

Centro di Studio per il Miglioramento Genetico della Vite, CNR, Torino, Italia

Osservazioni su due casi di poliploidia indotta in *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera)¹⁾

di

S. SACERDOTE, R. VALLANIA, L. RADICATI e G. ME

Investigations on two cases of induced polyploidy in *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera)

S u m m a r y . — The authors describe cytological and histological aspects of two grapevine plants, cv. Barbera, previously irradiated with Co⁶⁰ and showing polyploid phenotype.

The number of chromosomes in the root tip cells, the two first meristematic layers of wintering buds, the size of pollen grains, stomata, and epidermal cells of berries were investigated.

The results show that one of them is a tetraploid grape, while the other was found to be a 2n—4n periclinal chimera.

Introduzione

Casi di poliploidia spontanea nella vite sono stati descritti da diversi Autori. OLMO (1935) ha identificato nella Sultanina ceppi caratterizzati da grappoli e acini di dimensioni maggiori del normale e ha ottenuto incroci da tetraploidi naturali della Concord (OLMO e KOYAMA 1962).

SCHERZ (1940) descrive casi di poliploidia nel Moselriesling, GARGIULO (1957) nel Barbera, RIVES e POUGET (1959) nello Chasselas, TODOROV e DIMITROV (1980) nel Bolgar.

Tali mutanti si differenziano dai vitigni diploidi per la presenza di tralci con elevato vigore vegetativo, internodi raccorciati, foglie lacinate ed ispessite, aperture stomatiche e granuli pollinici più grandi (OLMO 1942, 1952).

Caratteristiche diverse rispetto alla cultivar di origine si evidenziano anche quando la poliploidia non interessa i primi due strati dell'apice meristematico della gemma, ma soltanto uno di essi: è il caso delle chimere periclinali del tipo 2n—4n individuate da THOMSON e OLMO (1963) e da STAUDT (1973).

Nel presente lavoro vengono descritti due ceppi di Barbera, individuati a Chieri (Torino), di cui alcuni caratteri, tralci grossi, internodi raccorciati, foglie ispessite, lacinate e molto tomentose, grappoli con acini e raspi ingrossati, fecero ritenere che si trattasse di individui poliploidi.

Materiali e metodi

Le piante esaminate, contrassegnate dai numeri 31 e 37, sono situate in un vigneto costituito con materiale irradiato a scopo mutageno dal Prof. P. ROMISONDO con Co⁶⁰ nel 1971. L'irraggiamento, alla dose di 3 kR, fu eseguito presso il Laborato-

¹⁾ Pubblicazione no. 95 del Centro Miglioramento Genetico Vite.

rio CNEN della Casaccia (ROMA) su marze di 2 gemme, successivamente innestate su 420 A. Il sistema di potatura adottato fu il Guyot semplice.

Per verificare se si trattava di piante interamente poliploidi o di chimere sono stati presi in considerazione, secondo quanto già descritto da THOMPSON e OLMO (1963), i seguenti caratteri:

1. dimensioni del polline;
2. dimensioni delle cellule stomatiche;
3. dimensioni delle cellule degli strati epidermico e subepidermico delle gemme;
4. diametro trasverso delle cellule dell'epidermide della bacca;
5. numero dei cromosomi;
6. peso degli acini;
7. peso dei vinaccioli.

Analoghi controlli sono stati contemporaneamente eseguiti su una pianta testimone.

Dimensioni del polline. — L'osservazione è stata effettuata su preparati ottenuti per schiacciamento e colorati con carminacetico. E' stato misurato il diametro di 50 granuli per tesi.

Dimensioni delle cellule stomatiche. — La pagina inferiore delle foglie è stata rivestita da una pellicola di collodio per ottenere impronte che sono state poi osservate al microscopio ottico e misurate (50 stomi per tesi).

Dimensioni delle cellule degli strati epidermico e subepidermico nelle gemme. — Le gemme ibernanti sono protette da un fitto strato di peli che rende difficile la penetrazione dei reagenti necessari per la fissazione e l'inclusione. E' stato perciò necessario un pre-trattamento con NaOH 8 N per 4—5 d prima della fissazione in Navashin; le gemme sono state quindi incluse in paraffina sottovuoto, sezionate allo spessore di 12 μm e colorate con la reazione PAS. Sono state esaminate 10 gemme per tesi.

Dimensioni delle cellule dell'epidermide della bacca. — Essendo gli acini costituiti da un tessuto ricco d'acqua e quindi facilmente deformabile con i normali procedimenti di inclusione, si è resa necessaria la disidratazione a freddo secondo il metodo JONA e FOA (1977), modificazione del metodo congelamento-sostituzione (JENSEN 1962).

Le sezioni, dello spessore di 10 μm , eseguite sul piano equatoriale, sono state colorate colla reazione PAS. E' stato quindi misurato il diametro trasverso delle cellule dell'epidermide (50 per tesi).

Conteggio dei cromosomi. — E' stato effettuato su cellule di apici radicali ottenuti da talee legnose tenute a temperatura costante di +22 °C. Gli apici, previamente posti in α -monobromonaftalina (BOUQUET 1978) per 1 h a temperatura ambiente e quindi fissati in Carnoy, sono stati colorati col metodo di Feulgen. Per favorire la dissociazione del tessuto si è eseguito un trattamento con pectinasi 1 % per 1 h prima di allestire i preparati mediante schiacciamento con carminacetico.

Peso degli acini. — La misura è stata effettuata su 100 bacche raccolte a completa maturità.

Peso dei vinaccioli. — Sono stati pesati singolarmente 50 vinaccioli per tesi.

Risultati

Nelle piastre metafasiche delle cellule di apici radicali in mitosi sia della pianta 31 che della pianta 37 sono stati contati 76 cromosomi (Fig. 4 e 6). Nel testimone risultavano 38 come di norma (Fig. 2).

Per definire l'entità della mutazione, se cioè erano interessati entrambi gli strati ($4n-4n$) o se si trattava di una chimera ($2n-4n$), sono state quindi osservate sezioni di gemme. In esse i due strati di cellule più superficiali presentano dimensioni diverse nelle tre piante (Fig. 1, 3 e 5): nella 37 infatti entrambi gli strati hanno cellule di dimensioni maggiori rispetto al testimone; nella pianta 31 lo strato più superficiale è costituito da cellule di dimensioni simili a quelle del testimone, mentre lo strato sottostante ha cellule ingrossate analoghe a quelle della pianta 37.

Gli stomi nella pianta 37 hanno dimensioni significativamente maggiori (livello di significatività $P = 0,01$) rispetto al testimone, mentre quelli della pianta 31 risultano significativamente più piccoli del testimone stesso ($P = 0,01$). Analogo andamento si è riscontrato nella misurazione del diametro trasverso delle cellule dell'epidermide della bacca. Tali strutture, come è noto, derivano dal primo strato (epidermico) dell'apice meristematico della gemma.

Per quanto riguarda i derivati dello strato meristematico sottostante, in entrambi i mutanti i granuli pollinici risultano significativamente più grandi di quelli del testimone e inoltre il peso medio di 100 acini e di 50 vinaccioli è significativamente maggiore ($P = 0,01$) del testimone per entrambe le piante mutate (Tabella).

Discussione

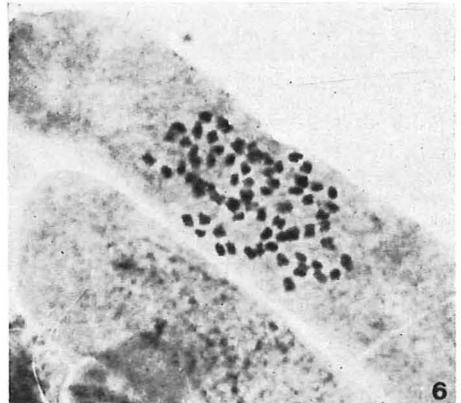
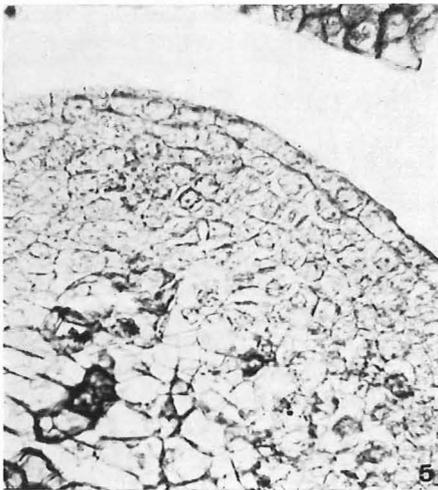
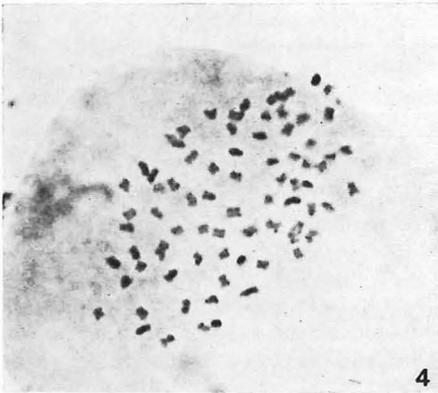
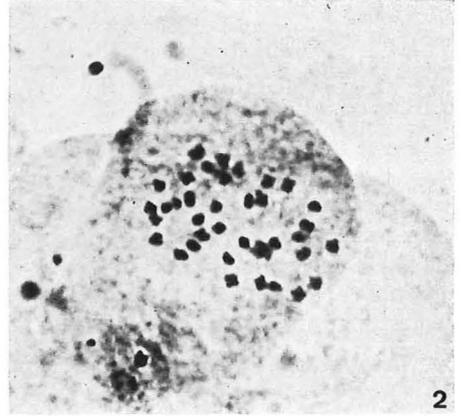
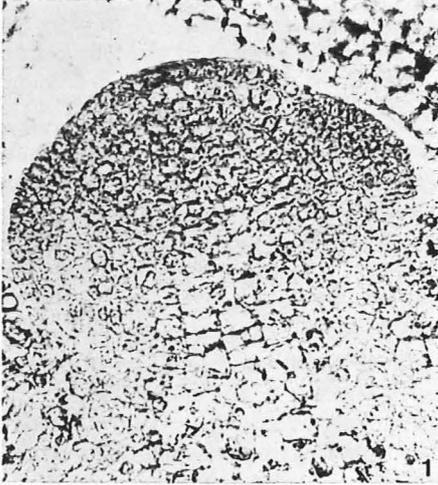
L'osservazione delle piastre metafasiche di cellule in mitosi negli apici radicali ha confermato l'ipotesi iniziale di tetraploidia indotta in entrambe le piante osservate, almeno per quanto riguarda lo strato subepidermico. Ciò concorda anche con l'osservazione degli altri derivati dello strato interno presi in considerazione.

I granuli pollinici sia della pianta 31 che della pianta 37 sono risultati infatti significativamente maggiori del polline normale, (ma non presentano significative differenze fra loro), ed analoghi risultati ha dato l'elaborazione dei dati riguardanti il peso medio degli acini e dei vinaccioli.

Le dimensioni delle cellule nei due strati delle gemme dimostrano tuttavia che, mentre nella pianta 37 la mutazione è totale, nella 31 è mutato solo lo strato più interno. Questa deve ritenersi pertanto una chimera periclinale del tipo $2n-4n$.

La diversa situazione dei due mutanti relativamente allo strato epidermico trova in effetti riscontro nei derivati di esso esaminati, vale a dire negli stomi e nelle cellule dell'epidermide degli acini, entrambi significativamente più piccoli nella pianta chimerica che nella pianta interamente tetraploide.

Il fatto poi che gli stomi della pianta 31 siano più piccoli (in modo altamente significativo) anche di quelli del testimone concorda con quanto osservato da TONOROV e DIMITROV (1980): essi attribuiscono tale effetto a un'azione inibitrice sui derivati del primo strato da parte del tessuto tetraploide sottostante. Tale azione può spiegare anche i valori minori ottenuti nella misurazione del diametro trasverso delle cellule epidermiche nella bacca della pianta 31 rispetto a quelle del testimone.



Caratteristiche citologiche e cariologiche dei derivati degli strati epidermico e subepidermico nel testimone e nei due mutanti (cv. Barbera) · Test di significatività secondo Duncan: medie seguite dalle stesse lettere non differiscono significativamente tra loro · Lettere maiuscole per $P = 0,01$, lettere minuscole per $P = 0,05$

Cytological and caryological features in the derivatives of the 1st and 2nd layer of cv. Barbera control plant and the two mutants · Duncan significance test: mean values followed by the same letters are not significantly different · Capital letters for $P = 0.01$, small letters for $P = 0,05$

	Test	P.ta 31	P.ta 37
Derivati dello strato epidermico			
Stomi (lunghezza in μm)	18,47 Bb	15,31 Cc	23,9 Aa
Cellule dell'epidermide dell'acino (diametro trasverso in μm)	28,71 Bb	23,43 Cc	35,55 Aa
Derivati dello strato subepidermico			
Polline (diametro in μm)	24,07 Bb	33,35 Aa	33,93 Aa
Acini (peso medio in g)	2,52 Bb	3,69 Aa	3,72 Aa
Vinaccioli (peso medio in g)	0,029 Bb	0,042 Aa	0,044 Aa
Apici radicali (conteggio del numero di cromosomi)	38	76	76

Riassunto

Vengono descritti gli aspetti citologici ed istologici di due viti cv. Barbera irrigate con Co^{60} e presentanti fenotipo poliploide.

Le analisi compiute hanno riguardato il conteggio dei cromosomi negli apici radicali, l'osservazione degli strati epidermico e subepidermico delle gemme iber-

Fig. 1 e 2: Apice meristematico di gemma ibernante mostrante lo strato epidermico e subepidermico (Fig. 1: $\times 500$) e piastra metafasica in un apice radicale in mitosi (Fig. 2: $\times 2300$) osservati nella pianta diploide (cv. Barbera).

Fig. 3 e 4: Analoghi preparati ottenuti dalla pianta 37, tetraploide (Fig. 3: $\times 500$ Fig. 4: $\times 2300$).

Fig. 5 e 6: Le stesse strutture, osservate nella pianta 31, chimera periclinal 2n—4n (Fig. 5: $\times 500$; Fig. 6: $\times 2300$).

Fig. 1 and 2: Diploid grapevine (cv. Barbera): meristematic apex of a wintering bud showing the epidermal and subepidermal layers (Fig. 1: $\times 500$) and the chromosomes in root tip cells during the metaphase (Fig. 2: $\times 2300$).

Fig. 3 and 4: The same histological features in the vine no. 37, a tetraploid plant (Fig. 3: $\times 500$; Fig. 4: $\times 2300$).

Fig. 5 and 6: The same histological features in the vine no. 31, a periclinal 2n—4n chimera (Fig. 5: $\times 500$; Fig. 6: $\times 2300$).

nanti, dei granuli pollinici, degli stomi, delle cellule dell'epidermide degli acini.

Da tali osservazioni è emerso che un individuo è totalmente tetraploide, mentre il secondo è una chimera periclinale del tipo $2n-4n$.

Ringraziamento

Si ringraziano B. DONINI e P. MANINO, del Laboratorio CNEN della Casaccia (Roma), e P. ROMISONDO per i preziosi consigli forniti.

Bibliografia

- BOUQUET, A., 1978: Méthode de dénombrement chromosomique dans le genre *Vitis*. Ann. Amélior. Plantes 28, 251—255.
- GARGIULO, A., 1957: Mutación espontánea tetraploide en Barbera d'Asti. *Vitis* 1, 156—158.
- JENSEN, W. A., 1962: Botanical histochemistry. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London.
- JONA, R. and FOA, E., 1977: Histochemical determination of polysaccharides in fruit pulp cell walls. *Cytologia* 42, 495—500.
- OLMO, H. P., 1935: Bud mutation in the *vinifera* grape. II. Sultanina gigas. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 33, 437—439.
- —, 1942: Breeding new tetraploid grape varieties. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 41, 225—227.
- —, 1952: Breeding tetraploid grapes. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 59, 285—290.
- — and KOYAMA, A., 1962: Niabell and Early Niabell. Calif. Agricult. Exp. Sta. Bull. 790, 3—10.
- RIVES, M. et POUGET, R., 1959: Le Chasselas Gros Coulard — mutant tétraploïde. *Vitis* 2, 1—7.
- SCHERZ, W., 1940: Über somatische Genommutanten der *Vitis-vinifera*-Varietät „Moselriesling“. Der Züchter 12, 212—225.
- STAUDT, G., 1973: Ploidiechimären bei europäischen *Vitis-vinifera*-Sorten. *Vitis* 12, 89—92.
- THOMPSON, M. M. and OLMO, H. P., 1963: Cytohistological studies of cytochimeric and tetraploid grapes. Amer. J. Bot. 50, 901—906.
- TODOROV, I. and DIMITROV, B., 1980: Studies on chimeric plants of the grapevine (*Vitis vinifera* L., cultivar Bolgar). *Vitis* 19, 317—320.

Eingegangen am 4. 8. 1981

Dr. S. SACERDOTE
Ist. Coltiv. Arboree dell'Università
Via P. Giuria 15
Torino
Italia

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

Dr. L. RADICATI
Prof. G. ME
Ist. di Frutticoltura Industriale
dell'Università
Via Ormea 99
Torino
Italia