

I GEORGOFILI

Quaderni
2008-VI



SISTEMI COLTURALI INNOVATIVI

Firenze, 13 marzo 2008

IMPATTO DELLA RICERCA GENETICA E DELLE TECNOLOGIE AVANZATE SULL'EVOLUZIONE DEI SISTEMI AGRARI

Firenze, 24 aprile 2008



EDIZIONI POLISTAMPA

Con il contributo di



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2009
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2008 - Serie VIII - Vol. 5 (184° dall'inizio)

Direttore responsabile: Paolo Nanni

Edizioni Polistampa
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze
Tel. 055 737871 (15 linee)
info@polistampa.com - www.polistampa.com
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-0635-2

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

INDICE

Sistemi colturali innovativi

FABRIZIO COBIS

*I nuovi processi di innovazione
e l'azione del Ministero dell'Università e della Ricerca* 9

MARISA DI MATTEO, DONATELLA ALBANESE

Impiego di contenitori biodegradabili e/o compostabili 15

SERAFINA CHIRICO, GIUSEPPE TITOMANLIO

*Problematiche di stampaggio
di materiali biodegradabili* 27

VITO MICCOLIS, VINCENZO CANDIDO

*I contenitori innovativi per una ortofloricoltura
ecocompatibile* 47

Impatto della ricerca genetica e delle tecnologie avanzate sull'evoluzione dei sistemi agrari

SILVIERO SANSAVINI, LUCA DONDINI

*La genomica in frutticoltura: recenti acquisizioni
per il miglioramento genetico, la produzione e la qualità del frutto* 97

DAVIDE GUERRA, ALESSANDRO TONDELLI, CHIARA BISELLI,

ANTONIO MICHELE STANCA

*Analisi del genoma delle piante coltivate per l'adattamento
all'ambiente colturale* 129

Giornata di studio su:

Sistemi colturali innovativi

Firenze, 13 marzo 2008

I nuovi processi di innovazione e l'azione del Ministero dell'Università e della Ricerca

PREMESSA

Le nuove dinamiche del contesto scientifico-tecnologico internazionale, le caratteristiche dello scenario competitivo dell'economia globale, unitamente all'analisi del complessivo posizionamento dei sistemi innovativi nazionali, fanno emergere con immediata evidenza l'importanza del ruolo che le politiche di intervento delle istituzioni di governo debbono assumere per rispondere al meglio alle nuove e sempre più pressanti esigenze poste dal progressivo caratterizzarsi dell'economia contemporanea quale economia basata fortemente sulla "conoscenza".

Come si è visto, le dimensioni completamente globalizzate delle odierne dinamiche economiche spingono sempre più a considerare i processi di innovazione che procedono per interazioni e interdipendenze multiple tra ricerca, invenzione, sviluppo, produzione come i veri fattori determinanti su cui fondare la capacità competitiva di un sistema economico nazionale.

Questo nuovo modello di innovazione comporta un profondo cambiamento nell'azione e nel ruolo dei soggetti tradizionalmente protagonisti dei processi innovativi: la chiave di volta per garantire la crescita competitiva di un sistema in una economia basata sulla conoscenza diventa l'interazione costante e profonda tra istituzioni di governo, università e imprese.

L'azione dei tre soggetti viene visualizzata, tra gli studiosi, come una sorta di "Tripla Elica" in cui continuamente si creano relazioni interattive tra le sfere, che agiscono in azioni complementari e continue, quasi giocando ciascuno il ruolo dell'altro, senza tuttavia perdere di vista la propria "mission" fondamentale.

* *Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca*

Nella nuova struttura dei processi di innovazione, si osserva come la natura e il ruolo dei tre soggetti indicati vada profondamente mutando.

Le imprese diventano sempre meno verticalmente integrate: per esempio, le grandi aziende americane continuano ovviamente a spendere moltissimo in R&S, tuttavia nessuna, proprio in considerazione del carattere globale e ubiquitario delle attività scientifiche e tecnologiche, sembra intenzionata a ricreare i grandi laboratori di ricerca che, un tempo, furono la caratteristica delle multinazionali e dei grandi gruppi industriali.

Anche il mondo delle università vede modificarsi il proprio ruolo e la natura della propria attività. Si parla addirittura di una seconda rivoluzione accademica: dopo la prima, che ha visto affiancarsi la ricerca alla naturale vocazione didattica della università, ora le università vedono sempre più svilupparsi una nuova funzione, quella di contribuire direttamente allo sviluppo economico e sociale della società.

Nel modello della Tripla Elica è l'università che assume un ruolo fondamentale elevando la propria azione al livello delle altre sfere e affiancando al ruolo esclusivo di produttrice di conoscenza, quello di soggetto direttamente attivo nella promozione dell'innovazione.

Infine, anche lo Stato e, più in generale, le istituzioni di governo assumono una nuova e più moderna funzione.

Nel modello della Tripla Elica, le istituzioni governative, siano esse centrali o regionali e locali, non svolgono più soltanto il compito di sostenere finanziariamente l'attività di ricerca degli altri soggetti, erogando fondi pubblici peraltro in una attività di selezione non sempre efficace e tempestiva.

Lo Stato va configurandosi sempre più come il soggetto che scrive le regole del gioco e ne assicura il rispetto, incoraggiando relazioni sistemiche e profonde tra imprese e università, in una più ampia azione tesa a realizzare quelle migliori condizioni di contesto e di sistema necessarie per favorire la crescita della capacità di innovazione del Paese.

In tale scenario, lo Stato è impegnato nel definire nuove regole che favoriscano una ricerca libera di alto livello qualitativo, che promuovano una collaborazione permanente e stabile tra università e imprese, che incoraggino la formazione qualificata di personale di ricerca, che favoriscano la mobilità dei ricercatori tra il settore pubblico e quello privato, la valorizzazione dei risultati della ricerca, la nascita di nuove imprese dalla attività di ricerca universitaria, la diffusione di attività di venture capital, eliminando nel contempo gli eventuali ostacoli esistenti a livello normativo e/o amministrativo.

In effetti, si osserva come molti Paesi stiano orientando le proprie politiche pubbliche sulla base delle nuove concezioni: tipici sono gli esempi della Francia e del Giappone.

L'Italia, pur in ritardo, sembra comunque rendersi conto del cambiamento: negli ultimi anni, le politiche di intervento pubblico, con particolare riferimento a quelle condotte dal Ministero dell'Università e della Ricerca, sembrano connotarsi per una nuova visione, orientando la propria azione dal semplice sostegno alla domanda di ricerca alla definizione di nuovi modelli di intervento.

L'ITALIA E L'AZIONE DEL MINISTERO DELL'UNIVERSITÀ E DELLA RICERCA

Nell'ultimo decennio, anche nel nostro Paese si è progressivamente affermata, con un certo ritardo quindi, la consapevolezza della necessità di affidare alle politiche di sostegno e coordinamento delle attività di ricerca scientifico-tecnologiche un ruolo di particolare importanza per il conseguimento del grande obiettivo di modernizzazione del Paese.

A tali fini, il Governo italiano, attraverso in particolare il Ministero dell'Università e della Ricerca, ha avviato dal 1998 un profondo rinnovamento del settore della ricerca, in ognuna delle sue articolazioni e delle sue componenti, con l'obiettivo di favorire, attraverso un nuovo sistema organizzativo e di regole, un reale contesto favorevole alla crescita competitiva del paese.

La complessiva azione svolta dal Governo italiano si è sviluppata in piena adesione e coerenza con il descritto modello della Tripla Elica.

In ognuno degli interventi riformatori avviati negli ultimi anni, l'azione pubblica ha mostrato di ben comprendere e interpretare il ruolo che lo Stato, quale una delle tre sfere dell'Elica, deve saper svolgere:

- favorire la integrazione e interazione tra mondo della ricerca pubblica e imprese;
- incoraggiare il superamento del modello lineare dei processi di innovazione in favore di caratteri interattivi e circolari;
- sostenere il nuovo ruolo che le università possono e debbono svolgere per contribuire allo sviluppo socio-economico del paese;
- potenziare l'attitudine delle imprese di sviluppare una capacità di innovazione fondata sulla ricerca;
- concepire e mettere in atto nuove regole e nuovi sistemi di contesto idonei ed efficaci.

I CONTENUTI DELL'AZIONE POSTA IN ESSERE

Nel dettaglio, l'azione del Governo, e in particolare del MUR, nel perseguimento dei propri obiettivi, si è sviluppata lungo due fondamentali direttrici, distinte ma considerate di forte complementarietà: azioni di carattere strategico e interventi di natura più strettamente tecnica.

Infatti, dai primissimi anni Duemila, attraverso l'adozione del Programma Nazionale della Ricerca, il Governo ha cominciato a definire, su base triennale, un preciso quadro di priorità su cui puntare per rafforzare le posizioni già detenute dal nostro Paese e per sviluppare l'eccellenza sulle aree tecnologicamente più promettenti e a più alto valore aggiunto.

In parallelo, la realizzazione degli obiettivi del programma di Governo in tema di ricerca si è snodato attraverso una serie di interventi di carattere operativo, coerenti tra loro e funzionali all'attuazione degli indirizzi strategici.

La caratteristica fondamentale di tutti gli interventi realizzati è stata quella, tipica nel modello della Tripla Elica, di realizzare un sistema di regole innovative che avessero la capacità di favorire la realizzazione di condizioni di contesto idonei al potenziamento competitivo dell'intero sistema.

In tale ambito meritano una decisa sottolineatura le seguenti azioni:

- il sostegno alla nascita di nuove imprese high-tech, quali spin-off dalla ricerca pubblica;
- la realizzazione di laboratori di carattere pubblico-privati;
- la nascita e il potenziamento di distretti territoriali di alta tecnologia;
- il sostegno a grandi programmi di ricerca, strategici per la capacità competitiva del paese.

In tutti gli interventi, il rafforzamento della presenza e della qualità del capitale umano ha, altresì, costituito un obiettivo costante nell'azione del Ministero, nella decisa convinzione che i necessari processi di ringiovanimento e potenziamento dei nostri ricercatori passino attraverso lo sviluppo di progetti di ricerca importanti che possano rappresentare anche veri e propri "cantieri" di formazione.

Il progetto di cui oggi ci vengono descritti i risultati racchiude in sé tutte le caratteristiche descritte e la rilevanza scientifica e industriale degli esiti dimostrano la lungimiranza della visione ministeriale, supportata dalla convinta adesione delle aziende e delle università partecipanti.

RIASSUNTO

Le nuove dinamiche del contesto scientifico-tecnologico internazionale, le caratteristiche dello scenario competitivo dell'economia globale, unitamente all'analisi del complessivo posizionamento dei sistemi innovativi nazionali, fanno emergere con immediata evidenza l'importanza del ruolo che le politiche di intervento delle istituzioni di governo debbono assumere per rispondere al meglio alle nuove e sempre più pressanti esigenze poste dal progressivo caratterizzarsi dell'economia contemporanea quale economia basata fortemente sulla "conoscenza".

Le dimensioni completamente globalizzate delle odierne dinamiche economiche spingono sempre più a considerare i processi di innovazione che procedono per interazioni e interdipendenze multiple tra ricerca, invenzione, sviluppo, produzione come i veri fattori determinanti su cui fondare la capacità competitiva di un sistema economico nazionale.

Questo nuovo modello di innovazione comporta un profondo cambiamento nell'azione e nel ruolo dei soggetti tradizionalmente protagonisti dei processi innovativi: la chiave di volta per garantire la crescita competitiva di un sistema in una economia basata sulla conoscenza diventa l'interazione costante e profonda tra istituzioni di governo, università e imprese.

ABSTRACT

New innovation processes and the action of Ministry of University and Research. The role that government policies should play as regards the new needs of contemporary economy, which is increasingly "knowledge-driven", has been deeply questioned in the last few years. The completely global dimensions of today's economic dynamics force to ever more consider innovation as the real determining factor on which the competitiveness of a national economic system should be founded. Such competitive ability appears to be more and more structurally assured by a type of innovation which has its main engine in research. The ability to produce knowledge, together with the ability to quickly transform that knowledge in economic value, and therefore to rapidly produce high level innovation, represents the key to economic growth and to the competitive success of a Country.

This new model of innovation implies a deep change in the action of traditionally prominent figures of the innovative processes: constant and thorough interaction among enterprises, universities and government institutions is the key to guarantee competitive growth of a system in a knowledge-based economy.

The action of these three subjects is pictured as a sort of "triple helix", where the spheres engage in continuous interactive relations and in complementary actions, almost playing one the role of the other, although they don't lose their own fundamental mission. Actually, many countries are now redirecting their public policies on the basis of new this conception.

Impiego di contenitori biodegradabili e/o compostabili

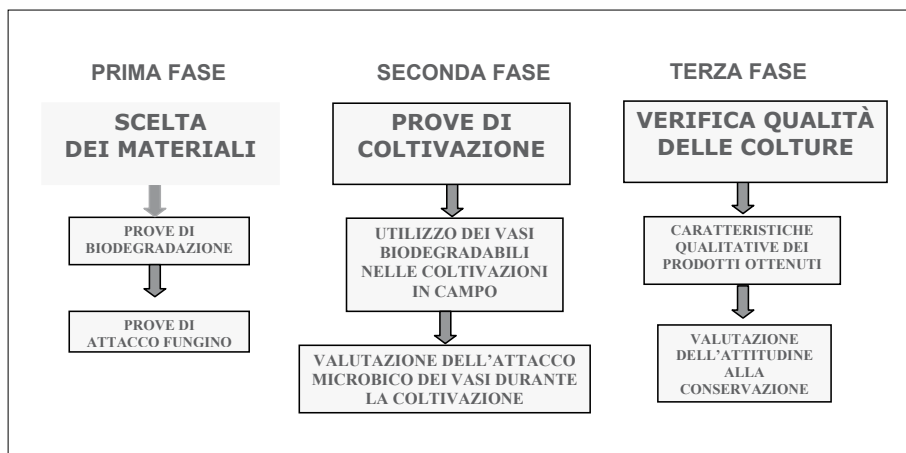
Questo progetto di ricerca nasce dalle grosse problematiche legate allo smaltimento delle materie plastiche utilizzate per la coltivazione e il mantenimento di piante, dalla possibilità di utilizzare scarti delle lavorazioni alimentari e agricole ed infine dalla possibilità di espansione delle aziende italiane, del settore, su mercati europei che mal sopportano contenitori non biodegradabili.

Per dare una risposta a queste problematiche ci si è avvalsi di due aziende MEDIFLOR ed Organizzazione Agricoltura per la sperimentazione industriale e di tre unità operative di ricerca: due dell'Università degli Studi di Salerno che si sono occupate rispettivamente delle problematiche di stampaggio dei materiali biodegradabile (referente scientifico prof. Giuseppe Titomanlio), delle degradazioni ad opera di microrganismi e della qualità dei prodotti coltivati nei contenitori biodegradabili (referente scientifico prof. Marisa Di Matteo) ed una dell'Università degli Studi della Basilicata che si è occupata dei sistemi di coltivazione in contenitori biodegradabili (referente scientifico prof. Vito Miccolis).

INTRODUZIONE

I materiali polimerici sono utilizzati in numerose applicazioni industriali grazie a proprietà quali la facilità di produzione, basso costo e alto rapporto tra resistenza meccanica e densità. Molti di questi materiali mantengono costanti tali proprietà anche per periodo, che in genere supera il periodo di vita del prodotto finito. Pertanto i rifiuti plastici costituiscono una delle principali cause di inquinamento ambientale. Le soluzioni al problema si sviluppano su due grandi li-

* *Dipartimento di Ingegneria Chimica e Alimentare, Università di Salerno*

Tab. 1 *Flow-sheet della sperimentazione*

nee: il riciclaggio delle materie plastiche e la realizzazione di materiali polimerici “biodegradabili” che possano essere ridotti in molecole a basso peso molecolare dalla luce, dall’acqua o dai microrganismi. Quest’ultima linea risulta la più promettente in campo agro-alimentare, in quanto il materiale plastico è direttamente riutilizzabile come materiale per la produzione di compost (Chiellini e Miertus, 2001; Davis e Song, 2006; Vert et al., 1992).

Uno degli obiettivi della ricerca era la valutazione delle caratteristiche di vasi e contenitori per il florovivaismo e la coltivazione ottenuti da scarti dell’agro-alimentare con caratteristiche adatte alla crescita e allo sviluppo di piante e, cosa tutt’altro da trascurare, con bassi costi.

I materiali valutati sono stati ottenuti attraverso la miscelazione di scarti provenienti dall’industria agroalimentare e materiali non amidacei ed i test effettuati su questi materiali sono stati: prove di attacco fungino (con ceppi fungini selezionati), test di disintegrazione nel terreno e in condizioni di compostaggio, test di compostaggio controllato e in condizioni umide.

Sono state scelte poi varie tipologie di piante con sistemi colturali differenti, ed infine vi è stata la verifica delle colture ottenute sia con i vasi del materiale biodegradabile scelto sia con vasi di polipropilene tradizionali.

MATERIALI E METODI

I materiali polimerici biodegradabili considerati sono stati prodotti con differenti scarti delle industrie agro-alimentari e in differenti percentuali. In partico-

lare sono stati considerati i seguenti campioni: 1) M01: bio-polimero di base senza amido, non caricato con fibre vegetali; 2) M60: bio-polimero di base senza amido, non caricato con fibre vegetali; 3) TGNP 5%: bio-polimero di base senza amido, caricato con il 5% di fibre vegetali; 4) TGNP 20%: bio-polimero di base senza amido, caricato con il 20% di fibre vegetali; 5) M12: bio-polimero di base senza amido e caricato con compost; 6) PP: polimero tradizionale (polipropilene).

Su tali materiali sono state effettuate:

1) prove di attacco fungino, secondo le metodiche ufficiali UNI EN ISO 846/1999, con ceppi fungini selezionati: *trichoderma virens*, *Penicillium pinophilum*, *Aspergillumniger*, *Chaetomium globosum*, *Paecilomycesvariotii*;

2) test di disintegrazione nel terreno e in condizioni di compostaggio: test eseguito su campioni 2 x 2 cm interrati in terreni a diversi pH 6,8 (neutro) e 4 (acido) a temperatura ambiente, prelevati a tempi diversi e determinata la perdita di peso; mentre in condizioni di compostaggio i provini ottenuti sono stati mescolati, in un opportuno reattore, con 1 kg di rifiuto fresco sintetico di composizione nota, che riproduce il comportamento fermentativo di un rifiuto organico che si trasforma in compost.

I residui di materiale sono stati puliti e condizionati a 40°C ed infine determinata la percentuale di disintegrazione (secondo la norma, la prova è considerata valida se i valori percentuali di disintegrazione non differiscono più del 10% e se la riduzione % dei solidi volatili fra inizio e fine prova è uguale o maggiore al 30%);

3) test di compostaggio controllato e in condizioni umide: metodo standard ISO/DIS 14855 in accordo con la norma UNI10785 e si basa sulla determinazione della CO₂ rilasciata dalla decomposizione microbiologica del carbonio organico del materiale di prova (prova estesa a 45 gg come previsto dalla norma); nel test di compostaggio in condizioni umide prevede lo svolgimento della prova appena descritta ma seguita da una misurazione della biodegradabilità in mezzo acquoso (ISO/DIS 14855);

4) test di ecotossicità (tossicità acuta su lombrichi e % germinazione di semi): il compost, ottenuto dalle prove di compostaggio, è stato sottoposto alle prove di ecotossicità su piante e lombrichi e successivamente valutato l'indice di germinazione dei semi secondo la norma UNI10780 e la percentuale dell'effetto tossico sui lombrichi; 5) valutazione della diminuzione di spessore e della carica microbica totale (metodo UNI EN ISO 846/1999) dei materiali polimerici biodegradabili, in confronto ai materiali polimerici tradizionali, durante la coltivazione in serra.

Per valutare la possibilità di utilizzare i polimeri biodegradabili per la col-

LETTURA DELLE PIASTRE (*):		TEMPO 0 gg		TEMPO 15 gg		TEMPO 30 gg	
CAMPIONI	N° PROVE	METODO A	METODO B	METODO A	METODO B	METODO A	METODO B
Campione contaminato	6	0	0	1	2	2	3
Campione Controllo	6	0	0	0	0	0	0
Campione sterile	6	0	0	0	0	0	0
Controllo positivo	Semina su 5 ceppi Std	-	-	Sviluppo copioso	Sviluppo copioso	Sviluppo copioso	Sviluppo copioso
Controllo negativo	Solo terreno (senza ceppi)	-	-	Nessuna crescita	Nessuna crescita	Nessuna crescita	Nessuna crescita

Tab. 2 Prove di attacco fungino su materiali biodegradabili

N° PROVA (IN REATTORE)	MASSA INIZIALE m_0 l (gr) T=0gg	MASSA FINALE m_0 l (gr) T=91gg	% DISINTEGRAZIONE
1	18,22	0	100
2	15,30	0	100
3	18,34	0,66	96,4

Tab. 3 Test di disintegrazione in condizioni di compostaggio

tivazione di piante e, sul loro impatto sulla qualità dei prodotti ottenuti sono state scelte per la coltivazione i vegetali di seguito riportati: angurie, salvia, rosmarino, basilico, melone e stella di natale. Su queste piante coltivate in contenitori tradizionali (PP) e biodegradabili sono state effettuate analisi chimico-fisiche e sensoriali e analisi di immagine e al microscopio ottico sui materiali dei contenitori, durante e alla fine dei periodi di coltivazione.

RISULTATI E DISCUSSIONI

Sui materiali biodegradabili, allo scopo di valutare la crescita microbica e dunque l'attitudine ad essere degradati, sono state effettuate prove di attacco fungino. I risultati ottenuti sono riportati in tabella 2.

La disintegrazione nel terreno (tab. 3) del materiale M01, calcolata come perdita di peso percentuale, ha mostrato in condizioni di compostaggio in reattore la perdita totale di massa del materiale M01. In tali condizioni la perdita di massa si è ottenuta in 91 giorni.

Dal test di compostaggio, si osserva che il materiale M01 segue lo stesso andamento del riferimento (cellulosa). Le percentuali di biodegradazione dei

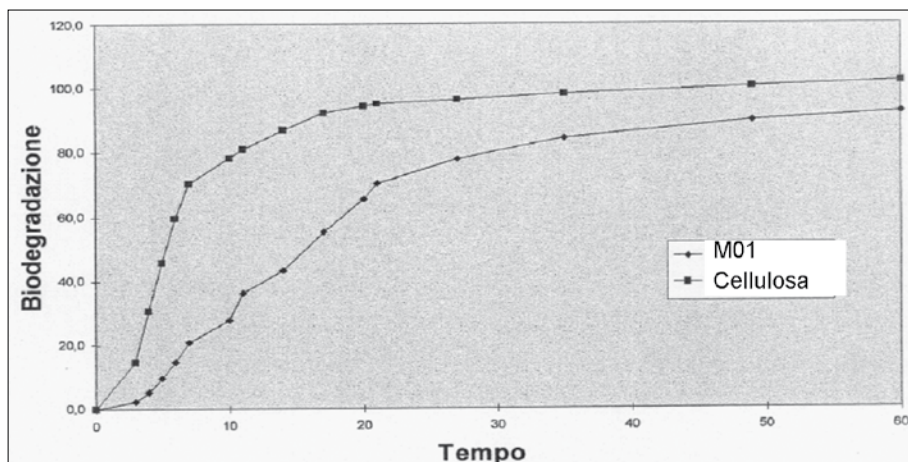


Fig. 1 Test di Compostaggio in condizioni umide: confronto tra M01 e cellulosa (riferimento)

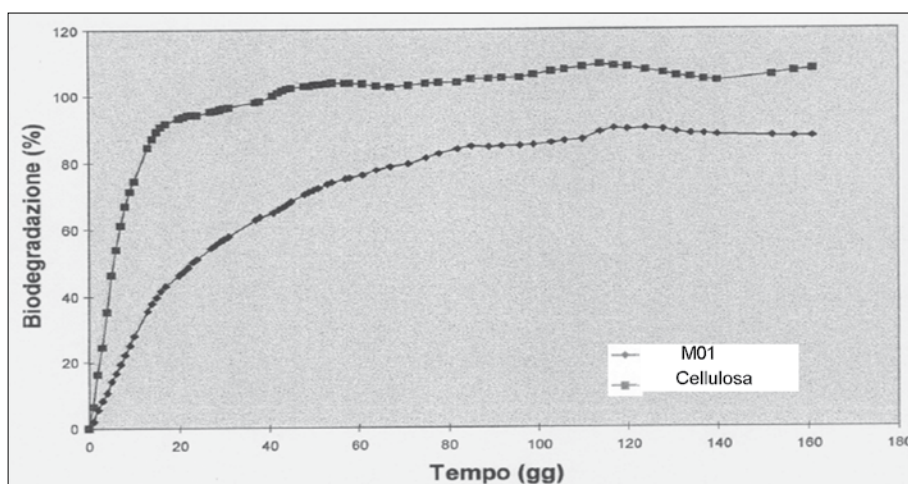


Fig. 2 Test di Compostaggio Controllato, confronto tra M01 e cellulosa (riferimento)

materiali M01 e cellulosa raggiungono il 90 e il 100% a 120 giorni, rispettivamente.

Il test di ecotossicità è stato effettuato su lombrichi a percentuali crescenti di compost (ottenuto dal materiale M01) e, come riferimento, dalla cellulosa (fig. 2).

La tossicità sui lombrichi aumenta all'aumentare della percentuale di compost: si raggiunge il 60% circa di mortalità all'80% di concentrazione di compost contro il 20% di mortalità nel caso della cellulosa.

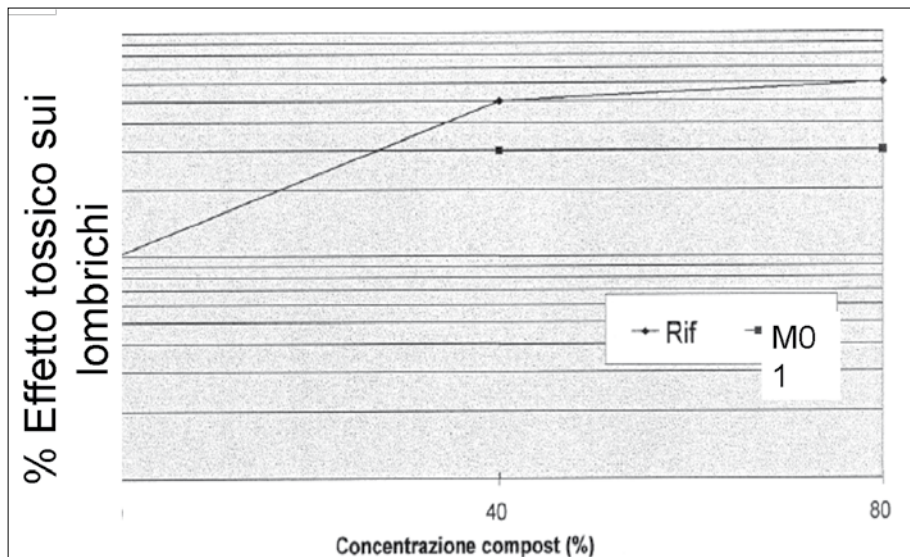


Fig. 3 Test di ecotossicità; effetto tossicità sui lombrichi in funzione della concentrazione di compost tra cellulosa (rif) e il materiale MO1

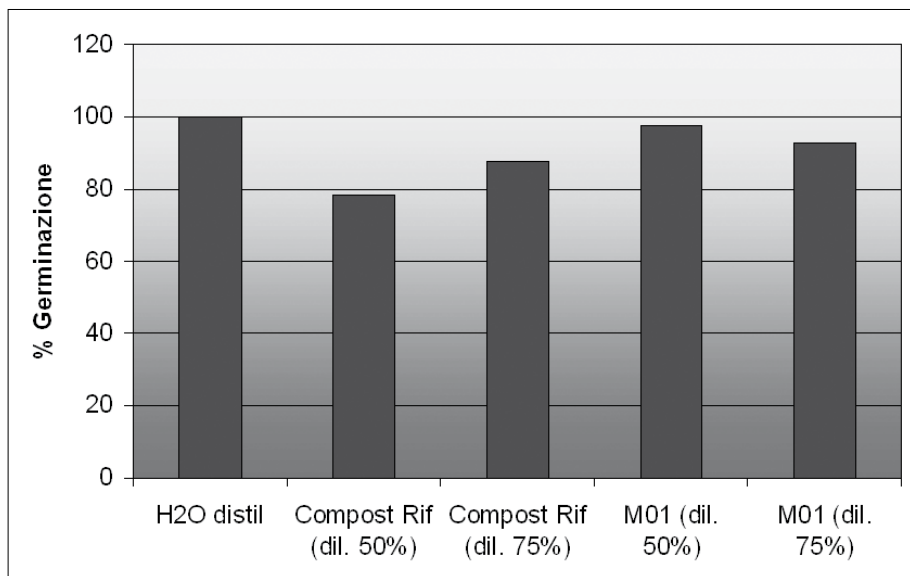


Fig. 4 Test di ecotossicità: % di germinazione di semi in acqua a confronto su compost di riferimento e compost ottenuto da materiale MO1



Fig. 5 *Valutazione dello stato di degradazione dei vasi in TGNP 5% e 20%, M12 e PP utilizzati per le coltivazioni di piante ornamentali*

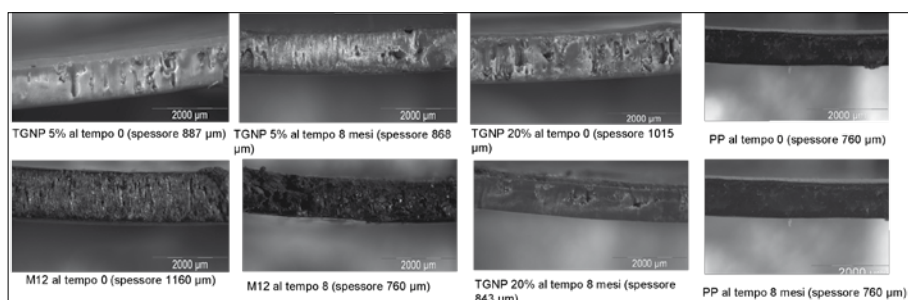


Fig. 6 *Valutazione al Microscopio Ottico del materiale polimerico durante la coltivazione in serra*

Nel caso della germinazione di semi (fig. 3), il materiale M01 ha mostrato una germinazione circa uguale a quella che si ottiene in acqua distillata. Tale % diminuisce leggermente ad una percentuale maggiore di compost.

Per quanto riguarda il materiale M60 è stato ottenuto: disintegrazione del 100% in condizione di compostaggio in 45gg; disintegrazione in suolo in un tempo inferiore all'anno; biodegradazione del 79% in suolo fertile, rispettivamente alla cellulosa che fornisce un valore del 90%; disintegrazione del 100% in 180 gg in condizioni di compostaggio freddo (temperatura ambiente) come riportato in tabella 3. Le stesse valutazioni non sono state effettuate per i materiali caricati con fibre o compost in quanto l'introduzione della carica, essendo

COMPOUNDS	MI 2	20% TGNP	5% TGNP	PP
	AREA %	AREA %	AREA %	AREA %
Monoterpens	4,26	18,19	15,82	33,5
Sesquiterpens	9,97	8,56	4,98	8,46
Oxygenated compounds (O.C.)	83,15	72,34	78,73	57,54
Ketons in O.C.	35,55	34,01	38,32	28,83
Alcohols in O.C.	20,39	10,46	11,62	8,69

Tab. 4 Area % dei composti aromatici di piante di Rosmarino coltivate in contenitori tradizionali e biodegradabili

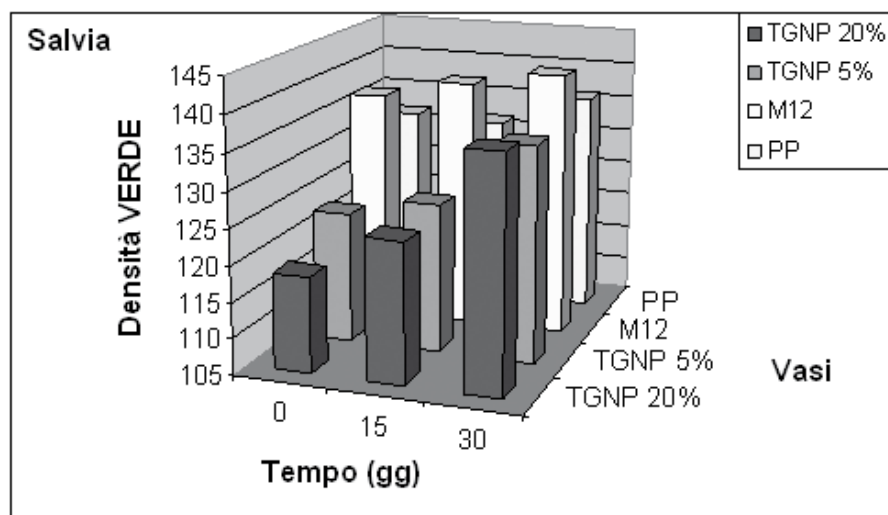


Fig. 7 Densità del verde di piante di Salvia coltivate in contenitori tradizionali e biodegradabili

di origine vegetale, non produce effetti diversi da quelli del materiale puro. Durante le prove di coltivazione in campo sono stati effettuati prove di attacco fungineo (tabella 2) risultando che i campioni di materiale biodegradabile venivano attaccati sin dai primi giorni. Una valutazione visiva della degradazione dei vasi biodegradabili può essere notata in figura 5, dove i vasi dopo quattro mesi di coltivazione mostrano danni molto accentuati per i campioni contenenti gusci di nocciola e compost mentre i vasi di propilene non mostrano alcuna degradazione. È stata effettuata anche una valutazione dello spessore dei vasi tra inizio e fine coltura: la maggiore diminuzione di spessore si è ottenuta per il vaso M12 con un valore del 35%, contro il 3% del vaso TGNP 5% e il 17% per il vaso TGNP 20%, mentre non si è avuta alcuna diminuzione per i contenitori in polipropilene come si può notare in figura 6.

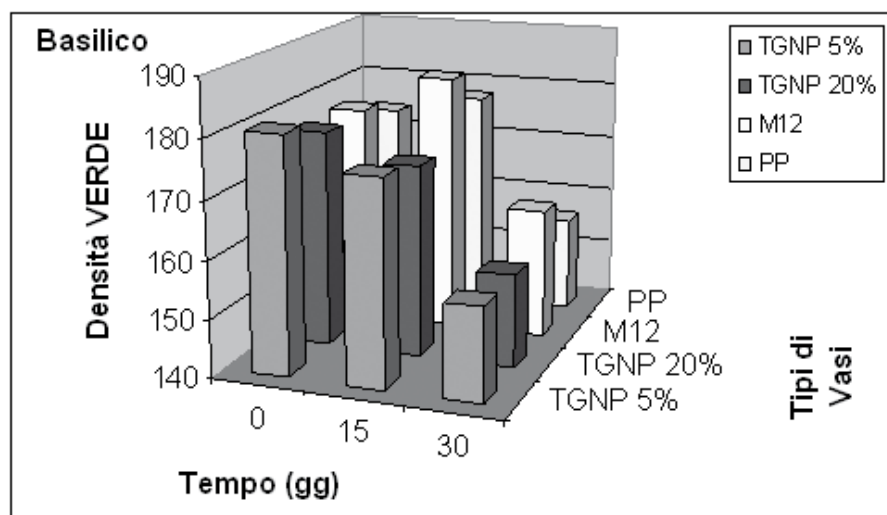


Fig. 8 *Densità del verde di piante di Basilico coltivate in contenitori tradizionali e biodegradabili*

Sono state effettuate anche analisi per evidenziare eventuali differenze tra le piante aromatiche coltivate con i sistemi tradizionali e quelle ottenute con contenitori biodegradabili.

Alcuni risultati sono riportati nelle figure 7, 8 e nella tabella 4. Dall'analisi dei risultati riportati, si nota che non vi sono differenze apprezzabili fra i contenitori biodegradabili e tradizionali tranne che per i vasi ottenuti da compost che migliorano apprezzabilmente la qualità delle piante in essi coltivate.

CONCLUSIONI

Il materiale M01, avendo mostrato una biodegradazione in condizioni di compostaggio superiore al 50%, soddisfa i requisiti di biodegradazione della norma UNI 10785 "compostabilità dei materiali plastici", e il materiale M60, avendo mostrato una disintegrazione del 100% in 45 gg, soddisfa anch'esso i requisiti di disintegrazione in compostaggio della medesima norma.

Dalle prove di attacco fungino è emerso che tutti i materiali mostrano un attacco visibile ad occhio nudo e ricoprente la superficie fino ad un valore del 60% della superficie, il che dimostra la degradabilità di questi materiali a contatto con il terreno.

Dalle prove di coltivazione è emerso che i vegetali coltivati nei contenitori

biodegradabili possedevano le stesse caratteristiche di qualità dei campioni coltivati in modo tradizionale.

Addirittura per i campioni di piante aromatiche coltivate in contenitori ottenuti da compost (M12) si notava un colore più brillante ed un aroma più intenso (Albanese et al., 2007) con una maggiore crescita delle piantine.

RIASSUNTO

In questa ricerca è stata valutata la rispondenza dei manufatti biodegradabili ottenuti da scarti di produzione agro-alimentari alle norme di riferimento UNI 10785 "compostabilità dei materiali plastici". È stato valutato l'attacco fungino su vasi ottenuti dai materiali biodegradabili e la loro efficienza ad essere utilizzati nel campo dell'agricoltura. I risultati ottenuti mostrano una degradazione inferiore all'anno e che il loro utilizzo non influenza in modo negativo la coltivazione di prodotti ortofrutticoli. In alcuni casi, come per i materiali ottenuti con compost, hanno caratteristiche paragonabili o superiori a quelli dei prodotti coltivati in contenitori in PP tradizionali.

ABSTRACT

In this research it has been evaluated the correspondence of manufactured biodegradables obtained from the agricultural and food production waste according to standards of the referement UNI 10785 "Compostability of plastic materials ases and their efficiency to be used in the sector of agriculture.

The achieved results show degradation lower than 1 year and their usage doesn't influence negatively the cultivation of fruit and vegetable products.

In some cases, as the materials made with compost, they have the characteristics comparable or superior to the products cultivated in traditional PP vases.

BIBLIOGRAFIA

- ALBANESE D., ALFANO K., ATTANASIO G., DI MATTEO M. (2007): *Influence of biodegradable pot on flavour developed from aromatic plant*, Effost/ EHEDG Joint Conference, Lisbon, Book of abstract n° 54.
- ALBANESE D., DI MATTEO M., TOSIN M., FARACHI F. (2008): *Valutazione della biodegradabilità e compostabilità di contenitori per l'agro-industria*, «Industrie Alimentari», Anno 47, n° 484, pp. 972-975.
- CARRUBBA A., LA TORRE R., PICCAGLIA R., MAROTTI M. (2002): *Characterization of an Italian biotype of Clary Sage (Salvia sclarea L.) grown in a semi-arid Mediterranean environment*, «Flavour and Fragrance Journal», 17, pp. 191-194.
- CHIELLINI E., MIERTUS S. (2001): *An outline on environmentally degradable polymeric materials and plastics - state of art on future*, «Perspectives», EPF Special Issue, pp. 66-71.

- DAVIS G., SONG J.H. (2006): *Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management*, «Industrial Crops and Products», 23, pp. 147-161.
- VERT M., FEIJEN J., ALBERTSSON A., SCOTT G., CHIELLINI E. (1992): *Biodegradable Polymers and Plastics*, Royal Society of Chemistry, Wiltshire, UK.

Problematiche di stampaggio di materiali biodegradabili

INTRODUZIONE

L'impiego di materiali polimerici nell'ambito delle attività agricole è ormai consuetudine in tutti i paesi aventi un settore agricolo altamente specializzato e meccanizzato e in grado di recepire i risultati della continua innovazione dei materiali e delle tecniche colturali. Il crescente utilizzo delle materie plastiche in agricoltura impone una seria riflessione non solo sulla programmazione della gestione del fine vita dei materiali polimerici, ma anche e soprattutto sulla loro origine. La ricerca scientifica in questo ambito è indirizzata alla individuazione di materiali biodegradabili e/o compostabili, in grado di apportare vantaggi sia di carattere ambientale sia di carattere economico agli attuali cicli colturali: la biodegradazione potendo essere sfruttata come proprietà funzionale a beneficio delle tecniche colturali, e la compostabilità a beneficio di uno smaltimento nel rispetto dell'ambiente, mediante la trasformazione in humus per il terreno. Ci sarebbero, inoltre, vantaggi anche dal punto di vista tecnologico grazie alla possibilità di effettuare i trapianti di piantine senza svasamento. Dal punto di vista dell'origine i materiali biodegradabili possono essere classificati in tre famiglie: quelli naturali (derivanti da amido, cellulosa, chitosano), quelli sintetici (poliesteri e co-poliesteri alifatici e alifatici-aromatici quali ad esempio il policaprolattone e l'acido polilattico) e in fine quelli di origine microbica (i polioidrossialcalonati). Nell'ambito dei polimeri biodegradabili di origine sintetica, ci sono poi prodotti i cui monomeri sono ottenuti da fonti rinnovabili (es. l'acido lattico impiegato per la produzione di acido polilattico); questi materiali, dunque oltre al requisito della biodegradabilità rispondono anche a quello della provenienza da fonti rinnovabili.

* *Dipartimento di Ingegneria Chimica e Alimentare, Università di Salerno*

Tutti i materiali polimerici sono esposti a processi di degradazione nel corso della loro vita, sia durante la fase di processo sia durante il normale utilizzo. Tuttavia, i tempi vita dei manufatti realizzati con polimeri di origine sintetica, sono di gran lunga superiori al tempo di utilizzo dei manufatti, richiedono quindi lo smaltimento attraverso il riciclo o in larga parte mediante il conferimento in discarica. I polimeri biodegradabili costituiscono un'interessante alternativa per la risoluzione dei problemi di inquinamento ambientale. Tali polimeri, tuttavia, presentano notevoli problematiche connesse alla loro processabilità. La caratteristica di biodegradabilità è legata alla presenza di legami deboli e idrolizzabili (Chandra e Rustgi, 1998; Chasin e Langer, 1990). I polimeri biodegradabili subiscono significative variazioni nella struttura chimica per azione di agenti biologici in specifiche condizioni ambientali, ma soprattutto in tempi paragonabili ai tempi di utilizzo. Questo ovviamente rende le caratteristiche (meccaniche e reologiche prima di tutto) di questi polimeri estremamente sensibili alle condizioni di stoccaggio, di processo e di utilizzo (La Mantia et al., 2002). Il loro impiego, come già accennato, si sta ampiamente diffondendo nell'ambito dell'ingegneria ambientale (agricoltura e packaging alimentare), ma anche in campo biomedico (protesi temporanee e rilascio di farmaci).

Oggetto del presente lavoro è l'individuazione di polimeri biodegradabili più idonei alla produzione di vasi mediante il processo di stampaggio a iniezione.

I. MATERIALI E METODI

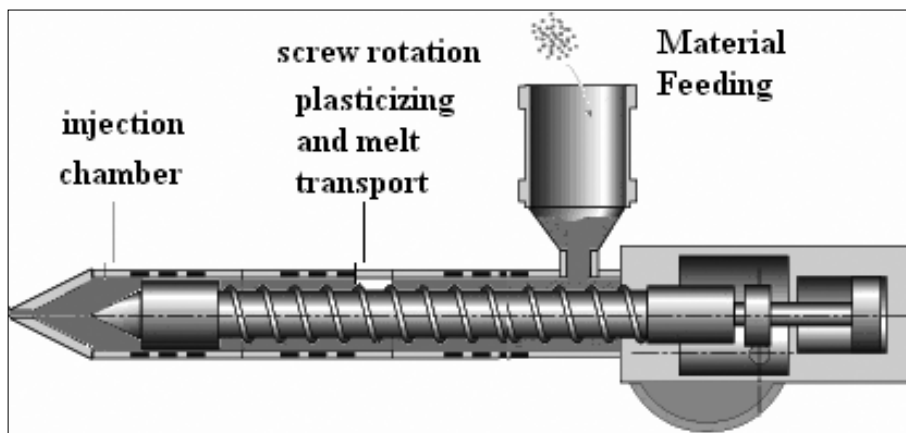
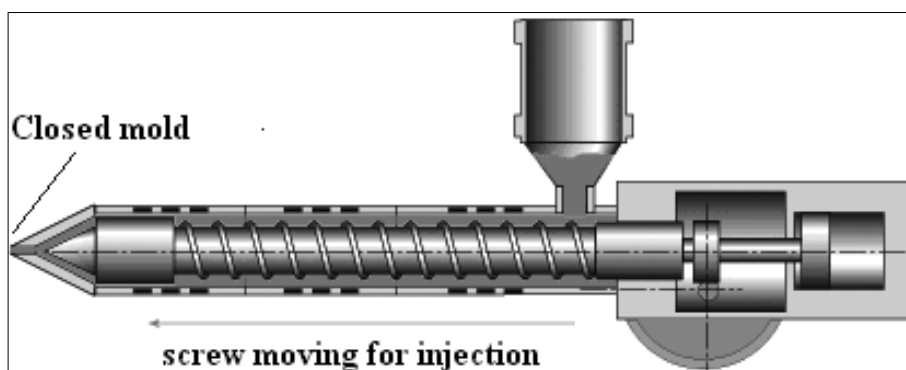
I.1 *Lo stampaggio a iniezione*

Lo stampaggio a iniezione dei materiali termoplastici è la tecnologia più diffusa nella trasformazione delle materie plastiche. Si producono, in modo discontinuo, pezzi di forma e dimensioni diverse e dal peso variabile da pochi grammi a svariati chili. Una pressa per lo stampaggio a iniezione è costituita da tre componenti fondamentali:

- unità di iniezione;
- stampo;
- sistema di chiusura.

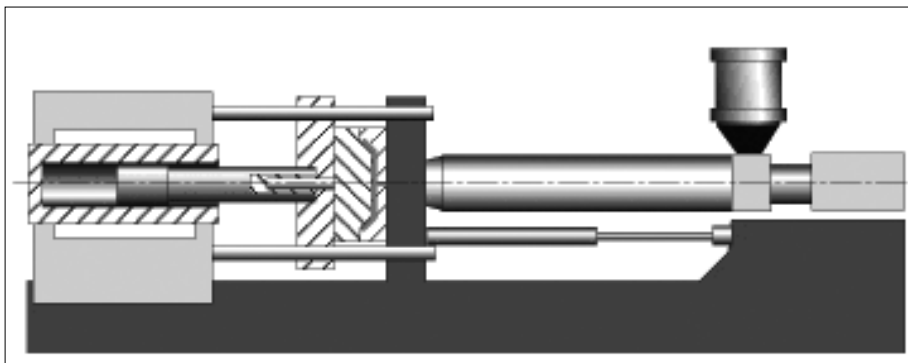
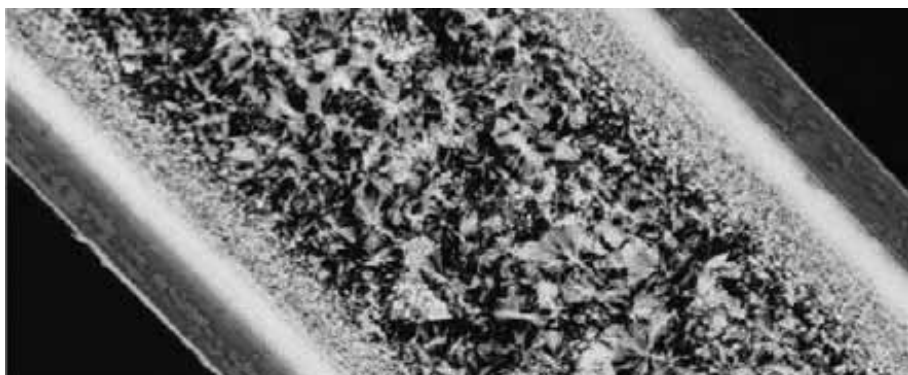
Il ciclo di stampaggio a iniezione può essere riassunto nelle seguenti fasi:

- *Plastificazione*: il materiale viene caricato nel cilindro di plastificazione all'interno del quale scorre una vite che può sia ruotare che traslare. La

Fig. 1 *Plastificazione*Fig. 2 *Iniezione*

vite e il cilindro riscaldato contribuiscono alla plastificazione del materiale in granuli e la vite traslando, realizza l'iniezione in cavità.

- *Iniezione*: il materiale fluido, giunto nella camera d'iniezione, viene iniettato tramite traslazione della vite a una certa velocità, all'interno dello stampo. Affinché si possa realizzare una corretta iniezione, il materiale non deve essere eccessivamente viscoso.
- *Mantenimento*: riempita la cavità il polimero viene tenuto in pressione allo scopo di compensare, con altro materiale, l'aumento della densità conseguente alla diminuzione di temperatura. La pressione varia nel tempo e normalmente raggiunge centinaia di atmosfere.

Fig. 3 *Mantenimento*Fig. 4 *Distribuzione morfologica di un manufatto ottenuto per stampaggio a iniezione*

- *Apertura stampo*: apertura dello stampo ed estrazione del pezzo tramite estrattori. La vite nel frattempo arretra per caricare il materiale per il ciclo successivo.

Il comportamento reologico allo stato fuso è fondamentale per l'orientazione e la morfologia che si sviluppano ed è soprattutto importante durante la fase di solidificazione del materiale. Va ricordato che la solidificazione del materiale all'interno della cavità stampo avanza dalla superficie verso l'interno, dando luogo a una morfologia complessa e disomogenea. Un esempio di distribuzione di morfologia di un manufatto realizzato mediante stampaggio a iniezione è riportato in figura 4.

Le valutazioni di idoneità dei materiali sono state dunque fatte sulla base della processabilità (proprietà reologiche e riempimento della cavità

SIGLA MATERIALE	COMPOSIZIONE
M00	Poliestere (SB) semicristallino non amidaceo
M01	Poliestere (SB)semicristallino non amidaceo
M05	M01/GNP 50/50 w/w
M06	M01/GNP 40/60 w/w
M05/S ₆₀ *	M01/S 40/60 w/w
M05/K	M01/K 50/50 w/w
M09	M01/GNP 50/50 w/w + distaccante (3% sul totale)
M16	M01/GNP 50/50 w/w + distaccante + miglioramento superficiale
M17	M01/GNP 60/40 w/w + distaccante + miglioramento superficiale
M60 (M60/50 e M60/80)	Poliestere (EG) semicristallino non amidaceo (il 2° numero indica la Melt Flow Rate)
M60/TGNP-5	M60/50 (60%)+T (35%)+ GNP (5%)
M60/TGNP-20	M60/50 (60%)+T (20%)+ GNP (20%)
M12	M01/Compost 50/50 w/w

Tab. 1 *Materiali destinati allo stampaggio a iniezione*

stampo) e in termini di proprietà finali (proprietà meccaniche di provini realizzati a partire da bio-vasi sia nuovi sia in seguito a interrimento con diverse colture).

I materiali analizzati sono riportati nella tabella 1, nella quale vengono indicati sia il nome dato alla miscela che la sua composizione.

Le sigle GNP, S, K, T stanno a indicare, rispettivamente, polvere di gusci di nocciola piemontese (100-400 μm), tegumento di soia essiccato e polverizzato (100-400 μm), tegumento di caffè essiccato, macinato e pellettizzato, e infine talco micronizzato. I materiali M00 e M01 sono puri, non amidacei, e hanno un diverso peso molecolare (il materiale M01 è quello che ha il peso molecolare maggiore), il materiale M60 è anch'esso puro, non a base di amido e con un peso molecolare ancora più alto del materiale M01.

1.2 *Caratterizzazione reologica*

Al fine di valutare la processabilità e la stabilità termica dei diversi materiali polimerici, sono state condotte prove reologiche sia mediante reometro a capillare (Bohlin Flowmaster) con rapporto L/D di 16, sia mediante reometro rotazionale SR5000 (Rheometric Inc.), fissando una geometria piatto-cono (R=25 mm, gap=0.0508 mm), in atmosfera di azoto. Il materiale è stato sottoposto a preconditionamento:

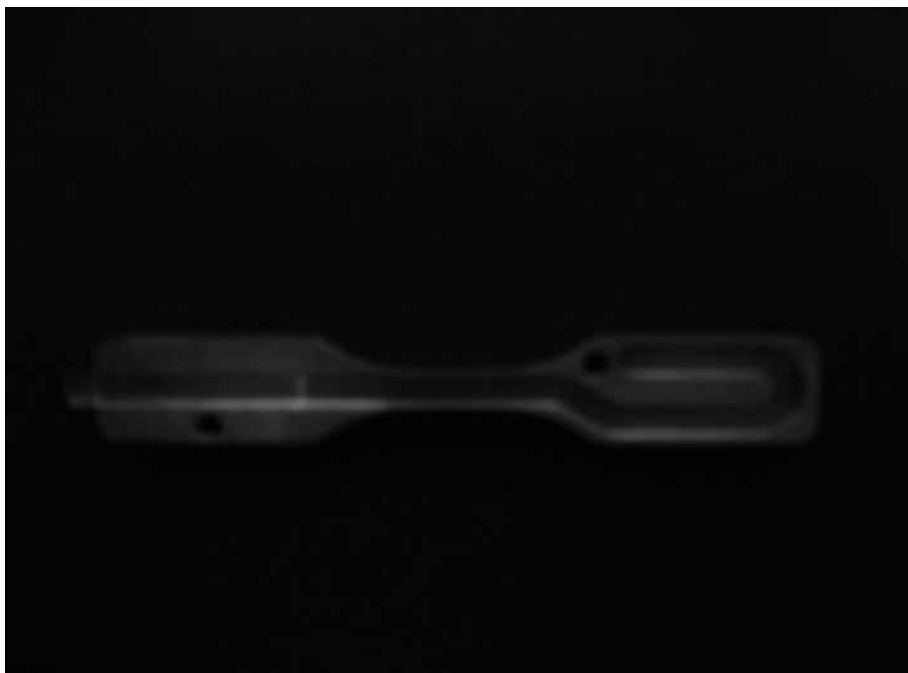


Fig. 5 *Stampo a spirale*

- condizionamento “nd”: 60% umidità relativa e temperatura ambiente (25°C) per una settimana. La sigla “nd”, sta a indicare che il campione non è stato essiccato;
- essiccamento sotto vuoto a temperatura ambiente per 48h. Questo tipo di pre-condizionamento sarà in seguito indicato come “d48”.

Dopo il trattamento di pre-condizionamento sono state misurate la viscosità in flusso di shear e la viscosità complessa nel fuso alle temperature di 140-160-180°C.

1.3 *Riempimento dello stampo*

Per quanto riguarda le prove di stampabilità, è stato progettato e realizzato uno stampo particolare. Si tratta di uno stampo che funziona da spirale irregolare di dimensioni ridotte (spessore 0.5mm, larghezza 2.6 mm, lunghezza circa 85 mm) (fig. 5). Quanto più il materiale da studiare riesce a riempire la spirale, tanto più esso risulta facilmente processabile. Se, invece, il materiale percorre poco spazio nella spirale, esso risulta poco adatto allo stampaggio

Temperatura di iniezione	140 °C
Temperatura stampo	30 °C
Tempo di iniezione	10 s
Pressione di iniezione	variabile da 100 a 800 bar

Tab. 2 *Condizioni operative delle prove di stampaggio a iniezione*

perché i manufatti stampati potrebbero risultare incompleti o potrebbero richiedere pressioni di esercizio molto elevate. In figura 5 si riporta la vista dello stampo con l'impronta che funziona da spirale irregolare.

Il riepilogo delle condizioni operative delle prove di stampaggio è riportato in tabella 2.

1.4 *Caratterizzazione meccanica*

La resistenza dei materiali alle varie sollecitazioni è stata misurata con delle prove meccaniche. La più importante prova convenzionale meccanica è la prova di trazione. È stata eseguita su ogni materiale allo scopo di rilevare le caratteristiche di *resistenza, deformabilità e di elasticità*, indici di confronto che consentono la formulazione di giudizi relativi allo stato del materiale e alle possibilità del suo impiego.

Le caratteristiche rilevabili da questo tipo di prova sono le seguenti:

- il carico di rottura che definisce il rapporto tra il carico che provoca la rottura del provino e la sezione iniziale del provino stesso;
- l'allungamento a snervamento e a rottura, che rappresentano, rispettivamente, la fine del campo elastico lineare e il valore limite cui il materiale può essere deformato prima di rompersi;
- il modulo a trazione, che rappresenta la pendenza iniziale della curva sforzo deformazione nel campo elastico lineare.

Sono state eseguite prove meccaniche a trazione mediante dinamometro Instron modello 4301, su provini a geometria rettangolare [dimensioni 12 x 90 mm], ricavati mediante fustella. Le prove sono state condotte con una cella di carico di 1 kN.

Le prove di trazione sono state effettuate su campioni preconditionati. Il modulo elastico, l'allungamento e lo sforzo a rottura, sono stati misurati in funzione del tempo d'esposizione e dell'umidità. È stata impostata una doppia velocità di avanzamento della traversa; 5 mm/min fino a un allungamento del 10% per la valutazione del modulo elastico, e poi una successiva velocità di 50 mm/min, per la misurazione delle proprietà ultime (sforzo e deforma-

Grandezze misurate	Corsa massima traversa	Velocità avanzamento traversa	Cella di carico	Morsetti
Modulo elastico [MPa], Sforzo a rottura [MPa], allungamento a rottura [%]	508 [mm]	Prima Velocità: 5 [mm/min] fino al raggiungimento di 1 [mm] di allungamento del provino (determinazione del modulo elastico) Seconda Velocità 50 [mm/min] al fine di determinare le proprietà ultime (sforzo e allungamento a rottura)	1 [KN]	meccanico

Tab. 3 *Protocollo sperimentale per le prove al dinamometro*

zione percentuale a rottura) dei campioni. Le condizioni operative adottate nei test sono riassunte nella tabella 3. Per ciascun materiale, sono stati testati almeno dieci provini.

2. RISULTATI E DISCUSSIONI

2.1 *Reologia*

In figura 6 è riportata una prova di stabilità termica al reometro rotazionale per i materiali M00 (sinistra) e M01 (destra). Le misure hanno evidenziato la scarsa stabilità del materiale M00 ad alta temperatura: dopo circa 100s, la sua viscosità subisce un decremento di un fattore circa due, mentre il materiale M01 è risultato essere nettamente più stabile alle alte temperature.

Le prove reologiche condotte sul materiale M00 hanno mostrato che questo materiale subisce una degradazione rilevante: in tempi dell'ordine di quelli di processo, la viscosità diminuisce quasi di un fattore due; tale effetto aumenta notevolmente in presenza di umidità. Dunque, l'M00 subisce considerevolmente l'effetto del preconditionamento (sottovuoto e a umidità ambiente). Quindi, il materiale non può essere considerato idoneo allo stampaggio industriale. Al contrario, le prove condotte sull'M01 hanno mostrato che il materiale ha una viscosità più alta dell'M00. Esso può essere considerato idoneo allo stampaggio industriale dal momento che mostra un comportamento reologico del tutto in linea con quello tipico dei polimeri comunemente impiegati per lo stesso processo; inoltre si è osservato che la degradazione, alle temperature di processo e in diverse condizioni di umidità, è sufficientemente lenta.

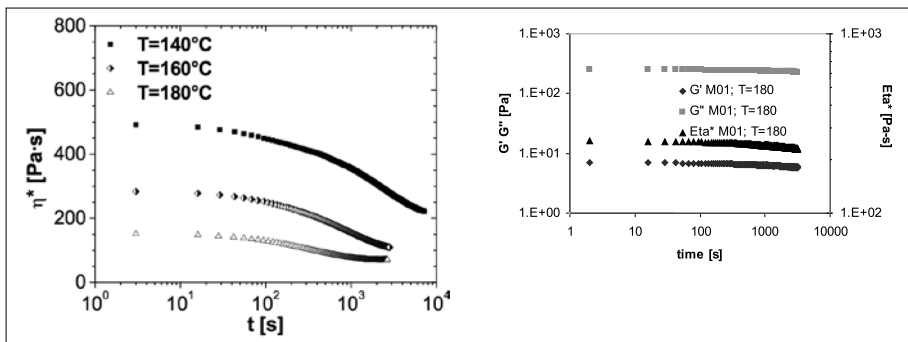
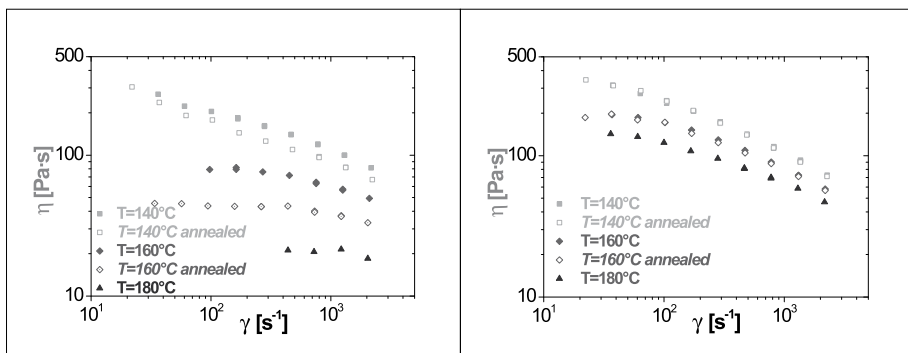


Fig. 6 Prove di stabilità termica al reometro rotazionale per i materiali M00 (sinistra) e M01 (destra)

"M00 nd"

"M01 nd"



"M00 d48"

"M01 d48"

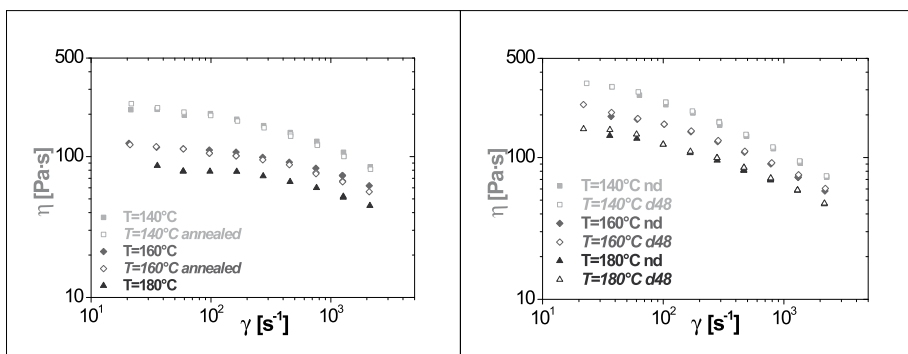


Fig. 7 Prove al reometro rotazionale per i materiali M00 e M01 sia in condizioni di precondizionamento e sottoposti ad annealing

Poiché nei processi di trasformazione dei polimeri vengono raggiunte alte velocità di deformazione, l'effetto della velocità di deformazione sulla viscosità in dipendenza della storia di pre-condizionamento è stata analizzata attraverso misure al reometro a capillare.

Dalla figura 7 si osserva che il materiale M00 mostra una riduzione della viscosità in seguito ad annealing; mentre i campioni sottoposti a essiccamento presentano una maggiore stabilità termica. Per il materiale M01, invece, non si rilevano significative variazioni di viscosità in seguito ad annealing o pre-condizionamento.

Per la miscela M05 si è potuto constatare che l'aggiunta di GNP provoca un aumento della viscosità in tutto l'intervallo di frequenze esaminato. Prove di stabilità termica effettuate alla temperatura di 170 °C (10 °C in meno rispetto a quella di M01 e M05) per i materiali contenenti soia e caffè hanno evidenziato un comportamento poco stabile delle miscele già dopo 100 secondi. In particolare per il materiale contenente tegumento di caffè, si è osservata una riduzione di viscosità di un fattore circa due, per quello a base di soia si ha una diminuzione pari a un ordine di grandezza.

Dai confronti effettuati è risultato che la migliore carica è quella costituita da gusci di nocciola piemontese, pertanto è stata condotta una campagna di sperimentazione mirata a individuare la migliore percentuale di tale carica, da un punto di vista reologico. È stato osservato che all'aumentare della carica, la viscosità assume valori molto maggiori, anche nel campo dei gradienti elevati che interessano le operazioni di stampaggio. In conclusione tra i materiali con la sigla iniziale M05, quello che risulta più idoneo al processo di stampaggio è la miscela M05. Tale materiale infatti ha una buona curva di viscosità e presenta la migliore stabilità termica.

Una volta stabilito che la carica migliore è costituita da gusci di nocciole piemontesi e che la miscela più adatta a essere processata è quella indicata con la sigla M05, si è partiti da questa per cercare di ottenere un materiale in grado di garantire le migliori prestazioni dal punto di vista della processabilità e di conferire le migliori caratteristiche al prodotto finito (ad es. un vaso). Pertanto sono stati analizzati i materiali M09, M16, M17 che rispetto alla miscela M05, contengono in più agenti distaccanti e di miglioramento superficiale.

I risultati delle prove reologiche hanno mostrato che la presenza del distaccante nella miscela M09 comporta un aumento della viscosità rispetto al materiale M05; l'ulteriore aggiunta di additivo per il miglioramento superficiale (M16) comporta un rilevante aumento di viscosità, inoltre, la sola

diminuzione di carica (M17) porta la viscosità del materiale a valori inferiori di un fattore due rispetto a quelli rilevati per la miscela M16.

Dal punto di vista della stabilità termica, si è osservato che l'aggiunta di distaccante (M09) non produce variazioni sostanziali rispetto al materiale M05. L'ulteriore aggiunta di un additivo per il miglioramento superficiale causa un aumento di viscosità nel tempo (M16); tale miglioramento, però, non ha un effetto rilevante, su una miscela meno caricata (M17).

I test effettuati sui derivati della miscela M05 hanno evidenziato che l'aggiunta di distaccante non influisce in maniera significativa sulle proprietà reologiche, mentre l'additivo per il miglioramento superficiale comporta delle variazioni importanti che diventano meno rilevanti al diminuire della percentuale di carica. L'additivo per il miglioramento superficiale è necessario per rendere l'aspetto del vasetto stampato più gradevole possibile, pertanto si è deciso di non prendere ulteriormente in considerazione il materiale M09, privo di additivo per il miglioramento superficiale.

Un confronto tra i materiali puri M01 e M60 ha evidenziato che l'M60 presenta valori di viscosità inferiori rispetto al materiale M01 per le condizioni in cui sono state effettuate le prove, e una stabilità termica minore per tempi lunghi e temperature elevate. Tuttavia esso risulta stabile per circa 1000 secondi, di conseguenza anche il materiale M60 è stato considerato idoneo per lo stampaggio a iniezione.

Le curve reologiche relative ai materiali, M60/85 e M60/50 sono state confrontate con quelle dei materiali M60/35 e M01. I materiali M60/35 e M01 danno praticamente gli stessi valori di viscosità in corrispondenza di basse frequenze. Alle alte frequenze la viscosità dell'M60/35 assume valori inferiori rispetto a quella dell'M01. I materiali M60/50 e M60/85, più fluidi, mostrano curve di viscosità più basse; in particolare, l'M60/50 ha un valore di viscosità che è circa un mezzo di quello dell'M01 mentre l'M60/85 ha una viscosità più bassa rispetto all'M01 di un fattore circa 3. Entrambe i materiali analizzati, M60/50 e M60/85, hanno mostrato una buona stabilità termica.

Infine, la resina base M60/50, è stata caricata con talco e GNP, a varie percentuali. La caratterizzazione reologica, condotta a $T=170^{\circ}\text{C}$ e $T=180^{\circ}\text{C}$, ha evidenziato che il materiale denominato M60/TGNP/5 presenta, già a basse frequenze, un comportamento shear thinning, che risulta accentuato alle basse temperature, inoltre, la stabilità termica è buona. Per quanto riguarda l'M60/TGNP/20, si è osservato un comportamento shear thinning, con viscosità che non varia in maniera significativa con la temperatura. Confrontando le prove effettuate a $T=180^{\circ}\text{C}$, per i due materiali, si osserva che quello con una maggiore percentuale di talco mostra valori di viscosità più alti in

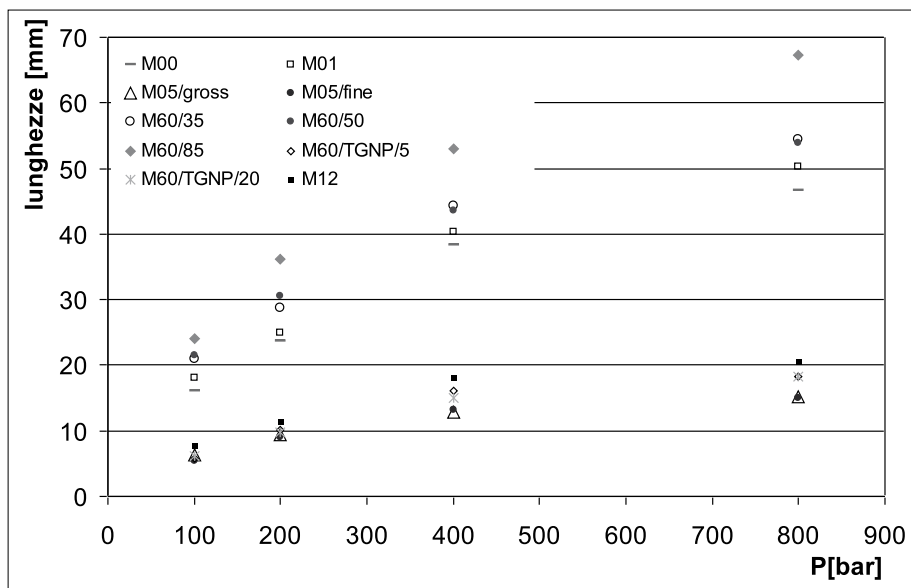


Fig. 8 Lunghezze riempite con vari materiali e per diverse pressioni di iniezione

tutto l'intervallo di frequenze esaminate. Entrambi i materiali sono risultati stabili con la temperatura.

2.2 Prove di stampabilità

In figura 8 si riportano la lunghezza media riempita per ogni materiale e a ogni pressione di iniezione, in prove di stampabilità eseguite nella spirale descritta nel §1.3.

Le prove hanno mostrato una buona ripetibilità per tutti i materiali, eccetto per il materiale M05/gross costituito da granella di nocciola grossa (dimensioni 150-400 micron).

Dal grafico si nota un andamento lineare della lunghezza almeno fino a pressioni di 400 bar. In corrispondenza delle lunghezze più basse, si trovano i materiali caricati. Non si nota una grande differenza nelle lunghezze riempite da M05/gross e M05/fine. Ad alte pressioni sono stati osservati valori di lunghezza leggermente più elevati nel caso di pezzatura maggiore della carica. Passando ai materiali puri, M00 e M01, si nota che la lunghezza percorsa nel caso dell'M01 è leggermente superiore all'altra. Per quanto riguarda i materiali con sigla iniziante con M60, si constata una certa somiglianza nel com-

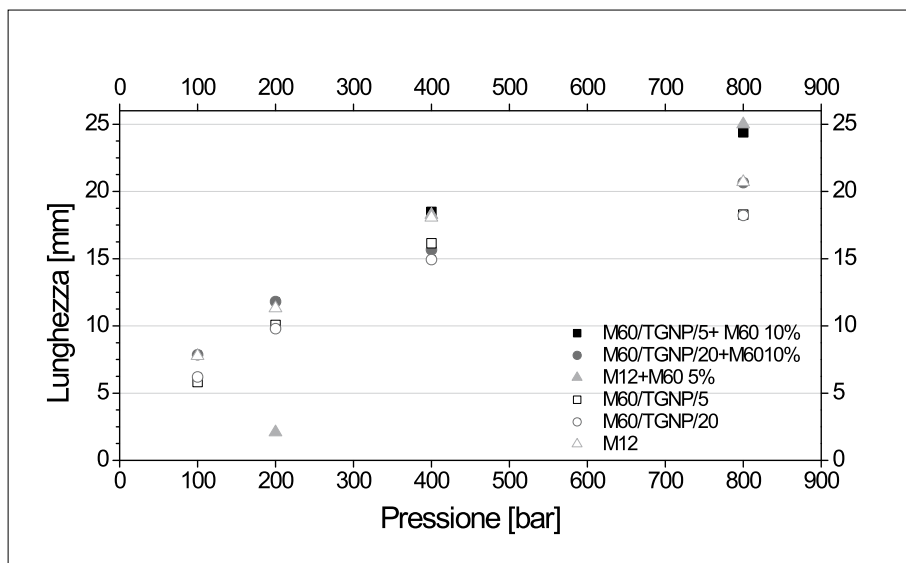


Fig. 9 Lunghezze riempite con vari materiali al variare della pressione di iniezione: effetto dell'aumento della percentuale di polimero. Per confronto, sono riportate le lunghezze dei materiali M60/TGNP/5, M60/TGNP/20 e M12

portamento dei materiali M60/35 e M60/50. Il materiale M60/85, a più alto MFI, riempie lunghezze maggiori rispetto agli altri due, come ci si aspettava.

I materiali caricati M12, M60/TGNP/5 e M60/TGNP/20 riescono a riempire lunghezze fino circa 20mm; l'alta percentuale di carica (40-50%) non consente comunque alla miscela di fluire all'interno del canale sottile. Rispetto alle lunghezze riempite dal materiale puro, M60/50, essi percorrono un terzo della distanza a basse pressioni e poco meno della metà ad alte pressioni.

L'M12 sembra il materiale più stampabile tra i caricati, in quanto riesce a percorrere nella spirale lunghezze del 10% superiori a quelle percorse dalle altre miscele. Gli M05 la cui carica è costituita esclusivamente da GNP sembrano invece i materiali che presentano più problemi di stampaggio.

In figura 9 sono riportate le lunghezze percorse dai materiali M60/TGNP/5+M60 10%, M60/TGNP/20+M60 10%, e M12+M60 5% al variare della pressione di iniezione. Le lunghezze percorse da questi materiali sono state confrontate con quelle percorse dai materiali M60/TGNP/5, M60/TGNP/20, e M12 sempre al variare della pressione di iniezione. Si osserva che l'aggiunta di altro polimero migliora notevolmente la stampabilità.

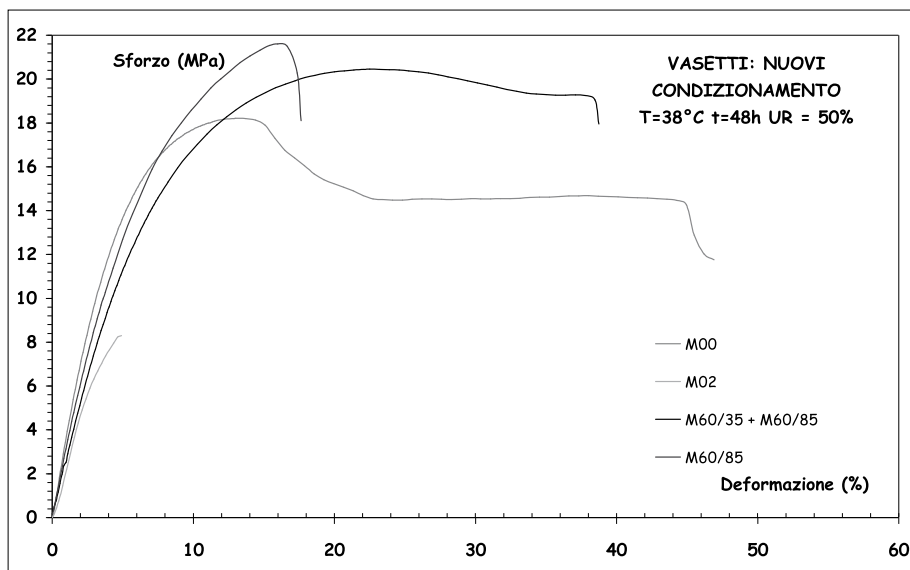


Fig. 10 Curve sforzo deformazione medie, per vasi nuovi

2.3 Proprietà meccaniche

Nelle figure 11-14 sono riportate le curve sforzo-deformazione relative a provini ricavati dai vasi ottenuti per stampaggio a iniezione a partire dai materiali M01, M02, M60/35+ M60/85, M60/85. I provini, ricavati dai vasi tagliandoli assialmente, prima di essere sottoposti a prove meccaniche, sono stati condizionati per 48 h a $T=38^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}=50\%$. Le prove sono state condotte sia su vasi nuovi sia su vasi usati nelle colture di asparago e di cavolo, quindi assoggettati a differenti condizioni di invecchiamento. Per l'M00 si è osservato che i vasi usati, rispetto ai nuovi mostrano una duttilità ridotta (diminuzione di circa il 70% della deformazione a rottura); d'altra parte essi presentano un sensibile irrigidimento, evidenziato dall'aumento del modulo elastico e dei valori dello sforzo di snervamento e rottura. Tuttavia, un aumento ulteriore del tempo di interrimento determina un peggioramento anche di queste ultime proprietà. Anche i vasi in M60/35 + M60/85 mostrano comportamento simile (diminuzione di circa il 40% della deformazione a rottura). È stato osservato, in particolare, che all'aumentare del tempo di interrimento, tutte le proprietà meccaniche subiscono un sensibile peggioramento, a eccezione del modulo elastico, il quale raggiunge un valore massimo di 365 (MPa). Superati i cinque mesi di inter-

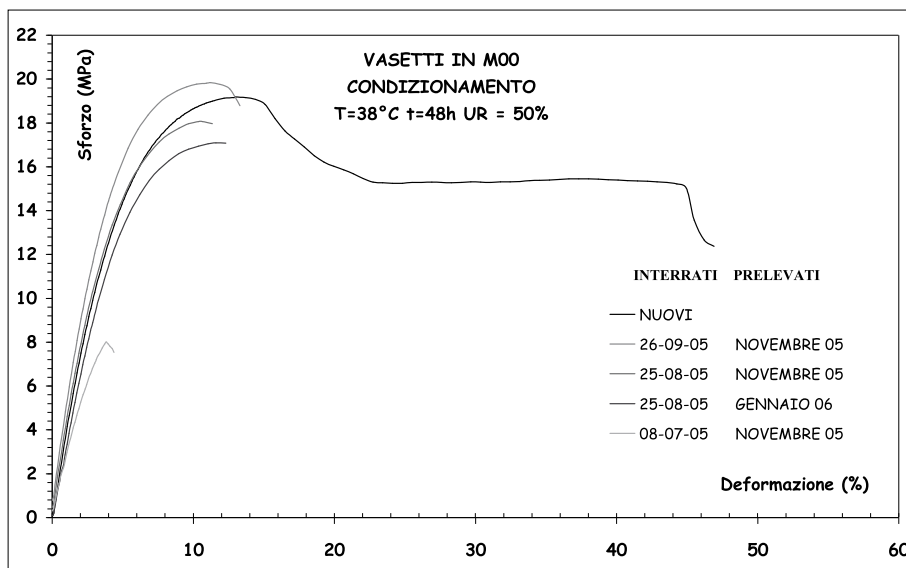


Fig. 11 Curve sforzo deformazione medie, per i vasi stampati a partire dalla miscela di M00, a diversi tempi di interrimento

ramento, comunque, anche il modulo elastico peggiora notevolmente. Per i vasi usati in M60/85, si osserva, rispetto ai nuovi diminuzione di circa il 28% della deformazione a rottura, e contemporaneamente una lieve diminuzione dello sforzo e della deformazione a rottura con un comportamento fragile alla trazione (scomparsa dello snervamento). Anche in questo caso, al crescere del tempo di interrimento si osserva una graduale riduzione di tutte le proprietà meccaniche.

Confrontando i valori di rigidità dei due materiali e della miscela di M60/35 + M60/85 (50:50), a parità di direzione di stiro e di condizionamento, si è osservato che il modulo e la tensione a rottura sono più alti per l'M60/85 a riprova della sua maggiore rigidità, evidenziata anche dalla sua minore deformabilità. La miscela M60/35 + M60/85 a parità di condizionamento e direzione di stiro ha mostrato una deformazione a rottura considerevolmente maggiore rispetto all'M60/35, in virtù anche della sua maggiore capacità di assorbimento dell'umidità. Non si osserva inoltre snervamento, in nessuno dei provini analizzati. Infine occorre osservare che il comportamento meccanico riscontrato per la miscela M60/85 e M60/35 (al 50%), in termini di modulo, di tensione a rottura e di deformazione a rottura è più vicino all'M60/85 che all'M60/35 nelle stesse direzione di stiro e di umidificazione.

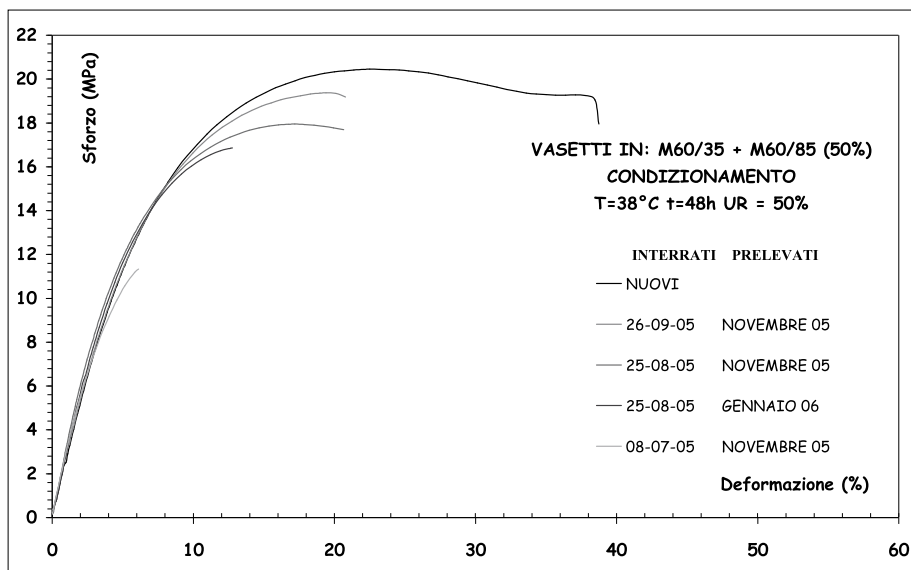


Fig. 12 Curve sforzo deformazione medie, per i vasi stampati a partire dalla miscela di M60/35 + M60/85 (50%), a diversi tempi di interrimento

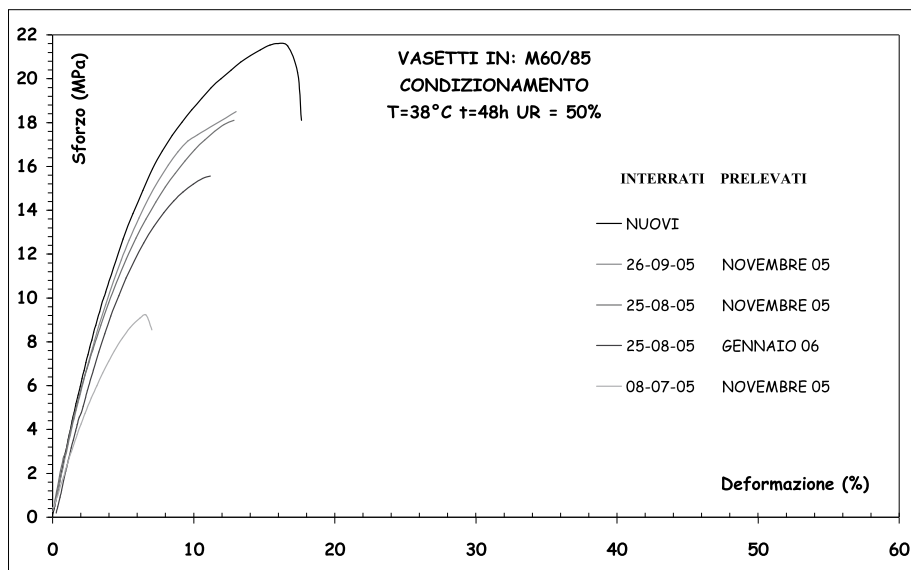


Fig. 13 Curve sforzo deformazione medie, per i vasetti stampati a partire dal materiale M60/85° diversi tempi di interrimento

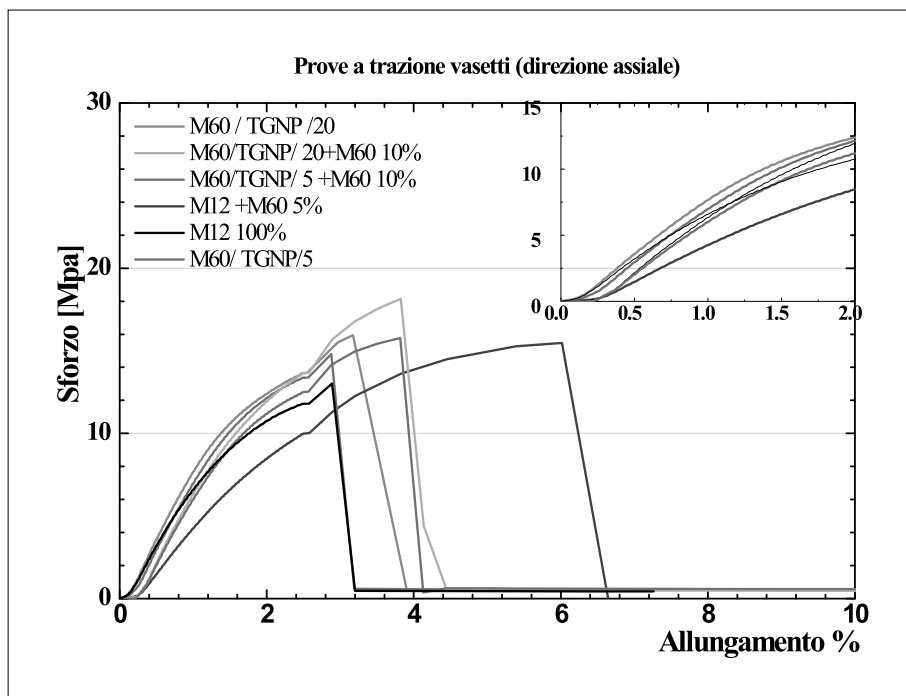


Fig. 14 Curve sforzo-allungamento percentuale per tutti e sei i tipi di vasetti caratterizzati

Anche per i vasi realizzati a partire da M60/35 +M16(80:20) e M60/35 +M16(90:10), si è evidenziata una significativa riduzione dello sforzo e della deformazione sia a rottura sia a snervamento passando dal materiale nuovo a quello prelevato dopo l'uso. Per i vasi stampati, invece, a partire dalla miscela di M60/35, si ha una considerevole riduzione delle deformazioni a snervamento e a rottura e una meno significativa riduzione dello sforzo sia a rottura sia a snervamento. Per quanto riguarda il modulo elastico, esso si riduce passando dai materiali nuovi a quelli usati, seppur in modo limitato.

Per confronto, sono state valutate le proprietà meccaniche di vasi dello stesso diametro ma stampati a partire da polipropilene. Da queste prove è emerso un comportamento quasi invariabile in funzione del tempo d'invecchiamento, fatta eccezione per una piccola riduzione dello sforzo a rottura e un altrettanto modesto aumento della tensione a snervamento.

Per tutti i materiali investigati, al crescere del tempo di interrimento si è osservato un graduale peggioramento di tutte le proprietà meccaniche rispetto a quelle relative agli stessi vasi nuovi. Per il materiale puro, passando dai vasi nuovi a quelli impiegati nelle diverse colture, si è osservato un aumento

del modulo, mentre lo sforzo a rottura si mantiene a valori elevati; si è inoltre osservata una riduzione della deformabilità. Nelle miscele si è osservato che quasi tutte le proprietà meccaniche tendono a diminuire con il tempo di interrimento.

Infine, in figura 14 sono riportate le curve dello sforzo in funzione dell'allungamento percentuale, per i vasi nuovi in M60 TGNP/5+M60 10%, M60 TGNP/20+M60 10%, M12+M60 5%, M60 TGNP/5, M60/TGNP/20, M12. Le prove hanno mostrato che i vasi in M60/TGNP/5+M60 10% e in M60/TGNP/5 presentano dei valori del modulo e della deformazione a rottura pressoché simili, inoltre i vasi in M60/TGNP/5 sono gli unici a mostrare una, seppur minima, deformazione a snervamento. Per quanto riguarda i vasi in M60/TGNP/20+M60 10% e in M60/TGNP/20 sono state osservate delle lievi differenze nelle proprietà meccaniche: il materiale M60/TGNP/20+M60 10% mostra una migliore duttilità con l'aggiunta di polimero puro.

CONCLUSIONI

Sono stati caratterizzati diversi polimeri biodegradabili al fine di individuare i materiali più idonei a essere processati mediante stampaggio a iniezione. A tal fine sono state condotte prove reologiche sia al reometro rotazionale sia al reometro capillare; inoltre sono state condotte prove di stampabilità mediante una pressa da laboratorio dotata di uno stampo appositamente costruito. I risultati hanno evidenziato che il materiale non amidaceo puro M00 è instabile alle alte temperature e sensibile al condizionamento, pertanto è stato ritenuto non idoneo alla stampaggio a iniezione. Il materiale non amidaceo M01 (a più alto peso molecolare) ha mostrato invece un comportamento reologico del tutto in linea con quello tipico dei polimeri comunemente impiegati per lo stesso processo; inoltre si è osservato che la degradazione, alle temperature di processo e in diverse condizioni di umidità, è sufficientemente lenta. Inoltre il materiale M01 è risultato essere nettamente più stabile alle alte temperature rispetto all'M00, ed è stato quindi ritenuto idoneo allo stampaggio a iniezione. Tuttavia, a causa dell'elevato costo dell'M01, si è cercato di diminuire il costo del materiale aggiungendo il polimero con scarti vegetali quali uva, soia, caffè, gusci di nocciole piemontesi o mandorle. Le prove condotte su questi materiali hanno evidenziato che la carica migliore è costituita da gusci di nocciola (GNP). Si è partiti dalla miscela con GNP (M05) per cercare di ottenere un materiale in grado di garantire le migliori prestazioni dal punto di vista della processabilità e di conferire le migliori caratteristiche al prodotto

finito. Pertanto sono stati analizzati i materiali M09, M16, M17 che, rispetto alla miscela M05, contengono in più agenti distaccanti e di miglioramento superficiale.

I test effettuati sui derivati della miscela M05 hanno evidenziato che l'aggiunta di distaccante non influisce in maniera significativa sulle proprietà reologiche, mentre l'additivo per il miglioramento superficiale comporta delle variazioni importanti che diventano meno rilevanti al diminuire della percentuale di carica.

Sono state testate parallelamente miscele del materiale non amidaceo M60, anche esso ritenuto idoneo allo stampaggio a iniezione. Le prove di stampabilità hanno evidenziato che i materiali ottenuti caricando l'M60 possono essere stampati, seppure con una maggiore difficoltà rispetto al materiale puro. Tali difficoltà sono comunque minori di quelle incontrate per stampare i materiali ottenuti a partire dall'M05.

Inoltre, il materiale M12 costituito da compost vegetale e M60 (50/50) risulta essere il materiale più stampabile tra quelli caricati, in quanto riesce a percorrere nella spirale lunghezze del 10% superiori a quelle percorse dalle altre miscele; in aggiunta va considerato che la stampabilità migliora ulteriormente se all'M12 si aggiungono piccole percentuali di matrice non amidacea M60. Anche da un punto di vista delle proprietà meccaniche i vasi in M12+M60 5%, mostrano un sensibile miglioramento della duttilità rispetto ai vasi realizzati col solo M12; il modulo elastico, invece, risulta diminuire di circa il 25%. Per tutti i materiali analizzati, si è osservato che le proprietà meccaniche decadono notevolmente in seguito a interrimento, mostrando una sensibilità alla morfologia e alle caratteristiche dell'ambiente di interrimento. In conclusione, la composizione dei sistemi va calibrata in base alla durata della coltura.

RIASSUNTO

L'impiego di materiali polimerici nell'ambito delle attività agricole è ormai consuetudine in tutti i paesi aventi un settore agricolo altamente specializzato e impone una seria riflessione non solo sulla programmazione della gestione del fine vita dei materiali polimerici, ma anche e soprattutto sulla loro origine. La ricerca scientifica in questo ambito punta alla individuazione di materiali biodegradabili e/o compostabili, in grado di apportare vantaggi sia di carattere ambientale che economico agli attuali cicli colturali.

I polimeri biodegradabili, sebbene rappresentino un valida alternativa ai materiali di natura sintetica, presentano notevoli problematiche connesse alla loro processabilità. Lo scopo di questo lavoro è l'individuazione di polimeri biodegradabili più idonei alla produzione mediante il processo di stampaggio a iniezione di vasi capaci di degradare con la crescita

della piantina, se interrati. Sono state condotte prove reologiche e prove di stampabilità mediante una pressa da laboratorio dotata di uno stampo appositamente costruito. Un materiale amidaceo denominato M00 non è risultato adatto a essere stampato ad iniezione; sono stati però identificati materiali biodegradabili adatti allo stampaggio, si è poi cercato di diminuirne il costo aggiungendo i polimeri con scarti vegetali di diversa natura. Le prove condotte su questi materiali hanno evidenziato che la carica migliore è costituita da gusci di nocciola (GNP). Sono stati così preparati e provati materiali con diverse cariche sia vegetali che processing aids. Il materiale M12 costituito da un polimero biodegradabile non amidaceo e compost vegetale è risultato essere il materiale più stampabile tra quelli caricati. Per tutti i materiali analizzati, si è osservato che le proprietà meccaniche decadono notevolmente in seguito a interrimento per alcuni mesi del vaso, inoltre l'entità della degradazione è legata alla morfologia e alle caratteristiche dell'ambiente di interrimento.

ABSTRACT

Injection moulding of biodegradable materials. Using polymeric materials in the agricultural field is nowadays normal practice in all countries having a highly specialized agricultural sector; this requires a careful attention on the full material life from its production to the end of its life. The scientific research focuses its activities on individuating biodegradable/compostable materials able to cause both economic and environmental advantages in the current agricultural cycles. However, although biodegradable polymers represents a good alternative to synthetic ones, often their processability has to overcome difficulties larger than not biodegradable materials.

This work focuses on individuating biodegradable materials able to be easily processed by the injection molding process for the production of flower pots which would degrade with the plant growth, if buried. To this purpose, rheological and injection molding tests on several biodegradable materials were made. A material made from starch (named M00) was found not processable by injection molding; otherwise not-starch based materials were suitable to be injection molded; but due to the high costs of these materials, vegetable discards (hazelnut shells resulted the best fillers) were added to reduce the cost. Several not-starched mixtures were investigated, three of them were found suitable to be injection molded. Besides, the material named M12 (containing a not starched mixture and a vegetable compost) was found to be the most processable one by injection molding.

For all materials investigated, it was observed that the mechanical properties of the flower pots, made out of the selected biodegradable materials, markedly decay after burying and keeping them for months in the ground. The experiments showed also that the extent of degradation is related to morphology and characteristic of the ground.

BIBLIOGRAFIA

- CHANDRA S.R., RUSTGI R. (1998): «Prog. Polym. Sci.», 23, pp. 1273-1335.
 CHASIN M., LANGER R. (1990): *Biodegradable Polymers as drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., New York.
 LA MANTIA F.P., SCAFFARO R., BASTIOLI C. (2002): «Macromol. Symp.», 180, pp. 133-140.

I contenitori innovativi per una ortofloricoltura ecocompatibile

I. INTRODUZIONE

I contenitori svolgono un ruolo di primo piano nell'ortoflorovivaismo del Paese, per il contributo che danno alle operazioni di tecnica colturale e per accompagnare alcuni prodotti commerciali come piantine di ortaggi, di fiori, di piante aromatiche pronte all'uso, di piante ornamentali erbacee, arbustacee ed arboree. I contenitori impiegati in vivaio (seminiere, cassette, contenitori alveolati, fitocelle, pannelli e cestelli portavasi e vasi di forma, dimensioni e natura diversa) svolgono parte attiva nel processo produttivo con precipui compiti di agrotecnica colturale e nella fase di vendita e utilizzazione da parte del consumatore, come è il caso delle piante aromatiche e delle ornamentali, sono richieste altre caratteristiche in termini di estetica, di durata e di sostenibilità.

L'avvento dei materiali plastici ha inciso profondamente sulla filiera del comparto determinando un netto cambiamento di tendenza, orientando gli utilizzatori verso l'uso quasi generalizzato di manufatti in materiali sintetici, leggeri, infrangibili e di facile manualità, rispetto ai tradizionali contenitori in terracotta, pesanti, fragili e di non agevole gestione, traendone indubbi vantaggi. Ma come spesso succede, anche in questo caso, il grande entusiasmo è stato presto in parte ridimensionato dall'elevato impatto ambientale di questi contenitori, in quanto, a fine utilizzazione, essi costituiscono dei rifiuti speciali da smaltire in apposite discariche. Da qui la necessità di ricercare manufatti di simile utilità, ma più compatibili con l'ambiente.

* *Dipartimento di Scienze dei Sistemi Culturali, Forestali e dell'Ambiente, Università degli Studi della Basilicata, Potenza*

La messa a punto di nuovi polimeri plastici degradabili ha aperto la strada a questa possibilità con la formulazione di manufatti che, dopo aver svolto la loro funzione, si degradino in composti organici a basso o nullo impatto ambientale. Ciò ha generato una serie di aspettative, prima fra tutte la possibilità che il contenitore degradabile possa costituire una risorsa a fine utilizzazione, anziché un rifiuto, quale fonte di materiale organico da utilizzare per il compostaggio e ritornare, quindi, a costituire un mezzo tecnico rinnovabile per l'agricoltura.

La disponibilità di nuclei plastici biodegradabili di nuova generazione idonei per essere additivati con fibre organiche naturali di origine agricola (scarti di lavorazioni agroalimentari, fibre di nocciole, di noci, di mandorle, di scarti dell'industria cerealicola, vinicola, olearia ecc.) ha aperto la strada alla preparazione di contenitori innovativi per soddisfare le esigenze del comparto ortoflorovivaistico. Tra i nuclei plastici biodegradabili, il Mater-Bi, messo a punto dalla Novamont (leader mondiale), rappresenta un poliestere attualmente meglio sfruttato per raggiungere gli obiettivi accennati. In particolare il processo tecnologico prevede diverse possibilità di miscelazione del Mater-Bi con le fibre di provenienza agricola per ottenere formulazioni idonee allo stampaggio di manufatti per iniezione, per estrusione, filmatura e termoformatura.

Una volta realizzato, il manufatto deve essere sottoposto ad una serie di verifiche per accertarne la sua validità in termini di caratteristiche meccaniche, fisico-chimiche, microbiologiche e valutarne l'idoneità al loro impiego nel processo produttivo. In merito a quest'ultimo aspetto è compito degli agronomi la realizzazione di prove di coltivazione con l'obiettivo di studiare il comportamento dei contenitori in termini di durata, di variazione delle caratteristiche durante l'impiego, di degradabilità, di adattabilità ai cicli colturali e di valutare eventuali effetti di interazione con il substrato e la pianta in essi coltivata.

Un indiscutibile vantaggio potrebbe trarne la produzione ottenuta con il metodo biologico, in quanto l'impiego dei contenitori di nuova generazione, andrebbe a sostituire quelli convenzionali, impiegati, molto spesso, in regime di deroga, nella fase iniziale del ciclo colturale di molte specie, per la carenza sul mercato di manufatti biodegradabili ammessi dal metodo.

2. POSSIBILITÀ DI IMPIEGO DEI CONTENITORI BIODEGRADABILI

La necessità di disporre di contenitori biodegradabili assume particolare rilievo nell'ortoflorovivaismo per l'elevato numero di specie interessate, di piantine e di piante da preparare per anno (tabb. 1 e 2).

Il fabbisogno di piantine da orto attualmente in Italia si aggira su circa 23.038 milioni di cui 21.626 milioni per le coltivazioni di pien'aria e 1.412 milioni per le colture protette, distinte per specie così come riportato in tabella 1. A questi sono da aggiungere i contenitori impiegati nel comparto floricolo-ornamentale, che tra piantine per le attività hobbistiche, di piante da seme a fiori vivaci ed ornamentali da interno ed esterno ammontano annualmente a circa 601 milioni (tab. 2).

Il problema è di grande rilevanza per l'orticoltura di pieno campo, per i grandi numeri di piantine di cui necessita, per gli aspetti particolari della logistica legata alle diverse specie e per le inderogabili richieste della filiera del biologico in cui è giocoforza impiegare contenitori e substrati bio, così come il metodo richiede.

In particolare le orticole da trapianto interessano vaste superfici di coltivazione sia in pieno campo che in serra comprendenti specie appartenenti alle principali famiglie botaniche (composite, crucifere, cucurbitacee, liliacee, ombrellifere, solanacee ecc.) aventi spesso esigenze morfofisiologiche molto diverse. Al vivaio è demandato il compito della preparazione delle piantine con pane di terra, in bio-contenitori di volume ridotto (30-180 cm³) e di brevissima durata (40 giorni) che, una volta introdotti nel terreno, si degradino celermente, permettendo alle radici delle piante di affrancarsi senza alcuna difficoltà o crisi da trapianto.

Nel caso della preparazione delle piantine di cucurbitacee come anguria, cetriolo, melone, zucchino, al contenitore è richiesta una particolare azione di protezione degli apparati radicali durante le operazioni di trasferimento e collocazione a dimora delle stesse in quanto molto sensibili alle sollecitazioni meccaniche, con effetti negativi sulla loro crescita e sulle future produzioni. Per specie, come asparago, fragola e sedano le cui piantine si accrescono più lentamente è necessario disporre di contenitori di maggiore resistenza e più lunga durata e, nel caso dell'asparago, deve essere impenetrabile e resistente all'azione penetrante del capillizio radicale, molto invadente e numeroso, che si forma durante la prima fase di crescita delle piantine.

Nel caso della coltivazione di piante aromatiche e/o ornamentali a ciclo medio (4-6 mesi) o lungo (oltre 6 mesi), al contenitore è richiesta una maggiore durata, in sintonia con il più lungo ciclo vitale e di utilizzazione della pianta e un maggiore volume disponibile per il substrato e l'apparato radicale della stessa.

In questi casi, inoltre, specialmente quando questo deve accompagnare la pianta dal vivaio al balcone del consumatore, è richiesto, oltre che la maggiore durata, il soddisfacimento di aspetti estetici come forma, dimensione,

SPECIE ORTICOLE	PIEN'ARIA (N.)			SERRA (N.)			TOTALI
	SUPERF. (ha)	DENSITÀ PIANTE (n/m ²)	FABB. PIANTINE (MILIONI)	SUPERF. (ha)	DENSITÀ PIANTE (n/m ²)	FABB. PIANTINE (MILIONI)	FABB. PIANTINE (MILIONI)
Asparago	5.210	5	260,5	114	6	6,8	267,3
Basilico	---	---	---	191	12	22,9	22,9
Bieta da costa	2.872	8	229,8	114	8	9,1	238,9
Bieta da orto	434	10	43,4	52	10	5,2	48,6
Broccoletto di rapa	9.656	8	772,5	---	---	---	772,5
Carciofo	50.383	2	1.007,7	---	---	---	1.007,7
Cavolfiore	6.027	4	241,1	---	---	---	241,1
Cavolo broccolo	12.055	6	723,3	---	---	---	723,3
Cavolo verza	5.225	5	261,3	---	---	---	261,3
Cavolo cappuccio	4.456	6	267,4	---	---	---	267,4
Cavoli (altri)	7.811	6	468,7	---	---	---	468,7
Cavolo di Bruxelles	239	10	23,9	---	---	---	23,9
Cetriolo da mensa	1.227	3	36,8	77	2	1,5	38,3
Cipolla	12.819	12	1.538,3	---	---	---	1.538,3
Cocomero	11.438	3	343,1	1.335	3	40,1	383,2
Finocchio	23.283	10	2.328,3	28	6	1,7	2.330,0
Fragola	2.758	6	165,5	2.988	6	179,3	344,8
Indivia	11.041	8	883,3	278	6	16,7	900,0
Lattuga	17.749	12	2.129,9	3.958	10	395,8	2.525,7
Melanzana	10.130	4	405,2	1.569	3	47,1	452,3
Melone	24.822	3	744,7	3.570	2	71,4	816,1
Peperone	10.717	5	535,9	2.654	4	106,2	642,1
Pomodoro	114.391	5	5.719,6	7.961	3	238,8	5.958,4
Porro	606	8	48,5	---	---	---	48,5
Prezzemolo	1.008	16	161,3	111	12	13,3	174,6
Radicchio o cicoria	17.069	10	1.706,9	370	8	29,6	1.736,5
Sedano	3.829	8	306,3	327	6	19,6	325,9
Valeriana	---	---	---	482	6	28,9	28,9
Zucchini	13.639	2	272,8	3.689	3	110,7	383,5
Altri ortaggi	---	---	---	1.691	4	67,6	67,6
TOTALE	380.894	---	21.626,0	31.559	---	1.412,3	23.038,3

Tab. 1 *Fabbisogno di piantine di specie orticole in pien'aria ed in serra nel 2006*
Dati Istat 2006 (<http://www.istat.it/agricoltura/datiagri/coltivazioni/anno2006/ital2006.htm>)

REGIONI	PIANTE DA FIORE		PIANTE DA FOGLIA		ALTRE PIANTE DA VASO		TOTALI
	IN PIEN'ARIA	IN SERRA	IN PIEN'ARIA	IN SERRA	IN PIEN'ARIA	IN SERRA	
Piemonte	5.535	1.624	230	7	331	1.068	8.795
Lombardia	56.509	3.129	13.727	215	11.609	56.625	141.814
Trentino-Alto Adige	6.220	75	14	-	3.914	398	10.621
Veneto	43.012	4.769	2.279	24	5.958	1.639	57.681
Friuli-Venezia Giulia	5.990	345	749	-	631	193	7.598
Liguria	23.141	15.234	1.209	-	6.839	46.414	92.837
Emilia-Romagna	39.714	3.553	1.466	823	751	1.742	48.049
Toscana	9.012	1.515	8.803	102	892	6.907	27.231
Umbria	276	91	21	2	6	-	396
Marche	1.669	222	155	32	252	151	2.481
Lazio	34.608	1.665	3.432	467	16.663	7.612	64.447
Abruzzo	3.865	135	133	83	1.046	264	5.526
Campania	29.259	1.372	14.660	1.556	17.264	10.514	74.625
Puglia	1.248	20	1.665	610	212	1.602	5.357
Calabria	170	86	386	-	6	3	651
Sicilia	18.212	7.993	16.841	2.554	1.141	1.331	48.072
Sardegna	464	108	66	26	300	3.590	4.554
ITALIA	278.904	41.624	65.836	6.500	67.815	140.054	600.733

Tab. 2 *Piante intere da vaso, in serra e in piena aria, per regione nel 2005 (x 000)*Dati Istat 2005 (<http://www.istat.it/agricoltura/datiagri/fiori/flo42005.html>)

colore e di aspetti di natura igienica fino al completo esaurimento produttivo. La preparazione delle piantine in molte specie ortofloricole è imposta anche dal fatto che, con l'avvento delle sementi ibride di maggior costo, si preferisce preparare le piantine anziché effettuare la semina diretta in campo, per ridurre il numero di semi da utilizzare e contribuire ad abbassare i costi di produzione eliminando le operazioni molto costose di diradamento e di rincalzatura necessarie con la semina diretta.

Infine, non va sottovalutato l'aspetto che le piantine precoltivate in contenitore, con il trapianto permettono di conseguire altri vantaggi, come una migliore competizione con le infestanti, per acqua, nutrienti e luce; di ridurre il ciclo colturale di 30-40 giorni (periodo trascorso in vivaio); di sfuggire ai danni da freddo primaverili (posticipando il trapianto o trapiantando piantine di più grosse dimensioni); di abbassare i costi di produzione specialmente quando si utilizzano semi ibridi; di inglobare sostanze organiche nel bio-vaso stimolanti l'attività rizogena, la sua degradabilità e quindi migliorare la crescita della futura pianta; l'aggiunta di sostanze repellenti, di erbicidi, insetticidi

e anticrittogamici (consentiti dai disciplinari di produzione) per contribuire a risolvere problemi particolari a livello di specie e/o di cultivar.

3. ALLESTIMENTO E CONDUZIONE DI PROVE DI COLTIVAZIONE

3.1 *Il carciofo*

3.1.1 Introduzione

Il carciofo (*Cynara scolymus* L.) è una specie orticola da pieno campo in espansione nei comprensori orticoli meridionali. Attualmente in Italia occupa circa 50.000 ha, con una produzione di 537.000 t pari ad una resa unitaria di 11 t ha⁻¹. Le regioni più interessate dalla coltivazione sono: Puglia (15.800 ha), Sicilia (14.500 ha), Sardegna (13.000 ha), Campania (2.600 ha), Abruzzo (1.200 ha) e Lazio (1.100 ha), che comprendono oltre il 95% della superficie e della produzione nazionale.

Le superfici coltivate sono in crescita in Puglia, Sicilia, Campania e Basilicata. Le aree litoranee costiere risultano più idonee alla coltivazione, anche perché trattasi di una pianta che non teme la salsedine e sopporta anche una discreta salinità del terreno e dell'acqua irrigua. Suoli profondi, di medio impasto, fertili, ben drenati, con pH compreso tra 6 e 7, sono ritenuti ottimi per raggiungere livelli produttivi elevati. Tradizionalmente il carciofo si propaga per carduccio o mediante altre forme agamiche diffuse a livello locale, ma da alcuni anni hanno fatto la comparsa sul mercato i primi 'semi' o acheni ibridi di nuove cultivar, messe a punto da ditte sementiere europee con brevetti israeliani e americani. Con la propagazione per 'seme', l'agrotecnica di questa pianta è destinata a subire notevoli cambiamenti, compreso l'aspetto legato alla produzione vivaistica delle piantine e alla durata del ciclo colturale. Infatti, l'impiego dell'achenio ibrido, permette di anticipare le semine in vivaio a fine inverno e di collocare a dimora in primavera le piantine con pane di terra, che, accrescendosi, hanno la possibilità di entrare in produzione in autunno e di concludere il ciclo produttivo e colturale la primavera successiva. Così facendo è possibile ridurre il ciclo del carciofo da poliennale ad annuale, con l'onere di preparare un notevole numero di piantine per anno, anche perché con la coltura a ciclo annuale si può aumentare la densità di piante. Ipotizzando che solo il 50% della superficie attualmente destinata a carciofo (tab. 3) nel giro di qualche anno fosse coltivata a ciclo annuale con piantine proveniente da 'seme', e posta una densità di 2 piante per m²,

sarebbero necessarie circa 500 milioni di piantine da ottenere in vivaio per anno. La possibilità di impiegare contenitori biodegradabili per la preparazione delle piantine, con l'opportunità che al trapianto venga interrato anche il contenitore con la piantina, apre nuove opportunità all'agrotecnica di questa pianta. Per le motivazioni appena esposte e visto l'interesse per questa specie orticola, si è stabilito di studiare la preparazione delle piantine in contenitori innovativi biodegradabili e di valutarne la produttività rispetto ai contenitori tradizionali.

3.1.2 Obiettivi

Aspetti specifici della ricerca sono stati: 1) studiare l'idoneità e il comportamento agronomico dei contenitori impiegati per l'allevamento delle piantine di carciofo a partire da acheni ibridi; 2) ricavare informazioni sul comportamento morfofisiologico delle piante di carciofo durante il ciclo colturale; 3) valutare in termini quali-quantitativi la produzione dei capolini.

3.1.3 Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine è avvenuta in serra presso il vivaio 'La Malfa' di Policoro (MT); sono stati impiegati i seguenti 6 contenitori: M00 Ø 6,6 cm, M02 Ø 6,6 cm, M02 Ø 12 cm, M60 rete Ø 5,5 cm, Peco Ø 11 cm e Contenitore alveolato da 91 alveoli, di cui i primi 4 di nuova formulazione realizzati per l'occasione da Organizzazione Agricoltura, come previsto dal piano di ricerca, e gli altri 2 impiegati come termini di riferimento fatti in cellulosa il tipo Peco ed in polistirolo l'altro. Tutti sono stati riempiti di substrato Floradur della Floragard avente il 60 % di sostanza organica ed un pH compreso tra 5,0 e 6,5. Sono stati impiegati acheni di carciofo della cultivar Concerto F1 messi a germinare in seminiera il 14 marzo 2005 e ripicchettati il 5 aprile nei contenitori di cui sopra, quando presentavano ben evidenti le 2 foglie cotiledonari e si vedevano le prime 2 foglie vere in fase di distensione.

3.1.4 Trapianto e schema sperimentale

Il trapianto in campo, è stato effettuato il 30 aprile 2005 con le piante allo stadio di 3^a 4^a foglia vera ben espansa, su di un terreno arato a 40 cm, fresato e

CONTENITORI	FOGLIE PER PIANTA (N.)	ALTEZZA PIANTA (CM)	LUNGHEZZA FOGLIA (CM)	LARGHEZZA FOGLIA (CM)	COLLETO Ø (MM)	LAI PER PIANTA (CM ²)	CONTENUTO S.S. (%)	GIUDIZIO SUI CONTENITORI (1)
M 60 r Ø 5,5	4	13,5	14,1	3,4	6	53	14,1	3
M 02 Ø 6,6	4	17,0	19,9	4,1	8	136	12,8	5
M 02 Ø 12	6	22,4	26,7	6,6	14	336	11,3	5
M 00 Ø 6,6	5	21,8	22,6	4,7	8	151	12,9	5
PECO Ø 11	6	23,7	26,6	9,2	11	334	12,3	5
Cont. 91 alveoli	5	16,7	17,3	3,7	7	91	15,5	4

Tab. 3 *Rilievi ed osservazioni sulle piantine di carciofo e sui contenitori al trapianto*

(1) Giudizio sulla degradazione dei contenitori: 1 = contenitore integro, 5 = contenitore completamente degradato.

concimato con 124 kg ha^{-1} di N di cui 41 sottoforma ammoniacale, 70 kg ha^{-1} di P_2O_5 e 206 kg ha^{-1} di K_2O , gestito a maggese nell'ultima annata, situato in area pianeggiante a circa 15 m s.l.m. presso l'Azienda 'Pantanello' della Regione Basilicata in agro di Bernalda. La superficie interessata dalla prova, dopo la squadratura e la posa dei cartellini, è stata assolata a 120 cm, in ciascuno dei quali sono state trapiantate le piantine collocate a 80 cm tra di loro, per realizzare una densità di 1,04 piante per m^2 ; contemporaneamente veniva predisposto l'impianto irriguo con gocciolatori con la capacità di erogare 2 lh^{-1} di acqua. In corrispondenza del trapianto, alle osservazioni effettuate in vivaio sui contenitori e sulle piantine durante la fase di crescita, si sono aggiunti i rilievi sullo stato dei contenitori e sulle piantine così come riportato in tabella 3. Alle tesi di cui sopra, al trapianto, sono state aggiunte 2 tesi per studiare gli effetti della modalità di trapianto: piantine con e senza contenitore e altre 2 per valutare l'efficacia del trattamento al colletto delle piante di una soluzione (5 cm^3) di *Trichoderma harzianum* ripetuta 20 giorni dopo in dose doppia (10 cm^3 per pianta), e nell'altra per applicare una soluzione (5 cm^3) di *Pseudomonas spp.* anch'essa da ripetere 20 giorni dopo a doppia dose, con l'intento di migliorare la microflora radicale e valutare gli effetti sulla degradabilità dei contenitori e sulla produzione dei capolini. In definitiva, la ricerca realizzata seguendo lo schema sperimentale a parcelle suddivise ripetuto 3 volte, ha visto la collocazione del tipo di contenitore nelle parcelle, le modalità di trapianto con e senza contenitore nelle sub-parcelle e i trattamenti con la soluzione fungina e batterica nelle sub-sub-parcelle di $6,72 \text{ m}^2$ ($1,2 \times 5,6 \text{ m}$), per un totale di 31 trattamenti sperimentali, considerando le piantine ottenute nei contenitori alveolati un solo trattamento.

FOGLIE VERDI PER PIANTA (N.)					
PRESENZA CONTENITORE				SENZA	CONTENITORE
CONTENITORE	TRATTAMENTO CON ACQUA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE BATTERICA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE FUNGINA	CONTENITORE	ALVEOLATO (1)
M60 rete	20,6	19,8	20,7	20,6	24,2
M02 Ø 6,6	20,5	20,0	22,2	24,9	
M02 Ø 12	21,4	21,6	21,4	24,6	
M00 Ø 6,6	21,6	19,2	19,7	22,5	
PECO 11	20,6	20,1	19,4	23,6	
LUNGHEZZA FOGLIE VERDI (CM)					
PRESENZA CONTENITORE				SENZA	CONTENITORE
CONTENITORE	TRATTAMENTO CON ACQUA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE BATTERICA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE FUNGINA	CONTENITORE	ALVEOLATO (1)
M60 rete	60,4	57,3	59,0	61,5	63,3
M02 Ø 6,6	58,6	57,6	59,5	63,0	
M02 Ø 12	62,9	61,2	60,2	64,2	
M00 Ø 6,6	51,3	50,8	58,1	62,8	
PECO 11	53,0	54,4	53,9	66,3	
LARGHEZZA FOGLIE VERDI (CM)					
PRESENZA CONTENITORE				SENZA	CONTENITORE
CONTENITORE	TRATTAMENTO CON ACQUA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE BATTERICA	TRATTAMENTO CON SOLUZIONE FUNGINA	CONTENITORE	ALVEOLATO (1)
M60 rete	33,3	31,1	33,8	33,8	35,0
M02 Ø 6,6	32,0	32,1	34,7	34,0	
M02 Ø 12	34,4	34,5	32,0	35,0	
M00 Ø 6,6	27,9	28,9	31,5	32,7	
PECO 11	28,4	29,6	29,0	36,5	

Tab. 4 *Rilievi morfologici effettuati il 27 luglio 2005*(1) Dato *medio* di 5 piante pre-coltivate in contenitore alveolato.

3.1.5 Conduzione della prova

Durante il ciclo colturale sono stati effettuati ripetuti interventi irrigui con cadenza settimanale, diverse sarchiature a partire dall'avvenuto attecchimento, qualche scerbatura ed è stata completata la concimazione con l'apporto di 110 kg ha^{-1} di N e 60 kg ha^{-1} di P_2O_5 in fertirrigazione. Sono stati effettuati rilievi su alcuni caratteri morfologici delle piante accompagnati da osservazioni visive per ogni tesi sperimentale a partire dall'attecchimento con intervalli di 30 giorni. Inoltre, si è reso necessario un intervento contro gli afidi con

CARATTERI PRODUTTIVI	CONTENITORI					
	ALVEOLATO	M60 RETE	MO2 Ø 6,6	MO2 Ø 12	MOO Ø 6,6	PECO 11
Capolini totali per pianta (n.)	19	21	20	18	20	22
Peso medio capolino principale (g)	175,9	179,8	170,8	180,5	163,6	185,6
Diametro equatoriale capolino (cm)	6,9	6,8	6,8	7,2	6,7	7,0
Diametro polare capolino (cm)	8,9	8,8	8,6	8,9	8,6	8,6
Capolini di scarto per pianta(n.)	0,5	0	0,2	0	0	0,3

Tab. 5 *Influenza della tipologia di contenitore impiegato su alcuni caratteri produttivi del carciofo*

pirimicarb e un trattamento con previcur ad ampio spettro contro i patogeni fungini.

Alle date del 30 maggio, 27 luglio e 14 ottobre 2005, 20 febbraio, 15 marzo 2006 su 5 piante per ogni tesi e ripetizione è stato monitorato il numero di foglie verdi, ingiallite e delle prime si determinava la loro lunghezza e larghezza. Nella tabella 4, a titolo di esempio, si riportano i dati osservati il 27 luglio 2005 relative solo alle foglie verdi.

Inoltre, il 1° luglio, sono stati prelevati alcuni vasi per ciascuna tesi sperimentale per verificare il livello di degradazione e per acquisire la documentazione fotografica.

Il 7 novembre sono state prelevate alcune piante trapiantate con il contenitore al fine di effettuare i rilievi visivi sullo stato di degradazione di questi ultimi. I risultati hanno messo in evidenza il completo disfacimento dei contenitori ridotti a piccoli brandelli e la vigoria degli apparati radicali delle piante di carciofo.

3.1.6 Dati produttivi

Le piante sono entrate in produzione nella primavera del 2006, a partire dal 30 marzo e le raccolte si sono protratte sino al 15 maggio per un totale di 9 interventi. Ad ogni raccolta e su ogni parcella sono stati rilevati i seguenti caratteri: numero e peso dei capolini principali e secondari, diametro polare ed equatoriale dei primi, numero e peso dei capolini di scarto quando presenti.

CARATTERI PRODUTTIVI	MODALITÀ DI TRAPIANTO	
	CON VASO	SENZA VASO
Capolini totali per pianta (n.)	19	20
Peso medio capolino principale (g)	183,0	176,4
Diametro equatoriale capolino (cm)	6,9	7,3
Diametro polare capolino (cm)	8,7	8,5
Capolini di scarto per pianta (n.)	0,5	0,4

Tab. 6 *Influenza della modalità di trapianto su alcuni caratteri produttivi del carciofo*

CARATTERI PRODUTTIVI	TRATTAMENTI (1)		
	NESSUNO	TRICHODERMA	PSEUDOMONAS
Capolini totali per pianta (n.)	20	19	20
Peso medio capolino principale (g)	169,7	173,0	170,4
Diametro equatoriale capolino (cm)	7,3	6,9	7,0
Diametro polare capolino (cm)	8,9	8,7	8,8
Capolini di scarto per pianta (n.)	0,2	0,5	0,4

Tab. 7 *Influenza dei trattamenti con Trichoderma harzianum e Pseudomonas spp. fluorescens su alcuni caratteri produttivi del carciofo*

(1) I trattamenti con soluzioni acquose di Trichoderma e Pseudomonas sono state applicate al trapianto (5 cm³ per pianta) e 20 giorni dopo (10 cm³ per pianta) rispettivamente.

3.1.7 Risultati

I risultati ottenuti, relativi ai capolini principali e totali per pianta sono riassunti nelle tabelle 5, 6 e 7.

3.1.8 Conclusioni

I contenitori studiati in tutti i casi non hanno influenzato i risultati produttivi del carciofo; il loro differente comportamento osservato durante la fase di preparazione delle piantine in vivaio e dopo il trapianto in campo non ha inciso sulla crescita e sviluppo delle piante che a partire da luglio presentavano un elevato grado di uniformità come hanno messo in risalto i rilievi effettuati e i livelli produttivi raggiunti. Le piante trapiantate con il contenitore non hanno mostrato sintomi di sofferenza rispetto a quelle

senza anche nei casi in cui il contenitore ha conservato più a lungo la propria integrità (M00 - 6,6). È emerso che le piantine di carciofo per l'apparato radicale invasivo di cui sono dotate contribuiscono efficacemente alla rottura e alla degradazione del contenitore anche qualora questo fosse di ostacolo o presentasse una maggiore resistenza alla sua rottura. Anche i due trattamenti con soluzioni di *Trichoderma* e *Pseudomonas* effettuati al colletto delle piante trapiantate con il contenitore, non hanno manifestato effetti significativi né sulla degradazione dei contenitori né sulla crescita, sviluppo e produttività delle piante.

3.1.9 Preparazione delle piantine

Alla luce dei risultati conseguiti il primo anno di attività, nel 2006, è stata ripetuta l'esperienza presso l'Azienda di Gaudiano di Lavello (PZ) della Regione Basilicata con l'intento di studiare due cultivar di carciofo propagate con 'semi' ibridi e di concentrare l'attenzione su due contenitori innovativi e due convenzionali. Il 16 marzo, per l'occasione, presso il vivaio orticolo della Cooperativa "Giustino Fortunato" di Lavello è stata effettuata la semina in seminiere delle due cultivar ibride (F_1): 'Concerto' già valutata nella prova precedente, e 'Opal' di nuova introduzione, ed il 29 marzo ha avuto luogo il ripicchettamento nei contenitori M02 Ø 6,6 e M60r Ø 5,5 innovativi e nei due convenzionali alveolati in polistirolo da 40 e 91 alveoli, riempiti tutti di substrato Floradur della Floragard avente il 60 % di sostanza organica ed un pH compreso tra 5,0 e 6,5.

3.1.10 Trapianto in pieno campo

Il trapianto in pien'aria, è stato effettuato il 27 aprile 2006 presso l'Azienda 'Gaudiano' sita in agro di Lavello (PZ), con le piante allo stadio di 3^a 4^a foglia vera ben espansa, su di un terreno in piano, arato a 40 cm, fresato e concimato con 124 kg ha⁻¹ di N di cui 41 sottoforma ammoniacale, 70 kg ha⁻¹ di P₂O₅ e 206 kg ha⁻¹ di K₂O. La superficie interessata dalla prova, dopo la squadratura e le operazioni di posa dei cartellini, è stata assoltata a 120 cm quindi ha fatto seguito il trapianto con le piantine, più il contenitore quando presente, collocate a 80 cm tra di loro, per realizzare una densità di 1,04 piante per m²; contemporaneamente veniva predisposto l'impianto irriguo con gocciolatori con la capacità di erogare 2 lh⁻¹ di acqua. In corrispondenza del trapianto delle

CONTENITORI	FOGLIE PER Pianta (N.)	PESO SECCO RADICI (MG)	LUN-GHEZZA FOGLIE (CM)	LARGHEZZA FOGLIE (CM)	COLLETTO Ø (MM)	LAI PER PIANTA (CM ²)	SOSTANZA SECCA FOGLIE (%)	DEGRAD. CONTENITORI (1)
Innovativi	‘Concerto’							
“M60r”	5,8	132	175	40	5,7	88	12,8	4,0
“M02 6,6”	7,0	412	210	50	6,7	164	13,0	5,0
<i>Alveolati</i>								
40 alveoli	7,0	187	200	50	6,0	120	9,3	--
91 alveoli	6,0	146	165	30	4,3	68	9,1	--
Innovativi	‘Opal’							
“M60r”	5,7	170	148	37	5,3	81	10,1	3,8
“M02 6,6”	6,3	224	187	43	6,0	134	10,6	4,5
<i>Alveolati</i>								
40 alveoli	5,0	357	143	35	5,3	93	11,9	--
91 alveoli	4,5	146	132	30	3,7	44	9,7	--

Tab. 8 *Rilievi sulle piantine di carciofo e sui contenitori al trapianto*(1) Giudizio *sulla* degradazione dei contenitori: 1= non degradati; 5= massima degradazione.

piantine provviste di vaso, alle osservazioni effettuate in vivaio sui contenitori e sulle piantine durante la fase di crescita, si sono aggiunti i rilievi sullo stato dei contenitori e sulle piantine così come riportato in tabella 8.

È stato seguito lo schema sperimentale a parcelle suddivise ripetuto 3 volte, con la collocazione del tipo di contenitore nei parcelloni e le due cultivar nelle parcelle di 22,4 m² (4,8 x 5,6 m), per un totale di 8 trattamenti sperimentali.

Durante il ciclo colturale sono state effettuate ripetute adacquate con cadenza settimanale, diverse sarchiature a partire dall'avvenuto attecchimento, qualche scerbatura ed è stata completata la concimazione con l'apporto di 110 kg ha⁻¹ di N e 60 kg ha⁻¹ di P₂O₅ in fertirrigazione dopo l'attecchimento. Successivamente sono stati effettuati altri due interventi fertirrigui somministrando, ogni volta, 40 unità di N, 50 unità di P₂O₅ e 33 unità di K₂O.

La carciofaia è entrata in produzione in primavera 2007: la prima raccolta è stata effettuata il 19 marzo e l'ultima il 27 aprile per un totale di 5 interventi. Per ciascuna raccolta è stato rilevato il numero e il peso dei capolini asportati per pianta e successivamente è stato calcolato il numero complessivo ed il loro peso medio; in corrispondenza dell'ultima raccolta dei capolini è stato

CONTENITORI	'CONCERTO'			'OPAL'		
	CAPOLINI PER Pianta (N.)	CAPOLINI PESO MEDIO (G)	DEGRADAZIO- NE CONTENI- TORI (I)	CAPOLINI PER Pianta (N.)	CAPOLINI PESO MEDIO (G)	DEGRADAZIO- NE CONTENI- TORI (I)
Innovativi						
“M60r”	20	159	5	17	145	5
“M02 6,6”	18	155	5	19	150	5
Alveolati						
40 alveoli	20	158	--	16	148	--
91 alveoli	17	154	--	19	145	--

Tab. 9 *Caratteri produttivi delle piante e giudizio sulla degradazione dei contenitori a fine ciclo*

(1) Giudizio *sulla* degradazione dei contenitori: 1= non degradati; 5= massima degradazione.

osservato il livello di degradazione dei contenitori che avevano accompagnato le piante.

3.1.11 Risultati

Dalla tabella 9 si ha modo di osservare che il numero totale di capolini prodotti per pianta ed il peso medio del capolino principale non hanno subito variazioni significative al variare dei contenitori impiegati per la preparazione delle piantine in entrambe le cultivar studiate. I contenitori innovativi interrati con le piantine al trapianto, corrispondenza dell'ultima raccolta, si presentavano completamente degradati e ridotti in brandelli sotto la pressione esercitata dagli apparati radicali delle piante durante la loro crescita e sviluppo.

3.1.12 Conclusioni generali

I risultati conseguiti nei 2 anni di ricerche permettono di fare le seguenti considerazioni:

- I contenitori innovativi studiati hanno sempre fatto osservare risultati simili o superiori a quelli conseguiti con i convenzionali (vasi Peco e contenitori alveolati).
- Quando i contenitori hanno accompagnato le piantine al trapianto non hanno ostacolato la crescita e lo sviluppo di queste ultime, né hanno sortito effetti depressivi sulla produzione e qualità dei capolini.
- Le cultivar studiate: 'Concerto' per 2 cicli e 'Opal per 1 ciclo colturale,

hanno sempre fatto osservare un elevato adattamento alla preparazione delle piantine che sono risultate simili, in termini di produttività, a quelle allevate nei contenitori alveolati anche quando il trapianto è avvenuto con le piantine in contenitore.

- L'applicazione delle soluzioni fungine e batteriche, con l'obiettivo di avere informazioni sulla decomposizione dei contenitori e sulla crescita delle piante, non hanno sortito alcun effetto su detti parametri né sulla produttività delle piante.
- I contenitori alveolati con 90 alveoli hanno prodotto piantine più piccole e meno vigorose a causa del minore volume di substrato disponibile per singola piantina con qualche effetto anche sui parametri produttivi.
- L'impiego degli acheni ibridi di carciofo, sempre più utilizzati per la propagazione di questa specie, trova nei contenitori innovativi studiati un perfetto alleato per produrre piantine di qualità ad elevato input ecologico.

3.2 *Asparago*

3.2.1 Introduzione

In Italia l'asparago (*Asparagus officinalis* L.) è coltivato su circa 6.300 ha ed assume particolare rilevanza in Veneto, Emilia Romagna, Puglia e Campania, dove si superano i 1.000 ha di coltivazione per anno. Viene effettuato in pieno campo per ottenere l'asparago verde a maturazione primaverile e in ambiente protetto per la produzione di asparago precoce bianco o violetto anche in pieno inverno. La propagazione si effettua principalmente mediante la preparazione di piantine a partire da seme, mentre il ricorso alle 'zampe' risulta sempre meno frequente per i costi più elevati da sostenere. Si impiegano contenitori alveolati in polistirolo, polipropilene (PP) e/o in polistirene ad alta densità non degradabili, che dopo la utilizzazione devono essere smaltiti in discarica. Raramente si impiegano cubetti e/o vasetti di torba precompressa o *paperpots* disponibili sul mercato e, come per altre specie, le dimensioni del contenitore influenzano la qualità della piantina al trapianto e l'attecchimento successivo.

Per contribuire alla riduzione dell'impatto ambientale e per produrre asparago biologico, si è ritenuto opportuno studiare il comportamento di alcuni contenitori innovativi biodegradabili frutto dell'attività di ricerca del presente Progetto.

3.2.2 Obiettivi

Studiare l'idoneità e il comportamento agronomico dei contenitori innovativi impiegati per l'allevamento di piantine di 6 cultivar ibride di asparago a partire da semi, e di avere informazioni sul comportamento morfofisiologico delle piante di asparago durante il ciclo colturale e sulla produzione dei turioni alla raccolta.

3.2.3 Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine è avvenuta in serra fredda presso l'Azienda Sperimentale "Pantanello" con la semina di circa 20 g di semi in distinte seminiere per ciascuna delle 6 cultivar ibride: Eros, 'Marte', 'Erocole', 'Italo', 'UC157', 'Grande', effettuata il 9 maggio. L'emergenza si è verificata uniformemente nelle diverse cultivar dopo 10 giorni, e il 20 maggio è stato effettuato il ripicchettamento nei contenitori: M00 \varnothing 6,6 cm; M02 \varnothing 6,6 cm; M60 rete \varnothing 5,5 cm; M60 100% \varnothing 8 cm; M60 + M60/85 (50% + 50%) \varnothing 8 cm; Contenitore alveolato, riempiti di terriccio universale. Le piantine invase sono state collocate in serra ombreggiata, irrigate con frequenza, fertilizzate e monitorate per seguirne la crescita e il comportamento dei contenitori.

3.2.4 Trapianto e schema sperimentale

Il trapianto in pien'aria è stato effettuato l'8 luglio 2005 con le piante alte 12-15 cm, di colore verde intenso, su di un terreno arato profondamente (40 cm), fresato e concimato con N nitrico ed ammoniacale, P_2O_5 e K_2O , situato in area pianeggiante a circa 15 m s.l.m. presso l'Azienda Agricola Sperimentale "Pantanello" della Regione Basilicata in agro di Bernalda. La superficie interessata dalla prova, dopo la squadratura e le operazioni di posa dei cartellini, è stata assolata con solchi 35 cm profondi e 100 cm distanti tra loro; le piantine, con cura, sono state collocate a 30 cm tra di loro, per realizzare una densità di 2,86 piante per m^2 ; contemporaneamente veniva predisposto l'impianto irriguo costituito da manichette con gocciolatori con la capacità di erogare 2 lh^{-1} di acqua. In corrispondenza del trapianto, alle osservazioni effettuate in vivaio sui contenitori e sulle piantine durante la fase di crescita, si sono aggiunti i rilievi sulle piantine così come riportato nelle tabelle 10 e 11. Al momento del collocamento a dimora delle piantine con il contenitore

TIPO CONTENITORE	CULTIVAR: ALTEZZA PIANTE (CM)						CULTIVAR: DIAMETRO COLLETT0 (MM)					
	EROS	MARTE	ERCOLE	ITALO	UCI 57	GRANDE	EROS	MARTE	ERCOLE	ITALO	UCI 57	GRANDE
M60 rete	12,0	14,9	14,0	10,7	10,5	12,5	2	1	2	1	2	3
M02-6,6	16,5	13,8	13,5	12,0	9,8	11,9	2	2	1	1	2	2
M60 100%	16,7	15,2	12,8	10,0	11,8	16,2	1	2	1	1	3	3
M00-6,6	17,3	13,8	16,8	11,5	12,4	12,8	2	2	1	1	2	2
M60+M60/85	12,5	16,3	11,5	12,1	10,5	14,5	2	3	1	3	1	2
Cont.Alveolato	10,0	17,0	15,2	11,0	11,3	10,8	2	2	2	2	2	1
Medie	14,2	15,2	14,0	11,2	11,1	13,1	2	2	1	2	2	2

Tab. 10 Rilevi dell'altezza e del diametro del colletto delle piantine nelle cultivar al trapianto (08/07/2005)

TIPO CONTENITORE	CULTIVAR: SOST. SECCA STELI E FOGLIE (%)						CULTIVAR: SOST. SECCA RADICI (%)					
	EROS	MARTE	ERCOLE	ITALO	UCI 57	GRANDE	EROS	MARTE	ERCOLE	ITALO	UCI 57	GRANDE
M60 r	29,3	28,7	24,5	30,0	28,9	29,6	18,4	21,3	22,1	21,2	23,3	23,1
M02-6,6	32,3	29,2	23,1	27,6	29,7	29,7	20,2	21,7	22,6	23,5	19,2	21,0
M60100%	28,4	29,7	26,1	26,1	29,7	31,1	23,2	24,1	23,7	24,4	23,0	19,9
M00-6,6	27,0	23,6	31,2	31,7	31,0	28,2	25,1	19,8	19,1	17,8	21,9	23,1
M60+M60/85	35,5	29,6	28,9	28,1	29,0	31,9	24,4	16,9	24,7	21,7	23,3	19,8
Conten.Alveolato	24,0	31,2	28,9	35,4	31,1	27,9	17,2	19,9	21,2	20,9	27,9	21,6
Medie	29,4	28,7	27,1	29,8	30,0	29,7	21,4	20,6	22,2	21,6	23,1	21,4

Tab. 11 Sostanza secca degli steli e foglie, e delle radici delle piantine al trapianto (08/07/2005)

si è stabilito di studiare anche l'effetto dell'assenza di contenitore limitatamente alle cultivar Eros e 'Marte'. In definitiva è stato realizzato lo schema sperimentale a parcelle suddivise ripetuto 3 volte, con la collocazione delle cultivar nelle parcelle e il tipo di contenitore nelle sub-parcelle di 2,40 m², a cui si sono aggiunti altri 10 trattamenti (2 cultivar trapiantate senza i 5 tipi di contenitore) per un totale di 46 trattamenti sperimentali.

3.2.5 Conduzione della prova

Durante i primi tre cicli colturali di formazione delle piante, sono state effettuate ripetute adacquate estive con cadenza settimanale, diverse sarchiature, qualche scerbatura ed è stato apportato concime azotato, fosfatico e potassico in fertirrigazione per potenziarne l'accrescimento. Sono stati effettuati ripetuti rilievi sulle dimensioni delle piante per ogni tesi sperimentale a partire dall'attecchimento con intervalli mensili. Durante l'attività vegetativa delle piante, si è reso necessario qualche intervento contro gli afidi con pirimicarb e con previcur contro i patogeni fungini.

L'asparagiaia è stata sottoposta alla normale agrotecnica di coltivazione negli anni 2006 e 2007 ed è entrata in produzione nella primavera 2008, a partire dalla prima settimana di marzo.

3.2.6 Risultati

L'altezza delle piantine all'epoca del trapianto oscilla, in media, tra gli 11,1 cm di 'UC157' e i 15,2 cm di 'Marte'. Nelle altre cultivar si osservano valori intermedi (tab. 10). Rispetto alla tipologia del contenitore, l'altezza delle piante, varia in modo differente con la cultivar. Le piantine più alte si osservano con la cultivar Eros allevate in M60 100%, con la cultivar Marte nel contenitore alveolato, con 'Erocole' in M00 6,6, con 'Italo' in M60 + M60/85, con UC157 in M00 6,6 e con la cultivar Grande in M60 100%.

Il diametro del colletto delle piantine risulta poco variabile tra le cultivar e tra il diverso tipo di contenitore impiegato (tab. 10).

Il contenuto di sostanza secca degli steli e delle foglie risulta del 29,1%, rispetto al 21,7% delle radici, in media, tra le cultivar; in entrambi i casi la percentuale di secco varia notevolmente al variare della tipologia di contenitore impiegato (tab. 11).

Durante i primi tre cicli colturali di formazione delle piante, inoltre sono

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC 157	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60 rete	40,2	42,5	41,3	40,6	39,8	48,1	37,5	41,7
M02-6,6	33,8	36,0	50,3	39,4	30,2	44,7	44,8	47,1
M60 100%	48,6	30,8	34,7	31,8	24,3	40,1	27,5	39,8
M00-6,6	40,6	37,6	47,4	34,8	27,6	52,1	36,3	39,9
M60+M60/85	49,4	24,8	59,7	31,1	28,2	39,6	28,6	29,5
C. alveolato	41,9	-	37,5	-	33,8	46,2	36,8	38,9
Medie	42,4	34,3	45,2	35,5	30,7	45,1	35,3	39,5

Tab. 12 *Altezza media degli steli (cm) (fine 1° ciclo)*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC 157	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60r	158,7	159,8	148,8	157,9	161,7	154,4	158,4	154,6
M02-6,6	159,7	160,9	153,0	160,8	162,4	155,8	159,0	149,3
M60 100%	147,5	160,1	158,7	158,9	162,3	156,1	161,0	148,2
M00-6,6	151,2	161,3	159,8	158,3	164,4	151,0	158,1	157,1
M60+M60/85	155,3	155,6	152,6	165,0	153,0	157,8	162,8	162,0
C. alveolato	156,1	-	149,7	-	155,9	154,9	155,3	164,0
Medie	154,8	159,5	153,8	160,2	160,0	155,0	159,1	155,9

Tab. 13 *Altezza media degli steli (cm) (31/07/06)*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

stati eseguiti diversi rilievi su alcuni caratteri morfologici delle piante; a titolo di esempio si riportano quelli effettuati nel 2006 e 2007 relativi all'altezza e al numero di steli per pianta così come riportati nelle tabelle 12 e 13.

L'altezza media degli steli alla fine del primo anno del ciclo colturale (tab. 12) presenta una flessione soprattutto nella cultivar Ercole con un minimo di 24,3 cm quando trapiantata con il contenitore M60 100%; mentre le cultivar Marte ed 'Italo' sono quelle che presentano gli steli più alti, con la differenza che la prima presenta la maggiore altezza con le piante trapiantate senza vaso e la 'Italo' in presenza del contenitore. Mediamente l'altezza risulta essere più elevata nel contenitore M60 r, anche se non mancano casi in cui detto parametro assume valori elevati in altri contenitori a parità di cultivar. Alla data del 31 luglio 2006 (tab. 13) detto parametro fa rilevare valori più elevati

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC I 57	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60r	168,8	169,8	168,1	177,0	171,7	174,9	178,4	174,2
M02-6,6	169,1	171,9	173,2	170,8	172,9	175,8	179,0	169,3
M60 100%	167,5	170,1	168,4	178,2	182,3	176,1	181,0	168,2
M00-6,6	161,2	172,3	169,8	178,3	174,9	181,0	178,1	167,1
M60+M60/85	165,4	175,6	172,6	175,0	183,0	177,8	182,3	172,4
C. alveolato	166,8	-	169,1	-	175,9	164,9	175,2	164,9
Medie	166,5	171,9	170,2	175,9	176,8	175,1	179,0	169,4

Tab. 14 *Altezza media degli steli (cm) (31/07/'07)*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC I 57	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60r	6,5	6,4	6,8	6,8	6,5	5,9	7,2	6,5
M02-6,6	7,1	5,3	6,5	5,8	7,0	5,8	6,7	6,4
M60 100%	6,0	6,8	6,8	6,5	6,6	6,7	5,9	5,8
M00-6,6	6,7	5,5	5,6	5,9	6,6	7,6	6,3	5,9
M60+M60/85	6,1	7,8	6,3	7,3	5,9	6,6	6,8	7,4
C. alveolato	7,3	-	5,7	-	6,8	6,6	5,7	6,4
Medie	6,6	6,4	6,3	6,5	6,6	6,5	6,4	6,4

Tab. 15 *Accestimento (steli per pianta n.) (31/07/'06)*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

con la piantine trapiantate con il contenitore per le cultivar Eros e 'Marte', dove è possibile effettuare questo confronto, ma anche le piantine delle altre cultivar trapiantate con il contenitore presentano valori del tutto comparabili. Andamento simile si osserva il 31 luglio 2007 (tab. 14), con valori in generale più alti per l'ulteriore accrescimento delle piante (terzo anno di ciclo) e con la conferma che quando il contenitore accompagna la piantina al trapianto, la futura pianta ne trae un certo vantaggio.

Per quanto riguarda l'accestimento (tabb. 15 e 16), si osserva un incremento del numero di steli per pianta passando dal secondo al terzo anno di ciclo senza sostanziali differenze tra le cultivar, i diversi contenitori impiegati e le 2 modalità di trapianto delle cultivar Eros e 'Marte'.

In primavera 2008 l'asparagiaia è entrata in produzione e alla data del 15 aprile sono state effettuate 5 raccolte (tab. 17) asportando in media 6-7 turioni commerciabili per pianta senza differenze di rilievo tra le cultivar e i

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC 157	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60r	11,5	9,4	10,8	10,8	10,5	10,9	9,2	12,5
M02-6,6	12,1	10,3	11,5	9,8	9,7	9,8	10,7	11,4
M60 100%	10,0	12,8	12,8	9,5	10,6	9,7	11,9	9,8
M00-6,6	9,7	11,5	9,6	10,9	11,6	11,6	9,6	9,9
M60+M60/85	10,1	10,8	9,3	10,3	12,9	10,6	10,8	11,4
C. alveolato	13,3	-	11,7	-	9,8	9,6	10,7	10,6
Medie	11,1	11,0	11,0	10,3	10,9	10,4	10,5	10,9

Tab. 16 *Accestimeno (steli per pianta n.) (31/07/07)*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

TIPO CONTENITORE	EROS		MARTE		ERCOLE	ITALO	UC 157	GRANDE
	S(1)	V(2)	S(1)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)	V(2)
M60r	5	6	6	5	6	8	6	7
M02-6,6	6	4	5	4	4	7	7	6
M60 100%	7	5	7	6	7	6	9	5
M00-6,6	7	6	7	5	8	7	5	6
M60+M60/85	6	8	5	5	5	6	6	7
C. alveolato	8	-	6	-	8	7	9	5
Medie	7	6	6	5	6	7	7	6

Tab. 17 *Turioni commerciabili per pianta (n.) raccolti al 15 aprile 2008*

(1) (S) trapianto senza contenitore

(2) (V) trapianto con contenitore

contenitori impiegati per ottenere le piantine. Alla stessa data dai rilievi effettuati alla base delle piante è emerso la completa degradazione dei contenitori e la presenza dei rizomi ricchi di gemme ed in piena espansione.

3.2.7 Conclusioni

In conclusione si può ritenere che i contenitori proposti per la preparazione delle piantine di asparago risultano idonei al raggiungimento degli obiettivi in quanto, sebbene i dati produttivi siano del tutto parziali, ma il comportamento delle piante, la loro vigoria e la completa degradazione dei contenitori quando hanno accompagnato le piantine al trapianto,

fanno intravedere un loro possibile impiego nella produzione vivaistica futura per questa specie. In particolare è da sottolineare come la degradazione dei contenitori dopo il trapianto sembra contribuire ad un migliore accrescimento dei rizomi delle piante con effetti sulla loro vigoria e sulla futura produttività (aspetti da verificare con il prosieguo del ciclo produttivo appena iniziato).

3.3 *Melone*

3.3.1 Introduzione

Nell'ambito delle cucurbitacee, il melone (*Cucumis melo* L.) nelle sue 3 principali (varietà botaniche): inodorus (*C. melo* L. var. *inodorus* Naud.), retato (*C. melo* L. var. *reticulatus* Naud.) e cantalupo (*C. melo* L. var. *cantalupensis* Naud.), interessa annualmente in Italia circa 27.000 ha di coltivazione con una produzione che sfiora le 560.000 t. Principalmente si pratica la semina diretta in campo per il tipo inodorus e si preferisce preparare le piantine per le altre 2 tipologie specialmente per le coltivazioni semiforzate e forzate. Si stima che annualmente per questa specie si preparano circa 816 milioni di piantine (tab. 8) facendo ricorso a contenitori alveolati in polistirolo, in polipropilene (PP), a vasetti di torba, a paperpots ecc. Da più parti si avverte l'esigenza di disporre di contenitori degradabili tali che possano accompagnare le piantine in campo con il trapianto e disfarsi nel terreno senza arrecare nocuenti agli apparati radicali e alla crescita e sviluppo delle piante. Anche il diffondersi della coltivazione con il metodo biologico della specie impone l'adozione di contenitori bio per preparare le piantine. Questi aspetti ci hanno indotti ad affrontare la ricerca di contenitori innovativi a basso impatto ambientale per destinarli alla preparazione delle piantine di melone.

3.3.2 Obiettivi

Studiare l'idoneità e il comportamento agronomico dei contenitori impiegati per l'allevamento di piantine di melone, di avere informazioni sul comportamento morfofisiologico delle piante di melone durante il ciclo colturale e di valutare in termini quali-quantitativi la produzione dei frutti alla raccolta.

CONTENITORI	CARATTERISTICHE				
	MATERIALE	FORMA	DIAMETRO		ALTEZZA (cm)
			SUPERIORE (cm)	INFERIORE (cm)	
"M 60" ⁽²⁾	Poliestere biodegradabile parzialmente di origine rinnovabile	Tronco-conica	5,5	4,0	4,0
"M02"	Poliestere biodegradabile parzialmente di origine rinnovabile, caricato con fibra vegetale (20 %)	Tronco-conica	6,6	5,0	7,0
"M60+M60/85"	Poliestere biodegradabile parzialmente di origine rinnovabile (maggiore fluidità)	Tronco-conica	8,0	5,5	5,5
"M00"	Poliestere biodegradabile parzialmente di origine rinnovabile di 1° tipo	Tronco-conica	6,6	5,0	7,0
"M60 8"	Poliestere biodegradabile parzialmente di origine rinnovabile	Tronco-conica	8,0	5,5	5,5
Contentitore alveolato da 91 alveoli	polistirolo	Tronco-conica	3,9	2,6	5,7
					46 ⁽¹⁾

Tab. 18 *Tipologie di contenitori impiegati nella preparazione delle piantine di melone in vivaio*

(1) Volume del singolo alveolo.

(2) r = contenitore a rete.

3.3.3 Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine di melone (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud.) è avvenuta in serra fredda presso l'Azienda Agricola Sperimentale "Pantanello" con la prima semina effettuata il 24 maggio e la seconda il 15 giugno, collocando 2 semi in ciascuno dei tipi di contenitori: M60 r, M02-6,6, M60 100%, M00-6,6, M60 + M60/85, e contenitore alveolato da 90 alveoli, riempiti di terriccio universale "Floradur" costituito da una miscela di torba bruna e bionda ed avente un contenuto di sostanza organica del 60 % e un pH di 6,0 - 6,5.

È stato usato il seme della cv Cocorito F1 (Seminis Italia) indicata come genotipo resistente all'oidio. Dopo l'emergenza è stato effettuato l'isolamento riducendo le piante a una per contenitore avendo cura di lasciare quella più verde e vigorosa. Dopo 20 e 16 giorni dalla semina rispettivamente per la prima e la seconda epoca, le piantine erano pronte per il trapianto, avvenuto su di un terreno opportunamente preparato, situato in area pianeggiante a circa 15 m slm presso l'Azienda Agricola Sperimentale "Pantanello" della Regione Basilicata, caratterizzato da una tessitura a grana media (51,3 % limo, 29,0 % sabbia e 19,7% argilla), una reazione leggermente alcalina (pH 7,68), un basso contenuto in azoto totale (0,8 g/kg,) ed un contenuto in sostanza organica pari a 9,2 g/kg; inoltre, risultava ben dotato in fosforo (21,2 mg/kg) e potassio scambiabile (215 mg/kg). La superficie interessata dalla prova, dopo la squadratura e le operazioni di posa dei cartellini, è stata assoltata con solchi 5 cm profondi e 200 cm distanti tra loro e le piantine, con cura, sono state collocate a 100 cm tra di loro, per realizzare una densità di 0,5 piante per m²; contemporaneamente veniva predisposto l'impianto irriguo costituito da ali gocciolanti con la capacità di erogare 2 l h⁻¹ di acqua per gocciolatore.

3.3.4 Trapianto e schema sperimentale

Il trapianto è stato effettuato considerando, per ogni contenitore innovativo, due modalità di posa a dimora delle piantine: con e senza il contenitore. Pertanto, per ogni epoca di trapianto, la prova ha previsto il confronto di 11 tesi sperimentali ottenute dalla combinazione fattoriale di 5 contenitori innovativi con due modalità di trapianto, e dall'aggiunta della tesi convenzionale (contenitore alveolato) che prevedeva, ovviamente, una sola modalità di trapianto, ovvero la collocazione nel terreno della piantina senza il contenitore. Le suddette tesi sono state distribuite in campo seguendo lo schema

CONTENITORI	INDICE DI DEGRADAZIONE CONTENITORI (1)		ALTEZZA PIANTE (cm)		FOGLIE VERE PER PIANTA (n.)		SUPERFICIE FOGLIARE PER PIANTA (cm ²)		PESO FRESCO PARTE EPIGEA PER PIANTA (g)		SOSTANZA SECCA EPIGEA (%)	
	DATE DI TRAPIANTO											
	13/06	01/07	13/06	01/07	13/06	01/07	13/06	01/07	13/06	01/07	13/06	01/07
“M 60r 5,5”	0,2	0,0	5,5	5,3	2,2	1,9	52	45	2,0	1,8	13,8	13,9
“M02 6,6”	0,3	0,1	5,2	5,5	2,0	2,0	96	106	3,6	4,1	13,9	13,8
“M60 8”	0,0	0,0	6,4	6,2	1,9	2,0	124	121	4,3	4,0	13,6	12,4
“M00 6,6”	0,0	0,0	6,0	5,8	2,1	2,2	100	108	4,2	3,9	13,7	13,5
“M60+M60/85”	0,0	0,0	6,8	5,9	2,2	2,1	123	113	4,5	4,0	12,8	13,4
Cont. alveolato	-	-	5,0	5,3	2,0	1,9	41	50	1,7	1,5	12,1	13,1
MDS 0,05 P (2)	n.s		n.s.		n.s.		30		1,0			n.s
0,01 P							42		1,3			

Tab. 19 *Indice di degradazione dei contenitori e alcuni parametri biometrici delle piantine di melone al momento del trapianto (13/06 e 01/07/2005)*

1) 0 = Contenitori non degradati; 5 = contenitori completamente degradati.

2) MDS = Minima differenza significativa.

CONTENITORI	MODALITÀ DI TRAPIANTO (1)	PRODUZIONE COMMERCIBILE		CARATTERISTICHE DEI FRUTTI										PLACCENTE E SEMI (%)	SOLIDI SOLUBILI (°Brix)	CONSISTENZA (%)	SOSTANZA SECCA (%)
		PER PIANTA (n.)	(t/ha)	PESO MEDIO MEDIO (g)	DIAMETRO		INDICE DI FORMA (L/l)	SPessore PERICARPO (mm)	CAVITÀ OVARICA		INDICE DI FORMA (L/l)						
					EQUATORIALE "L" (cm)	POLAIRE "L" (cm)			LARGHEZZA "L" (cm)	LUNGHEZZA "L" (cm)							
"M 60r"	SV	3,0	31,0	1888	14,4	22,4	1,6	5,2	5,2	14,5	2,8	6,9	12,0	4,0	10,9		
	V	3,0	31,1	1997	13,7	22,6	1,6	3,5	5,6	15,1	2,7	7,2	11,9	3,5	10,6		
"M02"	SV	3,7	32,2	2015	14,5	22,4	1,5	3,3	5,7	14,3	2,5	6,8	12,6	3,9	10,3		
	V	3,3	31,8	1849	13,8	22,4	1,6	3,6	5,5	14,9	2,7	7,0	11,8	3,4	9,9		
"M60 8"	SV	3,5	31,7	1840	13,9	21,6	1,5	5,5	5,5	14,6	2,6	7,4	12,4	4,5	9,4		
	V	3,0	26,8	1679	13,5	20,2	1,5	4,7	5,6	14,1	2,5	6,9	12,8	3,7	8,9		
"M00"	SV	2,8	36,0	2131	14,6	22,5	1,5	3,8	5,6	14,8	2,6	6,7	11,4	3,7	9,3		
	V	2,6	29,5	1961	14,0	22,4	1,6	4,7	5,0	14,2	2,8	7,0	11,1	4,3	8,0		
"M60 + M60/85"	SV	3,0	33,2	1998	14,3	21,7	1,5	5,2	5,7	14,0	2,4	6,5	12,3	3,1	10,5		
	V	3,1	26,4	1709	14,2	20,7	1,5	5,0	5,2	14,8	2,8	6,9	12,0	4,0	8,5		
Contentitore alveolato		3,0	26,1	1703	13,6	20,9	1,5	4,8	5,3	14,2	2,7	7,3	11,8	3,1	10,2		
SECONDA EPOCA DI TRAPIANTO (01/07/2005)																	
"M 60r"	SV	3,8	25,1	1816	13,9	19,6	1,4	6,3	5,9	13,3	2,3	6,2	10,7	2,9	9,4		
	V	3,1	19,5	1705	12,8	21,3	1,7	5,7	4,7	13,6	2,9	8,0	10,7	3,0	8,9		
"M02"	SV	3,7	30,0	2139	14,0	21,5	1,5	6,2	5,7	14,4	2,5	6,6	11,7	2,6	9,3		
	V	2,7	18,1	2219	13,3	22,3	1,7	5,7	5,8	16,2	2,8	7,3	10,4	3,2	9,5		
"M60 8"	SV	3,6	31,9	2020	14,0	21,2	1,5	5,1	5,0	14,1	2,8	6,4	12,9	3,0	10,6		
	V	3,2	21,0	1794	12,5	20,0	1,6	6,5	4,8	13,0	2,7	8,0	9,5	2,5	9,0		
"M00"	SV	3,9	27,9	2014	13,7	21,3	1,5	6,5	4,8	15,5	3,2	6,1	11,8	2,1	10,2		
	V	2,8	16,1	1656	12,7	19,9	1,6	6,0	5,5	14,1	2,6	9,1	9,9	3,0	8,9		
"M60 + M60/85"	SV	4,0	35,3	2298	15,3	23,3	1,5	7,7	6,3	17,2	2,7	5,7	10,7	2,1	10,0		
	V	3,2	23,5	1893	13,5	21,1	1,6	5,5	4,8	13,4	2,8	6,5	11,0	3,8	10,0		
Contentitore alveolato		3,1	18,1	1772	12,8	23,9	1,9	5,9	4,8	14,5	3,0	7,5	9,8	2,7	9,1		
MDS ⁽²⁾	0,05P	0,5	3,9	338	0,9	1,9	0,12	0,9	0,5	1,5	0,3	n.s.	0,8	n.s	0,9		
	0,01P	0,7	5,3	453	-	2,5	0,16	1,2	0,7	2,1	0,4	1,1	1,1		1,3		

Tab. 20 *Influenza del tipo di contenitore e della modalità di trapianto su alcune caratteristiche produttive e qualitative del melone allevato in pieno campo*

(1) SV = trapianto senza vaso; V = trapianto con vaso

(2) MDS = Minima differenza significativa

sperimentale a blocchi randomizzati con 3 repliche. Le parcelle elementari avevano una superficie di 14 m² corrispondenti a 7 piante. Al trapianto sono stati effettuati rilievi visivi sullo stato dei contenitori (degradazione) assegnando un punteggio secondo una scala crescente di valori variabile da 0 (materiale completamente intatto, perfetta tenuta del contenitore) a 5 (materiale completamente degradato, scarsa tenuta del contenitore); tale rilievo è stato ripetuto a fine ciclo colturale ispezionando gli apparati radicali delle piante che erano state messe a dimora con il vasetto. Durante i due cicli colturali sono state effettuate ripetute adacquate con cadenza settimanale, diverse sarchiature a partire dall'avvenuto attecchimento, qualche scerbatura e sono stati apportati 100 kg ha⁻¹ di N, 150 kg ha⁻¹ di P₂O₅ e 200 kg ha⁻¹ di K₂O in fertirrigazione dopo l'attecchimento e in più riprese. Si sono resi necessari trattamenti fitosanitari per il controllo di fitofagi (afidi, tripidi e acari) e crittogame (oidio). Le raccolte dei frutti sono state effettuate, per ciascuna epoca di trapianto, in unica soluzione, rispettivamente il 30 agosto ed il 30 settembre 2005; sono stati asportati tutti i frutti maturi considerando un'area di saggio di 10 m² per parcella corrispondenti a 5 piante. Successivamente, i peponidi sono stati classificati in commerciabili e di scarto e pesati; in laboratorio, su campioni di 5 frutti commerciabili per parcella sono stati rilevati i seguenti caratteri morfologici e qualitativi: peso medio e dimensioni (diametro polare ed equatoriale) dell'intero frutto e della cavità ovarica (larghezza e lunghezza); peso delle placente e semi; solidi solubili (°Brix), sostanza secca e consistenza della polpa; spessore del pericarpo.

Tutti i dati rilevati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) considerando come causa di variazione principale congiuntamente le due epoche di semina o di trapianto, come sub-effetto i diversi contenitori e come sub-sub-effetto le modalità di trapianto ad eccezione delle piantine allevate nei contenitori alveolati. Le differenze tra i valori medi risultati statisticamente significativi sono stati valutati con il test della minima differenza significativa (MDS).

Dalla tabella 19 emerge la buona tenuta dei contenitori sino al momento del trapianto, solo le tipologie M 60 r e M02 presentavano un chiaro inizio di degradazione specialmente con la prima epoca di semina. I caratteri biometrici delle piantine non presentavano differenze degne di rilievo e la maggiore superficie fogliare e il più elevato peso della parte epigea delle piantine osservato con alcuni di essi è da attribuire al loro maggiore volume e quindi al maggiore quantitativo di substrato disponibile per pianta. Ciò spiega anche la ridotta crescita delle piantine nel contenitore alveolato i cui alveoli presentavano il volume più basso (46 cm³).

CONTENITORI	INDICE DI DEGRADAZIONE (i)	
	PRIMA EPOCA	SECONDA EPOCA
M 60 rete Ø 5,5	2,5	2,7
M02 Ø 6,6	4,7	4,5
M60+M60/85 Ø 8	0,5	0,4
M00 Ø 6,6	0,8	0,8
M60 Ø 8	0,5	0,5
Contenitore alveolato	-	-

Tab. 21 *Indice di degradazione dei contenitori a fine ciclo culturale*

(1) 0 = Materiale non degradato; 5 = completamente degradato.

3.3.5 Risultati

Dalla tabella 20 si evince che le piante di melone con la prima epoca di trapianto hanno prodotto in media $30,5 \text{ tha}^{-1}$ di peponidi commerciabili, con la differenza che quando le piantine erano liberate dal contenitore al momento del trapianto, si è registrato un decremento produttivo di $3,7 \text{ tha}^{-1}$ passando da $32,8 \text{ tha}^{-1}$ a $29,1 \text{ tha}^{-1}$ quando il contenitore ha accompagnato la piantina a dimora; detta differenza risulta anche chiara nei confronti delle piantine allevate nei contenitori alveolati. Considerando la diversa tipologia di contenitore, emerge che questi, in tutti i casi, hanno favorito gli aspetti produttivi del melone (31 tha^{-1}) nei confronti delle piantine ottenute con i contenitori alveolati ($26,1 \text{ tha}^{-1}$). In particolare la presenza del contenitore dopo il trapianto ha, in un certo modo, sortito effetti negativi sulla produttività con l'impiego dei contenitori M60, M00 e in quelli M60+M60/85. La presenza del contenitore in questi casi, ha probabilmente creato ostacoli al pieno funzionamento degli apparati radicali delle piante, che, come si evince anche dalle dimensioni degli steli, dalla fogliosità delle piante e dalla documentazione fotografica, i contenitori in queste tesi, si presentavano più integri rispetto agli altri in studio.

Con la seconda epoca di trapianto si osserva in media una produzione di $21,9 \text{ tha}^{-1}$ di peponidi, $19,6 \text{ tha}^{-1}$ con il trapianto delle piantine con vaso e $30,1 \text{ tha}^{-1}$ senza vaso, e $18,1 \text{ tha}^{-1}$ con le piantine allevate in contenitore alveolato. Detti risultati, più bassi di quelli relativi alla prima epoca, confermano gli stessi andamenti, anzi nel caso delle piantine trapiantate senza contenitore, queste hanno prodotto $10,5 \text{ tha}^{-1}$ di peponidi in più rispetto a quelli con contenitore, facendo rilevare un incremento del 53,4%, rispetto al 12,6% osservato con la prima epoca; mentre le piantine allevate in contenitore alveolato hanno confermato il minore livello produttivo.

3.3.6 Comportamento dei contenitori

Le difficoltà incontrate dalle radici con la presenza del contenitore sono risultate più evidenti nella seconda epoca variabilmente con tutti i tipi di contenitore a confronto.

A fine ciclo, come si evince dalla tabella 21, tutti i contenitori presentavano evidenti sintomi di degradazione particolarmente evidenti nei contenitori M60 r, M02 e M00 in cui detto processo era iniziato già prima del trapianto (tab. 19). I risultati positivi conseguiti con i contenitori innovativi meritano un ulteriore approfondimento per meglio focalizzare la messa a punto di manufatti più facilmente degradabile per ridurre gli ostacoli agli apparati radicali quando si opera il trapianto con il contenitore.

3.3.7 Conclusioni

Da quanto sin qui esposto emerge con evidenza la difficoltà che le piante di melone incontrano per liberarsi dalle angustie causate dai diversi contenitori agli apparati radicali dopo il trapianto. Gli effetti depressivi sulla produttività delle piante causato dall'ostacolo alla regolare crescita del fittone radicale quando il contenitore accompagna la pianta con il trapianto necessita di ulteriori approfondimenti orientando l'attenzione verso contenitori di più breve durata e di più immediata degradabilità dopo il trapianto, come in parte emerge dalla tipologia M60 r, M02 e M00.

Non va, in ogni caso, sottaciuto che i contenitori innovativi hanno sempre fatto rilevare livelli produttivi superiori a quelli ottenuti con i convenzionali contenitori alveolati e che il calo osservato con il trapianto delle piantine con il contenitore è risultato più evidente con la seconda epoca di trapianto rispetto alla prima in cui in particolare con i contenitori M60 r e M02 dette differenze non sono significative.

3.4 *Cavolo broccolo*

3.4.1 Introduzione

Il cavolo broccolo (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) è una brassicacea di più recente introduzione nei comprensori orticoli italiani, dove insieme al cavolfiore interessa circa 22.000 ha di coltivazione per anno con una produ-

zione che raggiunge le 500.000 t. Il ricorso sempre più frequente a cultivar ibride di nuova generazione, la maggiore concentrazione di maturazione richiesta, la minore durata dei cicli colturali e la coltivazione su terreni non perfettamente idonei, hanno orientato i coltivatori verso la preparazione delle piantine in vivaio ed al successivo trapianto in campo. Annualmente si producono circa 723 milioni di piantine, principalmente in contenitore alveolato, ma da alcuni anni anche in contenitori singoli per coprire le superfici coltivate. L'impiego dei contenitori singoli di maggiore volume e quindi con maggiore substrato a disposizione di ciascuna piantina influenza direttamente la loro crescita (Monteleone et al., 2005; Trentini et al., 1996) e lo sviluppo con effetti positivi sulla produzione in termini di quantità, qualità e precocità (Alamprese, 2006). In questo contesto è maturata l'idea di studiare l'idoneità di alcuni contenitori innovativi a basso impatto ambientale per la preparazione in vivaio di piantine di cavolo broccolo e la successiva coltivazione in pieno campo valutandone il loro comportamento morfoprodotivo.

3.4.2. Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine è avvenuta in serra fredda presso il vivaio "Giustino Fortunato" di Lavello con le semine effettuate il 30 luglio 2005 per la prima epoca ed il 1° settembre per la seconda, collocando 2 semi in ciascuno dei seguenti contenitori: M60 r, M02-6,6, M60 100%, M00-6,6, M60 + M60/85, Contenitore alveolato da 90 e Contenitore alveolato da 228 alveoli, riempiti di terriccio universale. Sono stati usati i semi delle cv Marathon F1 (Sakata) e 'Ironman' (Royal-sluis) di simile precocità e differenti per la morfologia delle infiorescenze. Dopo l'emergenza è stato effettuato l'isolamento riducendo le piante a una per contenitore avendo cura di lasciare quella più verde e vigorosa. I trapianti sono avvenuti dopo 25 giorni dalle 2 semine con le piantine provviste di 3-4 foglie bene espanse ed alte 12-15 cm.

3.4.3 Trapianto e schema sperimentale

I trapianti in pien'aria sono stati effettuati su di un terreno arato, fresato, concimato e situato in area pianeggiante presso l'Azienda Agricola Sperimentale "Gaudio di Lavello" della Regione Basilicata. La superficie interessata dalla prova, rispettivamente per le 2 epoche di trapianto, dopo la squadratura e le

CONTENITORI	MODALITÀ DI TRAPIANTO (1)	TEMPO MEDIO DI RACCOLTA (gg)	PRODUZIONE COMMERCIABILE CORIMBI PRINC.		CARATTERISTICHE DEI CORIMBI										(0-5) (4)	COMPATTEZZA (0-5) (4)	
			CON FOGLIE (tha ⁻¹)	TOLETTATI (tha ⁻¹)	PESO MEDIO	CON FOGLIE (g)	TOLETTATI (g)	DIAMETRO (cm)	LUNGHEZZA (cm)	SPESORE (mm)	CUORE CAVO (%)	SOSTANZA SECCA (%)	VIRESCENZA (0-5) (2)	GRANA (0-5) (3)			
IRONMAN ¹																	
M 60 rete	SV	76	16,8	14,3	498	14,0	15,6	39,2	0,9	9,2	0,1	0,9	0,6				
	V	77	16,6	13,8	517	13,5	15,6	39,1	9,5	8,5	0,1	1,1	0,5				
M02 Ø 6,6	SV	77	15,9	13,7	458	13,2	15,3	36,8	4,4	9,3	0,2	1,0	0,4				
	V	81	15,5	13,7	515	13,9	15,2	37,1	3,3	9,6	0,2	1,1	0,4				
M60 Ø 8	SV	76	17,3	15,3	496	14,4	15,8	37,5	2,4	9,2	0,0	1,2	1,0				
	V	80	15,4	13,2	499	13,9	15,2	37,5	15,4	8,0	0,1	1,2	0,7				
M00 Ø 6,6	SV	77	15,9	14,0	483	13,6	15,5	37,9	2,8	8,4	0,1	1,2	0,5				
	V	82	13,1	11,5	441	13,4	15,1	36,7	0,0	8,9	0,1	0,9	0,3				
M60+M60/85 Ø 8	SV	76	17,2	14,8	505	13,7	15,1	36,1	3,3	8,9	0,1	1,1	0,7				
	V	81	15,3	13,1	483	13,5	15,0	38,0	13,2	8,6	0,1	0,9	0,5				
Contentitori alveolari	90 fori	81	15,4	13,5	436	13,9	15,1	38,8	5,0	9,0	0,1	1,0	0,3				
	228 fori	85	13,6	11,5	470	14,0	15,0	37,5	19,3	8,5	0,4	1,1	0,1				
MARATHON ²																	
M 60 rete	SV	80	15,6	12,2	466	13,6	16,1	36,8	66,3	8,1	0,0	1,1	1,8				
	V	80	15,0	12,1	464	14,3	15,9	36,1	77,5	7,9	0,0	1,0	1,7				
M02 Ø 6,6	SV	78	16,1	13,1	461	14,1	16,1	34,5	67,1	8,7	0,0	1,7	2,0				
	V	81	15,4	12,3	484	13,8	15,3	36,8	76,4	8,2	0,0	1,0	1,9				
M60 Ø 8	SV	78	16,4	13,2	481	13,7	15,7	36,3	55,6	8,7	0,1	1,2	1,8				
	V	81	14,2	11,3	468	13,9	15,2	36,2	63,6	8,0	0,0	1,0	1,5				
M00 Ø 6,6	SV	79	15,4	12,5	476	13,9	15,6	35,5	82,6	8,4	0,1	1,1	2,0				
	V	82	14,1	11,2	475	13,6	15,5	36,9	87,3	8,0	0,0	1,0	1,8				
M60+M60/85 Ø 8	SV	79	15,9	12,9	478	14,3	16,0	35,7	81,5	8,3	0,1	1,1	2,1				
	V	81	14,5	11,6	466	13,8	15,1	35,4	73,1	8,6	0,1	0,9	1,8				
Contentitori alveolari	90 fori	82	14,1	11,6	451	14,1	15,0	35,3	86,1	7,7	0,1	0,7	1,9				
	228 fori	85	12,1	9,7	447	14,0	14,9	35,4	64,8	8,1	0,1	1,0	1,6				

Tab. 22 *Influenza del tipo di contenitore e della modalità di trapianto delle piantine su alcune caratteristiche produttive e qualitative di due cultivar di cavolo broccolo (prima epoca di trapianto)*

(1) SV = senza vaso; V = con vaso; (2) Virescenza: 0 = assenza - 5 = massima presenza; (3) Grana: 0 = molto fine - 5 = molto grossa.

(4) Compattezza: 5 = scarsa compattezza - 0 = massima compattezza

CONTENITORI	MODALITÀ DI TRAPIANTO(1)	TEMPO MEDIO DI RACCOLTA (gg)	CORIMBI PRINCIPALI		CARATTERISTICHE DEI CORIMBI											
			(tha ⁻¹) 'TOLETTATI'	(tha ⁻¹) 'CON FOGLIE'	PESO MEDIO		DIAMETRO (cm)	LUNGHEZZA (cm)	SPESSORE (mm)	CUORE (%)	SOSTANZA (%)	VIRESCENZA (0-5) (2)	GRANA (0-5) (3)	COMPATTEZZA (0-5) (4)		
					(g) 'CON FOGLIE'	(g) 'TOLETTATI'										
'Ironman'																
M 60 rete	SV	97,7	10,4	7,4	309	221	11,1	14,0	35,0	8,4	10,6	0,0	1,5	0,3		
	V	98,1	10,3	7,4	310	228	11,1	14,3	35,2	6,0	10,4	0,1	1,1	0,2		
M02 Ø 6,6	SV	94,3	11,2	8,0	335	237	10,9	14,1	35,1	4,7	10,5	0,1	1,1	0,4		
	V	99,0	10,4	6,7	288	207	10,8	14,4	35,4	5,6	10,3	0,1	1,4	0,4		
M60 Ø 8	SV	94,9	11,5	8,0	352	246	11,2	13,9	37,2	3,0	10,5	0,2	1,0	0,3		
	V	100,2	10,0	6,7	316	211	10,9	14,0	34,6	3,3	10,5	0,0	1,3	0,4		
M00 Ø 6,6	SV	94,8	11,3	7,8	338	243	10,9	13,8	35,1	4,2	10,3	0,1	1,1	0,3		
	V	100,1	10,0	6,6	319	212	10,4	14,0	34,7	3,1	11,1	0,1	1,3	0,3		
M60+M60/85 Ø 8	SV	93,6	11,4	8,2	348	244	11,3	13,6	37,1	6,0	10,1	0,2	1,2	0,3		
	V	98,9	9,8	6,7	313	214	10,4	13,9	35,2	5,6	11,0	0,1	1,4	0,1		
Contentitori alveolati	90 fori	101,7	10,3	6,7	311	203	10,7	13,4	34,4	2,6	10,4	0,1	1,6	0,3		
	228 fori	109,3	8,1	4,5	241	133	9,6	13,2	31,4	1,6	11,4	0,1	1,0	0,4		
'Marathon'																
M 60 rete	SV	98,3	11,7	7,2	354	218	11,5	14,0	35,7	3,1	8,0	0,0	0,9	1,2		
	V	98,7	11,2	7,3	344	222	10,9	13,9	35,1	9,7	8,0	0,1	0,6	1,2		
M02 Ø 6,6	SV	95,6	12,9	7,8	365	232	10,8	13,9	34,9	20,7	8,8	0,1	0,8	1,2		
	V	99,0	10,8	6,9	334	219	10,9	13,8	35,4	6,7	8,7	0,1	0,8	1,4		
M60 Ø 8	SV	93,7	12,5	7,9	374	253	11,4	14,5	36,1	14,0	8,5	0,1	0,9	1,0		
	V	98,6	11,5	7,4	346	220	10,7	13,7	34,6	12,4	7,2	0,1	0,7	1,2		
M00 Ø 6,6	SV	95,4	12,1	7,1	360	223	11,2	13,8	36,2	20,7	8,7	0,2	0,6	1,1		
	V	100,8	11,2	7,1	334	211	11,5	13,9	34,5	6,1	8,4	0,1	0,5	1,3		
M60+M60/85 Ø 8	SV	94,4	11,8	7,6	357	231	11,5	14,2	36,2	17,2	7,1	0,1	1,0	1,1		
	V	98,8	10,9	7,1	343	227	10,8	14,2	36,4	12,7	8,6	0,1	0,7	1,2		
Contentitori alveolati	90 fori	102,5	10,0	6,2	308	192	10,8	13,8	33,9	5,7	9,7	0,0	0,7	1,2		
	228 fori	106,8	7,3	4,3	253	159	9,9	13,2	31,8	2,6	9,6	0,1	1,2	1,3		

Tab. 23. *Influenza del tipo di contenitore e della modalità di trapianto delle piantine su alcune caratteristiche produttive e qualitative di due cultivar di cavolo broccolo (seconda epoca di trapianto)*

(1) SV = senza vaso; V = con vaso; (2) Virescenza: 0 = assenza - 5 = massima presenza.; (3) Grana: 0 = molto fine - 5 = molto grossa; (4) Compattezza: 0 = massima - 5 = scarsa.

operazioni di posa dei cartellini, è stata assolata con solchi 10 cm profondi disposti in file binate a 40 cm distanti e con le piante collocate a 30 cm tra loro con la distanza tra l'interasse delle bine di 170 cm. Contemporaneamente veniva predisposto l'impianto irriguo costituito da manichette con gocciolatori con la capacità di erogare 2 lh^{-1} di acqua. In corrispondenza del trapianto ed a fine ciclo sono state osservate le condizioni dei contenitori i cui risultati sono riportati in tabella 24.

Il piano sperimentale ha previsto la realizzazione dello schema sperimentale a parcelle suddivise ripetuto 3 volte, con la collocazione delle 2 epoche di trapianto nelle parcelle, le cultivar nelle sub-parcelle, il tipo di contenitore nelle sub-sub-parcelle e la modalità di trapianto nelle parcelline di 10 m^2 , per un totale di 48 trattamenti sperimentali. Le raccolte hanno avuto inizio il 2/11/2005 per un totale di 5 passaggi successivi nella prima epoca, e sono iniziate in 19/12/2005 e sono continuate sino al 23/01/2006 per un totale di 6 raccolte nella seconda epoca.

3.4.4 Risultati produttivi

3.4.4.1 1^a Epoca di trapianto

La tabella 22 riassume i risultati produttivi della prima epoca di trapianto, da cui si evince che i livelli produttivi raggiunti sono stati di $15,7$ e $13,5 \text{ tha}^{-1}$ di corimbi commerciabili con foglie e toelettati in 'Ironman' e $14,9$ e 12 tha^{-1} in 'Marathon' rispettivamente. In particolare facendo riferimento ai corimbi affogliati della 'Ironman', questi sono passati da $16,6 \text{ tha}^{-1}$ quando le piante sono state trapiantate senza contenitore a $15,2 \text{ tha}^{-1}$ con contenitore, rispetto alle $15,4 \text{ tha}^{-1}$ e $13,6 \text{ tha}^{-1}$ dei contenitori con 90 e 228 alveoli, in quest'ultimo caso perdendo anche in termini di precocità. La produzione non ha subito variazioni di rilievo con i contenitori M 60 rete e M02 6,6 con la loro presenza od assenza dopo il trapianto, a differenza degli altri contenitori che quando hanno accompagnato le piantine in campo hanno fatto osservare una flessione produttiva più evidente con M00 6,6. La 'Marathon' ha fatto osservare in media $15,9 \text{ tha}^{-1}$ e $14,6 \text{ tha}^{-1}$ di corimbi commerciali affogliati, rispettivamente quando il contenitore non ha accompagnato le piantine dopo il trapianto e quando detta operazione è avvenuta con le piantine invasate, mentre i contenitori da 90 facevano osservare $14,1 \text{ tha}^{-1}$ e quelli da 228 alveoli $12,1 \text{ tha}^{-1}$ di infiorescenze della stessa tipologia. La presenza del contenitore dopo il trapianto ha sortito effetti poco significativi pur confermando la

CONTENITORI	INDICE DI DEGRADAZIONE (1)			
	1 ^A EPOCA		2 ^A EPOCA	
	TRAPIANTO FINE CICLO		TRAPIANTO FINE CICLO	
M 60 rete	1,5	3,0	1,4	3,5
M02 Ø 6,6 cm	2,5	4,8	2,0	4,9
M60+M60/85 Ø 8 cm	0,1	0,4	0,2	0,3
M00 Ø 6,6 cm	0,0	0,3	0,1	0,4
M60 Ø 8 cm	0,0	0,5	0,1	0,4

Tab. 24 *Indice di degradazione dei contenitori al trapianto ed a fine ciclo colturale (dati medi delle due cultivar)*

1) 0 = Materiale non degradato; 5 = completamente degradato.

tendenza ad influenzare negativamente i livelli produttivi. Gli altri caratteri dei corimbi studiati sono variati entro limiti accettabili ad eccezione della loro pezzatura che è risultata più contenuta con l'impiego dei contenitori alveolati.

3.4.4.2 2^a Epoca di trapianto

In media le 2 cultivar hanno esitato una produzione commerciabile di corimbi con foglie di 10,8 tha^{-1} , circa 4,5 tha^{-1} in meno rispetto alla prima epoca. I livelli produttivi hanno raggiunto 10,4 e 7,1 tha^{-1} di corimbi commerciabili con foglie e toelettati in 'Ironman' e 11,2 e 7 tha^{-1} in 'Marathon'. I corimbi affogliati della 'Ironman' sono passati da 11,2 tha^{-1} quando le piante sono state trapiantate senza contenitore a 10,1 tha^{-1} con contenitore, rispetto alle 10,3 tha^{-1} e 8,1 tha^{-1} dei contenitori da 90 e 228 alveoli, perdendo anche in termini di precocità. La presenza del contenitore dopo il trapianto ha tendenzialmente ridotto le produzioni entro limiti non significativi. La 'Marathon' ha fatto osservare in media 12,2 tha^{-1} e 11,1 tha^{-1} di corimbi commerciali affogliati, rispettivamente quando il contenitore non ha accompagnato le piantine dopo il trapianto e quando detta operazione è avvenuta con le piantine invasate, mentre i contenitori da 90 facevano osservare 10 tha^{-1} e quelli da 228 alveoli 7,3 tha^{-1} di infiorescenze della stessa tipologia, ma raccolte con alcuni giorni di ritardo. La presenza del contenitore dopo il trapianto ha fatto osservare un calo produttivo al limite della significatività in tutte le tesi. Le piantine allevate nei contenitori alveolati hanno depresso le produzioni specialmente quelle ottenute nei contenitori a più elevato numero di alveoli con effetti sulla pezzatura dei corimbi che sono risultati di minore peso medio, e come detto, sono risultati anche meno precoci.

3.4.5 Degradazione dei contenitori

I contenitori M60r e M02, aventi chiari sintomi di degradazione al momento del trapianto, si presentavano abbastanza decomposti a fine ciclo rispetto alle altre tipologie che in corrispondenza dell'ultima raccolta mostravano segni minimi di degradazione. In definitiva si può ritenere che i contenitori innovativi studiati hanno favorito chiaramente la produttività del cavolo broccolo rispetto ai contenitori alveolati, senza differenza tra le modalità di trapianto per i contenitori M60r e M02, e con una lieve flessione produttiva con quelli meno degradabili (M60, M00 e M60 + M60/85) quando hanno accompagnato le piantine al trapianto.

3.4.6 Conclusioni

L'epoca di trapianto ha influenzato le caratteristiche produttive, infatti i corimbi affogliati e quelli toelettati sono diminuiti del 31,3% e del 46,2% passando dal primo al secondo trapianto a causa della riduzione della pezzatura delle infiorescenze.

Le cultivar Ironman e 'Marathon' mostrano livelli produttivi molto simili per avere infiorescenze sia con foglie che toelettate di medesimo peso medio.

I contenitori innovativi in generale hanno potenziato la produttività del cavolo broccolo facendo osservare produzioni sempre più elevate rispetto ai contenitori alveolati normalmente impiegati per la produzione delle piantine di questa specie.

Le modalità di trapianto, con o senza il contenitore, indicano che il cavolo broccolo essendo dotato di un robusto apparato radicale riesce a superare la barriera che il contenitore frapponne tra esso e l'ambiente podologico circostante con effetti minimi sulla crescita, sviluppo e produttività. In particolare, i contenitori M60r e M02 risultano ottimali, in quanto il loro impiego non ha causato flessioni produttive quando hanno accompagnato le piantine al trapianto, anzi in qualche caso ne hanno potenziato la produttività. Gli altri contenitori (M60, M00 e M60 + M60/85), meno degradabili, evidenziano effetti depressivi con cali produttivi, in media, del 4-6%, al limite della significatività, ma che sarebbe opportuno non si verificassero. L'ulteriore verifica dei contenitori M60r e M02 per la conferma dei risultati positivi ottenuti e l'apporto di modifiche al processo tecnologico degli altri (M60, M00 e M60 + M60/85) in termini di composizione delle mescole di partenza, può essere

utile per migliorare le loro caratteristiche di durata e di degradabilità in sintonia con le esigenze dell'apparato radicale di questa specie orticola.

3.5 *Pomodoro*

3.5.1 Introduzione

Il pomodoro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) è una solanacea che in Italia interessa circa 122.350 ha di coltivazione per anno, distinti in 114.390 ha come pomodoro da industria e circa 7.960 ha di pomodoro da mensa. Per una serie di circostanze, in entrambi i casi, si fa ricorso quasi sempre alla preparazione delle piantine ed al successivo trapianto con l'onere di demandare al vivaista la preparazione delle piantine. Attualmente ciò avviene facendo ricorso a contenitori alveolati in polistirolo da 80-90 alveoli per le piantine di pomodoro da mensa e a contenitori da 110 sino a 170 alveoli per quelle da industria. Limitato è l'impiego di contenitori singoli, riservati al settore hobbistico ed amatoriale e risultano fatti in PP o altro materiale sintetico. In base alle superfici su esposte, si calcola che sono necessari circa 5 miliardi e 958 milioni di piantine per anno per questa specie. L'esigenza di avere contenitori a basso impatto ambientale, degradabili e compatibili col metodo biologico è molto sentito dai coltivatori del pomodoro di qualità e biologico.

3.5.2 Obiettivi

Con la presente linea di ricerca si è inteso: 1) studiare l'idoneità di alcuni contenitori innovativi per l'allevamento di piantine di pomodoro; 2) valutare i parametri morfologici delle piantine di pomodoro durante l'allevamento in vivaio; 3) valutare in termini quali-quantitativi la produzione di bacche alla raccolta; 4) verificare la possibilità di effettuare il trapianto delle piantine interrando anche i contenitori; 5) verificare lo stato dei contenitori (degradazione) al momento del trapianto e a fine ciclo colturale.

3.5.3 Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine di pomodoro della cv Granate ha avuto luogo presso i vivai Altamura di Montecorvino Pugliano (SA) con la semina ef-

CONTENITORI	CARATTERISTICHE				
	MATERIALE	FORMA	DIAMETRO		VOLUME
			SUPERIORE	INFERIORE	
			(cm)	(cm)	(cm ³)
“M60 rete”	Poliestere biodegradabile	Tronco-conica	5,5	4,0	90
“M02”	Poliestere biodegradabile caricato con fibra vegetale	“	6,6	5,0	180
“M00”	Poliestere biodegradabile	“	6,6	5,0	180
“M60/50”	Poliestere biodegradabile	“	8,0	5,5	200
“Contentitore alveolato”	Polistirolo	“ ⁽¹⁾	5,0	5,0	85
“Torba pressata”	Torba	“	3,5	3,5	100

Tab. 25 *Tipologie di contenitori impiegati nella preparazione delle piantine di pomodoro in vivaio*

(1) Si riferisce alla forma del singolo alveolo

fettuata il 07/02/06 in 4 contenitori innovativi biodegradabili differenti per dimensioni e composizione dei materiali impiegati, a cui sono stati aggiunti, quali termini di confronto, un contenitore alveolato in polistirolo da 40 alveoli e dei contenitori in torba pressata (tab. 25).

Per ciascuna tipologia di contenitore sono state preparate 360 piantine suddivise in 3 gruppi da 120 corrispondenti alle ripetizioni. Le 6 tesi a confronto (4 contenitori innovativi + 1 contenitore alveolato + 1 contenitore in torba), sono state distribuite in serra seguendo lo schema sperimentale a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni.

3.5.4 Trapianto e schema sperimentale

Il trapianto è stato effettuato il 24 marzo 2006 in una serra fredda in metallo e plastica (LDPE 200 µm) avente una cubatura di 2,8 m³/m⁻², situata in area pianeggiante a circa 5 m slm, presso l'Azienda “Fortunato” di Battipaglia, su di un terreno caratterizzato da una tessitura a grana media (51,3 % limo, 29,0 % sabbia e 19,7% argilla), una reazione leggermente alcalina (pH 7,68), un basso contenuto in azoto totale (0,8 g/kg,) ed un contenuto in sostanza organica pari a 9,2 g/kg; inoltre, ri-

sultava ben dotato in fosforo (21,2 mg/kg) e potassio scambiabile (215 mg/kg).

Al momento del trapianto campioni di 10 piantine per tesi e ripetizione sono state sottoposte a prelievi distruttivi ed analizzate per i seguenti caratteri biometrici: altezza, diametro dello stelo, numero di foglie vere, peso fresco e contenuto in sostanza secca (%) della parte epigea, superficie fogliare, peso secco delle radici, mentre si effettuavano rilievi visivi sullo stato dei contenitori mediante l'assegnazione di un punteggio di valori crescenti da 0 (contenitore completamente intatto) a 5 (contenitore completamente degradato).

Per ogni tipo di contenitore innovativo e per quelli in torba, sono state realizzate due modalità di posa a dimora delle piantine: con e senza il contenitore; sono state così realizzate 11 tesi sperimentali (5 contenitori x 2 modalità di trapianto + 1 contenitore alveolato) collocate in serra secondo lo schema a blocchi randomizzati con 3 repliche. Le parcelle elementari costituite da 8 piante avevano una lunghezza di 3,2 m. Il sesto d'impianto è stato quello a file binate con un interasse di 150 cm, con le piantine collocate ogni 40 cm sulle file distanti 50 cm tra loro in modo da realizzare una densità di 2,4 piante/m².

3.5.5 Conduzione della prova

Durante il ciclo colturale sono state effettuate ripetute adeguate con cadenza settimanale, sfemminellature e tutoraggio, e sono stati apportati, in più riprese, 250 kg ha⁻¹ di N, 100 kg ha⁻¹ di P₂O₅ e 350 kg ha⁻¹ di K₂O in fertirrigazione a partire dall'attecchimento avendo cura di mantenere la conducibilità della soluzione nutritiva somministrata entro i limiti di 1,5 mS/cm - 2,4 mS/cm. La cimatura è stata eseguita al di sopra dell'8° palco florale con le piante alte, in media, 180 cm.

Le raccolte delle bacche sono state effettuate con 11 passaggi scalari a partire dal 4 giugno (4-10-17-22 e 26 giugno, e l'1-5-11-16-19 e 30 luglio) al 30 luglio 2006 asportando tutti i frutti maturi di ogni parcella. Successivamente, le bacche sono state classificate in commerciabili e di scarto e pesate, inoltre, in laboratorio, su campioni di 5 frutti commerciabili per parcella sono stati rilevati i seguenti caratteri qualitativi: peso medio, lunghezza e diametro, solidi solubili (°Brix) e sostanza secca (%). I dati rilevati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) separando i valori medi risultati statisticamente differenti con il test della minima differenza significativa (MDS) considerando un livello di $P \leq 0,05$.

CONTENITORI (1)	PIANTA		STELO		FOGLIE		PARTE AEREA		RADICI	PIANTA
	IPOCOTILE (mm)	ALTEZZA (cm)	LUNGHEZZA (cm)	SPESORE (mm)	(n.)	SUPERFICIE (cm ²)	PESO SECCO (mg)	SOSTANZA SECCA (%)	PESO SECCO (mg)	PESO SECCO (mg)
"M60r"	37,5	21,9	6,0	2,6	3,5	33,5	131	8,3	21,9	153
"M02"	50,0	18,0	7,0	2,4	3,5	30,0	112	7,9	18,0	130
"M00"	48,0	14,5	6,5	2,8	3,5	31,0	111	7,5	14,5	126
"M60/50"	51,0	13,9	7,8	2,8	3,3	34,5	109	7,5	13,9	123
Alveolato	51,0	11,4	7,5	2,8	3,8	26,0	122	7,5	11,4	133
"Torba"	37,5	12,9	5,3	2,2	3,0	18,7	58	7,3	12,9	71
MDS 0,05P	6,8	2,8	0,8	0,4	0,3	8,0	17,8	n.s.	2,8	18,7

Tab. 26 *Parametri biometrici delle piantine di pomodoro da mensa in relazione al tipo di contenitore impiegato*

(1) n.s. = Differenze statisticamente non significative.

3.5.6 Risultati

3.5.6.1 Parametri biometrici delle piantine

Come si può osservare in tabella 26 la crescita in vivaio delle piantine di pomodoro è stata, in generale, poco influenzata dal tipo di contenitore impiegato. In particolare, i contenitori in torba pressata hanno fatto registrare valori significativamente inferiori del peso secco della parte aerea e totale (parte aerea + radici) rispetto a tutti gli altri. Il contenitore alveolato ha mostrato un comportamento quasi simile a tutti i vasi innovativi. Le differenze tra questi ultimi sono state poco evidenti e quasi sempre al limite della significatività; da segnalare, comunque il migliore sviluppo radicale osservato con l'impiego del contenitore M60r.

3.5.6.2 Risposta produttiva della coltura

Dalla tabella 27 si può osservare che i parametri produttivi e qualitativi delle bacche di pomodoro non sono stati influenzati dal tipo di contenitore impiegato per l'allevamento in vivaio delle piantine, specialmente se si considerano quelli in materiali biodegradabili ed in torba. In particolare, sono risultate leggermente più produttive le piantine pre-coltivate nel contenitore alveolato (142 tha⁻¹ rispetto ad un valore medio di 126 tha⁻¹ delle altre tesi). La modalità di trapianto (con vaso e senza), inoltre, non ha

CONTENITORI (2)	MODALITÀ DI TRAPIANTO (1)	BACCHE COMMERCIALI PER PIANTA		QUALITÀ BACCHE					TEMPO MEDIO DI RACCOLTA (gg)
		(N.)	(t ha ⁻¹)	PESO MEDIO (g)	DIAMETRO (cm)	LUNGHEZZA (cm)	SOLIDI SOLUBILI (°Brix)	SOSTANZA SECCA (%)	
"M60r"	SV	42,2	128	108	4,9	7,4	4,4	4,8	113
"	V	42,7	130	108	4,8	7,4	4,5	5,0	113
"M02"	SV	40,9	121	107	4,8	7,3	4,5	5,2	113
"	V	44,6	133	106	4,9	7,3	4,5	5,1	113
"M00"	SV	42,1	125	102	4,8	7,3	4,6	4,7	113
"	V	38,3	119	108	4,9	7,5	4,6	5,1	113
"M60/50"	SV	41,0	119	106	4,9	7,3	4,6	5,5	113
"	V	39,1	120	109	4,8	7,4	4,4	5,3	113
Alveolato "	-	47,3	142	113	4,9	7,6	4,5	4,6	111
"Torba"	SV	43,6	132	105	4,9	7,4	4,5	5,1	112
"	V	41,6	128	107	4,9	7,5	4,6	4,9	112
MDS 0,05P	-	6,9	17,5	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 27 *Influenza del tipo di contenitore e della modalità di trapianto sulla produzione e qualità del pomodoro*

(1) SV = trapianto senza vaso; V = trapianto con vaso.

(2) n.s. = Differenze statisticamente non significative.

influenzato la produttività e la precocità della coltura anche quando sono stati impiegati i contenitori in torba. Il prosieguo della ricerca con ulteriori approfondimenti è estremamente necessario specialmente per i contenitori M00 e M60/50 che, anche se in modo non significativo, hanno depresso lievemente i livelli produttivi quando hanno accompagnato le piantine con il trapianto. I vasetti di torba hanno confermato la loro validità, ma rispetto ai contenitori alveolati risultano meno efficaci e necessitano di ulteriori verifiche per avere lumi sull'interazione torba piantina ai fini della loro crescita e sviluppo.

3.5.7 Degradazione dei contenitori

Come si può osservare in tabella 28, al momento del trapianto, soltanto il vaso "M02", mostrava chiari segni di degradabilità specialmente sulle pareti

CONTENITORI	INDICE DI DEGRADAZIONE ⁽¹⁾	
	AL TRAPIANTO	A FINE CICLO COLTURALE
"M60r"	0,9	4,0
"M02"	1,2	5,0
"M00"	0,2	1,2
"M60/50"	0,1	1,1
Alveolato	-	-
"Torba"	0,2	3,0

Tab. 28 *Indice di degradazione dei contenitori al trapianto ed a fine ciclo colturale*

(1) 0 = materiale integro; 5 = materiale completamente degradato.

lateralmente. Tutti gli altri contenitori si presentavano quasi integri con lievi incrinature appena apprezzabili ad occhio nudo.

L'innescò del processo di degradazione è risultato ben più evidente a fine ciclo di coltivazione sui vasi lasciati a dimora insieme alle piantine. In particolare, il contenitore "M02" si era degradato del tutto ed erano presenti soltanto piccoli frammenti di materiale. L'M60/50 e l'M00, al contrario, si presentavano abbastanza integri anche se le lesioni erano ben evidenti. Il contenitore a rete "M60r", infine, presentava segni di degradazione di livello intermedio.

3.5.8 Conclusioni

I contenitori innovativi studiati hanno fatto osservare tutti risultati comparabili tra loro e del tutto paragonabili a quelli ottenuti con i vasetti di torba e i contenitori alveolati termini di confronto. Particolarmente interessanti sembrano i contenitori M60r e gli M02 per la loro elevata degradabilità e per non aver creato ostacolo al normale accrescimento delle radici quando hanno accompagnato le piante di pomodoro dopo il trapianto. Negli altri casi il prosieguo delle osservazioni è necessario per fugare i dubbi che ancora persistono.

3.6 Pomodoro "cherry"

3.6.1 Introduzione

Il pomodoro tipo "cherry" è in continua espansione nei comprensori orticoli meridionali e costituisce un prodotto di nicchia di qualità per molti consumatori che ne fanno ampio consumo. Si impiegano semi ibridi, molto spesso costosi e di non agevole reperimento, che inducono pertanto la preparazione

delle piantine in vivaio. Con questa linea di ricerca si è voluto studiare il comportamento di alcuni contenitori innovativi impiegati per la produzione di piantine di pomodoro “cherry” da trapiantare in pieno campo e la loro influenza sulla produttività e qualità delle bacche alla raccolta.

3.6.2 Preparazione delle piantine

La preparazione delle piantine è avvenuta in serra fredda presso il vivaio orticolo della Cooperativa “Giustino Fortunato” di Gaudiano di Lavello, con la semina effettuata il 12 maggio 2006 in 4 contenitori di 9 cm di diametro di cui 3 biodegradabili: “M12”, “M60/TG/5” e “M60/TG/20”, a base di amido termoplastico il primo e con l’aggiunta del 5 e del 20 % di compost il secondo e terzo, ed uno convenzionale a base di polipropilene (PP). In ogni vasetto sono stati collocati 2 semi della linea ad accrescimento determinato di pomodoro “cherry” ‘PX 02325715 F₁’ (Seminis Italia) allestendo complessivamente 750 contenitori per ogni tipologia di materiale pari a 250 unità per ripetizione. Dopo l’emergenza è stato effettuato il diradamento lasciando una piantina per vasetto. Dopo circa un mese le piantine erano pronte per il trapianto; prima della messa a dimora in pieno campo su campioni di 10 piantine per tesi e ripetizione sono stati effettuati i seguenti rilievi biometrici: lunghezza dell’ipocotile e dell’epicotile, altezza e spessore dello stelo, peso fresco e peso secco degli organi epigei, peso secco delle radici, superficie fogliare, peso fresco e secco dell’intera piantina (tab. 29).

3.6.3 Trapianto e schema sperimentale

Il trapianto delle piantine è stato effettuato in pieno campo, presso l’Azienda Agricola Sperimentale “Gaudiano” in agro di Lavello (PZ), il 13 giugno 2006 su di un terreno arato, fresato e livellato, collocando le piantine ogni 30 cm su file distanti 170 cm tra loro in modo da ottenere una densità di 1,96 piante/m². In corrispondenza del trapianto, alle osservazioni effettuate in vivaio sui contenitori e sulle piantine durante la fase di crescita, si sono aggiunti i rilievi sullo stato dei contenitori e sulle piantine. Inoltre, è stato stabilito di studiare 2 modalità di trapianto: con e senza interrimento del contenitore, realizzando lo schema sperimentale a parcelle suddivise ripetuto 3 volte, con la collocazione dei 4 contenitori nelle parcelle, e le due modalità di trapianto nelle sub-parcelle di 8,5 m² per un totale di 8 tesi sperimentali.

CONTENITORI ⁽¹⁾	LUNGHEZZA		PIANTA	FUSTO	FOGLIE		PARTE AEREA		RADICI	PIANTE
	IPOCOTILE (mm)	EPICOTILE (mm)	ALTEZZA (cm)	SPESORE (mm)	(n.)	SUPERFICIE (cm ²)	PESO SECCO (g)	SOSTANZA SECCA (%)	PESO SECCO (mg)	PESO SECCO (mg)
"M12"	22,5	105,0	14,5	5,0	5,0	154	900	8,4	269	1169
"M60/TG/5"	27,5	82,5	11,5	4,0	4,5	118	685	8,6	177	861
"M60/TG/20"	20,0	82,5	12,0	4,5	4,5	113	619	8,0	176	795
"PP"	17,5	87,5	12,5	4,0	5,0	120	657	8,3	159	817
MDS 0,05 P	4,1	5,8	0,8	0,5	n.s.	13	148	0,2	39	184

Tab. 29 *Parametri biometrici delle piantine di pomodoro "cherry" in relazione al tipo di contenitore*

(1) n.s. = Differenze statisticamente non significative.

3.6.4 Conduzione della prova

Il ciclo colturale in campo ha seguito la tecnica colturale normalmente adottata per il pomodoro "cherry" nel comprensorio, e si è concluso il 07/09/2006 con la raccolta 'a grappolo' delle bacche in corrispondenza della quale è stata valutata la produzione commerciabile (numero e peso dei grappoli e delle bacche per pianta e per parcella) ed alcuni parametri di qualità delle bacche (peso medio, diametro, contenuto in sostanza secca e solidi solubili). Inoltre, è stato calcolato il peso secco della parte epigea (bacche, steli e foglie) ed ipogea (radici) delle piante di ogni parcella. Tutti i dati collezionati sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) separando i valori medi, risultati statisticamente differenti, con il test della minima differenza significativa (MDS) considerando il livello di $P \leq 0,05$.

3.6.5 Risultati

3.6.5.1 Parametri biometrici delle piantine

Come si può osservare in tabella 29, l'impiego dei diversi contenitori ha sortito effetti significativi sullo sviluppo delle piantine di pomodoro in vivaio. In particolare, il contenitore "M12" è risultato superiore a tutti gli altri in quanto ha favorito

CONTENITORI ⁽¹⁾	MODALITÀ DI TRAPIANTO ⁽²⁾	GRAPPOLI COMMERCIALIBILI		P I A N T E			QUALITÀ BACCHE		
				FIORITURA	BIOMASSA FRESCA A FINE CICLO				
		PER PIANTA (n.)	(t ha ⁻¹)		STELI E FOGLIE (t ha ⁻¹)	STELI, FOGLIE E RADICI (t ha ⁻¹)	DIAMETRO (mm)	SOLIDI SOLUBILI (°Brix)	SOSTANZA SECCA (%)
“M12”	V	39,3	37,6	45,0	15,2	17,5	24,8	8,2	10,8
“	SV	50,7	48,5	57,7	17,0	19,2	25,7	8,4	10,8
“M60/TG/5”	V	35,0	33,5	48,3	17,5	20,3	24,4	8,8	11,4
“	SV	37,6	36,0	62,3	19,6	22,3	24,4	8,5	11,4
“M60/ TG/20”	V	36,6	35,0	50,0	25,3	27,6	24,8	8,5	11,0
“	SV	39,4	37,7	62,0	27,4	30,7	24,3	8,9	11,1
“PP”	V	33,7	32,2	43,0	16,5	18,9	24,9	8,4	10,7
“	SV	42,0	40,2	56,0	17,0	18,9	26,0	8,6	10,9
MDS 0,05 P	-	2,7	2,6	5,8	1,3	1,5	n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 30 *Parametri produttivi del pomodoro “cherry” in relazione al contenitore impiegato in vivaio e alla modalità di trapianto adottata in pieno campo*

(1) n.s. = differenze statisticamente non significative.

(2) V = con contenitore; SV = senza contenitore.

significativamente l'accumulo di sostanza secca sia negli organi ipogei che epigei delle piantine e ne ha anche migliorato i parametri morfologici (diametro dello stelo e superficie fogliare). Gli altri due contenitori biodegradabili hanno manifestato un comportamento quasi simile al testimone (PP) e si sono distinti da quest'ultimo soltanto per il maggior contenuto (%) in sostanza secca della parte epigea.

3.6.5.2 Risposta produttiva della coltura

I parametri produttivi sono stati significativamente influenzati sia dal tipo di contenitore impiegato per l'allevamento delle piantine in vivaio sia dalla modalità di trapianto (con e senza vaso). Al contrario, la qualità delle bacche non ha subito alcuna variazione. I grappoli commerciabili per pianta e la produzione areica (tha⁻¹) sono risultati più elevati (50,7/pianta e 48,5 t ha⁻¹, rispettivamente) con l'impiego delle piantine allevate nel contenitore “M12” trapiantate senza il vaso. Le stesse piantine hanno accusato una flessione produttiva di oltre 11 grappoli per pianta

e 10 tha^{-1} quando sono state messe a dimora con il contenitore. I contenitori biodegradabili contenenti il 5 e 20 % di compost ("M60/TG/5" e "M60/TG/20") non hanno fatto registrare differenze significative con le due modalità di trapianto; inoltre, quando sono stati interrati con la piantina, queste sono risultate più produttive rispetto alle piante del testimone (PP). Infine, il contenitore a maggior contenuto di compost ("M60/TG/20") ha fatto registrare livelli di biomassa epigea e radicale superiore a tutti gli altri contenitori con entrambe le modalità di trapianto; tuttavia tale superiorità non ha avuto riflessi significativi sulla produzione delle bacche. Da notare il significativo calo produttivo delle piante trapiantate con il contenitore M12 ($- 10,9 \text{ tha}^{-1}$) e PP ($- 8 \text{ tha}^{-1}$).

3.6.6 Degradazione dei contenitori innovativi

Al trapianto nessuno dei contenitori mostrava segni evidenti di cedimento sulle sue pareti. A fine ciclo sui vasi lasciati a dimora insieme alle piantine di pomodoro la degradazione è risultata ben evidente e leggermente superiore per il contenitore contenente una maggiore percentuale di compost ("M60/TG/20") in cui le lesioni erano più incise e di maggiore dimensioni. Meno chiari erano in M60/TG/5 e M12, e assenti in quelli in PP.

3.6.7 Conclusioni

I risultati conseguiti indicano l'idoneità dei contenitori saggiati per la produzione di piantine di pomodoro tipo "cherry". Le migliori piantine da trapiantare sono state ottenute con il contenitore "M12", mentre la migliore performance è stata fornita dal contenitore "M60/TG/20" quando ha accompagnato le piantine dopo il trapianto, ciò probabilmente è da mettere in relazione al suo maggiore contenuto di compost che ne ha accelerato la degradazione e facilitato l'espandersi degli apparati radicali nel terreno. Un ulteriore approfondimento è necessario per gli altri contenitori, prima di consigliarne l'impiego, specialmente per quelli che quando hanno accompagnato le piantine con il trapianto hanno ridotto i livelli produttivi.

RIASSUNTO

La preparazione delle piantine in vivaio costituisce un segmento molto importante della filiera ortofloricola per le numerose specie interessate. Il trapianto di plantule con 'pane di

terra' in contenitore è una realtà da cui non si può prescindere per gli indubbi vantaggi che ne derivano, pertanto, la formulazione di contenitori di nuova generazione per le operazioni di pre-coltura è un aspetto tecnico in via di soluzione. Il contenitore 'ideale' deve presentare caratteristiche fisiche, chimiche, microbiologiche, gestionali e di impatto ambientale ottimali in relazione con la specie di cui si devono preparare le piantine. In campo orticolo, dove molto spesso, si richiede la preparazione di elevati numeri di piantine, i contenitori devono essere di agevole gestione, piccoli, degradabili, di facile decomposizione quando interrati con le piantine al trapianto e/o essere compostabili dopo il loro impiego. Il Progetto di Ricerca: SCIMAB ha affrontato alcune di queste problematiche con la messa a punto di alcuni prototipi di contenitori biodegradabili innovativi, saggiati per la pre-coltura di piantine di carciofo, asparago, cavolo broccolo, melone e pomodoro, e le stesse valutate in cicli colturali per qualità e produttività. In questa nota si riportano i primi risultati conseguiti.

ABSTRACT

Pre plant growing is one of the most important step in vegetable crops and floriculture species in which seedling are request. Transplanting with protect root (bare root) system seedling is welcome and innovative new pot-containers made by biodegradable material is in the way to be solved. The 'ideal' pot-container for seedling preparation must have physic, chemic, microbiology, handling and environmental impact traits at highest level as possible in relation to the seedling species preparation. In vegetable crops seedling cultivation, in which frequently, it need high number of plantlets preparation, pot-containers will be easy handling, small, biodegradable, easy decomposition in the soil and/or compost able at the end of the using process. The SCIMAB Project has been involved in solving some of the above problems, starting with new innovative pot-containers made by biodegradable material and used to make artichoke, asparagus, broccoli, melon and tomato seedlings that were also tested for quality and quantity traits in growing cycles compared with the conventional pot-containers. This paper reports the first result carried out.

BIBLIOGRAFIA

- CANDIDO V., ALAMPRESE L., VERDEROSA G., LACARPIA F., GHERBIN P., MICCOLIS V. (2007): *Aspetti morfologici e produttivi del cavolo broccolo in relazione alle modalità di preparazione delle piantine*, «Italus Hortus», 14 (2), pp.173-174.
- CANDIDO V., CASTRONUOVO D., MANERA C., MICCOLIS V. (2008): *Poinsettia* (Euphorbia pulcherrima) *cultivation in biodegradable pots: mechanical and agronomical behaviour of pots and plant traits*, «Acta Horticulturae», 801, pp. 1563-1570.
- MICCOLIS V., DI MATTEO M. (2005): *Per una ortofloricoltura ecocompatibile*, «Colture Protette», 11, pp. 67-68.
- MICCOLIS V., LANDI M., FORTUNATO A., CIMINELLI D., CASTRONUOVO D. (2007): *Impiego di contenitori innovativi per la preparazione di piantine di cocomero*, «Italus Hortus», 14 (2), p. 183.
- MONTELEONE M., GATTA G., FRABONI L., DE CARO A. (2005): *Produzione in vivaio di*

piantine di cavolo broccolo (Brassica oleracea L. var. italica Plenck) allevate in contenitori alveolari di diverso tipo, Atti 7^e Giornate Scientifiche S.O.I. Napoli, 4-6 maggio 2004, pp. 937-939.

TRENTINI L. (1996): *Volume dell'alveolo e qualità della piantina in vivaio*, «L'Informatore Agrario», 29 (Suppl.), 47-62.

Dati Istat 2005 (<http://www.istat.it/agricoltura/datiagri/fiori/flo42005.html>)

Dati Istat 2006 (<http://www.istat.it/agricoltura/datiagri/coltivazioni/anno2006/ital2006.htm>)

TESI DI LAUREA

ALAMPRESE L. (2006): *Aspetti morfologici e produttivi del cavolo broccolo (Brassica oleracea L. var. italica Plenck) in risposta alle modalità di trapianto*, Tesi di Laurea in Orticoltura. Facoltà di Agraria, Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie, Università degli Studi della Basilicata. Relatore: Prof. Vincenzo Candido. Anno accademico 2005/2006.

STASOLLA E. (2006): *Aspetti innovativi del vivaismo orticolo: produzione di piantine di melone*, Tesi di Laurea in Orticoltura. Facoltà di Agraria, Corso di Laurea in Tecnologie Agrarie (1° Livello), Università degli Studi della Basilicata. Relatore: Prof. Vito Miccolis. Anno accademico 2004/2005.

VERDEROSA G. (2007): *Contenitori innovativi per la preparazione di piantine di cavolo broccolo*, Tesi di Laurea in Orticoltura. Facoltà di Agraria, Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie, Università degli Studi della Basilicata. Relatore: Prof. Vito Miccolis. Anno accademico 2005/2006.

Giornata di studio su:

Impatto della ricerca genetica
e delle tecnologie avanzate
sull'evoluzione dei sistemi agrari

Firenze, 24 aprile 2008

La genomica in frutticoltura: recenti acquisizioni per il miglioramento genetico, la produzione e la qualità del frutto

Le biotecnologie genetiche hanno rivoluzionato l'agricoltura di larga parte del mondo. Per sgombrare il campo da possibili equivoci, occorre distinguere fra biotecnologie molecolari (in particolare la genomica) da quelle che sottendono all'ingegneria genetica; le prime sono state assecondate nell'ultimo decennio da validi progetti sostenuti anche dall'UE, le seconde, invece, frenate o private di fondi; la ricerca, le attività produttive e il Paese hanno perciò sofferto per questa dicotomia. Nello scenario internazionale la genomica italiana si colloca a un buon livello di competitività. Importanti risultati, quali ad esempio il sequenziamento del genoma della vite e quello, quasi ultimato, del melo, sono stati conseguiti in campo arboreo. Le conoscenze disponibili in questi settori potrebbero in breve portare all'introduzione di genotipi e varietà in grado di resistere a malattie e ad avversità ambientali, a una maggiore razionalizzazione dei processi produttivi, al miglioramento della qualità dei prodotti e della sicurezza alimentare. L'individuazione di migliaia di geni, attraverso sequenziamento, clonaggio e mappaggio, apre enormi possibilità di utilizzo in programmi di miglioramento genetico mirati, in tecniche di propagazione e difesa ecocompatibili e biologiche, nel predisporre appropriati metodi di irrigazione e di somministrazione dei nutrienti, nell'ottimizzare la gestione delle risorse energetiche di cui l'agricoltura ha bisogno. La conoscenza della funzione dei singoli geni, le loro interazioni, i meccanismi di regolazione, le proteine da essi codificate e la loro espressione nei "pathway" metabolici della pianta stanno già producendo positive influenze in vari campi, a cominciare dalle innovazioni genetico-varietali dando luogo, nel complesso, a una nuova "biologia dei sistemi". Su questa base si potranno anche ipotizzare imponenti

* *Dipartimento di Colture Arboree, Università degli Studi di Bologna*

aggiornamenti degli interventi agronomici necessari alla coltivazione, anche sul piano della tempestività e modalità di esecuzione. Si modificheranno i protocolli per i disciplinari di produzione sia in funzione delle resistenze agli stress abiotici (es. siccità e salinità) sia di quelle agli stress biotici (patogeni, fitofagi e malattie infettive).

Le applicazioni della genomica in frutticoltura, argomento di questa trattazione, sono pertanto molteplici e vengono qui riassunte in cinque punti, di seguito esaminati singolarmente:

a) *Genotipizzazione*. La caratterizzazione del genotipo è alla base sia della verifica della rispondenza varietale (e quindi della caratterizzazione del germoplasma), sia della individuazione nelle linee ascendenti e discendenti, dei caratteri fenotipici trasmessi. Importante è anche la capacità di discriminare attraverso l'impronta genetica ("fingerprinting") i mutanti nelle varietà policonali, nonché quella di sviluppare la tracciabilità di filiera per risalire all'origine dei prodotti raccolti e di quelli trasformati. Altre applicazioni riguardano l'analisi delle progenie di incroci controllati; del flusso degli alleli relativi ai marcatori associati a caratteri di interesse agrario. Altro esempio è lo studio degli alleli del locus S (incompatibilità gametofitica) nelle specie allogame e in particolare nelle Rosaceae.

b) *Marcatori molecolari funzionali*. Lo sviluppo dei marcatori molecolari viene sempre più orientato sulla base delle sequenze dei geni che determinano e regolano le funzioni delle piante da frutto di interesse agrario. Tale approccio aumenta notevolmente l'efficacia dei marcatori molecolari associati a caratteri qualitativi (monogenici) e quantitativi (poligenici). Facilitata è quindi la localizzazione dei geni nelle mappe genetiche, specie per specie. Vengono in tal modo individuate le regioni genomiche in cui sono posizionati le sequenze geniche, i geni e i QTLs ("Quantitative trait loci") e cioè le regioni che codificano per i caratteri quantitativi. Grande impulso allo sviluppo di marcatori funzionali deriva dal supporto della bioinformatica (banche dati EST – Expressed Sequences Tag, sequenze di genomi, ecc.)

c) *Espressione dei geni e trascrittomica*. La trascrittomica studia, a valle del DNA, l'espressione dei geni attraverso l'analisi degli RNA messaggeri. Nelle piante sono molti i geni che entrano in gioco solo in momenti cruciali del ciclo dell'albero o in singoli processi, come ad es. la maturazione del frutto. Conseguentemente è divenuto indispensabile conoscere i trascritti, dai quali risalire poi ai geni che determinano il fenotipo. Molte tecniche sono ormai convenzionalmente adottate per individuare i geni differenzialmente espressi in risposta a uno stimolo o a una elicitazione esterna. Il risultato di queste ana-

lisi ha arricchito le banche di sequenze EST facilitando l'individuazione dei geni realmente coinvolti nei processi fisiologici e metabolici e distinguendoli da quelli non legati ad alcuna funzione (pseudogeni e geni "spazzatura").

d) *MAS - selezione molecolare assistita*. Lo sviluppo di marcatori è alla base della selezione molecolare precoce e assistita (MAS). Questa si avvale di marcatori dei caratteri monogenici o di sequenze geniche e di QTL per quelli poligenici. La ricerca ha già messo a disposizione numerosi lotti di marcatori utili per la selezione delle resistenze geniche a vari patogeni, fra cui *Venturia inaequalis* ed *Erwinia amylovora* in melo e pero. Sono anche stati individuati vari RGA (analoghi dei geni di resistenza) per la selezione in pero e albicocco. Altri marcatori sono stati sviluppati in funzione della qualità dei frutti (QTLs per la durezza, dolcezza, acidità della mela e della albicocca) e in funzione della salubrità del frutto fino a poter potenzialmente condurre selezione negativa per l'allergenicità o altri caratteri indesiderati.

e) *Nuove strategie di MG (miglioramento genetico)*. Alcuni strumenti della genomica permettono di identificare nuove strategie per i programmi di breeding, per la selezione di nuove varietà portatrici di geni di resistenza attraverso piramidizzazione e quindi selezione congiunta di più geni. Si cerca anche di realizzare l'introgresione genica multipla nella progettazione di nuovi genotipi e di manipolare e trasferire, per via transgenica, geni utili per la produzione o per migliorare la qualità. Tuttavia le piante GM (geneticamente modificate) sono ancora viste con circospezione, o temute o rifiutate da gran parte dell'opinione pubblica.

A) LA GENOTIPIZZAZIONE E IL "FINGERPRINTING" IN FRUTTICOLTURA

La genotipizzazione rappresenta la definizione del genotipo di una specie, o varietà o "taxa" che sottende e origina un determinato fenotipo. Accettando questo enunciato un po' riduttivo occorre conoscere gli strumenti operativi, metodologici (ormai molto diversificati) del "fingerprinting", cioè dell'"impronta digitale" del DNA. Negli ultimi quindici anni, infatti, le tecniche di "fingerprinting" per determinare il profilo molecolare del materiale genetico propagato dai vivaisti in frutticoltura si sono avvalse di marcatori molecolari altamente polimorfici; fra questi si citano i microsatelliti o SSR (*Simple Sequence Repeat*) e gli AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), in grado di rilevare differenze genetiche che il fenotipo non sempre riesce a evidenziare (Bianchi et al., 2002; Venturi et al., 2002). Tali marcatori si sono rivelati utili anche per risolvere casi di sinonimia (cioè di somiglianza genetica

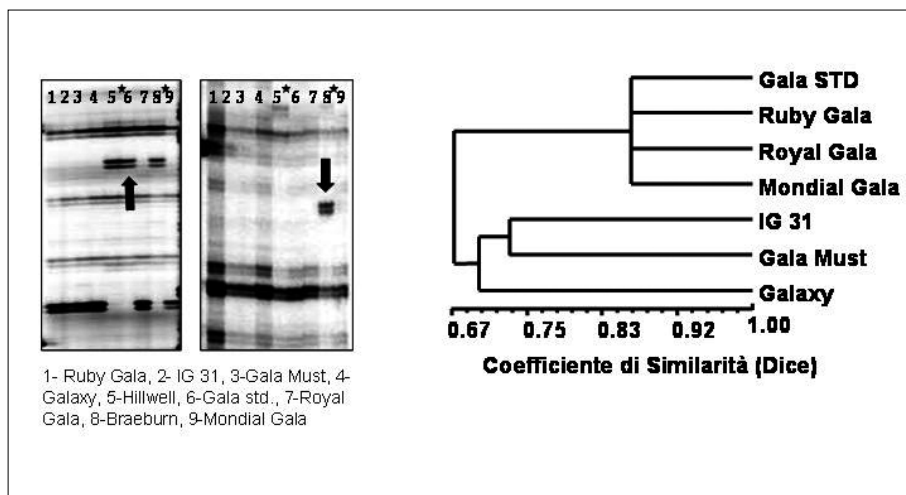


Fig. 1 Esempio di utilizzo di marcatori specifici per retrotrasposoni S-SAP (*Sequenze-Specific Amplified Polymorphism*) nel riconoscimento di mutanti clonali di melo. 14 combinazioni di primer S-SAP discriminano 7 cloni della cv 'Gala' e un clone ('Hillwell') di 'Braeburn' (da Venturi et al., 2006)

e fenotipica fra accessioni che portano nomi diversi) o di omonimia (quando due diverse accessioni portano lo stesso nome).

Il "fingerprinting" quindi rappresenta uno strumento di garanzia richiesta per la registrazione, per la protezione dei diritti di proprietà intellettuale (in aggiunta alla scheda pomologica) delle nuove varietà e, in caso di controversie commerciali, per fornire elementi probanti di rispondenza genetica (es. certificazione vivaistica).

Nelle specie arboree da frutto uno dei limiti del "fingerprinting" deriva dal fatto che per alcune di esse (es. melo, pero, agrumi) esistono più cloni per singole varietà. Questi cloni differiscono in minima parte a livello del DNA, probabilmente per effetto di piccole mutazioni geniche cosiddette "puntiformi", molto difficili da individuare. Per questo motivo, una delle possibili vie per la discriminazione genetica delle varietà policlonali, va ricondotta all'origine stessa della mutazione gemmaria: la mobilità, nei singoli cromosomi, di elementi genetici trasponibili quali i retrotrasposoni o la sostituzione di singoli nucleotidi costituenti la sequenza genica denominati SNP (polimorfismo dei singoli nucleotidi, la cui pronuncia in italiano, è "snip").

Una delle tecniche più recenti e con maggiori potenzialità polimorfiche, a livello delle mutazioni, almeno per quanto riguarda le specie melo e pero, è denominata S-SAP (*Sequenze-Specific Amplified Polymorphism*) con la quale

si è riusciti a discriminare in melo i cloni mutanti delle cv. 'Gala' e 'Braeburn' (Venturi et al., 2006) utilizzando quali marcatori i retrotrasposoni (fig. 1). Tale risultato è stato reso possibile dall'uso di 14 combinazioni di primer (7 primer AFLP accoppiati con 2 primer disegnati su sequenze LTR, *Long Terminal Repeat*, dominio caratteristico di retrotrasposoni). A titolo di verifica, sugli stessi campioni, era stata condotta, senza evidenziare polimorfismi, l'analisi di 30 marcatori SSRs del melo (distribuiti nei 17 cromosomi della specie) e di oltre 1000 marcatori AFLP. Questo assai promettente risultato è stato confermato per la specie pero, nella quale è stata differenziata la cv William dai suoi mutanti clonali "rossi", 'Max Red Bartlett', 'Rosired' e 'Sensation' (Venturi et al., in press).

Com'è noto, cloni mutanti giunti alla propagazione commerciale sono in genere originati da mutazioni spontanee; queste, molto spesso hanno natura chimerica e quindi risultano instabili e soggette, nel tempo, alla possibile regressione del carattere mutato. Ad es., il fenotipo a buccia rossa della pera 'Max Red Bartlett' è andato gradualmente regredendo, in oltre un trentennio, tanto che nei frutteti è molto frequente la presenza di alberi o branche con pere interamente chimeriche (giallo-rosso screziato longitudinalmente). Probabilmente bisognerebbe verificare se la tecnica dei retrotrasposoni, più sensibile di altre nell'individuare e rivelare polimorfismi (dipendenti dalla localizzazione genica di singoli retrotrasposoni), non possa essere influenzata dalla stessa instabilità del genoma mutato, in quanto chimerico.

Anche l'analisi dei polimorfismi marcati da singoli nucleotidi (SNP) si è rivelata molto utile per la genotipizzazione in quanto in grado di distinguere varianti alleliche di geni conosciuti. Lo sviluppo di marcatori SNP, infatti, ha fornito un nuovo e potente metodo di tracciabilità di filiera, permettendo di riconoscere le varietà di origine nei prodotti trasformati. Un esempio è costituito dalla capacità discriminatoria di genotipi di olivo, attraverso l'individuazione di SNPs all'interno di sequenze funzionali (Baldoni com. pers.). Per identificare tali SNPs e rendere più semplici e ripetibili le relative analisi, sono state sintetizzate sonde specifiche PNA (acronimo di acidi nucleici peptidici), che, di fatto, sono nuovi analoghi DNA/RNA completamente artificiali. Il risultato conseguito è stato spettacolare, perché sono state inequivocabilmente discriminate varietà di olivo grazie alla loro specificità verso determinati SNPs. La tecnica, rivelatasi funzionante, è stata estesa alla tracciabilità degli olii di oliva; nella fattispecie è stato possibile risalire al riconoscimento delle varietà di origine (ad esempio le varietà 'Ogliarola Leccese' e 'Canino' si possono distinguere anche nei rispettivi olii). La validità di questi marcatori SNP e la loro applicabilità

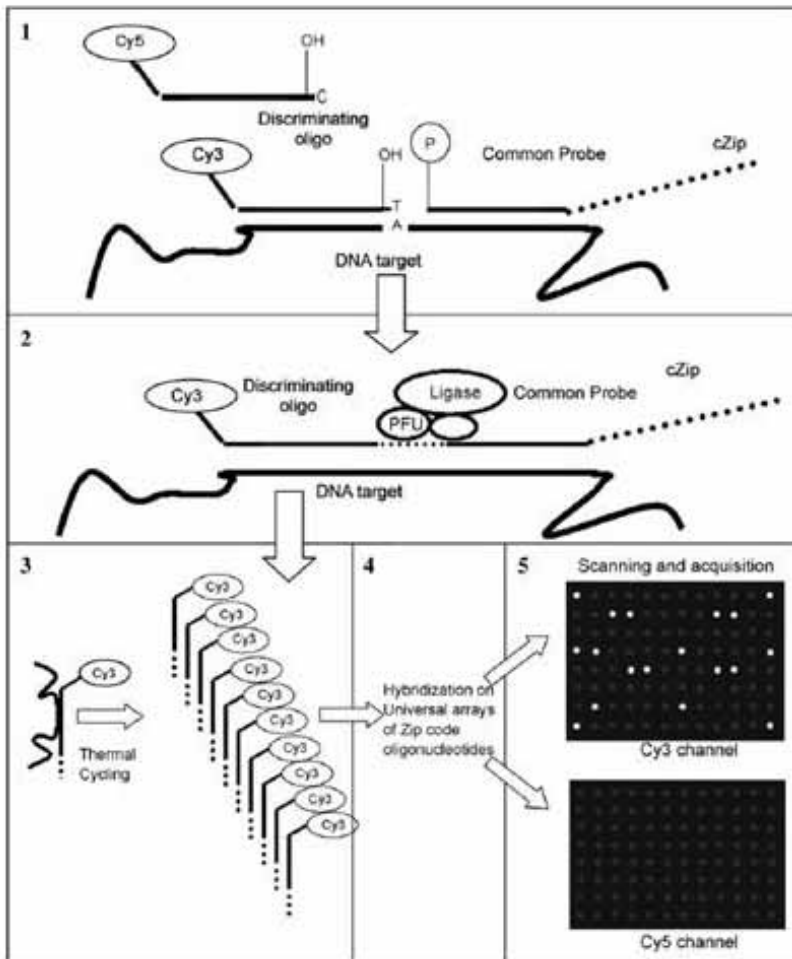


Fig. 2 Schema della metodologia fluorescente LDR-UA (Ligation Detection Reaction - Universal Array) in cui 3 sonde sono in competizione per marcare uno SNP. 1) Appaiamento delle sonde: una sonda comune con zip-code (sequenza nucleotidica artificiale che si appaia in una specifica posizione in un array di sequenze) si lega al prodotto di PCR che funziona da stampo, in posizione subito a valle del nucleotide polimorfico. Due sonde allele-specifiche sono disegnate in modo da avere all'estremità 3' o il nucleotide corrispondente all'allele wild-type o quello corrispondente all'allele variante. Le sonde sono marcate con due diversi fluorocromi (Cyt 3 e Cyt 5). 2) Solo la sonda allele-specifica perfettamente complementare al DNA target (e riconoscibile grazie al fluorocromo) può essere ligata alla sonda comune. 3) Marcatura delle varianti alleliche in cui sono presenti gli SNP. 4) Ibridazione con un "array universale" in cui sono spottati gli zip-code delle sonde comuni in posizione nota. 5) Scansione con camera confocale dei fluorocromi e discriminazione degli SNP (da Consolandi et al., 2007)

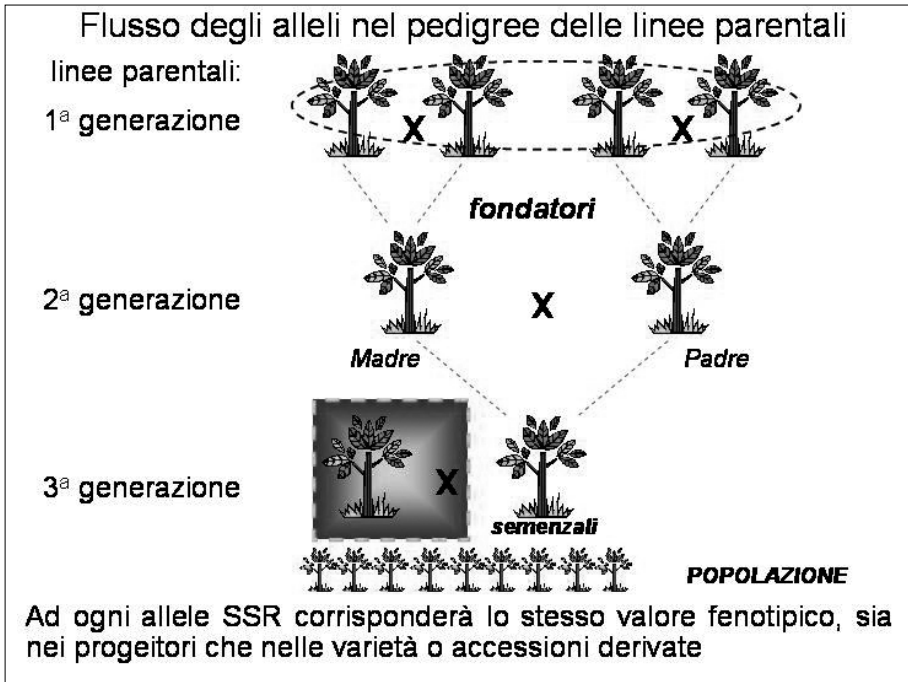


Fig. 3 Schema per una analisi di “family genotyping”: l’analisi con microsatelliti (SSR) permetterà di seguire il flusso degli alleli SSR (e il fenotipo per i caratteri associati) derivati dalle linee ascendenti e ritrovati nei discendenti

alla tracciabilità degli olii è confermata, sempre dagli stessi autori e in parallelo, anche con la tecnologia a fluorescenza LDR-UA (Ligation Detection Reaction - Universal Array; fig. 2) la quale ha prodotto risultati molto simili (Consolandi et al., 2007; Consolandi et al., 2008).

Un altro recente approccio di genotipizzazione, molto utile per il miglioramento genetico è il *Family genotyping* (o genotipizzazione via “pedigree”) in quanto capace di recuperare, trasferendoli alle progenie da incrocio, alleli favorevoli per qualsiasi carattere presente nel germoplasma conservato di una determinata specie, anche in assenza di ampie popolazioni di incrocio (van de Weg et al., 2004).

Da tale approccio si può ricavare l’associazione fra alleli SSR, marcatori per un carattere di interesse agronomico, e relativo fenotipo, prendendo in esame i genotipi e fenotipi di almeno due generazioni di linee parentali

ascendenti (cioè di genitori e nonni), perché caratterizzano intere regioni cromosomiche (in cui sono presenti geni che controllano i caratteri e i QTLs relativi) tenendo conto delle relazioni di parentela. Per questo viene definita “genotipizzazione familiare” (fig. 3).

In pratica, a ogni allele SSR corrisponderà lo stesso valore o carattere fenotipico, sia nei progenitori che nelle varietà o accessioni derivate. Si potrà pertanto procedere a selezionare genotipi dei sementali ottenuti.

Un esempio applicativo della tecnica ci viene ancora da van de Weg et al. (2004), che hanno definito il carattere “durezza della polpa della mela”, utilizzando marcatori microsatelliti che erano stati mappati nelle regioni genomiche dei relativi QTL. Grazie a tale studio sono state identificate una serie di varianti alleliche per la durezza del frutto oggi a disposizione per i programmi di miglioramento genetico.

Un altro campo di applicazione della genomica è costituito dalla genotipizzazione degli alleli del locus S, la regione che regola il meccanismo dell'inibizione della fertilità autogama (autoincompatibilità gametofitica), diffusa in varie specie (in particolare in melo, pero, ciliegio).

Tale meccanismo è innescato da proteine codificate da geni posizionati nel locus S, i quali, nel caso di autoincompatibilità, determinano il blocco della crescita del tubetto pollinico dello stesso genotipo o di altro genotipo avente gli stessi alleli. Questo fenomeno, nelle Rosaceae, è mediato da una ribonucleasi (S-RNasi), un enzima stilare, le cui forme interagiscono con proteine polliniche (codificate da geni con domini F-box) che insieme determinano l'arresto della crescita del tubetto pollinico (a circa 1/3 dell'altezza dello stilo), impedendo pertanto l'autofecondazione; in tal caso (fig. 4) l'RNasi stilare, se non viene complessata con proteine F-Box e inattivata, degrada gli RNA del tubetto e ne inibisce la crescita.

Le S-RNasi sono ben conosciute ed è possibile, via PCR, distinguere i diversi alleli presenti nelle singole varietà e prevedere la compatibilità delle varietà negli incroci, come è stato fatto per il pero (Goldway et al., 2008). I marcatori di tali mediatori sono rivelati da primer disegnati direttamente sulla sequenza genica delle RNasi e hanno una altissima efficienza grazie alla presenza di regioni-specifiche, per ogni singolo allele, che consentono di identificare con facilità i polimorfismi fra le diverse varietà appartenenti a una stessa specie (fig. 5).

La letteratura sulla genotipizzazione degli alleli S nelle specie afferenti alla famiglia delle Rosaceae è molto ampia: i primi dati sono stati riportati da Brothoerts et al. (1996) nel melo, da Ishimizu et al. (1999) in pero giapponese e da Zuccherelli et al. (2002) nel pero europeo. Pertanto, in tali specie sono

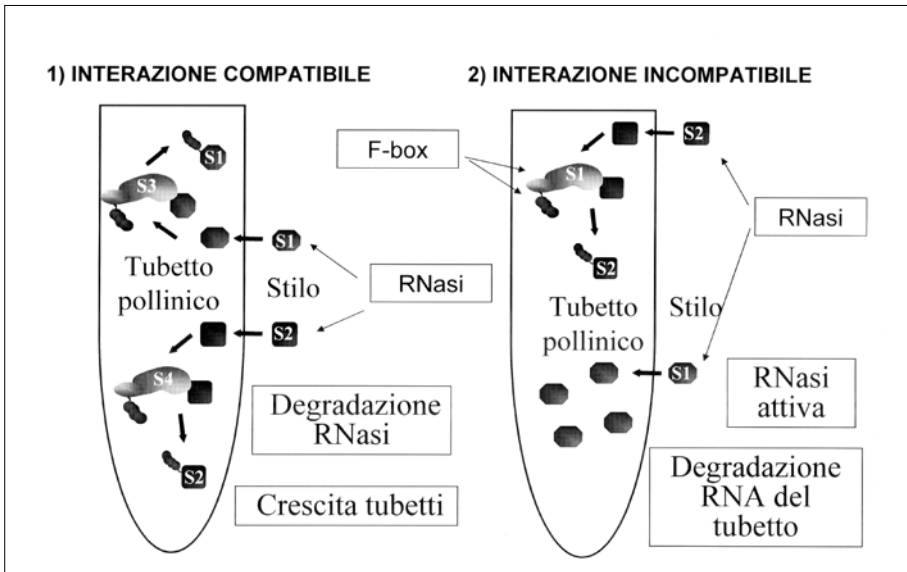


Fig. 4 Incompatibilità gametofitica nelle Rosacee. Schema del ruolo delle ribonucleasi (RNasi, S) e dei determinanti pollinici (F-Box) nella interazione compabile (1) e incompatibile (2) fra polline e stilo

identificabili decine di alleli di S-RNasi (gli alleli S). Gli alleli S sono molti, una serie infinita, come è stato dimostrato da Goldwin et al. (2008): in pratica, più si indaga a livello varietale, più il numero di alleli aumenta.

Mentre le S-RNasi sono oggetto di studio da molti anni, l'identificazione della componente pollinica (S F-box) dell'incompatibilità gametofitica fa parte di acquisizioni recenti. Nella famiglia delle Rosaceae, infatti, sono stati caratterizzati alcuni di tali geni in mandorlo da Ushijima et al. (2003), in albicocco da Romero et al. (2004), in ciliegio da Ikeda et al. (2005), in pero giapponese e melo da Sassa et al. (2007) e i risultati ottenuti sono importanti per la comprensione dei meccanismi di sterilità oltre che quale supporto alla genotipizzazione delle varietà. Quest'ultima diventerà molto utile per la scelta dei parentali negli incroci programmati, inoltre, si spera dovrebbe aprire spiragli per il superamento della sterilità gametofitica, come è avvenuto già nel ciliegio dolce (*Prunus avium*), ancorché, in tale specie, l'autofertilità sia stata provocata da una provvidenziale mutazione del locus S, sottoponendo il polline a trattamenti irradianti. Nel nashi, pero giapponese, invece un mutante autofertile è stato casualmente individuato nella cv Nijisseiki.

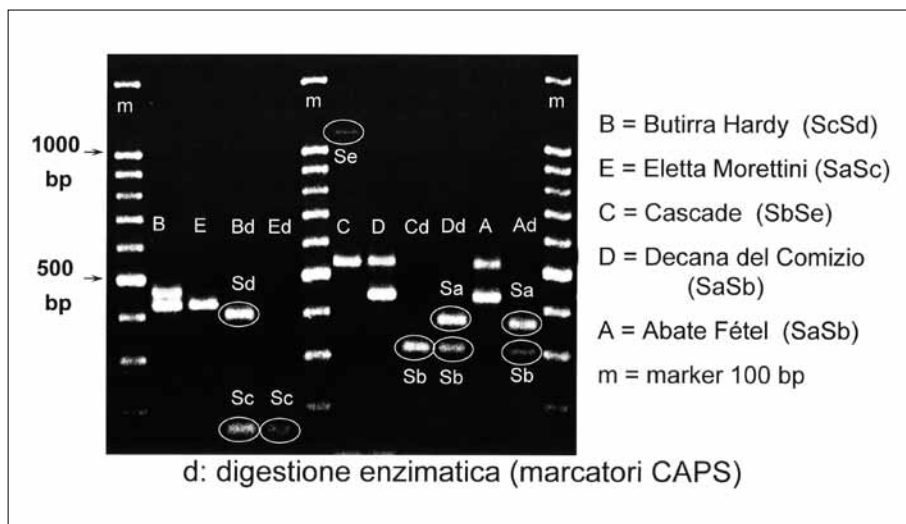


Fig. 5 Identificazione di alleli S (*S-RNasi*) via S-PCR (PCR per amplificare gli alleli S). Per discriminare gli alleli S si utilizza la tecnica CAPS (Cleavage Amplified Polymorphic Sequence) in cui i prodotti di amplificazione della PCR sono digeriti (d) con enzimi di restrizione

B) MARCATORI DI GENI FUNZIONALI E MAPPE GENETICHE

La sempre maggiore disponibilità di sequenze geniche nelle banche dati a supporto delle analisi genomiche sta facendo evolvere il concetto di marcatore molecolare. I primi marcatori molecolari erano in qualche modo “a-specifici” e si disponevano “random” lungo i vari cromosomi, senza poter identificare sequenze con funzione specifica.

I nuovi marcatori funzionali, invece, si distinguono dai marcatori “random” perché sono parte integrante di geni funzionali di interesse agrario (fig. 6). Questa caratteristica li rende massimamente associati ai caratteri propri di tali geni, in quanto non ci può essere ricombinazione fra marcatore e carattere scelto. La loro applicazione è molto semplificata dalle tecniche PCR sufficientemente efficienti per identificare polimorfismi fra le diverse varianti geniche delle singole varietà. Fra queste ci sono gli SCAR (*Sequence Characterize Amplified Region*), i CAPS (*Cleavage Amplified Polymorphic Sequence*), gli SSCP (*Single Strand Conformational Polymorphism*), gli SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) e gli SSR (*Simple Sequence Repeats*) quando il microsatellite è interno al gene.

L'importanza dei marcatori sequenza-specifici viene esaltata dalle mappe genetiche ben saturate, soprattutto di microsatelliti, per poter condurre ana-

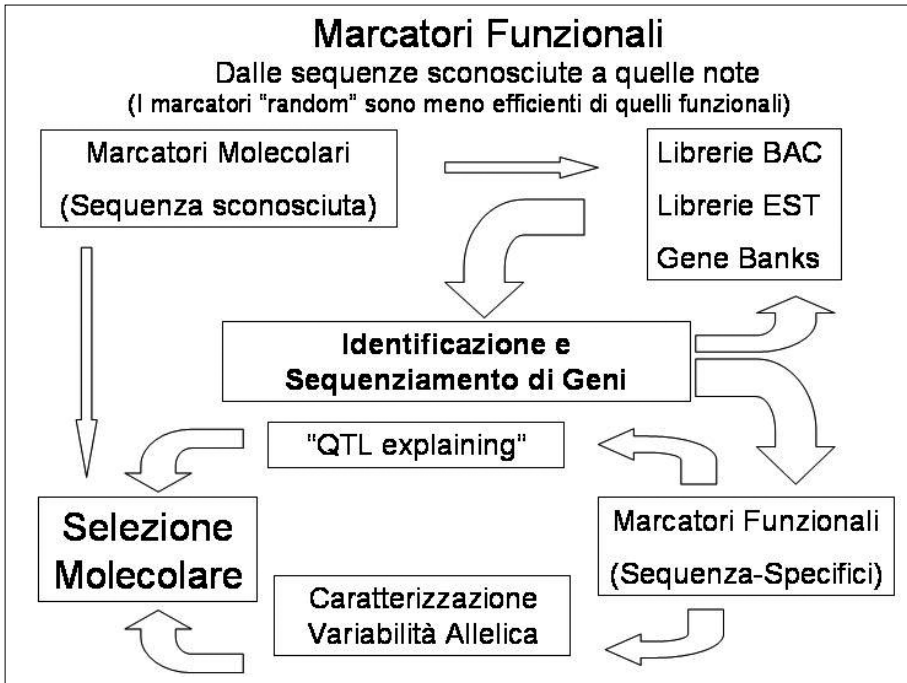


Fig. 6 Percorso di marcatori molecolari "random" e di marcatori funzionali capaci di guidare la selezione molecolare assistita (MAS)

lisi genomiche approfondite. Ormai sono disponibili numerose mappe genetiche per varie specie: melo (Maliepaard et al., 1998; Liebhard et al., 2002 e 2003; Kenis & Keulemans, 2006), pero (Yamamoto et al., 2002; Dondini et al., 2004), pesco (Dirlewanger et al., 2002; Verde et al., 2005), albicocco (Hurtado et al., 2002; Vilanova et al., 2003; Lambert et al., 2004; Dondini et al., 2007), ciliegio (Wang et al., 1998). Un'importante mappa, nota come *Prunus Reference Map* (Joobeur et al., 1998 e 2000; Dirlewanger et al., 2004), derivata dall'analisi della popolazione di un incrocio interspecifico, mandorlo x pesco (Texas x Earlygold), è stata utilizzata per mappare i marcatori genotipizzanti all'interno delle specie del genere *Prunus*. Grazie alle sintenie fra melo e pero (Yamamoto et al., 2001; Pierantoni et al., 2004) e fra le specie del genere *Prunus* (Dirlewanger et al., 2004; Dondini et al., 2007) nonché alla trasferibilità dei microsatelliti all'interno delle specie appartenenti alle Rosacee, le citate mappe sono state allineate e i gruppi di associazione sono stati caratterizzati con molta precisione.

Come se non bastasse, con le suddette analisi genomiche, sono stati individuati anche numerosi QTL, ovvero regioni genomiche che controllano i

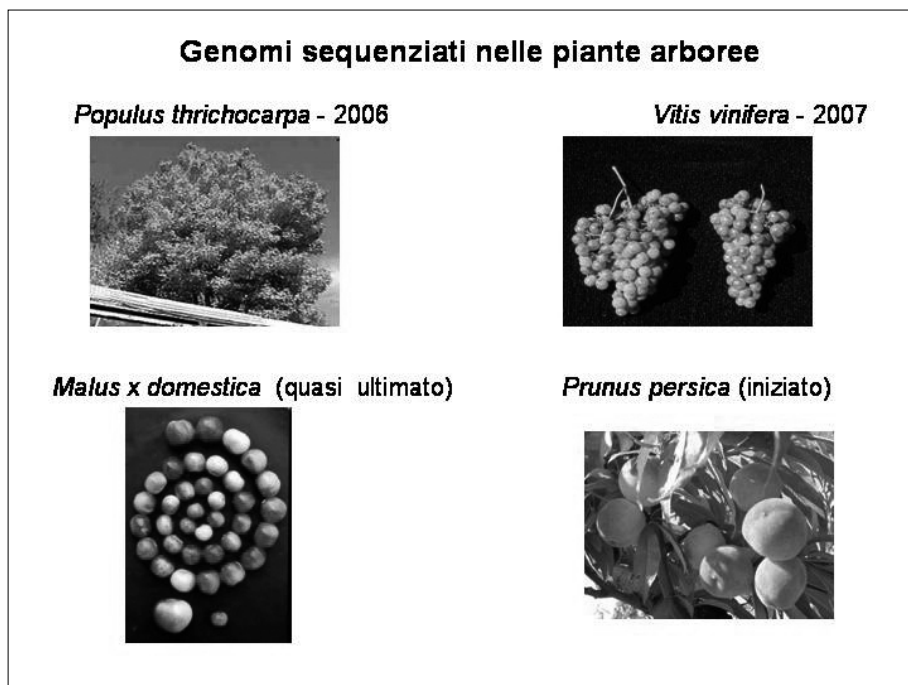


Fig. 7 Genomi di specie arboree già sequenziati o in fase di sequenziamento

caratteri quantitativi (*Quantitative Trait Loci*) di interesse agronomico, e che sono di natura poligenica: si tratta di QTLs per la resistenza a ticchiolatura del melo (Durel et al., 2004) e del pero (Pierantoni et al., 2007), al colpo di fuoco batterico del pero (Dondini et al., 2004) e del melo (Calenge et al., 2005; Khan et al., 2006 e 2007) e per caratteri della “qualità” e della maturazione dei frutti di varie pomacee (King et al., 2000; Liebhard et al., 2003) e drupacee (Dirlewanger et al., 1999; Wang et al., 2000; Quilot et al., 2004; Sansavini et al., 2006). Tutte queste ricerche hanno ovviamente avuto come principale finalità lo sviluppo di marcatori utili per la selezione assistita nel “breeding” molecolare (cfr. successivo capitolo sulla MAS).

I marcatori funzionali che mappano nelle regioni genomiche caratterizzate dalla presenza di QTLs associati ai caratteri oggetto di studio, indicano anche, per ciascun gene, quali alleli sono più vantaggiosi per il “breeding”.

Grazie alla conservazione dei domini funzionali di molte classi di enzimi si possono scoprire marcatori funzionali utili ai fini del trasferimento di informazioni gene-specifiche da una specie all'altra, con altissima efficienza, quali *Fragaria*, *Malus* e *Prunus* (Sargent et al., 2008). A loro volta, tali marcatori

servono per allineare le mappe delle specie appartenenti alla famiglia delle Rosaceae.

Lo sviluppo di questi strumenti, grazie al sequenziamento del genoma di varie specie (fig. 7), diviene un obiettivo facilmente raggiungibile, come nella vite (Jaillon et al., 2007 e Velasco et al., 2007), nel melo (in via di completamento allo IASMA di Trento) e di prossima realizzazione, come nel pesco (con il progetto “Drupomics” del MIPAAF). Non solo si individuano i marcatori funzionali che caratterizzano regioni genomiche in cui sono presenti i geni e i QTL ma si vuole anche esplorare la variabilità all’interno dei genotipi candidati a essere scelti come linee parentali nei programmi di breeding. Con il sequenziamento della vite, ad esempio, sono stati identificati 43 geni coinvolti nella sintesi degli stilbeni, fra i quali il resveratrolo, importante per la salute umana, ma anche altri geni coinvolti nella biosintesi di vari metaboliti secondari che concorrono a definire la qualità del vino (Pé, 2008).

Tappa successiva al sequenziamento genomico di una specie sarà il risequenziamento della stessa, ma a livello di singole varietà. La sequenza della specie servirà come riferimento (Jackson et al., 2006; Lijavetzky et al., 2007), e le tecniche robotizzate, ormai disponibili, ne faranno scendere decisamente il costo. Viene ipotizzato, a breve, un possibile costo di soli 1000 \$ per genoma sequenziato, rispetto agli oltre 10.000 attuali. Nel caso della vite, queste moderne tecnologie saranno le uniche in grado di estendere ai diversi vitigni l’analisi delle migliaia di marcatori funzionali individuati grazie al sequenziamento dell’intero genoma e l’utilità di queste conoscenze andrà a supporto dei programmi di miglioramento genetico per ricercare nuovi caratteri da inserire in nuovi vitigni appositamente programmati (Pé, 2008; Velasco, 2008). Per alcuni decenni in Italia è stata praticata nelle viticoltura da vino soltanto la selezione clonale all’interno dei vitigni più affermati. Lo sviluppo di tecniche di confronto degli stessi geni in genotipi diversi è la base per identificare anche i polimorfismi del singolo nucleotide da utilizzare nella genomica funzionale della vite, per la quale ne sono ormai disponibili alcuni milioni (Lijavetzky et al., 2007; Velasco et al., 2007).

Queste conoscenze inoltre potranno aprire la strada all’utilizzo, anche nelle specie arboree, delle tecniche di “genetica inversa” (reverse genetics), ovvero il silenziamento (“gene silencing”) o la inattivazione (“gene disruption”) di geni specifici per evidenziarne la funzione osservando i fenotipi mutati. Queste tecniche sono utilizzate sin dalla fine degli anni ’90 in specie modello come *Arabidopsis* in cui la fenotipizzazione delle mutazioni è molto semplice (Resky, 1998). Fino a oggi, le informazioni sulla espressione (anche differenziale) dei geni, derivate dalle librerie a cDNA e dai microarray, e le relative se-

quenze, facilmente reperibili nelle banche dati di EST, hanno guidato questo “percorso a ritroso” per la conoscenza della funzione genica.

Altra nuova prospettiva è offerta dalla tecnologia del Tilling (*Targeting Local Lesions in Genomes*). Si tratta di una tecnica in grado di generare la mutazione di un gene di interesse (“gene target”). Questa tecnica è applicabile a qualunque specie mutagenizzabile e per ora è stata utilizzata in *Arabidopsis thaliana*, pomodoro, lattuga, frumento e mais. Dal confronto fra piante mutanti e piante standard (“wild-type”) si individua la funzione di un gene “target”. L'estensione a specie arboree è però difficile a causa dell'alto livello di eterozigosi e del limitato numero di individui ottenuti per incrocio, nonché a causa della lunghezza dei cicli di fruttificazione degli alberi (Busov et al., 2005). Ciò non toglie che proprio sulla caratterizzazione dei mutanti, in genere spontanei delle varietà arboree policlonali, si giocherà una parte importante dei futuri obiettivi del miglioramento genetico fruttivendolo. Il campo di studio in cui tale approccio sembra più favorevole è lo sviluppo del colore della bacca sulla vite (Kobayashi et al., 2004), della buccia della mela (Espley et al., 2007; Takos et al., 2006; Chagné et al., 2007) e della pera (Dondini et al., 2008).

C) GENI DIFFERENZIALMENTE ESPRESSI E TRASCRITTOMICA

Un approccio, estremamente efficiente, per identificare geni coinvolti nel controllo di caratteri agronomicamente utili è quello dell'*analisi dei geni differenzialmente espressi* in risposta a uno stimolo o elicitazione esterna o a una particolare induzione metabolica. Dall'analisi dei trascritti (mRNA) si identificano i geni espressi in risposta a tali stimoli e le relative sequenze diventano disponibili per ottenere marcatori funzionali.

L'analisi dell'intero *profilo trascrizionale* della pianta in una determinata fase metabolica – corrispondente a una ben definita fase fenotipica – fornisce una valida e poco onerosa alternativa ai progetti di sequenziamento in larga scala delle “librerie di espressione”, progetti i quali però hanno avuto il merito di arricchire le banche dati di sequenze molto informative. Un caso emblematico dell'utilità delle sequenze espresse nella pesca per arrivare a identificare i geni coinvolti nella maturazione del frutto è costituito dal progetto del Consorzio interuniversitario italiano ESTree (<http://www.itb.cnr.it/estree>). A seguito di questo enorme sforzo di sequenziamento è stato sintetizzato un “chip” (Peach 1.0.) per analisi “microarray” col quale si possono analizzare i geni espressi durante le diverse fasi della maturazione del frutto del pesco

(Trainotti et al., 2006, 2007). Tale “chip” ha notevolmente semplificato la comprensione della funzione dei vari geni coinvolti nella regolazione etilenica della maturazione.

Anche nella mela, grazie alla disponibilità di uno specifico “chip”, è iniziato lo studio dello sviluppo degli aromi in risposta all’etilene (Schaffer et al., 2007). Analoghi lavori sono stati condotti anche in fragola da Salentijn et al. (2003) e da Terrier et al. (2005) in vite. Da questi lavori sono derivate sequenze geniche utilizzabili per sviluppare marcatori funzionali associati a processi fisiologici specifici. Sono, queste, tappe indispensabili per approfondire e rivisitare molti processi e aspetti fisiologici connessi a pratiche agronomiche (es. potatura, concimazione, rizogenesi, ecc.).

Per quanto riguarda le analisi differenziali dei geni espressi, si citano fra le prime tecniche di *transcript profiling* (analisi di tutti i geni espressi), il *Differential Display* (Liang e Pardee, 1992), poi migliorato con la tecnica cDNA-AFLP (Bachem et al., 1996), con la quale risulta facile l’individuazione delle sequenze, perciò ideali per lo sviluppo di marcatori funzionali. Altre tecniche si sono rese utili per questo tipo di analisi: il *cDNA differential screening* (Yoshida et al., 1994), la *PCR-based suppression subtractive hybridization* (Diatchenko et al., 1996), i *microarray* (Schena et al., 1995). Queste tecnologie in grado di analizzare contemporaneamente tutti i geni espressi in risposta a uno stimolo hanno gradualmente introdotto il concetto di *trascrittomica* (cioè la determinazione di tutte le sequenze espresse dall’individuo).

Un esempio della possibilità di integrare questi approcci magnificandone i risultati è dato dallo studio dei profondi cambiamenti metabolici indotti dal gene *HcrVf2* in melo in risposta all’infezione del fungo patogeno *Venturia inaequalis* (fig. 8). Nella fattispecie sono state poste a confronto alcune linee di ‘Gala’ geneticamente modificate per l’inserimento del gene *HcrVf2* con un clone di ‘Gala’ normale, non trasformata (Paris et al., 2008). In tal caso, da una libreria sottrattiva è derivata la costruzione di una libreria di 523 geni unici di grande importanza per lo studio delle interazioni fra ospite (pianta di melo) e patogeno (*V. inaequalis*). Tale libreria è stata poi “spottata” su un “chip” per l’analisi “microarray” (Paris et al., 2008) attraverso cui è stata identificata una sottopopolazione di 62 geni (29 indotti e 33 repressi in seguito all’elicitazione fungina) deputati alla codificazione di proteine ed enzimi legati a specifiche funzioni della pianta. Oltre alla caratterizzazione della risposta metabolica assai complessa e derivante dall’interazione ospite/patogeno (nella fattispecie alterata dall’inserimento nella pianta della sola sequenza *HcrVf2*), grazie alle sequenze dei geni identificati si possono ricavare nuovi marcatori funzionali associati ai geni coinvolti nella risposta difensiva della pianta al

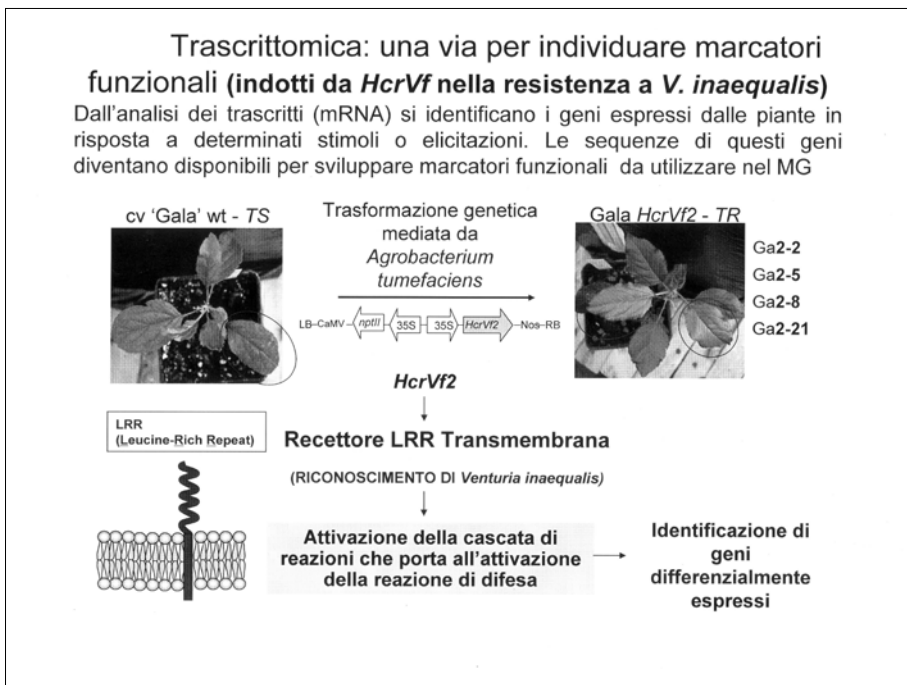


Fig. 8 Applicazione della trascrittomica per identificare geni espressi in risposta a stress biotici. Il caso della risposta di "resistenza" del melo a *Venturia inaequalis*

patogeno. Fra questi geni, si cita un'endochitinasi di classe III (Paris et al., 2006) che in parte spiega, probabilmente, il meccanismo di resistenza indotta dal gene *Vf*.

Un identico approccio è stato seguito da altri autori (Norelli et al., 2008) che hanno identificato un pool di geni espressi nelle prime 72 ore dall'inoculazione di *Erwinia amylovora* in melo. Fra questi geni sono compresi alcuni enzimi, quali una polifenol-ossidasi, una cinnamyl-alcool-dehydrogenasi e diverse proteine chinasiche.

Questi primi approcci di *trascrittomica* dovranno in futuro essere integrati con successivi studi di *proteomica* e *metabolomica* per la comprensione delle vie biosintetiche che regolano la sintesi dei metaboliti primari e secondari che determinano, fra l'altro, la "qualità dei frutti". Tutte queste nuove informazioni, sempre più facilmente ottenibili grazie alle piattaforme tecnologiche, dovranno essere utilizzate anche per lo sviluppo di marcatori funzionali per la successiva selezione assistita (MAS) (Sansavini et al., 2005; Sansavini, 2008).

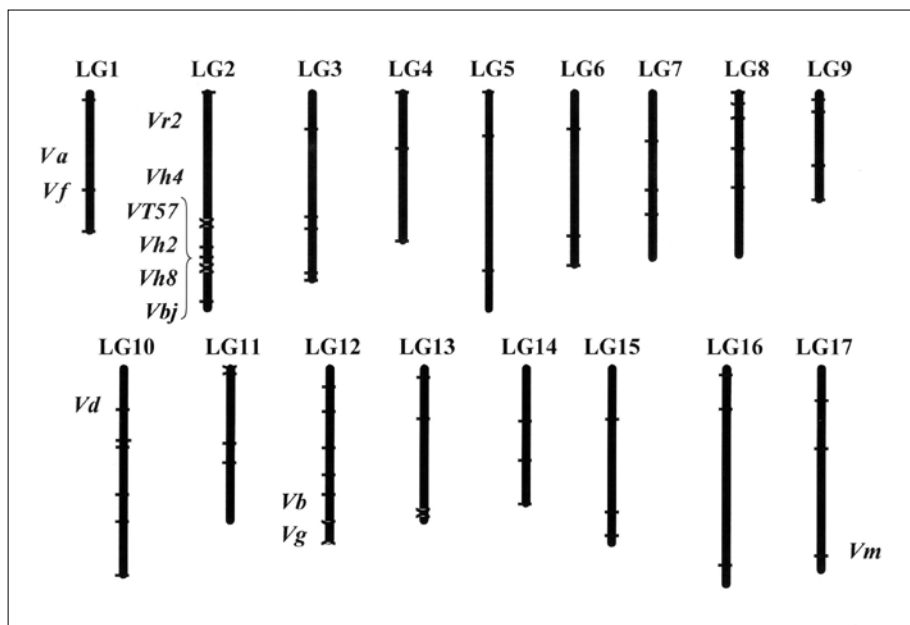


Fig. 9 Localizzazione dei diversi geni di resistenza a *Venturia inaequalis* nel genoma del melo (modificato da Gessler et al., 2007)

D) LA SELEZIONE ASSISTITA CON MARCATORI MOLECOLARI (MAS), A SUPPORTO DEL MIGLIORAMENTO GENETICO

La selezione assistita e precoce con marcatori molecolari (cosiddetta “marker assisted selection” o MAS) è una tecnica di selezione indiretta che si basa sull’associazione fra un carattere di interesse agronomico (es. resistenza a uno stress) e un marcatore molecolare. Si analizza per la selezione direttamente il genotipo (scevro dai condizionamenti dell’ambiente o dello stadio di sviluppo della pianta) per ridurre i tempi, gli spazi occupati e, in definitiva, i costi dei programmi di miglioramento genetico.

Tale strumento a supporto del breeding è di facile e immediata comprensione quando si pensi ai caratteri monogenici, quali ad esempio le fonti di resistenza a ticchiolatura del melo (Gessler et al., 2007; fig. 9) o alcuni caratteri relativi alla qualità del frutto quali, ad esempio, il carattere della polpa gialla/bianca della pesca o anche il locus “D” dell’acidità del frutto (Dirlewanger et al., 2004). Purtroppo la maggior parte dei caratteri di interesse agronomico nelle piante arboree da frutto è di natura poligenica, quindi controllata da diversi geni posizionati in più loci del genoma, i già citati QTL.

In teoria, tutti i marcatori associati ai caratteri quantitativi e qualitativi, possono essere utilizzati nel breeding sotto forma di MAS. Molti protocolli, però, non sono ancora a punto per condurre una selezione multifattoriale, prendendo in considerazione cioè più caratteri contemporaneamente. Sull'efficienza della MAS per i caratteri quantitativi bisogna ancora chiarire alcuni presupposti: se i marcatori identificano un QTL che spiega una alta percentuale della variabilità fenotipica di un certo carattere, essi avranno sicuramente successo; se il modello sperimentale prevede invece molti geni con bassa influenza sul fenotipo, nonostante la conoscenza dei QTL, l'efficienza della MAS potrebbe essere inferiore a quella della selezione per via fenotipica (Morgante e Salamini, 2003).

Esistono alcune strategie per migliorare l'efficienza dei marcatori molecolari e dei QTL per selezionare secondo caratteri quantitativi e in ogni caso bisogna sviluppare approcci di genomica quantitativa più raffinati di quelli fino a oggi impiegati, al fine di sfruttare meglio i QTL identificati.

Una prima via consiste nella validazione dei QTLs in ampie popolazioni di incrocio (fino a 500 semenzali) che segregano per il carattere poligenico in esame. Una alternativa consiste nella "genetica di associazione", ovvero nell'applicazione del cosiddetto *linkage disequilibrium*, che significa fare un'analisi molecolare su ampie collezioni varietali di varianti alleliche di geni candidati (iniziando con quelli che coabitano coi QTLs stessi). Si possono così identificare con precisione le regioni del genoma in cui sono presenti i geni che controllano un carattere e scoprire nuovi alleli favorevoli da introdurre nei programmi di incrocio. Il "linkage disequilibrium" è utilizzato in genetica umana sin dalla fine degli anni '60 (Hill e Robertson, 1968), ma in specie arboree da frutto è stato applicato solo raramente e, a volte non come supporto del miglioramento genetico: Koopman et al. (2007) hanno applicato questo approccio per l'analisi dei flussi di alleli fra le specie selvatiche di melo e quelle addomesticate.

Lo sviluppo di marcatori molecolari per la MAS nelle piante arboree da frutto è stato uno dei temi fondanti dello sviluppo delle biotecnologie ed è stato applicato a sostegno del miglioramento genetico.

Nel campo delle resistenze a patogeni i primi marcatori molecolari sono stati sviluppati per la resistenza a ticchiolatura del melo (Tartarini, 1996; Tartarini, 1999; Vinatzer, 2001; Vinatzer, 2004) in quanto associati al gene *Vf*e mappati nel linkage group 1. Successivamente è stato clonato il gene *HcrVf2* utilizzando una libreria genomica a largo inserto (libreria BAC, Vinatzer et al., 2001) della cv di melo 'Florina' (fig. 10). L'isolamento di tale gene, portatore di una resistenza totale a ticchiolatura, così come l'attività di mappaggio

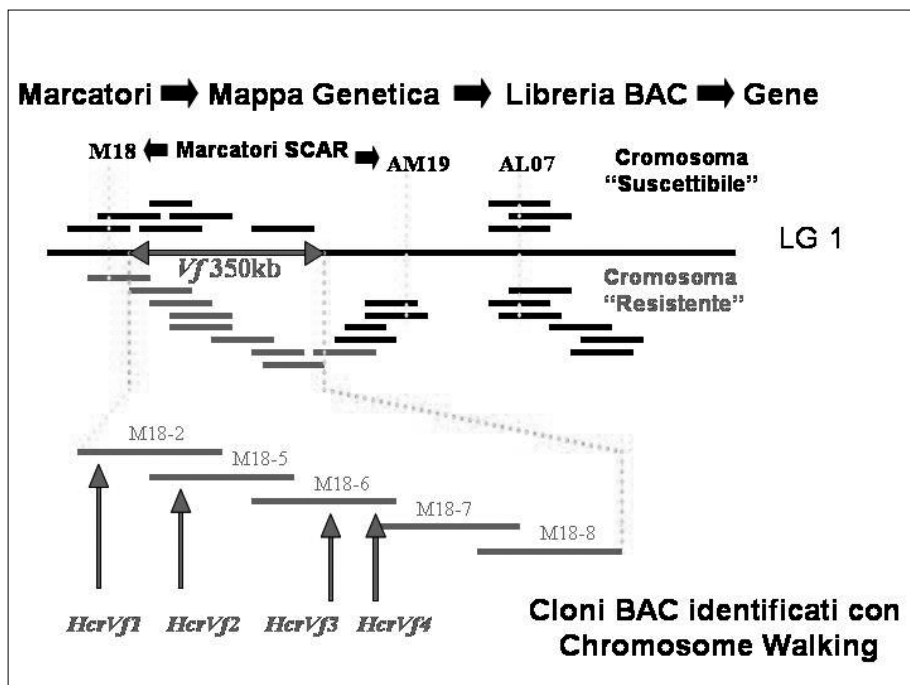


Fig. 10 Ricerca del gene *Vf* (*HcrVf2*) per la resistenza a ticchiolatura del melo. Con questa ricerca di genomica sono stati identificati sia il gene di resistenza sia i marcatori associati al carattere

fine nella regione del *Vf*, da cui l'isolamento e il clonaggio, hanno generato una collezione di marcatori ideali per la MAS perché sono strettamente associati al carattere di resistenza e co-segregano con essa nelle popolazioni di incrocio. La dimostrazione definitiva della effettiva attività del gene *Vf* nel conferire resistenza a ticchiolatura del melo si è ottenuta inserendo tale gene mediante trasformazione genetica nella cv 'Gala', ticchiolatura suscettibile. In questo modo sono state ottenute alcune linee di Gala "geneticamente modificate" e "ticchiolatura resistenti", numerose al pari delle varietà TR (ticchiolatura resistenti) per il gene *Vf* (Belfanti et al., 2004).

In però, altri marcatori associati alla resistenza a ticchiolatura (di natura poligenica) sono stati sviluppati nella cv 'Abate Fétel' (Pierantoni et al., 2007). Per quanto riguarda la resistenza a "fire blight" sono stati identificati quattro QTL nella cv "fire blight" resistente 'Harrow Sweet', i cui marcatori potranno essere utilizzati per la selezione con efficienza fino all'80% di genotipi resistenti a *Erwinia amylovora* (Dondini et al., 2004).

Per l'identificazione di marcatori associati alla resistenza al "fire blight" nel

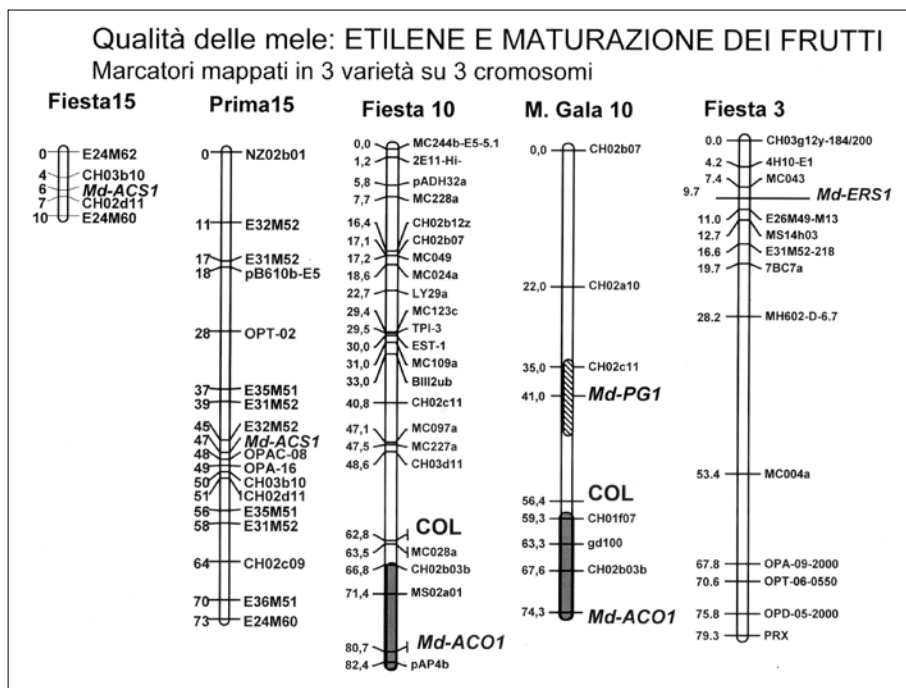


Fig. 11 Marcatori molecolari associati alla durezza e all'intenerimento delle mele. Nel linkage group 10 è presente sia un QTL per la durezza (sul cromosoma in grigio) che per l'intenerimento (sul cromosoma a barre). I geni per il metabolismo dell'etilene coinvolti nella maturazione della mela, sono mappati sui linkage group 3 (*MdERS1*), 10 (*Md ACO1*) e 15 (*MdACS1*). *MdPG1* è un marcatore funzionale per una poligalatturonasi, enzima responsabile dell'intenerimento del frutto (modificato da Costa et al., 2005)

pero e alla sharka nell'albicocco (Dondini et al., 2004 a e b) è stata utilizzata anche la tecnica degli "analoghi dei geni di resistenza" (RGA). Si tratta di una famiglia di geni identificabili grazie a domini conservati e quindi comuni a molte fonti di resistenza presenti nelle piante. Gli RGA sono quindi una sorta di "comune denominatore", preservato dalla natura, per conferire resistenze geniche agli stress biotici, indipendentemente dalla specie di appartenenza.

Alcuni importanti progetti europei, con partnership italiane, sono in corso per lo sviluppo di marcatori molecolari associati alla qualità della frutto (Progetti HiDRAS e ISAFRUIT). I marcatori finora ottenuti saranno utili nella MAS per caratteri importanti quali il peso del frutto, la durezza della polpa, l'acidità e il contenuto in zuccheri del succo, tutti accertabili nei giovani semenzali prima della selezione di campo. Due QTLs, rispettivamente

della durezza e dell'intenerimento della polpa della mela, sono stati trovati nel "linkage group" 10 del melo (fig. 11) in corrispondenza rispettivamente di un gene che codifica per l'ACC-ossidasi (importante step della via biosintetica dell'etilene) e di una poligalatturonasi (Costa et al., 2005). I microsatelliti, in corrispondenza dell'ACC-ossidasi, sono già stati utilizzati per una analisi di "family genotyping" mirata a scoprire diverse varianti alleliche da recuperare e reintrodurre in nuovi genotipi di melo (van de Weg et al., 2004). Inoltre, sempre per la durezza della mela, è stata recentemente descritta una nuova classe di espansine (MdEXP7, Costa et al., 2008) che si posiziona all'interno di un QTL della durezza della polpa nel linkage group 1 del melo cv 'Prima'. Un microsatellite interno alla sequenza dello stesso gene mappa nella stessa posizione anche nel pero (cv 'Harrow Sweet' e 'Passa Crassana') dimostrando così, in entrambe le specie, che la funzione si è conservata. Tale SSR in futuro potrà essere molto utile per implementare l'approccio del "family genotyping" per la durezza delle mele e delle pere.

Un ulteriore settore di ricerca innovativa volta all'individuazione di aspetti nutraceutici e salutistici del frutto riguarda la caratterizzazione delle diverse classi di allergeni nella buccia e nella polpa della mela e di altri frutti. L'allergia alla mela è abbastanza diffusa nel Nord Europa e in misura minore in Italia. Sono a oggi conosciute 4 classi di allergeni della mela (*Mal d 1*, *Mal d 2*, *Mal d 3* e *Mal d 4*) la cui funzione, però, nell'albero, sembra principalmente quella di difesa contro i patogeni (Mills et al., 2003). Le proteine codificate da questi geni si accumulano nella buccia e nella polpa del frutto in modo diverso nelle singole varietà (Marzban et al., 2005; fig. 12). Associando a ogni allergene un determinato potenziale allergenico sarà possibile dirigere il miglioramento genetico del melo verso l'ottenimento di varietà a bassa o senza allergenicità (qualora si escludano i relativi allergeni).

E) NUOVE STRATEGIE PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO

La conoscenza della base genetica che controlla i caratteri bio-agronomici dell'albero e quelli merceologici del frutto, le informazioni sui geni, la loro posizione nei genomi e l'attività nei processi metabolici delle piante, hanno aperto nuove strade all'innovazione e al miglioramento del nostro patrimonio arboreo, allargando la variabilità genetica. Le potenzialità delle biotecnologie agrarie sono state ampiamente preconizzate nel Rapporto EASAC (European Academy of Science Advisory Council 2006), avendo come fulcro la ricerca genomica e come recettore primario il miglioramento genetico delle pian-

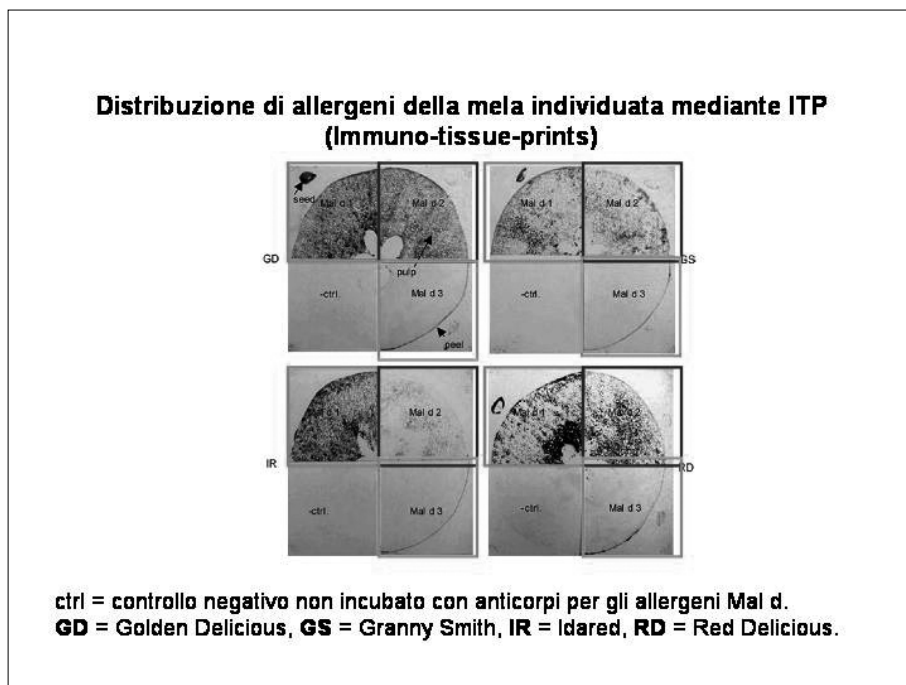


Fig. 12 Localizzazione degli allergeni Mal d 1, Mal d 2 e Mal d 3 nella polpa e nella buccia di mele (da Marzban et al., 2005)

te. In pratica i programmi di miglioramento genetico trarranno sempre più spunto da acquisizioni di conoscenze molecolari.

Con tale approccio si creeranno varietà adatte a sistemi agricoli sostenibili, per la riduzione del livello di sostanze inquinanti, per la salvaguardia dell'ambiente e per l'innalzamento della sicurezza alimentare, esaltando le caratteristiche qualitative del frutto e innalzando i costituenti nutraceutici funzionali (antiossidanti, tocoferoli, acido folico, aminoacidi essenziali, ecc.).

La caratterizzazione molecolare dei genomi delle varietà coltivate deve portare a una scelta mirata delle linee parentali nei programmi di breeding e a nuove vie nel processo selettivo, per abbreviarlo e renderlo meno oneroso. Fra le strategie molecolari di miglioramento genetico è importante ricordare la piramidizzazione dei geni di resistenza ovvero la possibilità di riunire in un unico genotipo più sorgenti di resistenza a un patogeno diminuendo la probabilità che quel patogeno evolvendosi superi la resistenza stessa. Un progetto di ricerca a livello europeo (il progetto EU-DARE) ha caratterizzato diverse sorgenti di resistenza a ticchiolatura del melo (monogeniche e poligeniche)

per sviluppare marcatori in grado di supportare programmi di breeding finalizzati a piramidizzare queste resistenze (Durel et al., 2004). Bisogna poi cercare di accrescere e accumulare resistenze a più patogeni nello stesso genotipo. Infine, non appena saranno sciolte le riserve procedurali e ideologiche, bisogna considerare l'ingegneria genetica fra le possibili risposte applicative per introdurre e ricombinare caratteri di grande utilità sociale ed economica, laddove i metodi riproduttivi tradizionali non lo consentano (Sansavini et al., 2004 e 2007).

Nell'intento di valorizzare la genomica vegetale come strumento basilare per sviluppare la ricerca e l'innovazione tecnica a supporto della filiera agro-alimentare è nata in Europa la piattaforma "Plants for the future", la quale svolgerà un ruolo importante nell'ambito dei progetti di ricerca del VII Programma Quadro della Comunità Europea. Fra gli scopi di questa iniziativa c'è la necessità di migliorare la sostenibilità e redditività della produzione primaria, rispettando il desiderio dei consumatori di avere a disposizione alimenti sani ad alto valore nutrizionale. Per ottenere questo risultato grazie alla genomica si possono caratterizzare i geni e i marcatori QTL che influenzano la resa delle colture e la qualità dei prodotti, tenendo in considerazione il relativo impatto con l'ambiente. Questo scopo può essere raggiunto con una attività mirata di breeding supportato dalle tecnologie qui illustrate, tutte impostate nel presupposto di una larga disponibilità di marcatori funzionali da aggregare alla MAS.

Il rapporto fra genomica e trascrittomica richiede però competenze diverse e integrate, dal biologo molecolare, al biochimico-fisiologo, al bioinformatico, al pomologo; tutti dovranno agire in stretto collegamento entro progetti comuni. Da un lato l'uso della tecnologia "microarray" sta producendo una grande quantità di dati, e quindi di marcatori funzionali, inimmaginabile solo pochi anni fa. La nascita anche in Italia di consorzi di sequenziamento di librerie EST (come ESTree) ha da tempo indicato l'opportunità di sviluppare approcci interdisciplinari e integrati. Altre tecniche di genetica inversa come il "tilling" si stanno affermando in altri modelli di studio come le specie cerealicole. Saranno utilizzabili in futuro anche in frutticoltura? Quali tecniche saranno più opportune per caratterizzare, plasmare e fissare i caratteri dei mutanti clonali nelle specie arboree?

Per dare risposte convincenti a queste domande occorrerà passare al ri-sequenziamento dei genomi di singole varietà, quando si disporrà del genoma sequenziato della specie di riferimento. Si potranno analizzare in questo modo non solo le mutazioni a carico di geni ma anche quelle a carico dei relativi promotori. Per questo approccio di genomica classica sono già dispo-

nibili diverse tecniche (454, Solexa e Solid) a costi sempre più contenuti. Al convegno “Ultra-Fast Genomics”, che si è tenuto a Dubai nel dicembre 2007, l’attenzione si è concentrata proprio nelle ricadute pratiche di questo nuovo approccio genomico, per la conoscenza delle relazioni fra i geni di maggiore interesse in un singolo genoma. Le informazioni così ottenute dovranno perciò sempre più essere implementate con quelle di trascrittomica e proteomica per conoscere la funzione e la regolazione dei geni e per applicarla possibilmente al miglioramento genetico.

CONCLUSIONI

Le biotecnologie, nel campo delle piante arboree da frutto, sono un supporto indispensabile per andare verso sistemi di coltivazione sostenibili, per migliorare quali-quantitativamente le produzioni, per renderle più resistenti e adatte ai vari ambienti. Questi traguardi potranno essere conseguiti se, attraverso la biologia molecolare, saranno riviste le basi della fisiologia, della biochimica e dei processi metabolici, che sottendono le risposte difensive della pianta, i cicli di crescita vegetativi e riproduttivi, e la maturazione e conservazione del frutto. Tappe fondamentali per il raggiungimento di questi obiettivi sono l’individuazione e il sequenziamento dei geni e lo sviluppo di marcatori funzionali a essi associati. La genomica funzionale dà la possibilità di indirizzare i programmi di miglioramento genetico e di orientare il successivo processo selettivo.

La genetica quantitativa (sia con l’analisi QTL sia col “linkage disequilibrium”) sarà di ausilio per aumentare l’efficienza della MAS nella selezione dei caratteri poligenici, che sono la maggioranza di quelli che esprimono lo sviluppo e la produttività delle piante nonché il valore commerciale del frutto.

I genomi interamente sequenziati (per vite e a breve anche di melo, olivo e pesco) creano opportunità per esplorare l’intero genoma, per identificare la complessità dei geni al fine di operare una selezione più mirata nelle varie direzioni dei programmi di breeding.

RIASSUNTO

Le biotecnologie e in particolare la genomica, hanno avuto in Europa un rilevante sviluppo, forse anche per compensare la frenata delle ricerche sulle piante geneticamente modificate (OGM) decretata dagli organi legislativi. Recentemente la genomica italiana ha conseguito risultati di rilievo internazionale, come dimostra il sequenziamento del genoma di vite e melo.

Grazie alla genomica sono stati individuati numerosi geni, che sono stati sequenziati, clonati e mappati, divenendo un utile strumento per definire programmi di miglioramento genetico mirati a piante più resistenti ed efficienti e a frutti di migliore qualità, per sviluppare tecniche di propagazione e difesa ecocompatibili, per ridurre gli apporti idrici e nutrizionali. Conoscere la funzione dei singoli geni, le loro interazioni, i meccanismi di regolazione, le proteine da essi codificate e la loro espressione nei *pathway* metabolici della pianta significa il profilarsi di una nuova biologia dei sistemi produttivi per renderli più competitivi.

Attraverso il successivo approccio trascrittomico si possono identificare geni differenzialmente espressi, indotti da fattori ambientali e culturali e da questi derivare adattamenti agli interventi agronomici o introdurre di nuovi. Per far questo occorre attivare o reprimere geni per sviluppare resistenze a stress biotici provocati da patogeni (es. ticchiolatura, fireblight, sharka, ecc.) o a stress abiotici (siccità, salinità).

La biologia molecolare e la genomica stanno perciò favorendo una rivisitazione delle conoscenze genetiche, fisiologiche, biochimiche e agronomiche delle specie arboree coltivate, provocando, sul piano applicativo, innovazioni genetiche-varietali e tecniche di filiera, come mai era avvenuto in precedenza.

ABSTRACT

There have been notable advances in the application of molecular biology and genomics in Europe. Recent examples in Italy include the sequencing of the grapevine and apple genomes. The maps constructed from the sequenced and cloned genes represent a useful tool in plant breeding to get high quality fruit and more efficient plants, including such applications as eco-compatible methods of protection, propagation, soil and tree management aimed at reducing energy inputs. Efforts to gain greater insights into the function of individual and groups of genes, their interaction, regulatory mechanisms, the proteins they encode and their expression in a plant's metabolic pathways should lead to a revolution in our understanding of cropping biology and make tree and orchard productivity more efficient. Transcriptomics also can help us identify differentially expressed genes to improve fruit quality and its shelf life, to understand the role of environmental and management factors and, hence, to upgrade field practices or even develop innovations. The consequence step is how to apply this knowledge for activating and silencing several genes and therefore to induce resistance to biotic stress deriving from pathogens like scab, fireblight and sharka and to abiotic stress deriving from events like drought and salinity. Molecular tools like genomics are thus bringing about a new era in our understanding of the genetics, physiology and biochemistry of plant processes and should lead to advances in the breeding of new cultivars and reverberate through the fruit industry's supply chain.

LETTERATURA

BACHEM C.W.B., OOMEN R.J.F.J., VISSER R.G.F. (1998): *Transcript imaging with cDNA-AFLP: a step-by-step protocol*, «Plant Molecular Biology Reports», 16, pp. 157-173.

- BELFANTI E., DILWORTH E.S., TARTARINI S., PATOCCHI A., BARBIERI M., ZHU J., VINATZER B.A., GIANFRANCESCHI L., GESSLER C., SANSAVINI S. (2004): *The Hcrvf2 gene from a wild apple confers scab resistance to a transgenic cultivated variety*, «PNAS», 101, pp. 886-890.
- BIANCHI V.J., VENTURI S., FACHINELLO J.C., TARTARINI S., SANSAVINI S. (2002): *I marcatori AFLP e SSR, risolutivi nella identificazione genetica delle varietà di susino*. «Frutticoltura», 4, pp. 83-87.
- BROOTHAERTS W., VERDOODT L., KEULEMANS J., JANSSENS G.A., BROEKAERT W.F. (1996): *The self-incompatibility gene in apple and determination of the S-genotype of apple cultivars by PCR*, «Acta Horticulturae», 423, pp. 103-109.
- BUSOV V., FLADUNG M., GROOVER A., STRAUSS S. (2005): *Insertional mutagenesis in Populus: relevance and feasibility*, «Tree Genetics and Genomes», 1, pp. 135-142.
- CALENGE F., DROUET D., DENANCÉ C., VAN DE WEG W.E., BRISSET M.N., PAULIN J.P., DUREL C.E. (2005): *Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies*, «Theoretical and Applied Genetics», 111, pp. 128-135.
- CHAGNÉ D., CARLISLE C.M., BLOND C., VOLZ R.K., WHITWORTH C.J., ORAGUZIE N.C., CROWHURST R.N., ALLAN A.C., ESLEY R.V., HELLENS R.P., GARDINER E. (2007): *Mapping a candidate gene (MDMYB10) for red flesh and foliage colour in apple*, «BMC GENOMICS», 8: 212 DOI: 10.1186/1471-2164-8-212.
- CONSOLANDI C., PALMIERI L., DOVERI S., MAESTRI E., MARMIROLI N., REALE S., LEE D., BALDONI L., TOSTI N., SEVERGNINI M., DE BELLIS G., CASTIGLIONI B. (2007): *Olive variety identification by ligation detection reaction in a universal array format*, «Journal of Biotechnology», pp. 565-574.
- CONSOLANDI C., PALMIERI L., SEVERGNINI M., MAESTRI E., MARMIROLI N., AGRIMONTI C., BALDONI L., DONINI P., DE BELLIS G., CASTIGLIONI B. (2008): *A procedure for olive oil traceability and authenticity: DNA extraction, Multiplex PCR and LDR-Universal Array analysis*, «European Food Research Technology», 227, pp. 1429-1438.
- COSTA F., STELLA S., SANSAVINI S., VAN DE WEG W.E. (2005): *Functional markers as genetic approach to study ethylene production and fruit softening in apple (Malus x domestica Borkh.)*, «Acta Horticulturae», 682, pp. 389-394.
- COSTA F., VAN DE WEG W.E., STELLA S., DONDINI L., PRATESI D., MUSACCHI S. AND SANSAVINI S. (2008): *Map position and functional allelic diversity of Md-Exp7, a new putative expansin gene associated with fruit softening in apple (Malus x domestica Borkh.) and pear (Pyrus communis)*, «Tree Genetics & Genomes», 3, pp. 575-586.
- DIRLEWANGER E., MOING A., ROTHAN C., SVANELLA L., PRONIER V., GUYE A., PLOMION C., MONET R. (1999): *Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (Prunus persica (L.) Batsch)*, «Theoretical and Applied Genetics», 98, pp. 18-31.
- DIRLEWANGER E., GRAZIANO E., JOOBEUR T., GARRIGA-CALDERE F., COSSON P., HOWAD W., ARUS P. (2004): *Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops*, «PNAS», 101, pp. 9891-9896.
- DIATCHENKO L., LAU Y.F.C., CAMPBELL A.P., CHENCHIK A., MOQADAM F., HUANG B., LUKYANOV S., LUKYANOV K., GURSKAYA N., SVERDLOV E.D., SIEBERT P.D. (1996): *Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries*, «PNAS», 93, pp. 6025-6030.
- DONDINI L., LAIN O., GEUNA F., BANFI R., GAIOTTI F., TARTARINI S., BASSI D., TESTOLIN R. (2006): *Development of a new SSR-based linkage map in apricot and analysis of synteny with existing Prunus maps*, «Tree Genetics & Genomes», 3, pp. 239-249.

- DONDINI L., COSTA F., PIERANTONI L., GAIOTTI F., CHIODINI R., TARTARINI S., SANSAVINI S. (2004a): *The RGA family: promising gene analog related to fireblight and sharka resistance*, «Acta Horticulturae», 663, pp. 161-166.
- DONDINI L., COSTA F., TATARANNI G., TARTARINI S., SANSAVINI S. (2004b): *Cloning of apricot RGA (Resistance Gene Analogs) and development of molecular markers associated to sharka (PPV) resistance*, «Journal of Horticultural Science and Biotechnology», 79, pp. 729-734.
- DONDINI L., PIERANTONI L., GAIOTTI F., CHIODINI R., TARTARINI S., BAZZI C., SANSAVINI S. (2004c): *Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (Pyrus communis L.) genetic linkage map*, «Molecular Breeding», 14, pp. 407-418.
- DUREL C.E., CALENGE F., PARISI L., VAN DE WEG W.E., KODDE L.P., LIEBHARD R., GESSLER C., THIERMANN M., DUNEMANN F., GENNARI F., TARTARINI S., LESPINASSE Y. (2004): *An overview of the position and robustness of scab resistance QTLs and major genes by aligning genetic maps of five apple progenies*, «Acta Horticulturae», 663, pp. 135-140.
- ESPLEY R.V., HELLENS R.P., PUTTERILL J., STEVENSON D.E., KUTTY-AMMA S., ALLAN A.C., (2007): *Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor, MdMYB10*, «The Plant Journal», 49, pp. 414-427.
- GESSLER C., PATOCCHI A., SANSAVINI S., TARTARINI S., GIANFRANCESCHI L. (2006): *Venturia inaequalis resistance in apple*, «Critical Review in Plant Science», 25, pp. 473-503.
- GOLDWAY M., TAKASAKI T., SANZOL J., ZISOVICH A., MOTA M., STERN R.A., AND SANSAVINI, S. (2008): *Renumbering the S-RNase alleles of European pear (Pyrus communis L.) and cloning the S-109 RNase allele*, «Scientia Horticulturae», doi:10.1016/j.scienta.2008.08.027.
- HILL W.G., ROBERTSON W.G. (1968): *Linkage disequilibrium in finite populations*, «TAG. Theoretical and Applied Genetics», 38, pp. 226-231.
- HURTADO M.A., ROMERO C., VILANOVA S., ABBOTT A.G., LLACER G., BADENES M.L. (2002): *Genetic linkage map of two apricot cultivars (Prunus armeniaca L.) and mapping of PPV (sharka) resistance*, «Theoretical and Applied Genetics», 105, pp. 182-191.
- IKEDA K., IGIC B., USHIJIMA K., YAMANE H., HAUCK N.R., NAKANO R., SASSA H., IEZONI A.F., KOHN J.R., TAO R. (2004): *Primary structural features of the S haplotype specific F-box protein, SFB, in Prunus*, «Sexual Plant Reproduction», 16, pp. 235-243.
- ISHIMIZU T., INOUE K., SHIMONAKA M., SAITO T., TERA O., NORIOKA S. (1999): *PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars*, «Theoretical and Applied Genetics», 98, pp. 961-967.
- JACKSON S., ROUNSLEY S., PURUGGANAN M. (2006): *Comparative sequencing of plant genomes: choices to make*, «The Plant Cell», 18, pp. 1100-1104.
- JAILLON O., AURY J.M., NOEL B., POLICRITI A., CLEPET C., CASAGRANDE A., CHOISNE N., AUBOURG S., VITULO N., JUBIN C., VEZZI A., LEGER F., HUGUENEY P., DASILVA C., HORNER D., MICA E., JUBLOT D., POULAIN J., BRUYÈRE C., BILLAULT A., SEGURENS B., GOUYVENOUX M., UGARTE E., CATTONARO F., ANTHOUARD V., VICO V., DEL FABBRO C., ALAUX M., DI GASPERO G., DUMAS V., FELICE N., PAILLARD S., JUMAN I., MOROLDO M., SCALABRIN S., CANAGUIER A., LE CLAINCHE I., MALACRIDA G., DURAND E., PESOLE G., LAUCOU V., CHATELET P., MERDINOGLU D., DELLEDONNE M., PEZZOTTI M., LECHARNY A., SCARPELLI C., ARTIGUENAVE F., PÈ M.E., VALLE G., MORGANTE M., CABOCHE M., ADAM-BLONDON A.F., WEISSENBAACH J., QUÉTIER F., WINCKER P. (2007): *The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla*, «Nature», 449, pp. 463-467.

- JOUBEUR T., VIRUEL M.A., DE VICENTE M.C., JAUREGUI B., BALLESTER J., DETTORI M.T., VERDE I., TRUCO M.J., MESSEGUER R., BATTLE I., QUARTA R., DIRLEWANGER E., ARÚS P. (1998): *Construction of a saturated linkage map for Prunus using an almond x peach F2 progeny*, «Theoretical and Applied Genetics», 97, pp. 1034-1041.
- JOUBEUR T., PERIAM N., DE VICENTE M.C., KING G.J., ARUS P. (2000): *Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers*, «Genome», 43, pp. 649-655.
- KENIS K., KEULEMANS J. (2005): *Genetic linkage maps of two apple cultivars (Malus x domestica Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers*, «Molecular Breeding», 15, pp. 205-219.
- KHAN M.A., DUFFY B., GESSLER C., PATOCCHI A. (2006): *QTL mapping of fire blight resistance in apple*, «Molecular Breeding», 17, pp. 299-306.
- KHAN M.A., DUFFY B., DUREL C.-E., DENANCÉ C., KELLERHALS M., PATOCCHI A., GESSLER C. (2007): *Development of markers linked to the 'Fiesta' 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection*, «Genome», 50, pp. 568-577.
- KING G.J., MALIEPAARD C., LYNN J.R., ALSTON F.H., DUREL C.E., EVANS K.M., GRIFON B., LAURENS F., MANGANARIS A.G., SCHREVEN S., TARTARINI S., VERHAEGH J. (2000): *Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit flesh firmness in apple (Malus pumila Mill.)*, «Theoretical and Applied Genetics», 100, pp. 1074-1084.
- KOBAYASHI S., YAMAMOTO N.G., HIROCHIKA H. (2004): *Retrotransposon-Induced mutations in grape skin colour*, «Science», 304, pp. 5673-982.
- KOOPMAN W.M., LI Y., COART E., VAN DE WEG E., VOSMAN B., ROLDÁN-RUIZ I., SMULDERS M.J.M. (2007): *Linked vs. unlinked markers: multilocus microsatellite haplotype-sharing as a tool to estimate gene flow and introgression*, «Molecular Ecology», 16, pp. 243-256.
- LAMBERT P., HAGEN L.S., ARUS P., AUDERGON J.M. (2004): *Genetic linkage maps of two apricot cultivars (Prunus armeniaca L.) compared with the almond Texas x peach Earlygold reference map for Prunus*, «Theoretical and Applied Genetics», 108, pp. 1120-1130.
- LIJAVETZKY K., CABEZAS J.A., IBÁÑEZ A., RODRÍGUEZ V., MARTÍNEZ-ZAPATER J.M. (2007): *High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (Vitis vinifera L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology*, «Genomics», 8, pp. 424-435.
- LIANG P., PARDEE A.B. (1992): *Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction*, «Science», 257, pp. 967-971.
- LIEBHARD R., GIANFRANCESCO L., KOLLER B., RYDER C.D., TARCHINI R., VAN DE WEG E., GESSLER C. (2002): *Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (Malus x domestica Borkh.)*, «Molecular Breeding», 10, pp. 217-241.
- LIEBHARD R., KELLERHALS M., PFAMMATTER W., JERTMINI M., GESSLER C. (2003): *Mapping quantitative physiological traits in apple (Malus x domestica Borkh.)*, «Plant Molecular Biology», 52, pp. 511-526.
- MALIEPAARD C., ALSTON F.H., VAN ARKEL G., BROWN L.M., CHEVREAU E., DUNEMANN F., EVANS K.M., GARDINER S., GUILFORD P., VAN HEUSDEN A.W., JANSE J., LAURENS F., LYNN J.R., MANGANARIS A.G., DEN NIJS A.P.M., PERIAM N., RIKKERINK E., ROCHE P., RYDER C., SANSAVINI S., SCHMIDT H., TARTARINI S., VERHAEGH J.J., VRIELINK-VAN GINKEL M., KING G.J. (1998): *Aligning male and female linkage maps of apple using multi-allelic markers*, «Theoretical and Applied Genetics», 97, pp. 60-63.

- MARZBAN G., PUEHRINGER H., DEY R., BRYNDA S., MA Y., MARTINELLI A., ZACCARINI M., VAN DER WEG E., HOUSLEY Z., KOLARICH D., ALTMANN F., LAIMER M. (2005): *Localization and distribution of the major allergens in apple fruits*, «Plant Science», 169, pp. 387-394.
- MILLS E.N.C., MADSEN C., SHEWRY P.R., WICHERS H.J. (2003): *Food allergens of plant origin - their molecular and evolutionary relationships*, «Trends in Food Science & Technology», 14, pp. 145-156.
- MORGANTE M., SALAMINI F. (2003): *From plant genomics to breeding practice*, «Current Opinions in Biotechnology», 14, pp. 214-219.
- NORELLI J.L., FARRELL R.E., BASSETT C.L., BALDO A.M., LALLI D., ALDWINCKLE H.S., WISNIEWSKI M.E. (2008): *Rapid transcriptional response of apple to fire blight disease revealed by cDNA suppression subtractive hybridization analysis*, «Tree Genetics & Genomes», doi: 0.1007/s11295-008-0164-y.
- PARIS R. (2006): *Geni di melo differenzialmente espressi dopo infezione di Venturia inaequalis*, in «Tesi di Dottorato in Biotecnologie Cellulari e Molecolari», Università di Bologna 01/06/2006.
- PARIS R., COVA V., PAGLIARANI G., TARTARINI S., KOMJANC M., SANSAVINI S. (2008): *Expression profiling in HcrVf2-transformed apple plants in response to Venturia inaequalis*, «Tree Genetics & Genomes», doi 10.1007/s11295-008-0177-6.
- PÉ M.E. (2008): *Lo studio del genoma sta cambiando la frutticoltura*, «Informatore Agrario», 10, pp. 66-68.
- PIERANTONI L., CHO K-H., SHIN I-S., CHIODINI R., TARTARINI S., DONDINI L., KANG S-J., SANSAVINI S. (2004): *Characterisation and transferability of apple SSRs to two European pear F1 populations*, «Theoretical and Applied Genetics», 109, pp. 1519-1524.
- PIERANTONI L., DONDINI L., CHO K-H., SHIN I-S., GENNARI F., CHIODINI R., TARTARINI S., KANG S-J., SANSAVINI S. (2007): *Pear scab resistance QTLs via a European pear (Pyrus communis) linkage map*, «Tree Genetics & Genomes», 4, pp. 311-317.
- QUILLOT B., WU B.H., KERVELLA J., GENARD M., FOULONGNE M., MOREAU K. (2004): *QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between Prunus persica cultivars and the wild relative species P. davidiana*, «Theoretical and Applied Genetics», 109, pp. 884-897.
- RESKY R. (1998): *Physcomitrella and Arabidopsis: the David and Goliath of reverse genetics*, «Trends in Plant Science», 3, pp. 209-210.
- ROMERO C., VILANOVA S., BURGOS L., MARTINEZ-CALVO J., VICENTE M., LLACER G., BADENES M.L. (2004): *Analysis of the S-locus structure in Prunus armeniaca L. Identification of S-haplotype specific S-RNase and F-box genes*, «Plant Molecular Biology», 56, pp. 145-157.
- SALIENTIJN E.M.J., AHARONI A., SCHAART J.G., BOONE M.J., KRENS F.A. (2003): *Differential gene expression analysis of strawberry cultivars that differ in fruit-firmness*, «Physiologia Plantarum», 118, pp. 571-578.
- SANSAVINI S., BARBIERI M., BELFANTI E., TARTARINI S., VINATZER B., GESSLER C., SILFVERBERG E., GIANFRANCESCHI L., HERMANN D., PATOCCHI A. (2004): *Trasformazione genetica del melo Gala con un gene di resistenza a ticchiolatura*, «Riv. di Frutticoltura», 1, pp. 54-58.
- SANSAVINI S., BELFANTI E., COSTA F., DONATI F. (2005): *European apple breeding programs turn to biotechnology*, «Chronica Horticulturae», ISHS, Leuven, 2, pp. 16-19.
- SANSAVINI S., GAMBERINI A., BASSI D. (2006): *Peach breeding, genetics and new culti-*

- var trends*, ISHS VI Peach Symp., Santiago (Chile), «Acta Horticulturae», 713, pp. 23-48.
- SANSAVINI S., BASSI D., TESTOLIN R. (2007): *Miglioramento genetico e ricerca biotecnologica per il rinnovamento varietale*, in *Nuove frontiere dell'arboricoltura italiana*, a cura di S. Sansavini, Alberto Perdisa Editore, Bologna, pp. 303-338.
- SANSAVINI S. (2008): *Miglioramento genetico*, in *Il melo*, Bayer Cropscience s.r.l., Milano, pp. 340-377.
- SARGENT D.J., MARCHESE A., SIMPSON D.W., HOWAD W., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ F., MONFORT A., ARÚS P., EVANS K.M., TOBUTT K.R. (2008): *Development of "universal" gene-specific markers from Malus spp. cDNA sequences, their mapping and use in synteny studies within Rosaceae*, «Tree Genetics & Genomes», doi 10.1007/s11295-008-0178-5.
- SASSA H., KAKUI H., MIYAMOTO M., SUZUKI Y., HANADA T., USHIJIMA K., KUSABA M., HIRANO H., Koba T. (2007): *S Locus F-Box Brothers: multiple and pollen-specific F-Box genes with S haplotype-specific polymorphisms in apple and japanese pear*, «Genetics», 175, pp. 1869-1881.
- SCHAFER R.J., FRIEL E.N., SOULEYRE E.J.F., BOLITHO K., THODEY K., LEDGER S., BOWEN J.H., MA J.-A., NAIN B., COHEN D., GLEAVE A.P., CROWHURST R.N., JANSSEN B.J., YAO J.-L., NEWCOMB R.D. (2007): *A Genomics approach reveals that aroma production in apple is controlled by ethylene predominantly at the final step in each biosynthetic pathway*, «Plant Physiology», 144, pp. 1899-1912.
- SCHEINA M., SHALON D., DAVIS R.W., BROWN P.O. (1995): *Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray*, «Science», 270, pp. 467-470.
- TAKOS A.M., UBI B.E., ROBINSON S.P., WALKER A.R. (2006): *Condensed tannin biosynthesis genes are regulated separately from other flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin*, «Plant Science», 170, pp. 487-499.
- TARTARINI S. (1996): *RAPD markers linked to the Vf gene for scab resistance in apple*, «Theoretical and Applied Genetics», 92, pp. 803-810.
- TARTARINI S., GIANFRANCESCO L., SANSAVINI S., GESSLER C. (1999): *Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple*, «Plant Breeding», 118, pp. 183-186.
- TARTARINI S., SANSAVINI S. (2003): *The use of molecular markers in pome fruit breeding*, «Acta Horticulturae», 622, pp. 129-140.
- TERRIER N., GLISSANT D., GRIMPLET J., BARRIEU F., ABBAL P., COUTURE C., AGEORGES A., ATANASSOVA R., LÉON C., RENAUDIN J.P., DÉDALDÉCHAMP F., ROMIEU C., DELROT S., HAMDI S. (2005): *Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (Vitis vinifera L.) development*, «Planta», 222, pp. 832-847.
- TRAINOTTI L., BONGHI C., ZILLOTTO F., ZANINA D., RASORI A., CASADORO G., RAMINA A. AND TONUTTI P. (2006): *The use of microarray μ PEACH1.0 to investigate transcriptome changes during transition from pre-climacteric to climacteric phase in peach fruit*, «Plant Science», 170, pp. 606-613.
- TRAINOTTI L., TADIELLO A., CASADORO G. (2007): *The involvement of auxin in the ripening of climacteric fruits comes of age: the hormone plays a role of its own and has an intense interplay with ethylene in ripening peaches*, «Journal of Experimental Botany», 58, pp. 3299-3308.
- USHIJIMA K., SASSA H., DANDEKAR A.M., GRADZIEL T.M., TAO R., HIRANO H. (2003): *Structural and transcriptional analysis of the Self-Incompatibility Locus of almond: identi-*

- fication of a pollen-expressed F-Box gene with haplotype-specific polymorphism*, «The Plant Cell», 15, pp. 771-781.
- VAN DE WEG W.E., VOORRIJS R.E., FINKERS R., KODDE L.P., JANSEN J., BINK M.C.A.M. (2004): *Pedigree genotyping: a new pedigree-based approach of QTL identification and allele mining*, «Acta Horticulturae», 663, pp. 45-50.
- VELASCO R., ZHARKIKH A., TROGGIO M., CARTWRIGHT D.A., CESTARO A., PRUSS D., PINDO M., FITZGERALD F.M., VEZZULLI S., REID J., MALACARNE G., ILIEV D., COPPOLA G., WARDELL B., MICHELETTI D., MACALMA T., FACCI M., MITCHELL J.T., PERAZZOLLI M., ELDEREDGE G., GATTO P., OYZERSKI R., MORETTO M., GUTIN N., STEFANINI M., CHEN Y., SEGALA C., DAVENPORT C., DEMATTÈ L., MRÁZ A., BATTILANA Y., STORMO K., COSTA F., TAO Q., SI-AMMOUR A., HARKINS T., LACKEY A., PERBOST C., TAILLON B., STELLA A., SOLOVYEV V., FAWCETT J.A., STERCK L., VANDEPOELE K., GRANDO S.M., TOPPO S., MOSER C., LANCHBURY J., BOGDEN R., SKOLNICK M., SGARAMELLA V., BHATNAGAR S.K., FONTANA P., GUTIN A., VAN DE PEER Y., SALAMINI F., VIOLA R. (2007): *A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety*, «PLOS ONE», 2, e1326, doi:10.1371/journal.pone.0001326.
- VELASCO R. (2008): *Sequenziato il genoma della vite Pinot Nero*, «Riv. di Frutticoltura», 12, in stampa.
- VENTURI S., BIANCHI V., SANSAVINI S. (2002): *Aggiornamento delle tecniche di fingerprinting: AFLP ed altri marcatori ad alta potenzialità polimorfica*, «Italus Hortus», 9, pp. 93-94.
- VENTURI S., DE FRANCESCHI P., DONDINI L., SANSAVINI S.: *Retrotransposon based markers to discriminate sports in pear*, in International Symposium Eucarpia, Zaragoza 16-20 settembre 2007, «Acta Horticulturae», in press.
- VENTURI S., DONDINI L., DONINI P., SANSAVINI S. (2006): *Retrotransposon characterization and fingerprinting of apple clones by S-SAP markers*, «Theoretical and Applied Genetics», 112, pp. 440-444.
- VERDE I., LAURIA M., DETTORI M.T., VENDRAMIN E., BALCONI C., MICALI S., WANG Y., MARRAZZO M.T., CIPRIANI G., HARTINGS H., TESTOLIN R., ABBOTT A.G., MOTO M., QUARTA R. (2005): *Microsatellite and AFLP markers in the Prunus persica [L. (Batsch)] x P. ferganensis BC₁ linkage map: saturation and coverage improvement*, «Theoretical and Applied Genetics», 111, pp. 1013-1021.
- VINATZER B.A., PATOCCHI A., GIANFRANCESCHI L., TARTARINI S., ZHANG H.B., GESSLER C., SANSAVINI S. (2001): *Apple contains receptor-like genes homologous to the Cladosporium fulvum resistance gene family of tomato with a cluster of genes cosegregating with Vf apple scab resistance*, «Molecular Plant-Microbe Interactions», 14, pp. 508-515.
- VINATZER B.A., PATOCCHI A., TARTARINI S., GIANFRANCESCHI L., SANSAVINI S. AND GESSLER C. (2004): *Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the Vf scab resistance region and molecular characterization of scab-resistant accessions in Malus germplasm*, «Plant Breeding», 123, pp. 321-326.
- VILANOVA S., ROMERO C., ABBOTT A.G., LLACER G., BADENES M.L. (2003): *An apricot (Prunus armeniaca L.) F2 progeny linkage map based on SSR and AFLP markers mapping plum pox virus resistance and self-incompatibility traits*, «Theoretical and Applied Genetics», 107, pp. 239-247.
- YAMAMOTO T., KIMURA T., SAWAMURA Y., KOTOBUKI K., BAN Y., HAYASHI T., MATSUTA N. (2001): *SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear*, «Theoretical and Applied Genetics», 102, pp. 865-870.
- YAMAMOTO T., KIMURA T., SHODA M., IMAI T., SAITO T., SAWAMURA Y., KOTOBUKI K.,

- HAYASHI T., MATSUTA N. (2002): *Genetic linkage maps constructed by using an inter-specific cross between Japanese and European pears*, «Theoretical and Applied Genetics», 106, pp. 1-18.
- YOSHIDA K.T., NAITO S., TAKEDA G. (1994): *cDNA cloning of regeneration-specific genes in rice by differential screening of randomly amplified cDNAs using RAPD primers*, «Plant Cell Physiology», 35, pp. 1003-1009.
- WANG D., KARLE R., BRETTIN T.S., IEZZONI A.F. (1998): *Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers*, «Theoretical and Applied Genetics», 97, pp. 1217-1224.
- WANG D., KARLE R., IEZZONI A.F. (2000): *QTL analysis of flower and fruit traits in sour cherry*, «Theoretical and Applied Genetics», 100, pp. 535-544.
- ZUCCHERELLI S., TASSINARI P., BROOthaerts W., TARTARINI S., DONDINI L., SANSAVINI S. (2002): *S-allele characterization in self-incompatible pear* (*Pyrus communis* L.), «Sexual Plant Reproduction», 15, pp. 153-158.

DAVIDE GUERRA*, ALESSANDRO TONDELLI*, CHIARA BISELLI*,
ANTONIO MICHELE STANCA**

Analisi del genoma delle piante coltivate per l'adattamento all'ambiente colturale

INTRODUZIONE

Il cambiamento del clima e le sue conseguenze stanno emergendo come una delle principali sfide con cui il genere umano dovrà confrontarsi nel prossimo futuro, un argomento ormai al centro del dibattito internazionale, sia in sede politica che scientifica. Variazioni anomale delle temperature e delle precipitazioni e la sempre maggiore frequenza e intensità di siccità da una parte e di inondazioni dall'altra, avranno implicazioni di lungo periodo sulla capacità produttiva, se non sull'esistenza stessa, degli agro-ecosistemi del pianeta (www.fao.org/climatechange). L'agricoltura è infatti il settore che più risente di questi cambiamenti, e sarà sempre più vulnerabile in futuro, specialmente in settori marginali di agricoltura di sussistenza, delle regioni semiaride e subumide. Pertanto, l'incremento delle produzioni agricole insieme alla stabilità di produzione e la qualità dei prodotti rappresentano l'obiettivo cruciale per l'economia e la sicurezza alimentare di tutti i paesi.

Nel complesso le riduzioni quali-quantitative delle produzioni causate da avverse condizioni dell'ambiente colturale sono ingenti, tanto che si stima che soltanto il 10% della superficie coltivata nel mondo può essere classificata nella categoria "non stress" (crescita in condizioni ambientali ottimali), mentre il restante 90% può essere soggetta a stress singoli o combinazione di stress, con diversa intensità, che limitano l'estrinsecazione del potenziale genetico della pianta (Cattivelli et al., 2008). Levitt (1980) ha distinto gli stress biotici (determinati da organismi viventi in grado di infettare o competere con la

* C.R.A.- Centro di ricerca per la genomica e la postgenomica animale e vegetale, Fiorenzuola d'Arda (PC)
• Università di Modena e Reggio Emilia

pianta) da quelli abiotici (dovuti a fattori chimici e fisici). Fra questi ultimi si collocano gli stress da alta o bassa temperatura, da carenza o eccesso di acqua, da radiazioni (infrarosse, IR; visibili, VIS; ultraviolette, UV; ionizzanti), da sali (principalmente sodio), da carenze o eccesso di nutrienti, da inquinanti organici e fitofarmaci, da metalli pesanti, da vento e da luce (alta o bassa intensità, fotoperiodo non corretto). I danni arrecati dall'agente stressante alla pianta possono essere diretti o indiretti, primari o secondari. Ad esempio, un danno diretto primario è quello subito da una pianta sottoposta a un rapido congelamento che provoca in pochissimo tempo la formazione di cristalli di ghiaccio nelle cellule e la loro morte. Allo stesso modo le elevate temperature portano per sé danno alla pianta (stress primario) ma, potendo causare collateramente carenza idrica, possono indurre ulteriori danni (stress secondario).

LA RISPOSTA DELLE PIANTE AGLI STRESS ABIOTICI

Come può una pianta adattarsi a condizioni ambientali avverse? A livello di "crop" l'adattamento è stato interpretato come la capacità di raggiungere elevati livelli di produzione anche in situazioni sfavorevoli. Selezionando per elevate produzioni, i breeders hanno indirettamente incrementato anche il rendimento in condizioni limitanti, per cui le varietà moderne, dotate di elevata potenzialità produttiva, spesso si comportano meglio rispetto a varietà antiche o accessioni locali direttamente selezionate in tali ambienti (Rizza et al., 2004).

A livello fisiologico, la resistenza di una pianta allo stress viene invece intesa come la sua capacità di sopravvivere, crescere e generare progenie in presenza del fattore sfavorevole (Levitt, 1980). Essa può essere ottenuta mediante tre differenti strategie così definite:

- *stress escape* (evitare l'avversità). In realtà si è di fronte a una forma di falsa resistenza: la pianta ha un ciclo di sviluppo che la porta a non intercettare l'avversità o a intercettarla in fasi fenologiche non a rischio. È questo il caso delle varietà precoci di frumento duro e di orzo che sfuggono la stretta da caldo nell'Italia meridionale;
- *stress avoidance* (evitare lo stress). Caratteristico di quelle piante che possiedono barriere stabili morfologiche e/o funzionali che consentono di prevenire o ridurre lo stress prodotto dall'avversità. Ad esempio, in caso di stress anossico, alcuni meccanismi consentono il trasferimento dell'ossigeno dalle parti ben aerate della pianta verso quelle che ne hanno a disposizione in quantità sub-ottimale;

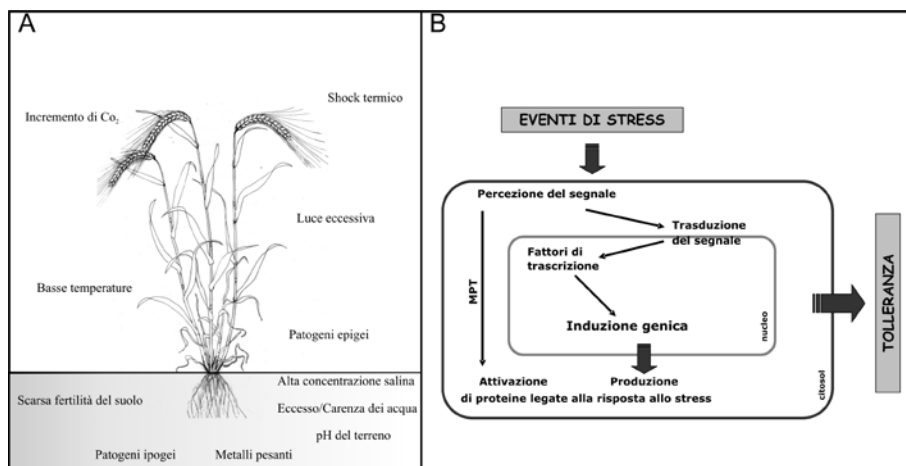


Fig. 1 A) Nell'ambiente culturale le piante sono spesso soggette a vari eventi stressanti di natura differente e con siti di azione specifici, pertanto alcuni stress agiranno sulla parte epigea (emersa) della pianta, altri su quella ipogea (apparato radicale); B) Al verificarsi di un evento di stress, la pianta attiva a livello cellulare una serie di meccanismi per far fronte a tale avversità (MPT= modificazioni post-traduzionali)

- *stress tolerance* (tollerare lo stress). Le piante sono in grado di attivare meccanismi fisiologici/molecolari in grado di alleviare gli effetti dovuti allo stress e/o riparare i danni subiti. Dato l'elevato numero di caratteri fisiologici implicati nella tolleranza, è probabile che non esista un unico pattern di risposta ma, al contrario, specie diverse possono raggiungere simili livelli di tolleranza utilizzando differenti meccanismi.

A livello cellulare, infatti, le piante hanno un complesso sistema di percezione e risposta agli stress che può essere schematizzato in quattro fasi distinte (fig. 1):

- *percezione del segnale*. Il fatto che le piante attivino una serie di processi molecolari in risposta alle variazioni ambientali implica necessariamente l'esistenza di recettori, situati sulla membrana plasmatica delle cellule, che agiscono da sensori rilevando tali cambiamenti. Alcuni studi suggeriscono ad esempio un ruolo centrale della fluidità delle membrane nella percezione di alte e basse temperature;
- *attivazione di messaggeri secondari per la trasduzione del segnale*. Ormoni come l'acido abscissico (ABA), ioni come Ca^{2+} , proteine MAPK (Mitogen-activated protein Kinase) e altre molecole partecipano a una serie di eventi che, come una vera e propria cascata, trasportano il segnale di stress fino al nucleo, dove viene attivata la trascrizione di geni di risposta;

- *attivazione di proteine regolatrici della trascrizione.* I fattori trascrizionali, piccole proteine in grado di legare il DNA in regioni specifiche dei promotori e di regolare la trascrizione di molti geni, rappresentano l'ultimo anello della catena di trasduzione del segnale: essi inducono l'espressione dei geni effettori della risposta allo stress. A questo livello la regolazione si fa più fine, cosicché per ogni condizione ambientale affrontata sarà possibile avere una risposta specifica e adeguata. L'analisi funzionale di questi fattori di trascrizione dovrebbe chiarire la complessa rete di regolazione dell'espressione di molti geni, responsabile dell'adattamento delle piante all'ambiente;
- *espressione di proteine legate alla risposta.* Differenti tipologie di proteine possono essere sintetizzate, a seconda del tipo di stress cui la pianta è sottoposta. In risposta a condizioni di siccità, basse temperature o alte concentrazioni saline, fenomeni riconducibili alla disidratazione cellulare, si ha ad esempio l'espressione di geni che consentono l'accumulo di osmoliti quali prolina, poliammine, glicina betaina, zuccheri e di ioni come il potassio o il sodio, tutti utili per contrastare la perdita di acqua.

Lo studio della tolleranza agli stress abiotici e biotici e la conoscenza dei processi fisiologici e molecolari responsabili della risposta della pianta a tali stress, rappresenta una premessa fondamentale per lo sviluppo di nuovi genotipi altamente produttivi anche in condizioni limitanti.

ANALISI GENETICA DELLA TOLLERANZA AGLI STRESS ABIOTICI

Lo strumento più antico per analizzare il genoma è senz'altro quello della mappatura classica per associazione, elaborato all'inizio del secolo scorso da T.H. Morgan, nei suoi lavori classici su *Drosophila melanogaster*. A partire dagli anni '80, lo sviluppo di diverse classi di marcatori molecolari del DNA ha consentito lo studio della struttura genetica di popolazioni e della loro variabilità, nonché la creazione di mappe genetiche altamente saturate e la mappatura di importanti caratteri agronomici (Pecchioni et al., 1993; Donini et al., 2001). La maggior parte di questi caratteri, come la produzione, la qualità, ma anche la resistenza a stress di tipo abiotico e biotico, presentano una variazione di tipo quantitativo, derivante dall'azione combinata di più geni e dall'interazione con fattori ambientali. Attraverso l'analisi molecolare è possibile oggi scomporre questi geni complessi in singoli fattori semplici responsabili di una quota più o meno grande della variabilità presente nella popolazione per il carattere og-

getto di studio (QTL: Quantitative Trait Locus). Disponendo di popolazioni segreganti per il fenotipo in studio e di mappe di linkage sviluppate a partire dalle stesse popolazioni è possibile identificare, mediante un'analisi QTL, i geni parzialmente coinvolti nella determinazione del carattere stesso. In questo modo è stato possibile ad esempio evidenziare il ruolo determinante del cromosoma omeologo 5H delle *Triticeae* nel controllo dell'adattamento all'ambiente e della risposta a stress abiotici quali freddo, siccità e alte concentrazioni saline (Cattivelli et al., 2002). In orzo due QTL con effetto additivo, associati con la capacità di sopravvivenza della pianta alle basse temperature, sono stati mappati sul cromosoma 5H nell'incrocio delle varietà 'Nure' x 'Tremois' (Francia et al., 2004). Il primo locus (denominato *Fr-H2*) si sovrappone a un altro QTL per l'accumulo della proteina regolata da freddo COR14b (COLD REGULATED 14b), mentre il secondo locus (*Fr-H1*) sembra coincidere con il locus per la richiesta di vernalizzazione *Vrn-H1*.

Una delle sfide del futuro nel campo dell'analisi genetica dell'adattamento delle piante all'ambiente è comprendere le relazioni esistenti tra questi QTL e l'espressione di geni di risposta agli stress. Il clonaggio basato sulla posizione di mappa (o clonaggio posizionale) è ormai diventata una tecnica di routine nell'identificazione di geni responsabili di QTL, grazie al fatto che il loro effetto sul fenotipo può essere seguito in popolazioni segreganti per varianti alleliche alternative al gene stesso. Il maggior limite nell'applicazione di questo approccio in diverse specie di interesse agronomico (cereali *in primis*) consiste nella disponibilità e nella creazione di idonei strumenti di indagine (ad esempio mappe molecolari densamente saturate, librerie contenenti larghi inserti di DNA genomico), nonché nella natura fisica stessa del gene target (quantità di DNA ripetuto nell'intorno genomico, frequenza di ricombinazione nella regione genomica di interesse). Ciononostante, geni chiave per l'adattamento di orzo e frumento all'ambiente colturale sono stati isolati e caratterizzati seguendo questo approccio: tra questi ricordiamo i loci che controllano la risposta alla vernalizzazione e al fotoperiodo (*vrn* e *ppd* genes; Cockram et al., 2007) e il gene *mlo*, responsabile della resistenza dell'orzo a *Blumeria graminis* (Piffanelli et al., 2004).

La notevole quantità di dati di sequenza accumulati negli ultimi anni, unitamente agli studi di genomica funzionale su molte specie di piante di interesse agrario, permettono oggi di generare marcatori derivati da polimorfismi di singolo nucleotide (SNP: Single Nucleotide Polimorfism) entro geni candidati, ossia geni noti per avere ruoli di primo piano nei caratteri oggetto di studio. Questi polimorfismi potrebbero perciò essere direttamente coin-

volti nella variazione osservata a livello fenotipico. Nell'approccio per geni candidati solitamente si distinguono geni candidati "posizionali" e "funzionali". Un gene candidato viene considerato "posizionale" quando si trova in una regione del genoma che comprende un QTL di interesse. La disponibilità di mappe molecolari di linkage basate su marcatori sviluppati su sequenze geniche è un prerequisito fondamentale per l'identificazione di tali candidati posizionali. Solamente quando si osserva cosegregazione fra un QTL e un gene candidato, si può infatti ipotizzare una relazione causale tra alleli differenti del gene candidato e l'effetto del QTL stesso.

Un cluster di geni codificanti per fattori di trascrizione CBF, proteine coinvolte nelle fasi precoci della risposta alle basse temperature in diverse specie vegetali, coincide ad esempio con il già citato locus *Fr-H2* di resistenza al freddo identificato sulla mappa molecolare 'Nure' x 'Tremois' (Tondelli et al., 2006; Francia et al., 2007). In seguito alla loro attivazione, questi fattori di trascrizione si legano a elementi di riconoscimento presenti sulle regioni promotrici di geni direttamente coinvolti nella tolleranza al congelamento (ad esempio *cor14b*), la cui espressione viene così indotta.

Altre evidenze sperimentali suggeriscono un ruolo predominante di differenti classi di fattori di trascrizione nella risposta delle piante agli stress abiotici. Chiaramente il vantaggio consiste nel fatto che queste proteine controllano solitamente molti geni strutturali e a volte prendono parte nella risposta a più stress simultaneamente (Tondelli et al., 2006). Applicare un programma di selezione assistita da marcatori molecolari allo scopo di piramidizzare il maggior numero possibile di tali fattori trascrizionali in un unico genotipo sarà la strategia vincente, in futuro, per ottenere varietà agronomicamente superiori.

Per geni candidati "funzionali" si intendono invece geni caratterizzati all'interno dei pathway biochimici e fisiologici che condizionano il carattere oggetto di studio. Le sequenze nucleotidiche di questi geni possono essere confrontate all'interno di un germoplasma costituito da linee genealogicamente non correlate, allo scopo di cercare associazioni statistiche tra polimorfismi nel gene candidato stesso e variazioni fenotipiche. Questa strategia di mappaggio di QTL per associazione (Association Mapping) utilizza collezioni di germoplasma sviluppatesi attraverso centinaia di generazioni di ricombinazione e selezione, ed è per questo più potente rispetto al classico mappaggio per linkage, che sfrutta popolazioni sperimentali create ad hoc. Ad esempio, 192 accessioni di orzo di diversa provenienza hanno permesso di identificare QTL per l'adattamento della coltura ad ambienti di tipo Mediterraneo (Co-

madran et al., 2007). In un analogo progetto finanziato dal consorzio ERA-NET Plant Genomics, denominato EXBARDIV (EXploitation of BARley DIVersity), verrà invece sviluppata per la prima volta una strategia di association mapping progressivo utilizzando marcatori SNP, al fine di scoprire nuovi alleli di geni utili nell'orzo ancestrale (*Hordeum vulgare ssp. spontaneum*) da sfruttare per il miglioramento genetico della specie coltivata. All'interno del progetto grande importanza è stata data a caratteri di resistenza a stress abiotici e biotici, da associare a polimorfismi identificati in circa 3000 geni espressi.

L'approccio per geni candidati rappresenta quindi un'utile alternativa ai metodi classici per clonare geni coinvolti nella risposta delle piante agli stress abiotici, soprattutto per specie con genomi di grandi dimensioni (de Vienne et al., 1999). Comunque, la cosegregazione su una mappa genetica o la correlazione statistica non dimostrano definitivamente una relazione causale tra il polimorfismo nel gene candidato e la variazione del carattere. Occorre pertanto effettuare ulteriori esperimenti per dimostrare il reale coinvolgimento del gene candidato, sfruttando la trasformazione genetica (complementazione di un fenotipo deficiente per il carattere di interesse) o l'analisi di mutanti (si veda il paragrafo successivo).

ANALISI FUNZIONALE DELLA TOLLERANZA AGLI STRESS – L'APPROCCIO "OMICO"

A partire dagli anni '80 si è avuto un crescente sviluppo di tecnologie e strumenti per lo studio dei meccanismi genetici e molecolari che stanno alla base della vita. La comparsa dei sequenziatori automatici ha permesso di avere accesso alla sequenza completa dei genomi di diverse specie viventi (tra cui *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa*, *Vitis vinifera* e prossimamente *Triticum aestivum* e *durum*), aprendo la strada alla comprensione globale della struttura e della funzione degli organismi, in quella che da molti viene definita l'era della post-genomica.

Il principale intento della biologia molecolare vegetale è ora quello di assegnare una funzione al crescente numero di geni predetti. In *Arabidopsis*, specie modello per la ricerca in ambito vegetale, circa il 55% dei geni può essere assegnato a una putativa funzione sulla base di similarità di sequenza, tuttavia a meno dell'8% di questi può essere attribuita una funzione per mezzo di evidenze sperimentali. Studi di tipo genetico, basati sullo sviluppo di mutanti in cui il gene oggetto di studio è deletato, o di tipo molecolare, finalizzati all'analisi dell'espressione del gene o alla localizzazione subcellulare

della proteina corrispondente, saranno fondamentali per comprendere come i pathway genetici e metabolici si siano evoluti per creare la biodiversità che ha permesso alle piante di riprodursi e colonizzare i diversi habitat, anche quelli più impervi. Tutti questi studi sono oggi facilitati dalla comparsa e integrazione delle scienze “omiche” (trascrittomica, proteomica e metabolomica), che permettono un’analisi comparata estesa a tutto il genoma, con lo scopo ultimo di acquisire quante più informazioni possibili e creare un network completo relativo alle innumerevoli funzioni cellulari.

Un contributo fondamentale allo studio dei genomi e all’identificazione della funzione genica è stato dato dall’analisi dell’attività trascrizionale dei geni espressi in determinate condizioni ambientali, stadi di crescita o altri fattori. Tradizionalmente questi studi prevedevano l’estrazione degli mRNA dai tessuti o organi di interesse, la loro immobilizzazione su membrane di nylon e la successiva ibridazione con sonde radioattive corrispondenti ai geni che si intendevano studiare (Northern blot). In questo modo sono stati caratterizzati, ad esempio, geni di riposta alle basse temperature nei cereali quali il già menzionato *cor14b* e il fattore di trascrizione *Hv-wrky38* (Crosatti et al., 1995; Marè et al., 2004). Questo approccio presenta tuttavia il limite di poter studiare uno o pochi geni per volta.

Negli ultimi anni sono state sviluppate tecnologie che permettono l’analisi dell’attività genica a livello dell’intero genoma, ottenendo una misura quantitativa di ogni singolo gene per ogni tessuto, fase di crescita o trattamento. La tecnologia maggiormente sfruttata, quella del DNA microarray per lo studio dell’espressione genica, è basata sul legame fra sequenze nucleotidiche di RNA opportunamente marcate, derivanti dalla pianta oggetto di studio, e molecole di DNA immobilizzate su posizioni note di un supporto solido. In seguito all’ibridazione DNA/RNA, la concentrazione relativa delle sequenze di interesse può essere calcolata sulla base dell’intensità del segnale. In questo modo è possibile stabilire il livello di espressione di migliaia di geni contemporaneamente, ottenendo una visione generale del trascrittoma dell’organismo in qualsiasi condizione o trattamento, al fine di identificare geni indotti o repressi rispetto a un controllo non trattato. I DNA microarray sono stati ad esempio sfruttati per lo studio dell’espressione genica di piante di riso e orzo esposte a diversi stress abiotici quali basse temperature, siccità, elevata salinità del terreno e applicazione di acido abscissico (ABA) esogeno (Matsui et al., 2008). In un analogo lavoro sono stati confrontati i profili trascrizionali di piante di frumento tenero e duro cresciute in differenti condizioni di stress idrico (Aprile et al., comunicazione personale). Il lavoro ha evidenziato che l’attivazione di risposte molecolari specifiche dipende sia da meccanismi con-

servati fra le due specie, ma altresì da porzioni cromosomiche presenti nella specie esaploide ma assenti nel frumento duro (tetraploide).

L'analisi del profilo di espressione di un gene può fornire una prima indicazione del suo ruolo all'interno della cellula; tale funzione viene solitamente confermata mediante lo studio di mutanti naturali o generati mediante opportune tecniche. L'analisi di mutanti può essere effettuata seguendo principalmente due vie, denominate "forward" e "reverse genetics". La prima prevede la creazione di popolazioni di mutanti mediante agenti mutageni chimici (come l'etilmetanosulfonato, EMS) o fisici (raggi-x) e la successiva selezione sulla base di un fenotipo di interesse, per poi risalire al gene mutato responsabile di quel fenotipo. Studiando mutanti ABA-deficient (*aba*) o ABA-insensitive (*abi*) di *Arabidopsis* è stato dimostrato che l'attivazione di alcuni geni indotti da stress (ad esempio *rd29A*) non necessita dell'accumulo di ABA endogeno quando la pianta è esposta a condizioni di freddo o di carenza idrica (Shinozaki e Yamaguchi-Shinozaki, 1996). Lo svantaggio di un simile approccio sta nel fatto che per identificare il gene mutato è necessario procedere al clonaggio posizionale, tecnica che implica notevole dispendio di tempo e che quindi non è adatta per le analisi di genomica funzionale su larga scala.

In alternativa si può procedere con un approccio di "reverse genetics", che consiste nella selezione di genotipi mutanti per una data sequenza genica, al fine di identificare un fenotipo mutato. Essa si basa sulla possibilità di produrre mutazioni knock-out, detta anche perdita di funzione, tramite inserzione casuale di DNA esogeno (T-DNA tagging) o di elementi trasponibili all'interno di una pianta ospite per inattivare sequenze geniche. In questo modo sono state recentemente prodotte 225.000 linee di *Arabidopsis* T-DNA tagged, con una copertura pressoché totale del genoma; identici risultati sono stati ottenuti in riso.

Combinando differenti strategie di studio dei genomi è infine possibile ottenere informazioni molto più dettagliate. In un recente lavoro, Svensson et al. (2006) hanno ad esempio applicato l'analisi microarray allo studio di mutanti sottoposti a condizioni di stress da freddo. Confrontando il trascrittoma dei mutanti di orzo 'Albina' e 'Xantha', difettivi per lo sviluppo del cloroplasto, con quello di piante non mutate, sono state identificate due classi di geni indotti o repressi in risposta alle basse temperature. La prima è indipendente dal cloroplasto e annovera i sopracitati geni *CBF* e i loro target; l'altra è invece cloroplasto dipendente e suggerisce un ruolo fondamentale dell'organello nel controllo della risposta molecolare alle basse temperature.

Parallelamente all'analisi genomica, è in corso in molti laboratori lo

studio dettagliato del proteoma, ossia dell'intero corredo proteico presente in una cellula o in una sua frazione, nelle diverse fasi del ciclo vitale della pianta, o in seguito a diversi trattamenti cui la pianta viene sottoposta. Le proteine sono strutture dinamiche che si assemblano, si accumulano in compartimenti cellulari e traducono l'informazione biologica svolgendo la loro specifica attività. Tuttavia, è soprattutto come componenti di complessi macromolecolari che svolgono le loro funzioni cellulari. All'interno di una cellula infatti, spesso le proteine interagiscono tra loro assemblandosi in macromolecole complesse e dinamiche che svolgono funzioni critiche per la sopravvivenza della cellula, come la regolazione dei pathways metabolici, il controllo della replicazione del DNA, la trascrizione del DNA, la degradazione di enzimi e altre funzioni minori, ma altrettanto importanti.

Ne consegue che il proteoma risulta essere molto dinamico, in quanto la traduzione dei geni in proteine è regolata a seconda del tipo cellulare, della fase di sviluppo dell'organismo, delle interazioni abiotiche e biotiche con l'ambiente esterno. La concentrazione di una proteina non è ad esempio correlata in maniera semplice al livello di trascrizione del corrispondente gene, ma può essere regolata da eventi di splicing alternativo a carico dell'RNA, da modificazioni post-traduzionali quali fosforilazioni, glicosilazioni, processamento proteolitico, e da meccanismi che determinano la stabilità delle proteine come la sumoilazione (Mazucotelli et al., 2008). Infine l'associazione di più di due molecole in un complesso introduce livelli di organizzazione che vanno oltre l'interazione binaria.

Per comprendere completamente il funzionamento di un sistema complesso qual è la cellula, è quindi fondamentale catalogare tutte le proteine che ne fanno parte, ma anche identificare le interazioni che tra esse intercorrono. Gli obiettivi principali dell'analisi proteomica sono dunque:

- l'identificazione della popolazione proteica di un organismo, tessuto, cellula o compartimento subcellulare e la sua analisi comparativa con lo scopo di studiare una espressione proteica differenziale. La tecnica più ampiamente utilizzata, in particolar modo per le proteine solubili e le proteine di membrana esterne, è l'elettroforesi bidimensionale;
- l'identificazione di interazioni proteina-proteina e di complessi multiproteici: la marcatura di proteine (tagging) seguita da purificazione per affinità permette di identificare anche complessi multiproteici con basso livello di espressione;

- l'analisi delle modificazioni post-traduzionali, quali fosforilazione, glicosilazione, processamento proteolitico e sumoilazione;
- la determinazione della struttura funzionale globale dei complessi multiproteici.

Per quanto riguarda lo studio dei processi di adattamento delle piante all'ambiente, l'interesse di una parte della comunità scientifica si sta spostando verso un livello superiore di regolazione: le modificazioni post-traduzionali, con particolare riguardo a ubiquitinazione e sumoilazione.

L'ubiquitinazione svolge un ruolo importante nel rimodellare il proteoma di una pianta in risposta a eventi di stress indirizzando verso la degradazione tutte le proteine che, a causa dello stress stesso, hanno subito un danno strutturale o che non sono più necessarie in quella determinata situazione. Il pathway di ubiquitinazione è articolato in tre passaggi principali che coinvolgono tre diversi enzimi: un enzima di attivazione E1, un enzima di coniugazione E2 e una ligasi E3. La E3 ligasi è la proteina che conferisce specificità e selettività al processo, in quanto riconosce specificamente proteine che recano una varietà di segnali di degradazione. Il genoma di *Arabidopsis* contiene almeno 1300 putative E3 ligasi mentre possiede solamente 2 isoforme dell'enzima E1 e 37 enzimi E2; una tale distribuzione riflette l'importanza che le E3 ligasi rivestono nel conferire specificità alla reazione di ubiquitinazione delle proteine (Mazzucotelli et al., 2008).

SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) è una proteina simile alla ubiquitina che viene attaccata post-traduzionalmente a una varietà di proteine target tra cui spiccano prevalentemente fattori trascrizionali. Nonostante lo schema di coniugazione della proteina SUMO sia molto simile a quello della ubiquitina, la sumoilazione delle proteine sembra non avere nessuna funzione di tipo proteolitico (Mazzucotelli et al., 2008).

Studi di proteomica condotti su differenti specie vegetali in seguito all'esposizione a stress di tipo abiotico e biotico hanno dimostrato che centinaia di trascritti e proteine correlate all'ubiquitinazione vengono modificate durante la risposta a tali stress, suggerendo un ruolo per l'ubiquitinazione nel determinare la tolleranza (Mazzucotelli et al., 2006). Tutto ciò è supportato da un recente lavoro di proteomica condotto sulle gemme fiorali di una linea di *Arabidopsis* recante una mutazione al gene *ASK1*, un componente critico del complesso di ubiquitinazione. Nel mutante *ask1* sono infatti stati identificati svariati target della ubiquitinazione, tra cui molte proteine correlate allo stress (Wang et al., 2006).

BASI GENETICO-MOLECOLARI DELLA RESISTENZA AGLI STRESS BIOTICI

Gli stress biotici sono determinati da varie categorie di patogeni fungini, batterici e virali che danneggiano fortemente la produttività delle coltivazioni sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo. Le piante sono in grado di difendersi mediante meccanismi di resistenza che possono essere distinti in due gruppi:

- sistema di difesa passivo, costituito dalle cosiddette “barriere” (ad esempio i rivestimenti cellulari);
- sistema di difesa attivo, ulteriormente suddiviso in sistema immunitario innato basale e sistema immunitario innato mediato dai geni di resistenza (geni R).

Il meccanismo di riconoscimento di alcune molecole prodotte dai patogeni (elicitori) determina l’attivazione del sistema immunitario basale delle piante, impedendo così un’ulteriore colonizzazione da parte di patogeni non compatibili e limitando la diffusione dei patogeni compatibili (Bittel e Robatzek, 2007). In questi casi la pianta riconosce delle molecole associate al patogeno mediante pattern specifici (MAMP: Microbe-Associated Molecular Patterns) e innesca un “signalling complesso” mediato da molecole come l’acido salicilico (SA: Salicylic Acid), ossido nitrico, intermedi reattivi dell’ossigeno (ROI: Reactive Oxygen Intermediates), acido jasmonico (JA: Jasmonic Acid) ed etilene. Qualora i patogeni compatibili riescano a evolvere la capacità di superare questa prima linea di difesa, producendo nell’apoplasto e/o nelle cellule ospiti molecole capaci di inibirla o interferire con essa, la pianta può innescare la resistenza dipendente dai geni R. Il riconoscimento di tali molecole del patogeno da parte dei prodotti dei geni R determina l’attivazione del secondo livello di resistenza, di solito mediato da una risposta ipersensibile (HR) che conduce alla morte cellulare a livello del sito di infezione.

L’identificazione e l’introggressione dei geni di resistenza nel germoplasma coltivato rappresenta un valido strumento per limitare le perdite produttive imputabili ai patogeni e l’uso di fitofarmaci in agricoltura, con indubbi vantaggi in termini economici e ambientali. Tuttavia l’ottenimento di una varietà resistente, utilizzando tecniche di breeding “convenzionale”, comporta un dispendio temporale ed economico rilevante. Introgredire un gene di resistenza all’interno del genoma di una linea coltivata con i metodi tradizionali, infatti, può richiedere più di 10-15 anni; inoltre sono necessari test lunghi e laboriosi per valutare il fenotipo resistente e per il mantenimento dei patogeni, soprattutto di quelli obbligati. L’efficacia della resistenza della pianta, poi, è sovente limitata nel tempo perché alcuni ceppi patogeni evolvono la capacità di supe-

rarla. Una possibile soluzione a questi problemi è costituita dall'impiego della selezione assistita da marcatori molecolari (MAS) per caratteri di resistenza o direttamente mediante trasformazione genetica.

I marcatori molecolari strettamente associati ai geni R eliminano la necessità di complesse analisi fenotipiche per identificare gli individui resistenti nelle prime generazioni delle popolazioni segreganti. In più, la MAS permette una più rapida risposta a un crollo della resistenza, una veloce introgressione di geni multipli derivanti da diversi germoplasmi attraverso il gene pyramiding e la selezione di rari ricombinanti tra geni di resistenza strettamente associati (Francia et al., 2005). Da queste considerazioni si può dedurre come una sempre maggiore comprensione delle basi genetico-fisiologiche della risposta delle piante ai patogeni, in particolare la conoscenza della sequenza dei geni R, rappresenti il presupposto fondamentale per superare i limiti attuali all'utilizzo di tali geni e per incrementare le potenzialità agronomiche.

L'oidio e la striatura bruna dell'orzo costituiscono esempi significativi di malattie che limitano fortemente la produttività. L'oidio è causato dal fungo parassita biotrofo obbligato *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. Nelle colture di orzo sono stati introdotti molti geni di resistenza razza-specifici contro questa malattia, ma la maggior parte ha agito solo per breve tempo. La selezione all'interno delle popolazioni del fungo ha portato alla rapida diffusione di ceppi non riconosciuti dai geni di resistenza noti. Ad oggi l'unico esempio di resistenza durevole contro un patogeno è costituito dal gene *mlo* di orzo.

Il gene *mlo* fornisce un'importante fonte di difesa contro l'oidio conferendo una resistenza pre-austoriale completa verso tutti gli isolati del patogeno. Dal 1970 si è fatto un largo uso degli alleli *mlo* che sono stati introdotti in più di 142 cultivar rappresentanti oltre il 40% delle coltivazioni primaverili di orzo in molti paesi nord-europei. Per la peculiarità del gene *mlo* e di alcune sue varianti come *mlo-9* e *mlo-11*, individuare marcatori molecolari strettamente associati a tale locus fornirebbe uno strumento molto potente ai "breeders" per introgredire tali geni in genotipi di interesse agrario. Recentemente Tacconi e collaboratori (2006) hanno sviluppato una serie di marcatori molecolari fortemente associati al locus *mlo*, che permettono di selezionare genotipi recanti tali loci in popolazioni segreganti di orzo. Questo fornisce un indubbio vantaggio visto che il gene di interesse agisce in forma recessiva.

In vite, come è noto, lo studio della resistenza all'oidio rappresenta uno degli obiettivi prioritari per la riduzione dell'uso di prodotti di sintesi in agricoltura. Moltissimi esperimenti sono stati condotti a tutti i livelli scientifici e tecnologici per attenuare la patogenicità del fungo. Una delle strategie che

si sta perseguendo è quella dell'applicazione di strumenti molecolari al fine di ottenere una pianta resistente. I primi studi sono stati già indirizzati verso la comprensione della funzione di uno o più geni di resistenza, attraverso il silenziamento genico (RNA interference: RNAi). È prevedibile che nel volgere di pochi anni sarà possibile attraverso la trasformazione genetica ottenere nuove varietà di vite resistenti.

Il fungo *Pyrenophora graminea* (la cui forma anamorfica è chiamata *Drechslera graminea*) è un patogeno emibiotrofo che causa la striatura bruna delle foglie, una malattia monociclica strettamente associata allo sviluppo dell'embrione di orzo. Il fungo sopravvive come micelio nel pericarpo, nel glume e nelle glumelle, ma non nell'embrione. L'infezione inizia durante la germinazione, quando il micelio, che vive nel pericarpo dei semi infetti, penetra la coleoriza e da lì colonizza la pianta partendo dagli apici radicali. La perdita del raccolto causata da *P. graminea* è correlata al grado di contaminazione dei semi (Porta-Puglia et al., 1986). Sebbene nei sistemi di coltivazione convenzionali la malattia sia controllata mediante trattamento chimico dei semi, è stato calcolato che quando molti semi sono infettati (più del 30%), tale trattamento non è più efficace per ottenere un raccolto accettabile, a meno che la varietà abbia un elevato livello di resistenza (Delogu et al., 1995). Inoltre la produzione dei semi di orzo in coltivazioni organiche, importanti in molti paesi, richiede una maggiore attenzione verso questa fitopatia (Delogu et al., 1995).

Nonostante la grande importanza della resistenza genetica alla striatura bruna, non si possiede ancora una conoscenza completa dei meccanismi molecolari alla base delle interazioni *P. graminea*-orzo. Sono stati identificati e mappati sia i singoli geni di resistenza razza-specifici (Tacconi et al., 2001) che quelli responsabili della resistenza parziale basata sulla poligenicità (Pecchioni et al., 1996; Arru et al., 2003a), ma nessuno è stato ancora clonato e caratterizzato. Recentemente Haegi e collaboratori (2008) hanno svolto uno studio istologico e trascrittomico della resistenza confrontando due linee isogeniche che differivano solo a livello di un locus di resistenza, denominato *Rdg2a*. L'analisi al microscopio della linea resistente NIL3876-*Rdg2a* ha permesso di osservare che la crescita del fungo cessa nel nodo scutellare, mentre nella linea isogenica suscettibile Mirco-*rdg2a* essa continua attraverso il nodo scutellare fino all'embrione.

Per capire le basi molecolari della difesa verso *P. graminea*, sono stati predisposti l'isolamento e la caratterizzazione di *Rdg2a*. Come primo step è stata costruita una mappa genetica ad alto livello della regione cromo-

somica in cui si trova il gene, attraverso lo screening di una popolazione F_2 di 1400 piante, derivate dall'incrocio delle varietà Thibaut (*Rdg2a*) e Mirco (*rdg2a*). La mappa comprendeva alcuni marcatori sviluppati utilizzando sequenze conservate tra geni di resistenza di pianta (Resistance Gene Analogues-RGA) e altri creati sfruttando relazioni sinteniche tra orzo e riso in tale regione. Il sequenziamento in riso non ha rivelato alcun gene con proprietà simili a quelle dei geni R già caratterizzati. Da ciò è stato ipotizzato che *Rdg2a* potrebbe codificare per un nuovo tipo di proteina di resistenza o che la sintenia orzo-riso è interrotta in quella regione (Bulgarelli et al., 2004). Le informazioni ottenute dal mappaggio del locus sono state sfruttate per lo sviluppo di marcatori per approcci di MAS. Analizzando la reazione contro un isolato monoconidiale altamente virulento del patogeno (Dg2) da parte di diverse cultivar e accessioni di orzo, si è osservato che il marcatore MWG2018 era sempre associato al fenotipo resistente (Arru et al., 2003b). Varietà resistenti di orzo ottenute grazie alla selezione basata su questi metodi sono già disponibili.

CONCLUSIONI

Diverse specie di interesse agronomico sono coltivate in aree caratterizzate da condizioni pedo-climatiche sub-ottimali, causa di bassa produttività, instabilità delle produzioni, scarsa qualità. Gli stessi indirizzi della politica agraria comunitaria, stanno determinando una forte domanda di varietà caratterizzate da un'elevata potenzialità produttiva anche in condizioni di limitati input energetici a disposizione della coltura, resistenti a stress biotici e abiotici e stabili nell'espressione quantitativa e qualitativa della produzione. Da ciò deriva la necessità di studi genetico-molecolari che accertino il valore potenziale del germoplasma coltivato e selvatico, e consentano di identificare geni utili per l'adattamento delle piante all'ambiente culturale (Stanca et al., 2003). Le recenti evidenze sperimentali suggeriscono che i geni codificanti per fattori di trascrizione rappresentano i migliori candidati per spiegare un effetto quantitativo sul carattere adattamento. Rispetto ai singoli geni strutturali, effettori della risposta, un fattore di trascrizione può regolare in maniera simultanea e coordinata una serie di geni, l'effetto dei quali si somma determinando il fenotipo (ad esempio un'elevata tolleranza al freddo). Secondo questa ipotesi, variazioni alleliche a geni regolatori possono indurre maggiormente differenze fenotipiche riscontrate rispetto a variazioni nelle sequenze di geni strutturali (Morandini e Salamini, 2003).

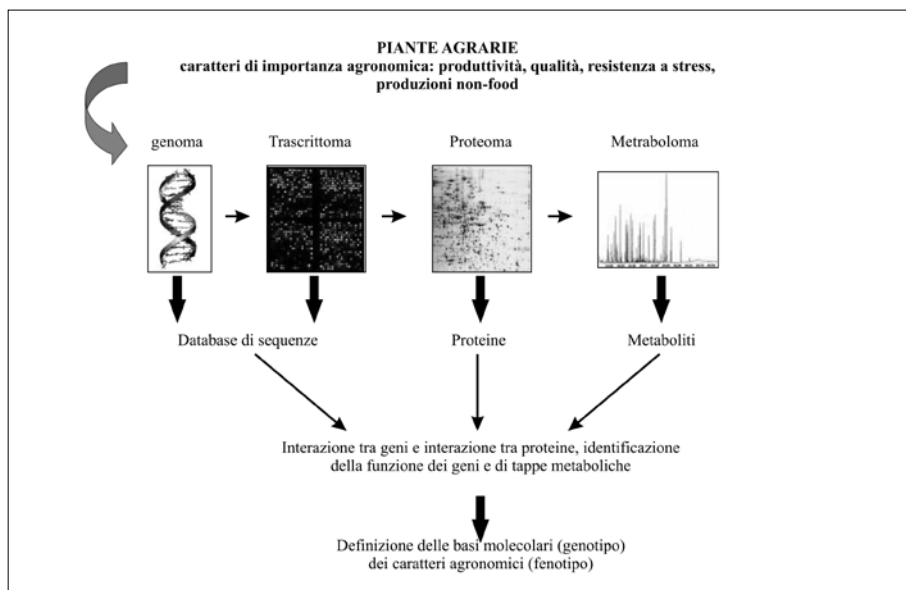


Fig. 2 integrazione dei risultati delle varie discipline 'omiche' – Systems Biology – per la definizione della relazione fenotipo-genotipo

Negli ultimi dieci anni la dimensione e il campo di indagine della biologia molecolare sono notevolmente cambiati, dall'iniziale obiettivo di identificare indipendentemente i vari elementi caratterizzanti un sistema biologico (RNA, gene, proteina) per metterli in relazione in un secondo momento, alla possibilità di caratterizzare la totalità degli elementi oggetto di studio, implementandoli in una rete complessa di interazioni. Le nuove metodologie afferenti alla disciplina della genomica funzionale, quali proteomica, trascrittomica e metabolomica, stanno aprendo la strada allo studio dei networks di regolazione che sottendono il funzionamento degli organismi viventi in determinate condizioni fisiologiche, dipingendo un quadro molto più complesso di quanto fino a oggi avessimo potuto osservare con strumenti di tipo tradizionale. Approcci di tipo computazionale ovviamente sostengono l'integrazione dell'enorme numero di dati prodotti da queste metodologie e possono ad esempio aiutare la descrizione dei processi di adattamento delle piante all'ambiente colturale.

Scopo di questo approccio, definito "system biology", è estrarre la maggiore quantità di informazioni possibili dagli esperimenti multidisciplinari che permettono di studiare il genoma, costruendo modelli esplicativi e predittivi grazie all'uso di strumenti matematici e informatici. Ci si può quindi aspetta-

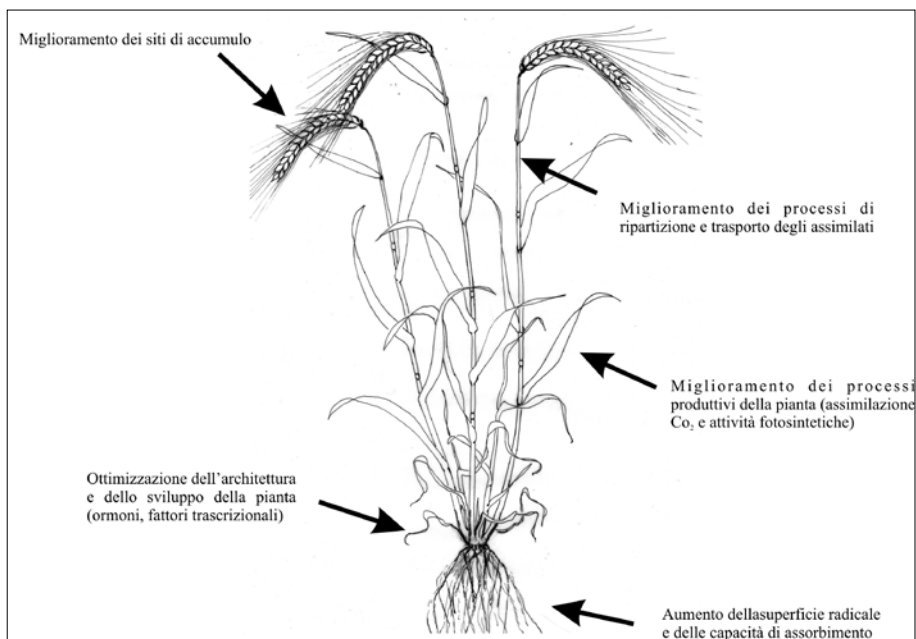


Fig. 3 Il concetto di 'yield enhancement genes' prevede in primo luogo l'individuazione di un ideotipo e in un secondo momento l'introggressione, all'interno di un genotipo ideale, di geni regolatori di caratteri utili

re che tutti i campi di indagine relativi allo studio delle piante possano trarre vantaggio dai progressi delle tecnologie high-throughput e dallo sviluppo della bioinformatica, sfociando in una moderna biologia dei sistemi vegetali (fig. 2).

Il successo di ogni processo di selezione si basa sulla disponibilità di alleli superiori per i caratteri di interesse. Una volta identificati i geni e caratterizzate queste varianti alleliche utili, è estremamente importante che gli sforzi di queste ricerche siano effettivamente sfruttati, al fine di ottenere genotipi con un'elevata resistenza a stress di tipo abiotico e biotico. Rispetto al recente passato, i breeders hanno oggi a disposizione marcatori "robusti", che identificano e permettono di seguire, durante il processo di selezione, gli alleli utili. Il miglioramento genetico assistito consentirà di spostare la selezione dal livello fenotipico a quello genotipico, in un approccio denominato "breeding by design": l'ideotipo di pianta che si vuole ottenere sarà definita e la piramidizzazione in un genotipo superiore di alleli utili ai geni chiave (yield enhancement genes) rappresenterà la strategia per l'ottenimento di nuove va-

rietà adatte ai diversi ambienti di coltivazione e rispondenti sempre più alle esigenze della futura società (fig. 3).

RIASSUNTO

Gli stress ambientali – siccità, basse o alte temperature, suoli poco fertili o infezioni da patogeni – sono le più importanti cause di perdita di produttività in agricoltura e molti sforzi sono stati compiuti per migliorare la produttività delle colture in condizioni limitanti. La selezione naturale ha favorito meccanismi di adattamento e di sopravvivenza, mentre l'attività dei "breeders" ha puntato verso un aumento della resa economica delle specie coltivate di maggior interesse. Più di 80 anni di attività di selezione hanno portato a un significativo incremento nella resa economica delle piante coltivate anche negli ambienti limitanti. Nel frattempo, la ricerca di base ha permesso di approfondire la comprensione dei meccanismi fisiologici e molecolari grazie ai quali le piante rispondono agli stress ambientali; tuttavia vi è ancora un ampio divario tra la produzione in condizioni ottimali e in condizioni di stress. Una più approfondita analisi del genoma fornirà nuovi strumenti per comprendere con più precisione la relazione genotipo-fenotipo e disegnare la pianta del futuro.

ABSTRACT

Environmental constraints, including both biotic and abiotic stresses, cause yield losses. Many efforts have been made to increase productivity of crop plants grown under limiting conditions. While natural selection has favoured mechanisms for adaptation and survival, breeding has directed selection towards an increase of economic yield. More than 80 years of breeding activities have led to some yield increase in stressed environments for many crop plants. Meanwhile, basal research has provided significant gains in the understanding of physiological and molecular responses of plants to environmental stresses. However a large gap is still present between yield potential and actual production. Current and future genomic analyses will produce new tools and knowledge for the future breeding in order to minimize the yield gap by increasing yield potential and stability under different stress conditions.

BIBLIOGRAFIA

- ARRU L., FRANCIA E., PECCHIONI N. (2003a): *Isolate-specific QTLs of resistance to leaf stripe (Pyrenophora graminea) in the Steptoe_Morex spring barley cross*, «Theor Appl Genet», 106, pp. 668-675.
- ARRU L., FACCINI N., GOVONI C., CATTIVELLI L., PECCHIONI N., DELOGU G., STANCA A.M., VALÈ G. (2003b): *The PCR-based marker MWG2018 linked to the Rdg2a leaf stripe resistance gene is a useful tool for assessing barley resistance in breeding programs*, «Crop Sci», 43, pp. 1036-1042.
- BITTEL P. AND ROBATZEK S. (2007): *Microbe-Associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity*, «Curr Opin Plant Bio», 10, pp. 335-341.

- BULGARELLI D., COLLINS N. C., SACCONI G., DALL'AGLIO E., BRUEGGEMAN R., KLEINHOF A., STANCA A. M., VALÈ G. (2004): *High-resolution genetic mapping of the leaf stripe resistance gene Rdg2a in barley*, «Theor Appl Genet», 108, pp. 1401-1408.
- CATTIVELLI L., BALDI P., CROSATTI C., DI FONZO N., FACCIOLI P., GROSSI M., MASTRANGELO A.M., PECCHIONI N. AND STANCA A.M. (2002): *Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae*, «Plant Mol. Biol.», 48, pp. 649-665.
- CATTIVELLI L., RIZZA F., BADECK F-W., MAZZUCOTELLI E., MASTRANGELO A.M., FRANCIA E., MARE' C., TONDELLI A., STANCA A.M. (2008): *Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics*, «Field Crops Research», 105, pp. 1-14.
- COCKRAM J., JONES H., LEIGH F.J., O'SULLIVAN D., POWELL W., LAURIE D.A., GREENLAND A. (2007): *Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity*, «J Exp Bot», 58, pp. 1231-1244.
- COMADRAN J., RUSSELL J. R., VAN EEUWIJK F. A., CECCARELLI S., GRANDO S., BAUM M., STANCA A. M., PECCHIONI N., MASTRANGELO A. M., AKAR T., AL-YASSIN A., BENBELKACEM A., CHOUMANE W., OUABBOU H., DAHAN R., BORT J., ARAUS J.-L., PSWARAYI A., ROMAGOSA I., HACKETT C. A. AND THOMAS W. T. B. (2008): *Mapping adaptation of barley to droughted environments*, Volume 161, Numbers 1-2.
- CROSATTI C., SONCINI C., STANCA A.M., CATTIVELLI L. (1995): *The accumulation of a cold-regulated chloroplastic protein is light-dependent*, «Planta», 196 (3), pp. 458-463.
- DE VIENNE D., LEONARDI A., DAMERVAL C. AND ZIVY M. (1999): *Genetics of proteome variation for QTL characterization: application to drought-stress responses in maize*, «Journal of Experimental Botany», Vol 50, pp. 303-309.
- DELOGU G., PORTA-PUGLIA A., STANCA A.M., VANNACCI G. (1995): *Interaction between barley and Pyrenophora graminea: an overview of research in Italy*, «Rachis», 14, pp. 29-34.
- DONINI P., KOEBNER R., POWELL W. (2001): *Contributions of DNA molecular marker technologies to the genetics and breeding of wheat and barley*, «Plant Breeding Reviews», 21, pp. 181-220.
- FRANCIA E., RIZZA F., CATTIVELLI L., STANCA A.M., GALIBA G., TÓTH B., HAYES P.M., SKINNER J.S., PECCHIONI N. (2004): *Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure' (winter) × 'Tremois' (spring) barley map*, «Theor. Appl. Genet.», 108, pp. 670-680.
- FRANCIA E., TACCONI G., CROSATTI C., BARABASCHI D., BULGARELLI D., DALL'AGLIO E., VALÈ G. (2005): *Marker assisted selection in crop plants*, «Plant Cell Tissue Organ Cult», 82, pp. 317-342.
- FRANCIA E., BARABASCHI D., TONDELLI A., LAIDÒ G., RIZZA F., STANCA A.M., BUSCONI M., FOGHER C., STOCKINGER E.J., PECCHIONI N. (2007): *Fine mapping of a HvCBF gene cluster at the frost resistance locus Fr-H2 in barley*, «Theor Appl Genet», 115, pp. 1083-1091.
- HAEGI A., BONARDI V., DALL'AGLIO E., GLISSANT D., TUMINO G., COLLINS N., BULGARELLI D., INFANTINO A., STANCA A.M., DELLEDONNE M., VALÈ G. (2008): *Histological and molecular analysis of Rdg2a barley resistance to leaf stripe*, «Molecular Plant Pathology», in corso di stampa, DOI: 10.1111/J.1364-3703.2008.00489.X.
- LEVITT J. (1980): *Responses of plants to environmental stresses*, Second edition, vol. II, *Water, radiation, salt, and other stresses*, Academic Press, New York, cap. 7, pp. 213-228.
- MARÉ C., MAZZUCOTELLI E., CROSATTI C., FRANCIA E., STANCA A.M., CATTIVELLI L. (2004): *Hv-WRKY38: a new transcription factor involved in cold- and drought-respnse in barley*, «Plant Molecular Biology», 55, pp. 399-416.

- MATSUI A., ISHIDA J., MOROSAWA T., MOCHIZUKI Y., KAMINUMA E., ENDO T.A., OKAMOTO M., NAMBARA E., NAKAJIMA M., KAWASHIMA M., SATOU M., KIM J.M., KOBAYASHI N., TOYODA T., SHINOZAKI K., SEKI M. (2008): *Arabidopsis* transcriptome analysis under drought, cold, high-salinity and ABA treatment conditions using a tiling array, «Plant Cell Physiol», 49, pp. 1135-1149.
- MAZZUCOTELLI E., BELLONI S., MARONE D., DE LEONARDIS A.M., GUERRA D., DI FONZO N., CATTIVELLI L., MASTRANGELO A.M. (2006): *The E3 ubiquitin ligase gene family in plants: regulation by degradation*, Current Genomics 7(8), 509-522.
- MAZZUCOTELLI E., MASTRANGELO A.M., CROSATTI C., GUERRA D., STANCA A.M., CATTIVELLI L. (2008): *Abiotic stress response in plants: when post-transcriptional and post-translational regulations control transcription*, «Plant Science», 174, pp. 420-431.
- MORANDINI P., SALAMINI F. (2003): *Plant biotechnology and breeding: allied for years to come*, «Trends Plant Sci.», 8 (2), pp. 70-75.
- PECCHIONI N., FACCIOLO P., MONETTI A., STANCA A.M., TERZI V. (1993): *Molecular markers for genotype identification in small grain cereals*, 50, pp. 203-219.
- PECCHIONI N., FACCIOLO P., TOUBIA-RAHME H., VALÈ G., TERZI V. (1996): *Quantitative resistance to barley leaf stripe (Pyrenophora graminea) is dominated by one major locus*, «Theor Appl Genet», 93, pp. 97-101.
- PIFFANELLI P., RAMSAY L., WAUGH R., BENABDELMOUNA A., D'HONT A., HOLLRICHER K., JORGENSEN J.H., SCHULZE-LEFERT P. AND PANSTRUGA R. (2004): *A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew*, «Nature», 430, pp. 887-891.
- PORTA-PUGLIA, A., G. DELOGU, AND G. VANNACCI. (1986): *Pyrenophora graminea on winter barley seed: effect on disease incidence and yield losses*, «J. Phytopathol.», 117, pp. 26-33.
- RIZZA F., BADECK F.W., CATTIVELLI L., LI DESTRI O., DI FONZO N., STANCA A.M. (2004): *Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions*, «Crop Science», 44, pp. 2127-2137.
- SHINOZAKI K. & YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. (1996): *Molecular responses to drought- and cold-stress*, «Curr. Opin. Biotechnol.», 7, pp. 161-167.
- STANCA A.M., ROMAGOSA I., TAKEDA K., LUNDBORG T., TERZI V., CATTIVELLI L. (2003): *Diversity in abiotic stresses tolerances*, in *Diversity in barley (Hordeum vulgare)* (R. von Bothmer, T. van Hintum, H. Knupffer, K. Sato Eds.), Elsevier Science B. V., pp. 179-199.
- SVENSSON J.T., CROSATTI C., CAMPOLI C., BASSI R., STANCA A.M., CLOSE T.J., CATTIVELLI L. (2006): *Transcriptome analysis of cold acclimation in barley albina and xantha mutants*, «Plant Physiol.», 141 (1), pp. 257-270.
- TACCONI G., CATTIVELLI L., FACCINI N., PECCHIONI N., STANCA A.M., VALÈ G. (2001): *Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley (Hordeum vulgare L.)*, «Theor Appl Genet», 102, pp. 1286-1291.
- TACCONI G., BALDASSARRE V., COLLINS N.C., BULGARELLI D., STANCA A.M., AND VALÈ G. (2006): *Haplotype characterization and markers at the barley Mlo powdery mildew resistance locus as tools for marker-assisted selection*, «Genome», 49, pp. 864-872.
- TONDELLI A., FRANCA E., BARABASCHI D., APRILE A., SKINNER J.S., STOCKINGER E.J., STANCA A.M., PECCHIONI N. (2006): *Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley*, «Theor Appl Genet», 112, pp. 445-454.
- WANG X., NI W., GE X., ZHANG J., MA H., CAO K. (2006): *Proteomic identification of potential target proteins regulated by an ASK1-mediated proteolysis pathway*, «Cell Res.», 16, pp. 489-498.

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nel luglio 2009

