

TRASFORMAZIONE GENETICA MEDIATA DA AGROBACTERIUM IN PRUNUS spp.
LUCIO COLOMBO¹, DE PAOLI¹, LAURA CHIAPPETTA², ILARIA MANTOVANI³, MARCO MAZZARA³
1) IPP. Dr. Giuseppe Battistini, Cesena, 2) C.R.P.V., Cesena, 3) DIBIAGA, Università di Ancona

Nell'ambito dell'attività di ricerca condotta in collaborazione fra i Vivai Battistini Dott. Giuseppe CRPV e DIBIAGA sono stati sviluppati nuovi protocolli di rigenerazione in due portinnesti di ciliegio, utilizzabili sia per una più efficiente moltiplicazione che per il trasferimento di geni di interesse agronomico.

Prove di rigenerazione sono state effettuate utilizzando porzioni di piccioli e internodi di due portinnesti di ciliegio : Gisela 5 (*Prunus canescens* x *Prunus cerasus*) e Ma x Ma Delbard[®] 14 Brokforest (*Prunus mahaleb* x *Prunus avium*).

I migliori risultati di rigenerazione per Gisela 5 sono stati ottenuti utilizzando un substrato composto da sali (macro-microelementi) e vitamine MS addizionati con NAA(0,5 mg l⁻¹) e TDZ(3mg l⁻¹), oltre a gelrite 2% e saccarosio 30 g l⁻¹. Per Ma x ma Delbard[®] 14 Brokforest , si è raggiunto il migliore risultato di rigenerazione (60 % da internodo e 50% da picciolo) utilizzando come combinazione ormonale 2,4D (0,5 mg l⁻¹) e BAP(3 mg l⁻¹) addizionata allo stesso substrato MS.

A seguito di questi primi risultati di rigenerazione si è proceduto con esperimenti di trasformazione genetica mediata da *Agrobacterium tumefaciens* operando presso il laboratorio del DIBIAGA.

Per tale metodologia si sono utilizzati 2 ceppi batterici: 1) ceppo batterico LBA4404 recante il plasmide pBI121 (Clontech) con gene marcatore *nptII* (neomicinafosfotransferasi) per la resistenza a kanamicina e con il gene reporter GUS (β -glucuronidasi) e il ceppo batterico EHA 105 recante il plasmide pBI121 con il gene marcatore *nptII* (neomicinafosfotransferasi) e il gene PGIP (Toubart, 1992), un gene che produce una proteina che inibisce le poligalatturonidasi prodotte dai funghi durante la fase di infezione.

Per le due specie, dopo co-coltura con entrambi i ceppi, sono stati individuati germogli in grado di proliferare e radicare sul substrato con kanamicina.

Analisi molecolari (PCR; primer: *nptII* e GUS) hanno confermato l'evento di trasformazione per un clone rigenerato del portinnesto Ma x Ma Delbard 14[®] Brokforest, mentre dagli esperimenti con il ceppo EHA 105- PGIP (PCR; primer: *nptII* e PGIP) è stato confermato l'evento di trasformazione in un clone rigenerato di Gisela 5.

For information can call with us

Vivai Battistini Dott Giuseppe
INTERNATIONAL PLANT PROPAGATION 47020

Tel. +39 0547347227 Fax +39 0547347463
Via Emilia 3551 Diegaro di Cesena Italy

