

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA AFLPs PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CLONES DEL GÉNERO *POPULUS*.

Álvarez A.*; Cervera M.T.**; Agúndez D.*; Alba N.*; González Antoñanzas F.*; Zapater J.M.**; Grau J.M.*

*Dpto. Selvicultura y Mejora Genética . Centro de Investigación Forestal. I.N.I.A.
Ctra. de La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.

**Dpto. de Genética molecular de plantas . Centro Nacional de Biotecnología.
Ctra. de Colmenar Viejo km. 15,5. 28049 Madrid.

RESUMEN

Se utilizaron los marcadores moleculares AFLPs (Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados) para la identificación y caracterización de material certificado del género *Populus*. En los análisis se incluyeron hasta 7 ramets de cada clon y se utilizaron dos combinaciones de cebadores distintas de forma que se obtuvieron un total de 246 polimorfismos que permitieron diferenciar aquellos clones genéticamente más próximos. Para el material utilizado no se encontraron diferencias entre los ramets de "Campeador", "I-214" y "Canadiense Guadalupe", ni entre los ramets de los clones "NNDV" e "MC". Igualmente los ramets de los clones "Tetraploid" y "Goulet" no se distinguieron. Se plantea también la identidad entre los clones "Canadá Blanco" y el "Canadiense Leonés".

PALABRAS CLAVE: *Populus*, chopo, AFLPs, marcadores moleculares, caracterización genética, identificación clonal.

SUMMARY

AFLPs molecular markers (Amplified fragments length polymorphisms) were applied to identify and characterize certified material of genus *Populus*. Up to seven ramets per clon were included in the analysis and two different primer combinations were utilized. A total number of 246 polymorphisms were obtained that allow to differentiate even those clones genetically close. Those ramets analyzed show no differences between the samples of "Campeador", "I-214" and "Canadiense Guadalupe" neither between the ramets of the clones "NNDV" and "MC". Ramets of the clones "Tetraploid" and "Goulet" were indistinguishable. The genetic similarity of the clones "Canada Blanco" and "Canadiense Leonés" brought up a possible identity between them.

KEY WORDS: *Populus*, poplar, AFLPs, molecular markers, genetic characterization, clonal identification.

INTRODUCCIÓN

La necesidad creciente de controlar el material utilizado en las plantaciones de *Populus* sp., plantea la caracterización genética del material vegetal como herramienta de apoyo a los marcadores morfológicos y fenológicos, aspectos de interés desde el punto de vista adaptativo, pero poco resolutivos en la identificación.

Los marcadores moleculares son marcadores neutros, esto es independientes del ambiente. Consisten en un fragmento de ADN que se puede detectar y visualizar por

distintos métodos y cuya herencia puede controlarse. Se han desarrollado numerosas técnicas de análisis, siendo, en este caso, los AFLPs la técnica utilizada para la identificación de material de reproducción.

Los AFLPs son marcadores dominantes que presentan una elevada reproductibilidad y que permiten la identificación de genotipos concretos y redundancias genéticas con alta fiabilidad sin necesidad de información previa sobre secuencias específicas de su genoma, por lo que se les denomina marcadores anónimos (Jones *et al.*; 1997).

Las ventajas que plantean los AFLPs frente a otro tipo de marcadores son numerosas. Permiten estudiar un mayor número de regiones del genoma al analizar un elevado número de fragmentos por experimento (aproximadamente entre 100-130), lo que permitiría caracterizar incluso material genéticamente próximo.

Los marcadores AFLP ya se han empleado en estudios de diversidad de *Populus nigra* (Winfield *et al.*; 1998; Arens *et al.*; 1998) y en el estudio de relaciones inter e intraespecíficas del género *Populus* (Cervera; comunicación personal; Cervera *et al.*; 1996) así como para la construcción de mapas genéticos (Cervera *et al.*, 2001, Wu *et al.*; 2000).

La utilización de los marcadores permite llevar a cabo la caracterización genética del material, evitando así posibles dudas y errores de identificación que puedan surgir debido a la edad y estado fisiológico del material a analizar como se ha planteado en algunos clones de gran similitud morfológica caso de "Campeador" vs "I-214" (Castillo y Padró; 1987), "NNDV" vs "I-488" (May; 1985).

Debido a su capacidad de discriminación empleamos marcadores AFLPs en la identificación genética de 14 clones de *Populus* incluidos en el Catálogo así como aquellos clones para los que se plantea su posible futura inclusión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recogieron y analizaron hojas jóvenes de 69 árboles pertenecientes a los 14 clones incluidos en el Catálogo Nacional de Material de Base (O.M. 17778 de 24 de Junio de 1992) así como 13 clones propuestos para su futura inclusión. Las muestras se obtuvieron fundamentalmente de los viveros del Centro Nacional de Mejora Forestal de "El Serranillo" (Guadalajara) perteneciente a la Dirección General para la Conservación de la Naturaleza del Ministerio de Medio Ambiente (DGCONA-MIMAM) y del vivero del Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón (SIA-DGA) en Zaragoza, reconocidos por el MAPA en 1991, para el mantenimiento de materiales de base del género *Populus* de plena garantía genética. Asimismo, se incluyó en el análisis material procedente de las parcelas de experimentación del INIA situadas en La Aldehuela-Torrelaguna (Madrid) y Yunquera de Henares (Guadalajara) así como material procedente del vivero del CIFOR-INIA.

Los clones analizados pertenecen a las especies: *Populus nigra* (4), *Populus deltoides* (1) agrupados en la Sección Aigeiros e híbridos de *P. x euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*) (18) y *P. x interamericana* (*P. deltoides* x *P. trichocarpa*) (2). Así como 1 híbrido de *P. deltoides* x *P. alba* y 1 híbrido de *P. alba* x *P. tremula*. Se analizaron de dos a cuatro ramets de los clones incluidos en el Catálogo Nacional salvo para "I-214" y "Campeador" para los que se incluyeron hasta siete ramets. De los clones de posible inclusión se analizó sólo un ramet para cada uno de ellos excepto las tres empleadas en la caracterización de "NNDV".

Los detalles sobre el clon, el ramet y el lugar de recogida de la muestra en la Tabla 1.

Análisis mediante AFLPs

Para llevar a cabo la caracterización de las 69 muestras se extrajo el ADN utilizando el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983) con algunas modificaciones (Cervera *et al.*, 1996).

El análisis de AFLPs se realizó según Vos *et al.* (1995) incluyendo algunas modificaciones (Cervera *et al.*, 1996). Las amplificaciones se realizaron utilizando dos combinaciones de cebadores: EcoRI + ACC/ MseI + TGT y EcoRI + ATA / MseI + TTC. En total se utilizaron para las estimaciones de similitud genética los datos de presencia o ausencia de productos de amplificación para un total de 246 bandas polimórficas o marcadores. Se elaboró una matriz binaria (presencia de fragmento de ADN=1, ausencia de ADN=0) que comprendía los datos de ambos análisis.

Análisis de datos

Los datos de presencia/ausencia se utilizaron para estimar la similitud genética (GS) entre pares utilizando el coeficiente de Dice (Sneath y Sokal, 1973), $[GS (ij) = 2a/(2a+b+c)]$ donde GS (ij) es la medida de la similitud genética entre individuos i y j; a es el número de bandas polimórficas que comparten i y j, b es el número de bandas presentes en i y ausentes en j; y c es el número de bandas presentes en j y ausentes en i].

La correlación cofenética entre la matriz cofenética y la matriz de similitud se calculó para estimar la confianza en el análisis de agrupamiento.

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 246 polimorfismos a partir de la lectura de los geles. Estos polimorfismos corresponden a fragmentos de tamaño entre 70 y 700 pares de bases. Para la combinación EcoRI + ACC / MseI + TGT se obtuvieron 153 bandas polimórficas (97% del total) y 93 (76% del total) para la combinación EcoRI + ATA / MseI + TTC. No se utilizaron aquellas bandas que planteaban dudas para evitar errores. (Fig.1).

La correlación cofenética fue 0.98 ($p=0.002$) lo que indicaba un buen ajuste del análisis de agrupamiento con los valores de similitud genética entre pares de individuos.

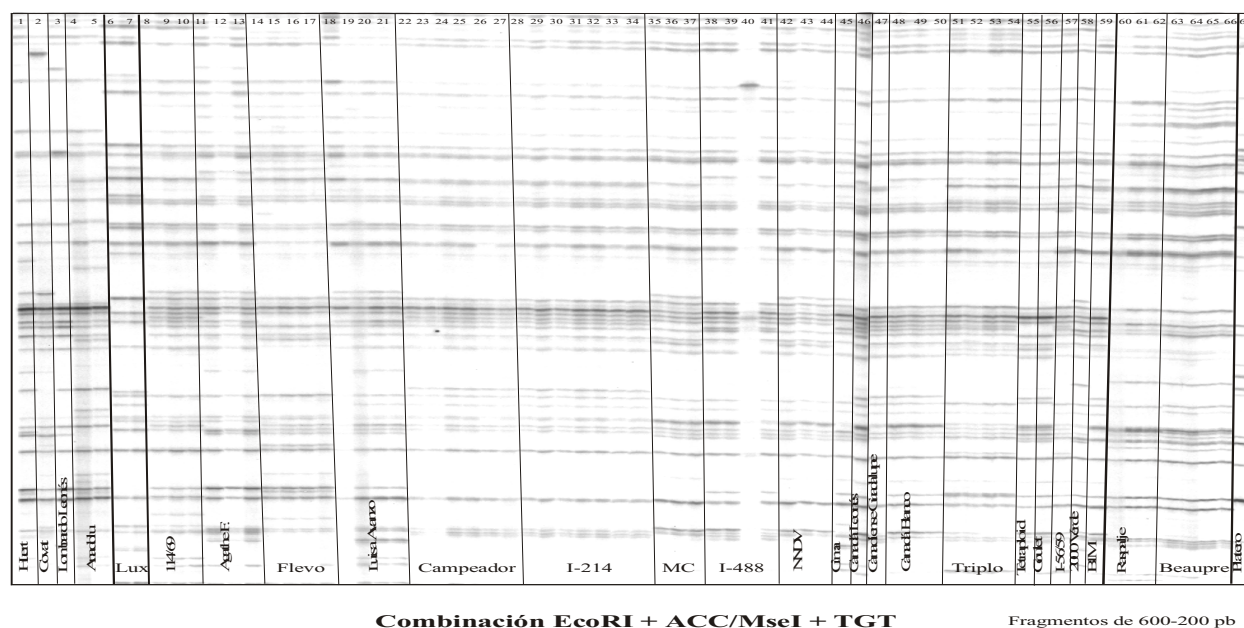


Figura.1. Patrones de bandas para la Combinación EcoRI + ACC/TGT

Los distintos clones se agruparon en función de la especie a la que pertenecen o su naturaleza híbrida, así mismo, los ramets de los distintos clones se agrupan entre sí permitiendo incluso observar diferencias entre los ramets de un mismo clon.

Diferencias entre clusters de especies e híbridos: Platero se agrupa con el resto de los ramets de los distintos clones con valores de similitud genética (GS) entre 0,07 y 0,2 debido a su pertenencia a la sección Leuce (*P. alba* x *P. tremula*) distinta del resto de los clones analizados. Los *P. x interamericana* se agrupan mostrando valores de GS entre 0,32 y 0,63 con el resto de los *Populus* pertenecientes a la sección Aigeiros: *P. nigra*, *P. deltoides* y los híbridos de *P. x euramericana*. Los *P. x euramericana* presentan distancias entre 0,51-0,64 con los *P. nigra*. A su vez los *P. nigra* presentan con el clon de *P. deltoides* “Lux” unas distancias entre 0,33-0,34.

Diferencias entre clones pertenecientes a cada especie o híbrido analizados: Dentro de los *P. x interamericana*, “Raspalje” y “Beaupre” presentan una GS del 0,83, encontrándose en una disimilitud del 4% entre ramets.

Los *P. nigra* y *P. deltoides* forman dos grupos bien diferenciados. Dentro del grupo de los *P. nigra* los 3 *nigras* españoles muestran un $GS > 0,88$ entre ellos, mientras que éstos presentan una similitud de 0,71-0,74 con respecto al *P. nigra* turco “Anadolu”.

Dentro de los *P. x euramericana* se pueden observar 2 agrupamientos diferentes. El primero de ellos agrupa a los clones “Agathe F”, “Luisa Avanzo”, “Cima” y “2000 V” con el híbrido “114/69” (*P. alba* y *P. deltoides*) con una similitud de $0,71 < GS < 0,76$;

en este agrupamiento se podría incluir también al clon “Flevo” que pese a mostrar valores de $GS > 0,73$ con los clones de *P. x euramericana* indicados muestra un valor de GS de 0,68 con el clon “114/69”. En un segundo grupo se agrupan el resto de los *P. x euramericana*, en cuatro subgrupos bien diferenciados. Por un lado el “Tetraploid” y el “Goulet” a los que no es posible distinguir, que muestran valores de $GS=0,78$ con “MC” y “NNDV”.

En un segundo subgrupo se encuentran los clones “Triplo” y “I-56/59” que presentan valores GS de 0,92 entre ellos. El clon “B-1M” quedaría aislado presentando un $GS=0,84$ con el “I-488”. En el grupo que contiene “I-488” también se encuentran el clon “Canadá Leonés” y el “Canadá Blanco”. Destacar por un lado la elevada similitud genética existente entre el “Canadá Leonés” y el “Canadá Blanco” ($GS=0,96$), que sugiere una misma identidad y el elevado GS del “I-488” con el grupo siguiente que engloba al “MC” y el “NNDV” (GS entre 0,86-0,87). Por último el grupo que engloba al “Campeador”, “I-214” y “Canadiense Guadalupe” presenta valores de GS de 0,99.

Diferencias entre ramets pertenecientes a un mismo clon: Los resultados permiten establecer niveles de similitud para diferenciar ramets pertenecientes a un clon de $GS \geq 0,94$ para los ramets del clon de *P. nigra* “Anadolu”, y de $GS \geq 0,95$ para el clon de *P. deltoides* “Lux”.

DISCUSIÓN

La similitud obtenida fue bastante alta debido al origen clonal de algunas de ellas, siendo mayor o igual de 95% para ramets de un mismo clon salvo para el “Anadolu” que fue del 94%, este resultado coincide con resultados anteriores que consideraban un margen entre el 95-100% para ramets de un mismo clon (Huys *et al.*; 1996; Winfield *et al.*; 1997), pudiendo deberse este margen de variabilidad a las mutaciones somáticas que se acumulan con el paso del tiempo.

El clon “Platero” se relaciona con el resto de los clones con unos valores de GS entre 0,07 y 0,2.

De los *P. nigra*, el dato más significativo es la posibilidad de diferenciar claramente el clon “Anadolu” (origen turco) del resto de los clones de *P. nigra* de origen español. Destacar que la similitud genética existente entre el clon “114/69” (*P. alba x P. deltoides*) con los *P. x euramericana* es equivalente a la existente entre distintos clones de *P. x euramericana* lo que podría sugerir un posible origen *P. x euramericana* para este clon.

Los clones de *P. x euramericana*, “Agathe F”, “Cima”, “Triplo” e “I-214” muestran coeficientes de similitud menores a los obtenidos anteriormente con RAPDs, este resultado también se observa al comparar el clon de *Populus deltoides* “Lux” con los anteriores (Castiglione *et al.*; 1993). Por otro lado, los clones “L. Avanzo” y “Cima” se agrupan independiente del resto de los clones de *P. x euramericana*, este resultado ya fue observado en anteriores trabajos (Castiglione *et al.*; 1993).

Para los clones “I-214” y “Campeador” se confirman los resultados obtenidos por Agúndez y col.; (1999) que los identifica como un único clon, frente a los análisis isoenzimáticos previamente realizados por Castillo y Padro, (1987). Asimismo, este

análisis sugiere la identidad del ramet “Canadiense Guadalupe” con el “I-214”. Las pequeñas diferencias observadas entre los distintos ramets de un mismo clon pueden deberse a la acumulación de mutaciones somáticas a lo largo del tiempo (variación somática).

Es posible distinguir al clon “NNDV” del “I-488”, entre los que se planteaba una posible identidad en anteriores trabajos (May; 1985) presentando valores de GS de 0,87.

Por otro lado la comparación de los patrones de bandas entre los clones recientes “Goulet” y “Tetraploid” no permitieron establecer ninguna diferencia entre ellos, lo que indica que ambos podrían representar un mismo clon.

Como se indicó anteriormente, el clon “Canadiense Guadalupe” se identifica con el “Campeador” e “I-214” mientras que el “Canadá Leonés”, presenta índices de GS medios de 0,96 respecto al “Canadá Blanco” lo que sugiere que ambos podrían ser representantes de un mismo clon. Según esto habría que considerar la posible reducción del grupo de los canadienses al “Canadá Blanco”.

CONCLUSIONES

El empleo de estos marcadores en la identificación clonal plantea una nueva gestión del material vegetal de reproducción de chopo, no de forma aislada sino complementaria al uso de los marcadores morfológicos y fenológicos. El uso adecuado del material requiere un conocimiento previo del mismo que permitiría partir de unos campos de cepas madres perfectamente identificados pudiendo controlarse tanto los sistemas de cruzamiento y la estructura genética de cada especie como el estudio de la variación genética intra e interespecífica, proporcionando así estaquillas para posteriores plantaciones, llevando siempre a cabo un riguroso control del material.

Estos resultados no son definitivos y se plantea la necesidad de realizar nuevos análisis con nuevos ramets de los clones de forma que se puedan contrastar y comprobar estos resultados.

Por otro lado, sería interesante que previa a la inclusión de cualquier clon nuevo en el catálogo se utilizasen los marcadores moleculares para su identificación genética complementando así los resultados fenológicos y morfológicos. De este modo se podría completar la información existente para cada clon a incluir en el mismo tal y como se esta haciendo ya en algunos países.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del Convenio INIA-DGCONA CC00-0033 “Identificación de clones del Género Populus basada en el empleo de marcadores AFLPs”

BIBLIOGRAFÍA

AGÚNDEZ, D; CERVERA, MT; ALBA, N; MARTÍNEZ-ZAPATER, JM; GRAU, JM; (1999). Genetic identification of commercial clones of *Populus* based on isozymes and AFLPs. Vitoria-Gasteiz Proceedings. Spain.

ARENS, P; COOPS, H; JANSEN, J; VOSMAN, B; (1998). Molecular genetic analysis of black poplar (*Populus nigra* L.) along Dutch rivers. *Molecular Ecology* 7: 11-18.

CASTIGLIONE, S; WANG, G; DAMIANI, G; BANDI, C; BISOFFI, S; SALA, F; (1993). RAPD Fingerprints for identification and for taxonomic studies of elite poplar (*Populus* spp.) clones. *Theor Appl Genet* 87: 54-59.

CASTILLO, T; PADRÓ, A; (1987). Short Note: Electrophoretic Characterization of the Euramerican Poplar Clones "I-214" and "Campeador". *Silvae Genetica* 36: 5-6.

CERVERA, MT; GUSMAO, J; STEENACKERS, M; PELEMAN, J; STORME, V; VANDEN BROECK, A; VAN MONTAGU, M; BOERJAN, W; (1996). Identification of AFLP molecular markers for resistance against *Melampsora larici-populina* in *Populus*. *Theor Appl Genet* 93 (5-6): 733-737.

CERVERA, MT; GUSMAO, J; STEENACKERS, M; VAN GYSEL, A; VAN MONTAGU, M; BOERJAN, W; (1996). Application of AFLPTM-based molecular markers to breeding of *Populus* spp. *Plant Growth Regulation* 20:47-52.

CERVERA, MT; STORME, V; LIU, B; STEENACKERS, M; IVENS, B; MICHIELS, B; GUSMAO, J; VAN MONTAGU, M; BOERJAN, W; (2001). Dense genetic linkage maps of three *Populus* species (*P. deltoides*, *P. nigra* and *P. trichocarpa*) based on AFLPs and microsatellites markers. *Genetics* (In Press).

CERVERA, MT; Comunicación personal.

DELLAPORTA, SL; WOOD, J; HICKS, JB; (1983). A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Mol Biol Rep* 1: 19-21.

HUYS, G; COOPMAN, R; JANSSEN, P; KERSTERS, K; (1996). High resolution genotypic analysis of the genus *Aeromonas* by AFLP fingerprinting. *International Journal of Systematic Bacteriology* 46: 572-580.

JONES, CJ; EDWARDS, KJ; CASTAGLIONE, S; WINFIELD, MO; SALA, F; VAN DE WIEL, C; BREDEMEIJER, G; VOSMAN, B; MATTHES, M; DALY, A; BREETSCHNEIDER, R; BETTINI, P; BUIATTI, M; MAESTRI, E; MALCEVSCHI, A; MARMIROLI, N; AERT, R; VOLCKAERT, G; RUEDA, J; LINACERO, R; VAZQUEZ, A; KARP, A; (1997). Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular breeding* 3: 381-390.

MAY, S; (1985). Comunicación Personal.

SNEATH, PHA; SOKAL, RR; (1973). The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman, San Francisco.

VOS, P; HOGERS, R; BLEEKER, M; REIJANS, M; VAN DE LEE, T; HORNES, M; FRIJTERS, A; POT, J; PELEMAN, J; KUIPER, M; ZABEAU, M; (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23 (21): 4407-4414.

WINFIELD, MO; ARNOLD, GM; COOPER, F; LE RAY, M; WHITE, J; KARP, A; EDWARDS, KJ; (1998). A study of genetic diversity in *Populus nigra* subsp. *betulifolia* in the Upper Severn area of the UK using AFLP makers. *Molecular Ecology* 7: 3-10.

WU, RL; HAN, YF; HU, JJ; FANG, JJ; LI, L; LI, ML; ZENG, ZB; (2000). An integrated genetic map of *Populus deltoides* based on amplified fragment length polymorphisms. *Theor Appl Genet* 100: 1249-1256.

Tabla 1. Muestras de chopo: especies e híbridos y sección a la que pertenecen

s,h	CLON	n° ramet	fila y cepa	LUGAR DE RECOGIDA	s,h	CLON	n° ramet	fila y cepa	LUGAR DE RECOGIDA	
<i>P. nigra</i>	Huert-2/95	1		Vivero CIFOR-INIA	<i>P. x euramericana</i> (<i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i>)	Canadiense Guadalupe	1		El Serranillo #	
	Covat-1/95	1		Vivero CIFOR-INIA		MC*	1	1.1	El Serranillo	
	Lombardo leonés	1		El Serranillo #			2	4.5	El Serranillo	
	(Anadolu)*	1	2.2	El Serranillo			3	5.1	SIA-DGA	
2		2.5	El Serranillo	NNDV		1		La Aldehuela-Torrelaguna		
<i>P. deltooides</i>	Lux*	1	11.1			SIA-DGA	2		El Serranillo #	
		2	11.3			SIA-DGA	3		Yunquera de Henares	
<i>P. deltooides</i> x <i>P. alba</i>	114/69*	1	1.1	El Serranillo		I-488*	1	2.2	El Serranillo	
		2	2.5	El Serranillo			2	1.4	El Serranillo	
		3	10.1	SIA-DGA			3		Vivero CIFOR-INIA	
<i>P. x euramericana</i> (<i>P. deltooides</i> x <i>P. nigra</i>)	Agathe F.*	1	1.1	El Serranillo			4	7.1	SIA-DGA	
		2	1.5	El Serranillo		Canadá Leonés	1		El Serranillo #	
<i>P. x euramericana</i> (<i>P. deltooides</i> x <i>P. nigra</i>)	Luisa Avanzo*	3	1.1	SIA-DGA		Canadá Blanco*	1	1.3	El Serranillo	
		1	2.3	El Serranillo			2	1.5	El Serranillo	
		2	4.5	El Serranillo			3	3.1	SIA-DGA	
	Cima	2000 Verde	3	8.1		SIA-DGA	B-1M	1		El Serranillo #
			1			El Serranillo #	Triplo*	1	2.3	El Serranillo
	1		El Serranillo #	2		1.5		El Serranillo		
	Flevo*	1	1.2	El Serranillo		3		9.1	SIA-DGA	
		2	2.5	El Serranillo		4		9.2	SIA-DGA	
		3	4.1 (0.01 Afocel)	SIA-DGA	I-56/59	1		El Serranillo #		
		4	4.2	SIA-DGA	Tetraploid	1		El Serranillo #		
	Campeador*	I-214*	1	2.2	El Serranillo	Goulet	1		El Serranillo #	
			2	3.5	El Serranillo	Raspalje*	1	1.3	El Serranillo	
			3		La Aldehuela-Torrelaguna		2	1.5	El Serranillo	
			4		El Serranillo #		3	14.1	SIA-DGA	
			5	2.1	SIA-DGA	Beaupre*	1	2.2	El Serranillo	
			6	2.2	SIA-DGA		2	2.5	El Serranillo	
	<i>P. alba</i> x <i>P. tremula</i>	Platero	1	2.2	El Serranillo		3	13.1 (0.61 Afocel)	SIA-DGA	
			2	3.5	El Serranillo		4	13.2	SIA-DGA	
			3		La Aldehuela-Torrelaguna	<i>P. x euramericana</i> (<i>P. deltooides</i> x <i>P. trichocarpa</i>)	Platero	1		El Serranillo #
			4		La Aldehuela-Torrelaguna					
5				El Serranillo #						
6			6.2	SIA-DGA						
7			6.1 (057 Afocel)	SIA-DGA						

El Serranillo #: indica que el material procede de la parcela de experimentación del CIFOR situada en el Serranillo.

*: indica aquellos clones incluidos en el Catálogo Nacional de Material de Base.

Tabla 2. Matriz de similitud entre clones obtenida con el coeficiente de Dice.

	Huert-2/95	Covat-1/95	Lombardo leonés/70	Anadolu*	Lux*	114/69*	Agathe F.*	Flevo*	Luisa Avanzo*	Campeador*	I-214*	MC*	I-488*	NNDV	Cima	Canadá Leonés	Canadiense Guadalupe	Canadá blanco*	Triplo*	Tetraploid	Goulet	I-56/59	2000 Verde	B-1M	Raspalje*	Beaupre*	Platero	
Huert-2/95	1,00																											
Covat-1/95	0,90	1,00																										
Lombardo leonés/70	0,88	0,90	1,00																									
Anadolu*	0,71	0,74	0,74	0,94																								
Lux*	0,33	0,33	0,34	0,34	0,95																							
114/69*	0,59	0,59	0,60	0,55	0,59	0,97																						
Agathe F.*	0,64	0,59	0,58	0,51	0,60	0,74	1,00																					
Flevo*	0,56	0,58	0,57	0,54	0,59	0,68	0,73	0,99																				
Luisa Avanzo*	0,62	0,62	0,61	0,56	0,60	0,76	0,79	0,75	0,99																			
Campeador*	0,59	0,58	0,58	0,57	0,60	0,71	0,69	0,74	0,73	0,99																		
I-214*	0,59	0,58	0,58	0,57	0,61	0,71	0,69	0,73	0,73	0,99	0,99																	
MC*	0,57	0,58	0,59	0,55	0,64	0,76	0,74	0,75	0,76	0,85	0,86	0,98																
I-488*	0,60	0,59	0,60	0,56	0,63	0,72	0,72	0,74	0,77	0,85	0,85	0,86	0,99															
NOV	0,58	0,59	0,60	0,55	0,64	0,75	0,74	0,75	0,76	0,85	0,86	0,98	0,87	0,98														
Cima	0,64	0,63	0,63	0,57	0,59	0,72	0,76	0,76	0,89	0,73	0,73	0,76	0,86	0,77	1,00													
Canadá Leonés	0,61	0,61	0,60	0,57	0,60	0,71	0,71	0,72	0,75	0,85	0,86	0,81	0,86	0,81	0,78	1,00												
Canadiense Guadalupe	0,59	0,57	0,58	0,57	0,60	0,71	0,69	0,73	0,73	0,99	0,99	0,86	0,86	0,86	0,74	0,86	1,00											
Canadá blanco*	0,61	0,63	0,63	0,59	0,59	0,72	0,71	0,72	0,76	0,83	0,83	0,81	0,87	0,82	0,76	0,96	0,83	1,00										
Triplo*	0,54	0,56	0,56	0,52	0,64	0,73	0,73	0,75	0,77	0,80	0,80	0,81	0,82	0,81	0,77	0,78	0,80	0,78	0,99									
Tetraploid	0,55	0,55	0,57	0,52	0,62	0,69	0,69	0,73	0,72	0,76	0,75	0,78	0,77	0,78	0,75	0,76	0,76	0,75	0,74	1,00								
Goulet	0,55	0,55	0,57	0,52	0,62	0,69	0,69	0,73	0,72	0,76	0,75	0,78	0,77	0,78	0,75	0,76	0,76	0,75	0,74	1,00	1,00							
I-56/59	0,53	0,55	0,55	0,54	0,66	0,73	0,72	0,71	0,75	0,80	0,81	0,81	0,83	0,80	0,76	0,80	0,81	0,81	0,92	0,73	0,73	1,00						
2000 Verde	0,61	0,59	0,58	0,56	0,58	0,76	0,75	0,73	0,85	0,71	0,81	0,75	0,75	0,75	0,88	0,75	0,72	0,73	0,76	0,74	0,74	0,77	1,00					
B-1M	0,56	0,57	0,60	0,59	0,65	0,72	0,74	0,75	0,78	0,81	0,82	0,83	0,84	0,83	0,76	0,82	0,82	0,83	0,82	0,74	0,74	0,82	0,76	1,00				
Raspalje*	0,35	0,33	0,32	0,34	0,51	0,50	0,59	0,54	0,56	0,54	0,55	0,55	0,57	0,54	0,53	0,53	0,55	0,55	0,56	0,54	0,54	0,55	0,52	0,61	0,96			
Beaupre*	0,35	0,35	0,35	0,37	0,54	0,51	0,57	0,57	0,55	0,57	0,58	0,57	0,59	0,56	0,52	0,54	0,57	0,55	0,57	0,59	0,59	0,57	0,53	0,63	0,83	0,99		
Platero	0,15	0,13	0,11	0,16	0,07	0,12	0,17	0,10	0,15	0,14	0,14	0,12	0,17	0,13	0,18	0,12	0,16	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,19	0,19	0,20	0,20	1,00	

*: clones incluidos en el Catálogo Nacional de Base.