

Revisión: biotecnología aplicada a la viticultura

Recibido 09 de febrero de 2021 //
Aceptado 19 de agosto de 2021//
Publicado online 01 de diciembre de 2021

Tapia, E.A.¹; Madrigal, B.²; Herrera, E.¹

RESUMEN

El vino es una bebida altamente comercializada; en las últimas tres décadas se ha observado un aumento en la globalización de este producto. Las empresas vitivinícolas buscan nuevos avances tecnológicos que permitan aumentar la producción de vino mediante el mejoramiento del cultivo de vides y el uso de estándares de calidad para responder a la alta competitividad del mercado. Hoy en día, la industria vitivinícola se enfrenta a problemáticas mundiales como el descenso del consumo y aumento de excedentes; por lo que se busca a futuro la obtención de productos más competitivos, mejoras de calidad y tipicidad de los vinos. El objetivo de esta revisión es recabar las principales aplicaciones de la ingeniería genética y la biotecnología aplicada a la viticultura. Desde los métodos actuales de identificación molecular de variedades de vid hasta la producción de vinos botritizados mediante el uso de técnicas microbiológicas que permiten la infección de las uvas con el hongo *Botrytis cinerea* y el uso de transgénicos, entre otros; tomando en cuenta la bioética y bioseguridad que debe estar presente en el desarrollo de estas tecnologías innovadoras que impactan positivamente en el cultivo y producción de las variedades de vides.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, *Botrytis cinerea*, OGM, microsátélites, SNP, micropropagación.

ABSTRACT

*Wine is a highly commercialized product. In the last three decades there has been an increase in the globalization of this product. Wine companies are looking for new technological advances that allow increasing wine production by improving the cultivation of vines and the use of quality standards to respond to the high competitiveness of the market. Nowadays, wine industry faces global problems such as decreased consumption and increased surpluses; for this reason, the future seeks to obtain more competitive products, quality improvements and typicality of wines. The objective of this review is to recover the main applications of genetic engineering and biotechnology applied to viticulture. From the current methods of molecular identification of vine varieties, to the production of botrytised wines through the use of microbiological techniques that allow the infection of grapes with *Botrytis cinerea* fungus and the use of transgenics, among others; taking into account the bioethics and biosafety which must be present in the development of these innovative technologies that positively impact the cultivation and production of grape varieties.*

Keywords: *Botrytis cinerea*, *Vitis vinifera*, micropropagation, microsattellites, GMO, SNP.

¹Universidad Anáhuac México, Facultad de Ciencias de la Salud. Correo electrónico: an-ta-gu@hotmail.com

²Universidad Anáhuac México, Facultad de Turismo y Gastronomía. Avenida Universidad Anáhuac N.º 46, Colonia Lomas Anáhuac, C.P. 52786 Huixquilucan, Estado de México, México.

INTRODUCCIÓN

El vino es un producto altamente consumido a nivel mundial según la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). Se estima que el consumo global en 2019 fue de 244 millones de hectolitros (hL) (OIV, 2020), y la producción mundial en 2018, excluyendo zumos y mostos, alcanza la cifra de 279 millones de hL; por lo que la industria vitivinícola es de gran importancia económica.

En las últimas tres décadas se ha observado un aumento en la globalización del vino, principalmente en el número de países productores y exportadores: Estados Unidos, Argentina, Chile, Nueva Zelanda, China, Sudáfrica, entre otros (Medina-Albaladejo *et al.*, 2014). Las exportaciones mundiales aumentaron en las últimas décadas de 2.61 millones de toneladas en 1961-1965 pasaron a 4.31 millones en 1986-1990 y a 9.8 millones en 2010 (Medina-Albaladejo *et al.*, 2014). Actualmente los principales países productores de vino en el mundo son Italia, Francia, España, Estados Unidos y Argentina (OIV, 2018).

En México la industria vitivinícola se ha incrementado gracias a la demanda del vino, según el Consejo Mexicano Vitivinícola (CMV, 2018); el consumo de vino pasó de 450 mL en 2012 a 950 mL *per cápita* en 2018. Se ha buscado incrementar la producción de vino en nuestro país ya que el producto generado actualmente solo satisface el 30% de la demanda interna. Los 5 principales estados productores de vino en México son: Coahuila, Querétaro, Baja California, Zacatecas y Aguascalientes (CMV, 2020).

Hoy en día existe una alta competencia en la industria vitivinícola tanto en México como en el mundo; por lo que se han buscado nuevos conocimientos y tecnologías que permitan aumentar la producción de vino y alcanzar mayores estándares internacionales de calidad.

El objetivo de esta revisión es recabar las principales aplicaciones de la ingeniería genética y la biotecnología que han permitido obtener avances innovadores para el mejoramiento de los cultivos, maximizar la producción de vino y mantener la competitividad mundial en la viticultura.

REVISIÓN DE LITERATURA

En las últimas décadas se han desarrollado avances innovadores a nivel mundial, específicamente en genética y biotecnología. En el campo de la viticultura el aprovechamiento de estos avances abarca desde nuevas técnicas moleculares para la identificación y diferenciación de variedades de vid, el uso de la microbiología para aislar, purificar y utilizar un hongo fitopatógeno para la producción de vinos botritizados hasta métodos enfocados a la agrobiotecnología para acelerar el desarrollo de plantas como es la micropropagación y el uso de transgénicos. De esta forma, se busca optimizar los cultivos y alcanzar estándares de calidad generando un impacto positivo en la industria vitivinícola.

Métodos moleculares de identificación de variedades de vid

Las grandes empresas productoras de vino buscan desarrollar nuevas estrategias que permitan diferenciarlos dentro del mercado. La introducción de nuevas variedades de uva es una de estas estrategias (Lavarello *et al.*, 2011).

La industria vitivinícola está basada en la venta de cultivos y especies de vid, gracias a su fácil diseminación se han ge-

nerado confusiones en su denominación; de esta manera, una misma variedad puede recibir diversos nombres en diferentes zonas o países donde se cultiva. En el mundo existen aproximadamente 5.000 variedades de *Vitis vinifera* (Gomes *et al.*, 2018), la cual es considerada la especie más dominante entre las diferentes especies de vides cultivadas para la elaboración de vino (Troggio *et al.*, 2008). Por lo que su correcta identificación mediante métodos de biología molecular con métodos ampelográficos es importante para su denominación y venta de producto en el mercado.

Se han implementado normas internacionales como el Código Internacional de Prácticas Enológicas y la Norma Internacional para el Etiquetado de Vinos de la OIV (OIV, 2019); las cuales permiten regular el proceso de producción, empaquetado y delimitar especificaciones sobre el etiquetado del producto final. Dentro del etiquetado debe de ir especificado la denominación del producto (OIV, 2015).

En la actualidad, la ampelografía práctica se usa como un método complementario de identificación (Ruiz, 2019); por lo que para poder llevar a cabo una denominación más detallada y certera del género, especie, y variedad de la vid se utilizan métodos de biología molecular.

La identificación y designación correcta de la variedad de la vid es un requerimiento necesario para los productores vinícolas, puesto que permite conservar variedades tradicionales que se han mantenido en denominaciones de origen durante siglos debido a alguna característica. Asimismo, permite la corrección de sinonimias, las cuales son frecuentes en el ámbito de la viticultura, la conservación de germoplasma y el correcto etiquetado del producto. Existen varios métodos de identificación de variedades de vides; sin embargo, el más utilizado en la actualidad es la identificación de marcadores genéticos conocidos como secuencias repetidas cortas (SSR) o también comúnmente llamados microsatélites (San Pedro-Galan, 2017).

Secuencias repetidas cortas o microsatélites (SSR)

Los SSR son unidades cortas de uno a seis pares de bases que se encuentran repetidos en tándem en el genoma de los organismos eucariontes (Picó-Sirvent *et al.*, 2012); son altamente variables en su longitud entre los diferentes alelos de un mismo locus (sitio en el genoma). El uso de este método molecular de identificación se apoya principalmente en la amplificación de las secuencias mediante el uso de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), la cual utiliza primers o cebadores complementarios a las secuencias conservadas de interés (Pérez de Castro, 2011).

La OIV ha propuesto un protocolo de identificación de variedades de vid (*Vitis vinifera*) mediante el uso de nueve diferentes SSR (OIV, 2019) con el fin de uniformar los criterios internacionales, así como para revisar denominaciones varietales. Existen más marcadores SSR, sin embargo, nueve microsatélites permiten diferenciar entre una variedad de *Vitis vinifera* y otra gracias a su alta capacidad de discrepancia a diferencia de los demás. Los nueve determinados por la OIV (tabla 1) son los marcadores necesarios para obtener la validación de los datos (OIV, 2019).

El uso de los marcadores genéticos SSR es el método estándar designado por la OIV (OIV, 2019). Sin embargo, el desarrollo de técnicas y métodos novedosas han generado nuevas propuestas como la identificación de variedades mediante el uso de SNP (por sus siglas en inglés, Single Nucleotide Polymorphisms).

Locus	Alelo (pb)	Cebadores (5'-3' y 3'-5')	Repetido	Referencia
VVMD5	226 - 246	5'- CTAGAGCTACGCCAATCCAA -3' 3'- TATACCAAAAATCATATTCCTAAA -5'	(CT) ₃ AT(CT) ₁₁ ATAG(AT) ₃	(Bowers <i>et al.</i> , 1996)
VVMD7	231 - 265	5'- AGAGTTGCGGAGAACAGGAT -3' 3'- CGAACCTTCACACGCTTGAT -5'	(CT) _{14.5}	(Bowers <i>et al.</i> , 1996)
VVMD27	171 - 219	5'- GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT-3' 3'- ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT -5'	No reportado	(OIV, 2001)
VVS2	123 - 162	5'- CAGCCCGTAAATGTATCCATC -3' 3'- AAATTCAAAATTCTAATTCAACTGG -5'	(GA) ₂₂	(Thomas <i>et al.</i> , 1993)
ssrVrZAG79	235 - 262	5'- AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG -3' 3'- TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTCC -5'	(GA) ₁₉	(Sefc <i>et al.</i> , 1999)
ssrVrZAG62	174 - 220	5'- GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC -3' 3'- CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC -5'	(GA) ₁₉	(Sefc <i>et al.</i> , 1999)
VVMD32	239 - 273	5'- TATGATTTTTTGGGGGGTGAGG -3' 3'- GGAAAGATGGGATGACTCGC -5'	No reportado	(Bowers <i>et al.</i> , 1999)
VVMD25	243 - 275	5'- TTCCGTTAAAGCAAAGAAAAAGG -3' 3'- TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG -5'	No reportado	(Bowers <i>et al.</i> , 1999)
VVMD28	221 - 279	5'- AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGA -3' 3'- TCATCAATTCGTATCTCTATTGCTG -5'	No reportado	(Bowers <i>et al.</i> , 1999)

Tabla 1. Marcadores SSR para la identificación de variedades de *Vitis vinifera L.*
pb: pares de bases.

Polimorfismos de nucleótido único (SNP)

Los polimorfismos de nucleótido único (SNP) han surgido como una alternativa viable para una identificación más rápida y eficaz (Ibáñez *et al.*, 2010). Estos polimorfismos son mutaciones que se pueden encontrar en cualquier parte del genoma de un organismo y son característicos por presentar un cambio en una sola base nitrogenada en un sitio específico (Ramírez-Bello *et al.*, 2013). Gracias a la secuenciación del genoma completo de la vid en 2007 (Jaillon *et al.*, 2007) se han identificado gran variedad de SNP, facilitando de esta forma la diferenciación entre variedades.

El método de identificación de SNP se apoya en el uso de microarreglos de ADN, su frecuencia en el genoma de la vid es muy alta y se necesita una herramienta que pueda acelerar el proceso. Estos microarreglos están basados en el uso de bibliotecas de ADNc (complementario) que se realiza a partir de la retrotranscripción de los RNAm del organismo y posteriormente las secuencias complementarias se almacenan en un vector. Estas bibliotecas de ADNc son de gran importancia porque permiten la impresión de los microarreglos; y estos son usados para agilizar el análisis de la expresión génica de una muestra (Martínez-Hernández *et al.*, 2010). El fundamento principal de los microarreglos es hibridar moléculas complementarias de ADNc entre sí, identificarlas mediante marcaje fluorescente y medir la presencia e intensidad de la expresión del gen diana (Heidari, 2019); que en este caso contiene a los SNP.

Un microarreglo común tiene una superficie aproximada de 2x2 cm, el cual puede contener aproximadamente 10.000 moléculas diana para su análisis. Debido a esto, los microarreglos de SNP han surgido como una herramienta novedosa

para aumentar la rapidez y eficacia de la identificación de variedades de vid; así como aplicarse para la generación de mapas genómicos y determinar relaciones genéticas entre variedades (Laucou *et al.*, 2018).

Agrobiotecnología aplicada a la viticultura

El crecimiento lento de algunas variedades de plantas es una limitante importante para la industria tanto alimenticia como ornamental (Domínguez-Rosales *et al.*, 2008). La biotecnología ha permitido desarrollar nuevas técnicas de cultivo de plantas con la finalidad de maximizar la producción y evitar el desabastecimiento de productos en el mercado.

Micropropagación

El cultivo *in vitro* se caracteriza por mantener un ambiente aséptico, así como, factores físicos y químicos controlados que son fundamentales y que nos permiten desarrollar plantas de forma específica, es decir, implementar un ambiente artificial para el cultivo de plantas.

Dentro de las principales técnicas de cultivo *in vitro* de plantas se encuentra la micropropagación. Esta técnica consiste en la propagación de material vegetal deseable mediante explantes obtenidos a partir de una planta madre; utilizando un medio de cultivo adecuado que satisfaga las necesidades nutricionales de la planta (Mroginski *et al.*, 2010).

Una de las más grandes ventajas que tiene esta técnica es la capacidad de aumentar significativamente la producción de una planta específica; la reducción de espacio de trabajo y control de

las condiciones de crecimiento. La micropropagación está basada en la característica de totipotencia de las células vegetales, en la que una célula tiene la capacidad de regenerar un organismo vegetal completo (Calva-Calva *et al.*, 2005); debido a esta propiedad se pueden someter las células a estímulos adecuados para la diferenciación específica hacia diversos tejidos, como, por ejemplo, raíces, tallo o embriones (Olmos *et al.*, 2010).

Actualmente esta técnica se ha aplicado a la viticultura con la finalidad de micropropagar *Vitis vinifera* y optimizar su cultivo. En Etiopía (Kinfe *et al.*, 2017) se han realizado técnicas de micropropagación en variedades de *Vitis vinifera*, específicamente “Chenin blanc”, “Ugni blanc” y “Canonnanon” utilizando nódulos como explantes, medio Murishage y Skoog (MS) y la adición de fitohormonas como BAP (6-bencilaminopurina), los cuales tuvieron un crecimiento exitoso en cuatro semanas; estas plántulas se trasplantaron a suelo donde se llevó a cabo el proceso de aclimatación. Sin embargo, se pueden utilizar diversos tipos de explantes para propagar *Vitis vinifera*, como, por ejemplo, hojas jóvenes para inducción de callos (Kumsa *et al.*, 2019) y brotes laterales (Melyan *et al.*, 2015).



Figura 1. Cultivo *in vitro* de *Vitis vinifera* (Martínez, 2019).

En España se ha establecido un protocolo de micropropagación exitoso de *Vitis vinifera* para la variedad “Monastrell” utilizando brotes como explantes; en el cual compararon el uso del medio W (medio basal de planta leñosa Lloyd y McCown) y el medio MS, ambos adicionados con BAP por un periodo de 30 días; siendo el cultivo con medio W el más eficiente para la inducción de brotes (San Pedro-Galan, 2017); pudiéndose obtener alrededor de 10.000 plantas en siete meses a partir de una sola planta madre.

En algunos países, como México, se han utilizado yemas axilares y meristemos como explantes para la micropropagación *in vitro* de las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot en medio MS adicionado con fitohormonas, teniendo mejores resultados con una concentración de 1,0 mg/L de BAP (Cavazos-Galindo *et al.*, 2018). Debido a los avances en biotecnología vegetal a nivel mundial, la micropropagación se ha establecido como una técnica viable para el cultivo *in vitro*, conservación y mejoramiento de *Vitis vinifera*, sin embargo; se deben realizar más investigaciones para obtener protocolos óptimos de crecimiento y desarrollo para variedades específicas.

Producción de vinos botritizados

El uso de microorganismos de interés industrial es una de las principales aplicaciones de la biotecnología; este es el caso de *Botrytis cinerea*. Este microorganismo es un hongo filamentoso perteneciente a la familia *Sclerotinicaeae*, capaz de infectar a más de 230 especies de plantas huéspedes entre ellas la planta de la vid generando la enfermedad conocida como podredumbre gris (Elad *et al.*, 2004). *B. cinerea* es un fitopatógeno al cual se le ha encontrado un interés particular en la industria vitivinícola; durante su ciclo de infección, el hongo infecta los racimos de las vides principalmente en las estaciones de primavera y verano (Elmer *et al.*, 2007), generando de esta forma algunos efectos en la composición de las bayas, como, por ejemplo, la reducción del 40% al 50% de agua, reducción de compuestos fenólicos, taninos, pectinas y el aumento de azúcares durante el proceso de maduración (Pezet *et al.*, 2003).

La infección de *B. cinerea* en las vides puede llegar a disminuir significativamente la calidad de las uvas y dificultar su vinificación (Pajares-León, 2016). Sin embargo, bajo determinadas condiciones climatológicas, alternando periodos de humedad y sequedad, puede llegar a controlarse e inducir una infección menor conocida como podredumbre noble (Lovato *et al.*, 2019).

En esta podredumbre, la inoculación con *B. cinerea* se utiliza principalmente como método posmaduración de las bayas con la finalidad de aumentar la concentración de azúcares y de esta forma llevarlos al proceso de vinificación para generar vinos dulces comercialmente conocidos como vinos botritizados de calidad. Las principales variedades de uvas que se utilizan para la producción de vinos botritizados son: “Semillon”, “Sauvignon Blanc”, “Chenin Blanc”, “Furmint”, “Riesling”, “Picolit”, “Pinot Blanc” y “Gewürztraminer” (Kallitsounakis y Catarino, 2020). El uso de *B. cinerea* en la industria vitivinícola implica principalmente técnicas biotecnológicas y microbiológicas que incluyen el aislamiento, caracterización, conservación, inoculación y biocontrol del hongo.

Algunas de las regiones principales donde se producen los vinos botritizados son la zona de Sauternes-Barsac en el suroeste de Francia, la zona Tokaj-Hegyalja en Hungría y Eslovaquia, así como los vinos Beerenauslese en algunas regiones de Alemania (Pajares-León, 2016). Los vinos botritizados producidos en estas regiones tienen un gran impacto en el mercado mundial vitivinícola, siendo de los más costosos debido a su meticuloso proceso de elaboración.

Transgénicos

Los transgénicos surgen como una alternativa viable para resolver problemas en diversas industrias, principalmente la industria agroalimentaria, textil y farmacéutica. Estados Unidos es el país líder en la aplicación de transgénicos en la agricultura; existen actualmente 10 cultivos OGM (Organismos Genéticamente Modificados) autorizados los cuales son: alfalfa, manzana, colza, maíz, algodón, papaya, papa, soya, calabaza y remolacha azucarera (Giménez-Alvear *et al.*, 2019). En México se han aprobado 170 eventos para alimentos, piensos y cultivo; incluidos la alfalfa, canola, algodón, maíz, papa, arroz, soya, remolacha y tomate desde 1996 (ISAAA, 2017). La mayoría de estos cultivos se encuentra en ensayos de evaluación precomerciales, el único cultivo GMO aprobado para su cultivo es el algodón.

La transferencia de genes de interés y la edición génica en las vides mediante el uso de técnicas de biología molecular y manipulación genética ha sido uno de los principales puntos de interés en la industria de vinos; por lo que se han realizado experimentaciones con el objetivo de silenciar genes específicos que generan susceptibilidad a enfermedades o inducir características específicas, como, por ejemplo, resistencia a plagas, resistencia al frío o estrés abiótico (González y Ramón, 2008).

Según la FAO (por sus siglas en inglés, Food and Agriculture Organization) un transgénico es definido como la transferencia de uno o más genes de una especie diferente a otra, con la finalidad de mejorar las características del organismo (Madkour, 2019). Por tanto, se ha optado por la inserción de transgenes mediante diversas metodologías que puedan satisfacer estas necesidades y así maximizar los cultivos y consecuentemente mejorar la producción de vino.

Transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

A. tumefaciens actualmente conocido como *Rhizobium radiobacter* es un fitopatógeno que infecta y coloniza los sistemas radiculares de las plantas causando tumoraciones. Se utiliza como método de transformación genética debido a que contiene un mecanismo único de virulencia, en el cual transfiere fragmentos de ADN a las células huéspedes mediante un plásmido Ti (por su sigla en inglés, "tumor inducing") con el objetivo de integrarlo a su genoma (Guo *et al.*, 2019). El gen de interés se puede insertar fácilmente en el plásmido Ti reemplazando los oncogenes de la región ADN-T (de transferencia) y al momento de la infección este es transferido al genoma (Hwang *et al.*, 2017).

Este método de transformación genética vegetal es el más utilizado debido a que su mecanismo está ampliamente estudiado y presenta una alta eficiencia de transformación (Hwang *et al.*, 2017). Sin embargo, existen diversos métodos de transformación genética que no incluyen el uso de microorganismos, principalmente la biobalística, el uso de liposomas, electroporación, sonicación, microinyección, entre otros (Díaz-Granados *et al.*, 2012). Algunos de los principales genes de interés que se han insertado experimentalmente en *Vitis vinifera* se encuentran mencionadas en la tabla 2.

En su mayoría, la transformación genética que se busca en *Vitis vinifera* se encuentra enfocada en otorgar resistencia antifúngica con la finalidad de evitar este tipo de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos. El avance en biología molecular se enfoca en el desarrollo de nuevas técnicas que permiten la edición génica en plantas para reemplazar, silenciar o regular genes específicos.

Edición genética mediante CRISPR-Cas9

Una de las tecnologías con mayor potencial en el ámbito de la agricultura es la técnica de edición genética CRISPR-Cas9 (por sus siglas en inglés; Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated with protein Cas 9). Es un mecanismo de regulación genético encontrado en bacterias y que se presenta como mecanismo de defensa contra virus (Adli, 2018). Este sistema permite editar el ADN en un sitio específico debido a que está asociado a una enzima endonucleasa llamada Cas9 y que en conjunto con secuencias de ARN guía sirven para llegar al sitio de edición, donde se genera el reco-

nocimiento y corte del ADN blanco (Madrid-Caviedes, 2018). De esta forma se puede inactivar un gen específico o reemplazarlo por un gen de interés.

CRISPR-Cas9 es un sistema con alta eficiencia y especificidad en cuanto a edición genética en plantas. Principalmente se ha utilizado de forma experimental en plantas de tabaco, arroz, manzanos y vides (Li *et al.*, 2020). Se ha reportado exitosamente la inactivación del gen del factor de transcripción VcWRKY52 de la vid mediante el uso de esta técnica. Se generó una serie de deleciones en la secuencia genética para inactivar el gen, ya que presenta susceptibilidad a la infección por *B. cinerea* (Li *et al.*, 2020). También se empleó CRISPR-Cas9 para demostrar que el gen VvPR4b juega un rol importante en la defensa de la vid en contra de la enfermedad mildiu de la vid, ocasionada por el hongo *Plasmopara viticola*. En el experimento se realizó el silenciamiento del gen en un grupo de vides y como resultado presentaron una mayor susceptibilidad a la enfermedad a diferencia del grupo control (Li *et al.*, 2020).

A futuro CRISPR-Cas9 es una técnica prometedora para la modificación genética de vides y mejoramiento de cultivos con el objetivo de aumentar la resistencia a diversas enfermedades y factores que puedan dañar a las plantas y provocar un decaimiento de la calidad del producto. No obstante, CRISPR-Cas9 solamente se utiliza de forma experimental debido a que aún no se cuentan con las regulaciones y reglamentaciones necesarias para utilizarlo en productos transgénicos destinados a consumo humano.

RNA de interferencia para el silenciamiento génico

El RNA de interferencia es una molécula de RNA presente naturalmente en mecanismos biológicos de algunos seres vivos, incluyendo a las plantas, con el fin de regular la expresión génica de ácidos nucleicos endógenos y la protección de su genoma ante ácidos nucleicos exógenos, principalmente virales (Rosa *et al.*, 2018).

Mediante el uso de biología molecular y transformación genética se pueden diseñar e insertar RNA de interferencia específicos para el silenciamiento de un gen dentro de una planta; esta técnica también es conocida como 'Knock Down'. Debido a que *Vitis vinifera* es un cultivo que a través de los años se ha visto altamente dañado por la enfermedad mildiu de la vid, se buscan alternativas para combatirla. Se han reportado estrategias experimentales mediante el uso de RNA de interferencia para el silenciamiento exitoso del gen VvILBD1f7 en variedades "Pinot Noir", ya que genera una gran susceptibilidad para desarrollar esta enfermedad (Marciano *et al.*, 2021). Así mismo, se utilizó para silenciar el gen VvCSN5 en hojas de variedades "Thompson Seedless" puesto que el gen activo genera susceptibilidad a la infección por el hongo *Erysiphe necator* provocando la enfermedad del oídio en la vid (Cui *et al.*, 2021).

Esta técnica solamente se encuentra de forma experimental y no ha sido aceptada para su uso en cultivos. Sin embargo, su aplicación a futuro en la agricultura tendrá un gran potencial como una alternativa viable para el reemplazo de fungicidas que son productos que afectan negativamente al medioambiente y la salud del ser humano.

La necesidad del estudio de las vides y de sus productos ha generado que ciencias como la biotecnología acoplen sus avances a los fines que requiere esta industria. El objetivo de estas metodologías relaciona la identificación de vides, la producción del fruto o su modificación con el producto final. Los

Especie	Gen insertado	Descripción	Resistencia	Método de transformación	Referencia
<i>Vitis vinifera</i>	<i>mag2</i>	Péptido antimicrobiano magainina 2 utilizada para resistir enfermedades como agalla de la corona (bacteriana) y cenicilla (fúngica).	Antimicrobiana	Biobalística	(Vidal et al., 2006)
<i>Vitis vinifera</i>	GFP, <i>nptII</i>	GFP: gen de la proteína verde fluorescente. <i>nptII</i> : gen que codifica un aminoglucósido fosfotransferasa que le confiere resistencia a la neomicina/kanamicina (Vries y Wackernagel, 1998).	A antibióticos (Neo/Kan)	<i>Agrobacterium</i> sp.	(Li et al., 2001)
<i>Vitis vinifera</i>	Chi11	Gen de la quitinasa del arroz que se ha observado genera resistencia a diversas enfermedades fitopatógenas principalmente cenicilla.	Antifúngica	<i>A. tumefaciens</i>	(Nirala et al., 2010)
<i>Vitis vinifera</i>	Gen PGIP	Gen de la proteína inhibidora de la poligalacturonasa. Permite inhibir las endopoligalacturonas fúngicas como, por ejemplo, de <i>Botrytis cinerea</i> .	Antifúngica	<i>A. tumefaciens</i>	(Agüero et al., 2005)
<i>Vitis vinifera</i>	DREB1b	Gen que codifica para un factor de transcripción inducible por frío de <i>Arabidopsis thaliana</i> , el cual activa genes regulados por frío (COR).	Resistencia a heladas (frío)	<i>A. tumefaciens</i>	(Jin et al., 2009)
<i>Vitis vinifera</i>	VaTLP	Gen que codifica a una proteína similar a la taumatina aislada de <i>Vitis amurensis</i> salvaje que proporciona resistencia a oomicetos y mohos.	Antiprotista	<i>A. tumefaciens</i>	(He et al., 2016)
<i>Vitis vinifera</i>	VpPR4-1	Gen que codifica para un péptido antimicrobiano (AMP) de <i>Vitis pseudoreticulata</i> salvaje de China que le confiere resistencia a hongos fitopatógenos principalmente a los que ocasionan cenicilla.	Antifúngica	<i>A. tumefaciens</i>	(Dai et al., 2016)

Tabla 2. Ejemplos de vides transgénicas experimentales y sus características.

ciertos e inconvenientes de cada técnica se observan directamente en su actualización e inserción en el mercado.

Por un lado, las metodologías y los protocolos de identificación de vides han desplazado a los métodos ampelográficos por los métodos moleculares, ya que se busca detectar con mayor eficacia las discrepancias existentes entre las especies. Esto no significa que estas técnicas se hayan eliminado, simplemente se han considerado como métodos complementarios que permiten tener identificaciones más completas. Por otro lado, los métodos ampelográficos resultan ser mucho más económicos que los moleculares debido a que están basados en la observación y comparación de características morfológicas.

Además, la implementación de identificación de marcadores SSR como protocolo estándar ha sido un gran avance para la identificación de variedades de vid; no obstante, se han observado que existen cuestiones que interfieren con la interpretación de resultados (Ibáñez et al., 2010) y ponen en duda la certeza y la viabilidad del método. Por lo tanto, es necesario la normalización de datos y el uso de microsatélites de referencia. Asimismo, los SNP necesitan de un equipo mucho más especializado y del análisis bioinformático el cual puede aumentar significativamente el costo. Es de gran importancia distinguir las características de ambos métodos (tabla 3) con la finalidad de que los investigadores y compañías vitivinícolas puedan elegir el método que más se acople a sus necesidades.

Microsatélites (SSR)	Polimorfismos de Nucleótido Único (SNP)
<ul style="list-style-type: none"> - Existe un protocolo estandarizado internacional de la OIV. - Problemas con interpretación de resultados. - Mayor capacidad para discriminar entre variedades de vid. - Polimórficos. - De herencia codominante. - Menor frecuencia en el genoma. - Método más económico. - Alta reproducibilidad. - Uso de termociclador y cámaras de electroforesis. 	<ul style="list-style-type: none"> - No existe un protocolo estandarizado internacional de la OIV. - Son bialélicos. - Baja tasa de mutación. - Estables genéticamente. - Interpretación de resultados más simple. - Menor capacidad para discriminar entre variedades de vid (por la alta cantidad de SNP en el genoma). - Mayor frecuencia en el genoma. - Método más costoso. - Uso de equipo especializado (secuenciador, lector de microarreglos).

Tabla 3. Diferencias entre los métodos de identificación de variedades de vid por SSR y SNP. Elaboración propia.

Además, el uso de la biología molecular aplicada al estudio del genoma de la vid ha generado la posibilidad de diseñar y modelar mapas genéticos que muestren la ubicación exacta de genes y marcadores dentro del genoma de la planta, con la finalidad de analizar las variaciones genéticas y delimitar las regiones y secuencias que generan los fenotipos específicos de interés.

En cuanto al cultivo de *Vitis vinifera*, la micropropagación *in vitro* ha permitido proporcionar una gran cantidad de ventajas, entre ellas, la obtención de plantas clones y uniformes, la capacidad de seleccionar mejores genotipos, acelerar el desarrollo del cultivo; puesto que la vid tiene un crecimiento muy lento y esto implica una gran inversión por parte de los viticultores. Permite la reducción del espacio de trabajo y un menor costo. Así mismo, se ha observado que la obtención de plantas libre de virus puede llegar a ser una necesidad, puesto que los virus son los responsables de importantes limitantes y pérdidas de rendimientos en los cultivos (Conci, 2010). Por lo que esta técnica surge como una de las más grandes aplicaciones de la biotecnología vegetal en cuanto a impacto económico. No obstante, la micropropagación también presenta algunas desventajas; principalmente requiere equipamiento y personal especializado. También pueden surgir ciertas problemáticas como la obtención de un bajo rendimiento, la dificultad de desinfectar adecuadamente el material biológico utilizado y la presencia de contaminantes.

En la búsqueda de productos novedosos en el mercado vitivinícola surgen los vinos botritizados. Estos son sumamente costosos, ya que, *Botrytis cinerea*, al no ser controlado correctamente, puede llegar a destruir el 50% de los cultivos ocasionando que el rendimiento sea bastante bajo (Pajares-León, 2016). Es un proceso de mucho riesgo económico. Muchos productores vitivinícolas prefieren evitar el uso de este hongo y buscar opciones para proteger los cultivos de este tipo de fitopatógenos. Por lo que se busca la transferencia de genes específicos a los cultivos de *Vitis vinifera*, y que en estos casos se les otorgue resistencia fúngica; teniendo como objetivo plantar este cultivo GMO para su uso agroalimentario y comercial con sus respectivas medidas de bioseguridad y biocontrol.

La experimentación de transferencia de genes a *Vitis vinifera* y su transformación genética se ha enfocado no tanto en inducir la resistencia a hongos, sino en otro tipo de enfermedades como lo son las causadas por virus. Hoy en día se han

encontrado que aproximadamente 70 virus tienen la capacidad de infectar los cultivos de vides (Martelli, 2017); los más importantes económicamente son el virus GLRaV (por sus siglas en inglés, Grapevine leafroll-associated virus), el GFLV (Grapevine Fanleaf Virus), el GFKV (Grapevine Fleck Virus); y la enfermedad de la madera rugosa o corteza corchosa causada por gran variedad de virus fitopatógenos (Basso *et al.*, 2017). Por lo que este ámbito puede considerarse como un área de oportunidad muy grande para la aplicación de la biotecnología vegetal y la ingeniería genética enfocado a inducir en las vides resistencia a infecciones virales y la obtención de plantas libres de virus por micropropagación. De igual forma, el uso de técnicas de edición génica y silenciamiento de genes surgen como alternativas viables para disminuir la susceptibilidad de las vides para ser infectadas por microorganismos fitopatógenos reduciendo el riesgo económico por pérdida de cultivos y baja calidad de productos.

La generación de transgénicos en la viticultura se encuentra en etapas experimentales, y según la base de datos del Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones Agrobiotecnológicas (ISAAA, 2020) todavía no existe ninguna aprobación para el cultivo de vides GMO. Sin embargo, no se descarta su aplicación debido al creciente impacto de cultivos transgénicos a nivel mundial. La autorización para su implementación es una de las ventajas que se tendrían en este ámbito y posiblemente en un futuro no muy lejano. No obstante, para que esto suceda se necesitan establecer nuevas regulaciones y normas en términos de bioética y bioseguridad tanto nacionales como internacionales para el correcto uso de vides GMO, el uso de técnicas de modificación genética y su posible impacto en la industria agroalimentaria y el medioambiente. Esto incluye la protección de la biodiversidad y el equilibrio ecológico (Potter y Potter, 1995); de esta manera se podrán proteger variedades tradicionales y denominaciones de origen, diferenciar las diversas especies de vides de forma certera; y en el ámbito mercantil, estipular correctamente un producto para su venta en el mercado.

CONCLUSIÓN

El desarrollo de nuevos métodos para la caracterización e identificación de variedades de *Vitis vinifera*; la implementación de nuevas técnicas de cultivo y la experimentación en el

ámbito de vides transgénicas han permitido a las empresas vitivinícolas alcanzar un estándar de calidad internacional, un mejor desarrollo en la producción y optimización de procesos dentro de la industria agroalimentaria de gran competitividad.

Aún se necesita realizar una mayor cantidad de investigaciones biotecnológicas y de ingeniería genética aplicada a la viticultura con la finalidad de establecer protocolos estandarizados y para desarrollar nuevas metodologías que permitan aprovechar al máximo los avances científicos.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a la coordinación de la Licenciatura en Biotecnología de la Universidad Anáhuac México Campus Norte. Así mismo agradecer a la doctora Laura Castillo Carvajal, coordinadora de laboratorios, al químico Daniel Toledo, técnico del Laboratorio de Biomoléculas y al doctor Gabriel Tinoco de la misma universidad por todo el apoyo brindado durante el proceso. También agradecer a Óscar Martínez de la Universidad de Vigo, España, por colaborar y permitirme utilizar su imagen del cultivo *in vitro* de *Vitis vinifera* (figura 1).

BIBLIOGRAFÍA

- ADLI, M. 2018. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nat Commun* 9,1911. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04252-2>
- AGÜERO, C.B.; URATSU, S.L.; GREVE, C.; POWELL, A.L.T.; LABAVITCH, J.M.; MEREDITH, C.P.; DANDEKAR, A.M. 2005. Evaluation of tolerance to Pierce's disease and Botrytis in transgenic plants of *Vitis vinifera* L. Expressing the pear PGP gene. *Molecular Plant Pathology*, 6(1), 43-51. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2004.00262.X>
- BASSO, M.F.; MARTINS FAJARDO, T.V.; SALDARELLI, P. 2017. Grapevine virus diseases: economic impact and current advances in prospectation and management. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(1). <https://doi.org/10.1590/0100-29452017411>
- BOWERS, J.E.; DANGL, G.S.; VIGNANI, R.; MEREDITH, C.P. 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome*, 39(4), 628-633. <https://doi.org/10.1139/g96-080>
- BOWERS, J.E.; DANGL, G.S.; MEREDITH, C.P. 1999. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 243-246. (Disponible: <https://www.ajevonline.org/content/50/3/243> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- CALVA CALVA, G.; PÉREZ VARGAS, J. 2005. Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro. *Revista Digital Universitaria UNAM*, 6(11). (Disponible: <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/art104a.htm> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- CAVAZOS GALINDO, J.M.; ALVARADO GÓMEZ, O.G.; SNAOTS-HALISCAK, J.A.; MORENO DEGOLLADO, G.; RODRÍGUEZ FUENTES, H.; OJEDA ZACARÍAS, M.C. 2018. Propagación clonal de dos cultivares adultos de vid *in vitro*. *Polibotánica*, 45. <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.45.13>
- CONCI, V.C. 2010. Capítulo 9: Utilización de cultivos de tejidos para la obtención y conservación de plantas libres de enfermedades. En: LEVITOR, G.; ECHENIQUE, V.; RUBINSTEIN, V.; HOPP, E.; MROGINSKI, L. (Eds.). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal ii* Vol. 2, 481-493 pp. *ArgenBio*. (Disponible: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/BiotecnologiaMejoramientovegetalIII.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- CONSEJO MEXICANO VITIVINÍCOLA. 2018. Datos de la Industria. CMV. (Disponible: <https://uvayvino.org.mx/html/datos-industria.php> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- CONSEJO MEXICANO VITIVINÍCOLA. 2020. El vino mexicano en números. (Disponible: <https://uvayvino.org.mx/2020/11/30/el-vino-mexicano-en-numeros/> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- CUI, K.C.; LIU, M.; KE, G.H.; ZHANG, X.Y.; MU, B.; ZHOU, M.; HU, Y.; WEN, Y.Q. 2021. Transient silencing of VvCSN5 enhances powdery mildew resistance in grapevine (*Vitis vinifera*). *Plant Cell Tiss Organ Cult*. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02098-z>
- DAI, L.; WANG, D.; XIE, X.; ZHANG, C.; WANG, X.; XU, Y.; WANG, Y.; ZHANG, J. 2016. The Novel Gene VpPR4-1 from *Vitis pseudoreticulata* Increases Powdery Mildew Resistance In Transgenic *Vitis vinifera* L. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00695>
- DÍAZ GRANADOS, C.; CHAPARRO GIRALDO, A. 2012. Métodos de Transformación Genética de Plantas. *Rev. Udcaactual.Divulg.Cient.*, 15(1), 49-61. (Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000100007&Ing=en&nrm=iso verificado: 13 de diciembre de 2020).
- DOMÍNGUEZ ROSALES, M.S.; GONZÁLEZ JIMÉNEZ, M.L.; ROSALES GÓMEZ, C.; QUIÑONES VALLES, C.; DELGADILLO DÍAZ DE LEÓN, S.; MIRELES ORDAZ, S.J.; PÉREZ MOLPHE BALCH, E. 2008. El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género agave. *Investigación y Ciencia*, 16(41), 53-62. (Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/674/67404109.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ELAD, Y.; WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, P.; DENLE, N. 2004. *Botrytis* spp. and diseases they cause in agricultural systems - an introduction. *Botrytis: biology, pathology and control*, 1-8. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_1
- ELMER, P.A.G.; MICHAILIDES, T.J. 2007. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 243-272. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_14
- GIMÉNEZ ALVEAR, M.J.; BARRROS LOZADA, F. 2019. Transgénicos en agricultura. Instituto de Agricultura Sostenible IAS-CSIC. (Disponible: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/209395/1/transgenicos.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- GOMES, S.; CASTRO, C.; BARRIAS, S.; PEREIRA, L.; JORGE, P.; FERNANDEZ, J.R.; MARTINS LOPES, P. 2018. Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOX genes. *Scientific Reports*, 8(5850). (Disponible: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-24158-9> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- GONZÁLEZ, R.; RAMÓN, D. 2008. Aplicaciones de la ingeniería genética y la genómica en la enología. *ACE Revista Enológica*, 96. (Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2740274> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- GUO, M.; YE, J.; GAO, D.; XU, N.; YANG, J. 2019. *Agrobacterium*-mediated horizontal gene transfer: Mechanism, biotechnological application, potential risk and forestalling strategy. *Biotechnology Advances*, 37(1), 259-270. doi:10.1016/j.biotechadv.2018.12.008
- HE, R.; WU, J.; ZHANG, Y.; AGÜERO, C.B.; LI, X.; LIU, S.; WANG, C.; WALKER, M.A.; LU, J. 2016. Overexpression of thaumatin-like protein gene from *Vitis vinifera* grapevine. *Protoplasma*. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-1047-y>
- HEIDARI, R. 2019. Basic Concepts of Microarrays. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/331642086_Basic_Concepts_of_Microarrays verificado: 08 de febrero de 2021).
- HWANG, H.H.; YU, M.; LAI, E.M. 2017. *Agrobacterium*-mediated plant transformation: biology and applications. *Arabidopsis Book*, 15:e0186. doi:10.1199/tab.0186
- IBÁÑEZ, J.; CABEZAS, J.A.; LIJAVETZKY, D.; VÉLEZ, D.; RUÍZ GARCÍA, L.; THOMAS, M.; RODRÍGUEZ, V.; BRAVO, G.; ZINELABIDINE, L.; ZAPATER, J. 2010. Identificación rápida de variedades de vid mediante nuevos marcadores de ADN: SNP. *ResearchGate*. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/235009663_Identificacion_rapida_de_variedades_de_vid_mediante_nuevos_marcadores_de_ADN_SNP verificado: 13 de diciembre de 2020).
- INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRIBIOTECH APPLICATIONS. 2020a. *Biotech Country Facts & Trends: Mexico*. (Disponible: http://www.isaaa.org/resources/publications/biotech_country_facts_and_trends/download/Facts%20and%20Trends%20-%20Mexico-2017.pdf verificado: 13 de diciembre de 2020).
- INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRIBIOTECH APPLICATIONS. 2020b. *GM Approval Database*. (Disponible: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- JAILLON, O.; AURY, J.M. 2007. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449, 463-467. <https://doi.org/10.1038/nature06148>
- JIN, W.; DONG, J.; HU, Y.; LIN, Z.; XU, X.; HAN, Z. 2009. Improved cold-resistant performance in transgenic grape (*Vitis vinifera* L.) overexpressing cold-inducible transcription factors AtDREB1b. *Hort Science*, 44(1), 35-39. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.1.35>
- KALLITSOUNAKIS, G.; CATARINO, S. 2020. An Overview On Botrytized Wines. *Ciência Téc Vitiv*, 35(2), 76-106. <https://doi.org/10.1051/ctv/20203502076>

- KINFE, B.; FEYSSA, T.; BEDADA, G. 2017. In vitro micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. *African Journal of Biotechnology*, 16(43), 2083-2091. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15803>
- KUMSA, F.; FEYSSA, T. 2019. In vitro regeneration of two grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties from leaf explants. *African Journal of Biotechnology*, 18(4), 92-100. <https://doi.org/10.5897/AJB2018.16700>
- LAUCOU, V.; LAUNAY, A.; BACILIERI, R.; LACOMBE, T.; ADAM-BLONDON, A.F.; BÉRARD, A.; CHAUVEAU, A.; DE ANDRÉS, M.T.; HAUSMANN, L.; IBÁÑEZ, J.; LE PASLIER, M.C.; MAGHRADZE, D.; MARTINEZ ZAPATER, J.M.; PONNAIAH, M.; TÖPFER, R.; PÉROS, J.P.; BOURSQUOT, J.M. 2018. Extended diversity analysis of cultivated grapevine *Vitis vinifera* with 10K genome-wide SNPs. *Plos One*, 13(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192540>
- LAVARELLO, P.; GUTMAN, G.; FILIPETTO, S. 2011. Biotecnología en la Industria Vitivinícola en Argentina: ¿Nuevas Modalidades de Innovación en una Actividad Tradicional? *Journal of Technology Management & Innovation*, 6(2).
- LI, Z.; JAYASANKAR, S.; GRAY, D.J. 2001. Expression of a bifunctional protein (GFP) fusion marker under the control of three constitutive promoters and enhanced derivatives in transgenic grape (*Vitis vinifera*). *Plant Science*, 160(5), 877-887. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00336-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00336-3)
- LOVATO, A.; ZENONI, S.; BATTISTA TORNIELLI, G.; COLOMBO, T.; VANDELLE, E.; POLVERARI, A. 2019. Specific molecular interactions between *Vitis vinifera* and *Botrytis cinerea* are required for noble rot development in grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110924. doi:10.1016/j.postharvbio.2019.05.025
- MADKOUR, M. 2019. Status and Options for Regional GMOs Detection Platform: A Benchmark for the Region. Ain Shams University, Egypt: FAO. (Disponible: <http://www.fao.org/3/al310e/al310e00.htm> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- MADRID CAVIEDES, G.P. 2018. Desarrollo de un vector viral para la edición génica mediante CRISPR/Cas9 en *Vitis vinifera*. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/173979>
- MARCIANO, D.; RICCIARDI, V.; MARONE FASSOLO, E.; PASSERA, A.; BIANCO, P.A.; FAILLA, O.; CASATI, P.; MADDALENA, G.; DE LORENZIS, G.; TOFFOLATTI, S.L. 2021. RNAi of a Putative Grapevine Susceptibility Gene as a Possible Downy Mildew Control Strategy. *Front. Plant. Sci.*, 12:667319. doi: 10.3389/fpls.2021.667319
- MARTELLI, G.P. 2017. An overview on grapevine viruses, viroids, and the diseases they cause. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*, 31-46. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57706-7_2
- MARTÍNEZ, Ó. 2019. Biotecnología Vegetal para Mejorar el Cultivo de la Variedad de Uva Mencía en la Universidad de Vigo. España. Universidad de Vigo. (Disponible: http://www.sevi.net/es/3537_maquinaria_bodega/94/12965/Biotecnolog%C3%ADa-vegetal-para-mejorar-el-cultivo-de-la-variedad-de-uva-Menc%C3%ADa-en-la-Universidad-de-Vigo-oscar-martinez-mencia.htm verificado: 13 de diciembre de 2021).
- MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, A.; MENA ESPINO, M.E.; HERRERA ESTRELLA, A.H.; MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, P. 2010. Construcción de Bibliotecas de ADNc y Análisis de Expresión Génica por RT-PCR en Agaves. *Rev. Latinoam. Quím.*, 38(1). (Disponible: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rlq/v38n1/v38n1a3.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- MEDINA ALBALADEJO, F.J.; MARTÍNEZ CARRIÓN, J.M.; RAMON MUÑOZ, J.M. 2014. El mercado mundial de vino y la competitividad de los países del Hemisferio Sur, 1961-2010. *Am. Lat. Hist. Econ.*, 21(2). (Disponible: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-22532014000200002 verificado: 13 de diciembre de 2020).
- MELLYAN, G.; SAHAKYAN, A.; HARUTYUNYAN, A. 2015. Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. *Vitis*, 54(special issue), 253-255. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/309412774_Micropropagation_of_grapevine_Vitis_vinifera_L_seedless_cultivar_%27Parvana%27_through_lateral_bud_development verificado: 13 de diciembre de 2020).
- MENG-YUAN LI; YUN-TONG JAO; YU-TING WANG; NA ZHANG; BIAN-BIAN WANG; RUI-QI LIU; XIAO YIN; YAN XU; GUO-TIAN LIU. 2020. CRISPR/Cas9-mediated VvPR4b editing decreases downy mildew resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Horticulture Research* 7(149). <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00371-4>
- MROGINSKI, L.; SANSBERRO, P.; FLASCHLAND, E. 2010. Capítulo 1: Establecimiento de cultivos vegetales. En: LEVITUS, G.; ECHENIQUE, V.; RUBINSTEIN, C.; HOPP, E.; MROGINSKI, L. (ed.). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal* ii Vol. 2, 17-25 pp. ArgenBio. (Disponible: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/BiotecnologiayMejoramientovegetalII.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- NIRALA, N.K.; DAS, D.K.; SRIVASTAVA, P.S.; SOPORY, S.K.; UPADHYAYA, K.C. 2010. Expression of a rice chitinase gene enhances antifungal potential in transgenic grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 49(4), 181-187. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/228665824_Expression_of_a_rice_chitinase_gene_enhances_antifungal_potential_in_transgenic_grapevine-Vitis_vinifera_L verificado: 13 de diciembre de 2020).
- OLMOS, S.; LUCIANI, G.; GALDEANO, E. 2010. Parte IV. Capítulo 1: Micropropagación. En: LEVITUS, G.; ECHENIQUE, V.; RUBINSTEIN, C.; HOPP, E.; MROGINSKI, L. (Eds.). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal* ii Vol. 2, pp. 353-362 pp. ArgenBio. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/304459382_IV_Capitulo_1_Micropropagacion verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2001. Lista de descriptores OIV para variedades de vid y especies de *Vitis*. 2.a edición OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/public/medias/2274/code-2e-edition-finale.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2015. International Standard For The Labelling Of Wines. OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/public/medias/4776/oiv-wine-labelling-standard-en-2015.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2018a. Balance 2018 de la OIV sobre la situación vitivinícola mundial. OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/public/medias/6371/oiv-statistical-report-on-world-viticulture-2018.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2018b. Los datos de la coyuntura vitivinícola mundial. OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/public/medias/6305/oiv-comunicado-de-prensa-los-datos-de-la-coyuntura-vitivin-c.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2019b. Resolución OIV-VITI 609-2019. OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/public/medias/6903/oiv-viti-609-2019-es.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2021).
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 2020. Actualidad de la coyuntura del sector vitivinícola mundial en 2019. OIV. París, Francia. (Disponible: <http://www.oiv.int/js/lib/pdfjs/web/viewer.html?file=/public/medias/7304/es-actualidad-de-la-coyuntura-del-sector-vitivin-cola-mundia.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- PAJARES LEÓN, J.J. 2016. Elaboración de vinos naturalmente dulces de Malvasia. Diferencias entre distintas técnicas de sobremaduración. Trabajo para la obtención de Máster Universitario Oficial en Viticultura y Enología. Escuela Politécnica Superior del Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche. (Disponible: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/3487/1/TFM%20Pajares%20Le%C3%B3n%2C%20Juan%20Jos%C3%A9.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- PEZET, R.; VIRET, O.; PERRET, C.; TABACCHI, R. 2003. Latency of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. *Journal of Phytopathology*, 151, 208-214. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00707.x>
- PICÓ SIRVENT, M.B.; ESTERAS GÓMEZ, C. 2012. Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores SSR o STR Microsatélites. Universidad Politécnica de València, España. (Disponible: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16743/SSR.pdf?sequence=1> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- POTTER, V.R.; POTTER, L. 1995. Global Bioethics: converting sustainable development to global survival. *Medicine & Global Survival*, 2(3). (Disponible: <https://www.ipnw.org/pdf/mgs/2-3-potter.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- PÉREZ DE CASTRO, A.M. 2011. Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR). Universidad Politécnica de València, España. (Disponible: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/10700/Reacci%C3%B3n%20en%20cadena%20de%20la%20polimerasa.pdf> verificado: 13 de diciembre de 2020).
- RAMÍREZ BELLO, J.; VARGAS ALARCÓN, G.; TOVILLA ZÁRATE, C.; FRAGOSO, J.M. 2013. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México*, 149, 220-228. (Disponible: https://www.anmm.org.mx/GMM/2013/n2/GMM_149_2013_2_220-228.pdf verificado: 13 de diciembre de 2020).
- ROSA, C.; KUO, Y-W.; WURIYANGHAN, H.; FALK, B.W. 2018. RNA Interference Mechanisms and Applications in Plant Pathology. *Annual Review of Phytopathology*, 56(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-050044>

RUIZ, M. 2019. Ampelografía. Academia, 2-6. (Disponible: https://www.academia.edu/17446525/Ampelografia_Departamento_de_Produccion_Agropecuaria verificado: 13 de diciembre de 2020).

SAN PEDRO GALAN, T.M. 2017. Desarrollo y aplicación de técnicas biotecnológicas para el saneamiento, multiplicación, caracterización y conservación de germoplasma de vid (*Vitis vinifera* L.). Universidad Politécnica de Valencia, España. (Disponible: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/94622/SAN%20-%20Desarrollo%20y%20aplicaci%3%b3n%20de%20t%3%a9cnicas%20biotecnol%3%b3gicas%20para%20el%20saneamiento%2c%20multiplicaci%3%b3n%2c%20ca....pdf?sequence=1&isAllowed=y> verificado: 13 de diciembre de 2020).

SEFC, K.M.; REGNER, F.; TURETSCHKE, E.; GLÖSSL, J.; STEINKELLNER, H. 1999. Identification of microsatellites sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome*, 42, 367-373. (Disponible: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/g98-168#.XueVIGozbVo> verificado: 13 de diciembre de 2020).

THOMAS, M.R.; SCOTT, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grape-vine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs).

Theoretical and Applied Genetics, 86, 985-990. <https://doi.org/10.1007/BF00211051>

TROGGIO, M.; VEZZULLI, S.; PINDO, M.; MALACARNE, G.; FONTANA, P.; MOREIRA, F.M.; CONSTANTINI, L.; GRANDO, M.S.; VIOLA, R.; VELASCO, R. 2008. Beyond the genome, opportunities for a modern viticulture: a research overview. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, 117-127. (Disponible: https://www.researchgate.net/publication/298522781_Beyond_the_genome_opportunities_for_a_modern_viticulture_A_research_overview verificado: 13 de diciembre de 2020).

VIDAL, J.R.; KIKKERT, J.R.; MALNOY, M.A.; WALLACE, P.G.; BARNARD, J.; REISCH, B.I. 2006. Evaluation of transgenic 'Chardonnay' (*Vitis vinifera*) containing magainin genes for resistance to Crown gall and powdery mildew. *Transgenic Research*, 15, 69-82. <https://doi.org/10.1007/s11248-005-4423-5>

VRIES, J.D.; WACKERNAGEL, W. 1998. Detection of nptII (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. *Molecular Genetics and Genomics*, 257, 606-613. <https://doi.org/10.1007/s004380050688>