

La Micropropagazione di *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steudel L.

Valeria Cavallaro¹, Antonio Carlo Barbera², Samuele Pantò², Simona Tringali¹

¹CNR, Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo (ISAFOM), UOS di Catania, Str.le V.Lancia, Zona Industriale, Blocco Palma I, 95121 Catania. Email: v.cavallaro@isafom.cnr.it

²DACPA, Università degli Studi di Catania, Via Valdisavoia 5, 95123 Catania. Tel. 095-234465. Fax. 095-234449.

Introduzione

Phragmites australis (Cav.) Trin. Ex Steudel L. è una macrofita acquatica diffusa nel bacino del Mediterraneo, largamente usata nei sistemi di fitodepurazione per il suo adattamento a condizioni climatiche anche difficili e ad acque di elevata salinità, per il suo ampio apparato radicale, per la sua capacità di rifornire di ossigeno i batteri attivi nel processo di depurazione.

L'auspicato aumento del ricorso a sistemi naturali di depurazione delle acque reflue di origine domestica o industriale al fine del recupero di una preziosa risorsa qual è l'acqua, comporta però un elevato impiego di plantule di questa specie (Barbera et al., 2007). La rapida propagazione della *Phragmites* risulta tuttavia difficile e onerosa perché può essere effettuata quasi esclusivamente per rizomi e non risulta accettabile ed ecologicamente sostenibile il ricorso alla "predazione" delle piante spontanee anche se abbondanti. La coltura *in vitro* potrebbe rappresentare pertanto una via alternativa ai metodi tradizionali di moltiplicazione per la propagazione su larga scala della specie in esame. Precedenti tentativi di moltiplicazione della *Phragmites* tramite micropropagazione sono stati effettuati da ricercatori cinesi (Guo et al., 2004).

In questo lavoro si riferiscono i risultati di una prova volta a mettere a punto un protocollo di moltiplicazione *in vitro* di un ecotipo locale di *Phragmites australis*.

Materiali e metodi

Il materiale vegetale è stato prelevato presso l'impianto sperimentale di fitodepurazione sito a San Michele di Ganzaria (37°16'N; 14°25'; 350 m slm - Catania) nella prima decade di giugno del 2008. Porzioni di culmo (1cm di lunghezza) con nodo e primordio di gemma ascellare sono stati scelti per iniziare la coltura *in vitro* e sterilizzati mediante un lavaggio preliminare sotto acqua corrente, un primo passaggio in cloruro di mercurio (HgCl₂, 5 g L⁻¹) x 5 min ed una successiva immersione in NaClO (2,5% di Cl attivo) x 20 min. Dopo disinfezione, gli espianti sono stati lavati per tre volte in H₂O sterile sotto cappa a flusso laminare e quindi trasferiti sul substrato S4 (Tab.1) in camera di crescita a 25±1°C e fotoperiodo di 12 ore di luce (3000 lux). Per ogni tesi sperimentale, replicata tre volte, sono stati impiegati 6 espianti. Una volta sviluppatesi la gemma dormiente del nodo, quest'ultima veniva accuratamente escissa e collocata nel substrato di moltiplicazione.

Sono stati studiati quattro substrati (S1, S2, S3, S4) per la proliferazione del germoglio (tab.1).

Tabella 1 Composizione dei substrati (g L⁻¹)

Componenti (quantità)	S1	S2	S3	S4
Macro e Microelementi	MS	MS	MS	MS
Vitamine	Morel	Morel	Morel	Morel
Ormoni	BA (0.003)	IBA (0.0001)	BA (0.003)	BA (0.03)
Ormoni	AG ₃ (0.0005)	mT (0.0005)	NAA (0.001)	NAA (0.001)
Saccarosio	(30)	(30)	(30)	(30)
Agente gelificante	Agar (7)	Agar (7)	Agar (7)	Gelrite (2)

MS= substrato di Murashige e Skoog (1962), Morel= Morel e Wetmore (1951), BA= 6 benzilamminopurina, AG₃= acido gibberellico, IBA=acido indolbutirrico, mT =meta Topolina, NAA=Acido Naftalenacetico

Le piante venivano fatte radicare prolungando la permanenza sul substrato di moltiplicazione. Successivamente le piante venivano trapiantate in contenitori alveolati in plastica riempiti con terriccio commerciale, poste in ombraio alla fine di marzo, irrigate giornalmente la prima settimana per ridurre lo stress evapotraspirativo e fino al pieno soddisfacimento del fabbisogno idrico successivamente.

Per ogni tesi sperimentale, replicata tre volte, sono stati impiegati 6 espianti. A 30 giorni dal trasferimento *in vitro* delle gemme, è stato rilevato il numero di espianti che avevano differenziato germogli normali. A 45 giorni dall'inizio della fase di moltiplicazione, il numero di germogli normali (almeno 1 cm di lunghezza) sviluppatasi dal germoglio principale. A un mese circa dal trasferimento nei contenitori alveolati, è stato rilevato il numero di piante attecchite e pronte al trapianto.

Risultati

La percentuale di germogli sviluppati ottenuti dalle gemme ascellari del nodo è stata mediamente del 40%. A partire dal secondo ciclo di moltiplicazione, fra tutti i substrati allo studio, il più elevato indice di proliferazione è stato rilevato nel substrato S4 che utilizzava come gelificante gelrite (4.8 ± 0.31 contro i 2.5 ± 0.54 germogli dei substrati agarizzati).

E' da rilevare come, a trenta giorni dal trapianto, tutti i substrati si presentassero fortemente imbruniti, ad eccezione del substrato S2 dove la componente ormonale era rappresentata dalla metatopolina (mT) e dall'acido indolbutirrico (IBA).

A 50 giorni dal trapianto tutte le piante mostravano radici ben sviluppate idonee sia al trapianto per l'ambientamento che, previa rimozione dell'apparato radicale, per successivi cicli di moltiplicazione.

Nella fase di ambientamento dell'ultima decade di marzo, la percentuale di piantine attecchite è stata pari al 95%.

Conclusioni

Dai risultati ottenuti è emerso quanto segue:

- il substrato costituito da macro e microelementi di MS e da vitamine di Morel, addizionato di acido indolacetico-NAA (1 mg L^{-1}), BA (3 mg L^{-1}) e gelificato con gelrite ha consentito non solo l'accrescimento delle gemme poste alla base del nodo ma anche una buona proliferazione dei germogli.
- la *Phragmites* ha evidenziato una ottima capacità rizogena consentendo di ottenere radici anche prolungando la permanenza delle plantule nel substrato utilizzato per la moltiplicazione ed ha mostrato anche elevati indici di attecchimento nel trapianto primaverile.

Sulla base di queste considerazioni, la moltiplicazione *in vitro* può rappresentare una valida alternativa alla propagazione per rizoma assicurando la propagazione su larga scala della macrofita e il mantenimento delle caratteristiche genotipiche prescelte .

Bibliografia

Barbera A.C. et al. 2007. *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steudel biomass in constructed wetlands for municipal wastewater treatments. Proceedings of the International Conference on Multifunctions of Wetland Systems, 100-101.

Guo Y.M. et al. 2004. Adventitious shoot bud formation and plant regeneration from *in vitro* – cultured stem segments of reed (*Phragmites Communis* Trin.). In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 40: 412–415.

Murashigue T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15: 473-497.