

Realizzazione di un protocollo di micropropagazione efficiente per la produzione massale di *Musa basjoo*



Dei F., Mascarello C., Copetta A., Pamato M., Ruffoni B.

CREA; Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo, Corso degli Inglesi 508, 18038 Sanremo (IM), Italia



INTRODUZIONE

Il banano (*Musa spp.*) è uno dei tre generi appartenenti alla famiglia delle Musaceae (Monocotiledoni) ed è una delle maggiori fonti di nutrimento nei paesi tropicali e sub tropicali. La pianta ha un rizoma perenne in grado di produrre germogli che possono arrivare ad un'altezza di 7 metri. Il fusto centrale è un pseudotrunko costituito dall'insieme delle foglie che si dispongono in maniera cilindrica. Le foglie hanno margini interi, venature pennate e dimensioni notevoli (possono raggiungere 2 metri di lunghezza e mezzo metro di larghezza). *M. basjoo* Siebold & Zucc. ex Jinuma (detta anche "banano giapponese") è in realtà originaria del sud della Cina ed è una delle specie più conosciute del genere per la coltivazione ornamentale e per la sua capacità di sopportare temperature prossime a -15°C. Grazie al rizoma molto resistente anche se la parte aerea dovesse subire danni da freddo invernale, in primavera la pianta è in grado di rigenerare nuove foglie.

In genere il banano, essendo sterile (triploide), viene propagato vegetativamente per divisione del rizoma; con tale tecnica si possono ottenere fino a 5-10 nuove piante per anno. Questa tecnica però può portare, con il passare dei cicli, la diffusione di patogeni e ridurre la capacità di propagazione iniziale della pianta madre. Per questo motivo il banano viene da tempo propagato *in vitro* con alte percentuali di moltiplicazione in tempi brevi, uniformità delle piante e sanità del materiale.

Il CREA-OF di Sanremo ha sviluppato un protocollo di micropropagazione efficiente e ripetibile di *M. basjoo* per la rapida produzione di piantule da mettere in commercio per l'arredo di giardini del Nord Europa.



1D



1C



1B



MATERIALI E METODI

Rizomi di banano (Fig. 1 A) *Musa basjoo* forniti dal Sig. Barone, un vivaista di Albenga (SV), sono stati lavati sotto acqua corrente, ripuliti dalla terra e da questi sono state isolate le gemme con l'aiuto di bisturi (Fig. 1 B).

Per ottimizzare la coltura *in vitro* sono stati effettuati diversi esperimenti per ridurre l'ossidazione dei tessuti e l'alto tasso di inquinamento degli espianti in fase di sterilizzazione. Inoltre sono stati identificati le condizioni relative al mezzo di coltura e all'ambiente per ottenere espianti di elevata qualità.

In fase di sterilizzazione è stato messo a confronto l'effetto di un pretrattamento di immersione per 24 ore in acido acetil-salicilico (1 g/L) con l'immersione diretta delle gemme in acqua tiepida, con alcune gocce di detergente e ipoclorito di sodio per 60' seguito dalla immersione in etanolo 70% per 1'; inoltre, per cercare di contenere le contaminazioni, sono stati messi a confronto tre tempi di esposizione degli espianti (10', 20' e 30') in una soluzione al 2,5% di ipoclorito di sodio (Fig. 1 C). Tutti gli espianti, successivamente, sono stati risciacquati 2 volte in acqua distillata sterile per 10' e posti su mezzo di coltura con sali MS (Murashige e Skoog, 1962) addizionati con BA 5 mg/L, IAA 0,5 mg/L e cefotaxime (10 mg/L). Con gli espianti sterili ottenuti (Fig. 1 D, 1 E) si è impostata una prova di moltiplicazione per cercare la composizione salina migliore (MS e WPM - Lloyd e McCown, 1980), la citochinina più efficace (BA e 2ip a 5 mg/L) in aggiunta a IAA 1 mg/L e la fonte di luce ottimale in camera di coltura (neon e LED). Dopo 30 giorni è stato rilevato il tasso di moltiplicazione degli espianti (Fig. 1 F). Tutto il materiale derivato dalla fase di moltiplicazione è stato posto su mezzo di coltura con sali e vitamine MS e saccarosio (30 g/L) ma privo di ormoni. Le piantule radicate (Fig. 3 A) sono state portate in serra di ambientamento e trapiantate in substrato commerciale con perlite (30:70 v/v) sotto impianto mist; dopo 30 giorni è stato effettuato il rilievo di sopravvivenza.



1E

1F

Fig. 1 - Passaggi del protocollo di micropropagazione. 1 A: Rizomi di *M. basjoo*, 1 B: Gemme isolate dai rizomi, 1 C: Risciacquo di espianti in acqua distillata sterile, 1 D: Espianti su mezzo di coltura con Sali MS + BA 5 mg/L + IAA 0,5 mg/L + cefotaxime (10 mg/L), 1 E: Espianti in moltiplicazione, 1 F: Espianti in moltiplicazione su terreno ottimale.

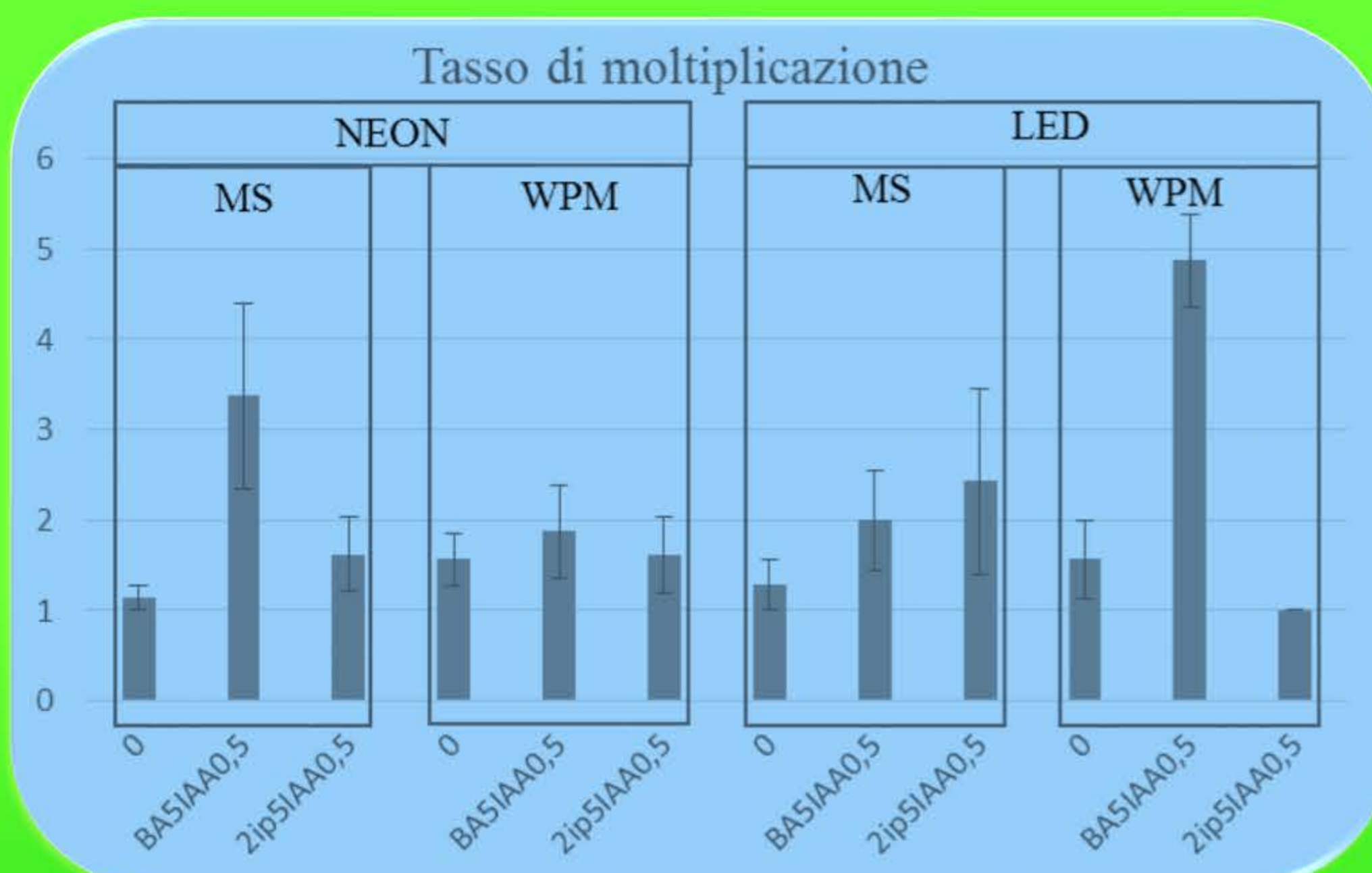


Fig. 2 - Tasso di moltiplicazione. Confronto tra Neon e LED, tra sali MS e WPM, tra citochinine BA e 2ip.

RISULTATI

- Alle condizioni di prova l'impiego di acido acetil salicilico non ha incrementato significativamente la sterilità degli espianti e non ha evitato l'ossidazione dei tessuti (Tab. 1).
- L'esposizione degli espianti per tempi maggiori di 20' ne annulla la vitalità (Tab. 1).
- In fase di moltiplicazione risultati statisticamente significativi, sotto luce a neon, si sono ottenuti con sali MS addizionati con BA; a tali condizioni si è raggiunto un tasso di proliferazione pari a 3,3 (Fig. 2). Sotto la luce a LED, invece, sono i sali WPM con BA a fornire i migliori risultati (4,9) (Fig. 2).
- La radicazione degli espianti è stata del 90% (Fig. 3 B).
- Il 100% del materiale portato in serra per l'ambientamento è sopravvissuto.



3 A

Fig. 3 - Fase di ambientamento: piantina radicata su sali MS privi di ormoni (3 A); pianta cresciuta in substrato commerciale con perlite (30:70 v/v) (3 B)



3 B

BIBLIOGRAFIA

Murashige e Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Phys. Plant.* 15:473-497.
Lloyd e McCown, 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proc. Intern. Plant Prop. Soc.* 30:421-426.

Tab. 1 - Percentuale di sopravvivenza e sterilità degli espianti posti su terreno di coltura MS + BA5 + IAA 0,5 + cefotaxime (10mg/L).

Pretrattamento	Tempo di sterilizzazione	Vivi e sterili (%)
con	10'	66,7
acido acetil salicilico	20'	50,0
senza	30'	0,0
acido acetil salicilico	10'	44,4
acido acetil salicilico	20'	55,5
acido acetil salicilico	30'	0,0