

# Possibilità di morfogenesi indiretta da tessuti somatici maturi di castagno (‘Marrone’)

Dondini L.<sup>1)</sup>, Alessandri S.<sup>1)</sup>, Domenichini C.<sup>1)</sup>, Defrancesco M.<sup>1)</sup>, Negri P.<sup>1)</sup>\*

1) DISTAL – Dipartimento di Scienze Agrarie e Alimentari, Università di Bologna, Italia

\* Autore di riferimento

**VIII Convegno Nazionale del Castagno, Portici 14 -16 2022**

**Scopo del lavoro: indurre rigenerazione** (caulogenesi, o embriogenesi somatica) da tessuti somatici maturi di 'Marrone'.

## Materiali e metodi.

1° decade di agosto  
**chioma di pianta plurisecolare**  
 44° 16' N, 11° 24' E  
 500 m s.l.m.

Porzioni di:

- foglie (lamine, piccioli),
- gemme (perule, caule)

## 7 mesi di coltura (Tab. 1)

- 4-5 settimane/sub-coltura;
- **Varie alternanze di:**
  - substrati (sali, fitoregolatori, zuccheri);
  - bilancio ormonale;
  - condizioni d'illuminazione;
  - temperatura

**Rilievi mensili**  
**allo stereomicroscopio**

**Tabella 1. Substrati e condizioni di coltura**

NOME SUBSTRATO	BASE <sup>(1)</sup>	Zucchero <sup>(2)</sup>	FITOREGOLATORI <sup>(3)</sup>					Periodo e condizioni d'incubazione		
			BA ( $\mu\text{M}$ )	TDZ ( $\mu\text{M}$ )	NAA ( $\mu\text{M}$ )	2,4-d ( $\mu\text{M}$ )	GA <sub>3</sub> ( $\mu\text{M}$ )	1°-4° sett.	5°-16° sett.	17°-28° sett.
B5	½ MS	SC	22	-	-	-	-	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
T1	½ MS	SC	-	4,5	-	-	-	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
N1	½ MS	SC	-	-	5,4	-	-	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
N5	½ MS	SC	-	-	27	-	-	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
D2	½ MS	SC	-	-	-	9	-	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
TNG1105	½ MS	SC	-	4,5	5,4	-	1,4	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
TNG2105	½ MS	SC	-	9	5,4	--	1,4	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
TNG30201	½ MS	SC	-	13,5	1	-	0,3	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
BN0501	½ MS	SC	2,2	-	0,5	-	-	-	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
BN0101 SC	½ MS	SC	0,4	-	0,5	-	-	-	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
BN0101 MT	½ MS	MT	0,4	-	0,5	-	-	-	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
HF SC	½ MS	SC	-	-	-	-	-	-	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
HF MT	½ MS	MT	-	-	-	-	-	-	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
QL TNG1105	QLmod	SC	-	4,5	5,4	-	1,4	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
QL TNG2105	QLmod	SC	-	9	5,4	-	1,4	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*
QL TNG30201	QLmod	SC	-	13,5	1	-	0,3	B+TA	L+TA*	B+(TA opp F) opp L+ TA*

- (1) ½ MS: concentrazioni dimezzate dei macro- e microelementi di Murashige & Skoog (1962);  
 QLmod: macro- e microelementi di Quoirin e Lepoivre modificati (Leblay et al., 1991), con la concentrazione di NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ulteriormente aumentata a 7.5 mM.  
 Per tutti i substrati: Mio-inositolo (556  $\mu\text{M}$ ), tiamina HCl (2,9  $\mu\text{M}$ ), acido nicotinico (8,1  $\mu\text{M}$ ), piridossina HCl (4,9  $\mu\text{M}$ ), glicina (26.6  $\mu\text{M}$ ), Gelrite (2  $\text{gl}^{-1}$ ); cefotaxime (300  $\text{mg}\text{gl}^{-1}$ ) aggiunto dopo la sterilizzazione in autoclave (per 25 min a 121 °C, 1 bar).
- (2) SC: saccarosio (30  $\text{gl}^{-1}$ ); MT: maltosio (30  $\text{gl}^{-1}$ ).
- (3) BA:6-benziladenina; TDZ: thidiazuron; NAA: acido alfa-naftalenacetico;  
 2,4-d: acido 2,4-diclorofenossiacetico; GA<sub>3</sub>: acido gibberellico.
- (4) Settimane dall'inizio dell'esperimento nel corso delle quali ogni substrato è stato sperimentato, o continuativamente, o alternandolo con altri. Le colture sono state esposte al buio (B), oppure a un fotoperiodo (L) di 16 ore di luce bianca, (PAR 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Sono state sperimentate temperature d'incubazione costanti a 22-23 °C (TA) o 4-6 °C (F), oppure un ciclo termico associato al fotoperiodo (TA\*), di 28 °C alla luce e 25 °C al buio.

Per tutti gli espianti (in fig. sezione di picciolo) dopo i primi 20 giorni di coltura al buio:  
a) nessuna proliferazione con sole citochinine;  
b) formazione di callo in presenza di auxine.

**RISULTATI**

Caulogenesi con auxine e citochinine (sia associate, che in successione):  
picciolo dopo 6 mesi di coltura: il primo al buio su N5, quindi 5 mesi alla luce (3 mesi su B5, poi 2 mesi su BN0101 SC).

Callo embriogenico dopo due o più sub-colture al buio con sole auxine:  
a) apice di lamina fogliare dopo due mesi su 2,4-D;  
b) perula dopo 3 mesi su mezzo N5.

