255
Moscatel rojo	128 128	225 234	233 249	175 190	184 194	251 255
Mouratón	132 147	232 236	249 257	177 185	186 202	247 251
Negrón de Aldán /Petit Bouschet	128 147	232 236	239 243	177 185	186 194	243 245
Palomino	128 140	225 238	239 249	181 190	186 192	251 257
Rosetti	128 130	223 228	239 249	181 181	184 186	243 251
Savagnin Blanc	147 147	230 236	243 257	185 185	186 192	245 251
Sumoll	128 140	223 238	243 249	175 177	184 186	247 261
Tempranillo	138 140	234 234	239 253	179 179	194 198	247 251
Verdejo Tinto	138 147	236 236	239 257	172 185	186 186	245 247

1 Probable alelo nulo. Locus heterocigoto en la base de datos consultada

2 Probable alelo nulo en el 50% de los individuos que presentaron este perfil, siendo homocigotos para este locus (177:177)

3 Probable alelo nulo en el 33% de los individuos que presentaron este perfil, siendo homocigotos para este locus (181:181)