

# ANNALI

DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ

\_\_\_\_\_ SASSARI \_\_\_\_\_

DIRETTORE: P. BULLITTA

COMITATO DI REDAZIONE: P. BRANDANO - P. BULLITTA - P. DEIDDA  
M. GREPPI - L. IDDA - F. MARRAS - G. PALMIERI - A. VODRET

**studi sassaresi**

ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



## COLTURA *IN VITRO* DI APICI VEGETATIVI DI *QUERCUS SUBER* L.<sup>(1)</sup>

Mario AZZENA<sup>(2)</sup> - Grazia COINU<sup>(3)</sup> - Pietro DEIDDA<sup>(4)</sup>

### RIASSUNTO

La propagazione agamica della *Quercus suber* L. potrebbe agevolare il miglioramento genetico della specie e consentire notevoli vantaggi nel vivaismo forestale.

A questo scopo col presente lavoro si è voluto sperimentare la coltura *in vitro* di apici vegetativi, che sono stati prelevati da una sughereta percorsa da incendio al fine di utilizzare materiale vegetale caratterizzato da un'elevata vigoria.

La fase di sviluppo si è conclusa col germogliamento del 25% degli apici messi in coltura, e le due successive subcolture hanno fatto rilevare un tasso medio di moltiplicazione di 3,6:1; la radicazione ha interessato l'82,5% dei germogli in coltura, ma l'accrescimento piuttosto limitato dei germogli, verificatosi durante la precedente fase di allungamento, ha determinato la produzione di plantule di dimensioni molto ridotte.

Parole chiave: Quercia da sughero, Micropropagazione, Apici vegetativi.

### SUMMARY

#### *In vitro* culture of *Quercus suber* L.

The agamic propagation of *Quercus suber* L. could be useful for the genetic improvement of the species and could have noticeable advantages in forest nursery practices.

For this purpose we have tried some experiments of *in vitro* cultures of tips obtained from vigorous new shoots collected from a cork-oak grove which had been affected by fire.

The developmental stage ended with the sprouting of 25% of the tips. The two following subcultures showed an average rate of multiplication of 3.6:1. The 82.5% of the shoots that had been cultured gave off roots, but produced very small plants due to the poor growth of the shoots during the previous elongation stage.

Keywords: Cork-oak, Micropropagation, Vegetative apex.

---

<sup>(1)</sup> Lavoro presentato al Convegno: "Colture in vitro e micropropagazione in ortoflorofruitticoltura", Cesena 2 giugno 1989.

<sup>(2)</sup> Collaboratore tecnico dell'Istituto di Coltivazioni arboree di Sassari

<sup>(3)</sup> Agronica Sistemi Biotecnici S.p.a.

<sup>(4)</sup> Professore Ordinario di Arboricoltura generale dell'Istituto di Coltivazioni arboree di Sassari

## PREMESSA

La propagazione agamica e il miglioramento genetico sono divenute, in questi ultimi tempi, tecniche di larga diffusione anche in selvicoltura, tanto da venire comunemente impiegate in quei paesi che vantano un'importante economia in questo settore (1).

C'è però da rilevare che per molte specie forestali si riscontrano notevoli difficoltà nelle tecniche tradizionali di propagazione. I lavori di diversi Autori confermano l'esistenza di questo problema anche nella propagazione per talea della Quercia da sughero (8) (2) (10), tant'è che attualmente la produzione di piantine per il rimboschimento è ottenuta esclusivamente da seme.

La sempre crescente domanda di sughero in campo mondiale, che l'attuale produzione non riesce a soddisfare, ha fatto volgere l'attenzione della ricerca scientifica anche nei confronti di questa specie, con l'obiettivo di ottenere piante più sane, di più rapido accrescimento e di più sollecita produzione.

Solo da pochi anni sono stati avviati gli studi sulla micropropagazione della *Quercus suber* L. Dai risultati di queste ricerche si evidenzia la possibilità di ottenere lo sviluppo e la radicazione *in vitro* di microtalee originatesi da embrioni isolati (3) (5), nonché di riprodurre questa essenza a partire da segmenti nodali di semenzali (9); ma attualmente non si è ancora riusciti a propagare agamicamente questa specie forestale attraverso la coltura *in vitro*.

Col presente lavoro sulla micropropagazione di apici vegetativi si è voluto contribuire alla soluzione di questo problema.

## MATERIALE E METODO

Il materiale vegetale, costituito da getti vigorosi, è stato prelevato da una sughereta percorsa da incendio, durante la terza decade di ottobre del 1987. I germogli sono stati portati in breve tempo in laboratorio e una volta asportate le foglie, le parti apicali di 3-4 cm di lunghezza sono state sottoposte alla seguente sterilizzazione :

- immersione per 30" in alcool a 70°;
- immersione per 5' in ipoclorito di Na al 2% di Cl attivo;
- tre risciacqui in acqua sterile.

Quindi, lavorando sotto cappa a flusso laminare, sono stati messi in coltura gli apici vegetativi della lunghezza di circa 5 mm in provette previamente sterilizzate in autoclave a 120° per 20', contenenti 10 ml di terreno di Durzan (6) con la concentrazione di sali dimezzata e con l'aggiunta di 2, 25 mg/l di BAP e 6 gr/l di agar. I tubi sono stati quindi posti in camera di crescita alla temperatura di  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  con fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 di buio, utilizzando lampade fluorescenti all'intensità luminosa di 3000 lux.

I germogli, conclusosi lo sviluppo, sono stati avviati alla fase di moltiplicazione mediante il trapianto in vasi di vetro contenenti 100 ml di substrato nutritivo della

medesima composizione di quello utilizzato per la fase precedente; seguendo questa metodologia sono state effettuate due subcolture.

La successiva fase di allungamento è stata eseguita anch'essa con l'impiego di vasi di vetro contenenti il substrato di Durzan con l'aggiunta di 0,05 mg/l di BAP, mettendo in coltura 10 germogli per vaso. I germogli sono stati successivamente impiantati in vasi di radicazione contenenti il medesimo terreno di coltura addizionato con 1 mg/l di IBA.

## RISULTATI

Lo sviluppo dei germogli è stato rilevato a partire dal 22° giorno dall'impianto e si è completato nell'arco di una settimana (fig. 1). Esso ha interessato il 25% degli apici vegetativi messi in coltura. Dei rimanenti il 60% è stato perso a causa di inquinamento fungino, e un altro 15% è stato eliminato per ossidazione fenolica.

La fase di moltiplicazione è stata effettuata tramite due successive subcolture della durata di 45 giorni ciascuna, ed è stato conseguito un tasso medio di moltiplicazione di 3,6:1.

Durante la successiva fase di allungamento, della durata di 48 giorni, i germogli si sono accresciuti in misura piuttosto limitata, fino ad arrivare ad una lunghezza media di 1,5 cm. I germogli sono stati comunque avviati alla fase di radicazione e, dopo 11 giorni dall'impianto nel substrato addizionato con IBA, è stata rilevata la comparsa delle prime radichette la cui formazione si è completata in circa 30 giorni (fig. 2). Durante tale fase le plantule non si sono accresciute ulteriormente, ma è stata raggiunta un'elevata percentuale di radicazione che ha interessato l'82,5% dei germogli in coltura.

## DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

La moltiplicazione *in vitro* di apici vegetativi prelevati da piante adulte di *Quercus suber*, ottenuta col presente lavoro, dimostrerebbe la suscettibilità di questa specie di essere micropropagata, oltre che a partire da embrioni (3) (5) anche da porzioni vegetali prelevate da piante madri adulte, e conseguentemente di essere propagata agamicamente. Ciò sarebbe un fatto di grande rilevanza, tenendo conto che molte specie forestali in età adulta non possono essere micropropagate (4), e solo per alcune di esse si riesce ad ovviare al problema con sistemi di ringiovanimento (7) che richiedono diversi anni di lavoro.

Il materiale vegetale da cui sono stati ottenuti gli espianti, è stato prelevato da una sughereta percorsa da incendio, in modo da utilizzare getti molto vigorosi. In un prossimo lavoro verranno impiegati apici vegetativi di piante adulte non danneggiate dal fuoco, per osservare se possono essere adatti alla coltura *in vitro* anche espianti ottenuti da piante in normali condizioni di vegetazione.



Fig. 1 - Apice vegetativo all'inizio del germogliamento.



Fig. 2 - Germogli durante la fase di radicazione.

Le fasi di sviluppo, moltiplicazione e radicazione si sono svolte senza particolari problemi, e con un andamento del tutto simile a quello della coltura di embrioni isolati effettuata in un precedente lavoro (5), anche se in tempi leggermente più lunghi. Nella fase di allungamento, invece, si è verificato uno sviluppo molto ridotto dei germogli che mediamente hanno raggiunto la lunghezza di circa 1,5 cm contro i 3-4 cm di quelli provenienti da embrioni isolati.

Sarà pertanto necessario nel proseguimento della ricerca verificare se un diverso dosaggio degli elementi nutritivi e degli ormoni potrà consentire un maggiore sviluppo dei germogli, o se il fenomeno è legato a cause di natura non modificabile dalla composizione del substrato o dalle condizioni dell'ambiente di crescita.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) BAGNARESI U. (1984) - Ruolo della propagazione agamica nella selvicoltura. Propagazione *in vitro*: ricerche su alcune specie forestali. Azienda Regionale delle Foreste Regione Emilia-Romagna.
- 2) BARNESCHI L. (1974) - La radicazione di talee di ramo di *Quercus suber* L.. Stazione sperimentale del sughero di Tempio Pausania.
- 3) BELLAROSA R. (1988) - *In vitro* propagation of oaks. Acta Horticulturæ, 227, September 1988. Atti del convegno "International Symposium on vegetative propagation of woody species". Pisa - Italy, September 3-5, 1987: 433-435.
- 4) BONGA J.M., DURZAN D.J. (1982) - Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity, and rejuvenation. Tissue culture in forestry. L'Aja.
- 5) DEIDDA P., AZZENA M., COINU G. (1988) - *In vitro* plantlet regeneration from *Quercus suber* L. seedlings. Acta Horticulturæ, 227, September 1988. Atti del convegno "International Symposium on vegetative propagation of woody species". Pisa - Italy, September 3-5, 1987: 393-395.
- 6) DURZAN D.J., CHAFE S.C. and LOPUSHANSKI S.M. (1973) - Effects on environmental changes on sugar, tannins and organized growth in cell suspension cultures of white spruce. Planta, 113: 241-249.
- 7) MAGINI E. (1984) - Il ringiovanimento del materiale forestale di propagazione. Propagazione *in vitro*: ricerche su alcune specie forestali. Azienda Regionale delle Foreste, Regione Emilia-Romagna.
- 8) PALMA P. (1966) - Produzione e problemi della Quercia da sughero. Estratto dagli Atti del 1° Convegno Nazionale del Sughero. Montecatini Terme, 30 aprile 1966.
- 9) PARDOS J.A. (1981) - *In vitro* plant formation from stem pieces of *Quercus suber* L.. Proceedings of Colloque International sur la Culture *in vitro* des Essences Forestières, IUFRO (AFOCEL, Ed), Fontainebleau, Francia : 186-190.
- 10) SERRA G., LEONI S. (1981) - Variazione del potenziale rizogeno stagionale in *Quercus suber* L. e *Juniperus* spp.. Atti Congresso su I fitoregolatori in agricoltura: 37-45.

Lavoro pervenuto in redazione il 30-4-1991.

Gli estratti possono essere richiesti a:

Dott. Mario Azzena - Istituto Coltivazioni Arboree - Facoltà di Agraria - Università di Sassari  
Via E. De Nicola - 07100 Sassari - Italy - Tel. 079/299233.