

## MEJORAMIENTO GENÉTICO DE VIDES (*Vitis vinifera*) MEDIANTE CRUZAMIENTOS Y RESCATE DE EMBRIONES

Jorge Valenzuela B.<sup>1</sup>  
Carlos Muñoz Sch.<sup>2</sup>  
Margarita Barticevic R.<sup>3</sup>

### OBJETIVO:

Obtención de nuevas variedades de vid adaptadas a condiciones de cultivo en Chile, transporte y almacenaje. Caracterizar cada individuo y determinar los posibles usos del fruto.

### METODOLOGÍA:

1. Cruzamiento entre variedades sin semilla. El cruzamiento se realizó en el jardín de variedades del CRI La Platina emasculando las flores de 2 a 3 racimos por cruzamiento a fines de octubre e inicio de noviembre durante dos semanas, luego se realizó la polinización manual aproximadamente 20 a 25 días después de la emasculación de las flores. Luego de la cuaja y antes que se produjera el aborto espontáneo de embriones (proceso normal en variedades apirénicas o sin semilla), se colectaron las bayas en terreno y se llevaron al Laboratorio de Biotecnología del CRI La Platina del INIA.

---

<sup>1</sup> Ing. Agrónomo, Ph. D. Director Regional, CRI La Platina.

<sup>2</sup> Ing. Agrónomo, Ph.D. Gerente General INIA.

<sup>3</sup> Ing. Agrónomo, Dpto. Frutales. CRI La Platina.

2. Cultivo *in vitro* de los embriones provenientes de los cruzamientos. El rescate de los embriones se realizó esterilizando superficialmente las bayas asperjándolas con etanol 70%, luego sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 1% más 2 a 3 gotas de Tween 20 durante 20 minutos y en seguida se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Las bayas se disectaron para extraer las semillas y se cultivaron en 10 mL de medio nutritivo Nitsch & Nitsch suplementado con GA<sub>3</sub> (Cuadro 1), contenido en frascos de 30 mL de capacidad, tapados con papel aluminio y sellados con Alusa plast. Las semillas se incubaron a una temperatura de 23 a 25°C con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad. A los 40 a 80 días se extrajeron los embriones del interior de las semillas y se cultivaron en 10 mL de medio nutritivo MS suplementado con carbón activado (Cuadro 2), contenido en frascos de 30 mL de capacidad tapados con papel aluminio y sellados con Alusa plast. Los embriones se cultivaron en condiciones similares que las semillas, es decir, a una temperatura de 23 a 25°C con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad. En estas condiciones los embriones se incubaron por 4 a 6 semanas hasta obtener plantas de 7 a 8 cm. Cuando las plantas presentaron un sistema radicular bien desarrollado se llevaron a aclimatación.
  
3. Aclimatación de las plantas. La aclimatación de las plantas se inicia agregando agua hasta la mitad del tubo de cultivo y cambiando el sello de papel aluminio y Alusa plast por papel filtro para permitir una interacción con el medio externo, las plantas se dejan en estas condiciones aproximadamente 3 a 4 semanas. Más tarde, para pasar al invernadero, se lavaron las raíces con abundante agua para sacar los restos del medio de cultivo, se trasplantaron a un "speedling"

conteniendo vermiculita y se cubrieron con un túnel de polietileno hasta que hubo evidencia de nuevo crecimiento, aproximadamente 4 semanas en condiciones de invernadero. Luego se perforó el polietileno aumentando paulatinamente el número de perforaciones hasta dejar las plantas completamente descubiertas. Se requirió de aplicaciones frecuentes de fungicidas para evitar el ataque de diversos hongos. Pasadas unas 4 semanas las plantas se trasladaron a bolsas plásticas con tierra de hoja y se dejaron en invernadero por aproximadamente 3 a 4 semanas más.

4. Plantación en terreno definitivo. Las plantas aclimatadas se trasladaron a un sombreadero para luego ser plantadas en el terreno definitivo. La plantación se realizó a 2,5 x 1 m conducidas en espaldera vertical de tres alambres y con riego por goteo con agua de pozo. Se formaron 3 brazos, cada uno a la altura de un alambre de la espaldera.
5. Evaluación de las características de cada individuo. Las evaluaciones se realizaron al momento de la cosecha que se estableció a los 17° Brix y las mediciones consideraron características del racimo (forma, peso y número de bayas), de las bayas (forma, color, sabor, presencia de semillas, ° Brix, acidez, peso y calibre), del escobajo (peso, longitud y número de hombros), producción, fecha de cosecha y duración postcosecha. La variedad Perlette que madura en La Platina entre el 20 y 23 de enero, se utilizó como referencia para definir el material de producción temprana. Las plantas no seleccionadas al cabo de dos temporadas de producción se arrancaron y se reemplazaron por material nuevo. Considerando que las plantas tardan 3 años en entrar en producción y que los racimos se deben observar por lo menos dos temporadas, cada planta estuvo en el campo durante cinco temporadas.

## RESULTADOS:

### Temporada 1990/91

En esta temporada se comenzaron a plantar en terreno definitivo las plantitas obtenidas del rescate de embriones entregados por el Programa de Biotecnología del CRI La Platina.

### Temporada 1991/92

La juvenilidad se disminuyó mediante varias podas en verde durante la temporada de formación, para acortar la entrada en producción. Algunas plantas mostraron fruta, pero no se consideró por no presentar características destacables.

### Temporada 1992/93

En la primera cosecha se evaluaron 8 individuos por características notables, de las cuales se seleccionó la planta **H8P10**, cruzamiento de Flame( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ) que presentó un fuerte sabor moscatel que la potencia para la producción de vinos frutosos y que además es altamente productivo. La planta posee las características del padre Perlette en color y forma de la baya. Por el calibre de la baya también puede ser interesante como variedad de mesa si se arregla el racimo ya que tiene alto grado de compactabilidad.

### Temporada 1993/94

En esta temporada se evaluaron en detalle 18 individuos (10, más los 8 de la temporada anterior) por las características más deseadas, obteniéndose 61,1% de

apirenia, con un 44,4% de bayas color blanco, 44,4% de bayas negras y 11,1% de fruta roja. Con respecto al sabor, un 77,8% de los individuos presentaron un sabor neutro, mientras el otro 22,2% dieron un sabor moscatel.

De todos los individuos evaluados se seleccionaron tres, debido a sus buenas características agronómicas y factibilidad de ser utilizadas en zonas determinadas del país. **H1P33**, cruzamiento entre Ruby seedless(Ξ) y Perlette(Ψ), madura primero que todos y 9 días antes que Perlette con 16° Brix, baya apirénica, blanca, de baja acidez por lo que se puede cosechar antes. Calibre pequeño (12,8K0,91mm) por lo que habría que trabajar su manejo, con aplicación de giberélico, raleo, anillado, etc. Apto para ser plantado en condiciones de Hornitos (Copiapó). **H8P10**, cruzamiento entre Flame seedless(Ξ) y Perlette(Ψ), fruta de buen calibre (19,3K1,45mm) que da un racimo grande, es de baya semillada, blanca y esférica. Lo más notable es su fuerte sabor moscatel que la potencia para el mercado fresco, pisco y/o vinos blancos aromáticos. **H12P25**, cruzamiento entre Perlette(Ξ) y Flame seedless(Ψ), madura junto con Perlette, de racimo cónico, con bayas blanca apirénica y ovaladas. La característica más interesante es tener buen sabor moscatel por lo que sería muy atractivo trabajar el racimo para aumentar el tamaño de las bayas.

#### Temporada 1994/95

En esta temporada se evaluaron 27 individuos (9 más que en la temporada anterior) por sus características destacadas, de los cuales un 30% de éstos fueron sin semillas, 37% con bayas de color rosado, 33% color blanco, 18% negro y 11% color ámbar.

En este caso se seleccionaron 4 plantas: **H1P9**, cruzamiento de Ruby seedless( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ), madura similar a H1P33, variedad dulce (no neutra) y de mayor peso de racimo, de bayas más grandes, y apirénicas que requieren aplicaciones de  $GA_3$  para mejorar su calibre. **H7P11**, cruzamiento de Red( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ), planta moscatel, semillada, de color blanca, redonda y baya pequeña. **H8P28**, cruzamiento de Flame Seedless( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ), planta moscatel, semillada, de color rosado, que madura la tercera semana de febrero, de baya pequeña y forma esférica. **H12P33**, cruzamiento de Red( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ), planta apirénica que destaca por el gran tamaño de racimo, tardía (tercera semana de marzo), de color ámbar y sabor dulce. El tamaño de bayas es más bien grande y podría potenciarse aún más con aplicaciones de  $GA_3$ .

#### Temporada 1995/96

En esta temporada se evaluaron 27 individuos por sus características notables, de los cuales un 70% presentó apirenia, 11% con bayas que mostraron rudimentos de semilla y sólo un 1,5% de bayas semilladas.

Se mantiene el liderazgo de la planta **H1P9** como tempranera, moscatel, apirénica y de calibre exportable, además este año mejoró el peso de racimo y el largo del raquis con aplicaciones de  $GA_3$ . Destacan también las plantas **H10P5**, cruzamiento de Ruby seedless( $\Xi$ ) y Flame seedless( $\Psi$ ), moscatel, con adecuado peso de racimo y que madura la segunda quincena de enero. **H8P24**, cruzamiento de Flame seedless( $\Xi$ ) y Perlette( $\Psi$ ), y **H12P34**, cruzamiento NN, ambas moscateles, semilladas y con buen calibre de bayas. **H13P36**, cruzamiento de Ruby seedless( $\Xi$ ) y Blush( $\Psi$ ), planta que produjo por primera vez, moscatel, apirénica con racimo pequeño. **H9P9**, planta moscatel apirénica de racimo grande con buen calibre de

baya (18mm) el que puede ser mejorado con arreglo de racimo y aplicaciones de GA<sub>3</sub>.

#### Temporada 1996/97

En esta temporada se evaluaron 32 individuos, de los cuales solamente 5 vienen de la temporada anterior porque siguieron manteniendo sus características (H1P9, H5P26, H8P24, H12P34, H13P36). En general se observó un 60% de plantas con bayas apirénicas y un 40% semilladas. El 100% de los individuos se catalogó con sabor moscatel, manteniendo el liderazgo la planta **H1P9** como tempranera, moscatel y apirénica aunque el calibre de bayas no fue el mejor debido a que no se aplicó GA<sub>3</sub>. Continúan también con buenas características las plantas **H5P26**, **H8P24**, **H12P34** y **H13P36** (Cuadro 3). Las plantas **H15P28** y **H10P36** se evaluaron por primera vez por sus características destacadas (Cuadro 4). En esta temporada comenzó la obtención de estacas para la propagación de plantas seleccionadas, las que se hicieron llegar hasta el Centro Experimental de Vicuña para hacer un estudio de su comportamiento en el valle del Elqui.

Cuadro 1. Medio nutritivo Nitsch & Nitsch modificado para el cultivo *in vitro* de semillas de vid provenientes de progenitores sin semilla

Componentes	mg/L
<b>Macronutrientes</b>	
KNO <sub>3</sub>	950
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	720
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	185
CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	166
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68
<b>Micronutrientes</b>	
MnSO <sub>4</sub> x 4 H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	8,6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
KI	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	0,025
FeSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3
<b>Vitaminas</b>	
Ácido fólico	0,5
Ácido nicotínico	5,0
Tiamina	0,5
Piridoxina	0,5
Glycina	2,0
Biotina	0,05
Inositol	100
<b>Otros</b>	
Sacarosa	20.000
Agar	7.000
<b>Regulador de crecimiento</b>	
Ácido giberélico	0,35
pH	5,7



Cuadro 2. Medio nutritivo para el cultivo *in vitro* de embriones extraídos de semillas de vid provenientes de progenitores sin semilla

Componentes	mg/L
<b><u>Macronutrientes</u></b>	
KNO <sub>3</sub>	160
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	360
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	750
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 4 H <sub>2</sub> O	600
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	19
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	200
KCl	65
<b><u>Micronutrientes</u></b>	
MnSO <sub>4</sub> x 4 H <sub>2</sub> O	3
ZnSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0,5
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,5
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0,025
CuSO <sub>4</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	0,025
Citrato de hierro	10
<b><u>Vitaminas</u></b>	
Tiamina	0,25
Piridoxina	0,25
Pentotenato de Calcio	0,25
Glicina	3
Inositol	50
Hidrolizado de caseína	50
<b><u>Otros</u></b>	
Sacarosa	20.000
Agar	7.000
Carbón activado	4000
<b><u>Regulador de crecimiento</u></b>	
Acido giberélico	0,035
pH	5,7

Cuadro 3. Evaluación de los cruzamientos seleccionados, temporada 1996/97

Parámetros	H1P9 <sup>1/</sup>	H5P26 <sup>2/</sup>	H8P24 <sup>2/</sup>	H12P34 <sup>2/</sup>	H13P36 <sup>2/</sup>
<b>Racimo</b>					
Forma	cónica	cónica	cónica	cónica	alado
Peso (g)	360,27	273,2	741,90	790,40	243,20
Nº bayas	201,60	118	256,50	187,50	96,00
<b>Baya</b>					
Forma	esférica	esférica	esférica	ovalada	esférica
Color	ámbar	ámbar	verde	ámbar	ámbar
Sabor	moscatel	moscatel	moscatel	moscatel	moscatel
Presencia semillas	no	no	si	si	no
Sólidos solubles (°Brix)	20,4	18,40	18,20	20,00	18,50
Acidez	11,4	-	-	-	-
Peso (g)	2,2	3,1	4,3	4,3	2,0
Calibre (mm)	14,9	16,8	19,5	19,5	18,0
<b>Escobajo</b>					
Peso (g)	10,8	8,6	19,0	30,6	15,5
Longitud (cm)	16,2	16,0	20,7	18,5	12,0
Nº hombros	14	24	27	5	7
Producción (racimos)	15	4	13	3	2
Fecha cosecha	18 enero	17 enero	20 enero	2 febrero	2 febrero
Días de postcosecha	33	-	39	-	31

1/ Promedio de las últimas 3 temporadas.

2/ Promedio de las últimas 2 temporadas.

Cuadro 4. Características generales de los cruzamientos seleccionados, temporada 1996/97.

Planta	Cruzamiento padres	año	baya		Apirenia	fecha cosecha
			color	sabor		
H1P9	Ruby x Perlette	88	ámbar	moscatel	si	días antes de Perlette
H5P26	Ruby x Red	88	ámbar	moscatel	si	días antes de Perlette
H8P24	Flame x Perlette	89	verde	moscatel	no	días antes de Perlette
H12P34	N N	92	ámbar	moscatel	no	fines de enero
H13P36	Ruby x Blush	92	ámbar	moscatel	si	fines de enero
H15P28 *	Ruby x Superior	93	rosada	neutro	si	-
H10P36 *	Ruby x Perlette	93	ámbar	moscatel	si	-

\*Se evaluaron por primera vez durante la temporada 1996/97