

## Caracterización de variedades y portainjertos de vid mediante isoenzimas de los sarmientos

por

H. ALTUBE, F. CABELLO y J. M. ORTIZ

Departamento de Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, España

### Characterization of grape varieties and rootstocks by isoenzymes from woody parts

**S u m m a r y :** 22 *Vitis vinifera* cultivars and 4 rootstocks were chosen for studying of their biochemical characterization, based on the electrophoretical separation of isozymes. 7 isoenzyme systems, including acid phosphatases (ACPH), esterases (EST), catechol oxidases (CO), glutamate oxaloacetate transaminases (GOT), glucose phosphate isomerases (GPI), malate dehydrogenases (MDH) and peroxidases (PER), were extracted from woody tissue, separated in polyacrylamide gels and stained for their observation. ACPH, CO, EST, MDH and PER were the most adequate systems for characterization. The results of the different systems and the grouping of the cultivars are presented. The use of these isozyme techniques in future studies on characterization of *Vitis* genotypes is suggested.

**Key words :** ampelography, chemotaxonomy, variety of vine, rootstock, wood, analysis, enzyme, protein.

### Introducción

La caracterización de las variedades y portainjertos del Género *Vitis* ha sido una preocupación constante de los investigadores, tanto por el gran número de tipos existentes, como por las dificultades que presenta, dado el valor económico de las mismas.

La ampelografía clásica ha sido y es el método más utilizado para la caracterización de las variedades y portainjertos de vid (VIALA y VERMOREL 1902—1910; GALET 1985) y se basa fundamentalmente en una serie de descripciones de caracteres fenotípicos (color, aspecto, forma) de los órganos de la planta (yemas, hojas, bayas ...), que pueden estar fuertemente influenciados por las condiciones del medio ambiente (DETTWEILER 1987). Más recientemente se han comenzado a utilizar diferentes compuestos bioquímicos, particularmente proteínas e isoenzimas, que son expresión directa del genoma de la planta (CRAWFORD 1983) y por lo tanto menos influenciados por el medio. La caracterización bioquímica ofrece cada vez más datos complementarios a la caracterización ampelográfica.

Las diferentes técnicas electroforéticas nos permiten identificar las variedades y portainjertos de vid a partir de hojas (DAL BELIN PERUFFO 1981; RAJASEKARAN y MULLINS 1983; BENIN *et al.* 1985, 1988; ARULSEKAR y PARFITT 1986; WALTERS *et al.* 1989; WALTERS 1989); de bayas maduras (DRAWERT y MÜLLER 1973; WOLFE 1976; NAKAMURA *et al.* 1981); o de polen (SAMAAN y WALLACE 1981; STAVRAKAKIS y LOUKAS 1983, 1985; CARGNELLO *et al.* 1988; AHMEDULLAH y WOLFE 1981).

Cualquiera de los órganos de la planta puede ser utilizado como fuente de isoenzimas, presentando cada uno de ellos sus ventajas e inconvenientes. El sarmiento es uno de estos órganos, al cual se le ha prestado poca atención, a pesar de que presenta grandes posibilidades (PLAKIDA y DOKUCHAEVA 1983; SUBDEN *et al.* 1987; BACHMANN 1989).

El presente trabajo propone un método sencillo y práctico para la caracterización de variedades y portainjertos de vid, mediante extractos de sarmientos en estado de reposo, completándose el estudio con un análisis multivariante de los resultados que nos permite establecer relaciones entre los tipos estudiados.

## Material y metodos

### Material vegetal

El material vegetal utilizado procede de la colección de vides del Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia, de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid. Se seleccionaron 4 portainjertos y 22 variedades de mesa y vinificación con algunos de sus clones (Cuadro 1).

### Métodos analíticos

Se estudiaron las isoenzimas fosfatasa ácida (ACPH) (E.C. 3.1.3.2); esterasas (EST) (E.C. 3.1.1.6); catecol oxidasas (CO) (E.C. 1.10.3.1), glutamato oxalacetato transaminasas (GOT) (E.C. 3.1.3.2); glucosa fosfato isomerasas (GPI) (E.C. 5.3.1.9); malato dehidrogenasas (MDH) (E.C. 1.1.1.37) y peroxidasas (PER) (E.C. 1.11.1.7.).

Los muestreos se efectuaron entre los meses de octubre a diciembre. Los extractos se obtuvieron homogeneizando 1 g de tejido vegetal fresco con 7 ml de tampón de extracción. Tris-citrato de pH 8,0 (ARULSEKAR y PARFITT 1986) y 0,30 g de PVPP durante 90 s en un homogeneizador Polytron (Kinemática). La electroforesis se realizó en gel de acrilamida de tres capas (gel de muestra 4 %; gel de separación 6,3 % y gel de resolución 10 % de acrilamida), para todas las isoenzimas estudiadas, excepto para MDH, en la que se utilizó un gel de dos capas (siendo la de resolución del 12 % de acrilamida). Se colocaron en cada pocillo entre 80 y 140 µl de extracto crudo.

La electroforesis se realizó a 4 °C y a una intensidad de 2 mA por pocillo durante la primera media hora para continuar luego a 3 mA por pocillo. Se utilizó un tampón de electrodos de pH 8,6 (Tris 6 g, Glicocola 28,8 g completando a 2 l con agua destilada).

Para la tinción de los geles se siguieron las propuestas por BREWER y SING (1971), salvo para fosfatasa ácida que se utilizó la propuesta por SCHWENNESEN *et al.* (1982).

Una vez obtenidos los zimogramas se procedió a la elaboración de los esquemas correspondientes. Se aplicó un análisis estadístico de los datos mediante el programa 'Numerical Taxonomy System' (NTSYS) en un ordenador personal IBM-PS2.

## Resultados y discusión

En los esquemas de zimogramas de las ACPH se observó una zona superior de actividad enzimática, con las bandas 1 a 12, con mayores posibilidades para distinguir los cultivares. La presencia de algunas bandas es muy constante (1, 3, 4, 8) y por el contrario otras, como la banda 2, sólo aparece en Rupestris du Lot (28), la 6 en Alicante Bouschet (12), la 9 en Pedro Ximénez (22), la 11 en Rosetti (9) y la 12 en Rosetti (9) e Italia (4). La presencia de estas bandas es muy útil para la caracterización de dichas variedades y portainjertos. La zona inferior presenta en todos los cultivares las bandas 13 y 15, sólo 110 R (27) presenta la banda 14. Las variedades Parellada (21), Cabernet Sauvignon (13, 14), Cariñena (18), Garnacha (16, 17, 18), Malvasía (19), Palomino (20), Ruby Cabernet (23) y el patrón 110 R (27), presentan el mismo modelo enzimático. Un segundo modelo se observa en las variedades Cardinal (2), Emperador (3), Moscatel de

Cuadro 1

Relación de variedades, clones y portainjertos incluidos en el estudio

List of the varieties, clones and rootstocks included in the study

OTU	Nombre común	Tipo	Nº de referencia en Banco de Germoplasma	Vivero de procedencia
<b>Variedades de mesa</b>				
1	Alfonso Lavallée	T	A-M-2-1	1
2	Cardinal	T	A-M-4-1	1
3	Emperador	T	A-M-5-1	1
4	Italia	B	A-M-7-1	1
5	Moscatel de Alejandría	B	A-M-8-1	1
6	Moscatel de Hamburgo	T	A-M-9-1	1
7	Perlette	B	A-M-10-1	1
8	Red Málaga	T	A-M-16-1	4
9	Rosetti	T	A-M-14-1	1
10	Ruby Seedless	B	A-M-15-1	1
11	Thompson Seedless	B	B-M-21-1	2
<b>Variedades de vinificación</b>				
12	Alicante Bouschet	T	E-V-1-1	4
13	Cabernet Sauvignon	T	A-V-4-1	1
14	Cabernet Sauvignon	T	B-V-4-1	2
15	Cariñena	T	A-V-3-1	1
16	Garnacha	T	E-V-9-3	4
17	Garnacha	T	E-V-9-4	4
18	Garnacha	T	A-V-9-1	1
19	Malvasía	B	B-V-12-1	2
20	Palomino	B	D-V-17-1	3
21	Parellada	B	B-V-18-1	2
22	Pedro Ximénez	B	A-V-19-1	1
23	Ruby Cabernet	T	B-V-20-1	2
24	Tempranillo	T	A-V-26-1	1
25	Tempranillo	T	Maxi-51	
26	Xarello	B	B-V-29-1	2
<b>Portainjertos</b>				
27	110R		B-P-1-1	2
28	Rupestris du Lot		A-P-7-1	1
29	41B		A-P-3-1	1
30	SO4		A-P-4-1	1

OTU = unidades taxonómicas operacionales.

T = tintas; B = blancas.

Viveros: 1 = Agrar S. A.; 2 = Agro 2001 S. A.; 3 = La Cartuja (Sevilla);

4 = Selecciones de *Vitis* de Jerez.

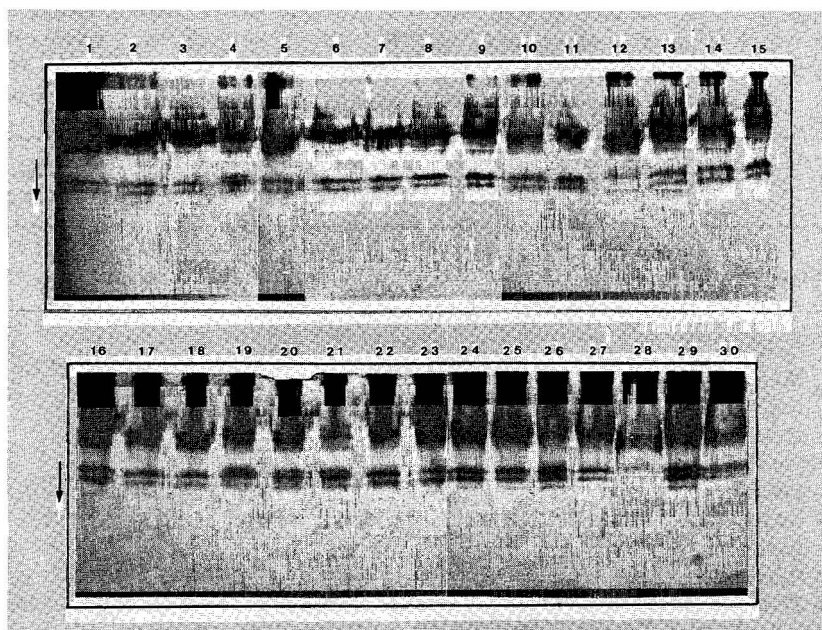


Fig. 1: Zimograma de las PER de las diferentes variedades y portainjertos de *Vitis*. Números de la fila superior: variedades y portainjertos, como en el Cuadro 1. Ver texto para explicaciones.

Zymogram of PER from different *Vitis* varieties and rootstocks. Top numbers: varieties and rootstocks as in Table 1. For explanation see text.

Hamburgo (6), Perlette (7) y Red Málaga (8). Este sistema enzimático nos permite caracterizar algunas variedades, por lo que es útil para nuestro objetivo.

En las CO el número de bandas para cada variedad es bajo, pero hay grandes diferencias entre ellas, es decir, diversos perfiles. Los clones de Cabernet Sauvignon (13, 14), los clones de Garnacha (16, 17, 18) y de Tempranillo (24, 25) no presentan diferencias intraclonales, así como los portainjertos 110 R (27) y Rupestris du Lot (28). También se encuentran perfiles iguales en Cardinal (2) y Emperador (3); en Moscatel de Alejandría (5), Perlette (7) y Red Málaga (8); y en Rosetti (9), Thompson Seedless (11), Malvasía (19) y Palomino (20).

Los esquemas de los zimogramas de las EST se caracterizan por el alto número de bandas, que aunque suministran un aspecto complicado para su análisis, proporcionan mucha información. La zona de mayor interés para la caracterización es la inferior, con las bandas 3 a 23. No es posible distinguir los clones de Cabernet Sauvignon (13, 14), ni de Garnacha (16, 17, 18), pero sí aparece una ligera diferencia en los clones de Tempranillo (24, 25). La banda 11 sólo aparece en Italia (4). Prácticamente cada cultivar presenta un modelo característico, salvo Perlette (7) y Red Málaga (8); Palomino (20) y Malvasía (19) y los portainjertos 110 R (27) y Rupestris du Lot (28). Ello hace que este sistema isoenzimático sea de marcado interés para la caracterización.

Los esquemas de los zimogramas de GOT presentan dos zonas de actividad, una superior con las bandas 1 a 6 y otra inferior con las bandas 7 a 10. La banda 1 sólo aparece en Rosetti (9), la banda 6 en Alicante Bouschet (12), la banda 7 en SO 4 (30) y Palomino (20) y las bandas 4 y 10 en 110 R (27), lo que las hace interesantes para la caracterización de dichas variedades y portainjertos. Aparecen dos modelos fundamentales que agrupan a la mayoría de las variedades: el primer modelo formado por las bandas

C u a d r o 2 a

Matriz de datos cualitativos de las bandas isoenzimáticas  
Qualitative data matrix for the isoenzyme bands

B(y)	V A R I E D A D E S															P O R T A I N J E R T O S (z)																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30													
<b>ACPR</b>																																											
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
4	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
5	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1				
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1			
7	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1			
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
12	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
<b>CO</b>																																											
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0		
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
7	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Z) Los números corresponden con los de la Tabla 1.  
(Y) B = número de banda isoenzimática.

2, 3, 5, 8 y 9 incluye Alfonso Lavallée (1), Italia (4), Red Málaga (8), Thompson Seedless (11), Cariñena (15), Tempranillo (24, 25), Pedro Ximénez (22), Garnacha (16, 17, 18), Malvasía (19) y Parellada (21). El segundo modelo formado por las bandas 2, 3, 8 y 9 incluye Cardinal (2), Emperador (3), Moscatel de Alejandría (5), Moscatel de Hamburgo (6), Ruby Seedless (10), Xarello (26), Ruby Cabernet (23) y Cabernet Sauvignon (13, 14). Los portainjertos presentan cada uno perfil diferente. Esta isoenzima, por presentar pocos modelos, tendrá una menor importancia para la caracterización.

Las GPI presentan un reducido número de bandas, con una zona superior muy uniforme, destacando la presencia de la banda 2, sólo presente en Xarello (26) y una zona inferior con las bandas 3 a 8 con diferencias entre algunos cultivares. No se distin-

Cuadro 2 b

		VARIETADES Y PORTAINJERTOS (z)																															
B(y)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
<b>BST</b>																																	
1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
2		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	
4		0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
5		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
6		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1		
7		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
8		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1		
9		1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
10		1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
11		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
12		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0		
13		1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0		
14		0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
15		0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
16		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
17		1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
18		0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
19		0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
20		1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
21		0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
22		1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
23		0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
24		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
<b>GOT</b>																																	
1		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2		1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
3		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	
4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5		1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
8		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
9		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

guen los clones de Cabernet Sauvignon (13, 14) ni de Tempranillo (24, 25), pero sí aparece una diferencia en uno de los clones de Garnacha (16). Un modelo con las bandas 1, 5 y 7 reagrupa las siguientes variedades: Alfonso Lavallée (1), Cardinal (2), Emperador (3), Italia (4), Red Málaga (8), Rosetti (9), Ruby Seedless (10), Cabernet Sauvignon (13, 14), Cariñena (15), Garnacha (17, 18), Malvasía (19), Palomino (20), Parellada (21), Ruby Cabernet (23) y Tempranillo (24, 25). La presencia de pocos modelos hace que esta isoenzima no resuelva de modo preciso la caracterización.

En los zimogramas de las MDH se observan dos zonas de actividad, la superior con las bandas 1 a 5 y la inferior con las bandas 6 a 16 en donde se encuentran las mayores diferencias. La banda 1 sólo aparece en los portainjertos 110 R (27) y 41 B (29), la 3 en Perlette (7) y la banda 4 en Ruby Seedless (10), Malvasía (20) y en los portainjertos 110 R (27) y SO 4 (30). Se presentan un alto número de modelos, con muy pocas bandas

Cuadro 2 c

		VARIETADES Y PORTAINJERTOS(x)																																
B(y)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30			
<b>GPI</b>																																		
1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0			
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0			
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1		
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
5	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
<b>MD</b>																																		
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1		
5	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0		
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
11	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
13	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
14	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
15	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>PER</b>																																		
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
2	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0		
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1		
4	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1		
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
6	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
10	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	

cada uno, lo que facilita la interpretación de los resultados, que son de interés para la caracterización. Los clones de Cabernet Sauvignon (13, 14) y Garnacha (16, 17, 18) presentan cada uno el mismo modelo, observándose una ligera diferencia entre los clones de Tempranillo (24, 25). Por su parte, los portainjertos tienen cada uno un perfil diferente. Se presentan algunos modelos que reagrupan variedades: Alfonso Lavallée (1), Cardinal (2), Emperador (3), Italia (4), Moscatel de Alejandría (5), y Red Málaga (8) por un lado; otro modelo con Garnacha (16, 17, 18) y Palomino (20) y por último Alicante Bouschet (12), Cabernet Sauvignon (13, 14) y Cariñena (15) en otro grupo.

Las PER (Fig. 1), presentan dos zonas de actividad, la superior con las bandas 1 a 5 y la inferior con las bandas 6 a 10. En ambas zonas se presentan bandas muy constan-

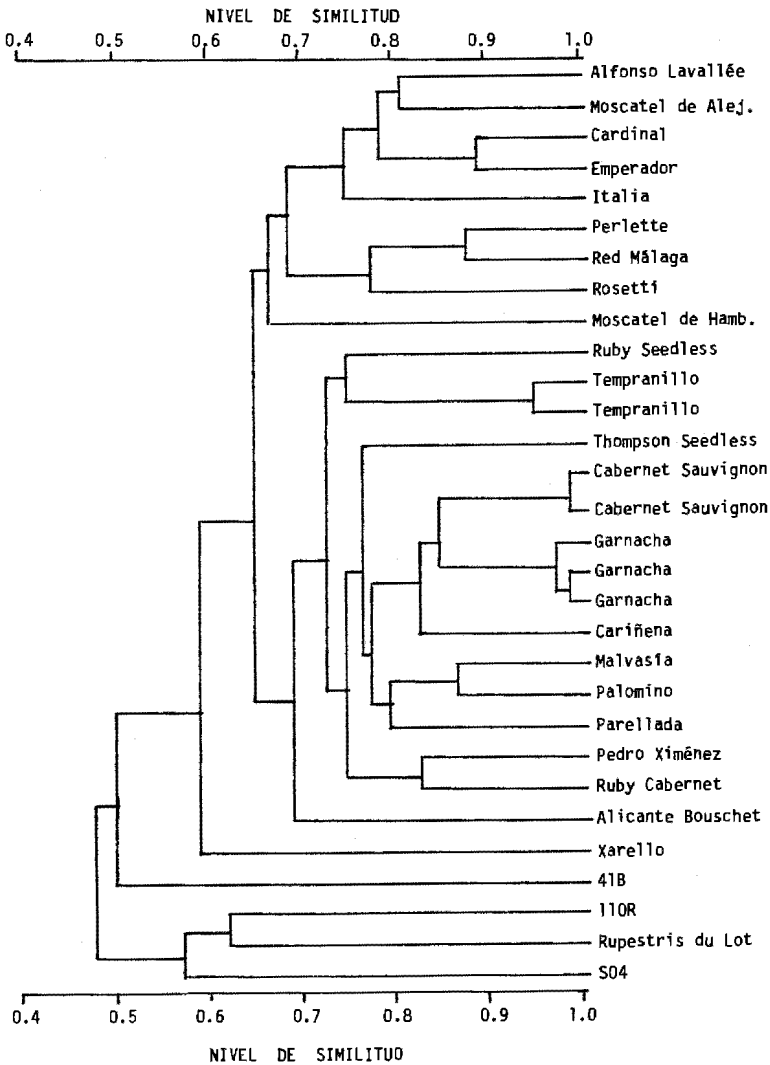


Fig. 2: Dendrograma de agrupación de las OTU (Unidades Taxonómicas Operacionales) mediante los sistemas isoenzimáticos analizados.

Dendrogram of OTU (Operational Taxonomic Units) grouping based on the analyzed isoenzyme systems.

tes y otras muy erráticas, como la banda 5 que sólo aparece en Xarello (26) y la 7 en SO 4 (30). No es posible distinguir los clones, y por el contrario los portainjertos presentan cada uno un modelo diferente. Se dan varios modelos de una gran simplicidad, lo que las hace útiles para la caracterización.

En el Cuadro 2 se muestra la matriz de datos correspondiente a los sistemas enzimáticos estudiados.

El dendrograma resultante de la agrupación de los distintos sistemas enzimáticos (Fig. 2), muestra un escalonamiento bastante gradual de las ramas formadas, pero con



algunas subdivisiones en las mismas. Se presenta una rama con nivel de semejanza de 0,67 en donde se ubican la mayoría de las variedades de mesa y otra rama con nivel de semejanza de 0,69 con casi todas las variedades para vinificación. Los clones de Cabernet Sauvignon (13, 14) y los de Garnacha (17, 18) se unen a niveles de similitud 1, lo que dice de su semejanza genética e incluso la posibilidad de que se trate del mismo clon. Las variedades Alfonso Lavallée (1) y Moscatel de Alejandría (5) aparecen unidas a nivel de semejanza de 0,80 con Cardinal (2) y Emperador (3); esto puede explicarse por ser Cardinal (2) un cruzamiento entre Alfonso Lavallée (1) y Flame Tokay. Las variedades apirenas Thompson Seedless (11) y Ruby Seedless (10) se separan ligeramente del grupo de las variedades de mesa, pero se unen a un nivel de semejanza de 0,75, lo que demuestra su relación genética. Los portainjertos se separan claramente de las variedades. El 110 R (27) y Rupestris du Lot (28) forman una rama con nivel de semejanza de 0,60, lo que puede explicarse por tener ambos un parental común. Por su parte, 41 B (29) y SO 4 (30), que tienen un parental común, que es *V. berlandieri*, quedan más separadas entre sí.

### Conclusiones

Las isoenzimas son un instrumento válido para la caracterización de variedades y portainjertos de vid. El sarmiento es un órgano apropiado para este tipo de estudios por estar disponible durante un largo período del año, por ser una buena fuente de isoenzimas, por su facilidad para la conservación, por su bajo contenido en fenoles y por su gran estabilidad enzimática. De los sistemas isoenzimáticos estudiados, los que presentan mayores posibilidades para la caracterización son las ACPH, CO, EST, MDH, y PER, dado el número de modelos que cada uno de ellos presentan. Por su parte, GPI y GOT sólo permiten hacer grandes grupos con los tipos estudiados. Los portainjertos generalmente presentan cada uno un modelo característico, y contrariamente, es difícil distinguir los clones estudiados. El análisis multivariante de los datos, evidencia las relaciones genéticas en aquellas variedades y portainjertos en que éstas son conocidas.

### Resumen

Para el estudio se eligieron 22 cultivares de *Vitis vinifera* y 4 portainjertos de vid. Se llevó a cabo la caracterización bioquímica basada en la separación electroforética de isoenzimas. Los sistemas isoenzimáticos estudiados fueron: fosfatasa ácida (ACPH), esterasas (EST), catecol oxidasas (CO), glutamato oxalacetato transaminasas (GOT), glucosa fosfato isomerasas (GPI), malato dehidrogenasas (MDH) y peroxidasas (PER). La separación de extractos de sarmientos se llevó a cabo en gel de poliacrilamida, con posterior tinción específica para los distintos sistemas enzimáticos. ACPH, CO, EST, MDH y PER fueron los sistemas más adecuados para caracterización. Se presentan los resultados de los diferentes sistemas y la agrupación de cultivares. Se recomienda el uso de las técnicas isoenzimáticas en los estudios que se lleven a cabo para caracterización en el género *Vitis*.

### Bibliografía

- AHMEDULLAH, M.; WOLFE, H. W.; 1981: Starch gel electrophoresis of grape pollen. HortScience 16, 426 (Abstr.No. 201).

- ARULSEKAR, S.; PARFITT, D. E.; 1986: Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio and fig. *HortScience* **21**, 928—933.
- BACHMANN, O.; 1989: Isoenzymes as a tool for grape cultivar identification. *Riv. Viticolt. Enol.* **42** (1), 27—31.
- BENIN, M.; GASQUEZ, J.; BESSIS, R.; LABROCHE, C.; 1985: Laboratory tests to evaluate the enzymatic and morphological variability of the vine. Moët-Hennessey. *Coll. Amélioration de la Vigne et Culture in Vitro*, **28**.
- — —; MAHFOUDI, A.; BESSIS, R.; 1988: Caractérisation biochimique des cépages de *Vitis vinifera* L. par électrophorèse d'isoenzymes foliaires: Essai de classification des variétés. *Vitis* **27**, 157—172.
- BREWER, G. J.; SINGH, C. F.; 1971: *Introduction to Isozyme Techniques*. Academic Press, New York.
- CARGNELLO, G.; GLANAZZA, E.; TEDESCO, G.; CAPPELLA, M.; GEROLA, F. M.; 1988: Wall proteins of *Vitis vinifera* pollen. I. Constancy of the phenotype. *Vitis* **27**, 47—55.
- CRAWFORD, D. J.; 1983: Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. In: TANKSLEY, S. D. ORTON, T. J. (Eds.): *Isozymes in Plant Genetic and Breeding. Part A*, 257—287. Elsevier, Amsterdam.
- DAL BELIN PERUFFO, A.; VARANINI, Z.; MAGGIONI, G.; 1981: Caractérisation d'espèces, variétés et clones de vigne au moyen de l'électrophorèse d'extraits enzymatiques des feuilles. 3e Symp. Intern. Sélection Clonale de la Vigne, Venise, 8—12 Juin 81, 31—40.
- DETWELLER, E.; 1987: Ein Modell zur Unterscheidbarkeit von Rebsorten mit Hilfe blattmorphologischer Merkmale. *Diss. Univ. Hohenheim*.
- DRAWERT, F.; MÜLLER, W.; 1973: Über die elektrophoretische Differenzierung und Klassifizierung von Proteinen. II. Dünnschicht-isoelektrische Fokussierung von Proteinen aus Trauben verschiedener Rebsorten. *Z. Lebensm.-Untersuch. -Forsch.* **153**, 204—212.
- GALET, P.; 1985: *Précis d'Ampélographie Pratique*. Imprimerie Paul Dehan, Montpellier.
- NAKAMURA, K.; AMANO, Y.; KAGAMI, M.; 1981: Electrophoretic patterns of polyphenol oxidase from Koshu and Muscat Bailey A grapes. *J. Inst. Enol. Viticult. Yamanashi University* **16**, 15—20.
- PLAKIDA, E. K.; DOKUCHAEVA, E. N.; 1983: Differences in the composition of protein complexes of grape parent forms and their hybrids. *Fiziol. Biokhim. Kul't. Rast.* **15**, 39—42.
- RAJASEKARAN, K.; MULLINS, M. G.; 1983: The origin of embryos and plantlets from cultured anthers of hybrid grapevines. *Amer. J. Enol. Viticult.* **34**, 108—113.
- SAMAAN, L. G.; WALLACE, D. H.; 1981: Taxonomic affinities of 5 cultivars of *Vitis vinifera* L. as aided by serological analysis of pollen proteins. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **106**, 804—809.
- SCHWENNESEN, J.; MIELKE, E. A.; WOLFE, W. H.; 1982: Identification of seedless table grape cultivars and a bud sport with berry isozymes. *HortScience* **17**, 366—368.
- STAVRAKAKIS, M.; LOURAS, M.; 1983: The between and within-grape cultivars genetic variation. *Sci. Hort.* **19**, 321—334.
- — —; 1985: Identification of grape cultivars by pollen isozyme polymorphism. *Agricult. Res.* **9**, 347—357.
- SUBDEN, R. E.; KRIZUS, A.; LOUGHEED, S. C.; CAREY, K.; 1987: Isozyme characterization of *Vitis* species and some cultivars. *Amer. J. Enol. Viticult.* **38**, 176—181.
- VIALA, P.; VERMOREL, V.; 1902—1910: *Ampélographie*. Masson Ed., Paris.
- WALTERS, T. W.; 1989: Understanding grape (*Vitis*, Vitaceae) cultivar phylogenies. *Econ. Bot.* (in press).
- — —; POLUSZNY, U.; KEVAN, P. G.; 1989: Isozyme analysis of the grape (*Vitis*). I. A practical solution. *Can. J. Bot.* **67**, 2894—2899.
- WOLFE, W. H.; 1976: Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. *Amer. J. Enol. Viticult.* **27**, 68—73.

Recibido 12 Febrero 1991

Correspondencia a:

Dr. JESÚS M. ORTIZ  
 Departamento de Biología Vegetal  
 E.T.S. Ingenieros Agrónomos  
 Ciudad Universitaria  
 E-28040 Madrid  
 España