

REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Tomo IV

Mendoza, 1954

Nº 2

POLIPLOIDIA EN VITIS VINIFERA L.

Por: Ing. Agr. PEDRO A. ZULUAGA (1)

Ing. Agr. ANGEL GARGIULO (2)

Uno de los métodos de más actualidad en el mejoramiento de la *Vitis vinifera*, lo constituye la poliploidía natural o inducida.

Son numerosos los poliploides que se han obtenido en E.E. U.U., algunos cultivados comercialmente con marcado éxito, tal es el caso de la *Thomson Seedles gigas* (Sultanina) en California. (H. P. Olmo) (7).

En la bibliografía consultada, notamos que los investigadores han realizado sus ensayos en variedades denominadas de "mesa" de la *Vitis vinifera* y del subgénero *muscadíneas*, excluyendo en la mayor parte de los casos, a las variedades denominadas de "vinificar".

Sin restar importancia a las variedades de "mesa", incluimos también en nuestro ensayo, las principales variedades de "vinificar" cultivadas en la zona.

Al respecto es notoria la preferencia de los viticultores locales por variedades de gran rendimiento, aunque de calidad inferior. Esto ha motivado que la variedad *Malbeck* (Cot rouge), la más cultivada antiguamente en la zona, vaya perdiendo su situación de privilegio, ocasionando serios trastornos en el Mercado Nacional de Vinos, ya que el consumidor prefiere vinos de gran color y calidad.

(1) Director del Instituto de Investigaciones de la Vid y del Vino, Provincia de Mendoza. Profesor de Viticultura I parte, e Investigador del Instituto del Vino de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo.

(2) Ingeniero Agrónomo colaborador de la cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo.

Esto nos indujo a dar especial importancia al mejoramiento de la variedad *Malbeck*, en lo que se refiere al aumento de rendimiento y mayor intensidad de material colorante en las bayas.

MATERIAL Y METODOS EMPLEADOS (3)

En los ensayos realizados se emplearon las siguientes variedades de *Vitis vinífera*: *Malbeck*, *Lattuario Nero*, *Sabalskankoi*, *Moscatel de Alejandría*, *Cereza*, *Criolla Grande* y *Malvasia*.

Las primeras pruebas se iniciaron en el año 1952 en las variedades *Malbeck*, *Cereza* y *Malvasia*, empleando los siguientes métodos:

1º Método:

En un tubo acodado de vidrio de 2 cm. de diámetro y 6 cm. de largo, se colocaron soluciones diluidas de colchicina pura, en proporciones de 50, 100, 200 y 300 partes por millón, con un 3 % de glicerina.

Por medio de sostenes adecuados se introdujeron los brotes al principio de su crecimiento, de manera que el alargamiento de los mismos los obligara a pasar por la solución antes de salir por el extremo opuesto al exterior.

Este método nos resultó engorroso y hay que emplear soluciones de colchicina muy diluída. Hemos notado que en las concentraciones superiores a 1 ‰ los brotes resultan dañados.

El procedimiento posterior consiste en seleccionar las yemas de la parte del sarmiento tratado y proceder a injertar los mismos sobre plantas adultas y vigorosas dispuestas en el ensayo.

2º Método:

En el año 1953, se hicieron algunas modificaciones y se obtuvieron resultados más satisfactorios inyectando en las yemas en formación o recién formadas, (meses de octubre y noviembre)

(3) Los métodos fueron aplicados en la Estación Experimental de Km. 8 por el Ingeniero Agrónomo Pedro A. Zuluaga.

soluciones de colchicina en proporciones de 1, 2 y 3 $0/_{00}$ con 5 % de glicerina pura.

Se inyectó repetidamente en las yemas, cubriendo luego las mismas con parafina vaselinada, de esta forma, se va aumentando paulatinamente la concentración de colchicina al concentrarse la misma por evaporación sin perjudicar las yemas.

Luego se procedió a eliminar las hojas de los sarmientos tratados y rebajar los mismos, por medio de la poda para provocar el desarrollo de las yemas en la misma época.

Posteriormente se procedió a la injertación de los brotes provenientes de yemas tratadas en plantas adultas y vigorosas de otras variedades, dispuestas en el campo de ensayo.

En ambos métodos se repitieron dos series de 100 tratamientos por variedad.

RESULTADOS OBTENIDOS

Con el segundo de los métodos mencionados, se obtuvo un tetraploide de la variedad Malbeck (Cot rouge) que presenta como características principales, gran vigor, mayor tamaño de la baya y con mayor intensidad de materia colorante.

Citología

En las pruebas citológicas se utilizó como material, extremos de raicillas provenientes de una estaquilla, colocada en arena húmeda, se utilizó la siguiente solución:

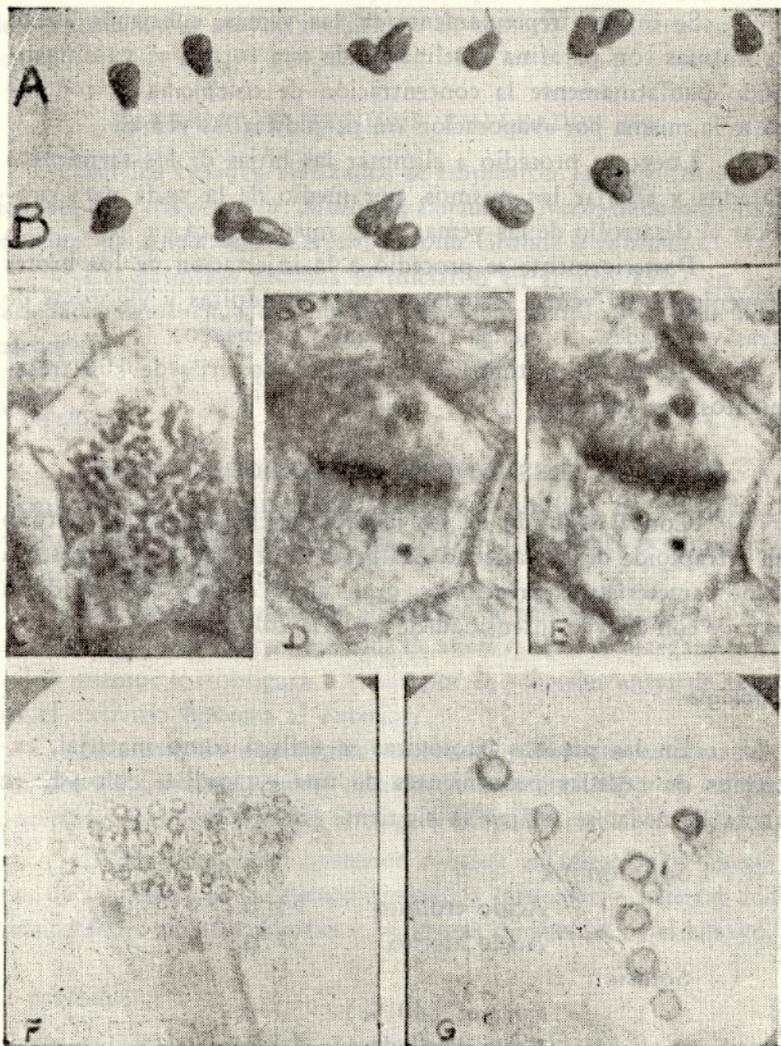
Solución A

Acido crómico	93 p.
Acido acético	7 p.

Solución B

Formol (40 %)	30 p.
Agua destilada	70 p.

Se deshidrató mediante pasajes en alcohol a 70 y 95 grados y absoluto. La clarificación se efectuó utilizando mezclas de alcohol absoluto y xilol, en la que este último aumentaba en proporciones progresivas.



LAMINA I. — **A:** Semillas de Malbeck diploide. **B:** Semillas de Malbeck tetraploide. **C:** (Fotografía No 1 x 2.500) Malbeck tetraploide con 76 cromosomas. **D y E:** (Fotografía No 2 y 3 x 2.500) Persistencia de dos núcleos en mitosis. **F:** (Fotografía No 9) Polen diploide de Malbeck germinado. **G:** (Fotografía No 10) Polen tetraploide de Malbeck germinado.

Se procedió a la imbibición e inclusión en parafina. Los cortes se hicieron de 8 a 10 micrones de espesor; los cortes de 10 micrones nos resultaron los más convenientes, tal como aconseja H. P. Olmo (7). Se adhirieron luego con albúmina de Mayer al portaobjeto.

Se disolvió la parafina con xilol y se hidrató en pasajes sucesivos por alcohol absoluto de 95°, 60°, 30° grados y agua. Se blanqueó durante 2 a 3 minutos en permanganato de potasio; se eliminó el exceso de permanganato con ácido oxálico durante un minuto; se volvió a lavar con agua.

Como mordiente se utilizó ácido crómico en solución acuosa al 1 % durante 20 minutos.

La coloración con cristal violeta se llevó a cabo de 30 minutos a 4 horas, tal como indica F. Saura (10), pero presentó en este caso el inconveniente de que al deshidratarse mediante pasajes en alcohol y diferenciar con esencia de clavo, se decoloraba tanto el citoplasma como los cromosomas, que en este caso retienen poco el colorante. Este inconveniente lo subsanamos aplicando inmediatamente después del cristal violeta, el mordiente por segunda vez durante 15 minutos.

Se pasó luego por iodo-iodurado, se deshidrató mediante pasajes en alcohol y se diferenciaron en esencia de clavo.

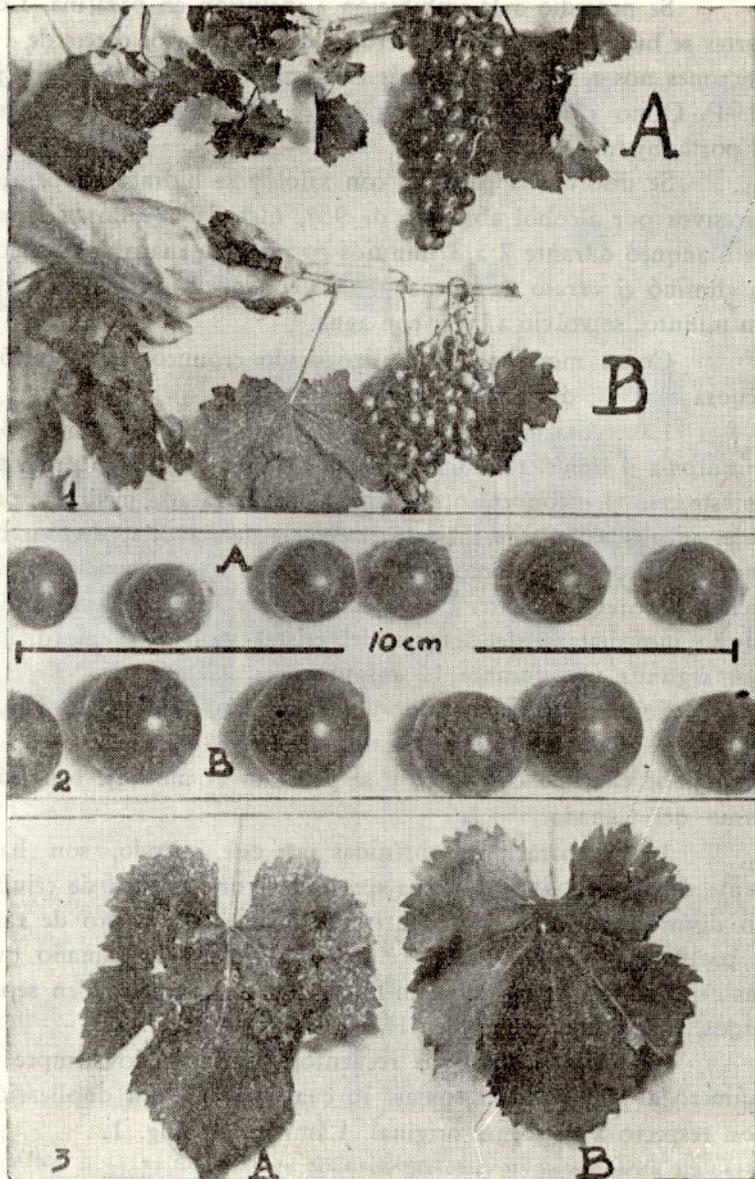
Se clarificó con xilol y se procedió al montaje con Bálsamo del Canadá.

Las preparaciones obtenidas por este método, son bastante satisfactorias. Se observa que la mayor cantidad de células en división se encuentran dentro del primer milímetro de raíz a partir del extremo. Estas células son de mayor tamaño que las centrales y presentan en metafase los cromosomas bien separados, como observa también H. P. Olmo (7).

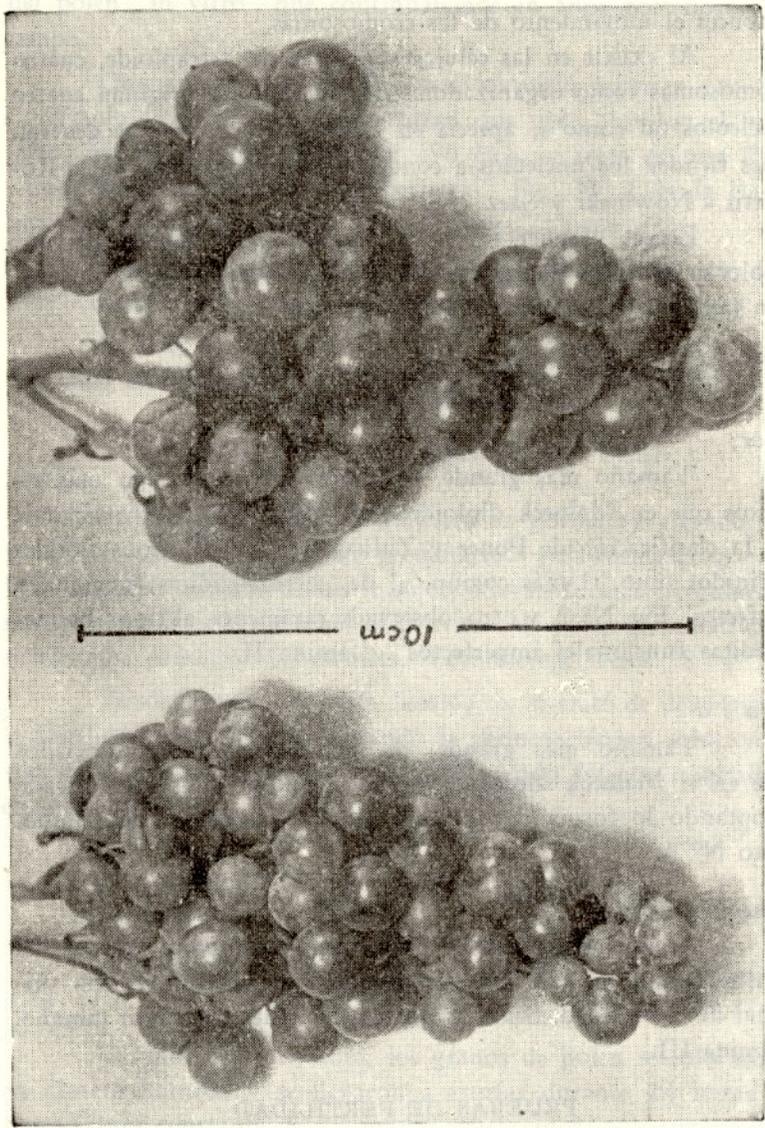
Se hicieron repetidos recuentos, coincidiendo siempre el número al de 76 cromosomas, lo cual confirma su duplicación con respecto a la forma original. Lámina 1 y Fig. 1.

PERSISTENCIA DEL NUCLEO EN MITOSIS

Un fenómeno curioso observado, es la persistencia del nucleolo durante la mitosis, este aparece en metafase moviéndose



LAMINA II. — 1: (Fotografía No 5) Racimos A: Malbeck (tetraploide) y B: Malbeck (diploide). 2: (Fotografía No 6) Bayas (diploide) y B: Malbeck (tetraploide). 4: (Fotografía No 4) Hojas A: Malbeck (diploide) y B) Malbeck (tetraploide)



LAMINA III. — Fotografia No 7, Malbeck diploide (izquierda) y tetraploide (derecha)

desde el plano ecuatorial hacia los polos y tomando al
ligar a esta una posición semejante a la del axis compen-

desde el plano ecuatorial hacia los polos y tomando, al llegar a éstos, una posición semejante a la del áster, comenzando entonces el movimiento de los cromosomas.

Al existir en las células somáticas del tetraploide, cuatro cromosomas como organizadores del nucleolo, se originan cuatro nucleolos tal como se aprecia en Lámina 1. Esto no es general, pues tienden los nucleolos a condensarse en una masa única Robertis - Nowinski y Saez (8).

Ernest Wagner (13 y 14) observó la persistencia del nucleolo en híbridos del género *Vitis*, pero en meiosis. Se observaron también retardos de cromosomas.

CARACTERES MORFOLOGICOS Y FISIOLÓGICOS DEL TETRAPLOIDE OBTENIDO

Flor:

Tamaño más grande, estambres gruesos y algo más reflexos que en Malbeck diploide, Fig. Nros. 2 y 3; corresponde en la clasificación de Ponce y Zuluaga (9) a dos tipos florales definidos, uno, el más común, al de "hermafroditas funcionales perfectos" Fig. N° 2. y otro, observado raramente, al tipo "hermafroditas funcionales imperfectos". Lámina II.

H o j a :

Tamaño más grande, de lóbulos menos pronunciados que en el Malbeck diploide original, seno peciolar más cerrado adoptando la forma de "lira" y mayor consistencia del limbo. Foto N° 4.

Racimo y Baya:

Racimos más grande pero menos compacto que el del Malbeck diploide. Mayor tamaño de baya, con la forma original de la variedad. Semillas normales fértiles de mayor tamaño. Lámina III.

PRUEBAS DE FERTILIDAD

Como la variedad Malbeck posee una biología floral algo imperfecta que suele provocar el fenómeno de "corrimiento del racimo" y dada la importancia que en su productividad re-

presenta, procedimos a realizar diversas pruebas de "fertilidad" del polen "in vitro" que continuaremos en años posteriores "a campo".

Observaciones en la flor nos permitió apreciar que en el tetraploide obtenido, se encuentran dos tipos florales: el primero, que predomina netamente (90 %), se trata de una flor "tipo hermafrodita funcional perfecta". Fig. N° 2 de la clasificación de Ponce y Zuluaga (9) y Zuluaga-Zuluaga (15).

Un porcentaje mínimo de flores (5 a 10 %) son del tipo "hermafrodita funcional imperfecta".

Es muy factible, por medio de la "selección clonal", perfeccionar este último tipo floral. Fig. 2 - 3.

OBSERVACIONES DEL GRANO DE POLEN

El tetraploide obtenido muestra un porcentaje elevado de polen fértil, provistos de poros germinativos y de forma exagonal. Una cantidad mínima de los mismos, afectan formas irregulares, son de tamaño menor y están desprovistos de poros germinativos, siendo por consiguiente, estériles. Fotomicrog. Nros. 8 y 9.

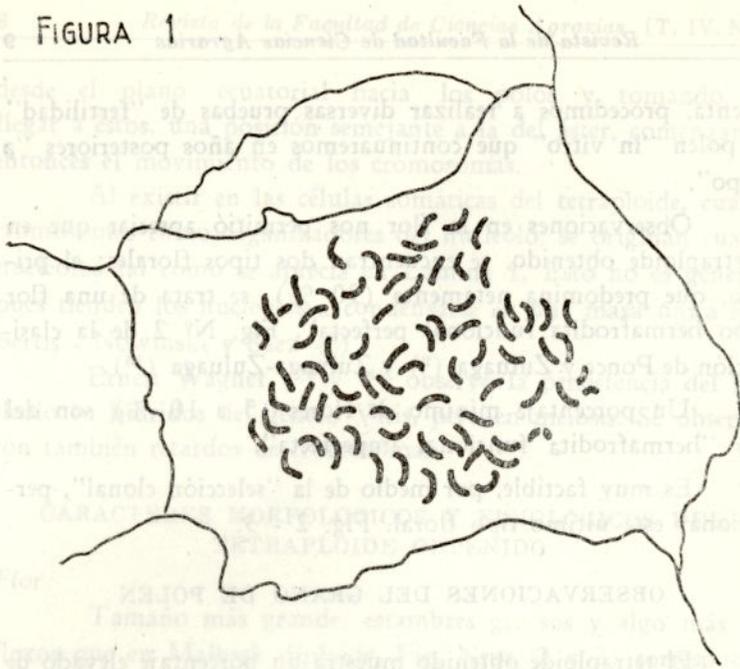
Desde el punto de vista fisiológico, se trató de determinar la fertilidad del polen, provocando la germinación en soluciones nutritivas artificiales que ya nos había dado buenos resultados en otros ensayos.

Sacarosa	17	%
Agar-agar polifiltrado	2,5	%
Acido tartárico puro	0,050	%
Agua hasta completar		

Después de la siembra, los granos de polen se colocaron en cámara húmeda y se llevaron a estufas durante 24 horas a temperatura constante de 22 grados centígrados.

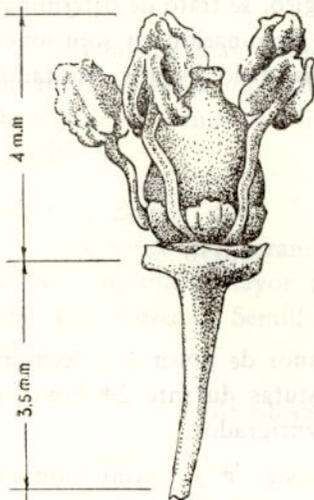
Los resultados obtenidos se consignan a continuación en el cuadro N° 1.

FIGURA 1



MALBECK TETRAPLOIDE

FIGURA 2

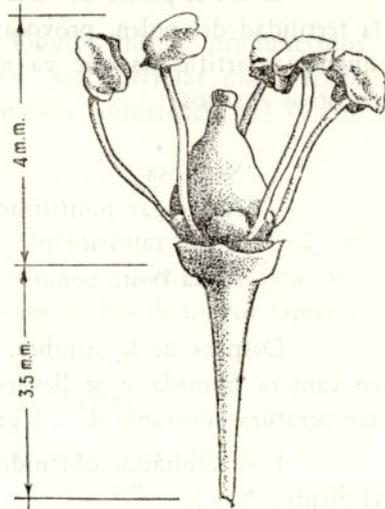


1er TIPO FLORAL

MALBECK COMUN

PLANTA ORIGINARIA

FIGURA 3



CUADRO N° 1

	VARIEDAD	Granos de polen observados	Normales con poros germinativos	Germi- nados	% de germina- ción
Primer recuento	Malbeck (Diploide)	100	93	70	70 %
	Malbeck (Tetraploide)	100	84	45	45 %
Segundo recuento	Malbeck (Diploide)	100	100	82	82 %
	Malbeck (Tetraploide)	100	84	68	68 %
Tercer recuento	Malbeck (Diploide)	100	82	41	41 %
	Malbeck (Tetraploide)	100	62	20	20 %

Comparativamente, de acuerdo a estos resultados, el Malbeck tetraploide obtenido parece poseer menos fertilidad, sin embargo en la primera producción obtenida no hemos notado el fenómeno del "corrimiento del racimo".

Para completar nuestro estudio sobre esta variedad hemos dispuesto un ensayo comparativo de rendimiento y calidad para poder apreciar claramente las ventajas e inconvenientes del mismo.

RESUMEN

Se detallan métodos originales para inducir a la poliploidía en variedades de la *Vitis* vinífera, en base a tratamientos con colchicina sobre yemas de vid en vías de formación.

Se describe un poliploide (tetraploide) de la variedad Malbeck (Cot rouge) y las ventajas que su cultivo puede representar en nuestra zona.

Se han efectuado las pruebas citológicas correspondientes.

SUMMARY

Original methods to induce polyploidy in vitis vinifera varieties by colchicine treatments applied in undeveloped buds, are detailed.

A polyploid (tetraploid) of the Malbeck variety (cot rouge) and the advantages of its culture for our district, is described.

The corresponding citological tests have been made.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

(1) BREIDER VON HANS. *Entwicklungsgeschichtbuch - genetische Studien über somatische mutation bei der Rebe*. Sonderabdruck aus "Der Züchter". 23 Band-Heft 7/8/1953.

(2) BREIDER VON HANS. *Über die Inaktivierung von Genen - Genkon - plexon un genomen*. Sonderabdruck aus "Zeitschrift für Pflanzzüchtung" Ban 31 - Heft 5/1952.

(3) BAKER, JOHON R. *Cytological Technique* michuen Co. Ltd. London 36 Essex street.

(4) DALMASO G. COSMO I. *Contributo allo studio della biologia fiorale della Vite I osservazione e ricerche sul autogamia ed eterogamia nella Vides*. Treveso año 1953 Arte Grafiche Longo et Zarelli.

(5) DARLINTON AND LABOPR. *The Handling of chromosomes*. London. George Allen and Unrvin Ltd.

(6) JHANSEN D. A. *Plant microtecnica*. Mc Graw-Hill Book New York and London.

(7) OLMOS H. P. *Chromosomes number in the European Grape Vitis vinifera*. Fugü Iubilali Volumen pp. 1640 para I. junio 1937. Tokio.

(8) ROBERTIS E. D. P. DE NOWINSKI W. W. Y SÁEZ F. A. *Citología General "El Atenco"*. Buenos Aires. R. Argentina.

(9) PONCE J. R. Y ZULUAGA P. A. *Primera contribución al estudio de la biología floral de la vid en Mendoza*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Tomo 2. Año 1950. Universidad Nacional de Cuyo.

(10) SAURA FULGENCIO. *Técnicas usuales para observar cromosomas*. Boletín N° 27. Año 1949. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Buenos Aires.

(11) SUÁREZ LEOPOLDO. *Contribución a los estudios ampelográficos*. Mendoza, Imprenta y Librería Nacional de A. González y Cía. Año 1911.

(12) SHARP LESTER W. *Fundamentos de Citología*. Atme Agency. Buenos Aires 1947.

(13) WAGNER ERNEST VON. *Mit. 17 - Textabbildungen* - 21 juli-august 1951.

(14) WAGNER ERNEST VON. *Persisting nucleoli and tripolarispendles in the pollen-meiosis of a vitis-species hybrid*. (Farsch inst. Geilreweiler hof-Pfals) Biological Abstracts 15268. Volumen 28 N° 7 July of 1954.

(15) ZULUAGA P. A. Y ZULUAGA E. M. "*Segunda contribución al estudio de la biología floral de la vid en Mendoza*". Boletín técnico N° 7. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Año 1954.

CONSIDERACIONES GENERALES

RANCOR DE LAS GRASAS

Con el término "rancidez" se designa en un sentido amplio, toda alteración en el olor o sabor que se desarrolla en las grasas de los alimentos en contacto con el aire.

Las causas que determinan la rancidez de las grasas se han clasificado en la siguiente forma:

- a) Absorción de olores y sabores.
- b) Acción de enzimas presentes en los tejidos.
- c) Acción de los microorganismos.
- d) Oxidación atmosférica.

(1) Trabajo realizado en el Instituto de Industrias Agrarias perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.

(2) Doctora en Química, Investigadora en el Instituto de Industrias Agrarias, Jefa de Trabajos Prácticos de Química Orgánica y Biología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.

(3) Doctora en Química, Investigadora en el Instituto de Industrias Agrarias, Jefa de Trabajos Prácticos de Química Orgánica y Biología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.