

EFFECTO DE LA VARIEDAD EN EL DESARROLLO DE EMBRIONES *in vitro* DE VIDES ESTENOSPERMOCÁRPICAS

Cultivar effect in the development of stenospermocarpic grape embryos cultured *in vitro*

Nicole Hewstone O.¹*, Jorge Valenzuela B.¹, Carlos Muñoz Sch.¹

ABSTRACT

The goal of the table grape (*Vitis vinifera* L.) breeding program of the Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación La Platina, is to obtain new varieties with good quality, high yield, large berry size and long post harvest life. In stenospermocarpic seedless cultivars premature abortion of developing seeds occurs. However, with the embryo rescue technique and *in vitro* culture, it is possible to use seedless cultivars as mothers. The aim of this work was to study cultivar effect whether pollinating or mother, on the percentage of plantlets per ovule obtained through this technique. The results of crosses made during five years among seven cultivars and their reciprocal crosses were analyzed. The main factor affecting the yield of embryos per ovule and plantlets per embryos was the variety used as mother. The cultivars Ruby Seedless and Red Seedless showed the highest percentage of embryos/ovule, with 68 and 40%, respectively. On the other hand, Superior and Black Seedless produced only 30% of embryos per ovule. The mean percentage of plantlets per embryo obtained varied between 10.5% for Black Seedless x Superior to 81.3% for Ruby Seedless x Flame Seedless.

Key words: table grape, embryo rescue, seedlessness, *Vitis vinifera* L.

RESUMEN

El propósito del mejoramiento genético de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro Regional de Investigación La Platina, es la obtención de nuevas variedades de alta calidad, alto rendimiento, buen calibre y larga vida de postcosecha. En uvas estenospermocárpicas ocurre el aborto prematuro de las semillas en desarrollo. Sin embargo, mediante el cultivo de semillas inmaduras y rescate de embriones es posible utilizar variedades apirenas como madres. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la variedad utilizada ya sea como polinizante o madre, en los cruzamientos sobre el rendimiento de plantas por óvulo. Se analizaron los resultados de cruzamientos de cinco temporadas, de siete variedades utilizadas como madres y sus cruzamientos recíprocos. El rendimiento en número de embriones por semilla y plantas por embriones estuvo afectado principalmente por la variedad utilizada como madre. Variedades como Ruby Seedless y Red Seedless presentaron alto porcentaje de formación de embriones por semilla sembrada, sobre 68 y 40%, respectivamente. En cambio, en Superior o Black Seedless, el porcentaje de embriones rescatado por semilla alcanzó sólo al 30%. El rendimiento promedio de plantas por embriones varió entre un 10,5% en Black Seedless x Superior y un 81,3% en Ruby Seedless x Flame Seedless.

Palabras clave: uva de mesa, rescate de embriones, apirenia, *Vitis vinifera* L.

¹ Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.
E-mail: nhewston@inia.cl *Autor para correspondencia.

Recibido: 01 de septiembre de 2004. Aceptado: 10 de marzo de 2005.

INTRODUCCIÓN

La vid (*Vitis vinifera* L.) es uno de los cultivos frutícolas más importantes del mundo. En Chile se cultivan cerca de 50.000 ha de uva de mesa y 120.000 ha de uva para vino. Chile supera los US\$ 600.000.000 en exportaciones anuales de uva de mesa, siendo el principal exportador de esta fruta del Hemisferio Sur. Todas las variedades que se cultivan y exportan desde Chile son de origen extranjero, siendo Thompson Seedless la principal variedad exportada (32,8% de cajas), seguida de Red Globe (27,0%), Flame Seedless (16,4%) y Crimson (11,1%).

El año 1988 el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) inició un programa de mejoramiento genético de esta especie en el Centro Regional de Investigación (CRI) La Platina, con el objetivo estratégico de disminuir la dependencia de variedades extranjeras, y disponer de material de intercambio para seguir importando germoplasma al país, en un escenario en que los derechos de propiedad intelectual adquieren cada día mayor importancia. Los objetivos agronómicos del programa son obtener variedades de buena calidad, de alto rendimiento, con buen calibre y con una prolongada vida de postcosecha, debido al tiempo que debe permanecer la fruta en viaje para alcanzar los mercados de destino. Además, dado que los consumidores de fruta fresca tradicionalmente han preferido las variedades sin semilla (apirenas), el programa se ha focalizado en esta característica (Lavín *et al.*, 2000).

En el género *Vitis* se reconocen dos tipos de apirenia: una que ocurre por partenocarpia, en la cual la baya se forma sin polinización ni fertilización, y otra, más generalizada, que es producto de la estenospermia, es decir, del aborto de los embriones al inicio del desarrollo de la baya (Kanamadi *et al.*, 1999; Agüero *et al.*, 2000). Estas bayas estenospermocárpicas requieren de una fertilización normal, por lo que el polen de estas variedades debe ser viable (Perl *et al.*, 2000).

El método clásico de mejoramiento genético en variedades apirenas ha estado basado en el cruzamiento de un padre apireno con variedades semilladas usadas como madres (Gurnil *et al.*, 1999; Perl *et al.*, 2000). Sin embargo, usando esta estrategia la probabilidad de obtener descendientes apirenos es inferior al 50%. El desarrollo de técnicas de cultivo

de tejidos *in vitro* ha posibilitado la producción de un mayor porcentaje de progenies apirénicas cuando ambos progenitores son no semillados. La técnica consiste en “rescatar” los embriones inmaduros antes de que aborten, y cultivarlos en un medio de cultivo bajo condiciones artificiales de manera de permitir su desarrollo normal (Ramming, 1990). El rescate de embriones está influenciado por varios factores (Ponce *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2003), siendo uno de los más importantes el genotipo de la variedad usada como madre (García *et al.*, 2000; Notsuka *et al.*, 2001).

El objetivo de este trabajo fue analizar el comportamiento frente al rescate de embriones *in vitro*, de siete variedades que se han usado frecuentemente como progenitores en cruzamientos recíprocos en el programa de mejoramiento genético de uva de mesa del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio se consideraron los resultados obtenidos en cruzamientos realizados entre 1995 y 1999, en la colección de variedades de vid existentes en el Centro Regional de Investigación La Platina del INIA. Se analizaron 41 cruzamientos entre siete variedades apirenas y sus cruzamientos recíprocos. Las variedades usadas fueron Thompson Seedless, Black Seedless, Ruby Seedless, Perlette, Superior, Flame Seedless y Red Seedless. No fue posible analizar el cruzamiento entre Superior y Red Seedless, debido a que no se contó con racimos durante todas las temporadas. Los cruzamientos realizados se presentan en el Cuadro 1.

Para realizar los cruzamientos, se emascularon cada año flores de tres racimos de plantas de 3 a 10 años de edad, inmediatamente antes de la antesis. Luego se polinizaron con el polen de las variedades de interés. Los racimos se cubrieron con bolsas de papel hasta que se inició la etapa de crecimiento de las bayas. Las bayas se cosecharon entre 30 y 60 días después de la polinización, se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1,5% durante 20 min, y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Bajo una cámara de flujo laminar y con la ayuda de una lupa binocular, se disectaron las bayas y se sembraron las semillas inmaduras sobre un medio que contenía los macronutrientes del medio Nitsch (Nitsch y Nitsch, 1971) y los

Cuadro 1. Efecto de la variedad madre en el rescate de embriones *in vitro*.
Table1. Effect of the female variety on the *in vitro* embryo rescue technique.

		Nº bayas	Nº semillas	Embriones/ semillas (%)	Plantas/ embriones (%)	Plantas/ semilla (%)
Black S.	Flame S.	69,3 d	24,5 f	16,90 g	13,5 e	3,5 g
Black S.	Perlette	114,4 ab	43,4 d	24,10 e	11,0 d	2,6 g
Black S.	Red S.	94,0 c	69,3 d	31,90 d	44,3 a	18,0 c
Black S.	Ruby S.	85,5 c	45,5 d	27,10 e	19,0 c	9,0 e
Black S.	Thompson S.	131,5 ab	31,3 e	44,70 a	60,8 a	23,3 b
Black S.	Superior	112,8 ab	65,5 d	30,10 d	10,5 f	3,8 f
Flame S.	Black S.	184,3 ab	263,8 ab	44,50 a	29,3 a	13,5 c
Flame S.	Perlette	371,8 a	529,5 a	48,60 a	19,0 b	10,0 e
Flame S.	Red S.	381,0 a	656,0 a	33,90 a	16,5 b	5,5 e
Flame S.	Ruby S.	228,3 ab	326,0 ab	33,90 b	45,0 a	13,0 c
Flame S.	Thompson S.	380,4 a	505,4 ab	39,00 a	35,2 a	12,4 c
Flame S.	Superior	110,3 ab	161,7 b	48,00 a	44,7 a	22,3 a
Perlette	Black S.	324,0 a	263,3 ab	40,30 a	37,5 a	15,8 c
Perlette	Flame S.	422,0 a	399,0 ab	50,00 a	36,7 a	15,7 c
Perlette	Red S.	307,3 ab	295,7 ab	44,50 a	49,3 a	20,0 b
Perlette	Ruby S.	165,0 ab	129,0 b	33,30 a	37,8 a	13,3 c
Perlette	Thompson S.	309,0 ab	332,3 ab	45,70 a	48,0 a	21,5 a
Perlette	Superior	294,0 ab	326,5 ab	32,30 c	49,0 a	12,8 c
Red S.	Black S.	86,3 b	85,0 d	45,00 a	24,3 a	11,3 c
Red S.	Flame S.	218,8 ab	263,8 ab	42,80 a	43,3 a	18,0 b
Red S.	Perlette	82,0 c	85,3 d	40,70 a	28,3 a	12,3 d
Red S.	Ruby S.	62,7 d	72,7 d	44,60 a	46,7 a	26,7 a
Red S.	Thompson S.	211,0 ab	261,8 ab	41,50 a	47,4 a	21,0 a
Red S.	Superior	160,5 ab	255,5 b	51,70 a	62,5 a	28,5 a
Ruby S.	Black S.	190,3 ab	248,7 ab	68,50 a	63,0 a	39,3 c
Ruby S.	Flame S.	220,8 ab	280,8 ab	69,30 a	81,3 a	52,5 a
Ruby S.	Perlette	230,8 ab	281,8 ab	75,70 a	61,0 a	44,3 a
Ruby S.	Red S.	179,3 ab	251,8 ab	71,90 a	62,7 a	42,3 a
Ruby S.	Thompson S.	318,0 a	322,4 ab	72,90 a	78,0 a	56,6 a
Ruby S.	Superior	172,5 ab	163,0 b	73,10 a	42,5 a	30,8 a
Thompson S.	Black S.	323,8 a	134,5 b	41,40 a	53,5 a	20,0 b
Thompson S.	Flame S.	345,6 a	125,6 b	41,30 a	58,5 a	24,5 a
Thompson S.	Perlette	175,8 ab	103,0 c	41,30 a	48,3 a	14,3 c
Thompson S.	Red S.	429,3 a	179,3 b	50,70 a	33,0 a	16,3 b
Thompson S.	Ruby S.	321,0 a	146,8 b	37,40 a	68,0 a	26,8 a
Thompson S.	Superior	362,7 a	104,3 b	32,50 c	57,5 a	22,0 a
Superior	Black S.	40,0 e	16,0 g	34,30 a	55,0 a	19,0 a
Superior	Flame S.	94,0 d	67,0 d	60,60 a	67,0 a	45,0 a
Superior	Perlette	74,0 d	45,5 e	51,60 a	15,0 d	3,5 g
Superior	Ruby S.	121,0 ab	31,0 e	9,70 h	33,0 a	3,0 f
Superior	Thompson S.	140,0 ab	40,0 e	21,50 f	79,5 a	15,5 b

Valores con distinta letra indican que diferencias son estadísticamente significativas entre ellos, según prueba Duncan ($P < 0,05$).
 S: Seedless.

micronutrientes y vitaminas del medio MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con 0,34 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃) y 0,05 mg L⁻¹ de biotina. Las semillas inmaduras se incubaron a 25°C con un fotoperíodo de 16 h de luz, durante cuatro a ocho semanas, después de las cuales las semillas se disecaron para rescatar los embriones. Éstos se incubaron sobre un medio conteniendo los macronutrientes Ca(NO₃)₂ 600 mg L⁻¹, KNO₃ 160 mg L⁻¹, KCl 65 mg L⁻¹, Na₂SO₄ 200 mg L⁻¹, NH₄NO₃ 360 mg L⁻¹, MgSO₄ 750 mg L⁻¹ y NaH₂PO₄ 19 mg L⁻¹, los micronutrientes y vitaminas del medio MS, suplementado con 0,035 mg L⁻¹ de GA₃, 50 mg L⁻¹ de mio-inositol, 50 mg L⁻¹ de hidrolizado de caseína y 3 g L⁻¹ de carbón activado, por un período variable entre 3 y 6 meses hasta la formación de plantas, las cuales se aclimataron en invernadero.

Las variables analizadas fueron el número de bayas obtenidas, número de semillas sembradas, porcentaje de embriones rescatados por semilla, porcentaje de plantas por embriones y plantas por semilla previa transformación de raíz cuadrada para asegurar la distribución normal de los datos. El diseño experimental fue completamente al azar. A los resultados se les realizó un análisis de varianza y se aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan, con una probabilidad del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 41 cruzamientos realizados entre variedades apirenas, se obtuvieron 32.801 bayas y 30.460 semillas cultivadas, de las cuales se rescataron 14.616 embriones (48% de embriones por semilla) y 6.144 nuevas plantas (21,1% de plantas por semilla).

Se observaron diferencias en todas las variables medidas (Cuadros 1 y 2). Cuando se comparan las diferencias estadísticas encontradas entre variedades, cuando son utilizadas como madres (Cuadro 1) o como padres (Cuadro 2), se aprecian diferencias de comportamiento en relación a las restantes. Así, el comportamiento de Black Seedless, Red Seedless, Ruby Seedless y Superior mejor en cuanto a número de bayas cuando son utilizadas como padres, no existiendo diferencias claras en las restantes variedades. Lo mismo sucede para el número de semillas con Black Seedless, Ruby Seedless y Superior utilizadas como padres, y en menor medida en Thompson Seedless.

En cuanto a embriones por semilla, Red Seedless y Ruby Seedless tienen mejor comportamiento como madres y Black Seedless como padre. En número de plantas por embriones, Black Seedless presenta una clara ventaja utilizada como padre, siendo muy semejante el comportamiento de las restantes variedades usadas en ambas formas. En cuanto al número de plantas por semilla hay una diferencia favorable en los resultados cuando Black Seedless es utilizada como padre, la que también se manifiesta, pero parcialmente, en Flame Seedless, Perlette, Red Seedless y Superior. La var. Ruby Seedless presentó el mejor comportamiento al ser usada como madre. Tuvo un alto rendimiento de semillas por bayas cruzadas (117%), y presentó los porcentajes más altos de plantas por embriones rescatados, entre 42,5 y 81,3% promedio durante las cinco temporadas, dependiendo del polinizante (Cuadro 1). Las var. Black Seedless y Superior, usadas como madre, tuvieron el menor número de bayas útiles por racimo, 2.450 y 817, respectivamente, durante las temporadas 1995 a 1999 (Cuadro 3). Este resultado posiblemente sea consecuencia de su sensibilidad a la manipulación mecánica del racimo, por lo cual se pierden muchas bayas y se presenta muerte de racimos por desecación. Como consecuencia, los números de semillas, de embriones y de plantas de ambas variedades también fueron bajos.

La variedad Black Seedless presenta además, en comparación con el resto de las variedades, los menores porcentajes de embriones por semilla durante las cinco temporadas (28,11%) (Figura 1) y plantas por semilla (98 plantas) (Cuadro 3), existiendo una fuerte variabilidad en plantas por embriones. La variedad Superior también presenta bajo número de semillas, pero su comportamiento, en cuanto a embriones por semilla, plantas por embrión y plantas por semilla puede ser muy bueno o muy malo, dependiendo del progenitor masculino utilizado. De Superior utilizada como madre, sólo se regeneraron 58 plantas finales. Red Seedless también es sensible a la manipulación, ya que se deshidrataron muchos racimos emasculados, lo que produjo también un bajo número de bayas y fuerte fluctuación en el número de semillas, aunque su producción de embriones por semilla y plantas por embrión fue muy buena. En variedades como Flame Seedless, Ruby Seedless y Thompson Seedless, las que no presentan daño por manipulación de racimos, el rendimiento del rescate de embriones fue mayor.

Cuadro 2. Efecto de la variedad polinizante en el rendimiento de rescate de embriones *in vitro*.
Table 2. Effect of the male variety in the *in vitro* embryo rescue technique.

		Nº bayas	Nº semillas	Embriones/ semillas (%)	Plantas/ embriones (%)	Plantas/ semilla (%)
Flame S.	Black S.	184,3 abc	263,8 ab	44,50 ab	29,3 a	13,5 b
Perlette	Black S.	324,0 a	263,3 ab	40,30 ab	37,5 a	15,8 b
Red S.	Black S.	86,3 bc	85,0 ab	45,00 ab	24,3 a	11,3 b
Ruby S.	Black S.	190,3 abc	248,7 ab	68,50 a	63,0 a	39,3 a
Thompson S.	Black S.	323,8 abc	134,5 ab	41,40 ab	53,5 a	20,0 ab
Superior	Black S.	40,0 c	16,0 b	34,30 b	55,0 a	19,0 ab
Black S.	Flame S.	69,3 b	24,5 c	16,90 b	13,5 b	3,5 c
Perlette	Flame S.	422,0 a	399,0 ab	50,00 a	36,7 ab	15,7 bc
Red S.	Flame S.	218,8 ab	263,8 abc	42,80 a	43,3 ab	18,0 bc
Ruby S.	Flame S.	220,8 ab	280,8 ab	69,30 a	81,3 a	52,5 a
Thompson S.	Flame S.	345,6 ab	125,6 b	41,30 a	58,5 a	24,5 ab
Superior	Flame S.	94,0 b	67,0 bc	60,60 a	67,0 a	45,0 ab
Black S.	Perlette	114,4 ab	43,4 c	24,10 b	11,0 b	2,6 b
Flame S.	Perlette	371,8 a	529,5 a	48,60 ab	19,0 ab	10,0 b
Red S.	Perlette	82,0 b	85,3 bc	40,70 ab	28,3 ab	12,3 b
Ruby S.	Perlette	230,8 ab	281,8 ab	75,70 a	61,0 a	44,3 a
Thompson S.	Perlette	175,8 ab	103,0 bc	41,30 ab	48,3 ab	14,3 b
Superior	Perlette	74,0 b	45,5 c	51,60 ab	15,0 b	3,5 b
Black S.	Red S.	94,0 b	69,3 b	31,90 b	44,3 a	18,0 a
Flame S.	Red S.	381,0 a	656,0 a	33,90 b	16,5 a	5,5 a
Perlette	Red S.	307,3 a	295,7 ab	44,50 ab	49,3 a	20,0 a
Ruby S.	Red S.	179,3 a	251,8 ab	71,90 a	62,7 a	42,3 a
Thompson S.	Red S.	429,3 a	179,3 b	50,70 ab	33,0 a	16,3 a
Black S.	Ruby S.	85,5 a	45,5 a	27,10 ab	19,0 a	9,0 a
Flame S.	Ruby S.	228,3 a	326,0 a	33,90 b	45,0 a	13,0 a
Perlette	Ruby S.	165,0 a	129,0 a	33,30 ab	37,8 a	13,3 a
Red S.	Ruby S.	62,7 a	72,7 a	44,60 a	46,7 a	26,7 a
Thompson S.	Ruby S.	321,0 a	146,8 a	37,40 ab	68,0 a	26,8 a
Superior	Ruby S.	121,0 a	31,0 a	9,70 b	33,0 a	3,0 a
Black S.	Thompson S.	131,5 a	31,3 b	44,70 ab	60,8 a	23,3 b
Flame S.	Thompson S.	380,4 a	505,4 a	39,00 ab	35,2 a	12,4 b
Perlette	Thompson S.	309,0 a	332,3 ab	45,70 ab	48,0 a	21,5 b
Red S.	Thompson S.	211,0 a	261,8 ab	41,50 ab	47,4 a	21,0 b
Ruby S.	Thompson S.	318,0 a	322,4 ab	72,90 a	78,0 a	56,6 a
Superior	Thompson S.	140,0 a	40,0 b	21,50 b	79,5 a	15,5 b
Black S.	Superior	112,8 b	65,5 a	30,10 b	10,5 b	3,8 b
Flame S.	Superior	110,3 b	161,7 a	48,00 ab	44,7 ab	22,3 a
Perlette	Superior	294,0 ab	326,5 a	32,30 b	49,0 ab	12,8 ab
Red S.	Superior	160,5 ab	255,5 a	51,70 ab	62,5 a	28,5 a
Ruby S.	Superior	172,5 ab	163,0 a	73,10 a	42,5 ab	30,8 a
Thompson S.	Superior	362,7 a	104,3 a	32,50 b	57,5 a	22,0 a

Valores con distinta letra indican que diferencias son estadísticamente significativas entre ellos, según prueba Duncan ($P < 0,05$).
 S.: Seedless.

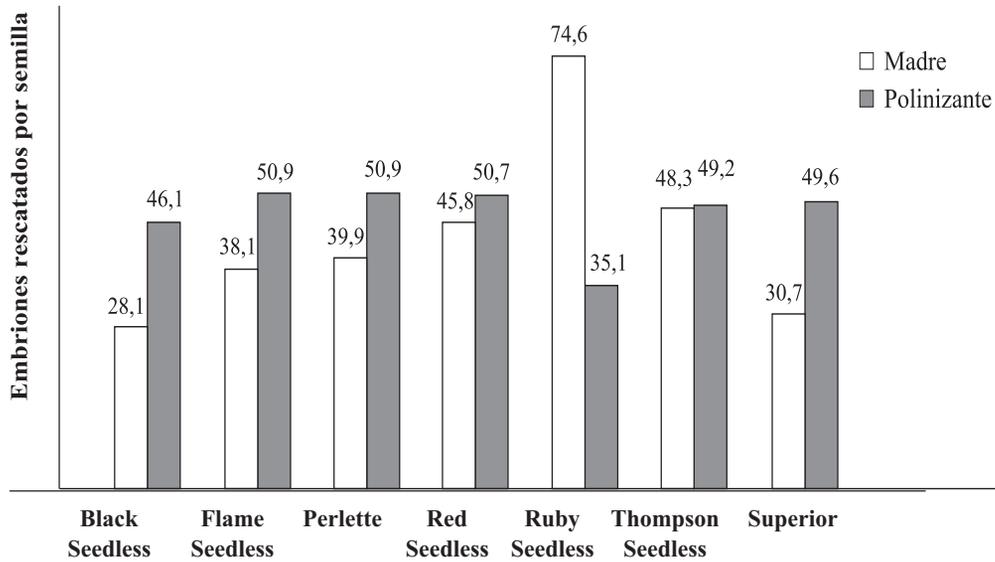


Figura 1. Porcentaje de embriones rescatados por semilla inmadura sembrada usando una misma variedad como madre o como polinizante.

Figure 1. Percentage of rescued embryos per cultivated ovules obtained from the same variety used as female or male parentages.

Cuadro 3. Participación de cada variedad en la técnica de rescate de embriones tanto como madre o polinizante y sus cruzamientos recíprocos. Suma de valores de las cinco temporadas.

Table 3. Participation of each variety in the embryo rescue technique as female or male, or their reciprocal crosses. Sum of five season's values.

Variedad		Nº total de bayas	Nº total de semillas	Nº total de embriones	Nº total de plantas
Black Seedless	Madre	2.450	1.092	307	98
	Polinizante	4.324	3.764	1.734	735
Flame Seedless	Madre	6.132	8.801	3.351	742
	Polinizante	5.438	4.516	2.275	1.196
Perlette	Madre	6.556	6.288	2.506	1.011
	Polinizante	4.079	4.221	2.121	717
Red Seedless	Madre	3.351	4.200	1.925	902
	Polinizante	4.160	3.952	2.007	659
Ruby Seedless	Madre	5.599	6.548	4.885	2.991
	Polinizante	3.829	2.985	1.048	463
Thompson Seedless	Madre	7.896	3.163	1.529	642
	Polinizante	6.593	6.982	3.441	1.888
Superior	Madre	817	368	113	58
	Polinizante	4.378	4.040	1.990	786

La variedad Thompson Seedless, a pesar de no presentar diferencias significativas con Ruby Seedless y Flame Seedless en cuanto al número de bayas, tuvo un menor número de semillas por baya que esas variedades. Sólo un tercio de las bayas de Thompson Seedless presentaron semillas rescatables (Cuadro 1). Ruby Seedless, en cambio, nor-

malmente produjo más de una semilla por baya, y éstas revelaron un alto porcentaje de embriones (entre 68,5 y 75,7), observándose la presencia de poliembiones en algunas semillas. Esto también ha sido observado en otros estudios (Notsuka *et al.*, 2001), y tiene relación con el tipo de rudimentos seminales que poseen las variedades (Figura 2).

Thompson Seedless presenta rudimentos pequeños, en cambio Ruby Seedless muestra rudimentos pequeños y medianos, por lo cual la probabilidad de tener más semillas con embriones es mayor usando Ruby Seedless como madre.

Los rendimientos obtenidos bajo las condiciones de estos ensayos fueron mejores que los indicados por otros programas de mejoramiento. García *et al.* (2000) usando Ruby Seedless como madre, no sobrepasaron el 37% de embriones por semilla cultivada, usando tres polinizantes iguales a los usados en este ensayo (Flame Seedless, Ruby Seedless y Thompson Seedless), y el porcentaje de plantas por semilla no sobrepasó el 12,7%. En Thompson Seedless este grupo prácticamente no obtuvo plantas. A diferencia de los resultados presentados por ellos, en este estudio Ruby Seedless se comportó significativamente mejor que Superior en las variables analizadas. Liu *et al.* (2003) usando las variedades Sunmuscat, Merbein Seedless y Marroo Seedless, obtuvieron un 18,1; 9,6 y 12,2% de embriones por semilla. Notsuka *et al.* (2001) observaron un fuerte efecto de la variedad sobre el rescate de embriones, el que varió entre 2,7 y 47%.

En otro estudio, Ponce *et al.* (2000) clasificaron variedades como Flame Seedless, Superior y Thompson Seedless como malas madres, en comparación con Perlón y varios genotipos locales argentinos. Sus resultados muestran estas variedades con un porcentaje menor al 5% de plantas por semilla. En las condiciones de este estudio, sólo Superior presentó un porcentaje menor de 5% de plantas por semilla al ser cruzada con Flame Seedless y Perlette. En cambio con Black Seedless, Ruby Seedless

y Thompson Seedless los porcentajes de plantas por semilla no disminuyeron del 15,5%. Ponce *et al.* (2000) demostraron un efecto de la localidad en el rendimiento de la técnica del rescate de embriones. Posiblemente ésta pueda ser una razón de los resultados obtenidos en el presente experimento, donde la temperatura y humedad en la época de floración y polinización pudieran ser más adecuadas que en otros lugares donde se realiza el rescate de embriones.

No se encontraron diferencias significativas dentro de una misma variedad en su comportamiento como madre para los parámetros analizados. Esto significa que la variedad madre siempre será buena o mala madre, independiente del polinizante usado. Así, de acuerdo a lo observado, el rendimiento de embriones rescatados por semilla y plantas obtenidas por embriones en Ruby Seedless siempre será homogéneo, resultando una "buena madre" *in vitro*. En cambio, Black Seedless se comportará siempre como "mala madre", presentando un bajo número de plantas por embriones y por semillas.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados del análisis estadístico del efecto de la variedad usada como polinizante. Con excepción de Ruby Seedless, para cada una de las restantes variedades se observaron diferencias significativas en el efecto del polinizante. Es decir, el polinizante se comportará bien o mal dependiendo de la variedad usada como madre.

En las Figuras 1 y 3 se presentan los resultados de cinco temporadas en las variables embriones rescatados por semillas sembradas y plantas obtenidas

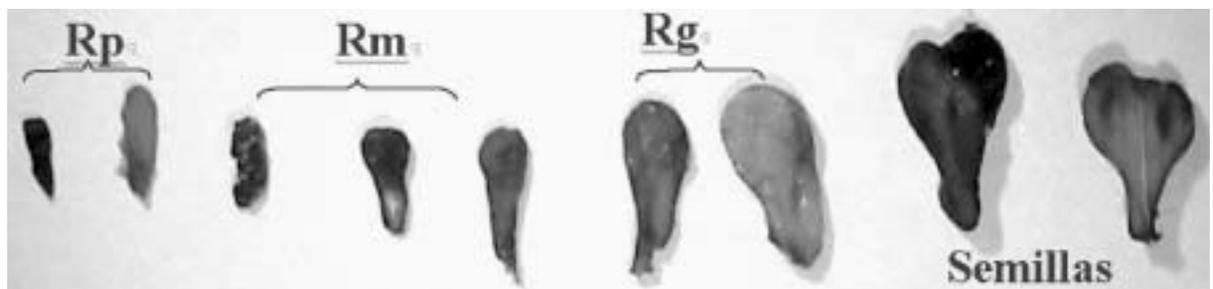


Figura 2. Clasificación de rudimentos seminales en uva de mesa: rudimentos pequeños (Rp), rudimentos medianos (Rm), rudimentos grandes (Rg) y semillas. Escala 1:5.

Figure 2. Seminal rudiment classification from table grapes: small rudiments (Rp), medium rudiments (Rm), large rudiments (Rg) and seeds. Scale 1:5.

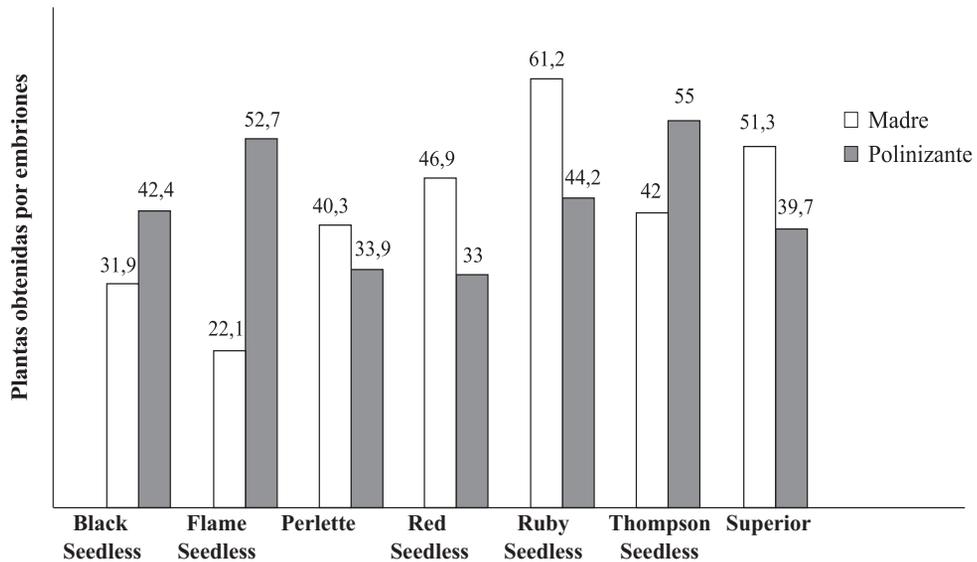


Figura 3. Porcentaje de plantas obtenidas por embriones rescatados usando una misma variedad como madre o polinizante.

Figure 3. Percentage of plantlets per rescued embryos obtained using the same variety for female or male parentages.

por embriones. Destaca claramente el efecto de la variedad usada como madre, y menos diferencias de las variedades usadas como polinizante. Igual resultado se presenta en el Cuadro 2, donde al analizar las variedades como polinizante, se aprecia una menor dispersión en las cifras obtenidas de los parámetros mostrados, a diferencia del análisis de las mismas variedades usadas como madre. Estos resultados indican que es importante no sólo considerar las características de los padres que se quieren incorporar en los descendientes, sino que también es importante elegir las variedades que serán usadas como madre para obtener un buen rendimiento en el rescate de embriones y, por lo tanto, mayor cantidad de descendientes para ser evaluados en terreno.

Los resultados indican que en el laboratorio de cultivo de tejidos de INIA CRI La Platina se puede lograr un alto rendimiento usando el rescate de embriones en la obtención de plantas segregantes. Como conclusión, se puede señalar que el mayor efecto sobre la embriocultura lo tiene la variedad usada como madre. En este estudio las siete variedades mostraron comportamientos significativamente diferentes al usarlas como madres o polinizantes. Destacó la variedad Ruby Seedless como la mejor madre de las evaluadas y Black Seedless y Superior como las peores. El comportamiento de las variedades usadas como polinizantes depende de la variedad madre usada.

RECONOCIMIENTOS

A la Srta. Isela Escudero por su colaboración esencial en el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Agüero, C., A. Viglicocco, G. Abdala, and R. Tizzio. 2000. Effect of gibberellic acid and uniconazol on embryo abortion in the stenospermocarpic grape cultivars Emperatriz and Perlon. *Plant Growth Regul.* 30:9-16.
- García, E., A. Martínez, E. García de la Calera, L.J. Pérez, J.L. Cenis, and J. Carreño. 2000. *In vitro* culture of ovules and embryos of grape for the obtention of new seedless table grape cultivars. *Acta Hort.* 528:663-666.
- Kanamadi, V.C., S.S. Joshi, R. Singh, y R. Singh. 1999. Histological and histochemical status of embryo development in open pollinated stenospermocarpic grapes (*Vitis vinifera* L.). *Adv. Plant Sci. Res. India* 10:121-129.
- Lavín, A., M. Barticevic, C. Muñoz, H. Prieto, P. Hinrichsen, y J. Valenzuela. 2000. Mejoramiento genético. 338 p. *In* J. Valenzuela (ed.). *Uva de mesa en Chile*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile.
- Liu, S.M., S.R. Sykes, and P.R. Clingeleffer. 2003. Improved *in ovulo* embryo culture for stenospermocarpic grapes (*Vitis vinifera* L.). *Aust. J. Agric. Res.* 54:869-876.
- Murashige, T., and T. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.* 15:473-497.
- Nitsch, P., and C. Nitsch. 1971. Obtaining haploid plants from pollen. *Soc. Bot. France Bull.* 117 (7/8):339-359.
- Notsuka, K., T. Tsuru, and M. Shiraishi. 2001. Seedless-seedless grape hybridization via in-ovulo embryo culture. *J. Soc. Hortic. Sci.* 70:7-15.
- Perl, A., N. Sahar, P. Spiegel-Roy, S. Gavish, R. Elyasi, E. Orr, and H. Bazak. 2000. Conventional and biotechnological approaches in breeding seedless table grapes. *Acta Hort.* 528:607-612.
- Ponce, M.T., C.B. Agüero, M.T. Gregori, and R. Tizio. 2000. Factors affecting the development of stenospermic grape (*Vitis vinifera*) embryos cultured *in vitro*. *Acta Hort.* 528:667-672.
- Ramming, D.W. 1990. The use of embryo culture in fruit breeding. *HortScience* 25:393-398.