

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN MEJORAMIENTO GENÉTICO  
DE PLANTAS**



**“CARACTERIZACIÓN AMPELOGRÁFICA Y  
MOLECULAR DE LAS ACCESIONES DE VID (*Vitis  
vinífera* L.) PARA LA PRODUCCIÓN DE PISCO”**

**Presentada por:**

**AYBEL ALMANZA CANO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER  
SCIENTIAE EN MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

**Lima - Perú**

**2020**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN MEJORAMIENTO GENETICO  
DE PLANTAS**

**“CARACTERIZACIÓN AMPELOGRÁFICA Y  
MOLECULAR DE LAS ACCESIONES DE VID (*Vitis vinífera*  
L.) PARA LA PRODUCCION DE PISCO”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**AYBEL ALMANZA CANO**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Dr. Javier Arias Carbajal  
**PRESIDENTE**

Dr. Raúl Blas Sevillano  
**ASESOR**

Mg. Sc. Lourdes Tapia Figueroa  
**MIEMBRO**

Mg. Sc. Julián Chura Chuquija  
**MIEMBRO**

*A Dios por darme vida, salud y sabiduría a lo largo de este camino.*

*A mis padres Isabel y Atilio, por haberme forjado como la persona que soy, muchos de mis logros se los debo a ellos.*

*A mi niño Lucca, lo más bonito que me ha dado la vida, por ser mi inspiración, espero ser tu ejemplo de superación.*

*A mi esposo Gino Catturini, por estar a mi lado en esta etapa, por brindarme apoyo y comprensión para seguir adelante en mis propósitos.*

*A mis hermanos Dabely, Sofía, Ronal y Sorelia por estar ahí para mí, siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco de manera especial al Dr. Raúl Blas Sevillano, Asesor de la tesis, por haberme brindado todo su apoyo durante este proceso, que a pesar de los obstáculos me motivó para seguir adelante y valió la pena.

A la Mg. Sc. María Del Rocío Torres, del INTA de Mendoza - Argentina, por sus enseñanzas, consejos y paciencia, todo el apoyo que recibí de su parte es invaluable, a ti, mi eterno agradecimiento.

Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria la Molina, por abrirme sus puertas, a los investigadores del IBT, compañeros, colegas, amigos sobre todo por los ánimos que me han dado a lo largo de esta investigación.

Al CITEagroindustrial, por las facilidades dadas para la toma de muestras en la Colección Ampelográfica.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
	2.1 LA VID .....	5
	2.1.1 ORIGEN DE LA VID.....	5
	2.1.2 CLASIFICACIÓN Y TAXONOMÍA.....	10
	2.1.3 BIOLOGÍA DEL CULTIVO .....	12
	2.1.4 MORFOLOGÍA DE LA VID .....	16
	2.1.5 DIVERSIDAD VARIETAL DE LA VID .....	23
	2.2 PRODUCCIÓN AGRÍCOLA DE LA VID .....	26
	2.3 EL PISCO .....	28
	2.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE LA VID.....	30
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>36</b>
	3.1 UBICACIÓN .....	36
	3.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA .....	37
	3.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.....	39
	3.4 ANÁLISIS DE DATOS .....	47
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>50</b>
	4.1. CARACTERIZACION MORFOLÓGICA .....	50
	4.2 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.....	60
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>79</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>81</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>82</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>96</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema Pedigrí y relación parental de cultivares criollos mostrando cultivares Europeos .....	9
<b>Figura 2.</b> Ciclo reproductivo de la vid .....	14
<b>Figura 3.</b> Tipos de flores en <i>Vitis vinifera</i> L.....	16
<b>Figura 4.</b> Morfología de la vid.....	17
<b>Figura 5.</b> Sistema radicular de la vid .....	17
<b>Figura 6.</b> Morfología de la hoja de la vid .....	18
<b>Figura 7.</b> Morfología de la hoja joven y adulta, sumidad y racimo de la vid .....	19
<b>Figura 8.</b> Morfología del racimo.....	21
<b>Figura 9.</b> Diferencias morfológicas (hoja, flor, racimo y semilla) entre las dos subespecies de <i>Vitis vinifera</i> L.....	23
<b>Figura 10.</b> Mapa del Ámbito Geográfico de la Denominación de Origen Pisco .....	36
<b>Figura 11.</b> Calidad de ADN de las “variedades pisqueras” a través del método de minigel.....	41
<b>Figura 12.</b> Estandarización de concentraciones de marcadores microsatelites para las “variedades pisqueras”.....	42
<b>Figura 13.</b> Electroforesis de prueba con el iniciador VVDM5 para las ocho “variedades pisqueras”. .....	43
<b>Figura 14.</b> Distribución de los zarcillos consecutivos en <i>Vitis vinifera</i> L. ....	51
<b>Figura 15.</b> Distribución de los zarcillos consecutivos en no <i>Vitis vinifera</i> L. ....	51
<b>Figura 16.</b> Forma de la hoja adulta. ....	51
<b>Figura 17.</b> Morfología de racimos y color de las bayas.....	54

<b>Figura 18.</b> Dendograma de los resultados de ampelografía de las “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” con el método UPGMA y medida con la distancia Euclídea. .....	59
<b>Figura 19.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVS2. ....	62
<b>Figura 20.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD5.....	62
<b>Figura 21.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD7.....	63
<b>Figura 22.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD25.....	63
<b>Figura 23.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD27.....	64
<b>Figura 24.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD28.....	64
<b>Figura 25.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VVMD32.....	65
<b>Figura 26.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VrZAG62.....	65
<b>Figura 27.</b> Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “ <i>Variedades Pisqueras</i> ” y analizados con el marcador VrZAG79.....	66
<b>Figura 28.</b> Dendograma de agrupamiento Jerárquico de nueve microsatelites con el método UPGMA y medida con la distancia Jaccard aplicados a las variedades pisqueras.....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Principales diferencias morfológicas entre las dos subespecies de <i>Vitis vinifera</i> L. ....	22
<b>Tabla 2.</b> Lista de las variedades pisqueras, origen, sinonimias y posibles parentales. ....	37
<b>Tabla 3.</b> Lista Prioritaria de Descriptores Primarios OIV .....	38
<b>Tabla 4.</b> Cuantificación del ADN de las “ <i>variedades pisqueras</i> ” mediante espectrofotometría .....	40
<b>Tabla 5.</b> Volumen de reacción PCR (Concentraciones finales).....	42
<b>Tabla 6.</b> Iniciadores empleados para la caracterización molecular de las “ <i>variedades pisqueras.</i> ” .....	44
<b>Tabla 7.</b> Variables ampelográficas de las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	50
<b>Tabla 8.</b> Variables ampelográficas diferenciales de las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ”. ..	57
<b>Tabla 9.</b> Alelos y frecuencias alélicas para 9 loci de microsatélites en las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	61
<b>Tabla 10.</b> Genotipos observados y obtenidos con 9 iniciadores microsatélites en 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	67
<b>Tabla 11.</b> Parámetros genéticos obtenidos a partir del análisis de 9 loci microsatélites en las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	69
<b>Tabla 12.</b> Alelos y frecuencias alélicas para 8 loci de microsatélites en 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	72
<b>Tabla 13.</b> Tamaño de alelos en pares de bases (pb), por variedad, para los 8 loci microsatélites .....	73
<b>Tabla 14.</b> Principales características de cada accesión y la comparación de los perfiles genéticos obtenidos con 8 loci microsatelite y los perfiles	



genéticos de Vitis International Variety VIVC .....	75
<b>Tabla 15.</b> Caracterización alélica de los loci SSR evaluadas en las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ” del CITEagroindustrial .....	76
<b>Tabla 16.</b> Alélos únicos en las “ <i>variedades pisqueras</i> ” .....	76
<b>Tabla 17.</b> Parámetros genéticos calculados a partir del análisis de 8 loci microsatélites en las 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ”. .....	77

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	Registro de caracteres morfológicos de 8 “ <i>variedades pisqueras</i> ”.....	96
<b>Anexo 2.</b>	Análisis de frecuencia única para las variables Ampelograficas de las <i>variedades pisqueras</i> . .....	99
<b>Anexo 3.</b>	Gráficos del Análisis de frecuencia única para las variables diferenciales Ampelográficas de las <i>variedades pisqueras</i> . .....	104
<b>Anexo 4.</b>	Registro de alelos para nueve marcadores microsatelites en “ <i>Variedades pisqueras</i> ” mediante tinción con nitrato de plata.....	108
<b>Anexo 5.</b>	Registro de alelos para ocho marcadores microsatelites en “ <i>Variedades pisqueras</i> ” mediante electroforesis capilar .....	38

## RESUMEN

El Pisco es una bebida peruana de gran importancia cultural y económica, elaborado con variedades criollas denominadas *uvas pisqueras*. El objetivo principal de esta investigación fue diferenciar e identificar sinonimias y homonimias de las ocho variedades (Quebranta, Moscatel, Italia, Torontel, Mollar, Negra criolla, Albilla y Uvina) utilizadas para la producción de Pisco en el Perú. Para ello, se evaluaron accesiones conservadas en el CITEagroindustrial de Ica, usando 14 descriptores ampelográficos, 9 *loci* SSR estandarizados y las bases de datos VIVC. Según el análisis de frecuencia única, se determinaron 7 variables ampelográficas distintivas que permitieron la diferenciación entre las variedades (la apertura de la extremidad de los pámpanos, densidad de los pelos erguidos de la extremidad, número de zarcillos consecutivos, número de lóbulos, forma del limbo de las hojas adultas, la distribución de la pigmentación antocianina de los nervios principales del haz del limbo y forma de los dientes). Por otro lado, el número de alelos microsatélite detectados por *locus* varió de 4 a 8 con un total de 49 alelos y el iniciador más informativo fue VrZAG79 mientras que el menos informativo fue VVMD7. Mediante el análisis comparativo con las variedades registradas en la base de datos VIVC se confirmó que únicamente las variedades Quebranta, Italia, Mollar, Negra criolla, Albilla y Uvina correspondían a variedades ya identificadas y registradas en el VIVC. Adicionalmente, la variedad Moscatel fue identificada como un clon de Listan Prieto con variaciones fenotípicas. Finalmente, la variedad Torontel respondió a un genotipo reportado con el mismo nombre en la base de datos del INIA – Chile. El análisis de agrupamiento de los perfiles SSR de la caracterización molecular, ha permitido diferenciar a Uvina a un coeficiente de similitud de 0.23, de las variedades Mollar, Quebranta, Negra criolla, Torontel, Italia, Moscatel y Albilla, pertenecientes a la especie *Vitis vinífera* L. Estos resultados permitieron determinar la identidad de las variedades pisqueras lo que podría contribuir a la producción de plantas certificadas genéticamente, siendo importante para la mejora de calidad y estandarización de la producción del Pisco en el Perú.

*Palabras clave:* variedades pisqueras, ampelografía, SSR, *Vitis vinífera* L., Uvina, Pisco.

## SUMMARY

Pisco is a Peruvian drink of great cultural and economic importance, made from local varieties called *pisqueras* grapes. The main objective of this research was to differentiate and identify synonyms and homonyms of the eight varieties (Quebranta, Moscatel, Italia, Torontel, Mollar, Negra criolla, Albilla and Uvina) used for the production of Pisco in Peru. For this purpose, the accessions holding in the CITEagroindustrial of Ica were evaluated, using 14 Ampelographic descriptors, 9 standardized SSR loci and VIVC databases. According to the single frequency analysis, 7 distinctive Ampelographic variables were determined that allowed differentiation between the varieties (the opening of the branches tip, density of the upright hairs on the tip, number of consecutive tendrils, number of lobes, shape of the leaf blade of the adult leaves, the distribution of the anthocyanin pigmentation of the main nerves of the blade bundle and leaf tooth shape). On the other hand, the number of microsatellite alleles detected by locus ranged from 4 to 8 with a total of 49 alleles and the more informative primer was VrZAG79 while the less informative was VVMD7. Through comparative analysis with the varieties registered in the VIVC database, it was confirmed that only the varieties Quebranta, Italia, Mollar, Negra Criolla, Albilla and Uvina corresponded to varieties already identified and registered in the VIVC. Additionally, the Muscat variety was identified as a Listan Prieto clone with phenotypic variations. Finally, the variety Torontel responded to a genotype reported with the same name in the database of INIA - Chile. The cluster analysis of the molecular characterization of SSR profiles, allowed differentiating Uvina at a similarity coefficient of 0.23, from the varieties Mollar, Quebranta, Negra criolla, Torontel, Italia, Moscatel and Albilla, belonging to the species *Vitis vinifera* L. These results allowed determining the identity of the Pisco varieties, which could contribute to the production of genetically certified plants, being important for the improvement of quality and standardization of Pisco production in Peru.

*Keywords:* *pisqueras* grapes, ampelography, SSR, *Vitis vinifera* L., Uvina, Pisco

## I. INTRODUCCIÓN

El Pisco es una bebida peruana de gran importancia cultural y económica elaborado con ocho variedades de uva criolla (CENTRUM Católica 2013). Estas fueron introducidas por los españoles posiblemente en forma de estacas y semilla sexual, y a lo largo de los años habría dado lugar a una gran diversidad intra-varietal, producidas probablemente debido a “*hibridaciones naturales*” o “*variaciones somáticas*”, ésta última son variaciones morfológicas o fisiológicas espontaneas por la aparición de mutaciones asociadas a la proliferación celular en la parte vegetativa de la planta, principalmente durante la propagación vegetativa (Carbonell-Bejerano *et al.* 2017).

El valle de Ica está ubicado en la costa sur del Perú, en el periodo de la colonia fue la más importante zona de producción vitivinícola, donde sus condiciones agroecológicas optimas permitían una producción de vinos de gran calidad que podía competir con los importados de España; por lo cual se convirtió en la mayor zona de elaboración del “*aguardiente de Pisco*” (Huertas 2004). De acuerdo a los documentos escritos por cronistas de la Colonia, las plantas de vid fueron introducidas a los valles costeros peruanos desde las Islas Canarias por los misioneros Jesuitas y conquistadores españoles con motivos religiosos, económicos y culturales, a mediados del siglo XVI (Morón 2017).

Las primeras variedades de vid fueron introducidas por el puerto pesquero de Pisco (Martínez *et al.* 2006), estas fueron vides de color negro claro y predominó en los viñedos de esa época la variedad Quebranta, conocida como la primera variedad criolla mejor adaptada, por sus condiciones particulares para producir Pisco y por ello denominada uva emblemática del Perú. A inicios del siglo XVII, ya existían variedades blancas, albillas, mollares, y moscateles (Soldi 2006). En el siglo XVIII se alcanzó el apogeo de la exportación del aguardiente de uva desde el puerto de Pisco, siendo

comercializado en territorios de dominio español; posteriormente, a partir de 1764 el nombre “*aguardiente de Pisco*” se denominó como “Pisco” (Lacoste 2004). El pisco tuvo un gran reconocimiento por la calidad de su producto entre el siglo XIX e inicios del siglo XX, no solo en el Perú, sino también en países como Estados Unidos de América, donde en la época de la “fiebre del oro” en California fue uno de los insumos principales de los bares de la ciudad de San Francisco, específicamente para el coctel conocido como “Pisco Punch”, elaborado a partir de Pisco de la variedad “Italia” (Toro-Lira y Zapata 2008).

Las variedades que se utilizan para producir Pisco son denominadas “*variedades pisqueras*”, y están clasificadas como no aromáticas la Quebranta, Mollar, Negra criolla, Uvina; y como aromáticas la Moscatel, Italia, Torontel, y Albilla; cultivadas en las zonas con Denominación de Origen (D.O.) Pisco. Las zonas con esta denominación de origen según la “Norma Técnica NTP 211.014. 2017” incluyen los departamentos de Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna.

Actualmente, existe incertidumbre respecto al origen de estas variedades en el Perú, por la introducción de nuevas variedades al país, debido a que no se mantuvieron los nombres originales de las variedades, ni existen registros del lugar de procedencia de las mismas, creando así confusión respecto de la identidad de estas variantes de clones. En este sentido, para el caso de las variedades Quebranta, Italia, Moscatel, Negra criolla, Mollar, Torontel, Albilla y la Uvina’, determinando los caracteres ampelográficas y moleculares de ellas, permitirían diferenciarlas e identificar su procedencia, así como conocer el perfil genético y la similitud con sus parentales provenientes de Europa.

El término Ampelografía proviene de dos palabras griegas Ampelo “vid” + grafía “descripción”, es la ciencia que se encarga de la clasificación e identificación de las vides basado en descripciones cualitativas sistematizadas y criterios morfológicos, evaluados en los órganos (pámpanos, flores, hojas jóvenes, hojas adultas, racimos, bayas y sarmientos) de los diferentes estados fenológicos de la vid (OIV 2009).

Antiguamente en viticultura la vid sólo se diferenciaba mediante las evaluaciones ampelográficas, ahora existen varios métodos moleculares basados en el análisis del

genoma evitando la influencia de efectos ambientales. Los marcadores moleculares han demostrado ser una herramienta valiosa para organizar y gestionar colecciones de germoplasma, identificar genotipos y estudiar las relaciones parentales entre diferentes cultivares. Entre los diferentes marcadores moleculares, los microsatélites se han utilizado ampliamente para estudiar la vid, incluidos los cultivares americanos (Agüero *et al.* 2003, Martínez *et al.* 2006, This *et al.* 2006, Milla-Tapia *et al.* 2013).

Inicialmente, la vid se identificaba en base a análisis ampelográficos, en cambio ahora existen diversos métodos moleculares basados en PCR y a través de ellos, el análisis genético de las plantas a partir del ADN, evitando así el efecto ambiental.

El Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica Agroindustrial de Ica (CITEagroindustrial), anteriormente Centro de Innovación Tecnológica Vitivinícola (CITEvid); en la década de los 90, realizó una prospección recolectando accesiones de vides provenientes de las diferentes zonas con denominación de origen Pisco, para la conformación de la colección de germoplasma de vid, siendo ésta la más representativa del país. Actualmente cuenta con alrededor de 70 variedades de vid cuyos usos tienen diferentes aplicaciones, entre ellas portainjertos, uvas de mesa, uvas de vino, uvas de pasas y las ocho variedades descritas para la producción de Pisco.

Para el presente estudio, la diferenciación de las “*variedades pisqueras*” conservadas en la colección ampelográfica del CITEagroindustrial de Ica, fue realizada mediante caracterización ampelográfica en función a la “Lista prioritaria de descriptores primarios” establecidas en la segunda edición de la lista de descriptores OIV (Organización de la Viña y el Vino), de variedades de vid y especies de *Vitis* (OIV 2009); complementariamente, el análisis a nivel molecular se ejecutó con nueve marcadores SSR (Repeticiones de secuencia simple), siendo el método mayormente aplicado y eficiente para este tipo de análisis en los últimos años. Este conjunto de marcadores SSR, fueron estandarizados y registrados en bases de datos de alcance mundial, por lo tanto, para esta tesis el análisis comparativo de los patrones genéticos obtenidos, se aplicó usando la base de datos del VIVC (*Vitis International Variety Catalogue*).

Por lo descrito anteriormente, la importancia del Pisco en el Perú no solo radica

en lo económico, sino también por la tradición, cultura y la denominación de origen alcanzada que la diferencia de otros destilados a nivel internacional; por tanto, es esencial la caracterización ampelográfica y molecular para establecer su trazabilidad en la comercialización desde plántones, frutos y hasta los productos derivados a partir de éstos, lo que garantizarán la calidad del producto y confianza de los consumidores. Por ello, se plantearon los siguientes objetivos:

## **OBJETIVOS**

### **General:**

Diferenciar las accesiones de las variedades pisqueras (*Vitis vinífera* L.) en el Perú, conservadas en el CITEagroindustrial de Ica, para promover una producción certificada de plántones con fines de mejoramiento de la calidad del Pisco.

### **Específicos:**

- ❖ Caracterizar morfológicamente las accesiones de vides pisqueras de la colección del CITEagroindustrial de Ica, mediante Ampelografía de acuerdo a la lista prioritaria de descriptores primarios (OIV).
- ❖ Caracterizar molecularmente las accesiones de vides pisqueras del CITEagroindustrial mediante marcadores moleculares Microsatélites.
- ❖ Comprobar la existencia de sinonimias y homonimias en la colección de variedades pisqueras del CITEagroindustrial Ica con las variedades de vid europeas.



## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 LA VID**

La vid (*Vitis vinífera* L.) es una de las especies con mayor importancia económica, cultivada de diversas formas como uva de mesa, mosto, vino y destilados. Actualmente existen entre 8000 y 10000 variedades en todo el mundo (Hocquigny *et al.* 2004), aunque el número de cultivares reconocidos mundialmente es pequeño (Martínez *et al.* 2006).

En el Perú, la vitivinicultura ha incrementado significativamente, la producción de uvas de mesa registró un importante crecimiento, según la información estadística de APROVID 2008 y ADUANA 2000 – 2008 (citado por MINAGRI 2008), siendo Ica la región que resalta por sus condiciones favorables agroclimáticas para este cultivo comprendiendo el mayor porcentaje de producción de uva para diferentes aplicaciones. En los últimos años también se ha venido expandiendo las áreas de cultivo, con plantaciones de vides para la producción de Pisco que principalmente es en base a antiguos cultivares de uvas criollas.

En nuestro país se cultivan alrededor de 30 variedades de vid para mesa, 13 portainjertos, 25 variedades para vino y ocho de ellas son de uso exclusivo para la producción de Pisco.

#### **2.1.1 Origen de la vid**

El descubrimiento del vino de acuerdo a la cultura Mediterránea jugó un rol importante en la domesticación de la vid (Royer 1988; McGovern and Rudolph 1996; McGovern 2003; citados por Jiménez 2014), el cual está ligado al desarrollo de la cultura humana. Las variedades de *Vitis vinífera* subsp. *Sativa* son las vides cultivadas y se originaron a partir de la domesticación de las poblaciones silvestres de *Vitis vinífera* subsp. *Silvestres* (De Andrés *et al.* 2012). Dicha domesticación implicó la selección de

genotipos hermafroditas con bayas que produjeran mayor contenido en azúcares para la fermentación, así como también plantas con alta producción (This *et al.* 2006).

Durante este proceso, los cambios sufridos de plantas dioicas a hermafroditas, fueron determinantes, en la morfología de las semillas, que permitieron diferenciar si las semillas pertenecían a vides silvestres o a vides cultivadas. Aunque no está claro si esos cambios ocurrieron a través de cruzamientos sexuales (naturales o artificiales), o por mutaciones, y posteriormente procesos de selección y propagación (Drori *et al.* 2017).

Tampoco está definido cuando y donde se dio la primera domesticación ya que hallaron especies silvestres en diferentes partes de Europa. Según la historia y pruebas arqueológicas indicarían que la primera domesticación ocurrió en Oriente Próximo, encontrándose la primera evidencia de producción de vino en Irán, en el yacimiento neolítico de Hajji Firuz Tepe, ubicado al norte de los Montes Zagros entre 7.400-7.000 a.C. Así también, en Georgia y Turquía fueron encontradas semillas de vides domésticas procedentes del 8.000 a.C. Al mismo tiempo en Europa Occidental y asentamientos franceses también se encontraron semillas y rastros de utilización de vid en ese periodo (Vélez 2007).

Las revisiones históricas determinan que la vid pertenece a la familia *Vitaceae*, formada por mil especies agrupadas en 17 géneros. De todas ellas, el género *Vitis*, es el único con importancia agronómica formada por 60 especies interfértiles aproximadamente, casi todas situadas en el hemisferio norte. De este género, la especie *Vitis vinífera* es la única especie utilizada en la producción mundial de vino (Vélez 2007), originaria de Eurasia siendo el primer hallazgo datado de 65 millones de años. La forma cultivada y la forma silvestre hoy en día cohabitan en Eurasia y en el Norte de África, cuya división en subespecies se basó en diferencias morfológicas como resultado del aislamiento geográfico o por la domesticación de la vid (Drori *et al.* 2017).

Actualmente, tenemos miles de variedades cultivadas de *Vitis vinífera* L., clasificadas en función a su aplicación: uvas para mesa, vinificación y pasificación. Por el contrario, las vides silvestres de *Vitis vinífera* son escasas, encontrándose desde

Portugal hasta Turkmenistán, y desde las riberas del Rin hasta el norte de Túnez (Vélez 2007).

Los resultados de la investigación de Imazio *et al.* (2006) apunta hacia otros posibles eventos de domesticación indicando a Oriente Medio como un único centro de domesticación para todos los cultivares europeos. Por otro lado, Arroyo-García *et al.* (2006) sus resultados señalarían dos posibles sucesos de domesticación, en el Oriente Próximo y en la región del Mediterráneo Occidental, donde se dio origen a la mayoría de las variedades de Europa Occidental (Iriarte-Chiapusso *et al.* 2017).

Debido a la multiplicación vegetativa se produjo la dispersión de la vid desde Oriente Próximo hasta regiones como Egipto, la Baja Mesopotamia (5.500-5.000 a.C.), y al entorno del Mediterráneo (This *et al.* 2006, Iriarte-Chiapusso *et al.* 2017), extendiéndose hasta China (Siglo II d.C.) y Japón (3.200 a.C.). De las cuales, la especie *Vitis vinífera* L. se expandió hacia regiones templadas de Europa de dominio romano a través del comercio que facilitaron el intercambio de material vegetal con fines religiosos (Vélez 2007).

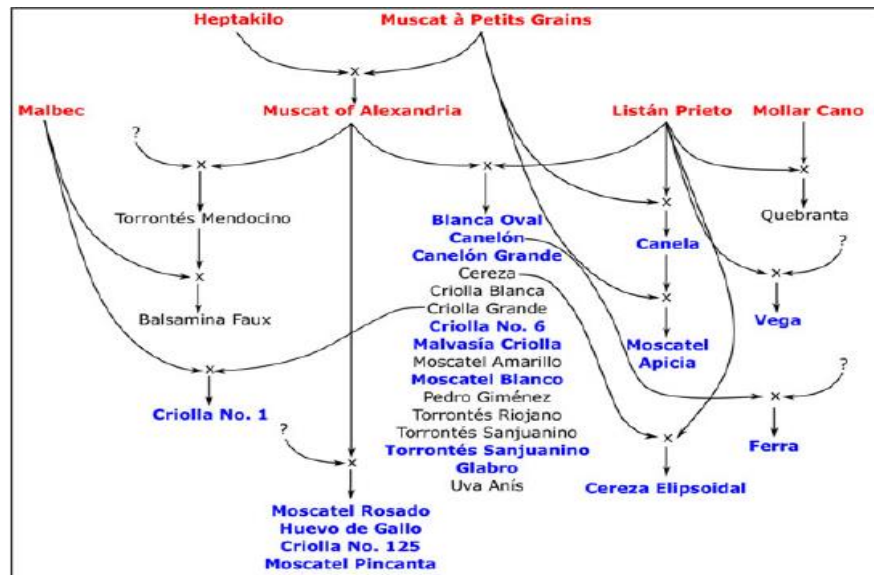
A finales del siglo XIX, apareció la plaga de la filoxera, que se propagó desde América hasta Europa, ocasionando una gran pérdida de viñedos europeos y por tanto de la diversidad (Estella 1981, citado por Casanova 2008). La extinción de la viticultura europea fue librada gracias al desarrollo de portainjertos a partir de especies americanas no viníferas del género *Vitis*, también se desarrollaron híbridos interespecíficos resistentes a enfermedades (Hidalgo 2002).

Hoy en día, un factor importante en la reducción de la biodiversidad es la globalización del mercado debido a que favorece la propagación de variedades conocidas como Cabernet Sauvignon, Merlot, Chardonnay, ocasionando la desaparición de variedades antiguas locales. Existen muchos factores que vulneran la biodiversidad de la vid, por tanto, las colecciones o bancos de germoplasma fueron creadas para conservar este material vegetal. Según el Catálogo Internacional de Variedades de Vid (VIVC) hay 130 colecciones de germoplasma de vid en alrededor de 45 países (Chomé *et al.* 2003), siendo los más representativos los Bancos de Germoplasma de “El Encín” y el Centro Rancho de la Merced - IFAPA (Jiménez 2014).

- **La vid en América**

En América, los misioneros introdujeron la vid, desde España, Francia, Italia, Alemania y Europa Oriental (Casanova 2008). La historia de la vid (*Vitis vinífera* L.) se remonta al siglo XV, cuando se introdujo por primera vez en las Antillas durante la colonización española (Martínez *et al.* 2006). Se cultivó con éxito en México y unos años más tarde en Perú, a principios del siglo XVI (Martínez *et al.* 2006). En seguida, se extendió hacia las demás colonias sudamericanas (Milla-Tapia *et al.* 2013). Es sabido que la vid se trajo desde las Islas Canarias a América (Agüero *et al.* 2003), pero aún no hay evidencia si se introdujo en forma de estacas, semillas o brotes (Martínez *et al.* 2006).

Listan Prieto, es una variedad española y la más predominante en la viticultura sudamericana durante más de 300 años (Lacoste *et al.* 2010). Se cultivó con diferentes nombres, Criolla Chica o Criolla de Vino en Argentina, Uva País en Chile, Negra Criolla o Rosa del Perú, en Perú, Misión en México y Mission en Estados Unidos (Agüero *et al.* 2003; Martínez *et al.* 2006 citados por Aliquó *et al.* 2017). Moscatel de Alejandría, es la segunda variedad más importante, llamada “Italia” (Alcalde 1989 citado por Aliquó *et al.* 2017), introducida por primera vez desde España a Mendoza – Argentina, a inicios del siglo XVIII por misioneros jesuitas, siendo uno de los cultivares blancos más sembrados hasta finales del siglo XX. Investigaciones recientes demostraron que Listán Prieto y Moscatel de Alejandría, son los progenitores de los principales cultivares sudamericanos (Agüero *et al.* 2003), como se señala en la Figura 1.



**Figura 1: Esquema Pedigrí y relación parental de cultivares criollos mostrando cultivares Europeos**

FUENTE: Aliquó *et al.* (2017)

- **La vid en el Perú**

A principios de 1532, los españoles fundaron villas y ciudades en el Perú, dando inicio al cultivo de los llamados "frutos de Castilla", entre ellos la vid, trigo, caña de azúcar, arroz, olivos, cítricos etc (Huertas 2004). Las condiciones de clima y suelo en las zonas más bajas de los valles costeros saltaron a la vista como favorables para el cultivo de la vid (Soldi 2006).

En Sudamérica, el Perú, fue el primer país en cultivar la vid, y la primera variedad fue la Negra Criolla usada para elaborar aguardiente y vino, corroborado por cronísticas, inventarios de haciendas, testamentos, fletajes, escrituras de compra y venta de tierras, de fines del siglo XVI que, relatan la temprana actividad vitivinícola en el Perú. Es así que los primeros agricultores de vid sabían que 60 kilos era equivalente a cinco arrobas castellanas, una pequeña cosecha con la cual era posible la elaboración de vinos dando paso a las primeras vendimias principalmente por españoles y criollos (Huertas 2004).

Posteriormente se registró el cultivo de la uva Moscatel y Albilla aunque no se tuvo claro su origen, fueron utilizadas también para la elaboración de vino. Estas variedades se cultivaron en Ayacucho, Cusco, Moquegua, Tacna en el año 1555, luego se estableció con éxito en Ica y de ahí se propagó a Nazca, Pisco, Chincha y Caravelí, así llegó a su máximo auge la industria vitivinícola.

### 2.1.2 Clasificación y taxonomía

La vid es una liana sarmentosa y según la clasificación de Cavallier-Smith (Marsal 2015), pertenece:

Supereino:	<i>Eukaryota</i>
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Anthophyta (Magnoliophyta)</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida (Eudicotyledons)</i>
Subclase:	<i>Rosids</i>
Orden:	<i>Vitales</i>
Familia:	<i>Vitaceae</i>
Subfamilia:	<i>Viticoideae</i>
Género:	<i>Vitis</i>
Subgénero:	<i>Euvitits</i>
Especie:	<i>Vitis vinifera</i> L.

En la actualidad, las técnicas moleculares fueron desarrolladas para unificar criterios de clasificación con ayuda del registro fósil. Estudios filogenéticos recientes, del genoma cloroplástico de la vid, indicaron una divergencia temprana de la familia *Vitaceae* con las demás familias pertenecientes a la subclase *Rosidae* (Jansen *et al.* 2006 citado por Marsal 2015). Dicha familia está compuesta por casi mil especies, agrupadas en 17 géneros. La mayoría de sus especies son empleadas ornamentalmente y se encuentran localizados en regiones intertropicales. Por lo que el género *Vitis* es el único de importancia agronómica, formado por 60 especies interfértiles aproximadamente, dispersas casi todas en el hemisferio norte. Entre ellas la especie más utilizada en la producción de vino es *V. vinifera*, aunque las variedades de mesa, también en su mayoría son *Vitis vinifera* incluyendo algunos híbridos interespecíficos como la variedad Isabella (*V. vinifera* x *V. labrusca*).

Según Galet (1967) citado por Vargas (2009), dentro del género *Vitis* hay dos subgéneros o secciones:

- **Sección Muscadinia:**

Presentan  $2n=40$  cromosomas, nudos sin diafragma, corteza adherente, zarcillos simples, bayas poco azucaradas y con una maduración lenta. Son vides de zonas cálidas y templadas del sudeste de América del Norte (EEUU y México). Incluyen tres especies: *V. rotundifolia* Michx, *V. munsoniana* Simpson y *V. popenoeii* Fen.

- **Sección Euvitits:**

Presentan  $2n=38$  cromosomas, nudos con diafragma, corteza exfoliable y zarcillos bifurcados o compuestos. El grupo se divide en 11 series que, agrupan entre 30 y 60 especies, entre ellas *V. vinífera*.

Se establecieron diferentes clasificaciones dentro de la subespecie cultivada atendiendo a otros criterios, de entre los cuales destacan dos:

**a. Basado en grupos ecológico-geográficos definido por Negrul (1938) citado por Vélez 2007), se diferencian tres grupos:**

- ***Orientalis***, son variedades de bayas gruesas y ovales, destinadas por lo general a su consumo en fresco provienen de Armenia, Azerbaijón, Irán y Afganistán.
- ***Occidentalis***, son variedades de bayas pequeñas y jugosas, destinadas principalmente a vinificación, provienen del oeste europeo (Francia, Italia, Portugal y España).
- ***Pontica***, son variedades que presentan bayas con características intermedias, agrupa variedades de Grecia, Rumanía, Hungría, Georgia y Asia Menor.

**b. Basado en el destino de sus productos.** - se distinguen tres tipos de variedades (Hidalgo 2002):

- **Uvas para mesa**

Agrupa variedades que poseen características físicas y estructurales deseables en sus frutos con racimos grandes y bayas de gran tamaño, bien conformados, de buen aspecto, pulpa crujiente, piel resistente, difícil desgrane, sabor fresco y no excesivamente dulce. Regularmente, el número y tamaño de las semillas tienen gran desarrollo en las uvas de mesa, factor íntimamente ligado al crecimiento de la baya, aunque es negativo en cuanto a la calidad.

- **Uvas para pasificación**

Generalmente se utilizan variedades apirenas, aunque no exclusivamente. La apirenia es la ausencia de semillas y puede ocurrir por dos mecanismos: partenocarpia y estenospermocarpia (Hidalgo 2002). En las uvas sin semillas producidas por partenocarpia, la pasificación es el destino más probable por sus bayas pequeñas. Por otro lado, las variedades apirenas estenospermocárpicas normalmente su uso es para mesa y también para pasificación. Las variedades de interés comercial en su mayoría son sin semillas, aunque no estrictamente. En este tipo de variedades se produce la fecundación, pero se interrumpe el desarrollo del embrión y el endospermo después de

la floración (Creasy and Creasy 2018). Es por ello que el tamaño de las semillas son rudimentarias y no lignificadas por tanto imperceptibles para el consumidor.

- **Uvas para vino o mosto**

Fundamentalmente el interés por estas variedades está centrado en la calidad de mosto y vino que produce. Generalmente, son variedades que poseen racimos medianos a pequeños, de compacidad alta, bayas pequeñas, piel delgada, elevado contenido en azúcares y escasas semillas. Aunque su clasificación no debería ser estricta ya que pueden tener para varios usos, Moscatel de Alejandría es un claro ejemplo, utilizada para los tres fines citados (Vargas 2009).

### 2.1.3 Biología del cultivo

En el ciclo anual de la vid se observa un ciclo vegetativo y un ciclo reproductor que se desarrollan simultáneamente (Vargas 2009).

#### a. Ciclo Vegetativo

En el hemisferio norte, el ciclo vegetativo se da en abril y noviembre y el reposo invernal en los meses restantes; en el hemisferio sur se da entre setiembre y abril, las estaciones están desplazadas seis meses. En invierno, por las bajas temperaturas las yemas permanecen dormidas y la planta no tienen actividad, a ese estado se llama **reposo vegetativo**. En primavera, la temperatura aumenta induciendo al **lloro** de la cepa que consiste en la secreción de líquido provocado por la poda y la reactivación del metabolismo de los azúcares y la elevada absorción radicular de la planta alcanzando su máxima actividad en esta fase (Creasy and Creasy 2018).

La **brotación**, es la siguiente fase activa del ciclo vegetativo que se inicia con el **desborre**, al separarse las brácteas que protegen las yemas por el crecimiento del cono vegetativo. En esta fase las yemas se engrosan dando lugar a los brotes. Después de la brotación, el ápice vegetativo se alarga hasta alcanzar su máximo desarrollo, de ahí disminuye la velocidad hasta inhibir el crecimiento, producida por el déficit hídrico de la planta y la presencia del ácido abscísico. La cepa usa una parte de los productos fotosintetizados en la maduración de la uva y el resto quedara como reserva para asegurar la brotación del siguiente año. El **agostamiento** se produce cuando los pámpanos se lignifican antes de la parada de crecimiento, convirtiéndose en sarmientos. A partir de la **vendimia**, los productos de la fotosíntesis son utilizados para



incrementar las reservas. Durante este periodo continúa la actividad vegetativa de las hojas, migrando los azúcares hacia las bayas, pámpanos y raíces. Poco después, las hojas cambian de color por la degradación de la clorofila y el descenso de la temperatura promueve la formación de ácido abscísico que provoca la caída de las hojas e inhibe las yemas, iniciando así el periodo de reposo y terminando con la movilización de las reservas (Hidalgo 2002).

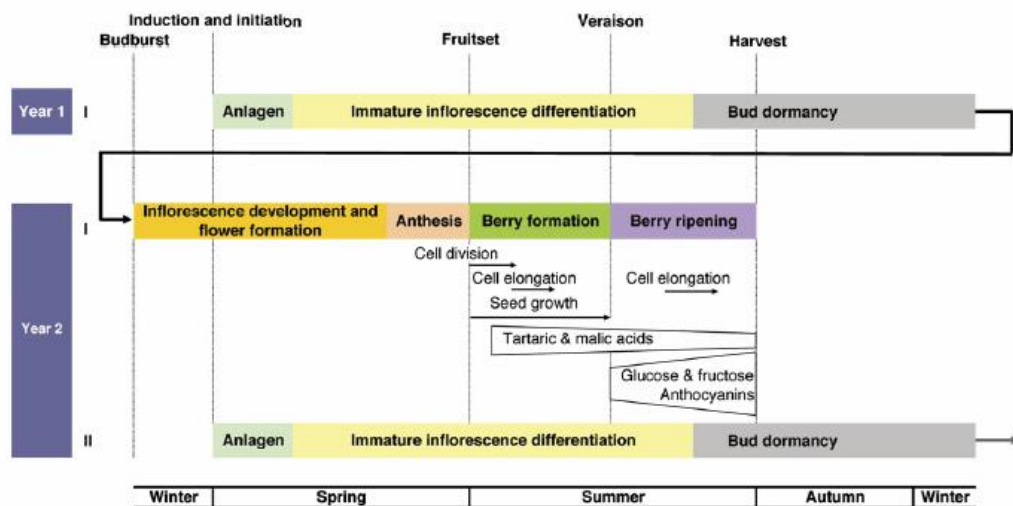
## **b. Ciclo Reproductor**

El ciclo reproductor de la vid está constituido por dos fenómenos que se dan simultáneamente: el desarrollo de las inflorescencias hasta la maduración completa de las bayas, y la formación y diferenciación de las yemas latentes del año siguiente, situado en la zona axilar de las hojas que corresponden al brote del año.

Comparado al patrón de desarrollo de especies herbáceas anuales y plantas leñosas policárpicas, la vid difiere principalmente en su ciclo reproductivo. Cuando provienen de semillas su fase juvenil es corta, con 6 a 10 nudos y sus hojas en espiral, luego pasan de una filotaxis en espiral a alterna en la cual el meristemo apical del brote produce meristemas laterales que se diferenciarán en zarcillos alternados con las hojas después de la elongación del internudo y situados opuestamente a las hojas. La temperatura y la intensidad lumínica juegan un rol importante en la inducción a la floración, tras dos a cinco años del desarrollo de la planta se da la diferenciación en inflorescencias o, en caso de plantas silvestres, hasta que se forma la canopia. Aunque, hay variedades que pueden producir inflorescencias a partir del segundo año si cuentan con factores ambientales y nutricionales favorables como luz, buena irrigación y fertilización. También los tratamientos hormonales como las citoquininas promueven el desarrollo de las inflorescencias, mientras que las giberelinas las inhiben favoreciendo el desarrollo de zarcillos. En primavera, la yema formará una rama con inflorescencias en la zona basal, los zarcillos en la parte media y apical en posición inversa a las hojas. Cada hoja posee una yema axilar que formará una rama lateral para brotar en la siguiente primavera. El meristemo de la inflorescencia de tres o cuatro meristemas de flores se divide en un racimo, desarrollándose primero las flores terminales, luego las laterales y finalmente las basales (Carmona *et al.* 2008).

La baya proviene de la pared del ovario que comprende una parte externa llamada exocarpio u hollejo, cuando llega a la madurez forma una capa de células junto con la hipodermis donde acumulan en vacuolas antocianinas y polifenoles. La pulpa es el mesocarpio resultado de múltiples divisiones de células parenquimáticas externas e internas especializadas en acumular azúcares especialmente glucosa y fructosa, ácidos orgánicos como ácido tartárico y málico y agua. El endocarpio en la zona interna contiene las semillas, en la cual se pueden diferenciar dos capas (Vargas 2009).

El desarrollo de la baya sigue dos fases de crecimiento, la fase verde y estacionaria y la fase de maduración. La primera se caracteriza por la división celular para el crecimiento de la baya y la formación de las semillas, terminando en el envero con el cambio de coloración y ablandamiento de la baya. La segunda es la de maduración marcado por cambios fisiológicos y metabólicos de la baya. En esta fase se produce un crecimiento exponencial de la baya, debido a un aumento del tamaño celular (Vargas 2009).



**Figura 2: Ciclo reproductivo de la vid en dos años.**

FUENTE: Carmona *et al.* (2008).

- **Biología reproductiva**

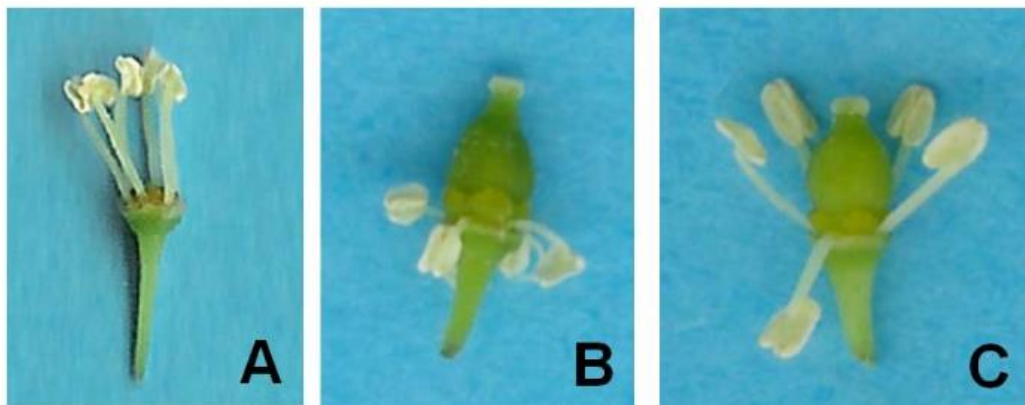
Las *Vitis vinifera* subsp. *Sylvestris* son especies dioicas, tienen plantas de flores masculinas y plantas de flores femeninas (Levadoux 1956 citado por Vargas 2009) de polinización anemófila o entomófila (Hegi 1925, citado por Vargas 2009). Durante la domesticación se dio posiblemente una selección natural de plantas con flores hermafroditas que en su mayoría se autopolinizan. Por otro lado, las vides cultivadas

*Vitis vinifera* subsp. *Sativa* en su gran mayoría son naturalmente hermafroditas y altamente fértiles (Vargas 2009). Los principales mecanismos de la vid para asegurar la fecundación del ovario y la formación de bayas son a través de la autofecundación y la anemogamia. Debido a la especial morfología floral, la autopolinización se ve favorecida incluso antes de la apertura completa de la flor. No todas las variedades de vid se comportan igual en la fecundación, algunas son autocompatibles o semifértiles y otras son autoincompatibles (Kelen & Dermitas 2003). Cuando se trata de estas últimas, la presencia de un polinizador es imprescindible para obtener una cantidad y calidad adecuada de frutos (Fernández-González *et al.* 2013). Una deficiente fecundación determina la formación de racimos con reducido número de bayas o con gran disparidad en el tamaño de las mismas, consecuencia de un fenómeno denominado corrimiento (Callejas *et al.* 2004). Es por ello que, la multiplicación vegetativa, es la forma más común y ventajosa de propagación de la vid, para conservar el genotipo manteniendo así la heterocigosidad que presenta cada genotipo original o planta madre, por tanto, impidiendo el establecimiento de líneas puras homocigóticas y al abreviar la entrada en producción. (Arroyo-García *et al.* 2006).

Las flores, se muestran agrupadas y configuran las inflorescencias. La inflorescencia es paniculiforme y sus flores hermafroditas, actinomorfas, pentámeras, con sépalos soldados de tamaño reducido y pétalos verdosos coalescentes en la parte superior, formando una especie de caperuza que se separa de la flor. El androceo está formado por cinco estambres opuestos a los pétalos. Las anteras producen los granos de polen que contienen los espermatozoides a su vez estas, están constituidas por tecas 2-loculadas de dehiscencia longitudinal, el disco anular posee cinco nectarios amarillos poco soldados al ovario y alternando con los estambres (Fernández-González *et al.* 2013). La base del pistilo es el ovario, su ovario es súpero, 2-loculado y 2-carpelado situados en dos compartimentos internos, cada una con dos óvulos contenidos en un saco embrionario con un solo huevo. La placentación es axilar, con 1 a 2 óvulos anátropos en cada lóculo, su estilo es corto y el estigma discoideo. En la vid las semillas presentan un embrión recto y endosperma abundante (Luquez y Formento 2002). Generalmente, las vides silvestres, portainjertos y algunas variedades cultivadas, poseen flores “pistiladas” (femeninas) o flores “estaminadas” (masculinas) a diferencia de las vides comerciales que en su mayoría tienen flores hermafroditas (Luquez y Formento 2002). Hay tres tipos de flor como se muestra en la Figura 3: a) Hermafroditas o perfectas:

presentan androceo y gineceo funcionales. b) Pistiladas o femeninas: presenta gineceo funcional y bien desarrollado, estambres con filamentos reflejos, algo curvado y polen generalmente estéril. c) Estaminadas o masculinas: presentan estambres erectos y pistilo abortado.

La floración puede durar de 1 a 3 semanas dependiendo de las condiciones climáticas y de la variedad. Se define como plena floración a la fase en que se han abierto o caído aproximadamente entre el 50% y dos tercios de las caliptras de las flores produciéndose normalmente entre 50 y 80 días después de la brotación (Luquez y Formento 2002).



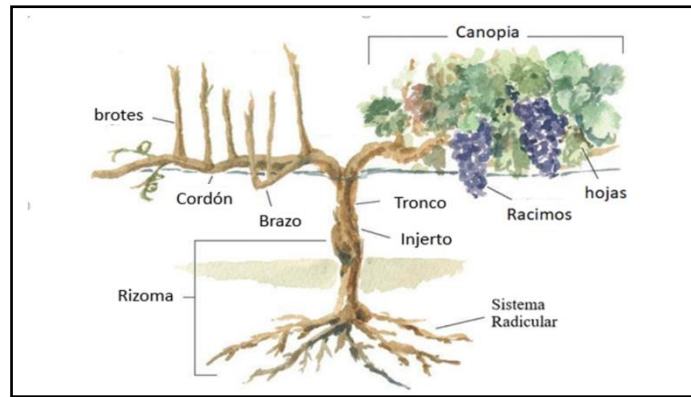
**Figura 3: Tipos de Flores en *Vitis vinífera* L. A) Flor masculina y B) Flor femenina (Flores dioicas en variedades silvestres *Vitis vinífera* L. subsp. *Sylvestris*). C) Flores Hermafroditas en variedades cultivadas *Vitis vinífera* subsp. *Sativa*.**

FUENTE: Fotos de Nieves Diestro ICVV.

Cuando la caliptra se separa de la base de la flor, cae, dejando al descubierto el pistilo y las anteras, aunque el polen puede ser liberado antes o después de la caída de la caliptra. En ese momento, caen al azar los granos de polen sobre el estigma del pistilo, permitiendo la polinización. Pueden germinar muchos granos de polen desarrollando el tubo polínico desde el estigma hasta el óvulo, pero solo un espermatozoido se unirá con un óvulo para formar un embrión que dará lugar a la baya (Luquez y Formento 2002).

#### **2.1.4 Morfología de la vid**

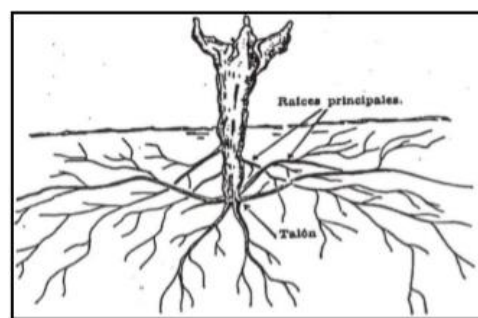
La vid es una planta de porte rastrero, sarmentosa con un sistema radicular ramificado y descendente (Picornell y Melero 2013) como se puede observar en la Figura 4.



**Figura 4: Morfología de la vid**  
 FUENTE: Picornell y Melero (2013)

### A. La Raíz

**Procedente de semilla:** son aquellas plantas que se utilizan principalmente para mejora genética y obtención de nuevas variedades, se caracterizan por presentar una raíz principal y pivotante. **De origen adventicio:** son aquellas plantas que proceden de la multiplicación por estacas, las raíces provienen de la diferenciación celular del periciclo a nivel de los nudos del tallo. La extensión de sistema radicular dependerá del genotipo, sistema de plantación, tipo de suelo y técnicas de cultivo (Picornell y Melero 2013).



**Figura 5: Sistema radicular de la vid**  
 FUENTE: Picornell y Melero (2013)

### B. Parte Aérea

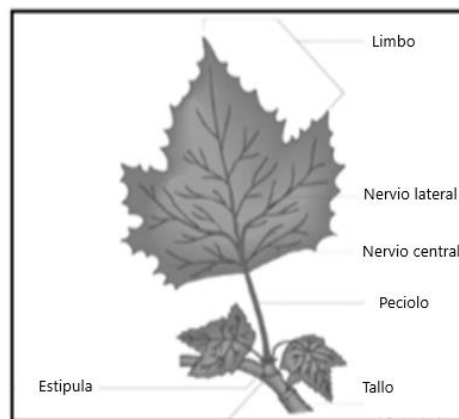
La parte aérea en su estado natural es una liana constituida por el tronco, los brazos y los pámpanos.

a) **Tronco:** generalmente es tortuoso cubierto por una corteza, que debajo de ella cada año añade una nueva capa de madera, variando según la especie. El tronco, es permanente y constituye el apoyo de la estructura vegetativa y reproductiva de la vid, variando la altura y la disposición de brazos y pámpanos en función del sistema de

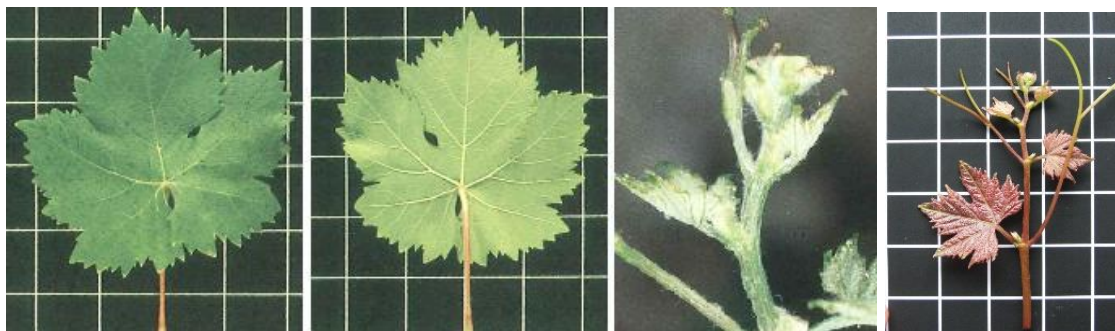
conducción (Hidalgo 2002).

b) Brazos o ramas: son los **pámpanos** cuando son herbáceos y **sarmientos** cuando están lignificados. Los pámpanos constituyen la unidad de crecimiento de la planta y están formados por brotes, hojas, zarcillos y racimos. Estos se formaron en la floración de la temporada anterior a partir de yemas compuestas y cada una de estas es capaz de producir más de un brote. A partir de yemas primarias nacen los pámpanos primarios y son los que producirán fruta. Los pámpanos están formados por una sucesión de nudos y entrenudos de longitud creciente hasta el quinto nudo; de ahí al quince son constantes y los que siguen van decreciendo en longitud hacia el extremo apical. En los nudos se insertan los órganos caducos como las hojas, inflorescencias y los zarcillos y los perennes como las yemas (Hidalgo 2002).

c) Las hojas: se forman a partir del meristemo apical, antes que se forme la primera hoja surgen dos o más estipulas estrechamente espaciadas en la base de los pámpanos que caen prematuramente. Las hojas están insertas en el nudo a través del peciolo, que conecta a la hoja con el pámpano (Figura 6) (Pratt 1974 citado por Picornell y Melero 2013). Las hojas consisten en un limbo generalmente penta lobulado, con lóbulos más o menos diferenciados dependiendo de la variedad. Presentan borde dentado; de color verde más intenso en el haz que en el envés, con vellosidad que puede variar desde intensa a glabras.



**Figura 6: Morfología de la hoja de la vid**  
FUENTE: Mullins *et al.* (1992)



**Figura 7: Morfología de la hoja joven y adulta, sumidad y racimo de la vid**

FUENTE: Hidalgo (2002)

d) Yemas: las yemas axilares están situadas a cada lado de la axila de la hoja por encima del punto de conexión entre el peciolo y el pámpano, incluyendo también las estipulas basales. Dichas yemas son de dos tipos denominadas como yema normal y yema pronta o anticipada. La yema normal es la verdadera yema axilar, compuesta por tres conos (primarios, secundarios y terciarios) capaces de formar pámpanos. En primavera, en condiciones normales, solo comienza a crecer el cono primario, si está dañado salen del estado de latencia los otros conos secundarios y terciarios, aunque estos conos tienen poco o ningún fruto en comparación con el cono primario. Estas yemas se clasifican como: **Yemas vegetativas**: aquellas que producen hojas. **Yemas fruteras**: aquellas que producen tanto hojas como racimos, localizadas en posición opuesta a las hojas en el tercero, cuarto, quinto y sexto nudos, contados desde la base. **Yemas axilares**: aquellas que nacen de la axila de las hojas. **Yemas Latentes**: aquellas yemas axilares en estado de latencia. **Yemas adventicias**: aquellas que se desarrollan en cualquier parte de la vid, excepto en las axilas de las hojas o en la punta de un brote (Hidalgo 2006).

d) Zarcillos: los zarcillos y las inflorescencias tienen un origen similar por ello es usual hallar estados intermedios, algunos autores también lo consideran como el abortamiento de una inflorescencia. Los zarcillos tienen función mecánica y solo se lignifican, pueden ser bifurcados, trifurcados o polifurcados. Cuando los pámpanos son fértiles, los zarcillos se sitúan por encima de los racimos (Hidalgo 2006).

f) Sarmiento: son los tallos adultos o pámpanos lignificados que, entraron en una fase de transición cuando comenzó a madurar la uva. A medida que se fue desarrollando la peridermis, primero apareció una piel amarilla lisa siguiendo una



distribución vertical hacia el ápice del pámpano, cambiando del verde al marrón durante el resto del verano y el otoño, para finalmente convertirse en una corteza dura, lisa y seca. Cuando caen las hojas inicia el periodo de inactividad entrando al estado de dormancia, siendo la poda un mecanismo para manejar la forma y tamaño de la canopia y para controlar la producción de la próxima temporada (Mullins *et al.* 1992 citado por Picornell y Melero 2013).

g) Flores: está constituido por un eje principal llamado **raquis** del cual salen ramas que se dividen para formar **pedicelos** que, llevan las flores individuales. La porción del raquis que se extiende desde el pámpano hasta su primera rama se llama **pedúnculo**. Las variedades comerciales mayormente presentan flores hermafroditas, aunque también hay con flores femeninas o masculinas sin embargo las especies utilizadas como portainjertos presentan flores estériles (Hidalgo 2006). En términos botánicos la flor es pentámera, formada por el **Cáliz** que, está constituido por cinco sépalos soldados formando una cúpula. La **Corola**, está formada por cinco pétalos soldados en el ápice que, se desprende en la floración, denominado capuchón o caliptra, éste brinda protección al androceo y gineceo. **Androceo**, está conformado por cinco estambres opuestos a los pétalos constituidos por un filamento y dos lóbulos (tecas) con dehiscencia longitudinal y los sacos polínicos están alojados en su interior. **Gineceo**, presenta ovario súpero, bicarpelar de carpelos soldados con dos óvulos por carpelo, su estilo es corto y el estigma ligeramente expandido y deprimido en la parte central.

h) El fruto: constituido por bayas de forma y tamaños variables, desde esférica a ovalada, con un promedio de 12 a 18 mm de diámetro. Está formado por el escobajo, el raquis o raspón y los granos o bayas (Figura. 8). Los porcentajes aproximados son: Escobajo 5 por ciento, Hollejo 7 por ciento, Pulpa 84 por ciento y Semillas 4 por ciento.

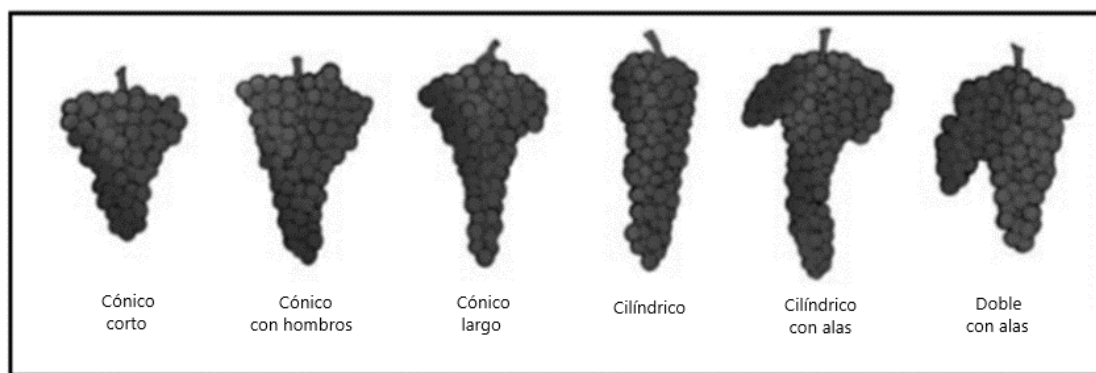
- Escobajo: está conformado por un pedúnculo, un eje principal y ramificaciones primarias, secundarias y terciarias cuya función es de soporte. Es la parte leñosa del racimo su distribución, largo, ramificaciones y disposición del eje hará que los racimos tengan distintas formas y tamaños, característica diferencial para identificar variedades (Hidalgo 2006).



- Hollejo (epicarpio): es la membrana externa responsable del color de la baya por la presencia de antocianos y flavonoides, de epidermis cutinizada y elástica. En su exterior está la pruina, una capa cerosa, donde se alojan las levaduras que fermentan el mosto. El color del hollejo varía según el estado fenológico, en la fase herbácea es de color verde y en envero es de color amarillo en variedades blancas, y rosado o violáceo, en variedades tintas (Hidalgo 2006).

- Pulpa (mesocarpio): Representa la mayor parte de la baya, es translúcida a excepción de las variedades tintas y muy rica en agua, azúcares, ácidos (málico y tartárico principalmente), aromas, etc. Se encuentra recorrida por una fina red de haces conductores, denominándose pincel a la prolongación de los haces del pedicelo.

- Semillas: son ricas en aceites y taninos, y están protegidas por una fina capa denominada endocarpio. El número de semillas puede variar de 0 a 4 por baya. Las bayas sin semillas se denominan apirenas. La morfología externa de la semilla permite distinguir tres zonas: pico, vientre y dorso y en la parte interna se observa el albumen y el embrión.



**Figura 8: Morfología del racimo**

FUENTE: Mullins *et al.* (1992)

- **Morfología de *Vitis vinífera* L.**

Está conformada por dos subespecies con características morfológicas diferentes:

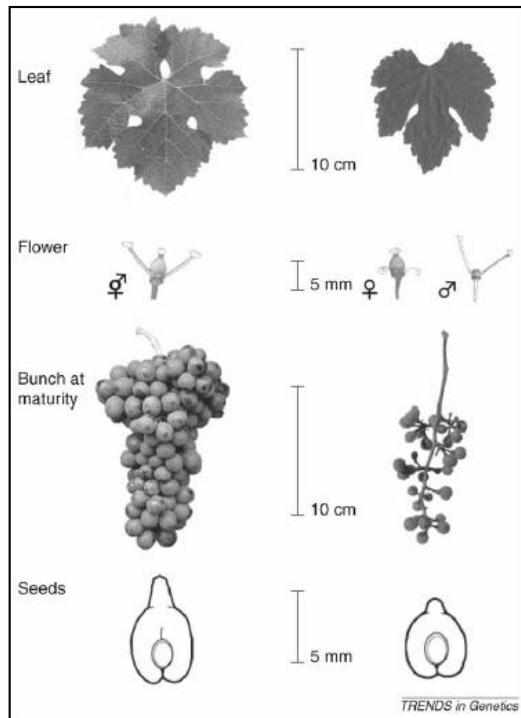
- 1) *Vitis vinífera* subsp. *Sylvestris* (C.C.Gmel) Hegi, es la vid silvestre.
- 2) *Vitis vinífera* subsp. *Sativa* Hegi = *Vitis vinífera* subsp. *Vinífera* L., es la vid cultivada.

Las diferencias entre estas subespecies son la consecuencia del proceso de domesticación en el que el hombre seleccionó determinados rasgos de su interés. Por tanto, las vides cultivadas derivan de las vides silvestres. Los principales rasgos seleccionados por el hombre durante el proceso de domesticación fueron: la fertilidad, el hermafroditismo, la productividad, el tamaño de las bayas, el corrimiento o caída de la flor, el contenido de azúcar y acidez, además de otras características como la tolerancia al estrés abiótico y biótico, o la facilidad de reproducción vegetativa o asexual. Sus tallos aéreos son cilíndricos de 3-4 mm de grosor, ramificados y pueden variar del color verde a púrpura grisáceo con diferentes grados de pigmentación (Marsal 2015). En la Tabla 1 y la Figura 9 se puede apreciar las principales diferencias morfológicas:

**Tabla 1: Principales diferencias morfológicas entre las dos subespecies de *Vitis vinífera* L.**

<b>VID SILVESTRE</b> <b><i>Vitis vinífera</i> ssp. <i>silvestris</i> Beck</b>	<b>VID CULTIVADA</b> <b><i>Vitis vinífera</i> sp. <i>sativa</i> (DC) Hegi</b>
Ecotipo típicamente mesofito (flora riparia)	Ecotipo mesofítico y aerofítico
Brotos y sarmientos poco vigorosos con porte caído	Brotos y sarmientos de mayor vigor con porte erecto o caído.
Hoja generalmente glabra, entera o trilobada (raramente 5 - 7 lobulos) con seno peciolar muy abierto o abierto.	Hoja de glabra a tomentosa, grande que comprende 7 lobulos con seno peciolar de abierto a cerrado con superposición de los bordes.
Flores unisexuales en plantas dioicas.	Flores hermafroditas.
Racimos de poca dimensión con el grano pequeño y esférico.	Racimos de mayor dimensión con el grano mas grande, de esférico a ovoidal.
Baya generalmente muy pigmentada (raramente blanca)	Baya de no pigmentada (blanca) a ligeramente pigmentada (rosa) a pigmentada (roja, azul, negra).
Perfil antociánico, algunas veces, libre de esterificación.	Perfil antociánico con forma esterificada (excepto Pinot noir).
Baya con mosto poco azucarado.	Baya con mosto de poco a muy azucarado.
Pepita pequeña, corta y rechoncha, sin el pico distinguible.	Pepita grande, oblonga (6-7mm), piriforme con el pico distinguible.
Superficie ventral de la semilla lisa y superficie dorsal con escutelo (chalaza) distinguible y en relieve.	Superficie ventral de la semilla con el margen en relieve y evidente, y la superficie dorsal con escutelo (chalaza) indistinguible.
Relación anchura/longitud de la semilla x 100 comprendida entre 54 y 83 (STUMMER, 1911) comprendida entre 64 y 83 (SCHIEMANN 1953).	Relación anchura/longitud de la semilla x 100 comprendida entre 44 y 75 (STUMMER, 1911) comprendida entre 54 y 70 (SCHIEMANN 1953).

FUENTE: Marsal (2015)



**Figura 9:** Diferencias morfológicas (hoja, flor, racimo y semilla) entre las dos subespecies de *Vitis vinifera* L. Las imágenes y esbozos de la izquierda corresponden a *Vitis vinifera* subsp. *Vinifera* y las de la derecha a *Vitis vinifera* subsp. *Sylvestris*.

FUENTE: Hidalgo (2006) y Marsal (2015).

## 2.1.5 Diversidad varietal de la vid

### a. El genoma de la vid

El genoma de la vid cultivada está distribuido en 19 cromosomas ( $2n=38$ ). Los investigadores Lodhi y Reisch (1995) citado por Vélez (2007), mediante citometría de flujo, estimaron un tamaño aproximado de 415 a 483 Mb/C (C=genoma haploide en estado cromatídeo), al ser secuenciado en el año 2007 el genoma completo de *Vitis vinifera* L. determinando que es pequeño comparado a otras especies. Por un lado, el Consorcio Público Franco-Italiano secuenció una variedad derivada de Pinot noir altamente homocigótica estimando un tamaño de 487 Mb (Jaillon *et al.* 2007). Por otro lado, Velasco *et al.* (2007), secuenció Pinot noir, estimando un tamaño de 504,6 Mb. Estos resultados llevan a la conclusión que el genoma de *Arabidopsis thaliana* (125 Mb), representa cuatro veces aproximadamente el tamaño del genoma de la vid (Vélez 2007).

Jaillon *et al.* (2007), determinaron que del total del genoma de la vid un 46,3 por ciento, corresponde a genes, de los cuales el 6,9 por ciento son exones. Tanto Velasco *et al.* (2007) como Jaillon *et al.* (2007), reportaron a 30.000 genes como codificantes de proteínas, solo un poco más que *A. thaliana* con 26.819 genes. Ambos estudios concuerdan que el 41,4 por ciento del genoma está constituido

por elementos repetitivos y por transposones.

Al realizar el comparativo con otras especies, Jaillon *et al.* (2007) señaló que el genoma de la vid se originó a partir de la contribución de tres genomas ancestrales, por una evolución temprana de las dicotiledóneas lo que sugiere, la ocurrencia de un evento de hexaploidización, hecho por el cual actualmente genomas de distintas subclases de dicotiledóneas como *A. thaliana*, *P. trichocarpa* y *V. vinífera*, comparten regiones parálogas.

Tanto el genoma nuclear como el genoma cloroplástico de la vid han sido secuenciados completamente. Jansen *et al.* (2006) estimaron 160.928 pb totales para el genoma del cloroplasto, contenido por dos repeticiones invertidas (IR) de 26.358 pb separadas por una región grande de 89.147 pb y otra región pequeña de 19.065 pb de copia única. El genoma tiene una región codificante de 57,55 por ciento con 131 genes totales, de ellos, 18 están duplicados en la IR. También se constató que el orden de dichos genes es idéntico al del genoma cloroplástico del tabaco (Jansen *et al.* 2006 citados por Vélez 2007).

#### **b. Diversidad varietal de la vid**

De acuerdo a su origen, se pueden diferenciar dos tipos de variedades:

- a) **De origen policlonal:** estas variedades derivan de diferentes embriones que presentan características morfológicas comunes. Según Cervera *et al.* (2001), el origen policlonal de una variedad surge a partir de variedades mal indexadas y deficientemente caracterizadas, ya sea a nivel genético o morfológico y como consecuencia la designación de distintas variedades con el mismo nombre (homonimias).
  
- b) **De origen monoclonal:** estas variedades proceden de un mismo embrión, es decir de un genotipo original, por tanto, son genéticamente idénticos, excepto si ocurren mutaciones somáticas, las cuales pueden ser estables y transmisibles a la descendencia mediante la reproducción vegetativa. Ocasionalmente, las mutaciones somáticas dan lugar a nuevas variedades denominados “Sports”, afectando caracteres importantes como el color y tamaño de la baya. Es ahí que la selección clonal juega un rol importante como un método que se encarga de

elegir clones que destacan, con pequeñas diferencias genéticas, en un fondo idéntico, que pueden significar grandes diferencias agronómicas. En viticultura, a este grupo de variedades resultantes de mutaciones somáticas se llaman “sortogrupo”, la cual incluye la variedad original y las derivadas de un mismo embrión, como ejemplo, tenemos al grupo de las variedades Pinot gris, Pinot noir, Pinot blanc y Pinot meunier (Regner *et al.* 2000).

Cuando los Sports derivan de una variedad protegida legalmente, se denominan variedades esencialmente derivadas (EDV), concepto introducido a través del Acta de 1991 del Convenio de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) para promover la protección de nuevas variedades vegetales. Otra causa de variabilidad es el estado sanitario, siendo la virosis, la que genera mayor heterogeneidad varietal (Balda y Martínez de Toda 2017), ocasionando problemas graves, tanto en la selección clonal como en la caracterización (Gonzales 2016).

### **c. Homonimias y Sinonimias**

La expansión del cultivo de la vid a lo largo del tiempo ha generado una gran confusión en las denominaciones de las variedades, resultando muy común la existencia de sinonimias y homonimias. La primera hace referencia a que una misma variedad, puede presentar diversos nombres o sinónimos según el lugar donde se cultive, siendo denominada oficialmente con el nombre más extendido. Podemos citar como ejemplo de sinonimia a las variedades Tempranillo, Tinto fino, Cencibel, Tinta de Toro, Tinta del País y Ull de Llebre (ojo de liebre), todas ellas correspondían a la misma variedad, pero de distintas zonas geográficas españolas (Ibáñez *et al.* 2006a).

La homonimia, por el contrario, refiere a variedades distintas conocidas con el mismo nombre, debido a denominaciones populares o por que han sido mal indexadas. Se puede mencionar como una homonimia a la variedad Airén denominada Malvar en Guadalajara y Madrid. Por otro lado, la variedad Marfal es comúnmente confundida con Malvar, cultivada en Extremadura, debido a la similitud ortográfica (Ibáñez *et al.* 2006b). Toda esta confusión en la denominación de las variedades de vid, generó dificultad, para conocer el número real de variedades de vid. Por ello, la existencia de

colecciones de variedades de vid resulta fundamental, para así conservar y estudiar la diversidad genética tanto de especies cultivadas como de especies silvestres.

#### **d. Colecciones de variedades de vid**

En el mundo existen aproximadamente 10.000 variedades (Alleweldt y Possingham 1988, citados por Vélez 2007), las cuales están conservadas en su gran mayoría en colecciones. Según This *et al.* (2006), basándose en análisis moleculares, el número de variedades diferentes de vid, actualmente sería de 5.000 aproximadamente, muchas de ellas estrechamente relacionadas. Una de las colecciones varietales más grandes de referencia es la finca del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario - IMIDRA “El Encín”, ubicado en Alcalá de Henares (Madrid), seguida en importancia por Centro de Investigación y Formación Agraria - CIFA “El Rancho La Merced”, situado en Jerez de la Frontera (Cádiz) (Vélez 2007).

En el Perú, la colección más representativa, está situada en las instalaciones del Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica Agroindustrial del departamento de Ica. En dicha colección, se localiza posiblemente todo el panorama varietal peruano entre variedades criollas para la producción de Pisco, variedades finas de alta gama para la producción de vino, variedades de mesa apirenas y un gran número de variedades extranjeras.

## **2.2 PRODUCCIÓN AGRÍCOLA DE LA VID**

Hasta el 2017, la producción mundial de vid destinada a todos los tipos de utilización fue de 87.4 millones de toneladas. La tendencia de la producción de uvas desde el año 2000 se encuentra al alza (0.9 por ciento), a pesar de la disminución de la superficie de viñedos, esto debido principalmente por un incremento de los rendimientos, además de una mejora continua de las técnicas vitícolas (OIV 2018) (MINAGRI 2019).

Actualmente, China es el principal productor del mundo con 18 por ciento del total de la producción mundial, le sigue Italia (10 por ciento) y Estados Unidos (8 por ciento), Chile en noveno lugar (3 por ciento) y Perú en el puesto 21 (0,9 por ciento). Siendo Estados Unidos el primer país consumidor de uvas en el mundo, y por tanto

el principal referente de los precios en el mercado internacional (MINAGRI 2019).

La exportación de uvas frescas representa alrededor del 6 por ciento de la producción mundial, siendo de mayor exportación las variedades Thompson seedless, Red Globe, Crimson seedless y Flame seedless. Chile lidera las exportaciones mundiales de uvas fresca con 15 por ciento del total exportado al 2017, sin embargo, en los últimos años viene perdiendo participación en las exportaciones; le sigue Italia con 18 por ciento y Estados Unidos con 8 por ciento. El Perú aparece como el octavo comercializador de uva a nivel mundial, con el 6 por ciento del volumen de envíos en el 2017, llegando a exportar 268 mil TM. Las exportaciones peruanas tienen ventaja competitiva por las ventanas estacionales, que no coinciden con las exportaciones chilenas (MINAGRI 2019). Los principales mercados de exportación de uva son Estados Unidos (19,7 por ciento del valor total), Holanda (15,9 por ciento), China (13,6 por ciento) y Hong Kong (12,5 por ciento).

El Perú, es el cuarto en el mundo con el mayor rendimiento por hectárea en producción de vid, con 21,7 TM por hectárea, superado tan solo por Taiwán, Brasil y Egipto. Asimismo, el Instituto Nacional de Estadística e Informática INEI (2014) dio a conocer que, en diciembre 2013, la producción de uva registró 84 mil 602 toneladas métricas, cifra que representó un crecimiento de 19,8 por ciento con relación a lo reportado en diciembre 2012. Este buen comportamiento del cultivo es debido al clima ventajoso que presenta, explicado en el Informe Técnico Perú de diciembre del 2013.

Las zonas productoras de uva en el Perú, se encuentran ubicadas principalmente en la costa sur y corresponden a Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna; cuya temporada de cosecha se efectúa entre los meses de noviembre y marzo. En la costa norte la zona de producción de uva se encuentra en el valle de Casca - La Libertad, Lambayeque y Piura (Dirección de Estadística 2008), donde la uva de mesa se produce todo el año, principalmente en los valles de Piura, ventaja que le permite abastecer la demanda de este cultivo a nivel mundial en el periodo de baja producción, (diciembre – febrero) época en la cual los principales mercados mundiales carecen de este producto. Tal como señaló Agrodata Perú 2019, Piura

es el departamento que más ha experimentado un incremento en las áreas destinadas para el sembrado de este fruto. Solo en el 2013 obtuvo 29,4 TM por hectárea, en tanto que Ica reportó un rendimiento de 19,3 TM en el mismo periodo. Con estos resultados, Piura se ha convertido en el segundo productor de vid en el país, con 125.616 TM, detrás de Ica, líder del fruto con 169.042 TM. Por lo tanto, se puede decir que, del total de las exportaciones peruanas, la región Ica exporta el 59 por ciento, le sigue la región Piura con 27 por ciento, 6 por ciento Lambayeque, 4 por ciento Arequipa, 3 por ciento La Libertad y otras regiones representan el 1 por ciento (Silva 2018).

La actividad productiva de la uva representó el 4,6 por ciento del valor bruto de la producción agrícola. Al 2018, las uvas frescas se convierten en el primer producto de agroexportación (US\$ 817.9 millones). La producción nacional de uvas fresca al 2018 fue de 639 mil toneladas, creciendo a una tasa promedio anual de 11 por ciento en el periodo 2000 al 2018, estando la mayoría de las áreas instaladas de uvas, en Ica y Piura y junto a Lima concentran el 93 por ciento del total de la producción nacional. Dicha producción, se concentra entre los meses de octubre a abril de cada año, con variedades de calidad como la Red Globe y variedades apirenas como la Thompson y Flame seedless, altamente demandadas en principales mercados (MINAGRI 2019).

Por otro lado, las “variedades pisqueras” se han visto desplazadas por la uva de mesa. Esto debido a que la uva de mesa es más rentable, al tener dos campañas al año. Si bien el Pisco es un producto que se encuentra en expansión, se continúa fomentando para posicionarlo en el mercado internacional (Ministerio de la Producción 2014).

### **2.3 EL PISCO**

El Pisco es un destilado considerado la bebida bandera del Perú, por su gran importancia cultural y económica. Dicho producto es obtenido únicamente por destilación de mostos frescos de "*uvas pisqueras*" recientemente fermentados, que mantengan los principios tradicionales de calidad. Es producido exclusivamente en la



costa de los departamentos de Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y los Valles de Locumba, Sama y Caplina del departamento de Tacna (CONAPISCO 2013), De acuerdo al Reglamento de Denominación de Origen (2011) se clasifican los siguientes tipos de Pisco:

- Pisco puro, obtenido exclusivamente de una sola variedad de uva pisquera;
- Pisco mosto verde, obtenido de la destilación de mostos frescos de uvas pisqueras con fermentación interrumpida;
- Pisco acholado, obtenido de la mezcla de uvas pisqueras, aromáticas y no aromáticas, mostos de uvas pisqueras aromáticas y no aromáticas,
- Mostos frescos completamente fermentados (vinos frescos) de uvas pisqueras aromáticas y no aromáticas y;
- Piscos provenientes de uvas pisqueras aromáticas y no aromáticas.

En el año 1560, en el Perú se comercializaba los "vinos de la tierra" considerados como buenos y muy buenos. A fines del siglo en referencia, también, ya se producía Pisco, que se embarcaba por el puerto que poseía el mismo nombre y a partir del siglo XVII ambos productos logran gran distinción. Razones sociales y naturales contribuyeron al descenso en producción de ambas bebidas; pero a mediados del siglo XX se produce la revitalización. Los viticultores primero mejoraron la calidad y luego expandieron la frontera vitivinícola (Huertas 2004).

En ese contexto, en el año 1991, fue reconocido oficialmente al Pisco como una Denominación de Origen Peruano mediante el Decreto Supremo N° 001-91-ICTI/IND. Posteriormente en el año 2006, la Organización Mundial de Propiedad Intelectual (OMPI), también reconoció al Pisco como un producto peruano, después de la disputa por el uso del nombre con el vecino país de Chile. Finalmente, los derechos fueron otorgados al Perú sin afectar los derechos concedidos previamente a Chile, según el acuerdo de asociación económica que este país posee con la unión europea. Sin embargo, en los últimos años, se ha logrado que varios países de América, Europa y Asia acepten la denominación de origen del Pisco peruano de manera exclusiva (Cáceres 2019).

En el año 2017, la producción nacional de Pisco registró un nuevo récord histórico al

superar los 10.9 millones de litros, esto debido al incentivo de consumo interno e incursión a nuevos mercados a través de campañas de promoción, con un crecimiento aproximado al 4 por ciento, respecto al año anterior (Ministerio de la producción 2017). La producción de Pisco tuvo un crecimiento anual de 10.8 por ciento en promedio.

A finales del año 2016 se contabilizaron 523 empresas productoras de Pisco siendo la región Lima la que reúne el mayor número de empresas (48.8 por ciento), seguida de Ica (34.6 por ciento). Estas empresas productoras de Pisco, son denominadas “bodegas”, y han sido clasificadas como: 1) Bodegas Industriales, 2) Bodegas Intermedias y 3) Bodegas Artesanales, de las cuales Ica, produce el 60 por ciento de Pisco del país (Ministerio de la Producción 2014).

## **2.4 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE LA VID**

La identificación de las variedades de vid es necesaria para el control de las plantaciones, implementar reglamentaciones y la aplicación en investigación. Por ello, desde inicios de la viticultura se han desarrollado diferentes métodos para la caracterización e identificación de variedades de vid, basados en la descripción de los diferentes órganos de la planta. Por otro lado, la viticultura tradicional ha ocasionado una difusión en la red denominación de variedades que ha generado sinonimias (nombres distintos de una misma variedad en diferentes regiones) y homonimias (variedades distintas con el mismo nombre) debido a la estructura genética compleja y un elevado número de variedades (Galet 1979).

Con el tiempo, el estudio de la vid fue evolucionando, pasando a constituir a la Ampelografía como una ciencia propiamente dicha (Vargas 2009), siendo una de las metodologías que permite aclarar el flujo de los materiales vegetales (Lavignac 2001; Sefc *et al.* 1997; Vokurka *et al.* 2003). Galet (1979), señala también que la identificación de genotipos y determinación de las relaciones filogenéticas entre estas, se realizan a través de metodologías que permiten la discriminación morfológica.

Más adelante en el año 1970 desarrollaron nuevos métodos de caracterización varietal

entre ellos los bioquímicos a través de la cuantificación de polifenoles y/o terpenos. En la década de los ochenta, fue utilizado ampliamente la caracterización isoenzimática, aunque no distingue variedades similares. Esas dificultades se superaron con los marcadores moleculares a partir de 1990, que son un indicador directo del genotipo y evitan problemas asociados a las influencias ambientales, factores fisiológicos o desarrollo del tejido. Los marcadores más utilizados para la caracterización varietal son los microsatélites los cuales muestran un polimorfismo muy alto, de fácil automatización y de resultados intercambiables entre laboratorios (Casanova 2008).

#### **2.4.1 Caracterización morfológica**

En viticultura la “Ampelografía” es la ciencia que se ocupa de la descripción de las variedades de vid para clasificarlas e identificarlas, su nombre procede de la combinación de dos términos griegos *Ampelos* (vid) y *Grafos* (descripción) (Chomé 2003), que consiste en la observación directa de la planta la cual se evalúa las estructuras, órganos visibles (forma, tamaño, color, etc.) y otras características agronómicas de relevancia. Sin embargo, estas características pueden ser alteradas por enfermedades y/o variar en función de la etapa del crecimiento o el ambiente agroclimático. Más aún, estas evaluaciones son subjetivas y están condicionadas al criterio y experiencia de cada ampelógrafo, además ha sido observado por algunos especialistas debido a que ha llevado a indexar variedades de manera errónea, especialmente de cultivares con fenotipos muy similares (Vignani *et al.* 1996).

En 1983, el Instituto Internacional para los Recursos Genéticos de Plantas (IPGRI), la Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV) y la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) establecieron el “Código de caracteres descriptivos de variedades y especies del género *Vitis*”. Este código reúne una serie de descriptores para la identificación de una variedad, que pueden presentar distintos valores, asignando una cifra para evaluar el nivel de expresión del carácter, lo que facilita el tratamiento numérico de los datos. Asimismo, este código recoge también ejemplos de variedades tipo, para cada uno de los valores de cada descriptor. Posteriormente, en 1997, se ha publicado revisiones del código, “Descriptores para la vid *Vitis* spp”, y una segunda edición en el 2009, donde se detallan 147 descriptores incorporando 18 descriptores ampelométricos, 3 ampelográficos, 4 de comportamiento fitopatológico,

2 de isoenzimas y 6 de marcadores SSR (Marsal 2015).

La Ampelografía completa de una variedad de vid requeriría la descripción de 128 caracteres según el código de la OIV (1997) y de 147 según OIV (2009) que describen distintas partes de la planta, abarcando un ciclo vegetativo. Por lo general deben describirse 10 plantas adultas por accesión y repetir la descripción durante al menos 2 ciclos biológicos. En la segunda edición de la lista de descriptores, también se oferta el uso de una “Lista prioritaria de descriptores primarios”, que consta de 14 descriptores, método autorizado para una rápida caracterización de variedades de vid. Sin embargo, la ampelografía presenta limitaciones, que le sitúan en desventaja frente a otras técnicas recientes. Una de las más importantes es el tiempo, ya que la planta debe ser adulta, lo que se puede traducir en cuatro años desde la plantación y porque se describen caracteres que abarcan un ciclo vegetativo completo de la planta. Otras limitaciones de la ampelografía están relacionadas con la dificultad para obtener descriptores universales debido a la variabilidad con que se manifiestan ciertos caracteres en distintos ambientes (clima, suelo, etc.) lo que impide afirmar que las variedades sean distintas (Costacurta *et al.* 2006) y también a la subjetividad que introduce el propio descriptor. Por ejemplo, según los estudios de Silvestroni *et al.* (1997) citado por Ortiz *et al.* (2003) no pudieron distinguir los clones de la variedad Fortana, a pesar de que la ampelografía se ve favorecida por la multiplicación vegetativa.

Por tanto, para minimizar el efecto ambiental se tiene que hacer la caracterización morfológica al menos 2 años. En diversos trabajos como en el de Martínez *et al.* (2006) realizaron la media de datos de 2 años, en dicho análisis incluyeron además, otros métodos de caracterización entre ellos los marcadores moleculares. Asimismo, en la investigación de Cervera *et al.* (2001) también realizaron observaciones ampelográficas durante 2 años y con tres ampelógrafos distintos en el mismo banco de germoplasma observando que este método agrupa de manera heterogénea muy diferente a los formados por la caracterización molecular.

Es necesario complementar con otros métodos para realizar una correcta identificación de la vid debido a las limitaciones del método y otros factores como la localización de la variedad, enfermedades fitosanitarias como la virosis y la morfología de los clones

(Ortiz *et al.* 2003). Sin embargo, a pesar de sus limitaciones es un potente método, tal como lo demostraron Weihl and Dettweiler (2000) que describieron 525 variedades con 141 descriptores llegando a discriminar hasta un 90% de accesiones.

El IPGRI, propuso las técnicas de análisis multivariante para el análisis de datos ampelográficos, siendo el más frecuente el análisis jerárquico que permite agrupar en dendogramas a los grupos relativamente homogéneos con base a alguna similitud, entre ellos y el más utilizado es el método UPGMA (Método no ponderado de agrupamiento usando promedios aritméticos) (Cervera *et al.* 2001). Costacurta *et al.* (2006), es uno de los pocos que utilizan la medida de Ward para realizar dendogramas ya que esta medida es aplicada generalmente para datos cuantitativos.

#### **2.4.2 Caracterización Molecular**

En la actualidad, la identificación de variedades se realiza a nivel molecular utilizando diversas técnicas, tales como alozimas o análisis de ADN, que miden los niveles de variación directamente. Los análisis moleculares comprenden una gran variedad de marcadores moleculares de ADN, que se pueden emplear para el análisis de la variación. Dichos marcadores tienen diferentes cualidades genéticas que pueden ser dominantes o codominante, amplificando loci anónimos o caracterizados, pudiendo contener secuencias expresadas o no expresadas, etc. (Mondini *et al.* 2009). En ese sentido, Cervera *et al.* (2001), señala que la identidad genética de un cultivar puede variar debido a mutaciones somáticas generadas durante su reproducción vegetativa y aunque conserven el nombre original, pueden presentar diferencias tanto fenotípicas como genotípicas (sinonimias). También la sinonimia se aplica a cultivares que, aunque genéticamente diferentes, se han manejado como si fueran un único tipo. Alternativamente, la dispersión geográfica de un mismo genotipo o cultivar suele conllevar su redenominación, es decir, varios nombres para un mismo genotipo (homonimia).

Las técnicas moleculares son herramientas poderosas que permiten caracterizar de manera más precisa y directa, obteniéndose un "perfil molecular" o "fingerprinting" único para cada variedad, dichas técnicas también permiten obtener las estimaciones de la diversidad genética de una población determinada, así como información sobre frecuencias alélicas, nivel de heterocigosidad de una población y subdivisión de

poblaciones, entre otras, en un período de tiempo menor al ocupado mediante estrategias convencionales (Constantini *et al.* 2005).

En el cultivo de la vid, los microsatélites es la herramienta de análisis molecular más utilizada por ejemplo el caso de la variedad *Cabernet Sauvignon*, permitió determinar el parentesco indicando que es producto del cruzamiento entre *Cabernet Franc* y *Sauvignon Blanc* (Bowers y Meredith 1999). Así mismo, Sefc *et al.* (2000) citado por Martínez *et al.* (2006) identificó el parentesco de 51 variedades con 24 marcadores microsatélites. La Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2001) señala la importancia de los marcadores microsatelites (SSR) como un método eficiente y útil para la identificación de la vid y para el análisis de parentescos; estos se encuentran distribuidos de manera aleatoria dentro del genoma de vid, y están sujetos a herencia mendeliana (codominante).

Es por ello que se desarrolló el proyecto “EU Genres CT96 N°81” para estandarizar las evaluaciones a este nivel donde se implementaron 6 loci SSR polimórficos (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 y VrZAG79) los que permitieron comparar los resultados por diferentes laboratorios y con distintos equipamientos y protocolos. Borrego *et al.* (2002) realizó estudios con microsatelites para determinar el origen policlonal de los cultivares en los grupos Malvasía y Torrontés. Ulanovsky *et al.* (2002) complementó los estudios del Banco de germoplasma de España con microsatelites. Otro tipo de estudios con microsatélites se ha realizado para la identificación de variedades autóctonas como Parraleta y Moristel (Cabello *et al.* 2003).

En Huesca (España) Casanova (2008), identificó y clasificó mediante Ampelografía, de 92 variedades, un total de 80 variedades (23 blancas y 57 tintas), a través de ampelometría identificó 87 variedades (27 blancas, 59 tintas y 1 vid silvestre), y mediante caracterización molecular clasificó 82 variedades (29 blancas, 52 tintas y 1 vid silvestre). De los tres métodos aplicados el más discriminante fue el de los marcadores moleculares siendo el dendograma el que agrupa de manera más eficiente las variedades, mientras que para la ampelografía debió ser optimizada eliminando los caracteres más subjetivos o influenciados por el medio ambiente. La ampelometría por el contrario para garantizar sus resultados debería ser aplicada junto a otro método.

En otro estudio Martínez *et al.* (2006) realizaron la caracterización molecular de siete variedades de vid empleadas en Argentina para la elaboración de vinos de alta gama, con 8 pares de iniciadores previamente descritos para *Vitis vinífera* L. (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD31, VVMD32, VVMS2, VrZAG62 y VrZAG79) a través del empleo de Microsatélites. Seis de los 8 pares de cebadores amplificaron patrones de bandas reproducibles, reportando a VrZAG79 como el locus más informativo y a VrZAG62 como el menos informativo. Estos autores concluyeron que los microsatélites en la identificación varietal de la vid, son muy útiles para la certificación varietal ya que se cuenta con amplias bases de datos publicadas. Asimismo, esta técnica también permite determinar la diversidad genética, origen y sus relaciones para ordenar colecciones de Germoplasma, con ese objetivo Constantini *et al* (2005) evaluó 114 accesiones que supuestamente correspondían a 69 variedades locales de uva de Campania (sur de Italia) con 8 marcadores de microsatélites (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD31, VrZAG62 y VrZAG79). Según su genotipo único en SSR loci se encontraron 56 variedades y además revelaron casos interesantes de sinonimia y homonimia. La agrupación de cultivares no reflejaba su actual distribución y esto sugiere que los cultivares de uva de Campania podrían haberse introducido de diversas y distintas áreas geográficas.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 UBICACIÓN

La investigación comprendió dos ámbitos de estudio:

**Caracterización ampelográfica:** se ha realizado en la Colección de germoplasma del Centro de Innovación Tecnológica Vitivinícola – CITEvid, ahora Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica Agroindustrial – CITEagroindustrial, ubicado a 13°59'52" S – 75°46'12" W – 417 msnm, en la Panamericana Sur Km. 293.3 de Salas Guadalupe de la Provincia y Departamento de Ica - Perú. Los viñedos fueron replantados en la década de los 90 desde la colección original que fue creada en la década de los 70 a partir de una prospección de los viñedos peruanos más antiguos obtenidos de las diferentes zonas con denominación de origen Pisco comprendida entre Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y los Valles de Locumba, Sama y Caplina del departamento de Tacna (INDECOPI 2017) (Figura 10), siendo la más representativa y oficial del país.

**Caracterización molecular:** se desarrolló en el Área de Genómica y Bioinformática del Instituto de Biotecnología – IBT de la Universidad Nacional Agraria la Molina ubicado Av. La Universidad s/n, en el distrito de La Molina del Departamento de Lima - Perú.



**Figura 10: Mapa del Ámbito Geográfico de la Denominación de Origen Pisco**  
**FUENTE: INDECOPI (2017).**



## 3.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

### 3.2.1 Material vegetal

Las evaluaciones morfológicas, se realizaron mediante Ampelografía, en 08 variedades de vid (variedades pisqueras) que forman parte de la colección de germoplasma del CITEagroindustrial de Ica. De esta colección fueron evaluadas 10 accesiones/variedad, haciendo un total de 80 accesiones durante las campañas 2017 - 2018. En la Tabla 2, se describe cada una de las variedades materia de estudio del presente trabajo de investigación.

**Tabla 2: Código, nombre local, tipo de Pisco y zona de producción en el ámbito de la D.O. de los genotipos estudiados en la Colección de germoplasma del CITEagroindustrial**

Código de la accesión	Nombre local	Pisco	Zona de producción
Q - 1	Quebranta	no aromático	Ica
F - 23	Moscatel	aromático	Arequipa, Acarí
A - 1	Mollar	no aromático	Ica
LL - 1	Albilla	aromático	Ica
L - 7	Torontel	aromático	Ica
J - 3	Italia	aromático	Tacna, Moquegua
F - 21	Uvina	no aromático	Lunahuaná Cañete
F - 11	Negra corriente	no aromático	Tacna

**FUENTE:** INDECOPI (2019) (Biopat-Perú).

Por tanto, la caracterización morfológica mediante Ampelografía, fue ejecutada de acuerdo a los descriptores de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). Los principales caracteres a evaluar fueron los que se encuentran descriptos en la “Lista prioritaria de descriptores primarios de la OIV” acorde a la última versión publicada por la OIV (2001), que consistieron en 14 variables cualitativas utilizadas para realizar caracterizaciones rápidas (Tabla 3).

**Tabla 3: Lista Prioritaria de Descriptores Primarios según la OIV**

Código	Órgano	Carácter Morfológico	Notación (*)
OIV 001	Pámpano joven	Apertura de la extremidad	1 Cerrada 3 Semi abierto 5 Abierto
OIV 004	Pámpano joven	Densidad de los pelos tumbados de la extremidad	1 Nula o muy baja 3 Baja 5 Media 7 Alta 9 Muy alta
OIV 016	Zarcillo	Número de zarcillos consecutivos	1 Dos ó menos 2 Tres ó más
OIV 051	Hoja jóven	Color del haz del limbo (4ta hoja)	1 Verde 2 Amarillo 3 Bronceado 4 Cobrizo - rojizo
OIV 067	Hoja adulta	Forma del limbo	1 Cordiforme 2 Cuneiforme 3 Pentagonal 4 Orbicular 5 Reniforme
OIV 068	Hoja adulta	Número de lóbulos	1 Uno (hoja entera) 2 Tres 3 Cinco 5 Siete 7 Mas de siete
OIV 070	Hoja adulta	Distribución de la pigmentación antociánica de los nervios principales del haz del limbo	1 Ausente o nula 2 Punto peciolar 3 Hasta la primera bifurcación 4 Hasta la segunda bifurcación 5 Por encima de la segunda bifurcación
OIV 076	Hoja adulta	Forma de los dientes	1 Ambos lados cóncavos 2 Ambos lados rectilíneos 3 Ambos lados convexos 4 Un lado cóncavo un lado convexo 5 Mezcla de ambos lados rectilíneos (nivel 2) y ambos lados convexos (nivel3)
OIV 079	Hoja adulta	Grado de apertura / solapamiento del seno peciolar	1 Muy abierto 3 Abierto 5 Cerrado 7 Superpuesto 9 Muy superpuesto
OIV 081-2	Hoja adulta	Base del seno peciolar limitada por la nervadura	1 No delimitada 2 En un lado 3 En ambos lados
OIV 084	Hoja adulta	Densidad de los pelos tumbados entre los nervios principales sobre el envés del limbo	1 Nula o muy baja 3 Baja 5 Media 7 Alta 9 Muy alta
OIV 087	Hoja adulta	Densidad de los pelos erguidos sobre los nervios principales del envés del limbo	1 Nula o muy baja 3 Baja 5 Media 7 Alta 9 Muy alta
OIV 223	Baya	Forma	1 Esférica achatada      2 Esférica 3 Eliptica corta        4 Eliptica larga 5 Cilíndrica                6 Troncovoide 7 Ovoide                    8 Ovoide inversa 9 En forma de cuerno    10 Apezonado
OIV 225	Baya	Color de la epidermis	1 Verde Amarilla 2 Rosa 3 Roja 4 Gris 5 Roja violeta oscura 6 Azul negra

(\*) Se indican los niveles de expresión para las características ampelográficas O.I.V. (2001)

Las observaciones de los caracteres morfológicos se realizaron en cuatro épocas del ciclo fenológico anual de la vid y fueron las siguientes:

**Observaciones entre brotación y floración:**

Estas se evaluaron en pámpanos jóvenes de 10 a 30 cm. de longitud. Los registros obtenidos correspondieron a la extremidad del pámpano por encima de la primera hoja destacada y se observaron en pámpanos jóvenes y hojas jóvenes de cada accesión, dichas observaciones registradas provienen de la moda de 10 pámpanos por variedad (Tabla 3).

#### **Observaciones durante la Floración:**

El tiempo de evaluación en esta etapa inició cuando las flores llegaron al 40 por ciento de apertura floral. Todas las observaciones se realizaron sobre el tercio medio del pámpano. Los caracteres que se observaron en este estado correspondieron a pámpanos y zarcillos. Las observaciones registradas provinieron de la moda de 10 pámpanos por variedad (Tabla 3).

#### **Observaciones entre Cuajado y Envero:**

Las observaciones realizadas de las hojas adultas fueron por encima de los racimos sobre el tercio medio del pámpano, y se registraron los valores. Los resultados provinieron de la moda de 10 hojas adultas por variedad (Tabla 3).

#### **Observaciones durante la Madurez del racimo:**

Las observaciones fueron descritas y registradas en pleno estado de maduración sobre las bayas, y los datos correspondieron a la media de 40 bayas maduras por variedad (Tabla 3).

### **3.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR**

#### **3.3.1 Material vegetal**

Se colectaron hojas jóvenes y sanas en activo crecimiento, de dos accesiones por “variedad pisquera”. Las hojas se colocaron en sobres con papel absorbente en su interior y silica gel hasta el momento de la extracción del ADN. Las hojas fueron obtenidas del CITEagroindustrial - ICA y se conservaron a -20°C para su utilización.

#### **3.3.2 Extracción y cuantificación del ADN**

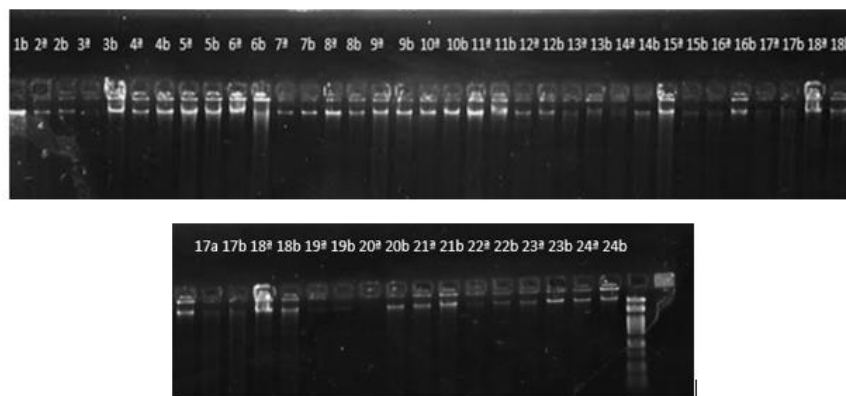
Para las extracciones de DNA se utilizó la metodología de CTAB (Doyle & Doyle 1990), modificado. La cuantificación del ADN fue realizada mediante

espectrofotometría y por el método de minigel (Maniatis *et al.*, 1982 citado por Rojas, 2007). A partir de las extracciones de ADN de *Vitis vinífera* L., se efectuó la cuantificación en la cual, las muestras consistieron en hojas jóvenes y frescas mostrando altos rendimientos. La proporción de pureza estuvo entre 1.9 (DO260/DO280) (Tabla 4). El análisis de calidad del ADN se realizó en agarosa y reveló bandas claramente definidas sin degradación alguna (Figura 11).

**Tabla 4: Cuantificación del ADN de las “variedades pisqueras” mediante espectrofotometría**

Sample ID	User ID	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
Que 1	Nanodrop	2389.17	47.783	24.598	1.94	2.23
Que 2	Nanodrop	1401.86	28.037	14.422	1.94	2.23
Mos 1	Nanodrop	1034.19	20.684	10.647	1.94	1.91
Mos 2	Nanodrop	2119.02	42.38	21.885	1.94	2.22
Moll 1	Nanodrop	801.25	16.025	8.089	1.98	2.22
Moll 2	Nanodrop	2223.36	44.467	22.78	1.95	2.26
Alb 1	Nanodrop	1087.1	21.742	11.044	1.97	2.26
Alb 2	Nanodrop	1746.46	34.929	18.002	1.94	2.13
Ita 1	Nanodrop	403.1	8.062	4.347	1.85	1.87
Ita 2	Nanodrop	925.99	18.52	9.454	1.96	2.13
Uv 1	Nanodrop	55.58	1.112	0.662	1.68	0.95
Uv 2	Nanodrop	960.77	19.215	9.713	1.98	2.24
NC 1	Nanodrop	936.43	18.729	9.756	1.92	1.63
NC 2	Nanodrop	913.14	18.263	9.173	1.99	2.23

Se visualizaron las muestras extraídas de ADN con el método del minigel (agarosa al 1% p/v, tinción con bromuro de etidio) tomándose en cuenta la definición y espesor de la banda analizada en el gel para comparar con el fragmento de la digestión del ADN del fago  $\lambda$ , que contenía 280 ng/ $\mu$ L, equivalente a 14800 pb., estimándose mediante comparación visual la concentración y calidad del ADN de cada cultivar. Posteriormente, las muestras fueron diluidas con agua libre de nucleasas hasta alcanzar 20 ng/ $\mu$ L de concentración.



**Figura 11: Calidad de ADN de las “variedades pisqueras” a través del método de Minigel. L marcador Lamda  $2\mu\text{L}$  =  $6\eta\text{g}$ . Muestras de ADN, carga  $1\mu\text{L}$**

### 3.3.3 Desarrollo de la técnica de microsatelites

#### a. Selección de Iniciadores

La comunidad científica de la Vid y el Vino, con el propósito de unificar la clasificación de las variedades y especies de *Vitis*, realizó el proyecto GENRES 081. A través de dicho proyecto fueron seleccionados 06 marcadores microsatelites altamente discriminantes; VVS2 (Thomas and Scott 1993), VVMD5, VVMD7, VVMD27 (Bowers *et al.* 1996, 1999), VrZAG62 y VrZAG79 (Sefc *et al.* 1999), por la Base de datos Europea *Vitis* y el Catálogo Internacional de variedades de *Vitis* (VIVC). Estos iniciadores fueron aceptados como marcadores genéticos de referencia por la comunidad científica internacional (This *et al.* 2004), e incluidos también en la Lista de Descriptores para variedades de Vid y Especies de *Vitis* (OIV) (OIV-VITI 609 2019) donde posteriormente, además, se incorporaron otros 03 iniciadores VVMD32, VVMD25 y VVMD28 (Bowers *et al.* 1996, 1999), por su alto nivel de polimorfismo, herencia mendeliana codominante y alta reproducibilidad. Para esta investigación se usaron el set de 09 marcadores microsatelites para genotipar las accesiones de variedades pisqueras.

#### b. Estandarización de temperatura de anclaje de los Iniciadores

Habiendo sido corroborada la calidad del DNA, se hicieron los ajustes necesarios de los parámetros de amplificación en las regiones de microsatélites elegidos. En cada uno de los casos, se aplicó un protocolo de ciclado del tipo touch down que facilitó la obtención de bandas con el tamaño esperado para los amplicones de cada marcador. (Figura 12)



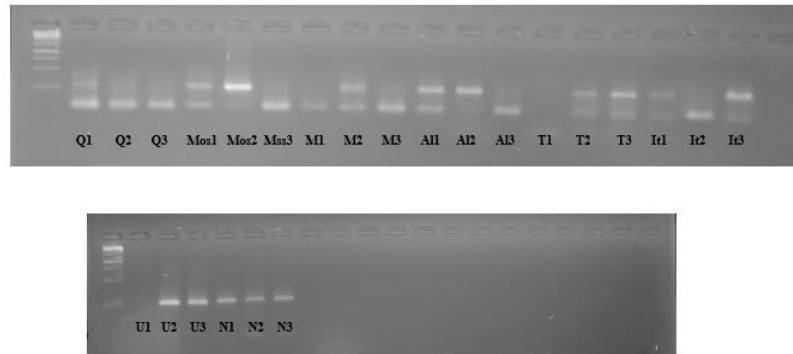
**Figura 12: Estandarización de concentraciones de marcadores microsatelites para las “variedades pisqueras”.**

Una vez establecido las concentraciones de cada marcador y las temperaturas (Tabla 06) para cada uno de ellos se continuó con la genotipificación de las variedades pisqueras. Se detalla a continuación los volúmenes y concentraciones de reacción PCR en la Tabla 5.

**Tabla 5: Volumen de reacción PCR (Concentraciones finales)**

Reactivo	VOL (uL)	Conc. Final
Buffer 10X (Gene ON + MgCl <sub>2</sub> )	1.25	
dNTP (10mm)	0.3	
Primer	0.5	5uM
Taq (Gene ON) 5U/uL	0.2	
ADN( ~20ng/uL)	2	~40 ng
NWF	5.75	
<b>Total</b>	<b>10 uL</b>	

Se siguieron las siguientes condiciones de PCR: 94°C x 3 min, 35 ciclos de 94°C x 45 s, Ta x 45 s, 72°C x 90s y una extensión final de 72°C x 20 min (Aliquó et al. 2017) con algunas modificaciones. Primero, los productos de PCR, se visualizaron en geles de agarosa al 1.5 por ciento, a fin de corroborar que las diluciones en las muestras de ADN y amplificaciones se realizaron correctamente. Luego de hacer la verificación se ejecutó la amplificación de los productos a través de electroforesis en geles de poliacrilamida al 6 por ciento, a continuación, se muestra en la Figura 13.



**Figura 13:** Electroforesis de prueba con el iniciador VVDM5 para las ocho “variedades pisqueras”.

**Tabla 6: Iniciadores empleados para la caracterización molecular de las “variedades pisqueras.”**

SSR	temperatura	Forward primer	Reverse primer	Referene	Size range in base pairs
VVMD 32	61	TATGATTTTTTTAGGGGGGTGAGG	GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers et al. (1999)	217-289
MD25	58	TTCCGTAAAGCAAAAGAAAAGG	TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG	Bowers et al. (1999)	240-280
VVMD27	60	GTA CCA GAT CTG AAT ACA TCC GTA AGT	ACG GGT ATA GAG CAA ACG GTG T	Bowers et al. (1999)	175 - 190
VrZAG62	63	GGT GAA ATG GGC ACC GAA CAC ACG C	CCA TGT CTC TCC TCA GCT TCT CAG C	Sefc et al. (1999)	185 - 202
VrZAG79	63	AGA TTG TGG AGG AGG GAA CAA ACC G	TGC CCC CAT TTT CAA ACT CCC TTC C	Sefc et al. (1999)	240 - 255
VVMD5	56	CTA GAG CTA CGC CAA TCC AA	TAT ACC AAA AAT CAT ATT CCT AAA	Bowers et al. (1996)	220 - 250
VVMD7	60	AGA GTT GCG GAG AAC AGG AT	CGA ACC TTC ACA CGC TTG AT	Bowers et al. (1996)	230 - 270
VVS2	60	CAG CCC GTA AAT GTA TCC ATC	AAA TTC AAA ATT CTA ATT CAA CTG G	Thomas and Scot (1993)	120 - 165
VVMD28	60	AAC AAT TCA ATG AAA AGA GAG AGA GAG A	TCA TCA ATT TCG TAT CTC TAT TTG CTG	Bowers et al. (1999)	216-266

\*Se optimizaron las temperaturas de annealing para cada marcador microsatélite.

**FUENTE:** OIV-VITI 609 (2019).



### c. Amplificación de los Microsatélites

A partir del DNA obtenido se amplificaron, aplicando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un volumen final de 10 uL, con 20 ng de ADN, tampón para PCR 1X (100 mM de Tris-HCl, 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, y 20mM de sulfato de amonio); 0.5 uM de cada iniciador (directo y reverso) y 1U de enzima Taq polimerasa (Tabla 5). Se siguió el manual de protocolos de Biología Molecular del Instituto de Biotecnología - IBT y de Aliquó *et al.* (2017), con algunas modificaciones, conforme a la estandarización de concentraciones y temperatura óptima de unión de cada iniciador a la región flanqueante del microsatélite (Tabla 6). Las condiciones de PCR fueron: 94°C x 3 min, 35 ciclos de 94°C x 45 s, Ta (temperatura de annealing específica) x 45 s, 72°C x 90s y una extensión final de 72°C x 20 min (Aliquó *et al.* 2017).

### d. Detección de los segmentos Microsatélites amplificados

Los productos de amplificación fueron visualizados en geles de poliacrilamida al 6 por ciento y por electroforesis capilar.

**Detección de polimorfismo con Nitrato de Plata.-** en este punto se realizó mediante electroforesis la separación de los fragmentos amplificados con geles denaturantes de poliacrilamida al 6 por ciento. Luego se verificó el tamaño de los fragmentos y tomó como referencia para la corrida al colorante de carga (xilencianol), el cual tenía un peso de 106 pb. El tamaño de los fragmentos influyó en el tiempo de corrida (CIP 1997 citado por Rojas 2007). Dichos fragmentos amplificados se pudieron visualizar mediante tinción del gel de poliacrilamida con nitrato de plata. Finalmente, se calculó la frecuencia alélica de los fragmentos determinados de los distintos genotipos SSRs propios a los patrones de Microsatélites.

**Detección de polimorfismo con Fluorocromo.-** Los iniciadores SSR fueron marcados con marcas fluorescentes (Fluorocromo) para realizar la PCR, luego de obtener los productos de PCR con los mismos perfiles de amplificación logrados para la electroforesis en geles de poliacrilamida, se verificó la separación de los

fragmentos en geles de acrilamida al 1.5 por ciento. A estos productos se adicionó 9.7 uL de Fornamida HD y 0.3 uL de estándar LIZ600 para posteriormente ser leído cada fragmento marcado y separado por tamaño con el analizador genético, con detección automatizada de los fragmentos de ADN marcados con fluorocromo, proporcionando la secuencia ordenada de los fragmentos en electroferogramas arrojados por un analizador genético ABI 3130 XL Genetic Analyser (Applied Biosystems). El marcador de peso molecular LIZ600 fue usado para la electroforesis capilar. Finalmente los electroferogramas obtenidos fueron analizados con el programa Genemapper versión 4.0.

Se realizaron ambas metodologías, debido a que con la primera (Detección de polimorfismo con Nitrato de Plata), no se logró la identificación precisa del tamaño de alelos. Posteriormente con la segunda metodología se logró la identificación de los alelos con su respectivo número de pares de bases.

#### **e. Registro de alelos**

Electroforesis en geles de poliacrilamida.- el tamaño de los alelos fue estimado utilizando un marcador de peso de 50pb y el registro de los mismos revelados en los geles de poliacrilamida fue tomando la banda superior como referencia de cada par, que conforman un alelo; en el caso de que ambas bandas son visibles, o la más intensa de un par de bandas en el caso de bandas tartamudas (Ghislain *et al.* 2004 citados por Rojas 2007). Unicamente, las bandas que mostraron patrones SSR definidos fueron usadas para el análisis, las cuales fueron repetidas hasta 3 veces en caso de observar bandas SSR dudosas. Mediante una matriz binaria usando el software Excel 2013 de Microsoft, fueron registrados los alelos obtenidos, en la cual a los alelos SSR presentes se les asigna el valor de 1 y a los alelos SSR ausentes el valor de 0 (Anexo 1).

Electroforesis capilar.- el peso molecular de cada alelo analizado fue determinado mediante electroferogramas procesados con el software Genemapper v.4.0 (Applied Biosystems). Luego, esta data obtenida fue comparada con la base de datos del VIVC. Este análisis facilitó la identificación de las “variedades pisqueras”

(*Vitis vinífera* L.). La estimación de parámetros genéticos fue en base a los modelos descritos a continuación:

Conteo de número de alelos ( $N_a$ ). El número de los alelos esperados ( $N_e$ ), según Kimura y Crow (1964) se calcula como:

$$N_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Para determinar la heterocigosis observada ( $H_o$ ), se aplicó la relación de genotipos heterocigóticos entre el total de genotipos analizados para cada locus (Martínez *et al.* 2006).

La heterocigosis esperada ( $H_e$ ) fue calculado como:

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

Donde:

$P_i^2$  = frecuencia del alelo  $i$ ésimo para cada locus (Nei 1987),

### **3.4 ANÁLISIS DE DATOS**

#### **3.4.1 Análisis de datos de la caracterización ampelográfica**

Los datos ampelográficos fueron analizados mediante una tabla (hoja de cálculo Microsoft Excel), donde las filas corresponden a las accesiones y las columnas a los caracteres ampelográficos.

##### **a. ANÁLISIS UNIVARIADO**

Una vez construida la tabla con los datos ampelográficos, se hicieron los cálculos para determinar la moda de cada descriptor morfológico cualitativo evaluado (análisis univariado), identificando el valor que tuvo mayor frecuencia en las evaluaciones realizadas. Para la determinación de las variables diferenciales de las *variedades pisqueras*, se realizó el análisis de frecuencia única, empleando el software R 4.0.2 y R Studio 1.3.1056.

## b. ANÁLISIS DE MULTIVARIADO

### Análisis de Agrupamiento

El programa estadístico NTSYS V 2.2 fue aplicado para evaluar las distancias genéticas mediante el análisis de agrupamiento.

$$D_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - X_{ik})^2}{n}$$

Donde:

n= es el número de características

X<sub>ij</sub>= es el valor del carácter i del OTU j

X<sub>ik</sub>= es el valor carácter i del OTU k.

Se elaboró el dendograma o matriz de distancias utilizando el algoritmo UPGMA (Método de la media ponderada entre grupos) y distancia Euclídea (Hair *et al.* 1999), como parte del programa estadístico NTSYS - pc versión 2.2 (Rohlf 2017)

### 3.4.2 Análisis de datos de la Caracterización Molecular

#### a. Análisis Univariado

##### Determinación del índice de contenido polimórfico (PIC)

Mediante el cálculo del contenido de índice polimórfico (PIC), se determinó la variabilidad del locus analizado, calculado mediante la relación de las bandas polimórficas entre el número total de bandas, utilizando la formula descrita a continuación:

$$CIP = 1 - \sum p_i^2 - \sum \sum 2p_i^2 \cdot \sum p_j^2$$

Donde:

p<sub>i</sub> = es la frecuencia del alelo i para el locus estudiado

p<sub>j</sub> = es la frecuencia del alelo (i + 1) (Hildebrant *et al.* 1992 citados por Martínez *et al.* 2006).

Luego de hacer el cálculo del Índice del contenido polimórfico para cada Locus, se determinó el índice de marcadores SSR usando el siguiente modelo:

$$\text{Índice de iniciador} = \frac{\sum (\text{PIC}_{a1} + \text{PIC}_{a2} + \dots + \text{PIC}_{as})}{L}$$

Donde:

**a1, a2, y as** : son los fragmentos polimórficos y

**L** : es el número total de bandas por combinación de primers.

Los cálculos fueron realizados en Microsoft Excel 2013.

## **b. Análisis Multivariado**

### **Análisis de agrupamiento**

Se utilizó la matriz de similaridad para realizar el análisis de agrupamiento, basado en el coeficiente de similitud. Dicho coeficiente se calculó a través de Jaccard, a fin de determinar la relación entre las accesiones. Para establecer las relaciones genéticas se generó un dendograma con el método de UPGMA. Para validar el ajuste del dendograma se estimó la correlación del coeficiente cofenético. Los pasos citados se ejecutaron mediante el software NTSYS - pc versión 2.2 (Rohlf 2017).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. CARACTERIZACION MORFOLÓGICA

La caracterización morfológica para determinar la identidad de las “*variedades pisqueras*”: Quebranta, Moscatel, Mollar, Albilla, Torontel, Italia, Uvina y Negra Criolla se realizó mediante Ampelografía, basada en la descripción de 14 variables cualitativas según la “Lista prioritaria de descriptores primarios”, establecidas para una rápida caracterización en la segunda edición de la Lista de Descriptores OIV para variedades de vid y especies de *Vitis* (OIV 2009). Los resultados de la ampelografía de las “*variedades pisqueras*” se muestran en la Tabla 7, indicando en cada descriptor el nivel de expresión ampelográfico el mismo que permitió diferenciar notoriamente a las 8 variedades.

**Tabla 7: Variables ampelográficas de las “8 variedades pisqueras”. \***

OIV	Descriptor	Quebranta	Moscatel	Mollar	Albilla	Torontel	Italia	Uvina	Negra Criolla
001	Apertura de la extremidad	5	5	5	5	5	5	5	3
004	Densidad de los pelos tumbados de la extremidad	7	7	5	7	7	9	7	5
016	Nº de zarcillos consecutivos	1	1	1	1	1	1	2	1
051	Hojas juvenes	2	2	1	2	3	3	4	3
067	Forma del limbo	3	3	4	3	3	2	3	2
068	Nº de lobulos	3	3	2	3	3	3	3	3
070	Distribución de la pigmentación antocianica de los nervios principales del haz del limbo	1	3	1	3	2	1	1	2
076	Forma de los dientes	3	3	3	5	3	2	3	3
079	Grado del apertura / solapamiento del seno peciolar	3	3	3	3	3	3	3	3
081-2	Base del seno peciolar limitada por la nervadura	1	1	1	1	1	1	1	1
084	Densidad de los pelos tumbados entre los nervios principales sobre el envés del limbo	7	5	5	7	7	7	5	5
087	Densidad de los pelos erguidos sobre los nervios principales del envés del limbo	5	3	5	1	1	1	1	1
223	Forma de la baya	3	1	3	2	2	8	2	2
225	Color de la epidermis de la baya	5	3	2	1	1	1	6	5

\* Los datos corresponden a la moda de 10 mediciones de sus niveles de expresión., OIV= códigos de variables.

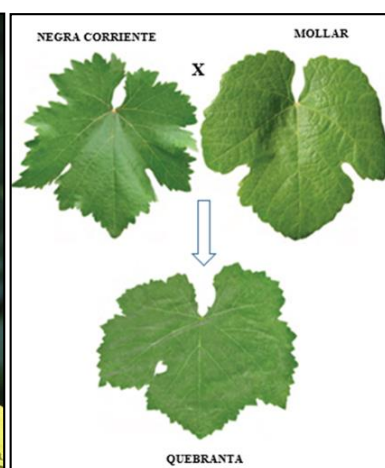
Los resultados evidencian las diferencias entre las ocho variedades pisqueras. Los fenotipos de Quebranta y Mollar mostraron una similitud parcial, en la cual compartieron 8 caracteres de los 14 descriptores evaluados. Del mismo modo, entre Quebranta y Negra criolla, comparten la misma notación en 6 caracteres evaluados. Esa combinación de caracteres morfológicos, hace que el perfil fenotípico de la variedad Quebranta sea muy particular y que además difieren de las variedades provenientes de Europa. En la investigación de This *et al.* (2006), confirmaron que, la variedad Quebranta era resultante de la progenie de Listan Prieto y Mollar. Una de las características más notables en la evaluación se observó en el carácter de código OIV-067, forma de las hojas adultas, en la cual Negra Criolla tenía hojas de forma cuneiforme y por otro lado la variedad Mollar mostró hojas adultas de forma orbicular, mientras que la variedad Quebranta tenía hojas de forma pentagonal. Este carácter, podría indicar un tipo de herencia intermedia ya que manifiesta un fenotipo intermedio entre los dos progenitores (Figura 16). Lo descrito anteriormente, ayudó a evidenciar los resultados obtenidos por This *et al.* 2006, quien demostró que se trataría de una variedad criolla originada en América y en nuestro país, es así que se convirtió en la variedad emblemática del Perú.



**Figura 14:** Distribución de los zarcillos consecutivos en *Vitis vinifera* L.



**Figura 15:** Distribución de los zarcillos consecutivos en no *Vitis vinifera* L.



**Figura 16:** Forma de la hoja adulta (Haz).

Foto: Cáceres (2012).

Una de las principales características que permitió diferenciar a las variedades que no pertenecen a la especie *Vitis vinifera* L. (OIV 2009), fue el carácter evaluado en los pámpanos adultos con el código OIV- 016, Número de zarcillos consecutivos.

Para dicho carácter, las variedades que presentaron dos o menos zarcillos pertenecieron a la especie *Vitis vinifera* L. En ese sentido, Quebranta, Moscatel, Italia, Negra Criolla, Mollar, Albilla y Torontel presentaron dos o menos zarcillos consecutivos (Figura 14), sin embargo, Uvina presentó tres zarcillos consecutivos o más (Figura 15), en los pámpanos adultos. Este hallazgo fue respaldado por los estudios de Pszczólkowski y Lacoste (2016) que determinaron a la variedad Uvina como un antiguo híbrido productor directo denominado Jacquez resultante de la cruce entre *Vitis Aestivalis-cinerea* x *Vitis vinifera* L.

Los niveles de expresión de la variedad Italia fueron semejantes para los 13 caracteres evaluados en contraste con la variedad Moscatel de Alejandría (Lacoste *et al.* 2015., Rodríguez-Torres 2017). Estas similitudes también fueron confirmadas en las evaluaciones ampelográficas realizadas por Mendoza *et al.* (2018) haciendo referencia que es una sinonimia utilizada en el Perú, por lo cual se concluyó que se trataría de la misma variedad. Por otro lado, las variedades Italia y Torontel, compartieron 9 caracteres de los 14 evaluados, mostrando perfiles fenotípicos similares con excepción para 5 caracteres (OIV, 4, 67, 70, 76 y 223). Esta similitud morfológica se podrían atribuir a que el grupo de los Torrontés correspondiera a la progenie de Moscatel de Alejandría (Agüero *et al.* 2016). En otro trabajo de investigación de la Universidad de Cuyo de Mendoza – Argentina, estudiaron la ampelografía del grupo Torrontés (Torrontés Riojano, Torrontés Sanjuanino y Torrontés Mendocino), determinando que la variedad Torontel compartía 12 caracteres de los 14 evaluados, con Torrontés Riojano y Torrontés Sanjuanino, si bien son muy cercanas morfológicamente, hubo claras diferencias en los caracteres OIV, 067 y 225, indicando que no se trataría de la misma variedad. Sin embargo para Cáceres *et al.* (2017), Torontel es una sinonimia de Torrontés Riojano.

La variedad Negra Criolla, tuvo las mismas notaciones ampelográficas de la variedad Listan Prieto acorde a la descripción en el Catálogo de variedades y clones de vid cultivados en Francia (IFVV 2007), descritas por Agüero *et al.* (2003) citado por Cáceres *et al.* (2017). En otro trabajo, realizado por el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (Rodríguez-Torres 2017), la variedad Listan Prieto compartió 13 de 14 caracteres ampelográficos evaluados en Negra criolla, debido a



la similitud encontrada entre estas variedades reafirmamos que se trataría de otra sinonimia.

Otro caso de sinonimia se determinó en la variedad Mollar, las evaluaciones ampelográficas coinciden con lo descrito por Cáceres *et al.* (2017). En la Estación Experimental Rancho de la Merced de Jerez de la Frontera (España), realizaron el mismo trabajo en (caracterización ampelográfica) la variedad Mollar Cano. Al contrastar con el fenotipo de Mollar, compartían 11 notaciones de los 14 caracteres morfológicos descritos. Aunque la variación fenotípica observada para 3 caracteres no son muy distantes, podría deberse a la propagación vegetativa y la variación somática que atravesó la vid Europea al ser introducida a América hace casi 500 años, y además esta variación constituye la fuente principal de la diversidad genética para la mejora de variedades tradicionales de la vid (Rodríguez 2019).

Cáceres *et al.* (2017) también caracterizaron a nivel morfológico las ocho variedades pisqueras, los cuales concordaron con los perfiles fenotípicos registrados para 11 caracteres morfológicos (OIV- 1, 4, 51, 67, 68, 76, 79, 81-2, 84, 87 y 225, en todas las variedades. Las diferencias principalmente fueron en los caracteres de código OIV - 70, 84 y 223, probablemente debido a la alta variabilidad que mostraron esos caracteres y la subjetividad del ampelógrafo. En el caso de Albilla se compararon los perfiles ampelográficos con los resultados de Cáceres *et al.* (2017) y presentaron alta similitud, estos autores afirmaron que se trataba de la variedad Listan B. Al mismo tiempo, se contrastó también con la descripción de Rodríguez-Torres. (2017) de la variedad Listan Blanco de Canarias, los cuales coincidieron en todos los caracteres evaluados indicando se trataría de la misma variedad. Además, es importante recalcar que Rodríguez-Torres. (2017) señala a Listan Blanco de Canarias, como una sinonimia de Palomino Fino.

Las observaciones entre Albilla y Torontel, en la etapa vegetativa presentaron similitud morfológica y compartieron 11 notaciones ampelográficas, siendo la principal diferencia entre estas variedades la ausencia de pigmentación antocianica en los nervios principales del envés de las hojas adultas de Albilla. Asimismo, entre Albilla y Moscatel hubo diferencias, en 6 de los 14 caracteres morfológicos evaluados (OIV: 67, 70, 84, 87, 223 y 225). La característica más discriminante

entre ambas variedades fue que Moscatel presentó pigmentación antociánica en el haz y envés de los nervios principales hasta la primera bifurcación en las hojas adultas. Sin embargo, entre Moscatel y Torontel, las diferencias radican principalmente en la intensidad de la pigmentación ya que ambas presentaron pigmentación antociánica tanto en el haz como en el envés de las hojas, la tonalidad más oscura (violáceo) fue presentada por la variedad Torontel y Moscatel mostró tonalidades más ligeras (hacia rojizo). Por otra parte, las diferencias fenotípicas entre Moscatel y Negra corriente se evidenciaron en 8 de 14 caracteres los cuales fueron OIV-001, 004, 051, 067, 070, 087, 223 y 225. En el registro fotográfico de la Figura 17, se pudo apreciar las diferencias entre las variedades estudiadas para los caracteres OIV – 223 y 225.

**Figura 17: Morfología de racimos, color de las bayas y descripción del perfil fenotípico de las variedades pisqueras.**



**Figura 17.1, Quebranta** es una variedad que presentó una extremidad abierta y densidad de pelos tumbados, alta en sus pámpanos jóvenes. El limbo de la hoja en su estado adulto fue de forma pentagonal con cinco lóbulos (pentalobada). Las bayas tuvieron forma elíptica corta y fueron de color rojo violeta oscura. La forma pentagonal de las hojas adultas es una característica diferencial.



**Figura 17.2, Negra criolla** presentó una extremidad semi abierta y la densidad de pelos tumbados en el pámpano joven, fue alta. La hoja adulta era de forma pentagonal. Las bayas tuvieron forma esférica achatada y fueron de color rojo violeta oscura. El carácter diferencial para esta variedad fue la apertura de la extremidad que fue semi abierta.

<< Continuación >>



**Figura 17.3, Moscatel** presentó una extremidad completamente abierta y con alta densidad de pelos tumbados en el pámpano joven. La hoja en su forma adulta fue de forma pentagonal. Las bayas tuvieron forma esférica y de color rojo. Mostró una característica diferencial en la distribución de la pigmentación antocianica la cual se extendía hasta la primera bifurcación de los nervios principales del haz del limbo.



**Figura 17.4, Albilla** mostró una extremidad completamente abierta y alta densidad de pelos tumbados en el pámpano joven. La hoja en su forma adulta fue pentagonal. Las bayas tenían forma esférica y de color verde amarilla. Un carácter diferencial para esta variedad fue la forma de los dientes, una mezcla de ambos lados convexos y rectilíneos presentaron las hojas adultas.



**Figura 17.5, Mollar** presentó una extremidad abierta y densidad media de pelos tumbados en el pámpano joven. La hoja en su forma adulta fue orbicular y presentó 3 lóbulos (trilobada). Las bayas tuvieron forma elíptica corta y de color rosa. Esta variedad presentó como características diferenciales al color verde de las hojas jóvenes y la morfología orbicular de las hojas adultas.

<< Continuación >>



**Figura 17.6, Torontel** presentó extremidad abierta y alta densidad de pelos tumbados en el pámpano joven. La hoja en su forma adulta fue de forma pentagonal. Las bayas tenían forma esférica y de color verde amarilla. La característica diferencial para esta variedad estuvo en la distribución de la pigmentación antociánica de los nervios principales del haz del limbo extendido solo hasta el punto peciolar.



**Figura 17.7, Uvina** mostró características muy particulares presenta una extremidad abierta y alta densidad de pelos tumbados en el pámpano joven. La hoja adulta fue pentagonal. Las bayas tenían forma esférica y de color azul negra. Presentó una característica diferencial en la distribución y número de zarcillos consecutivos que fueron de tres a más continuas.



**Figura 17.8, Italia** presentó extremidad completamente abierta y muy alta densidad de pelos tumbados. La hoja adulta era cuneiforme. Las bayas tenían forma ovoide inversa y de color verde amarilla. Una de las características que diferencian esta variedad son los dientes del borde de las hojas fueron ambos lados rectilíneos y los pámpanos presentaron una alta densidad de la vellosoidad tumbada.

Asimismo, en base a la moda y la frecuencia única de los niveles de expresión para cada carácter ampelográfico, se han registrado 7 variables ampelográficas distintivas mostradas en la Tabla 8, a través de las cuales fue posible identificarlas

a nivel morfológico, sin que la planta de vid haya llegado a su etapa productiva.

**Tabla 8: Variables ampelográficas diferenciales de las 8 Variedades pisqueras \***

OIV	Descriptor	Variedad	Nivel de expresión
001	Apertura de la extremidad	Negra criolla	Semi-cerrado
016	N° de zarcillos consecutivos	Uvina	3 o más
067	Forma del limbo.	Mollar	Orbicular
068	N° de lóbulos	Mollar	3 lóbulos
070	Distribución de la pigmentación antocianica de los nervios principales del haz del limbo	Moscatel	Hasta la primera bifurcación
		Torontel	Punto peciolar
076	Forma de los dientes	Italia	Ambos lados rectilíneos
		Albilla	Mezcla de Ambos lados rectilíneos y convexos
087	Densidad de los pelos erguidos sobre los nervios principales del envés del limbo	Quebranta	Media a alta

\*OIV= códigos de los caracteres ampelográficos.

Según el análisis comparativo de las frecuencias únicas (Anexo 3) las variables distintivas demostraron que las 8 variedades presentaron características particulares, los mismos que permitieron su diferenciación. Para el descriptor OIV-001, la variedad Negra criolla presentó una apertura de la extremidad, semi abierta, mientras que las demás variedades mostraron una apertura de la extremidad, abierta.

El descriptor OIV- 016 número de zarcillos consecutivos, evaluado en los pámpanos adultos (OIV 2009) también fue uno de los caracteres diferenciales. Dicho carácter, separó las variedades que presentaron zarcillos discontinuos (dos o menos zarcillos) las mismas que, pertenecían a la especie *Vitis vinífera* L. (Quebranta, Moscatel, Italia, Negra Criolla, Mollar, Albilla y Torontel) de la variedad Uvina que, presentó zarcillos continuos (tres zarcillos consecutivos o más) en los pámpanos adultos.

En el caso del descriptor color de hojas jóvenes de código OIV-051, la variabilidad morfológica fue alta, variando desde el verde, amarillo, bronceado hasta el cobrizo rojizo. Aunque 6 accesiones de ellas presentaron una coloración entre amarillo y



bronceado, 2 de ellas tuvieron coloraciones diferenciales de hojas jóvenes. Mollar mostró hojas jóvenes de color verde brillante y Uvina cobrizo rojizo.

La forma del limbo OIV-067, en hojas adultas, es una de las características más importantes en la identificación de la vid a través de ampelografía. De las 8 accesiones, 5 (Quebranta, Moscatel, Albilla, Torontel y Uvina) presentaron forma pentagonal, 2 (Italia y Negra criolla) mostraron forma cuneiforme y 1 (Mollar) forma Orbicular, característica que diferenció a dicha variedad. Otro descriptor que complementa la diferenciación de Mollar, fue el Número de lóbulos OIV-068, evaluados también en las hojas adultas, siendo la única variedad que exhibió 3 lóbulos en contraste a las demás accesiones que expresaron 5 lóbulos.

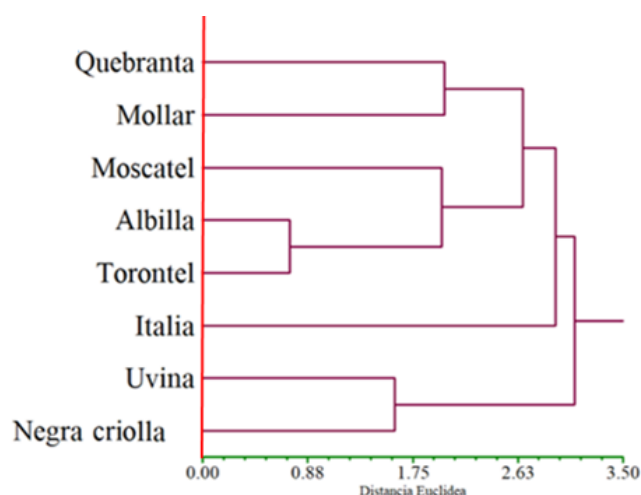
Moscatel, se diferenció de todas las variedades pisqueras por haber presentado una distribución de la pigmentación antociánica hasta la primera bifurcación de los nervios principales en el haz del limbo OIV-070.

En el caso del descriptor OIV-076 “forma de los dientes de las hojas adultas”, fue una variable discriminante para las variedades Italia y Albilla, en Italia por mostrar ambos lados rectilíneos y en Albilla por presentar una mezcla de ambos lados rectilíneos y convexos. Los 6 genotipos restantes, presentaron ambos lados convexos. Por otro lado, el descriptor OIV-087 la “densidad media a alta de pelos erguidos sobre los nervios principales del envés del limbo”, fue determinante para identificar a Quebranta. Aunque, Mollar también tuvo densidad media, la divergencia en la forma de las hojas entre estas variedades es un punto clave.

En la etapa productiva, las accesiones de las “*variedades pisqueras*”, mostraron alta variabilidad fenotípica para los caracteres color OIV-225 y forma de la baya OIV-223, principalmente para el color de la epidermis de la baya, que variaron desde el verde, amarillo, rosa, rojo hasta el azul negro. Estas características son notables en cada una de ellas, excepto entre Quebranta y Negra criolla, que podría llevar a confusión. Sin embargo, en este caso es necesario considerar la evaluación paralela de la forma de las bayas características que diferencian a una de la otra.

#### 4.1.1 Análisis Jerárquico Ampelográfico de las variedades

En la Figura 18, se muestra el dendrograma de las 14 variables cualitativas que corresponde a la caracterización ampelográfica de las variedades pisqueras.



**Figura 18:** Dendrograma de los resultados de ampelografía de las “Variedades Pisqueras” con el método UPGMA y medida con la distancia Euclídea.

De acuerdo al análisis jerárquico de la ampelografía de las *variedades pisqueras*, se observó a un coeficiente de distancia de cero, que todas las variedades estudiadas son diferentes, separadas por sus variables discriminantes. Siendo las variedades más distantes Uvina, Negra criolla e Italia, asociado a los descriptores OIV- 001 (apertura de la extremidad) para Negra criolla, OIV- 016 (distribución del número de zarcillos) para Uvina y OIV- 076 (forma de los dientes de los borde de las hojas adultas) para Italia. Sin embargo, las diferencias en las variedades más cercanas también se puede atribuir a los descriptores OIV-067 (forma de las hojas adultas) para Mollar, OIV-070 (distribución de la pigmentación antociánica sobre los nervios principales del haz del limbo) para Moscatel y Torontel, OIV-68 (número de lóbulos en las hojas adultas) para Mollar y finalmente el descriptor OIV-081 (Densidad de los pelos erguidos de los nervios principales del envés del limbo) para la variedad Quebranta.

## 4.2 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

### Detección del polimorfismo con Nitrato de plata.-

Se obtuvieron patrones de bandas reproducibles para los 9 pares de microsatelites SSR. En la Tabla 9 se señalan los alelos y frecuencias alélicas obtenidos para cada locus SSR. Los alelos variaron según los locus estudiados, el menos informativo fue VVMD25 (4 alelos) y el más informativo VVMD32 (9 alelos). El total de alelos encontrados en los 9 microsatelites SSR, fue de 54, con una media de 6 alelos por locus. En el año 2000 el grupo de Sefc *et al.*, realizó un estudio en variedades seleccionadas para vinos de Francia obteniendo un promedio de 5.8 alelos por locus, valor inferior al reportado por Martínez *et al.* (2006) (7 alelos por locus) en variedades finas para elaborar vinos exclusivos en Argentina.

Los numerosos alelos por locus encontrados en el presente trabajo probablemente se debió a la introducción de variedades de vid cuando los españoles llegaron a América, provenientes de diferentes «pools» genéticos, de origen, principalmente español tal es el caso de las variedades denominadas en Perú como: Italia (Moscatel de Alejandría) Negra criolla (Listan Prieto) Mollar (Mollar Cano) y Uvina cultivadas principalmente en los valles de Ica, Arequipa, Tacna y Moquegua y Lunahuaná (zonas con Denominación de origen Pisco). Asimismo, en el trabajo de Aliquó *et al.* (2017) mencionan que estas mismas variedades Europeas estaban involucradas como parentales en cruza naturales dando como resultado a los cultivares encontrados en América del Sur, una de ellas la variedad Quebranta, otra Torontel y probablemente también Moscatel.

Otra fuente de variación genética, podría deberse a la variación somática (mutaciones) comúnmente presente en los cultivares de vid justamente por la multiplicación vegetativa. En la investigación de Constantini *et al.* (2005) sobre variedades locales de Campania en Italia analizados también por los marcadores microsátélites empleados en esta tesis, los resultados revelaron gran variabilidad y una alta coincidencia de cultivares con perfiles genéticos distantes atribuyendo sus resultados a que las variedades de vid de Campania provenían de distintas áreas geográficas.



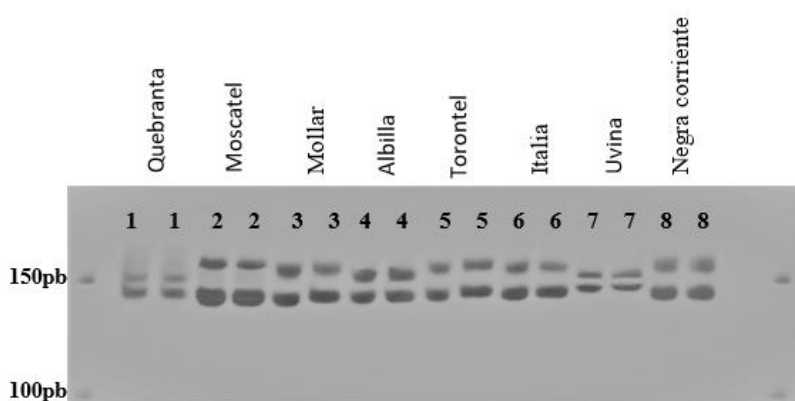
Este trabajo de investigación respalda la hipótesis de que en el Perú tenemos variedades provenientes de diferentes pools genéticos por la alta heterocigosidad y el número de alelos encontrados. Asimismo, con el loci VVMD5 se obtuvo que el alelo A5, tuvo mayor frecuencia.

**Tabla 9: Alelos y frecuencias alélicas para 9 loci de microsatélites en las 8 “variedades pisqueras”**

Locus	Alelos	Frecuencias Alélicas	Locus	Alelos	Frecuencias Alélicas
VVS2	A1	0.0625	VVMD28	A1	0.1250
	A2	0.3125		A2	0.0625
	A3	0.1250		A3	0.1250
	A4	0.0625		A4	0.0625
	A5	<b>0.3750</b>		A5	<b>0.2500</b>
	A6	0.0625		A6	0.1875
VVMD5	A1	0.0625		A7	0.1250
	A2	0.3125		A8	0.0625
	A3	0.1250	VVMD32	A1	0.0625
	A4	0.3125		A2	0.1250
	A5	<b>0.4375</b>		A3	<b>0.1875</b>
VVMD7	A1	0.1250		A4	0.0625
	A2	0.1875		A5	0.1250
	A3	0.2500		A6	0.1250
	A4	0.1250		A7	0.1250
	A5	0.1875		A8	<b>0.1875</b>
	A6	0.1250		A9	0.0625
VVMD25	A1	0.1875	VrZAG62	A1	0.1333
	A2	0.1250		A2	0.1333
	A3	<b>0.3750</b>		A3	0.0667
	A4	0.3125		A4	<b>0.4000</b>
VVMD27	A1	0.0625		A5	0.2000
	A2	0.2500		A6	0.0667
	A3	0.1875	VrZAG79	A1	0.1875
	A4	0.1875		A2	<b>0.2500</b>
	A5	<b>0.3125</b>		A3	<b>0.2500</b>
VrZAG62	A1	0.1333		A4	0.1875
	A2	0.1333		A5	0.0625
	A3	0.0667	VrZAG79	A1	0.1875
	A4	<b>0.4000</b>		A2	<b>0.2500</b>
	A5	0.2000		A3	<b>0.2500</b>
	A6	0.0667		A4	0.1875
VrZAG79	A1	0.1333		A5	0.0625
	A2	0.1333		VrZAG79	A1
	A3	0.0667	A2		<b>0.2500</b>
	A4	<b>0.4000</b>	A3		<b>0.2500</b>
	A5	0.2000	A4		0.1875
A6	0.0667	A5	0.0625		

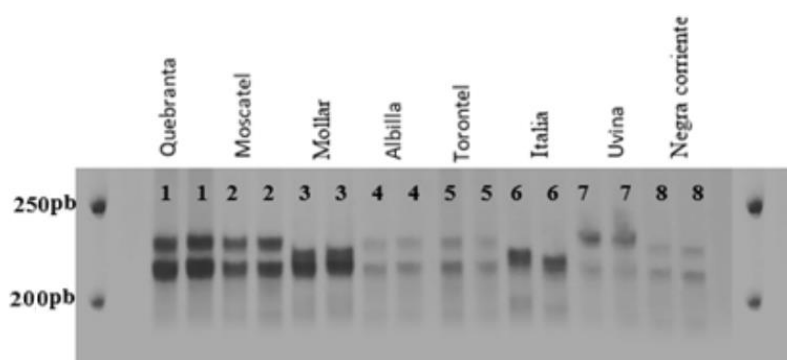
\*Los alelos con más frecuencia se resaltan en negrita.

#### 4.2.1 Genotipado de las Variedades Pisqueras



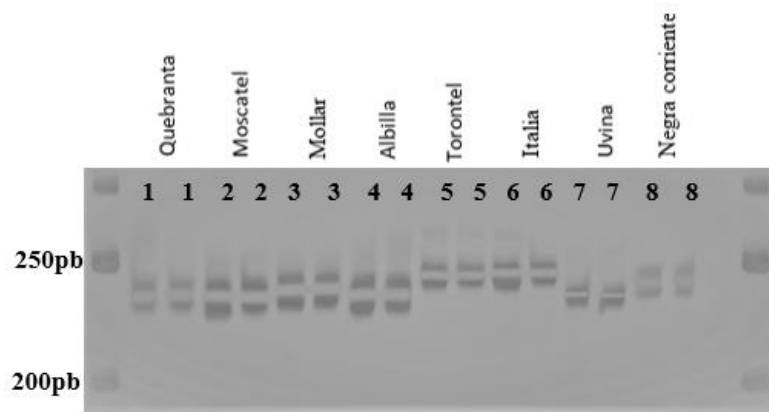
**Figura 19:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras”, evaluadas por duplicado y analizadas con el marcador VVS2.

En el caso del marcador VVS2, se encontraron 4 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos estuvieron entre 140 y 160 pares de bases y hubo un grupo de 4 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



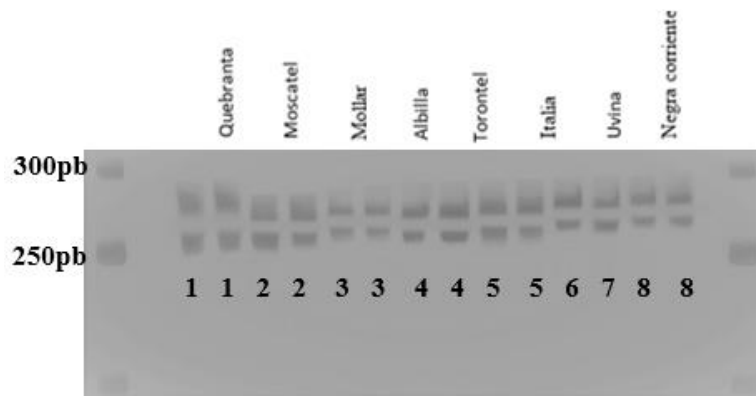
**Figura 20:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluadas por duplicado y analizadas con el marcador VVMD5.

El marcador VVMD5, se encontraron 5 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, los alelos encontrados estuvieron entre 220 y 235 pares de bases y hubo 3 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



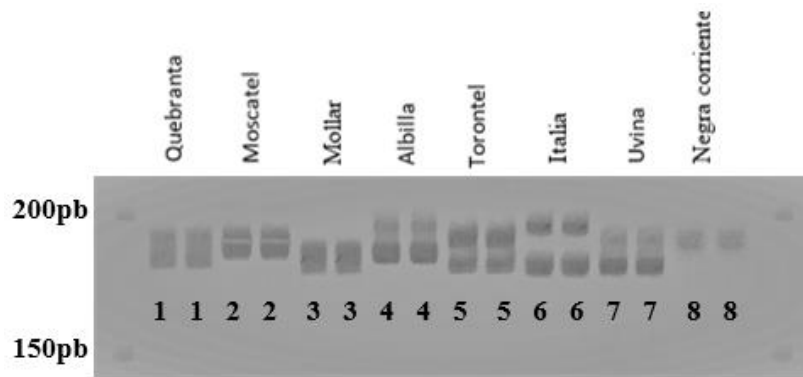
**Figura 21:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VVMD7.

En el caso del marcador VVMD7, se encontraron 5 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos encontrados estuvieron entre 230 y 250 pares de bases y hubo 5 genotipos (por duplicado), con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



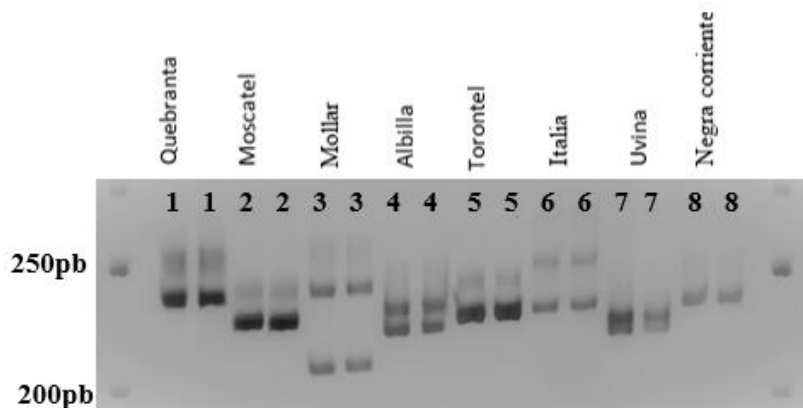
**Figura 22:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluadas por duplicado y analizados con el marcador VVMD25.

Con el marcador VVMD25, se encontraron 4 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de alelos encontrados estuvieron entre 255 y 290 pares de bases y hubo 5 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos.



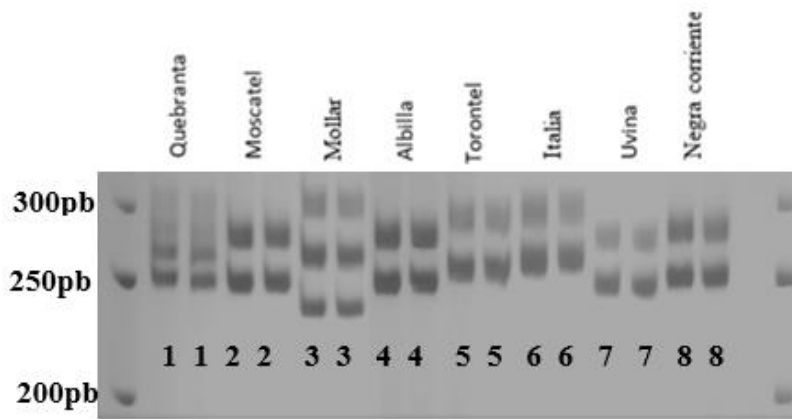
**Figura 23:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VVMD27.

En el caso del marcador VVMD27, se encontraron 7 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de alelos encontrados estuvieron entre 175 y 190 pares de bases y hubo 2 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



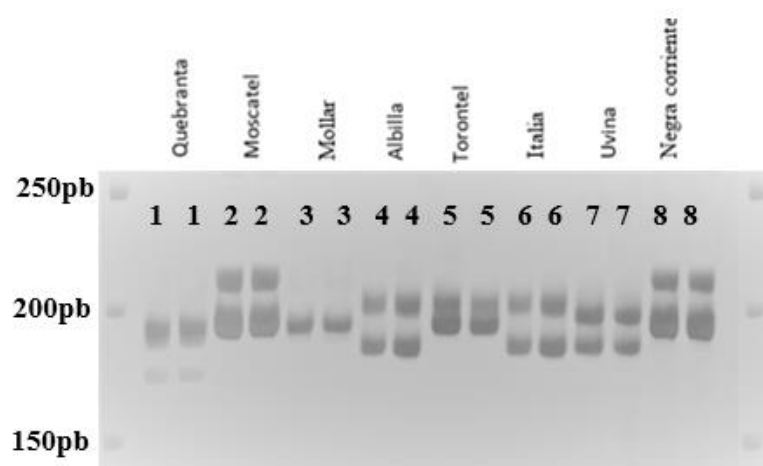
**Figura 24:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VVMD28.

En el caso del marcador VVMD28, se encontraron 7 diferentes genotipos (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos que se encontraron estuvieron entre 215 y 265 pares de bases y hubo 2 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



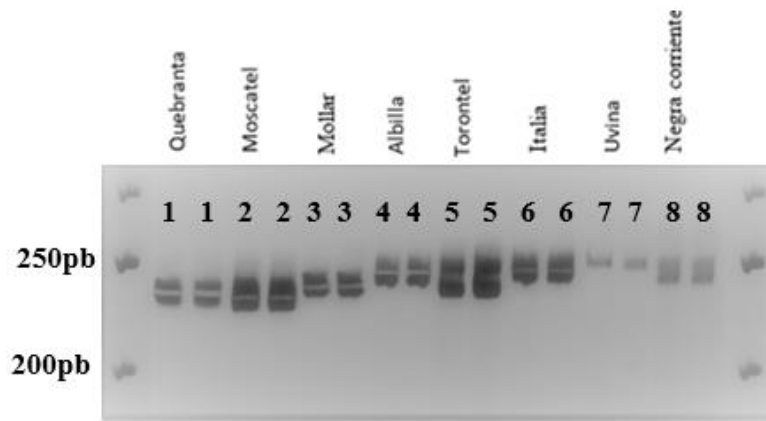
**Figura 25:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VVMD32.

En el caso del marcador VVMD32, se encontraron 6 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos encontrados estuvieron entre 235 y 289 pares de bases y hubo 3 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



**Figura 26:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VrZAG62.

Con del marcador VrZAG62, se encontraron 6 genotipos diferentes (por duplicado), de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos encontrados estuvieron entre 185 y 202 pares de bases y hubo 2 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.



**Figura 27:** Patrones electroforéticos de ocho genotipos de vid “Variedades Pisqueras” evaluados por duplicado y analizados con el marcador VrZAG79.

En el caso del marcador VrZAG79, se encontraron 6 genotipos diferentes (por duplicado) de ocho variedades estudiadas, el tamaño de los alelos encontrados estuvieron entre 240 y 255 pares de bases y hubo 3 genotipos (por duplicado) con igual tamaño de alelos. Este resultado fue indicativo de la alta heterocigosidad de este tipo de marcadores en vides.

De la Figura 19 a la 27 se muestra la separación electroforética en geles de poliacrilamida desnaturalizante de los alelos correspondientes a los marcadores VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 y VrZAG79 de las ocho variedades pisqueras estudiados. De los cuales los marcadores microsatelites VVMD28 y VVMD32 fueron los más polimórficos y el marcador VVMD25, fue el menos polimórfico.

**Tabla 10: Genotipos observados y obtenidos con 9 iniciadores microsatélites en 8 variedades pisqueras.**

Locus	Genotipos	Que	Mos	Moll	Alb	Tor	Ita	Uvi	Nc
VVS2	A1A4							A1A4	
	A2A5			A2A5		A2A5	A2A5		A2A5
	A2A6		A2A6						
	A3A5	A3A5			A3A5				
VVMD5	A1A5							A1A5	
	A2A5	A2A5	A2A5		A2A5	A2A5			A2A5
	A3A4						A3A4		
	A3A5			A3A5					
VVMD7	A1A3					A1A3	A1A3		
	A2A4								A2A4
	A2A5	A2A5		A2A5					
	A3A6		A3A6		A3A6				
	A4A5							A4A5	
VVMD25	A1A3		A1A3				A1A3	A1A3	
	A2A4	A2A4							A2A4
	A3A4			A3A4	A3A4	A3A4			
VVMD27	A1A5						A1A5		
	A2A2								A2A2
	A2A3	A2A3							
	A2A4		A2A4						
	A2A5					A2A5		A2A5	
	A3A4				A3A4				
	A3A5			A3A5					
VVMD28	A1A3	A1A3							
	A1A5						A1A5		
	A2A8			A2A8					
	A3A5								A3A5
	A4A7				A4A7				
	A5A6		A5A6			A5A6			
	A6A7							A6A7	
VVMD32	A1A6						A1A6		
	A2A6					A2A6			
	A3A8		A3A8		A3A8				A3A8
	A4A8							A4A8	
	A5A7	A5A7							
	A5A9			A5A9					
VrZAG62	A1A4		A1A4						A1A4
	A2A4					A2A4			
	A3A5							A3A5	
	A4A4			A4A4					
	A4A5				A4A5		A4A5		
	A4A6	A4A6							
VrZAG79	A1A1							A1A1	
	A1A3				A1A3		A1A3		A1A3
	A1A4					A1A4			
	A2A4	A2A4							
	A2A5		A2A5						
	A3A4			A3A4					

En la Tabla 10 se puede observar los genotipos con mayor frecuencia así como también cuáles fueron las variedades que lo compartían. Hubo variación en el número de genotipos diferentes por locus presentando desde 3 (VVMD25) a 7 (VVMD27 y VVMD28), con un total de 47, considerando los 9 loci analizados.

Para el locus VVS2 el genotipo A2A5 fue el más frecuente y estuvo presente en las variedades Mollar, Torontel, Italia y Negra criolla. El genotipo A3A5, fue el segundo más frecuente observado en las variedades Quebranta y Albilla. En el caso del locus VVMD5 el genotipo más frecuente también fue el A2A5 observado en las variedades Quebranta, Moscatel, Albilla Torontel y Negra criolla.

Para el locus VVMD7 los genotipos frecuentes fueron A1A3 presente en Italia y Torontel, el segundo genotipo más frecuente fue A2A5 presente en Quebranta y Mollar y el tercer genotipo más frecuente fue A3A6 presente en Moscatel y Albilla. El microsatélite VVMD25, mostró una distribución genotípica más homogénea encontrándose al genotipo A1A3 presente en la variedad Moscatel, Italia y Uvina y el genotipo A3A4 en Mollar, Albilla y Torontel. Para el locus VVMD27 el genotipo más frecuente fue A2A5 presente en Quebranta y Torontel. El locus VVMD28 el genotipo más frecuente fue A5A6 y lo exhibieron las variedades Moscatel y Torontel. La distribución de los distintos genotipos obtenidos a través de este locus mostró una gran variación genotípica, es decir fue bastante heterogénea. En el caso de VVMD32, la variación genotípica también fue heterogénea y el más frecuente fue A3A8 presente en las variedades Moscatel, Albilla, y Negra criolla.

Para el microsatélite VrZAG62, el genotipo A1A4 estuvo presente en las variedades Moscatel y Negra criolla, mientras que el genotipo A4A5 presentó Albilla e Italia. Finalmente en el locus VrZAG79, mostró el genotipo más frecuente A1A3 el cual estuvo presente en Albilla, Italia y Negra criolla. No obstante, Uvina presentó un genotipo “único” es decir no estuvo presente en ninguna otra variedad evaluada, en los 7 loci analizados. Quebranta también reveló un genotipo “único” en 5 de los 9 microsatélites.

La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) varió entre 75,0 por ciento para el loci VVMD25 y 87.5 por ciento para el loci VVMD28 y VVMD32, con una media de



82 por ciento. La heterocigosidad esperada (He) fue menor, con valores desde 68,8 por ciento para el loci VVMD5 hasta 84,4 por ciento para VVMD28 (tabla 11). Los valores del Índice de contenido polimórfico (PIC) para todos los locus fueron mayores a los la Heterocigosis esperada (He). El número de alelos efectivos (ne) estuvo correlacionado positivamente con el PIC. Es así que, el locus más informativo fue VVMD28 con un PIC de 92,5 por ciento y ne de 7.81, mientras que el menos informativo fue VVMD25 con PIC de 67,6 por ciento y ne de 3,46.

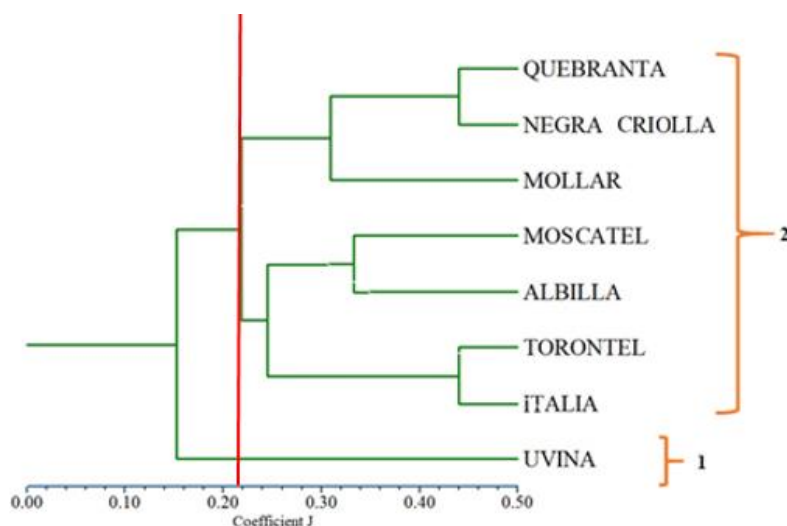
**Tabla 11: Parámetros genéticos obtenidos a partir del análisis de 9 loci microsatélites en las 8 variedades pisqueras.**

<b>Locus</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>	<b>n</b>	<b>ne</b>	<b>PIC</b>
VVS2	0.734	0.833	6	3.760	0.8000
VVMD5	0.688	0.800	5	3.200	0.7006
VVMD7	0.820	0.833	6	5.570	0.8847
VVMD25	0.711	0.750	4	3.460	0.6760
VVMD27	0.766	0.800	5	4.270	0.8053
VVMD28	0.844	0.875	8	7.810	0.9255
VVMD32	0.828	0.875	8	5.820	0.9154
VrZAG62	0.782	0.833	6	4.590	0.8485
VrZAG79	0.801	0.813	5	5.020	0.8406

He heterocigosis esperada PIC contenido de información polimórfica  
 Ho heterocigosis observada PI probabilidad de identidad  
 n número de alelos  
 ne número efectivo de alelos  
 PIC contenido de información polimórfica

#### **4.2.3 Análisis Jerárquico Molecular de las variedades Pisqueras**

En el dendrograma de los nueve microsatelites de la Figura 28 corresponde a la caracterización molecular de las variedades pisqueras, las cuales formaron dos grupos principales.



**Figura 28:** Dendrograma de agrupamiento Jerárquico de nueve microsatelites con el método UPGMA y medida con la distancia Jaccard aplicados a las variedades pisqueras.

En la Figura 28, se observó que el análisis de agrupamiento por el método UPGMA de los perfiles moleculares de las *variedades pisqueras*, formaron dos grupos principales a un coeficiente de similitud de 0.23, asociado a los loci VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD28, VrZAG62 y VrZAG79 separando al grupo (1) conformado por la variedad Uvina, del grupo (2) conformado por las variedades Mollar, Quebranta, Negra criolla, Torontel, Italia, Moscatel y Albilla. Esta distancia entre ambos grupos se atribuye a que la variedad Uvina no es una especie de *Vitis vinifera* sino corresponde a un híbrido productor directo resultante de la cruce interespecífica entre *Vitis Aestivalis-cinerea* y *Vitis vinifera* L (Cáceres *et al.* 2017).

### **Detección de polimorfismo con Fluorocromo.-**

De los 9 pares de iniciadores microsatélites empleados, ocho (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 y VrZAG79) amplificaron patrones de bandas reproducibles con excepción en la variedad Moscatel que se obtuvo alelos no definidos para el iniciador VVS2. El iniciador VVMD25, no amplificó bandas definidas debido a ello fue descartado para esta metodología. En la Tabla 12 se mostró los alelos y frecuencias alélicas obtenidas para cada locus microsatélite estudiado. El número de alelos detectados por locus varió entre 4 (VVMD7) y 8 (VrZAG72), con un total de 49 alelos en los 8 loci y un promedio de 6.12 alelos por locus. Este valor fue inferior al obtenido por Martínez *et al.* (2006)

quienes reportaron 7 alelos por locus, en variedades francesas de alta gama de una colección en Argentina. El rango del tamaño de alelos varió desde 133 (VVS2) a 272 (VVMD32). Cabe la posibilidad que el número de alelos/locus encontrados en el presente trabajo se debió a la introducción de variedades provenientes de diferentes “pools” genéticos, de origen, principalmente español, tal es el caso de las variedades denominadas en Perú como: Negra criolla (Listan Prieto), Mollar (Mollar Cano), Albilla (Palomino Fino, Listan Blanco) y Uvina (Jacquez). Asimismo, otra fuente de variación pudo ser por las cruzas naturales encontradas en América del Sur, en las cuales las variedades Europeas están involucradas como parentales, (Aliquó *et al.* 2017) dando como resultado a una de las variedades pisqueras más representativas tal es el caso de Quebranta. La variación somática (mutaciones) es otra fuente de variación genética, debido a la propagación por multiplicación vegetativa durante siglos que, también podría estar presente en las cultivares de vid peruanos y ser el caso de la variedad Moscatel. Respaldan esta hipótesis los resultados de Bowers *et al.* (2000) sobre la caracterización molecular de numerosas variedades de Francia evaluadas también por marcadores microsatélites. Estos investigadores registraron escasa variabilidad y una alta proporción de cultivares cercanamente emparentados, indicando una estrecha base genética para los genotipos franceses. A continuación se muestra la Tabla 12 con los alelos y frecuencias alélicas para 8 loci de microsatélites en 8 “variedades pisqueras”.

**Tabla 12: Alelos y frecuencias alélicas para 8 loci de microsatélites en 8 “variedades pisqueras”**

Locus	Alelos	Frecuencias Alélicas	Locus	Alelos	Frecuencias Alélicas
VVS2	133	<b>0.2857</b>	VVMD28	229	0.0714
	135	0.1429		234	0.1429
	139	0.0714		236	0.1429
	143	0.1429		244	<b>0.3571</b>
	145	0.1429		248	0.0714
	147	0.0714		258	0.1429
	149	0.1429		268	0.0714
VVMD5	224	0.0625	VVMD32	252	0.1333
	230	<b>0.4375</b>		256	<b>0.2667</b>
	234	0.0625		258	<b>0.2667</b>
	242	<b>0.3750</b>		264	0.1333
	245	0.0625		272	0.2000
VVMD7	237	0.0667	VrZAG62	186	0.0625
	239	<b>0.4000</b>		187	0.0625
	249	<b>0.4000</b>		188	0.1875
	251	0.1333		190	0.0625
VVMD27	180	<b>0.2000</b>		194	<b>0.3125</b>
	182	0.1333		196	0.1875
	186	<b>0.2000</b>		204	0.0625
	190	<b>0.3333</b>		205	0.0625
	193	0.0667	VrZAG79	241	0.0667
	194	0.0667		243	<b>0.2667</b>
		247		<b>0.2000</b>	
		249		0.0667	
		251		<b>0.2000</b>	
		255		0.1333	
		257		0.0667	
		259	0.0667		

\*Los alelos con más frecuencia se resaltan en negrita

El alelo 230 presentó una mayor frecuencia, obtenido con el loci VVMD5 y representado por el 43.7 por ciento, seguido por los alelos 239 y 249 obtenido con el loci VVMD7, representados por el 40 por ciento. Doce del total de alelos mostraron una mayor frecuencia, representados por más del 20 por ciento, mientras que 14 fueron relativamente poco frecuentes con una frecuencia entre el 13 por ciento.

Los perfiles genéticos de cada una de las variedades estudiadas se obtuvieron a través del método de electroforesis capilar. Los tamaños de los alelos se cuantificaron en pares de bases (pb) mediante electroferogramas que correspondieron a cada iniciador los cuales fueron analizados y normalizados de acuerdo a la base de datos del VIVC, tal como se señala en la Tabla 13.

**Tabla 13: Tamaño de alelos en pares de bases (pb), por variedad, para los 8 loci microsatélites**

Variedad	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79								
Quebranta	135	143	230	242	239	249	182	190	234	258	256	272	188	194	243	247
Moscatel	nd	nd	230	242	239	249	186	190	244	244	256	258	194	196	243	251
Mollar	143	145	224	242	239	239	182	182	244	258	252	272	188	196	247	259
Albilla	133	145	230	242	239	249	186	194	236	248	256	258	188	194	251	257
Torontel	133	149	230	242	249	251	180	190	244	244	258	264	194	204	243	255
Italia	133	149	230	234	249	251	180	195	244	268	264	272	187	204	247	255
Uvina	139	147	230	245	237	239	180	190	229	236	252	252	186	190	249	249
Negra Criolla	133	135	230	242	239	249	186	190	234	244	256	258	194	196	243	251

nd= no definido

Según el Vitis International Variety Catalogue (VIVC), las 8 “*variedades pisqueras*” estudiadas correspondieron a 7 genotipos diferentes, 4 de ellos fueron genotipos Europeos, 1 fue un híbrido desarrollado en Francia con variedades de los Estados Unidos de América, 3 correspondieron a genotipos locales de los cuales 1 respondía a un clon de una variedad Europea.

El análisis comparativo de los ocho loci de referencia con la base de datos VIVC, reveló que 6 genotipos, correspondían a cultivares previamente identificados y registrados en la base de datos y dos genotipos no registrados en el VIVC.

De los 6 genotipos registrados en el VIVC, 5 de ellas, (Negra Criolla, Italia, Uvina, Albilla y Mollar) se denominaban con nombres diferentes al original es decir correspondían a sinonimias dadas solo en nuestro país. A razón de las sinonimias corroboradas, los resultados revelaron, que 4 de ellos, provenían de países Europeos y fueron registrados con otros nombres en sus países de origen, es así que, 3 de ellos: Negra Criolla, Mollar y Albilla correspondieron a las variedades españolas Listan Prieto, Mollar Cano y Palomino Fino, ésta última también llamada Listan Blanco de Canarias en las Islas Canarias (Rodríguez-Torres 2017), y el cuarto

genotipo restante, Italia era la variedad griega denominada Moscatel de Alejandría (Kuhn-Institut 2020) (Aliquó *et al.* 2017).

Por otra parte, Uvina era una sinonimia de Jacquez, un híbrido productor directo desarrollado en Francia con cultivares de los Estados Unidos de América. Dicho híbrido, fue producto de la crusa interespecífica entre *Vitis vinífera* x *Vitis Aestivalis*, variedad desarrollada para enfrentar la crisis que causó la filoxera en los viñedos franceses.

El sexto genotipo identificado en el VIVC fue Quebranta, identificado y registrado como Quebranta de Perú, siendo producto de la crusa natural entre Listan Prieto y Mollar Cano.

Los dos genotipos no registrados en el VIVC fueron Torontel y Moscatel. La variedad Torontel respondió al genotipo T01, reportado con el mismo nombre por Milla-Tapia *et al.* (2007) y registrado en la base de datos del INIA de Chile. Este cultivar fue la resultante de la crusa natural entre las variedades Moscatel de Alejandría y Listan Prieto (Milla-Tapia *et al.* 2007).

Por otro lado, el perfil genético de la variedad Moscatel presentó homología a la variedad Listan Prieto, al contrastar en la base de datos empleada para el análisis comparativo, la variedad Moscatel, reveló el mismo genotipo de Listan Prieto, aunque no mostró homología para el loci VVMD28, el cual presentó el alelo 244 en homocigosis. Sin embargo las características ampelográficas de Moscatel muestran un fenotipo diferente a Listan Prieto. Estos análisis permiten concluir que, Moscatel sería un clon, producto de la variación somática de la variedad Listan Prieto, ocasionado por cambios fenotípicos que se habrían dado a lo largo del tiempo, siendo probable que este genotipo no reportado tuviera un origen local

La caracterización molecular mediante electroforesis capilar fue determinante para confirmar la identidad de las variedades estudiadas y complementada por la caracterización ampelográfica para su diferenciación fenotípica. Los ocho genotipos diferenciados fueron presentados en la Tabla 14.

**Tabla 14: Principales características de cada accesión y la comparación de los perfiles genéticos obtenidos con 8 loci microsatélite y los perfiles genéticos de Vitis International Variety Catalogue VIVC**

Nombre de la accesión	Código de la accesión	Color de la baya	Aroma	Uso	Sexo	Nombre del cultivar en Perú	Nombre de origen en el VIVC	País de origen	Código VIVC
Quebranta	Q - 1	Tinta	Ninguno	Pisco	H	Quebranta	Quebranta	Perú	9840
Moscatel	F - 23	Roja	Moscatel	Pisco	H	Moscatel	n.r.	n.r.	n.r.
Mollar	A - 1	Tinta	Ninguno	Pisco	H	Mollar	Mollar Cano	España	7901
Albilla	LL - 1	Blanco	Moscatel	Pisco, vino	H	Albilla	Palomino fino	España	8888
Torontel	L - 7	Blanco	Moscatel	Pisco	H	Torontel	Torontel	Perú	15465
Italia	J - 3	Blanco	Moscatel	Pisco, vino	H	Italia	Moscatel de Alejandría	Grecia	8241
Uvina	F - 21	Tinta	Ninguno	Pisco, vino	H	Uvina	Jacquez	EEUU	5627
Negra criolla	F - 11	Tinta	Ninguno	Pisco, vino	H	Negra criolla	Listan Prieto	España	6860

\*"Variedades pisqueras"= son las variedades que se utilizan para la producción de Pisco en el Perú.

\*\*VIVC= son las variedades pisqueras registradas en el VIVC con sus nombres originales. n.r. = No registrada en el VIVC.

H = Hermafrodita.

Debido a la homología encontrada para el perfil genético de Moscatel con Listan Prieto, y en base a datos históricos y observaciones morfológicas, existe alta probabilidad que este genotipo no reportado tenga un origen local, asumiendo sea criolla, es importante subrayar que las plantas de este cultivar, se originaron y mantuvieron a lo largo del tiempo en los valles de Caravelí (Arequipa) e Ica de donde se colectaron para ser conservados y preservados en la colección del CITEagroindustrial Ica. Mientras tanto se sugiere el nombre para este cultivar como Moscatel Rojo, por la coloración particular de sus bayas y por como algunos viticultores de la zona lo bautizaron.

Por otra parte, en cuanto a la riqueza alélica, 7 marcadores SSR de los 8 que se utilizaron, también produjeron 18 alelos específicos (fragmento de ADN de un tamaño particular amplificado solo en uno de los genotipos). El número de alelos únicos varió de 1 (VVMD7) a 3 (VVMD5, VVMD27, VVMD28, VrZAG62 y VrZAG79) (Tabla 5). Estos alelos únicos estaban presentes en 4 variedades, 3 de ellas variedades europeas (Italia, Albilla, Mollar) y una proveniente de la cruce interespecífica de variedades estadounidenses (Uvina), indicando que estos alelos tienen origen de diferentes pools genéticos provenientes de Europa y EEUU, disimiles a los alelos que comparten con las variedades locales, esto confirmaría que tanto Quebranta, Torontel y Moscatel son variedades criollas. Se observó

mayor variación alélica (alelos únicos) en la variedad Uvina (8) e Italia (4). Los marcadores SSR que tiene alelos únicos para estas variedades se muestran en la Tabla 15 y 16.

**Tabla 15: Caracterización alélica de los Loci SSR evaluadas en las 8 variedades Pisqueras del CITEagroindustrial**

Loci SSR	Tamaño de alelos (pb)								Variedades pisqueras		
	AC	AC	AC	AC	AC	AC	AC	AC	AC	AU	
VVS2	133	135	139	143	145	147	149			5	2
VVMD5	224	230	234	242	245					2	3
VVMD7	237	239	249	251						3	1
VVMD27	180	182	186	190	194	195				3	3
VVMD28	229	234	236	244	248	258	268			4	3
VVMD32	252	256	258	264	272					5	0
VrZAG62	186	187	188	190	194	196	204			4	3
VrZAG79	241	243	247	249	251	255	257	259		5	3
									<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>18</b>

	Alelos únicos	
AC	Alelos compartidos	
AE	Alelos únicos	

**Tabla 16: Alelos únicos en las variedades pisqueras**

Loci SSR	Alelos únicos	Variedad	
VVS2	139	Uvina	
VVMD5	224	Mollar	
		234	Italia
		245	Uvina
VVMD7	237	Uvina	
VVMD27	182	Mollar	
		194	Albilla
		195	Italia
VVMD28	248	Albilla	
		268	Italia
	229	Uvina	
VVMD32			
VrZAG62	187	Italia	
	186	Uvina	
VrZAG79	249	Uvina	
		259	Mollar
		257	Albilla



Los perfiles generados en esta investigación fueron comparados con los obtenidos en otros laboratorios que utilizaron los mismos iniciadores y materiales, como el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) de Mendoza – Argentina y el Laboratorio de Biotecnología del INIA de Santiago de Chile.

El desarrollo de estos perfiles genéticos de variedades de importancia para el sector vitivinícola específicamente para los productores de Pisco, junto con la puesta a punto de esta técnica, permitirá difundir su uso a productores y viveros de la región que buscan certificar la identidad genética del material vegetal que comercializan y de esta forma menguar ésta problemática que aqueja a nuestro país.

Además de las variedades tradicionales locales denominadas “*variedades pisqueras*”, en el Perú, se cultivan y exportan variedades de mesa. Los patrones de microsatélites SSR para las 8 *variedades pisqueras* peruanas fueron generados completando así la caracterización molecular por microsatélites de las variedades más importantes, en términos tradicionales y de cultura, que conforman el encepado peruano.

**Tabla 17: Parámetros genéticos calculados a partir del análisis de 8 loci microsatélites en las 8 “*variedades pisqueras*”.**

<b>Locus</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>	<b>n</b>	<b>ne</b>	<b>PIC</b>
VVS2	0.827	0.857	7	5.765	0.8529
VVMD5	0.656	0.938	5	2.909	0.9373
VVMD7	0.658	0.750	4	2.920	0.5369
VVMD27	0.782	0.833	6	4.591	0.7985
VVMD28	0.796	0.857	7	4.900	0.8259
VVMD32	0.782	0.800	5	4.590	0.7739
VrZAG62	0.805	0.857	7	5.120	0.8363
VrZAG79	0.844	0.875	8	6.429	0.8766

He Heterocigosis esperada PIC contenido de información polimórfica

Ho Heterocigosis observada PI probabilidad de identidad

n número de alelos

ne número efectivo de alelos

PIC contenido de información polimórfica

La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) varió entre 75,0 por ciento (para VVMD7) y 93,8 por ciento (para VVMD5), con un valor medio de 85,1 por ciento, mientras que la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) fue en menor medida, con valores desde 65,8 por ciento (para VVMD7) hasta 87,5 por ciento (para VrZAG79) (Tabla 17). La Heterocigosis observada ( $H_o$ ) fue más alta que la Heterocigosis esperada ( $H_e$ ), para todos los loci. Los valores de PIC (contenido de información polimórfica) fueron mayores que los valores de  $H_e$ . El número de alelos efectivos ( $n_e$ ) se correlacionó positivamente con el PIC. Para dar un ejemplo, se observó que el locus más informativo fue VrZAG79 con un PIC de 87,66 por ciento y  $n_e$  de 6,4, mientras que el menos informativo fue VVMD7 con PIC de 53,6 por ciento y  $n_e$  de 2,9.

## V. CONCLUSIONES

El análisis ampelográfico y molecular de las *variedades pisqueras* conservadas en la colección de germoplasma del CITEagroindustrial Ica, ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- Mediante la caracterización ampelográfica, a un coeficiente de distancia de cero se diferenciaron las ocho “*variedades pisqueras*” cultivadas en el Perú, siendo las variables discriminantes; la apertura de la extremidad, el número de zarcillos consecutivos, la forma de las hojas adultas, la forma de los dientes de los bordes de las hojas adultas, el número de lóbulos en las hojas adultas, la distribución de la pigmentación antociánica de los nervios principales del haz del limbo y la densidad de los pelos erguidos en la extremidad.
- Respecto a la caracterización molecular, mediante el polimorfismo con SSR y la detección con nitrato de plata, no se encontró homonimias y por el alcance de la técnica, tampoco se determinó el tamaño de los alelos para ninguna de las *variedades pisqueras*. Complementariamente, mediante la detección de polimorfismo con fluorocromo, se determinó el tamaño en pares de bases de cada alelo.
- El análisis de agrupamiento de la caracterización molecular, separó a Uvina a un coeficiente de similitud de 0.23, de las variedades Mollar, Quebranta, Negra criolla, Torontel, Italia, Moscatel y Albilla, pertenecientes a la especie *Vitis vinífera* L.
- Según la presencia y similitud del tamaño de los alelos en pares de bases se determinaron sinonimias para 5 *variedades pisqueras*. La variedad Negra criolla responde al nombre original Listan Prieto; la Mollar, a Mollar Cano;

la Italia, a Moscatel de Alejandría; la Albilla, a Palomino Fino; y la Uvina, a Jacquez.

- La *variedad pisquera* Torontel correspondió a un genotipo reportado también como Torontel en Chile.
- La *variedad pisquera* “Moscatel” fue determinada como un clon de Listan Prieto con variaciones fenotípicas, cuyo perfil molecular presentó heterocigosis para cada uno de los locus: VVMD5 con alelos 230 y 242 pb, VVMD7 con alelos 239 y 249, VVMD27 con alelos 186 y 190, VVMD32 256 y 258, VrZAG62 con alelos 194 y 196, VrZAG79 con alelos 243 y 251, y homocigosis en el locus VVMD28 con el alelo 244.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Corroborar el perfil molecular del clon de Listan Prieto encontrado en la colección de germoplasma del CITEagroindustrial Ica, para ser registrado en las bases de datos de vid de referencia mundial.
- Se sugiere continuar con los estudios genéticos para las *variedades pisqueras* con la finalidad de obtener la certificación varietal y así promover la venta de plántones certificados y registrados como variedades comerciales locales.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agüero, C., Rodríguez, J., Martínez, L., Dangl, G. and Meredith, CP. 2003. Identity and Parentage of Torrontés cultivars in Argentina. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54:4p.

Aliquó, G., Torres, R., Lacombe, L., Boursiquot, J-M., Laucou, V., Gualpa, J., 2017. Identity and parentage of some South American grapevine cultivars present in Argentina. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 23(3) 12282.

Arroyo-Garcia, R., Ruiz-Garcia, L., Bolling, R., Ocete, M., Lopez, A., Arnold, C., Ergul, A., Soylemezoglu, G., Uzun, H., Cabello, F., Ibanez, J., Aradhya, M., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J., Costantini, L., Gorislavets, S., Grando, M., Klein, B., McGovern, P., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikirios, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, M., Lefort, F. and Martinez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. sativa) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology* 15, 3707-3714.

Balda, P. y Martínez de Toda, F. 2017. Variedades minoritarias de vid en la Rioja. Gobierno de la Rioja. 1ra Edición. Logroño, España. Consejería de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente. 193p.

Borrego, J., Andres, M., Gomes, J. L., Ibañez, J., Andres, M. T. 2002. Genetic study of Malvasia and Torrontes groups through molecular markers. *American Journal of Enology and Viticulture* 53, 125-130p.

Bowers, J. E., Dang, G. S., Vigr R., Meredith, C. P 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L). *Genetics* 39, 628-633p.

Bowers, J. E., Meredith, C. P. 1999. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* 16, 84-87p.

Bowers, J. E.; Siret, R. and Meredith, C. P. 2000. A single pair of parents proposed for a group of varieties in Northeastern France. *Acta Horticulturae* 528(1): 129-132.

Cabello, F., Rodriguez-Torres, I., Muñoz-Organero, G., Rubio, C., Benito, A. and Garcia-Beneytes, S. 2003. La Colección de variedades de vid de "El ENCIN".

Cáceres, H., Quispe, P., Pignataro, D., Orjeda, G., Lacombe, T. 2017. Caracterización morfológica de variedades de vid para producción de Pisco bajo condiciones de la zona media del valle de Ica, Perú. *Scientia Agropecuaria* 8(1):63-72.

Cáceres, H. 2019. Caracterización y sustentabilidad de fincas productoras de vid para Pisco en Ica, Perú. Tesis para obtener el grado de Doctor. Universidad nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Callejas, R., Galleguitos, TM., and Benavides, CZ. 2004. Pérdidas de producción por fallos en la fecundación, competencia y anormal desarrollo de las bayas en vid vinífera. Centro de Estudio de la vid, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 10p.

Casanova, G. J. 2008 Caracterización de las variedades de vid (*Vitis vinífera* L.) de la provincia de Huesca. Tesis Doctoral (Departamento de Agricultura y Economía agraria). Huesca, Zaragoza, España, Universidad de Zaragoza, 236p.

Carbonell-Bejerano P., Rayo C., Ibáñez J., Martínez Zapater J.M. 2017. Claves Moleculares de la variación somática en la vid. Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino, Universidad de la Rioja. Logroño, España. Visitado el 27 de Diciembre del 2019. Disponible en: [http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/claves\\_moleculares\\_somatica\\_cie\\_nc0217.htm](http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/claves_moleculares_somatica_cie_nc0217.htm).

Carmona, M.J., Chieb, J., Martínez-Zapater JM., Thomas, MR. 2008. A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* 59(10): 2579-2596.

CENTRUM Católica. 2013. Mercado del Pisco. Visitado el 20 de Agosto del 2019. Disponible en: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/strategia/article/viewFile/4135/4103>.

Cervera, M. T., Rodríguez, I., Cabezas, J. A., Chavéz, J., Martínez-Zapater, J. M., Cabello, F. 2001. Morphological and molecular characterization of grapevine accessions known as Albillo. *American Journal of Enology and Viticulture* 52, 127-135p.

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.

CONAPISCO 2013. *Historia del Pisco Peruano*. Visitado el 31 de Enero del 2019. Disponible en: <http://www.conapisco.org.pe/index.php/historia>.

Constantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, JF., Forlani, M., Grando, MS. 2005. Genetic relationship among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44 (1), 25–34p.

Costacurta, A., Giannetto, S., Meneghini, S., Crespan, M. 2006. Does it exist a Greek ampelographical heredity in South Italy? SSR profiles comparison of cultivars growing in both countries. 2nd International Symposium on the Evaluation and Exploitation of Grapes of Corresponding Terroir through Winemaking and Commercialization of Wines. Santorini, Greece. 9-14p.

Creasy, GL. and Creasy, LL. 2018. *Grapes*. 2da Edition. Boston, USA, Editorial assistant: Emma McCann. MA 02111. *Crop Production Science in Horticulture*. 319p.



De Andrés, MT.; Benito, A., Pérez-Rivera, G., Ocete, R., López, M.A., Gaforio, L., Muñoz, G., Cabello, F., Martínez-Zapater, JM., Arroyo-García, R. 2012. Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and its genetic relationships with cultivated grapevines. *Molecular Ecology*. 21, 800–816p.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15p.

Drori, E., Rahimi, O., Marrano, A. et al. 2017. Collection and characterization of grapevine genetic resources (*Vitis vinifera*) in the Holy Land, towards the renewal of ancient winemaking practices. *Nature. Scientific Reports* 7, 44463.

Fernández-González, M., Bara, A., Escudero, O., y Rodríguez-Rajo, J. 2013. Estudio de la producción polínica en tres variedades de *Vitis vinifera* L. y su influencia en la cosecha de uva. Departamento de Biología Vegetal y Ciencias del Suelo, Campus Universitario As Lagoas, Facultad de Ciencias, 32004 Ourense, Universidad de Vigo, España. *Científica Compostelana (Biología)*, 20: 11-19p - ISSN 1130-9717.

Fregoni E. 2013. Il ciclo annuale della vite. Visitado el 26 de octubre del 2017. Disponible en: <http://www.agraria.org/viticultura-enologia/ciclo-annuale.htm>.

Galet, A. 1979. A practical ampelography: grapevine identification. Commstock Publishing Association. Ithaca, New York, USA. Cornell University Press. 248p.

Gonzales, M.J. 2016. Estandarización de Técnicas Moleculares (RT-PCR E IC-RT-PCR) para el diagnóstico de infección por los principales virus que atacan a las uvas pisqueras del Perú. Tesis. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

Ghislain M., D. Spooner, F. Rodríguez, F. Villamón, J. Núñez, C. Vásquez, R. Waugh & M. Bonierbale. 2004. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 108:881-890.

Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. I. y Black, W. 1999. Análisis Multivariante. 5 Edición. Editorial Prentice Hall. Madrid.

Hidalgo L. 2002. Tratado de Viticultura General. 3ª Edición. Mundi-Prensa. Madrid, España.

Hidalgo L. 2006. La calidad del Vino desde el viñedo. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.

Hocquigny, S., Pelsy, F., Dumas, V. 2004. Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome* 47: 579-589p.

Huertas, L. 2004. Historia de la producción de vinos y piscos en el Perú. *Universum*, Talca, 19(2), 44-61. Visitado el 18 de febrero del 2019. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-23762004000200004>.

Ibacache, A., Zurita, A., Gonzales, Cr. 2015. Caracterización Genética y Agronómica de variedades pisqueras no tradicionales. *Boletín INIA* Nro. 315. INIA Intihuasi, La Serena, Chile. ISSN 0717-4829.

Ibáñez, J., De Andrés, MT., Fajardo, MC., Fernández, MP., García-Abad, E. 2006a. "Sinonimias y homonimias de las variedades de la D.O. Vinos de Madrid. (I) Variedades Tintas". XXVII Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros. Badajoz. 111-121p.

Ibáñez, J., De Andrés, MT., Fajardo, MC., Fernández, MP., García-Abad, E. 2006b. "Sinonimias y homonimias de las variedades de la D.O. Vinos de Madrid. (II) Variedades Blancas". XXVII Jornadas de Viticultura y Enología de Tierra de Barros. Badajoz. 123-135p.

Imazio S., M. Labra, F., Grassi, A., Scienza, Y., and Failla, O. 2006. Chloroplast microsatellites to investigate the origin of grapevine. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53 (5): 1003-1011p.

INDECOPI, 2017. Guía práctica de la Denominación de Origen Pisco. Visitado el 31 de enero del 2019. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20795/1979771/FolletoPisco.pdf>.

INDECOPI, 2019. Uvas pisqueras. Comisión Nacional contra la Biopiratería Perú. 67p. Visitado el 01 de septiembre del 2019. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/3180041/uvas+pisqueras.pdf/4fb1d0e0-d52f-1790-5699-acc92e67915b>.

INEI, 2014. Producción de uva se incrementó significativamente en Piura. Visitado el 15 de agosto del 2019. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/produccion-de-uva-se-incremento-significativamente-en-piura-7449/>.

Iriarte-Chiapusso M.J., Ocete-Pérez C.A., Hernández-Beloqui B., and Ocete-Rubio R. 2017. *Vitis vinifera* L. in the Iberian Peninsula: A Review. *Journal Plant Biosystems*, 151(2), 245 – 257p.

Jaillon, O., Aury, JM., Noel, B., Policriti, A., Clepet, C. et al. 2007. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449(7161): 463-468.

Jiménez, A. 2014. Caracterización molecular del Banco de Germoplasma de Vid del Rancho de la Merced. Facultad de Ciencias - Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Cádiz. Tesis Doctoral. Cádiz, España.

Johns, M.A., Skroch, P., Nienhuis, J., Hinrichsen, P., Bascur, G., and Muñoz, C. 1997. Gene pool classification of common bean landraces from Chile based on RAPD and morphological data. *Crop Science* 37: 605-613p.

Kelen, M. and Dermitas, I. 2003. Pollen viability, germination capability and pollen production level of some grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 25:229-233p.

Kimura, M., Crow, JF. 1964. The numbers of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetic* 725 – 738p.

Kuhn-Institut, J. 2020. Vitis International Variety Catalogue Passport data Vitis International Variety Catalogue. Institute for Grapevine Breeding – Geilweilerhof. VIVC, 1 – 3.

Lacoste, P. 2004. La vid y el vino en América del Sur: el desplazamiento de los polos vitivinícolas (siglos XVI al XX). *Universum*, Talca, 19(2), 62–93p.

Lacoste, P., Yuri, J.A., Aranda, M., Castro, A., Quinteros, K., Solar, M., Soto, N., Gaete J., y Rivas, J. 2010. Variedades de uva en Chile y Argentina (1550–1850). Genealogía del Torrontés. *Mundo Agrario*, 10(20), 1–36p.

Lacoste, P., Soto, N. & Pszczolkowski, Ph. 2015. Moscatel de Alejandría en Chile y Argentina: origen y relación con el pisco. *Idesia*, Arica. 33(3), 79-86.

Lavignan, G. 2001. Cépages du Sud-Ouest. Editions du Rouergue, INRA éditions, 272p.

Lúquez, C.V., Formento, J.C. 2002. Flor y Fruto de la Vid (*Vitis vinífera* L.) Micrografía aplicada Viticultura y Enología. *Revista FCA Universidad de Cuyo*. Tomo XXXIV. N° 1. Mendoza, Argentina.

Martinez, L. Cavagnaro, P., and Masuelli, R. 2006. Molecular Characterization of grape varieties (*Vitis vinífera* L.) of enological value using microsatellites markers. *Revista FCA de la Universidad Nacional de Cuyo*. Tomo XXXVIII. N° 1, 77-86p.

Marsal, G. 2015. Caracterización e identificación de 449 accesiones de *Vitis vinífera* L. procedentes de dos Colecciones Ampelográficas. Tesis para obtener el grado de Doctor en Bioquímica y Biotecnología. Universidad de Rovira y Virgili, Tarragona, España.

Mendoza, K., Torres MR., Aliquó, GA., Prieto, JA., Grados, M., Mendiola, J. 2019.

Molecular and morphological characterization of the grapevine cultivars “Italia” in the Ica and Cañete valleys (Peru). 41st World Congress of Vine and Wine. BIO Web of Conferences **12**, 01017.

Meredith, C. P., Bowers, J. E., Riaz, S., Handley, V., Bandman, E. B., Dangl, G. S. 1999. The identity and parentage of the variety known in California as Petite Sirah. American Journal of Enology and Viticulture 50, 236-242p.

Mezzapelle V. 2015. [Gestione della chioma](https://es.slideshare.net/Caterina81/gestione-della-chioma-in-viticultura). Visitado el 15 de octubre de 2017. Disponible en: <https://es.slideshare.net/Caterina81/gestione-della-chioma-in-viticultura>.

Milla-Tapia, A., Cabezas, JA., Cabello, F., Lacombe, T., Martínez-Zapater, JM., Hinrichsen, P. and Cervera, MT. 2007. Determining the Spanish origin of representative ancient American grapevine varieties. American Journal of Enology and Viticulture 58:2, 242–251p.

Milla-Tapia, A., Gómez, S., Moncada, X., León, P., Ibacache, A., Rosas M., Carrasco, B., Hinrichsen, P. and Zurita-Silva, A. 2013. Naturalized grapevines collected from arid regions in Northern Chile exhibit a high level of genetic diversity. Australian Journal of Grape and Wine Research 19, 299–310p.

Ministerio de la Producción, 2014. Estudio de diagnóstico de crecimiento de la región Ica. Apoyo Consultoría. 154 p.

Ministerio de la Producción, 2017. Producción de Pisco alcanzaría récord histórico al cierre del 2017. Visitado el 10 de octubre del 2019. Disponible en: <https://www.produce.gob.pe/index.php/k2/noticias/item/442-produce-produccion-de-pisco-alcanzaria-record-historico-al-cierre-del-2017>.

MINAGRI, 2008. Informe de registro de productores de uva en las regiones de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna y Lima provincias. Dirección de estadística. Lima – Perú. Visitada el 22 de Setiembre del 2019. Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/DocumentoFina>

[IVid.pdf](#).

MINAGRI, 2019. La uva peruana: Oportunidad en el Mercado Mundial. Visitada 17 de Noviembre del 2019. Disponible en: [http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia\\_plantas/f01-cultivo/2019/Informe-uva-peruana.pdf](http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/2019/Informe-uva-peruana.pdf).

Mondini, L., Noorani, A., Pagnotta, MA. 2009. Assesing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools. Diversity 1, 19-35p.

Morón, J., 2017. La vid en el Perú y la elaboración del Pisco en Ica. ASDOPEN – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 35–48p.

Mullins, M. G., A. Bouquet, E. y L. Williams. 1992. Biología de la Vid. Cambridge University Press.

Narváez, H., Castro, P., Herminia, M., Valenzuela, B., and Hinrichsen, P. 2001. Patrones Genéticos de los cultivares de vides de vinificación más comúnmente usados en Chile basados en marcadores de Microsatélites. Agricultura Técnica, 61(3), 249-261p.

Nei, M. 1987. Genetic distance and molecular phylogeny, in: N. Ryman, F. Utter (Eds.), Population Genetics and Fishery Management, University of Washington Press, Seattle, Washington, pp. 193–223.

NTP (Norma Técnica Peruana) 2017. Bebidas Alcohólicas Pisco. Requisitos. 7a Edición. Norma NTP 211-014 2017. Lima, Perú. 28 dic. 11p.

Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2001. 2ª Edición de la lista de descriptores OIV para variedades de vid y especies de Vitis. Paris. Visitado el 3 de setiembre del 2019. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/2274/code-2e-edition-finale.pdf>.

Ofina Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2006a. Descripción de variedades

de vid del mundo. Paris. Visitado el 2 de Setiembre del 2019. Disponible en: <http://www.oiv.int>.

Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2006b. Lista Internacional de las variedades de vid y sus sinonimos. Paris. Visitado el 2 de Julio del 2019. Disponible en: <http://www.oiv.int>.

Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2009. Compendio Internacional de los métodos de analisis de los vinos y mostos. Francia. Visitado el 28 de Agosto del 2018. Disponible en: [www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis/compendio-de-los-metodos](http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/metodos-de-analisis/compendio-de-los-metodos).

Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV). 2018. 41.º Congreso Mundial de la Viña y el Vino. Punta del Este. Visitado el 14 de Marzo de 2019. Disponible en: <http://www.oiv.int/public/medias/6373/balance-de-la-oiv-sobre-la-situacion-vitivin-cola-mundial-20.pdf>.

Ortiz, J.M., Santiago, J.L., Martínez, M.C., Pinto-Carnide, O., Leal, F., Martín, J.P. 2003. Utilización de los microsátélites en la caracterización de variedades portuguesas de vid (*Vitis vinífera* L.). Sinonimias con variedades españolas. Actas de Horticultura Nº 39 · X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas - Pontevedra. Viticultura 473 – 477p.

Pérez, G. 2015. [Operaciones manuales en viñedo](#). Junta de Castilla y León. 2da. edición. Valladolid, España.

Picornell, RM. y Martínez, JM. 2013. Historia Del Cultivo de la Vid y el Vino, su expresión en la Biblia. Revista de la Facultad de Educación de Albacete, Nro. 27. 217-246p.

Pszczółkowski, P., Lacoste, P. 2016. Variedades criollas, una oportunidad para el pisco de Chile. FCA UNCUIYO, Argentina. 48 (1): 239-251p.

Reglamento de Denominación de Origen. 2011. Bebidas Alcohólicas. Pisco. Requisitos. Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales. INDECOPI. Lima, Perú. 29 p.

Regner, F., A. Stadlbauer, C. Eisenheld y H. Kaserer. 2000. Genetic relationships among Pinots and related cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 51(1): 7-14.

Rodríguez, M. 2019. Estudio del origen genético de la variedad de vid Garnacha Blanca, de su diversidad fenotípica y de los efectos moleculares asociados a la variación en el color de la uva. Tesis para obtener el grado de Doctor en Viticultura, Enología y Sostenibilidad. Facultad de Ciencia y Tecnología Universidad de la Rioja, España.

Rojas, P. 2007. Análisis de la diversidad genética de papas nativas (*Solanum* sec. Petota) de la comunidad de Chahuaytire, integrante del Parque de la Papa (Pisacuzco), y de las papas nativas repatriadas por el Centro Internacional de la Papa usando marcadores microsatélites. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Rodríguez-Torres, I. 2017. Variedades de vid cultivadas en Canarias. Descriptores morfológicos, caracterización Morfológica, Molecular, Agronómica y Enológica. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). 2da Edición ampliada y revisada. ISBN-978-84-697-5418-4.

Rohlf, J. 2017. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate analysis system version 2.2. Departamento de Ecología y evolución de la Universidad de New York. ISBN: 0-925031-31-3. 40p

Sancho-Galán, P., Amores-Arocha, A., Palacios, V., Jiménez-Cantizano, A. 2019. Genetical, Morphological and Physicochemical Characterization of the Autochthonous cultivar “Uva Rey” (*Vitis vinifera* L.). *Agronomy* 9, 563, 12p.

Sefc, K. M., Steinkellner, H., Wagner, H. W., Glossl, J., Regner, F. 1999.



Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. *Vitis* 36, 179-183p.

Silva, M. 2018. Situación actual, análisis y proyecciones de la uva de mesa en Chile 2017-2018. Seminario Técnico Regional UVANOVA Aconcagua 2017. Comisión de Investigación para el Desarrollo de la Uva de Mesa. 33 p.

Soldi, A. 2006. La Vid y el Vino en la Costa Central del Perú, siglos XVI y XVII. *Universum*, Talca. 21,2, 42–61p.

This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, S., Iba, J., Ibañez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalha, R., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L., and Maul, E. 2004. Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theoretical and Applied Genetics*. 109, 1448.

Thomas, MR., Scott, NS. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal polymorphism when analysed as sequences-tagged sides (STSs). *Theoretical and Applied Genetics* 86, 985-990p.

Toro-Lira, G., y Zapata, S. 2008. Tradición exportadora peruana del Pisco: los Estados Unidos vs. Doscientas botijas de Pisco. *Boletín de Lima*, 30,152, 51p.

Ulanovsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda, F., Ortiz, J. M. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 92, 241-254p.

Vargas, A.M. 2009. Estudio de la Diversidad en variedades de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) y su aplicación al análisis de asociación para caracteres de calidad. Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario – IMIDRA. Tesis para obtener el grado de Doctor. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España.

Velasco, R., A. Zharkikh, M. Troggio, D.A. Cartwright, A. Cestaro. 2007. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS ONE* 2(12): e1326.

Vélez, M.D. 2007. Estudio de un Sistema de Marcadores Microsatélites para la protección y Defensa legal de Variedades de Vid (*Vitis vinífera* L.). Departamento de Biología celular y Genética de la Universidad de Alcalá. Tesis para obtener el grado de Doctor. Alcalá de Henares, España,

Vignani, R., Bowers, J.E., and Meredith, C.P., 1996. Microsatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinífera* L. "Sangiovese". *Scientia Horticulturae*. 65:163-169p.

Vokurka, A., Maletic, E., Benjak, A. 2003. Application of molecular markers for analysis of presumed synonyms and homonyms within Croatian grapevine cultivars. *Acta Horticulturae*. 603: 581-584.

Vuylsteke, M., Peleman, J.D., Eijk, M.J. 2007. AFLP technology for DNA fingerprinting. *Nature Protocols* 2(6):1387-98p.

Waugh, R. and Powell, W. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *Trends in Biotech.* 10: 186-191p.

Weihl, T., Dettweiler, E. 2000. Differentiation and identification of 500 grapevine (*Vitis* spp. L.) cultivar using notation and measure leaf parameters. Proceedings, of the Seventh International Symposium on Grapevine Genetics Breeding, Montpellier, France, 6-10 de July 1998, volume 1, 37-45p.

Wright, S. 2000. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15, 323–354p.

Zambrano, E. 2004. Estudio de la variabilidad de melloco (*Ullucus tuberosum* Caldas), oca (*Oxalis tuberosa* Molina) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavon) en finca de agricultores Colta-Chimborazo. Tesis para obtener el grado de Ing. Agrónomo. 93p.

Zela, C.G., B.H. Cortés y G. Meza Z. 1997. Caracterización y agrupamiento de morfotipos en 230 entradas de maswa (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.). In Resúmenes X congreso internacional de cultivos andinos, Cusco, Perú.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Registro de caracteres morfológicos en ocho “*Variedades pisqueras*”

VARIEDAD	REPETICIONES	EXTREMIDAD O PAMPANO			HOJA JOVEN	HOJA ADULTA									BAYAS	
		Apertura de la extremidad	Densidad de los pelos tumbados de la extremidad	N° de zarcillos consecutivos	Hojas juvenes	Forma del limbo	N° de lobulos	Distribución de la pigmentación antocianica de los nervios principales del haz del limbo	Forma de los dientes	grado del apertura / solapamiento del seno peciolar	base del seno peciolar limitada por la nerviadura	densidad de los pelos tumbados entre los nervios principales sobre el envés del limbo	densidad de los pelos erguidos sobre los nervios principales del envés del limbo	Forma	Color de la epidermis	
		1	4	15	51	67	68	70	76	79	81-2	84	87	223	225	
Quebranta	1	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	5	3	5	
Quebranta	2	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	5	3	5	
Quebranta	3	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	7	5	6	5	
Quebranta	4	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	5	3	2	
Quebranta	5	5	7	1	2	3	3	2	3	3	1	7	5	6	5	
Quebranta	6	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	5	3	2	
Quebranta	7	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	5	3	5	
Quebranta	8	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	7	5	6	5	
Quebranta	9	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	3	6	2	
Quebranta	10	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	3	3	5	
Moscatel	1	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	5	3	2	3	
Moscatel	2	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	5	3	1	3	
Moscatel	3	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	5	3	1	3	
Moscatel	4	5	7	1	2	2	3	3	3	3	1	5	3	1	3	
Moscatel	5	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	5	1	2	3	
Moscatel	6	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	5	3	1	3	
Moscatel	7	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	5	1	1	3	
Moscatel	8	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	3	3	1	3	
Moscatel	9	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	7	3	1	3	
Moscatel	10	5	7	1	2	3	3	3	3	3	1	7	1	1	3	
Mollar	1	5	5	1	1	3	3	1	3	3	1	3	7	3	2	
Mollar	2	5	5	1	1	3	3	1	3	3	1	5	7	6	3	
Mollar	3	5	5	1	2	4	2	1	3	3	1	5	5	6	2	
Mollar	4	5	5	1	1	4	2	1	3	3	1	5	5	3	2	
Mollar	5	5	5	1	2	4	2	1	3	3	1	5	5	6	3	
Mollar	6	5	5	1	1	4	2	1	3	3	1	5	5	3	2	
Mollar	7	5	5	1	1	4	3	1	3	3	1	5	7	3	2	
Mollar	8	5	5	1	1	4	2	1	3	3	1	5	5	3	3	
Mollar	9	5	5	1	1	4	2	1	3	3	1	5	5	3	2	
Mollar	10	5	5	1	1	4	2	1	3	3	1	5	5	3	2	

<<Continuación>>

Albilla	1	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	5	1	2	1
Albilla	2	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Albilla	3	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	7	3	2	1
Albilla	4	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	3	2	1
Albilla	5	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Albilla	6	5	7	1	2	2	3	1	3	3	1	5	1	2	1
Albilla	7	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Albilla	8	5	7	1	2	2	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Albilla	9	3	7	1	2	2	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Albilla	10	5	7	1	2	3	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	1	5	7	1	3	2	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	2	5	7	1	3	3	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	3	5	7	1	3	3	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	4	5	7	1	3	2	3	1	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	5	5	9	1	3	3	3	2	3	3	1	7	3	3	1
Torontel	6	5	7	1	3	3	3	3	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	7	5	7	1	3	3	3	2	3	3	1	7	1	3	1
Torontel	8	5	9	1	3	3	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	9	5	7	1	3	2	3	2	3	3	1	7	1	2	1
Torontel	10	5	7	1	3	3	3	2	3	3	1	7	3	2	1
Italia	1	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	9	3	8	1
Italia	2	5	9	1	3	2	3	2	2	3	1	7	1	8	1
Italia	3	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	7	1	8	1
Italia	4	5	9	1	3	2	3	2	2	3	1	9	1	8	1
Italia	5	5	9	1	3	2	3	1	2	1	1	7	3	8	1
Italia	6	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	9	1	8	1
Italia	7	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	7	1	8	1
Italia	8	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	5	1	8	1
Italia	9	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	7	3	8	1
Italia	10	5	9	1	3	2	3	1	2	3	1	7	1	8	1
Uvina	1	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	3	1	2	6
Uvina	2	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6
Uvina	3	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6
Uvina	4	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6
Uvina	5	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6
Uvina	6	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6
Uvina	7	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	3	2	6
Uvina	8	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	3	2	6
Uvina	9	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	3	2	6
Uvina	10	5	7	2	4	3	3	1	3	3	1	5	1	2	6

<<Continuación>>

Negra corriente	1	3	5	1	3	2	3	2	3	3	1	5	1	1	5
Negra corriente	2	3	5	1	3	2	3	3	3	3	1	5	1	1	5
Negra corriente	3	3	5	1	3	2	3	3	3	3	1	3	1	1	5
Negra corriente	4	3	5	1	3	3	3	2	3	3	1	5	3	1	5
Negra corriente	5	3	5	1	3	2	3	2	3	3	1	5	3	1	5
Negra corriente	6	3	5	1	3	2	3	3	3	3	1	3	1	1	5
Negra corriente	7	3	5	1	3	2	3	2	3	3	1	3	1	1	5
Negra corriente	8	3	5	1	3	2	3	2	3	3	1	5	1	1	5
Negra corriente	9	3	5	1	3	3	3	2	3	3	1	5	3	1	5
Negra corriente	10	3	5	1	3	2	3	2	3	3	1	5	1	1	5

NOTA: SE UTILIZÓ LA LISTA PRIORITARIA DE DESCRIPTORES PRIMARIOS DE LA OIV

**Anexo 2: Análisis de frecuencias para las variables Ampelográficas  
de las variedades pisqueras**

**OIV 1**

Variedades	Moda	Min	Max
Albilla	5	3	5
Italia	5	5	5
Mollar	5	5	5
Moscatel	5	5	5
Uvina	5	5	5
Quebranta	5	5	5
Torontel	5	5	5
NegCorr	3	3	3

**OIV 4**

Variedades	Moda	Min	Max
Italia	9	9	9
Torontel	7	7	9
Albilla	7	7	7
Moscatel	7	7	7
Quebranta	7	7	7
Uvina	7	7	7
NegCorr	5	5	5
Mollar	5	5	5

**OIV 51**

Variedades	Moda	Min	Max
Uvina	4	4	4
Italia	3	3	3
NegCorr	3	3	3
Torontel	3	3	3
Albilla	2	2	2
Moscatel	2	2	2
Quebranta	2	2	2
Mollar	1	1	2

**OIV 67**

Variedades	Moda	Min	Max
Mollar	3	3	4
Uvina	3	3	3
Quebranta	3	2	3
Albilla	3	2	3
Moscatel	3	2	3
Torontel	3	2	3
NegCorr	2	2	3
Italia	2	2	2

**OIV 68**

Variedades	Moda	Min	Max
Albilla	3	3	3
Italia	3	3	3
Moscatel	3	3	3
NegCorr	3	3	3
Quebranta	3	3	3
Torontel	3	3	3
Uvina	3	3	3
Mollar	2.	2	3

**OIV 70**

Variedades	Moda	Min	Max
Albilla	3	2	3
Moscatel	3	2	3
NegCorr	2	2	3
Torontel	2	1	3
Italia	1	1	2
Quebranta	1	1	2
Mollar	1	1	1
Uvina	1	1	1

**OIV 84**

Variedades	Moda	Min	Max
Italia	7	5	9
Quebranta	7	7	7
Torontel	7	7	7
Albilla	7	5	7
Moscatel	5	3	7
Mollar	5	3	5
Uvina	5	3	5
NegCorr	5	3	5

**OIV 223**

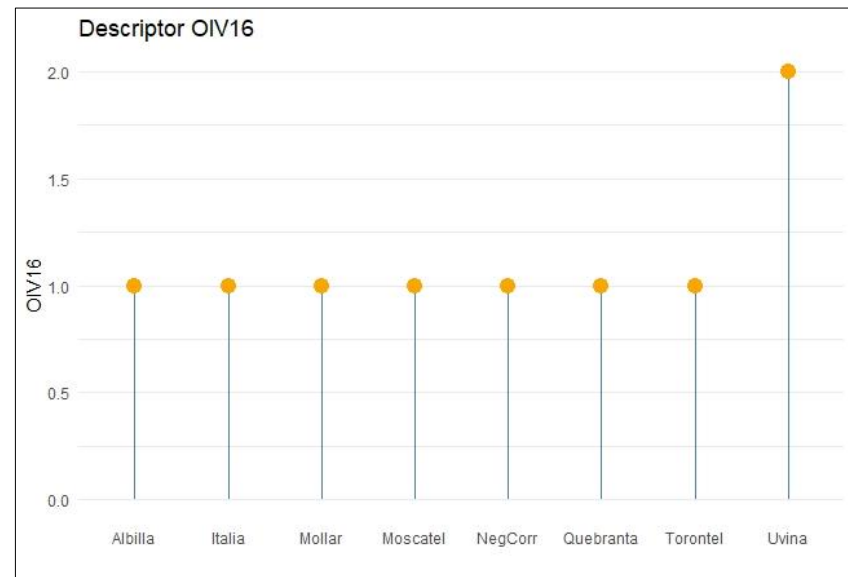
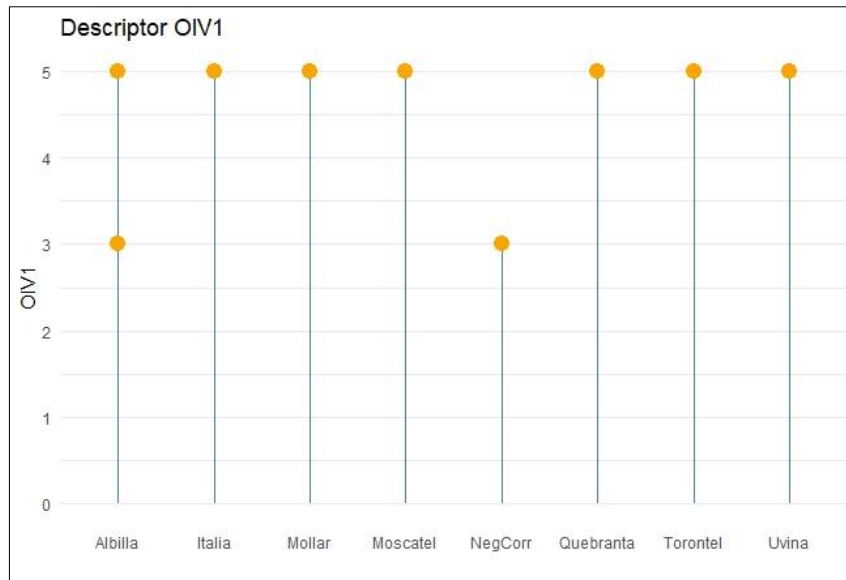
Variedades	Moda	Min	Max
Italia	8	8	8
Quebranta	3	3	6
Mollar	3	3	6
Torontel	2	2	3
Albilla	2	2	2
Uvina	2	2	2
Moscatel	1	1	2
NegCorr	2	1	1



**OIV 225**

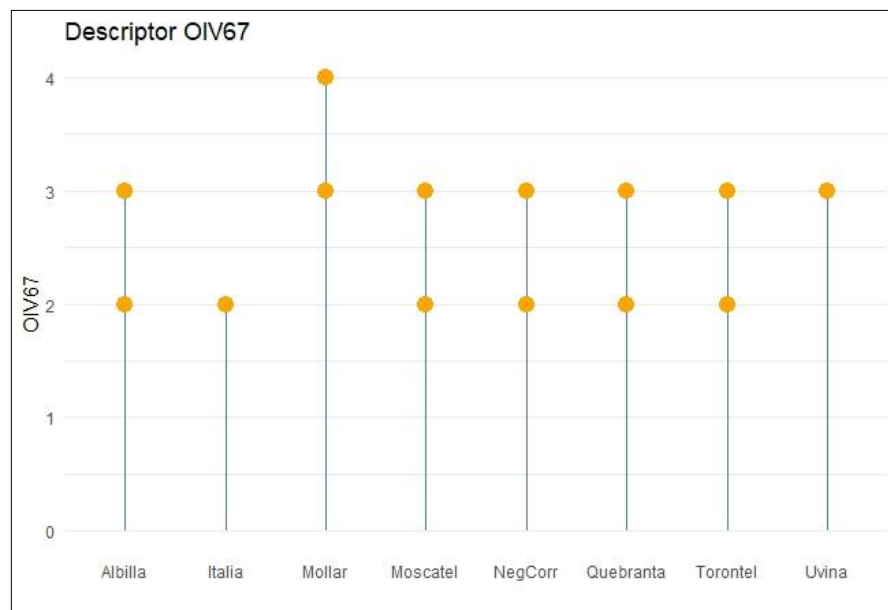
Variedades	Moda	Min	Max
Uvina	6	6	6
NegCorr	5	5	5
Quebranta	4.1	2	5
Moscatel	3	3	3
Mollar	2.3	2	3
Albilla	1	1	1
Italia	1	1	1
Torontel	1	1	1

### Anexo 3: Gráficos del análisis de frecuencias únicas en los caracteres Ampelográficos de las variedades *pisqueras*

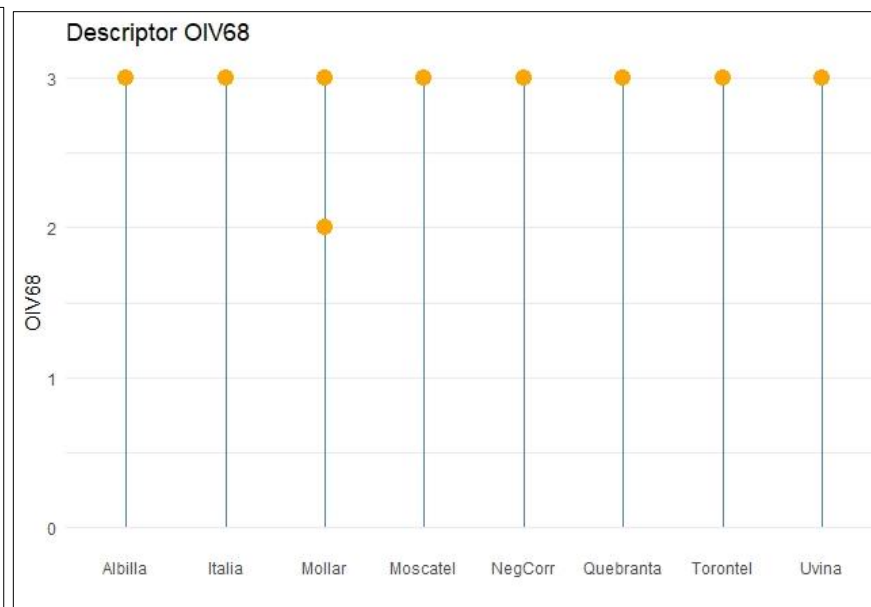


El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-001, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Negra criolla, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.

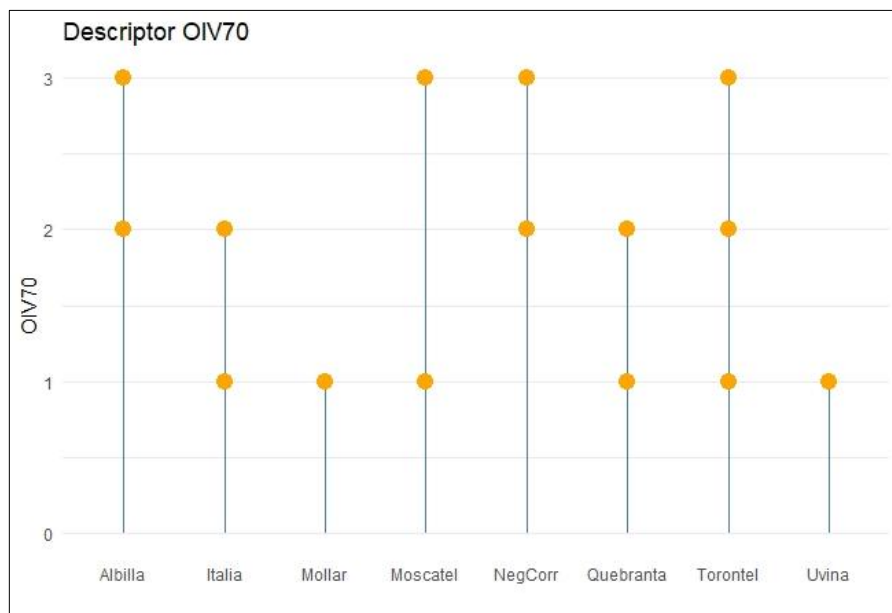
El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-016, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Uvina, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se puede observar en el gráfico.



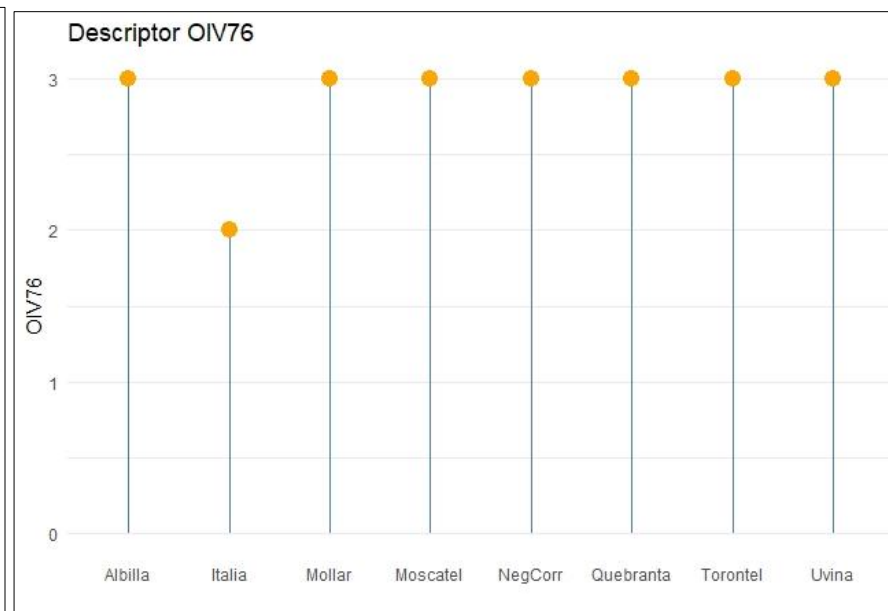
El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-067, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Italia y Mollar, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.



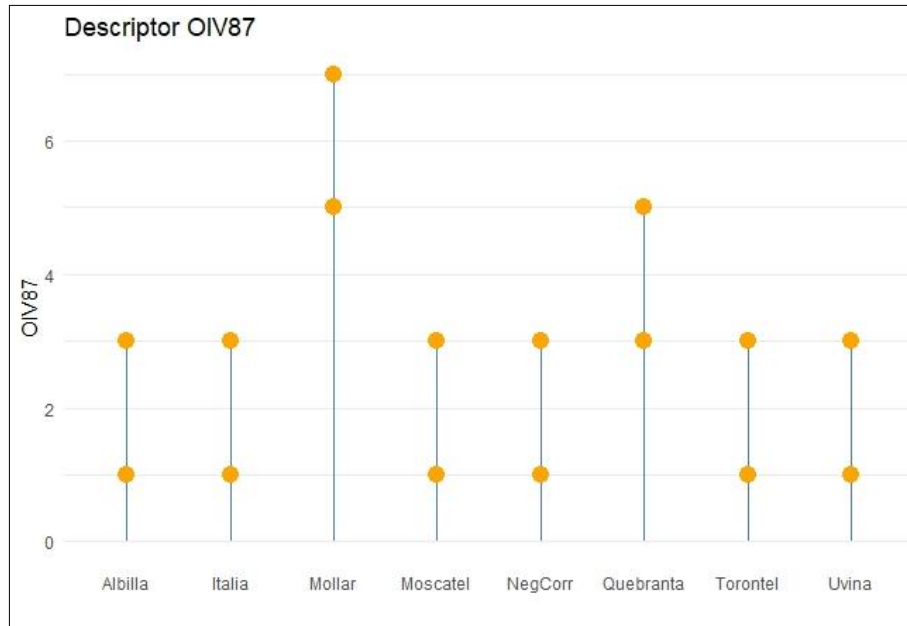
El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-068, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Mollar, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.



El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-070, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Mollar, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.



El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-076, permitió validar este carácter para identificar a la variedad Italia, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.



El análisis de frecuencia única del descriptor OIV-087, permite validar este carácter para identificar a la variedad Quebranta y Mollar, con respecto al grupo de variedades estudiadas, como se aprecia en el gráfico.

**Anexo 4: Registro de alelos para nueve marcadores microsatelites en “*Variedades pisqueras*” mediante tinción con nitrato de plata**

VARIEDADES	VVS2						VVMD5					VVMD7						VVMD25					VVMD27									VVMD28									VVMD32									ZAG62						ZAG79								
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A1	A2	A3	A4	A5									
Quebranta	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0						
Moscatel	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0		
Mollar	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0		
Albilla	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0		
Torontel	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
Italia	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	
Uvina	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Negra-corriente	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	

**Electroforesis vertical con Nitrato de Plata**

**Anexo 5: Registro de alelos para ocho marcadores microsatelites en “*Variedades pisqueras*” mediante electroforesis capilar**

Variedades	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVS2	VVMD5	VVMD5	VVMD5	VVMD5	VVMD5	VVMD5
Quebranta	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Moscatel	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Mollar	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Albilla	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Torontel	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
Italia	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
Uvina	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
Negra-corriente	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

VVMD7	VVMD7	VVMD7	VVMD7	VVMD27	VVMD27	VVMD27	VVMD27	VVMD27	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28	VVMD28	VVMD28
0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1

VVMD28	VVMD28	VVMD28	VVMD32	VVMD32	VVMD32	VVMD32	VVMD32	VrZAG62	VrZAG62	VrZAG62	VrZAG62	VrZAG62	VrZAG62	VrZAG62
0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0

VrZAG62	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79	VrZAG79
0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	1	0	0	0	0

Electroforesis capilar