



Mónica E. Guiñazú ²
María T. Ponce ²
Javier Guzmán ²
Daniel E. Juárez ²
Miguel A. Cirrincione ²

MICROPROPAGACIÓN DE VID. PROTOCOLO PARA VARIEDADES "CRIOLLAS" ¹

GRAPE MICROPROPAGATION. A PROTOCOL FOR "CRIOLLAS" VARIETIES

Originales

Recepción: 26/04/2005

Aceptación: 09/08/2005

RESUMEN

Las variedades europeas han sido micropropagadas eficientemente a partir de estacas uninodales en el medio Galzy (1964) modificado; sin embargo las "criollas" no han presentado un buen crecimiento en ellos. Se trabajó con las variedades "criollas" de vid: Cereza, Criolla Chica, Criolla Grande, Pedro Giménez y Torrontés Riojano. Los medios evaluados fueron Murashige Skoog (MS) (1962) y Galzy (1964) modificado (GM), enteros o con macro y micronutrientes diluidos a la mitad, solidificados y líquidos y se emplearon dos tipos de explantos: estacas uninodales y ápices. También se probaron dos tipos de soportes para los explantos en medios líquidos. Si bien se observaron diferencias según el genotipo, en medio sólido el porcentaje de plantas crecidas no se vio afectado por el tipo de explanto utilizado en la siembra, presentando mayor crecimiento las plantas provenientes de ápices y las cultivadas en medio MS ½. Al trabajar con medios líquidos, con esponja vegetal como soporte de los explantos, las plantas no prosperaron. Con puente de papel los mejores resultados se obtuvieron cultivando ápices en medio MS ½. Los resultados sugieren que el mejor medio para micropropagar estas variedades de vid a partir de ambos tipos de explantos es MS ½ sólido.

SUMMARY

European grape varieties are efficiently micropropagated through single node cuttings in modified Galzy medium (GM). On the contrary, the "criollas" varieties have not performed well in this medium. The purpose of this work was to evaluate the "criollas" varieties Cereza, Criolla Chica, Criolla Grande, Pedro Giménez and Torrontés Riojano, in full and half strength modified Galzy (GM) and Murashige-Skoog (MS) solid and liquid media. Paper bridges and vegetal sponge were evaluated in liquid media. Nodal segments and shoot tips were used as initial explant. In solid media, differences in survival were found between varieties but explant type did not affect this variable. Plants from shoot tips and both explants in MS ½ grew significantly more than in the rest of the treatments. In liquid medium, vegetal sponge was detrimental for both explants. With paper bridge support the best result was obtained with shoot tips cultured in ½ MS. The results suggest that the best medium for the micropropagation of "criollas" grape varieties from both explants is solid MS ½ medium.

- 1 Trabajo financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Cuyo, Proyecto N° 06/A204: *Técnicas de cultivo in vitro aplicadas al mejoramiento genético, a la micropropagación y al estudio fisiológico de la vid (2002-2004)*.
- 2 Dpto. de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo. Alte. Brown 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB. ccea@fca.uncu.edu.ar

Palabras clave

Vitis sp. • vid • variedades "criollas" • micropropagación • medios de cultivo

Key words

Vitis sp. • grape • "criollas" grape varieties • micropropagation • culture media

INTRODUCCIÓN

En Argentina, además de las variedades tradicionales europeas hay un grupo de variedades llamadas localmente "argentinas" o "criollas" debido a que algunas de ellas también se cultivan en otros países de Sudamérica. Las variedades "criollas": Cereza, Criolla Grande, Criolla Chica, Pedro Giménez, Moscatel Rosado, y el Torrontés Riojano, Torrontés Mendocino y Torrontés Sanjuanino representan el 50 % del área total cultivada con vid en la Argentina (14). Estas variedades se originaron de las europeas pero presentan diferencias ampelográficas (1) y genotípicas (18) comparadas con las variedades europeas actuales. Las mismas se destinan principalmente a la elaboración de vinos de mesa y sobresalen por su productividad, vigor y adaptación a condiciones desfavorables (1).

El cultivo *in vitro* es una técnica extremadamente útil para una rápida introducción de nuevos clones, propagación y mantenimiento de plantas libres de virus, para la conservación de germoplasma y estudios fisiológicos (21). En vid el primer trabajo de cultivo *in vitro* fue el de Morel en 1948 (2).

Galzy (5) propone para el cultivo *in vitro* de yemas de vid un medio compuesto por los macronutrientes de Knop diluidos a la mitad, los micronutrientes de Berthelot y seis vitaminas del grupo B. En trabajos posteriores varían las concentraciones de potasio y amonio determinando que la relación K/NH_4 más favorable para la emisión y crecimiento de las raíces es de 7 (6, 7). En 1985 Galzy (8) describe un medio donde la solución mineral de Knop empleada en un principio es modificada por el agregado de amonio y el aumento de los tenores en nitrato y potasio, proponiendo medios para el cultivo *in vitro* de la vid a corto y largo plazo.

En trabajos locales, Martínez y Tizio (16) micropropagaron las variedades Chardonnay, Pinot Noir, Pinot Blanc, Thompson Seedless, Cabernet Sauvignon, Chenin y Riesling realizando la brotación de las estacas uninodales en medio de Murashige .Skoog (20) diluido a la mitad adicionado con 0.5 mg.L^{-1} de ácido giberélico (AG_3) y 1 mg.L^{-1} de bencilaminopurina (BAP) y el enraizamiento de los brotes originados en el medio descrito por Martínez et al. (15). En un trabajo posterior, los mismos autores (17) concluyeron que la eficiencia de propagación *in vitro* está altamente condicionada por el genotipo.

Numerosos investigadores han reportado variabilidad para la micropropagación entre variedades de *Vitis vinifera* (3, 5, 9, 10, 17, 22), como así también variabilidad en la embriogénesis somática y la respuesta al agregado de antibióticos (22). Varias especies del género *Vitis* han sido propagadas por microestacas en medios simples (5, 6, 10, 22) o con la presencia de reguladores del crecimiento (3, 19).

Finalmente, en la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNCuyo, las variedades europeas han sido multiplicadas eficientemente a partir de estacas uninodales en el medio Galzy (5) modificado con $(\text{NH}_4\text{NO}_3$ 320 mg.L^{-1} , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 0.025 mg.L^{-1} y una décima parte de las vitaminas) (GM) adicionado con 0.01 mg.L^{-1} de biotina y ácido naftalenacético (ANA) 0.005 mg.L^{-1} . Sin embargo, las variedades "criollas" no han presentado un buen crecimiento en él.

Como el cultivo *in vitro* de estacas uninodales se caracteriza principalmente por el uso de medios de cultivo carentes de reguladores del crecimiento (2), el objetivo de este trabajo fue determinar el medio de cultivo más adecuado para la micropropagación de variedades "criollas" de vid sin el agregado de reguladores del crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con las variedades "criollas" de vid: Cereza, Criolla Chica, Criolla Grande, Pedro Giménez y Torrontés Riojano. Para el establecimiento de los cultivos se emplearon plantas de 45 días, originadas a partir de estacas uninodales cultivadas *in vitro* en medio GM adicionado con 0.01 mg.L^{-1} de biotina y ANA 0.005 mg.L^{-1} , medio usado para la multiplicación de variedades europeas a partir de estacas uninodales.

La utilización de plantas multiplicadas *in vitro* para iniciar el ensayo tiene la ventaja de ser menos engorrosa y contar con material de mayor uniformidad que el proveniente de campo o invernáculo (13). Los medios evaluados fueron Murashige Skoog (MS) (20) y Galzy (5) modificado (GM), enteros o con macro y micronutrientes diluidos a la mitad, adicionados de 30 g.L^{-1} de sacarosa y solidificados con 7.5 g.L^{-1} de agar agar. El pH de los medios se ajustó a 5.9 antes del autoclavado. Se colocaron 20 ml de medio de cultivo por tubo de ensayo de 150 mm de alto por 20 mm de diámetro y se esterilizaron durante 15 minutos a 121 °C en autoclave.

Además, para cada variedad y medio de cultivo se emplearon dos tipos de explantos: estacas uninodales (provenientes del nudo basal de las plántulas empleadas para la siembra del ensayo) y ápices (yema apical con la primera hoja expandida). El ensayo comprendió cinco variedades de vid, dos tipos de explantos y cuatro medios de cultivo. El diseño experimental fue de parcelas completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento; cada parcela consistió en un tubo de ensayo con una planta. El ensayo se repitió dos veces.

En un segundo y tercer ensayo se trabajó con las mismas variedades, explantos y medios de cultivo pero sin el agregado de agar. A los efectos de evaluar distintos soportes físicos para el cultivo en medios líquidos, se utilizaron trozos de mesocarpo de esponja vegetal (*Luffa acutangula* Roxb) y puente de papel de filtro.

Luego de 48 días a 16 horas de luz, 100 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ y 25 °C \pm 1 °C, se evaluó el porcentaje de explantos que crecieron, número de nudos, longitud del tallo, número de raíces, longitud de las raíces, peso seco de las hojas, tallo y raíces y contenido relativo de clorofila de las hojas. Se consideró como planta crecida a todo explanto que reinició su crecimiento originando al menos un nudo. La determinación del contenido relativo de clorofila se llevó a cabo con el medidor de clorofila Minolta modelo SPAD-502 .

Se realizó el análisis de la varianza de los datos para cada una de las variedades y posteriormente la comparación múltiple de medias según el test de Tukey para un nivel de significancia de 0.05.

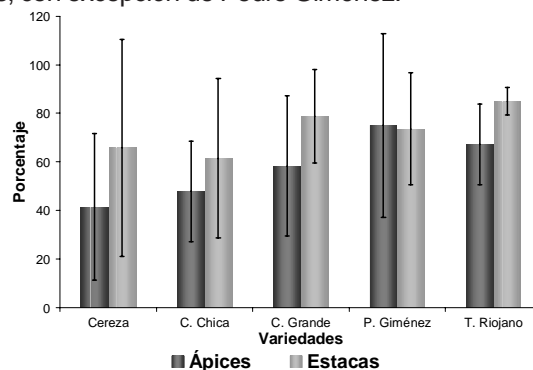
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Medios sólidos

En el análisis estadístico de los datos sólo se observó interacción entre medio de cultivo y tipo de explanto sembrado para las variables número de nudos, número de raíces y longitud de raíces en Criolla Grande, y de número de nudos y longitud de tallo para Pedro Giménez, por lo que se presenta el resultado de la comparación de medias para medio de cultivo y explanto independientemente.

En la figura 1 se representa el porcentaje promedio de plantas crecidas según el tipo de explanto sembrado, con las correspondientes desviaciones estándares. Se observa que el tipo de explanto utilizado en la siembra no afectó significativamente el porcentaje de plantas crecidas. Yu y Meredith (24) reportan en ocho cultivares de *Vitis vinifera* (Cabernet Sauvignon, Cardinal, Chardonnay, Chenin Blanc, Italia, Pinot Noir, White Riesling y Zinfandel) que la tasa de sobrevivencia es superior a partir de yemas axilares que a partir de ápices. En el presente trabajo, si bien no se obtuvieron diferencias significativas, se observó una tendencia similar: el porcentaje de plantas crecidas a partir de estacas uninodales fue un 10 a 20 % mayor que a partir de ápices, con excepción de Pedro Giménez.

Figura 1. Porcentaje de plantas crecidas de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* a partir de dos tipos de explantos, promedio de los cuatro medios ensayados.



Las plantas provenientes de ápices presentaron mayor número de nudos que las originadas a partir de estacas, con excepción de Cereza y Criolla Chica donde las diferencias no fueron significativas. El contenido de clorofila no se vio afectado por el tipo de explanto sembrado y la longitud de tallo de las plantas provenientes de ápices fue superior a la de las plantas originadas de estacas uninodales. Sólo en Criolla Grande, las plantas que crecieron a partir de ápices originaron más raíces y de mayor longitud que las provenientes de estacas (tabla 1, pág. 97).

Las plantas originadas de ápices presentaron mayor longitud de tallo, peso seco de planta (PS de hojas, PS de tallo y PS de raíces) y PS por hoja, que las plantas provenientes de estacas, con excepción de Criolla Chica, donde el tipo de explanto no afectó ninguno de los parámetros evaluados (tabla 2, pág. 97).

Por lo tanto, fue mayor el crecimiento *in vitro* de las plantas originadas a partir de ápices que las provenientes de estacas uninodales, coincidiendo con lo observado por Yu y Meredith (24) quienes obtuvieron brotes más vigorosos pero menor producción de brotes a partir de ápices que de yemas axilares, al trabajar en un medio MS con 2 mg.L⁻¹ de BAP.

Tabla 1. Efecto del explanto sobre el número de nudos, contenido de clorofila de las hojas, longitud de tallo (cm) y número y longitud de raíces (cm) de cinco variedades "criollas" de vid.

Variedad	Explanto	N° nudos	Clorofila	Long. tallo	N° raíces	Long. raíces
Cereza	ápice	7 a	27 a	5.2 a	2.2 a	10.7 a
	estaca	5.6 a	22.4 a	3.5 b	1.9 a	7.8 a
Cr. Chica	ápice	7.1 a	25.9 a	4.35 a	1.3 a	10.09 a
	estaca	6.0 a	23.8 a	3.17 a	1.7 a	8.72 a
Cr. Grande	ápice	7.4 a	28.9 a	5.19 a	3.2 a	19.13 a
	estaca	5.5 b	28.4 a	3.83 b	2.1 b	12.71 b
P. Giménez	ápice	8.9 a	26.0 a	6.03 a	2.5 a	17.51 a
	estaca	6.5 b	24.6 a	4.14 b	2.8 a	13.78 a
T. Riojano	ápice	8.8 a	27.8 a	4.99 a	1.9 a	14.73 a
	estaca	6.3 b	28.2 a	4.10 b	1.7 a	10.15 a

Letras distintas en la columna y para cada variedad indican diferencias significativas para $p < 0.05$.

Tabla 2. Efecto del explanto sobre el peso seco de hojas, tallo, raíces, PS de cada hoja y de la planta entera (mg) de cinco variedades "criollas" de vid.

Variedad	Explanto	PS de hojas	PS de tallo	PS de raíces	PS por hoja	PS de planta
Cereza	ápice	22.7 a	6.0 a	5.4 a	3.2 a	34.1 a
	estaca	14.4 b	2.5 b	2.8 b	2.1 b	19.7 b
Cr. Chica	ápice	24.0 a	6.7 a	5.5 a	3.3 a	36.3 a
	estaca	17.0 a	4.2 a	3.7 a	2.5 a	24.8 a
Cr. Grande	ápice	27.9 a	8.6 a	9.2 a	3.9 a	45.7 a
	estaca	15.8 b	5.2 b	5.1 b	2.8 b	26.0 b
P. Giménez	ápice	32.0 a	8.7 a	5.7 a	3.6 a	46.4 a
	estaca	17.5 b	3.5 b	2.6 b	2.5 b	23.6 b
T. Riojano	ápice	30.8 a	7.6 a	5.8 a	3.5 a	44.3 a
	estaca	17.3 b	4.0 b	3.0 b	2.6 b	24.3 b

Letras distintas en la columna y para cada variedad indican diferencias significativas para $p < 0.05$.

Entre los medios de cultivo ensayados, el medio MS entero resultó detrimental para el crecimiento de las plantas y con él se obtuvo el menor porcentaje de plantas crecidas en Cereza y Pedro Giménez. Además, en el medio MS crecieron menos plantas de Criolla Chica que en los medios GM y GM ½ y menor número de plantas de Criolla Grande y Torrontés Riojano que en el medio MS ½ (figura 2, pág. 98). En algunas especies leñosas, el medio MS no fue satisfactorio y se lograron mejores resultados con composiciones más diluidas en macronutrientes (11).

Bouquet y Torregrosa (2) mencionan que generalmente en vid se emplea el medio de MS, pero frecuentemente con los macronutrientes diluidos a la mitad. Contrariamente, Martínez y Tizio (17) consideran que el medio MS ½ sólido es el menos adaptado a todos los genotipos (Harmony, Thompson Seedless, Riesling, Renane y Pinot Noir) en lo que concierne al porcentaje de plantas obtenidas a partir de estacas uninodales en medio sólido. En Cereza, Pedro Giménez y Torrontés Riojano el medio MS ½ originó plantas con mayor número de nudos que el medio GM ½ (figura 3, pág. 98).

Figura 2.

Porcentaje de plantas crecidas de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* en cuatro medios de cultivo distintos, promedio de los dos tipos de explantos ensayados.

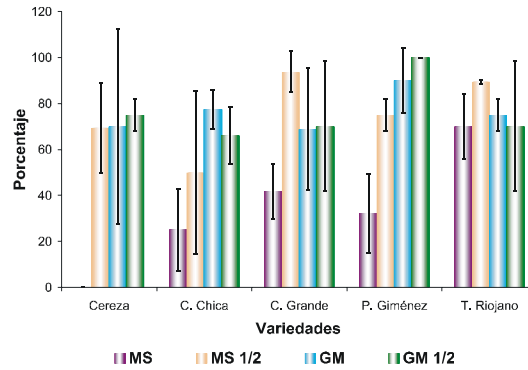
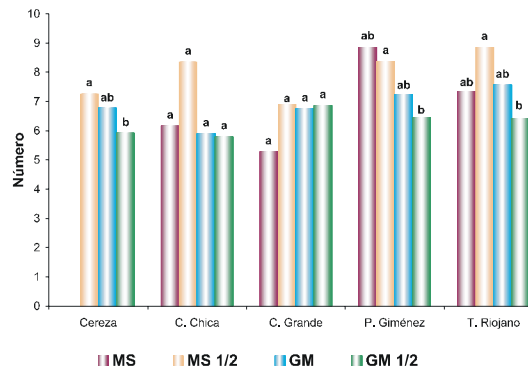


Figura 3.

Número de nudos de las plantas de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* en cuatro medios de cultivo distintos. Letras distintas en cada variedad indican diferencias significativas entre tratamientos para un $p \leq 0.05$.



El medio de cultivo no afectó el contenido relativo de clorofila, salvo en Criolla Grande y Torrontés Riojano donde las hojas de las plantas cultivadas en medio MS 1/2 presentaron mayor contenido relativo de clorofila. Además, en el medio MS 1/2 las plantas presentaron la mayor longitud de tallo (tabla 3, pág. 99).

El cultivo en medio MS 1/2 aumentó el número de raíces en Criolla Chica y Criolla Grande y la longitud de las raíces en todas las variedades salvo en T. Riojano coincidiendo con lo observado por otros autores. Péros et al. (22) al cultivar *in vitro* 32 cultivares e híbridos intraespecíficos de *Vitis vinifera* determinaron que una reducción de los macronutrientes favorecía la formación de raíces mientras que Harris y Stevenson (12) encontraron que la iniciación de raíces no fue afectada por la concentración de sales, pero el crecimiento de las mismas fue mayor al reducir el contenido de sales del medio.

La mayor dificultad de la multiplicación de vid (*Vitis rupestris*, *Vitis riparia*, híbridos interespecíficos y numerosas variedades de *Vitis vinifera*) en cultivo *in vitro* es obtener el enraizamiento en todas las plantas (5, 6, 9). Galzy (6) determina, siempre trabajando en un medio de cultivo sin hormonas, que un aumento en el contenido de iones potasio y amonio mejora la diferenciación de raíces en *Vitis rupestris* con respecto al medio original (5) constituido por los macronutrientes de Knop diluidos a la mitad.

Otros autores también observaron el enraizamiento en medios desprovistos de hormonas (13, 22). Sin embargo, con el agregado de ácido indol 3-butírico (IBA) 2.5 μ M

Tabla 3. Efecto del explanto sobre el contenido de clorofila de las hojas, longitud de tallo (cm) y número y longitud de raíces (cm) de cinco variedades "criollas" de vid.

Variedad	Explanto	Clorofila	Long. tallo	N° de raíces	Long de raíces
Cereza	MS	0 b *	0 b *	1.7 a	5.7 b
	MS ½	24.9 a	5.2 a	2.4 a	14.23 a
	GM	25 a	4.58 a	1.9 a	8.29 b
	GM ½	27.2 a	3.63 a	1.9 a	6.18 b
Cr. Chica	MS	23.3 a	2.87 a	0.7 b	5.88 b
	MS ½	25.7 a	5.30 a	2.7 a	21.71 a
	GM	25.1 a	3.57 a	1.3 b	4.49 b
	GM ½	24.1 a	3.30 a	1.4 b	5.53 b
Cr. Grande	MS	26.0 b	3.3 b	1.7 b	10.45 b
	MS ½	31.8 a	5.45 a	3.7 a	24.89 a
	GM	27.6 b	5.18 ab	1.9 b	12.19 b
	GM ½	29.2 ab	4.11 ab	3.3 ab	16.14 ab
P. Giménez	MS	26.2 a	5.21 ab	2.5 a	15.9 ab
	MS ½	25.9 a	6.04 a	2.9 a	24.58 a
	GM	22.5 a	5.28 ab	2.3 a	11.46 b
	GM ½	26.5 a	3.96 b	3.1 a	10.66 b
T. Riojano	MS	26.4 b	3.9 b	1.6 a	12.08 a
	MS ½	31.2 a	6.55 a	2.0 a	17.06 a
	GM	26.5 b	4.06 ab	1.5 a	11.47 a
	GM ½	27.7 b	3.35 b	2.0 a	8.13 a

* En este tratamiento no hubo crecimiento del vástago ni formación de nuevas hojas. Letras distintas en la columna y para cada variedad indican diferencias significativas para $p < 0.05$.

lograron que las plantas de Pinot Noir aumentaran el número de raíces de 2 a 4 siendo éstas alargadas, similares a las del medio sin hormona, mientras que con el agregado de ANA se duplicó el número de raíces pero fueron más cortas y hubo formación de callos (13).

En todas las variedades evaluadas el peso seco de las plantas fue mayor cuando crecieron en el medio MS ½, fue significativamente superior a MS en Cereza y mayor a GM ½ en Torrontés Riojano (figura 4).

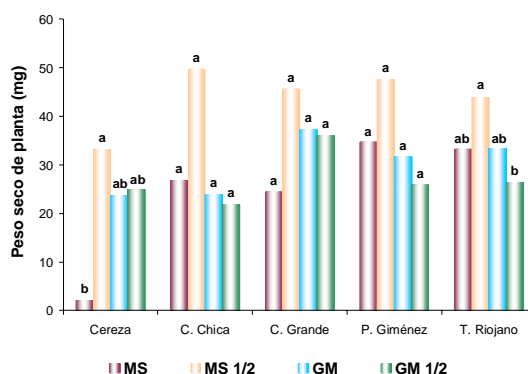


Figura 4. Peso seco de las plantas de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* en cuatro medios de cultivo distintos. Letras distintas en cada variedad indican diferencias significativas entre tratamientos para un $p < 0.05$.

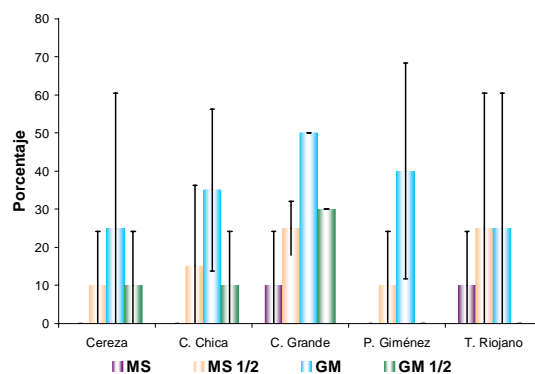
Medios líquidos

En la actualidad existe una tendencia general a buscar sistemas que empleen medios líquidos estacionarios, en virtud de la reducción de costos por la eliminación de agar y mayor agilidad en la preparación de medios, pero esto puede traer aparejado problemas de vitrificación en los cultivos (11). Ciertas plantas en medio líquido forman un sistema radical más abundante y con más ramificaciones, además de facilitarse la extracción de las plantas para su trasplante (4).

Sin embargo, cuando se trabaja con medio líquido sin un soporte, los tejidos quedan sumergidos y para una buena aireación es necesario agitarlos, por lo que se prefiere trabajar con soportes para los explantos (espuma de plástico limpia, lana de vidrio, pequeñas bolas de vidrio, puente de papel, etc.) (23).

En el presente trabajo, al emplear medios líquidos -Murashige Skoog (MS) y Galzy modificado (GM), enteros o con macro y micronutrientes diluidos a la mitad- con soporte de esponja vegetal, el porcentaje de sobrevivencia analizado por medio de cultivo fue muy bajo y con mucha variación (figura 5). Dicho porcentaje en todos los medios de cultivo fue inferior al 50 % y en cada medio prosperaron menos plantas a partir de estacas que de ápices (datos no presentados) por lo que, si bien se determinaron, no se presentan los datos de las demás variables evaluadas en las pocas plantas que crecieron.

Figura 5. Porcentaje de plantas crecidas sobre esponja vegetal de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* en cuatro medios de cultivo líquidos distintos (promedio de los dos tipos de explantos).



Crecimiento de las plantas de Criolla Chica a partir de ápices o de estacas, en medio de cultivo líquido MS ½ con puente de papel.



Por lo tanto, se consideró que la baja sobrevivencia alcanzada no permitía tener en cuenta la variante medio líquido con soporte de esponja vegetal, como una forma de propagación de vid.

Mientras tanto, al trabajar con medios líquidos colocando los explantos sobre puentes de papel se observaron marcadas diferencias en la sobrevivencia de plantas según si el explanto sembrado fue estaca uninodal o ápice (foto, pág. 100).

El porcentaje de plantas crecidas a partir de estacas fue muy bajo (15 % promedio de todas las variedades y medios), mientras que con ápices este porcentaje alcanzó el 60 % en promedio, llegando al 100 % en casi todas las variedades cuando el medio de cultivo fue MS ½ (tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de plantas crecidas de cinco variedades "criollas" de vid, cultivadas *in vitro* en cuatro medios de cultivo y dos explantos distintos.

Variedad	Explanto	MS	MS ½	GM	GM ½
Cereza	ápice	20	100	20	40
	estaca	0	0	20	0
Cr. Chica	ápice	60	100	60	60
	estaca	0	0	0	20
Cr. Grande	ápice	60	100	40	60
	estaca	0	0	40	60
P. Giménez	ápice	60	100	40	0
	estaca	0	20	0	40
T. Riojano	ápice	60	80	60	80
	estaca	0	40	20	0

En la tabla 5 se presentan los datos medios con las correspondientes desviaciones estándares para las distintas variables evaluadas cuando se cultivan ápices en medio MS ½ .

Tabla 5. Número de nudos, contenido de clorofila de hojas, longitud de tallo (cm), número y longitud de raíces (cm) y PS de planta de cinco variedades "criollas" de vid cultivadas en medio líquido MS ½ sobre puente de papel.

Variedad	N° de nudos	Clorofila	Long. tallo	N° de raíces	Long de raíces	PS de planta
Cereza	10.3 ± 2.7	30.7 ± 2.9	8.50 ± 2.9	2.3 ± 1.2	25.03 ± 12.5	0.1193 ± 0.04
Cr. Chica	8.4 ± 2.3	29.8 ± 3.9	6.00 ± 1.4	3.6 ± 1.4	21.22 ± 16.2	0.0993 ± 0.038
Cr. Grande	9.8 ± 2.9	27.4 ± 2.7	7.50 ± 1.9	1.5 ± 0.5	28.85 ± 12.4	0.1277 ± 0.047
P. Giménez	7.8 ± 3.5	14.0 ± 15	5.18 ± 2.9	2.3 ± 2.3	10.63 ± 14	0.0668 ± 0.048
T. Riojano	7.0 ± 2.3	18.3 ± 13	3.02 ± 1.9	0.8 ± 0.9	10.25 ± 12.3	0.0767 ± 0.058

Según Galzy et al. (10) los requerimientos nutricionales *in vitro* no sólo dependen de las características varietales (*Vitis rupestris* Scheele cv. du Lot y *Vitis vinifera* cvs. Chardonnay y Pinot Noir), sino que están también relacionados con las condiciones físicas del cultivo. Sin embargo, en el presente trabajo -tanto en medio sólido como líquido- el medio MS ½ se presenta como el más adecuado para el crecimiento *in vitro* de variedades "criollas" de vid.

Mhatre et al. (19) proponen para las variedades de *Vitis vinifera* (Thompson sedles, Sonaka y Tas-e-Ganesh) el medio líquido de MS con la mitad de concentración de macro y micronutrientes (MS ½) como un medio adecuado para el enraizamiento de brotes alargados de vid sobre puente de papel. Sin embargo, estos autores no cultivan directamente las estacas uninodales en este medio sino que para la obtención de plantas completas realizan tres etapas previas (iniciación, multiplicación y alargamiento) en tres medios distintos, hasta conseguir brotes alargados que hacen enraizar en este medio con 0.1 mg.L⁻¹ de ácido indol-3-acético (AIA).

Estos autores obtienen a partir de una estaca uninodal 10 a 26 plantas en cuatro meses y medio, mientras que a partir del mismo explanto y en el mismo tiempo podríamos obtener para las variedades "criollas" en medio MS ½ sólido de 90 a 200 plantas.

CONCLUSIONES

- ❖ Para la micropropagación de las variedades "criollas" de vid: Cereza, Criolla Chica, Criolla Grande, Pedro Giménez y Torrontés Riojano, tanto a partir de ápices como de estacas, se aconseja el empleo del medio MS ½ sólido. Las diferencias en el número de nudos, como en el peso seco de las plantas entre aquellas originadas de ápices y las originadas de estacas uninodales, pone de manifiesto la necesidad de sembrar ambos explantos por separado, para asegurar una mayor uniformidad de las plantas.
- ❖ Los ápices y las estacas uninodales de estas variedades no prosperan sobre esponja vegetal en los medios líquidos ensayados. Sobre puente de papel sólo se originan plantas a partir de ápices y el mejor medio es MS ½.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalde, J. A. 1989. Cultivares vitícolas argentinas. Ed. Asociación Cooperadora de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza. 133 p.
2. Bouquet, A. and Torregrosa, L. 2003. Micropropagation of the grapevine (*Vitis* spp.). In: Micropropagation of woody trees and fruits. S. M. Jain and K. Ishii (eds). Kluwer Academic Publishers. Netherlands. p. 319-352.
3. Chée, R. and Pool, R. M. 1983. *In vitro* vegetative propagation of *Vitis*: Application of previously defined culture conditions to a selection of genotypes. *Vitis* 22 :363-374.
4. de Asis, T. F. e Teixeira, S. L. 1998. Enraizamento de plantas lenhosas. En: Cultura de Tecidos e Transformação genética de plantas. A. C. Torres, L. S. Caldas e J. A. Buso (eds). Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, Brasilia, Brasil. Vol.1. p. 261-296.
5. Galzy, R. 1964 Technique de thermothérapie des viroses de la vigne. *Ann. Epiphyties* 15(3):245-256.
6. _____. 1969 Remarques sur la croissance de *Vitis rupestris* cultivée *in vitro* sur différents milieux nutritifs. *Vitis*. 8:191-205.
7. _____. 1972. Remarques sur la nutrition minérale des apex de *Vitis rupestris*. *C. R. Acad Sc. Paris t. 275 Serie D* 561: 564.
8. _____. 1985. Les possibilités de conservation *in vitro* d'une collection de clones de vignes. *Bulletin de L'O.I.V.* 650-651. P.377-390.

9. Galzy, R. et Compan, H. 1968. Thermo-thérapie de quelques variétés de vigne présentant des symptômes de virose. *Vignes et Vins* 166:13-20.
10. Galzy, R.; Haffner, V. and Compan, D. 1990. Influence of three factors on the growth and nutrition of grapevine microcuttings. *Journal of Experimental Botany* 41(224):295-301.
11. Grattapaglia, D. e Machado, M. A. 1998. Micropropagação. En: *Cultura de Tecidos e Transformação genética de plantas*. A. C. Torres, L. S. Caldas e J. A. Buso (eds). Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, Brasília, Brasil. Vol.1. p. 183-260.
12. Harris, R. E. and Stevenson, J. H. 1979. Virus elimination and rapid propagation of grapes *in vitro*. *Proceed. Int. Plant Prop. Soc.* 29:85-108.
13. Heloir, M. C.; Fournioux, J. C.; Oziol, L. and Bessis, R. 1997. An improved procedure for the propagation *in vitro* of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir) using axillary-bud microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49:223-225.
14. Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV). 2001. Anuario estadístico. Instituto Nacional de Viticultura, Argentina.
15. Martínez, E.; Moyano, J.; Riquelme, C. et Tizio, R. 1986. Micropropagation de la vigne (*Vitis vinifera* L.) par microboutures portant un seul noeud et cultivées *in vitro*. *Ann XIX Congr. Int. de la Vid y el Vino. Viticultura* p. 593-602.
16. Martínez, E. and Tizio, R. 1989. Grapevine micropropagation through shoot tips and microcuttings from *in vitro* culture one-node cuttings. *HortScience* 24(3):513.
17. Martínez, E. et Tizio, R. 1990. Effet de trois milieux minéraux sur la modalité de croissance et la capacité de micropropagation *in vitro* de quelques génotypes de Vigne (*Vitis* spp). *C.R. Soc. Biol.* 184:318-324.
18. Martínez, L.; Cavagnaro, P.; Masuelli, R. and Rodríguez, J. 2003. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Electronic J. Biotechnology* 6(3):244-253.
19. Mhatre, M.; Salunkhe, C. K. and Rao, P. S. 2000. Micropropagation of *Vitis vinifera* L.: towards an improved protocol. *Scientia Horticulturae* 84:357-363.
20. Murashige, T. and Skoog, F. M. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
21. Pérez-Ponce, J. N. 1998. Generalidades del cultivo *in vitro*. En: *Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología*. Ed. Sta. Clara Cuba, Instituto de Biotecnología de las Plantas. p 13-24.
22. Péros, J. P.; Torregrosa, L. and Berger, G. 1998. Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *Journal of Experimental Botany* 49(319):171-179.
23. Pierik, R. L. M. 1990. Preparación y composición de los medios nutritivos. En: *Cultivo in vitro de plantas superiores*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. p. 49-84.
24. Yu, D. H. and Meredith, C. P. 1986. The influence of explant origin of tissue browning and shoot production in shoot tip cultures of grapevine. *J. Amer. Soc. Hort.Sci.* 111(6): 972-975.



Carreras de Posgrado

Facultad de Ciencias Agrarias

- Doctorado en Ciencias Agrarias
- Doctorado en Biología

- Maestría en Horticultura
- Maestría en Riego y Drenaje
- Maestría en Viticultura y Enología

- Especialización en Riego y Drenaje
- Especialización en Horticultura
- Especialización en Viticultura
- Especialización en Enología

Informes

Secretaría de Posgrado
Alte. Brown 500 - Chacras de Coria - Mendoza - M5528AHB
Tel.: 54-261-4135010 - Int. 1123
Fax: 54-261-4960469
e-mail: escpost@fca.uncu.edu.ar

