

**B4 = Organogenesi diretta da cotiledoni in cultivar di *Citrus x clementina* Hort. ex Tan.\***

G. Lombardo, <sup>1</sup>R. Alessandro, A. Scialabba, <sup>1</sup>F. De Pasquale

Dipartimento di Scienze Botaniche, Università di Palermo, via Archirafi 38, 90123 Palermo; <sup>1</sup>Istituto di Genetica Vegetale, CNR, sezione di Palermo, corso Calatafimi 414, 90129 Palermo.

*Citrus x clementina* Hort. ex Tan. è un nototaxon di notevole importanza in agrumicoltura per le buone qualità organolettiche e di peeling dei suoi frutti. Numerosi sono gli studi di rigenerazione *in vitro* del genere *Citrus*, ma poche informazioni riguardano *C. x clementina* riportata, come tutte le specie monoembrioniche di agrumi, recalcitrante all'induzione di embrioni somatici (1).

La ricerca effettuata ha riguardato l'induzione di organogenesi diretta da tessuto cotiledonare in tre cultivar di *C. x clementina*: 'Monreal', 'SRA 63' e 'SRA 64'.

I semi, estratti asepticamente dai frutti maturi, sono stati privati dei tegumenti e i cotiledoni, separati dall'asse embrionale, sono stati posti in coltura. Gli esperimenti sono stati condotti sul cotiledone intero e su porzioni di esso di 2-3 mm, ottenute mediante taglio trasversale del cotiledone stesso. La coltura è stata effettuata su un mezzo base semisolido Murashige & Skoog (MS) (2) contenente vitamine MS, 500 mg l<sup>-1</sup> di estratto di malto e 50 mg l<sup>-1</sup> di saccarosio, in assenza (controllo) e in presenza di citochinina 6-benzilamminopurina (BAP) a tre differenti concentrazioni: 8.8 µM, 13.2 µM e 17.6 µM. Il mezzo, a pH 5.7, è stato sterilizzato in autoclave a 103 kPa (121°C) per 20 minuti. Le colture sono state incubate a 26±1°C con fotoperiodo di 16 ore. La risposta organogenica è stata espressa come percentuale di rigenerazione (% R), calcolata come numero di cotiledoni con organogenesi/numero totale di cotiledoni messi in coltura per 100.

La formazione di germogli, mediante organogenesi diretta, è stata osservata dopo venti giorni di coltura. La risposta organogenica è stata maggiore nelle porzioni cotiledonari rispetto ai cotiledoni interi nella cv. 'Monreal' a tutte le concentrazioni di BAP saggiate, mentre nelle altre cultivar la frequenza di rigenerazione è variata in funzione del tipo di espianto e della concentrazione ormonale. Le migliori condizioni di rigenerazione sono state riscontrate sui cotiledoni interi della cv. 'SRA 63' in presenza di BAP 17.6 µM (83.3 % R), sulle porzioni cotiledonari della cv. 'Monreal' in presenza di BAP 17.6 µM (80 % R) e della cv. 'SRA 64' in presenza di BAP 13.2 µM (60 % R). In assenza di BAP non è stato ottenuto alcun differenziamento. I giovani germogli, di dimensioni superiori a 10 mm, trasferiti in un mezzo privo di ormoni e mantenuti nelle medesime condizioni di incubazione, hanno radicato sviluppando piante complete.

I risultati ottenuti mostrano che è possibile indurre organogenesi diretta in cultivar di *C. x clementina* a partire da tessuto somatico e che la presenza dell'ormone BAP è necessaria per il differenziamento.

1) F. Carimi, F. De Pasquale (2003) In S. M. Jain & K. Ishii, Kluwer Academic Publishers, pp. 589-619

2) T. Murashige, F. Skoog (1962) *Physiol. Plant.* 15:473-497

\* Ricerca finanziata dalla Regione Sicilia, Assessorato Agricoltura e Foreste, L.R. 25/93