

Osservazioni sulla meiosi in cellule madri del polline di *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera) diploide e tetraploide ¹⁾

di

G. ME, S. SACERDOTE e R. VALLANIA

Investigations on meiosis in pollen mother cells of diploid and tetraploid *Vitis vinifera* L. cv. Barbera

S u m m a r y. — The different stages of meiosis have been investigated in diploid and mutated *Vitis vinifera* cv. Barbera (a tetraploid and a periclinal chimera $2n-4n$) concerning the pollen mother cells.

Some incidence of anomalous coupling in both mutants has been pointed out, and tetrads with extra grains can be observed at the end of meiosis.

Pollen grains from mutated plants have generally 4 pores and show with respect to the control a reduced germinability.

Introduzione

La riduzione della fertilità dei poliploidi è strettamente legata ad alterazioni della meiosi, che portano alla formazione di gameti anomali.

Questo fenomeno è stato osservato sia su poliploidi spontanei (RIVES e POUGET 1959, TODOROV e DIMITROV 1980), che su poliploidi ottenuti sperimentalmente per incrocio (GOLODRIGA e KIREEVA 1977).

Accanto alle turbe meiotiche è stata indicata come probabile causa fisiologica della ridotta fertilità del polline la diminuzione del rapporto superficie/volume nelle cellule di piante tetraploidi (STAUDT e KASSRAWI 1972 b).

Un'altra particolarità del polline dei mutanti tetraploidi è la presenza di 4 pori in percentuale elevata (WAGNER 1957) o nella totalità dei casi (TODOROV e DIMITROV 1980).

Nel presente lavoro è stato osservato l'andamento della microsporogenesi in due mutanti già precedentemente descritti (SACERDOTE *et al.* 1981, VALLANIA *et al.* 1982).

Materiali e metodi

Sono stati eseguiti prelievi periodici di racemi, a partire dalla metà di maggio fino ai primi giorni di giugno.

Le piante oggetto dell'indagine sono un ceppo di Barbera diploide e due mutanti di Barbera individuati come una chimera periclinal del tipo $2n-4n$ (contrassegnato dal no. 31) e un tetraploide (indicato col no. 37).

Tali piante sono state ottenute da talee irraggiate nel 1971 con raggi γ alla dose di 3 kR presso il laboratorio ENEA della Casaccia (Roma).

L'osservazione delle varie fasi della meiosi è avvenuta su preparati ottenuti per schiacciamento seguendo la metodologia già utilizzata per gli apici radicali (BOUQUET 1978).

¹⁾ Pubblicazione no. 128 del Centro Miglioramento Genetico Vite.

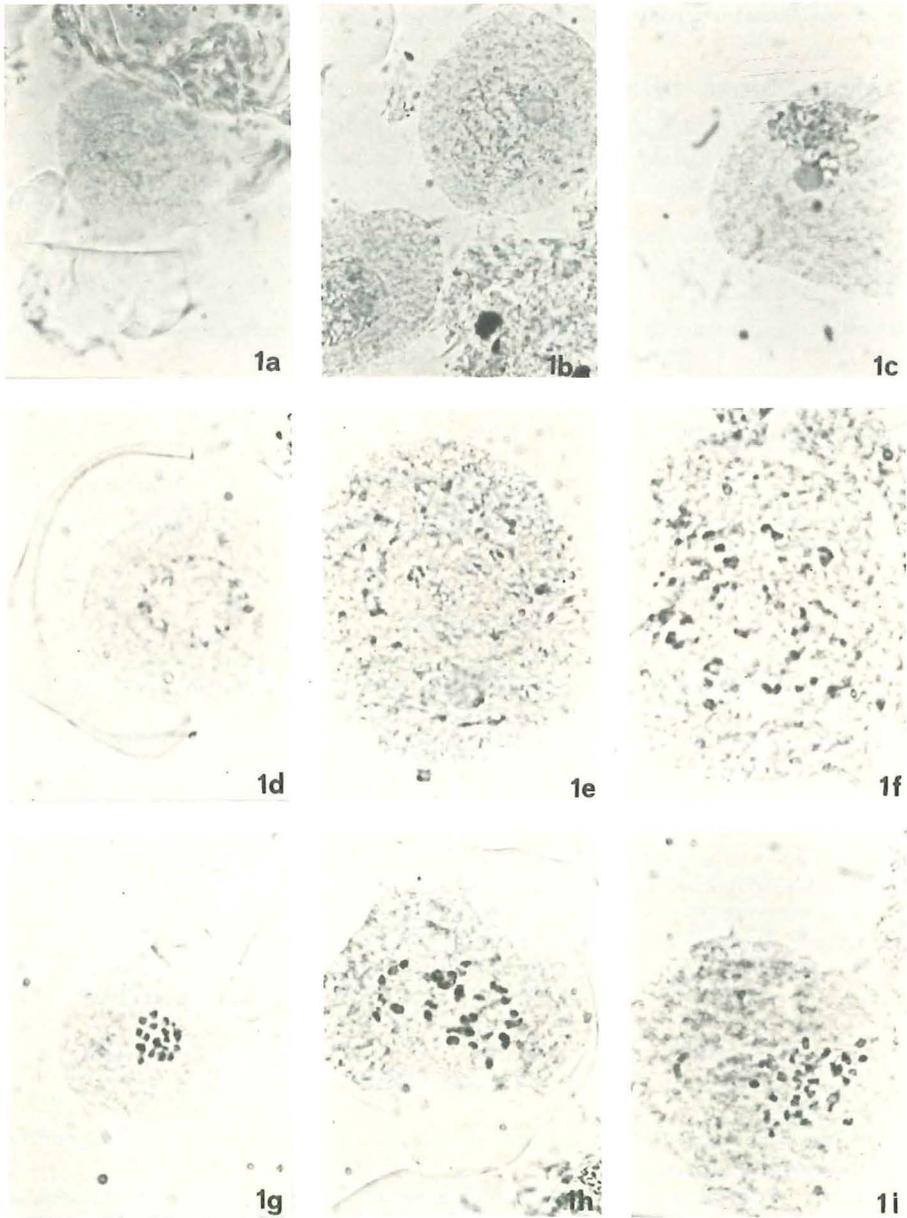
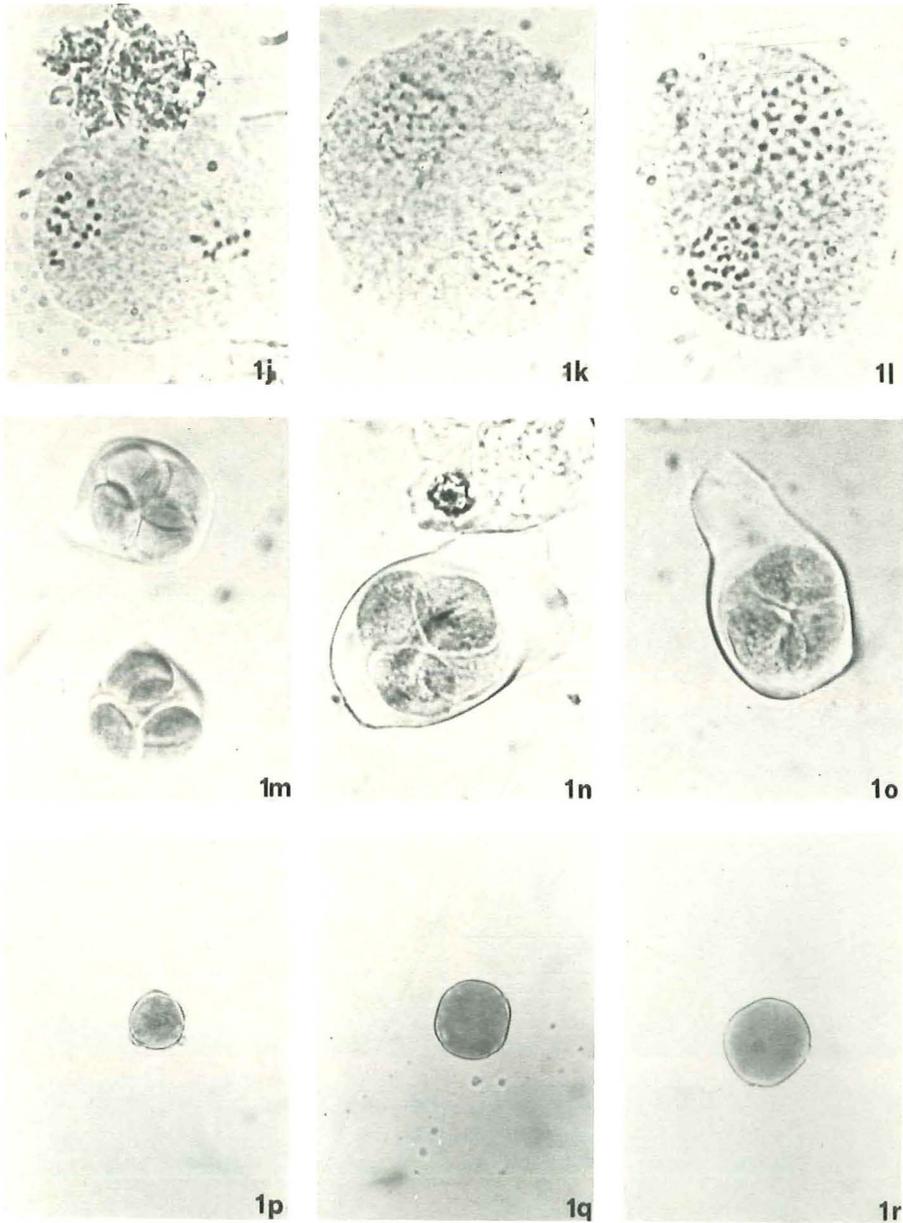


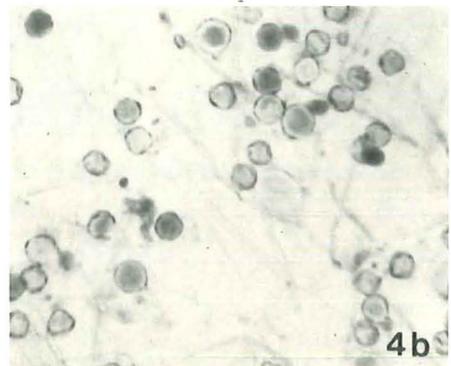
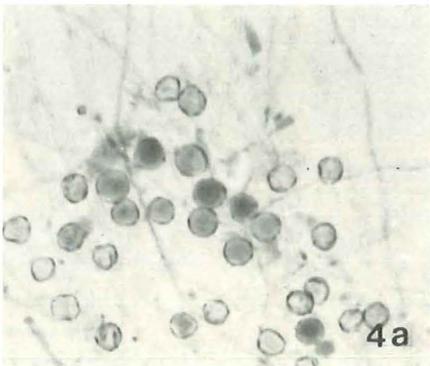
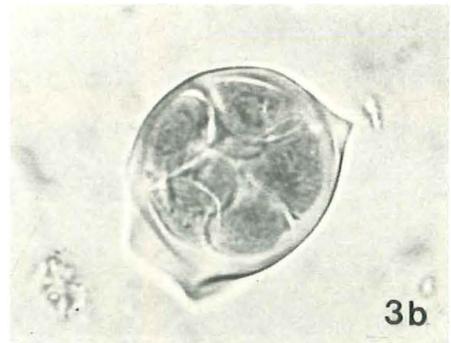
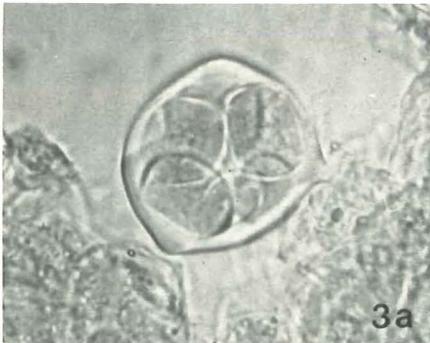
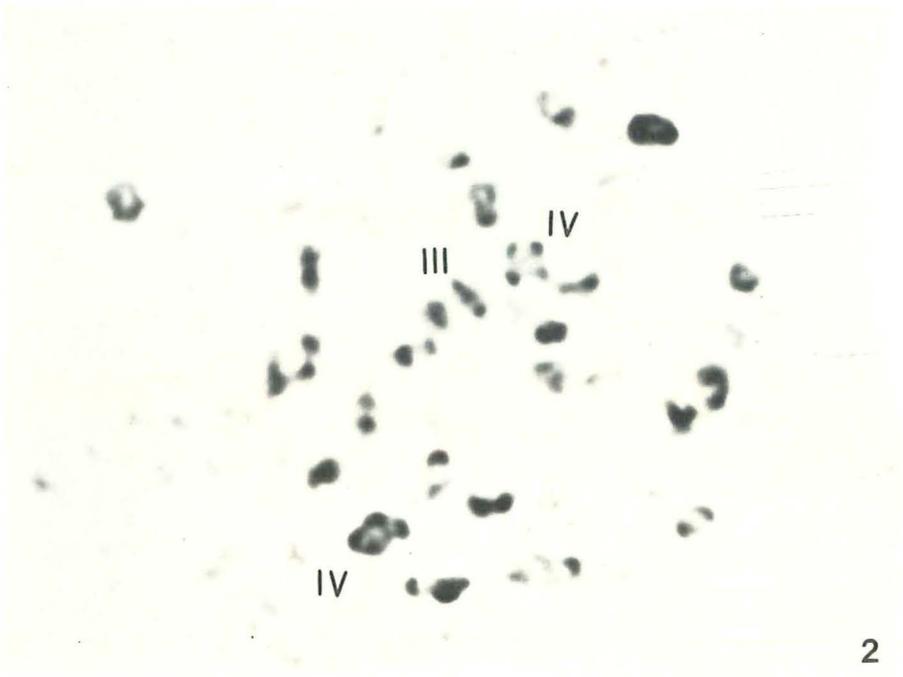
Fig. 1: Svolgimento della meiosi nelle cellule madri del polline in Barbera testimone e mutato.

		Test (2n)	31 (chimera 2n—4n)	37 (4n)
Leptotene	(x 1 300)	1 a	1 b	1 c
Diacinesi	(x 1 300)	1 d	1 e	1 f
Metafase I	(x 1 300)	1 g	1 h	1 i
Metafase II	(x 1 300)	1 j	1 k	1 l
Tetradi	(x 750)	1 m	1 n	1 o
Granuli pollinici	(x 750)	1 p	1 q	1 r



The meiosis in pollen mother cells of diploid (control) and mutated variety Barbera.

		Test (2n)	31 (chimera 2n—4n)	37 (4n)
Leptotene	(× 1 300)	1 a	1 b	1 c
Diakinesis	(× 1 300)	1 d	1 e	1 f
Metaphase I	(× 1 300)	1 g	1 h	1 i
Metaphase II	(× 1 300)	1 j	1 k	1 l
Tetrads	(× 750)	1 m	1 n	1 o
Pollen grains	(× 750)	1 p	1 q	1 r



I grappolini vengono fissati in Carnoy, dopo un trattamento di 1 h in α -monobromoaftalina a temperatura ambiente.

I vetrini sono stati ottenuti per schiacciamento in carminacetico, dopo aver eseguito la colorazione di Feulgen.

La vitalità del polline è stata valutata in base alla colorabilità dei granuli con carminacetico. I conteggi sono stati effettuati su 10 campi di 10 diversi vetrini.

Per valutare la percentuale di germinazione, è stato utilizzato polline prelevato nel mese di giugno, al momento della deiscenza delle antere, incubato alla temperatura di 27 °C su una soluzione zuccherina al 20 % in gel di agar, alla quale è stato aggiunto acido borico alla dose di 10 ppm (BAMZAI e RANDHAWA 1967).

Risultati

Lo svolgimento della meiosi nella pianta diploide e nelle piante mutate è illustrato nella Fig. 1.

Mentre nel testimone è stato possibile individuare, nella maggior parte dei casi, 19 bivalenti in diacinesi, in entrambe le piante mutate si sono osservate, accanto ai bivalenti, delle figure anomale, costituite da più di due cromosomi.

Tali formazioni, presenti in percentuale variabile dal 10 al 15 %, sono dovute alla presenza nei tetraploidi di 4 cromosomi omologhi in grado di appaiarsi; esse erano già state osservate da STAUDT e KASSRAWI (1972 a) su Riesling tetraploide.

Circa le modalità di appaiamento è possibile individuare la formazione di tri- e tetravalenti accanto ai bivalenti normali già partire dalla diacinesi; essi si rendono comunque ben evidenti alla metafase I (Fig. 2).

Le fasi successive hanno uno svolgimento normale e nella metafase II non sono stati evidenziati cromosomi ritardatari.

Si giunge così alla formazione delle tetradi che, nelle piante mutate, a volte presentano granuli di polline soprannumerari (Fig. 3).

Tali anomalie sono da attribuirsi, presumibilmente, alla presenza di univalenti (STAUDT e KASSRAWI 1972 a).

I granuli pollinici così formati risultano di dimensioni significativamente maggiori nelle piante mutate, rispetto al testimone; presentano inoltre nella maggior parte dei casi, 4 pori, invece dei 3 tipici della specie (Tabella 1).

L'osservazione del polline alla deiscenza delle antere ha messo in evidenza, rispetto al polline diploide, una vitalità più accentuatamente ridotta nella pianta 37 che nella pianta 31.

Per quanto riguarda la germinabilità è stata notata una riduzione, rispetto al testimone, di circa il 50 % nella pianta tetraploide, e di circa il 30 % nella chimera. I dati relativi alla vitalità e alla germinabilità sono riassunti nella Tabella 2.

Fig. 2: Pianta 37 (4n); metafase I. Sono visibili raggruppamenti cromosomici anomali ($\times 5\ 300$).

Fig. 3: Tetradi con granuli di polline soprannumerari: a) Pianta 31, b) pianta 37 ($\times 900$).

Fig. 4: Polline germinato *in vitro*: a) Pianta 31, b) pianta 37 ($\times 150$).

Fig. 2: Plant 37 (4n); in the metaphase I a few anomalous chromosomal groups are to be seen ($\times 5\ 300$).

Fig. 3: Tetrads with extra pollen grains: a) Plant 31, b) plant 37 ($\times 900$).

Fig. 4: *In vitro* germinated pollen: a) Plant 31, b) plant 37 ($\times 150$).

Tabella 1

Caratteristiche dei granuli pollinici della pianta testimone e delle piante mutate · Test di significatività secondo Duncan: Medie seguite dalle stesse lettere non differiscono significativamente tra loro · Lettere maiuscole per $P = 0,01$, lettere minuscole per $P = 0,05$

Features of pollen grains of diploid and mutated plants · Duncan's significance test: Mean values within rows followed by the same letters are not significantly different · Capital letters for $P = 0,01$, small letters for $P = 0,05$

	Diametro dei granuli pollinici (μm)	Granuli pollinici con 3 pori (%)	Granuli pollinici con 4 pori (%)
Test	24,07 Bb	100,0	0
31	33,35 Aa	7,4	92,6
37	33,93 Aa	5,1	94,9

Tabella 2

Percentuali di vitalità e germinabilità del polline alla fioritura · Test di significatività secondo Duncan: Medie seguite dalle stesse lettere non differiscono significativamente tra loro · Lettere maiuscole per $P = 0,01$, lettere minuscole per $P = 0,05$

Percent pollen viability and germinability at blossom · Duncan's significance test: Mean values within rows followed by the same letters are not significantly different · Capital letters for $P = 0,01$, small letters for $P = 0,05$

	Granuli vitali	Granuli non vitali	Granuli germinati	Granuli non germinati
Test	95,5 Aa	4,5	85,0 Aa	15,0
31	90,6 ABb	9,4	62,8 ABb	37,2
37	84,8 Bc	15,2	42,5 Bc	57,5

Discussione

L'osservazione dell'andamento della meiosi nelle cellule madri del polline nelle piante mutate ha messo in rilievo la presenza abbastanza diffusa di figure anomale al momento dell'appaiamento dei cromosomi omologhi.

Tale fatto ha come conseguenza la formazione di granuli non vitali in maggior percentuale rispetto al testimone, ma in misura meno elevata che in altre cultivar tetraploidi precedentemente descritte (STAUDT e KASSRAWI 1972 b).

Il polline in grado di germinare non sembra presentare anomalie nell'emissione del budello pollinico che alla 24^a h di germinazione risulta allungato e ben formato (fig. 4).

Le alterazioni nella meiosi che porta alla formazione delle microspore non sarebbero quindi sufficienti a giustificare la scarsa produttività e il ridotto numero di vinaccioli riscontrato sia nella chimera che nella pianta tetraploide.

Resta pertanto da verificare l'ipotesi che questi fenomeni dipendano da anomalie insorte a livello della macrosporogenesi.

Riassunto

Sono state osservate in Barbera diploide e mutato (tetraploide e chimera periclinal $2n-4n$) le varie fasi della meiosi a partire dalle cellule madri del polline fino alla formazione del polline stesso.

E' stata evidenziata una certa incidenza di appaiamenti anomali in entrambi i mutanti e, al termine della meiosi, si sono potuti osservare tetradi con granuli soprannumerari.

Il polline delle piante mutate, presentante per lo più 4 pori, possiede una capacità germinativa ridotta rispetto al testimone.

Bibliografia

- BAMZAI, R. D. and RANDHAWA, G. S., 1967: Effects of certain growth substances and boric acid on germination, tube growth and storage of grape pollen (*Vitis* spp.). *Vitis* **6**, 269—277.
- BOUQUET, A., 1978: Méthode de dénombrement chromosomique dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes* **28**, 251—255.
- GOLODRIGA, P. I. et KIREEVA, L. K., 1977: Particularités cytogénétiques des formes polyploïdes de vigne. II^e Symp. Intern. Amélior. Vigne, Bordeaux, 14—18 juin; 33—36.
- RIVES, M. et POUGET, R., 1959: Le Chasselas Gros Coulard. Mutant tétraploïde. *Vitis* **2**, 1—7.
- SACERDOTE, S., VALLANIA, R., RADICATI, L. e ME, G., 1981: Osservazioni su due casi di poliploidia indotta in *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera). *Vitis* **20**, 335—340.
- STAUDT, G. und KASSRAWI, M., 1972 a: Die Meiosis von di- und tetraploidem *Vitis vinifera* „Riesling“. *Vitis* **11**, 89—98.
- — und — —, 1972 b: Die Pollenfertilität di- und tetraploider Reben. *Vitis* **11**, 269—279.
- TODOROV, I. and DIMITROV, B., 1980: Studies on chimeric plants of the grapevine (*Vitis vinifera* L., cultivar Bolgar). *Vitis* **19**, 317—320.
- VALLANIA, R., RADICATI, L., SACERDOTE, S., ME, G., 1982: Rilievi sul comportamento vegetativo e produttivo di due ceppi mutati di «Barbera». *Vignevini* **9** (10), 23—27.
- WAGNER, E., 1957: Über das Auftreten von Pollenkörnern mit abnormer Keimporenzahl bei der Weinrebe. *Vitis* **1**, 9—13.

Eingegangen am 28. 12. 1983

G. ME
Istituto di Frutticoltura
Industriale dell'Università
Via Ormea 99
Torino
Italia

S. SACERDOTE
R. VALLANIA
Centro di Studio per il
Miglioramento Genetico della Vite
del Consiglio Nazionale delle Ricerche
Via P. Giuria 15
Torino
Italia