

# OTTIMIZZAZIONE DI UN PROTOCOLLO DI EMBRYO RESCUE PER L'OTTENIMENTO DI IBRIDI VITALI DA INCROCI TRA VARIETÀ DI UVE APIRENE

<sup>1</sup>Giancaspro A., <sup>2</sup>Mazzeo A., <sup>2</sup>Pacucci C., <sup>3</sup>Somma S., <sup>3</sup>Carlomagno A., <sup>1</sup>Gadaleta A., <sup>2</sup>Ferrara G.

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agroambientali e Territoriali (DiSAAT),  
Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Via G. Amendola 165/A, 70126 - Bari, Italia  
<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (DiSSPA),  
Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Via G. Amendola 165/A, 70126 - Bari, Italia  
<sup>3</sup>Grape & Grape Group, via delle Orchidee, Rutigliano, 70018 - Bari, Italia

## INTRODUZIONE

Uno degli obiettivi dei programmi di miglioramento genetico della vite ad uva da tavola è rappresentato dall'ottenimento di nuove varietà apirene con caratteristiche attraenti per il consumatore. La costituzione di tali genotipi con i tradizionali metodi di incrocio tra varietà apirene è problematico in quanto gli embrioni risultano immaturi e muoiono negli stadi precoci di sviluppo della bacca. Le più avanzate tecniche di *embryo rescue* e coltura *in vitro* possono consentire di superare tali limitazioni, anche se mostrano un tasso di successo molto basso in quanto influenzate da numerosi fattori quali genotipo, stadio di sviluppo, composizione del mezzo di coltura, etc. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello della messa a punto di un efficiente protocollo di coltura *in vitro* da impiegare in programmi di *embryo rescue* per l'ottenimento di nuove varietà apirene di vite ad uva da tavola.

## MATERIALI E METODI

Nel presente lavoro la tecnica dell'*embryo rescue* è stata applicata a 12 differenti tipi di incroci tra varietà apirene di vite ad uva da tavola. Ai fini di testare l'influenza dello stadio di sviluppo sulla vitalità degli embrioni, le bacche ottenute da ciascun incrocio sono state prelevate in 3 diversi tempi: 7, 14 e 21 giorni dopo l'impollinazione (gdi). Dopo la sterilizzazione delle bacche (Fig.1), gli ovuli sono stati isolati e sottoposti ad un protocollo di coltura *in vitro* suddiviso in tre fasi: sviluppo degli embrioni (8-10 settimane), germinazione degli embrioni (4-6 settimane); radicazione e sviluppo delle piantine (2-4 settimane). In ogni fase sono stati testati mezzi di coltura che differivano nel tipo e quantità di regolatori di crescita. Le piantine sviluppate sono state successivamente trasferite in un substrato e gradualmente acclimatate.



Fig. 1 Sterilizzazione di bacche ottenute da incroci tra varietà apirene ed isolamento degli abbozzi erbacei dei semi.

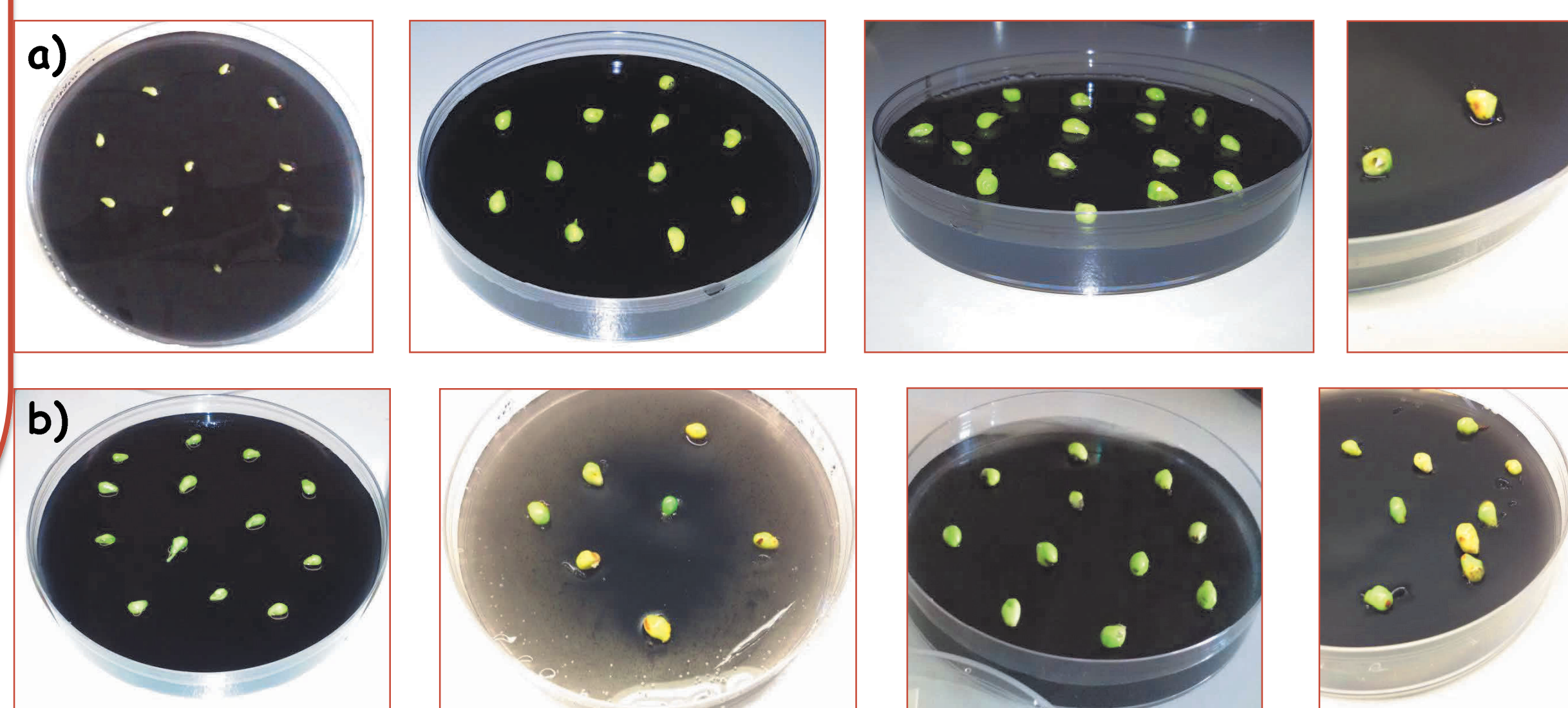


Fig. 2 Coltura *in vitro* degli abbozzi dei semi su substrato solido per lo sviluppo degli embrioni. Embrioni isolati a 7 gdi (a); Embrioni isolati a 14 gdi (b).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Il tasso di formazione e germinazione degli embrioni, come anche di radicazione e sviluppo delle piantine è risultato molto variabile a seconda del genotipo di partenza. Infatti è stato possibile ottenere progenie vitale solo da 10 tipologie di incrocio, con una percentuale compresa tra 0 e 5%. Lo sviluppo degli embrioni è dipeso largamente dallo stadio di maturazione della bacca al momento del prelievo degli stessi, infatti le diverse combinazioni di incrocio hanno mostrato il più elevato tasso di formazione/germinazione/radicazione a differenti stadi di sviluppo: in particolare, per l'80% degli incroci il miglior tempo di campionamento è risultato a 14 gdi (Fig.2). Anche la composizione del mezzo di coltura è risultata cruciale per l'ottenimento di piantine vitali, soprattutto in funzione del regolatore di crescita aggiunto. I substrati nutritivi ottimali (Fig. 3 e 4) per l'ottenimento di ibridi vitali sono risultati i seguenti: - sviluppo degli embrioni immaturi: ER + carbone attivo + saccarosio; - germinazione degli embrioni: WPM + 5,7 $\mu$ M IAA + 4,4 $\mu$ M 6-BA + 1,4 $\mu$ M GA3; - radicazione e sviluppo delle piantine:  $\frac{1}{2}$  MS + 1,7 $\mu$ M IAA.

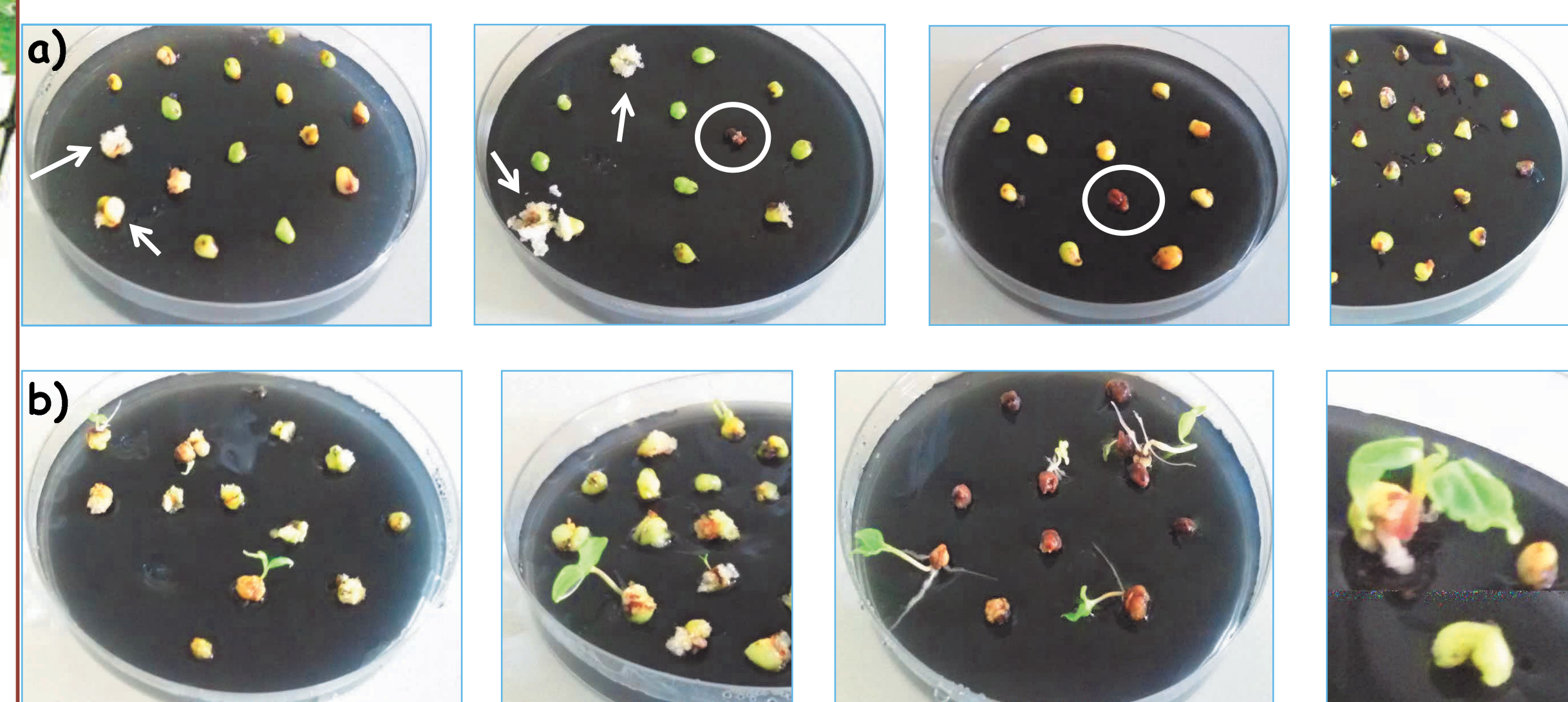


Fig. 3 Accrescimento *in vitro* di semi con sporadico sviluppo di tessuto calloso (frecce) e necrosi di semi contenenti embrioni non vitali (cerchi) (a). Germinazione di embrioni vitali con sviluppo di primordi di apparato fogliare e radicale (b).

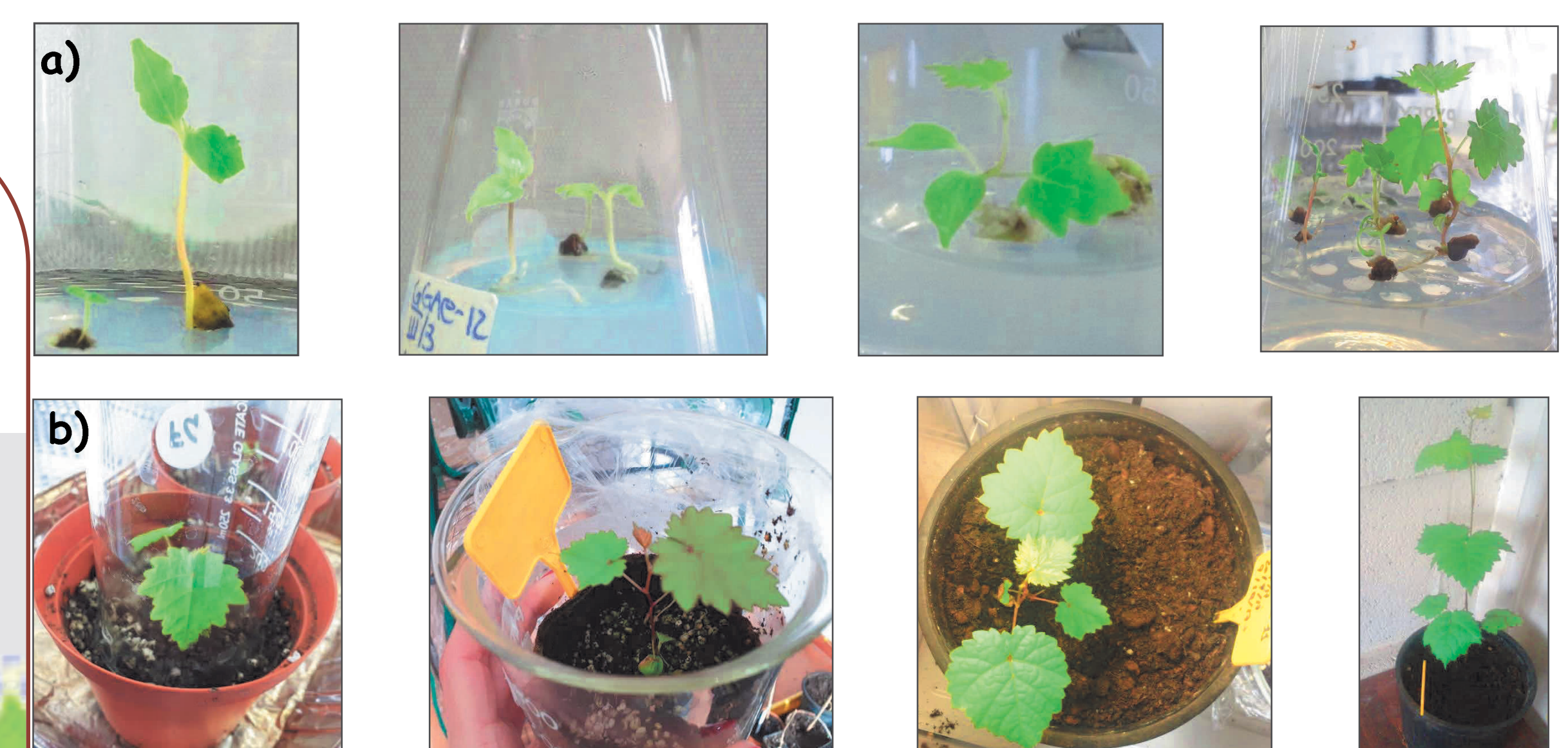


Fig. 4 Radicazione ed accrescimento delle plantule *in vitro* (a). Trapianto in vaso e acclimatamento (b).

## CONCLUSIONI

Nel presente lavoro è stata studiata l'influenza di genotipo, stadio di sviluppo e composizione del mezzo di coltura sull'efficienza della tecnica dell'*embryo rescue* finalizzata a ottenere ibridi vitali da incroci tra varietà apirene di vite ad uva da tavola. Abbiamo identificato il migliore stadio di sviluppo delle bacche da cui isolare gli embrioni immaturi, ed ottimizzato la composizione dei diversi substrati nutritivi per la messa a punto di un efficiente protocollo di coltura *in vitro* da impiegare in futuri programmi di *embryo rescue* per l'ottenimento di nuove varietà apirene.