



Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olivo
Spoleto

Collana divulgativa dell'Accademia

Volume XII

TECNICHE DI PROPAGAZIONE



A cura di

Filiberto Loreti e Stefano Morini

Realizzato nell'ambito del progetto "Ricerca ed Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale", finanziato dal MiPAAF



Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio
Spoleto

Collana divulgativa dell'Accademia

Volume XII

TECNICHE DI PROPAGAZIONE

A cura di

Filiberto Loreti e Stefano Morini

Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose “ G. Scaramuzzi”

Università di Pisa

Via Del Borghetto, 80

56124 Pisa

E-mail: floreti@agr.unipi.it e smorini@agr.unipi.it

Realizzazione editoriale

Accademia Nazionale dell'Olivo e dell'Olio

Palazzo Ancajani - Piazza della Libertà, 12

06049 Spoleto (PG)

Tel/ Fax 0743-223603 – e-mail: andulivo@virgilio.it

Realizzato nell'ambito del progetto “Ricerca ed Innovazione per l'Olivicoltura Meridionale”, finanziato dal MiPAAF

ISSN 2281-4930

Pubblicato online nel mese di marzo 2012

PREFAZIONE

Sono trascorsi cinquanta anni dalla fondazione dell'Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio. Cinquanta anni che hanno visto alla sua guida personaggi, di cui alcuni, purtroppo, non più presenti tra noi, che attraverso i loro alti comportamenti etici, morali, politici e professionali hanno realizzato le strutture portanti dell'Accademia e dato lustro alle attività svolte.

L'attuale Consiglio Accademico, per celebrare questo importante traguardo, ha deciso, in linea anche con gli obiettivi del "Progetto Network", di realizzare una Collana dell'Accademia, sottoforma di opuscoli, riguardante tutta la filiera produttiva e commerciale dell'olio extravergine di oliva. Sono state individuate numerose tematiche, affrontate alla luce dei più recenti aggiornamenti scientifici e tecnici sia per minimizzare i costi produttivi, sia per ottimizzare la qualità e la sua valorizzazione sui mercati.

In questa direzione notevole enfasi è stata data ai nuovi modelli d'impianto, alle tecniche colturali, alle prospettive della genomica, alle tecnologie di trasformazione, alla valorizzazione dei sottoprodotti, agli aspetti di medicina preventiva e salutistica, alla gestione economica aziendale ed alle strategie di marketing. Nella scrittura degli opuscoli si è cercato di utilizzare una forma divulgativa, ma al tempo stesso rigorosa nei termini scientifici utilizzati.

In ogni opuscolo sono fornite tutte le indicazioni necessarie per contattare, per eventuali approfondimenti, gli Autori.

GianFrancesco MONTEDORO
Presidente Accademia Nazionale
dell'Olio e dell'Olio

TECNICHE DI PROPAGAZIONE

Indice

	Pagina
Abstract	2
1. Introduzione	3
2. Propagazione gamica	4
2.1. Requisiti del vivaio	4
2.2. Raccolta e conservazione dei noccioli	4
2.3. Preparazione del semenzaio e semina	5
2.4. Trapianto in netaio	6
<i>Propagazione per seme adottata nel miglioramento genetico</i>	7
2.5. Innesto e cura delle piante innestate	8
2.6. Allevamento in contenitore o nel piantonaio	8
2.7. Trapianto, confezionamento e spedizione dei piantoni di olivo	9
3. Propagazione agamica	10
3.1. Ovulo	10
3.2. Pollone radicato	11
3.3. Innesto	11
3.3.1. Tipi di innesto	11
3.3.1.1. Innesto a corona con una sola marza	11
3.3.1.2. Innesto ad intarsio	12
3.3.1.3. Altri tipi di innesto	12
3.3.1.4. Innesto – talea	13
3.3.2. Portinnesti	13
3.4. Propagazione per talea	14
3.4.1. Talea legnosa	14
3.4.2. Talea semilegnosa	15
3.4.3. Rizogenesi delle talee	16
3.4.3.1. Basi fisiologiche della rizogenesi avventizia	16
3.4.3.2. Aspetti anatomici della differenziazione e dello sviluppo delle radici	17
3.4.3.3. Fattori di variabilità della risposta rizogena	18
3.4.4. Trattamenti alle talee	22
3.4.4.1. Trattamenti antiparassitari	22
3.4.4.2. Trattamenti rizogeni	23
3.4.5. Tecniche di propagazione per talea	28
3.4.5.1. Nebulizzazione, fog-system	28
3.4.5.2. Riscaldamento basale, cassone riscaldato	30
3.4.5.3. Importanza della luce	33
3.4.6. Monitoraggio dello stato sanitario delle talee in radicazione	34
3.4.7. Durata del periodo di radicazione e trapianto delle talee radicate	34
3.5. Micropropagazione	36
3.6. Embriogenesi somatica e seme artificiale	38
3.7. Considerazioni conclusive	39
Bibliografia	41

TECHNIQUES OF PROPAGATION

Abstract

Techniques currently available for olive plant propagation are described with particular attention to practical and scientific aspects, in order to make olive nurserymen and growers acquainted with the up-to-date knowledge on this subject. Seed propagation is firstly illustrated step by step, from seed supplying to seedlings care, followed by the vegetative propagation techniques. After a short account on ovule and rooted sucker techniques, no longer used owing to the low propagation efficiency, the grafting of olive plant is presented in all its variants and applications. Furthermore, woody and semi herbaceous cutting propagation is extensively examined from physiological, anatomical and technical point of view. Finally, results obtained up today on olive micropropagation, somatic embryogenesis and artificial seed are considered in order to provide operators with the main features of these biotechnologies. It is concluded with some considerations on advantages or weakness of grafted or self-rooted olive plants and the perspectives of application of *in vitro* propagation procedures.

TECNICHE DI PROPAGAZIONE

1. Introduzione

L'olivo, insieme alla vite, è stato fin da tempi remoti una delle principali piante protagoniste della vita dell'uomo. Le sue fronde erano considerate un simbolo di pace, di trionfo, di vittoria, d'onore, la pianta era utilizzata come materiale da ardere mentre l'olio era impiegato come alimento, profumo, medicinale e come olio per lampade, per cerimonie religiose ecc. E' da presumere che nelle zone a maggiore sviluppo olivicolo, pur non disponendo di informazioni storiche, l'olivo fosse inizialmente, più o meno consapevolmente, propagato per seme. Questo metodo di propagazione è sicuramente il più antico ed è verosimile che anche per l'olivo (come è avvenuto per tutte le altre piante di interesse per l'uomo) fosse l'unico modo noto in quei tempi per moltiplicare le piante importanti per la vita di tutti i giorni. Con il passare del tempo, e con l'aumentare delle necessità dell'uomo, le tecniche di propagazione hanno mostrato un ulteriore progresso rappresentato dall'impiego di grandi talee legnose costituite da intere branche e tronchi; questa tecnica di propagazione vegetativa si presume abbia preso origine dall'osservazione che grossi rami o branche, impiantate nel terreno per scopi diversi (recinzioni per animali, ricoveri per l'uomo, ecc), radicavano e davano luogo ad una pianta capace di accrescersi e produrre frutti.

Anche altre tecniche di propagazione dell'olivo utilizzate ancora oggi, erano già impiegate in tempi remoti. Riferimenti all'innesto si ritrovano già intorno ai secoli XIV – XVII quando, in particolare nelle zone meridionali, la propagazione avveniva utilizzando olivi selvatici, di 5 - 8 anni (tèrmiti), provvisti di masse ovarie; questi erano estirpati e trasportati in vivaio dove venivano innestati e dopo circa un anno trapiantati a dimora. Un altro metodo si basava sull'individuazione nella macchia di olivastri di 20

– 40 anni (cormoni) che venivano capitozzati a circa 50 cm di altezza e successivamente innestati. Dopo 2 – 3 anni l'intera pianta con la ceppaia veniva estirpata dalla macchia e messa a dimora (Montefrancesco, 2010). Le prime citazioni bibliografiche sulle tecniche di innesto compaiono soltanto dopo la metà del 1500, quando Bussato (1612) descrive ampiamente vari tipi di innesto utilizzabili per le specie arboree da frutto, senza però specifici riferimenti all'olivo. Ma che l'olivo fosse propagato per innesto, come abbiamo detto in precedenza, era noto già da molto tempo, seppure non sia stata trovata la descrizione delle procedure applicate. I riferimenti più antichi sull'innesto dell'olivo sono di Venturi (1816) che nel suo "Trattato degli innesti" dedica un paragrafo a questa specie. Tra i vari tipi di innesto viene indicato quello a scudetto eseguito a maggio ma soprattutto quello a zufolo. E' da sottolineare che già in quel tempo si praticava l'innesto, oltre che sull'olivastro, anche su semenzali. Infatti, il Venturi riferisce che "S'innesta l'ulivo tanto in se, quanto sull'ulivastro. Alcuni lo eseguiscono a fessura: ma l'innesto più proprio dell'ulivo è quello a zufolo.....Gli ulivi grossi si innestano a corona, ed anche a pezzo riportato..." Inoltre, nel suddetto trattato viene fatto riferimento a pratiche d'innesto impiegate nel secolo precedente (1700) dimostrando come questa tecnica fosse oramai già in uso. Intorno alla metà del 1870, grazie all'attività di Pacini e Gentilini (Vezzosi, 1990), due vivaisti pesciatini, viene sperimentato con successo l'innesto "a penna" che diventerà la principale tecnica di propagazione dell'olivo, ancora oggi assai diffusa in Italia e in altri paesi olivicoli.

Ma l'innesto e la talea legnosa di grande dimensione non sono gli unici metodi di propagazione vegetativa dell'olivo utilizzati nel passato. Anche se non abbiamo informazioni sull'epoca in cui sono state inizialmente applicate, tecniche quali l'ovulo, il pollone radicato e la talea legnosa di 3 – 5 anni di età (Scaramuzzi, 1962), hanno trovato largo impiego ed hanno

contribuito a soddisfare le richieste dell'olivicoltura dei secoli scorsi.

Attualmente l'olivo viene moltiplicato mediante tecniche di propagazione gamica (per seme) e agamica (innesto, talea, micropropagazione).

2. Propagazione gamica

Come nelle specie arboree da frutto anche nell'olivo si ricorre alla propagazione gamica (riproduzione o per seme) per la produzione di portinnesti franchi o semenzali e per il miglioramento genetico, mentre la propagazione agamica (moltiplicazione o autoradicazione) viene adottata per la produzione di piante appartenenti alle varietà coltivate.

Quest'ultime, infatti, non possono essere propagate per seme in quanto sono caratterizzate da un elevato grado di eterozigoti, per cui le piante ottenute con questo metodo sono diverse tra loro e dalla pianta madre per un numero più o meno elevato di caratteri morfologici e biologici. Altro motivo per cui non si ricorre alla propagazione gamica è rappresentato dalla fase giovanile, durante la quale le piante sono incapaci di differenziare gemme a fiore e quindi di produrre. Tale fase, nell'olivo, è particolarmente lunga in quanto può protrarsi per un periodo di 10-12 anni, ma può essere attualmente ridotto, come vedremo più avanti, attraverso particolari procedure adottate per il miglioramento genetico mediante incrocio e selezione.

Dal punto di vista vivaistico la riproduzione dell'olivo può essere schematizzata nelle seguenti fasi: raccolta e conservazione dei noccioli, preparazione del semenzaio e semina, trapianto in nesto, innesto e cura delle piante innestate, allevamento in piantonaio o in contenitori, trapianto, confezionamento e spedizione delle piante.

Ma ancor prima di illustrare le suddette fasi è opportuno esaminare brevemente le condizioni pedoclimatiche idonee e i principali requisiti per l'ubicazione del vivaio.

2.1. Requisiti del vivaio

Innanzitutto il vivaio dovrà essere localizzato in una zona dove le temperature invernali non siano troppo basse e soprattutto non si manifestino per periodi prolungati in quanto le giovani piantine di olivo potrebbero essere danneggiate. E' importante quindi che sia protetto dai venti freddi del nord piuttosto ricorrenti in vaste zone dell'Italia centrale. Altro fattore molto importante è rappresentato dalle caratteristiche fisico-chimiche del terreno che dovrà essere permeabile, profondo e fresco, non soggetto a ristagni idrici, sciolto ma con una componente argillosa tale da consentire l'estirpazione delle piante con il pane di terra.

Quest'ultimo aspetto ha perso già da alcuni anni la sua importanza, da quando cioè l'olivo, nella maggior parte dei vivai industriali, viene allevato in contenitori.

Per quanto riguarda la composizione chimica un buon terreno destinato a vivaio dovrà avere un basso contenuto in calcare attivo, un pH intorno a 7,5, un buon contenuto in humus (non dovrebbe essere inferiore a 4,5 %) e dei principali elementi minerali, mantenuti sui livelli ottimali attraverso le concimazioni annuali.

Tali condizioni si riscontrano nel pesciatino dove è sorto un fiorente vivaismo olivicolo che soprattutto nel secolo scorso ha prodotto ed esportato piante di olivo non soltanto in tutti i paesi olivicoli del bacino del mediterraneo ma anche oltre oceano.

Infine, non trascurabile importanza riveste la disponibilità di maestranze specializzate, soprattutto per l'esecuzione dell'innesto, ma più in generale per tutte le operazioni colturali che, quando eseguite razionalmente, si riflettono positivamente sulla qualità del prodotto finale.

2.2. Raccolta e conservazione dei noccioli

La raccolta dei noccioli di olivo veniva effettuata in passato da piante spontanee di oleastro, olivastro (in particolare nel meridione) e da

varietà coltivate. I vivaisti del pesciatino hanno da sempre preferito i noccioli prelevati dalle varietà coltivate nelle provincie toscane in quanto i semenzali hanno dimostrato di essere più resistenti al freddo di quelli ottenuti da oleastro e da varietà coltivate nel meridione.

Particolare importanza riveste la scelta delle cultivar in quanto è stato osservato che la germinabilità dei semi, varia, appunto, in funzione delle diverse varietà. Nel pesciatino vengono preferiti i noccioli delle cultivar “Frantoio” e “Moraiolo” la cui germinabilità oscilla dal 35 al 50 %.

E' opportuno mettere in evidenza che la germinabilità dei semi varia anche in funzione dell'epoca di raccolta dei noccioli. Raccolte precoci, effettuate prima della invaiatura delle drupe, aumentano sensibilmente la germinabilità dei semi (Scaramuzzi, 1958; Basso, 1962) che possono raggiungere valori di oltre l'80%, quando i noccioli, oltre ad essere raccolti precocemente, vengono sottoposti anche a scarificazione meccanica (Cimato, 1999).

Dal punto di vista pratico l'approvvigionamento dei noccioli avveniva, in passato, attraverso i frantoi, quando la frangitura era effettuata con “molitura a macelli”. Attualmente si procede alla raccolta diretta delle olive che vengono private della polpa mediante denocciolatrici. I noccioli vanno poi lavati accuratamente con acqua o meglio con una soluzione di soda caustica all'1% per asportare le sostanze oleose residue che potrebbero ostacolare la penetrazione dell'acqua quando vengono messi a germinare. Dopo il lavaggio, i noccioli si lasciano asciugare in un ambiente ventilato (Figura 1) e conservati in sacchi o in contenitori di vario tipo, in locali piuttosto freschi o in frigorifero alla temperatura di circa 4°C fino all'epoca della semina. In tali condizioni la germinabilità si conserva per 2-3 anni fino a 4 anni (Scaramuzzi, 1957).



Figura 1. Noccioli di olivo dopo la raccolta.

2.3. Preparazione del semenzaio e semina

Il semenzaio è il settore del vivaio dove vengono fatti germinare i semi. Nelle zone temperato-calde delle regioni meridionali il semenzaio è generalmente situato all'aperto, in apposite airole, con terreno sciolto e ben drenato, provvisto di impianto di irrigazione e reti ombreggianti per proteggere le giovani piantine nelle giornate di intensa illuminazione.

Nelle regioni centrali, con inverni più rigidi, il semenzaio è costituito da apposite strutture sopraelevate (larghe circa m. 1,0-1,20, profonde cm. 70 - 80 e di lunghezza variabile) (Figura 2) in muratura a ridosso di muri o costruzioni esposte a sud, ricoperte con vetro e stuoie di cannicci.



Figura 2. Letti di semina installati all'interno di una struttura di legno ricoperta con polietilene, dove sono visibili numerose piantine (semenzali) oramai prossime all'estirpazione. La struttura di protezione e i letti di semina sono stati preventivamente aperti per favorire l'acclimatazione delle piantine alle condizioni esterne.

Il letto di semina è costituito da uno strato drenante di circa cm. 10, sul quale viene deposto un secondo strato di terreno sabbioso o terriccio molto sciolto di circa 30 - 40 cm ed eventualmente un ulteriore strato di 10 cm costituito sabbia sterilizzata per evitare eventuali attacchi di funghi parassiti, quali *Pithium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*.

I noccioli, prima della semina vanno opportunamente trattati per superare la dormienza dei semi che nell'olivo, come in altre drupacee, può essere di due tipi:

a) dormienza embrionale, determinata da complessi processi fisiologici che determinano nel seme un accumulo di inibitori, come l'acido abscissico, e la contemporanea diminuzione di fitoregolatori ad azione stimolatrice, come le auxine, gibberelline e citochinine. Questo tipo di dormienza viene superato mediante la conservazione dei semi (vernalizzazione) che, come è già stato detto, può essere effettuata in ambienti umidi e freschi o in celle frigorifere alla temperatura di 4°C. Nei programmi di miglioramento genetico, i noccioli vengono stratificati in torba e perlite alla temperatura di 4°C. per circa un mese.

b) dormienza fisico-meccanica dovuta all'endocarpo legnoso che esercita una duplice azione: impermeabilità ai gas e all'acqua e una resistenza meccanica alla fuoriuscita della plantula.

Il superamento della suddetta dormienza si ottiene immergendo i noccioli per vari giorni in acqua che consente di eliminare i semi vani (che galleggiano) e ammolliare i tegumenti legnosi. Quest'ultimi possono, inoltre, essere incrinati con la scarificazione, avendo cura di non danneggiare il seme. Oltre all'immersione in acqua e alla scarificazione, si possono applicare trattamenti chimici con soluzioni di acido solforico al 10 % o con soda caustica al 3 - 5 %.

La semina si effettua entro la prima metà di settembre, ponendo sulla sabbia sterilizzata uno

strato continuo di 1 - 2 cm di noccioli (2 - 3 kg/m²), avendo cura di mantenere il substrato costantemente umido attraverso frequenti annaffiature, soprattutto durante la prima fase di accrescimento delle giovani piantine.

Oltre alle annaffiature si dovranno applicare tutti quegli accorgimenti atti a garantire una buona crescita dei semenzali, quali la copertura del semenzaio con stuoie o cannicci durante le giornate invernali più rigide, ripetute scerbature ed eventuali diradamenti qualora i semenzali risultassero troppo fitti; inoltre, è opportuno procedere all'ombreggiamento durante le ore più calde e all'esecuzione di trattamenti antiparassitari, qualora si dovessero manifestare infezioni fungine (cicloconio) o attacchi da insetti.

2.4. Trapianto in nestaoio

Quando i semenzali hanno raggiunto lo sviluppo di 3 - 5 cm di lunghezza e sono provvisti di 5 - 8 foglioline (Figura 3), vengono trapiantati in nestaoio. Questa operazione viene generalmente effettuata dalla fine di marzo a tutto il mese di aprile, poiché si preferisce trapiantare semenzali molto giovani per facilitare l'attecchimento.



Figura 3. Semenzali di olivo in attesa del trapianto nel nestaoio. Da notare l'ottimo sviluppo del germoglio e dell'apparato radicale.

Il nestaio, in gergo denominato “nestaiola”, è costituito da aiole larghe circa 1 m, separate tra loro da solchi larghi 30 – 40 cm e profondi 20 cm per garantire lo sgrondo delle acque e il passaggio delle maestranze addette al trapianto e all’innesto dei semenzali, nonché all’esecuzione di eventuali altre operazioni culturali. Le piantine vengono disposte alla distanza di circa 10 cm sulla fila e 10 cm tra le file, con una densità di circa 200 semenzali per m² (Figura 4).

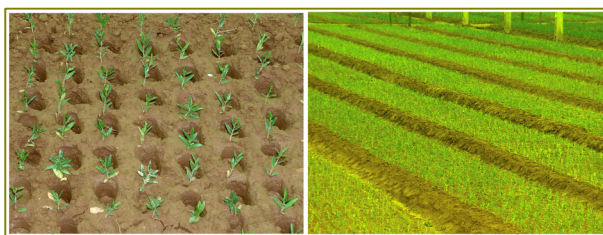


Figura 4. Semenzali trapiantati nelle aiole del nestaio con una densità non eccessiva per favorire un buon accrescimento del semenzale e l’operazione di innesto.

Applicando le normali cure colturali (irrigazione, concimazione se necessaria, trattamenti antiparassitari), alla fine del primo anno dall’impianto (Figura 5) i semenzali dovrebbero avere raggiunto lo sviluppo necessario (almeno 5 mm di diametro o più) per l’esecuzione dell’innesto.

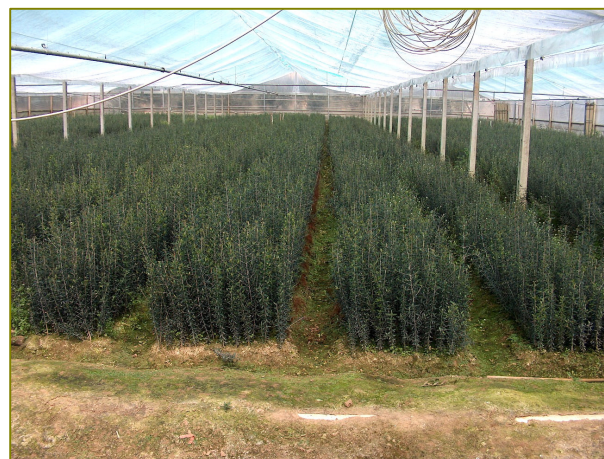


Figura 5. Semenzali di un anno poco prima dell’innesto “a penna” che viene eseguito generalmente all’inizio di aprile.

Propagazione per seme adottata nel miglioramento genetico

Nel miglioramento genetico dell’olivo, allo scopo di ridurre i tempi della fase giovanile che attraversano i semenzali ottenuti da incroci controllati, sono state studiate procedure che consentono di valutare l’esito degli incroci nel più breve tempo possibile (Rallo, 1995; 1999; Lavee et al., 1996).

Merita di essere esaminata sinteticamente la procedura adottata nel programma di miglioramento genetico dell’olivo avviato fin dal 1990-91 dall’Università di Cordova in collaborazione con il CIFA-Alameda del Obispo dell’IFAPA (Junta dell’Andalusia). Il gruppo di ricercatori costituito da agronomi e genetisti (Rallo, Barranco, Leon, De la Rosa e Santos-Antunes) hanno innanzitutto constatato che la vigoria dei semenzali e l’adeguata scelta dei genitori adottati nei programmi di incrocio controllato, possono sensibilmente influire sulla riduzione del periodo giovanile. E’ stato visto, inoltre, che la forzatura di semenzali per un periodo di sei mesi in serra, sottoposti ad un’illuminazione continua, rappresenta un buon metodo di preselezione in quanto consente di scartare i semenzali più deboli caratterizzati da un periodo giovanile più lungo. Trapiantando i semenzali più vigorosi in pieno campo si ottiene la prima fioritura a 29 mesi circa dalla germinazione con una sensibile riduzione della fase giovanile rispetto alla normale tecnica vivaistica. Sulle piante in pieno campo si procede quindi alla registrazione di una serie di dati fenologici, agronomici e tecnologici. Viene poi attribuita fondamentale importanza alla riduzione della vigoria, alla precocità di entrata in produzione, alla elevata produttività delle piante, nonché alla resa e qualità dell’olio. Notevole attenzione viene, inoltre, rivolta alla resistenza all’occhio di pavone, alla verticillosi e infine anche all’attitudine alla raccolta meccanica.

Da tale programma è stata isolata una serie di selezioni interessanti sia sotto il profilo agronomico che tecnologico, tra le quali la UC 8 - 7 brevettata con il nome di “Sikitita,” ottenuta dall’incrocio di “Picual” x “Arbequina” e caratterizzata da una vigoria inferiore di circa 1/3 rispetto alla ben nota varietà Arbequina.

2.5. Innesto e cura delle piante innestate

L'innesto è l'operazione mediante la quale i semenzali (portinnesto) recisi a 10 - 12 cm dal suolo, vengono opportunamente uniti con una varietà prescelta (nesto) in modo da formare un individuo bimembre.

Tale operazione viene eseguita dalla fine di marzo per tutto il mese di aprile. Come vedremo più avanti nel pesciatino viene preferito l'innesto a corona con una sola marza denominato "a penna" o a "becco di luccio" o "clarino". Viene eseguito da maestranze specializzate che si sono formate sul posto e che operano in squadre che si spostano da un vivaio all'altro.

Ad attecchimento avvenuto, sulla marza si lascia sviluppare un solo germoglio che andrà a costituire il fusto della futura pianta (Figura 6). Inoltre dovranno essere eliminati tutti i germogli che si svilupperanno sotto l'innesto, cioè dal portinnesto, ripetendo questa operazione ogni qualvolta si rendesse necessaria.

Le cure colturali che normalmente vengono applicate al nestaio consistono nelle periodiche sarchiature per estirpare le erbe infestanti, irrigazioni, concimazioni azotate se necessarie, trattamenti antiparassitari specialmente contro il cicloconio.

Alla fine della stagione vegetativa le piante raggiungono normalmente un'altezza variabile da 50 cm ad 1m e sono pronte per essere trasferite in contenitore o piantonaio.

2.6. Allevamento in contenitore o nel piantonaio

Alla fine dell'inverno – inizio primavera, le piante innestate, di circa 1 anno (astoni), vengono trapiantate dal nestaio e trasferite in contenitore (Figura 7, 8) o nel cosiddetto piantonaio, dove possono permanere altri 2 – 3 anni prima di essere messe a dimora. L'allevamento in contenitore di plastica si è diffuso già da qualche decennio, almeno nelle zone ad elevata specializzazione vivaistica, ed ha praticamente sostituito l'allevamento in piantonaio per i



Figura 6. Marze pronte per essere innestate (in alto), inserimento della marza sul portinnesto (al centro), innesto completato (in basso). Per favorire il contatto delle zone cambiali il punto di innesto viene legato con nastro di gomma e ricoperto con mastice specifico.

molteplici vantaggi che offre. Infatti, i contenitori sono riempiti con un substrato artificiale, in sostituzione del terreno, rappresentato in generale da materiali leggeri come torba e pomice, che facilitano le operazioni di trasporto delle piante anche per lunghe distanze; inoltre permette di

lasciare indisturbato l'apparato radicale per cui il trapianto a dimora può essere effettuato anche in un periodo non del tutto appropriato, riducendo il rischio di fallanze.

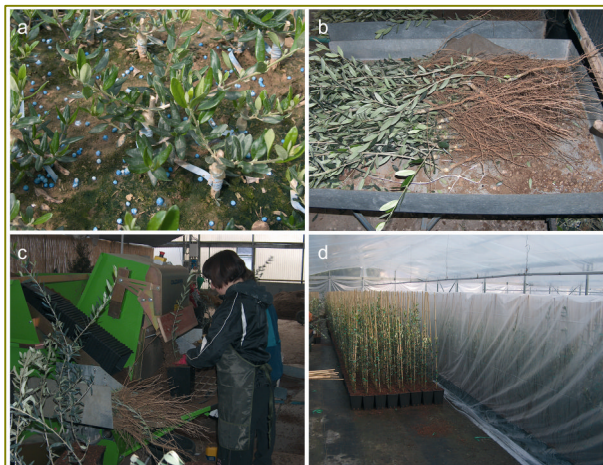


Figura 7. Accrescimento e trapianto dei semenzali innestati. A: dei due germogli sviluppati dalla marza, uno sarà eliminato e l'altro, il migliore, costituirà il germoglio principale della nuova pianta; B: piante di un anno dall'innesto in attesa, a radice nuda, del trapianto in contenitore. C: trapianto a macchina in contenitore nel substrato a base di torba. D: piante innestate dopo il trapianto in serra di acclimatazione, all'inizio del secondo anno di accrescimento in vivaio.



Figura 8. Piante di olivo di due anni di innesto in attesa della commercializzazione.

Un problema derivante dall'estirpazione dal nestaiolo delle piante a radice nuda (Figura 7), è rappresentato dal possibile rischio che un'elevata traspirazione delle foglie possa determinare stati di stress idrico molto negativi sulla ripresa

vegetativa, a prescindere dall'allevamento in contenitore o in piantonaio. Pertanto, le piante subito dopo il trasferimento in contenitore devono essere trasferite in serre dove la temperatura e soprattutto l'umidità vengono controllate (Figura 7), in modo da favorire una rapida ripresa vegetativa. Per evitare il suddetto problema, alcune aziende vivaistiche trapiantano i giovani semenzali direttamente in contenitore, anziché nelle airole del nestaiolo, dove avviene anche l'operazione di innesto. In questo modo le piante completano il ciclo di allevamento in contenitore senza correre alcun rischio di stress.

Nel caso in cui le piante vengano allevate in piantonaio, gli astoni, estirpati con pane di terra dal nestaiolo, vengono trapiantati nel terreno, legati ad un supporto, generalmente costituito da una canna, e disposti in filari alle distanze di circa 40 - 50 cm sulla fila e circa 1 m tra le file.

Per quanto riguarda la potatura delle piante durante l'allevamento in vivaio, una volta si usava spuntare l'astone a m 1,50-1,70, all'altezza cioè dell'impalcatura del vaso, essendo questa la forma di allevamento adottata negli impianti tradizionali. Pertanto tutti i rami che sviluppavano al disotto di tale impalcatura, venivano cimati se deboli, eliminati se vigorosi. Attualmente, per gli impianti intensivi, con forme di allevamento libere, a bassa impalcatura della chioma, gli astoni non vengono più spuntati, ma lasciati sviluppare liberamente con rami che rivestono l'asse centrale fin dalla base, idonei per le moderne forme di allevamento. Per quanto riguarda le cure colturali sono pressoché le medesime di quelle applicate nel nestaiolo.

2.7. Trapianto, confezionamento e spedizione dei piantoni di olivo

Come specificato in precedenza l'allevamento in piantonaio è pressoché caduto in disuso. Dove, però, questo metodo è ancora utilizzato devono essere seguite delle regole che garantiscano un buon comportamento delle piante dopo la messa a dimora nell'oliveto. La permanenza in

piantonaio delle piante innestate che in passato si protraeva fino a 5 - 6 anni, in quanto venivano vendute già impalcate per l'allevamento a vaso, attualmente non va oltre il secondo anno e raramente possono raggiungere il terzo anno di età.

Il trapianto deve essere effettuato con pane di terra ed è per questo motivo che il terreno deve contenere una certa componente argillosa per assicurare la necessaria coesione con l'apparato radicale. Per tale operazione, normalmente eseguita a mano, possono essere adottate le trapiantatrici usate per le piante ornamentali che consentono di ridurre sensibilmente i costi di trapianto. L'apparato radicale, una volta imballato con paglia, viene attualmente confezionato in reti di plastica. La parte aerea viene potata riducendone le dimensioni se troppo sviluppata allo scopo di limitare la traspirazione.

Per spedizioni a brevi distanze le piante potranno essere riunite in fasci avvolti con fogli di plastica. Per lunghe distanze, come ad es. oltre oceano, vengono comunque preferite piante allevate in contenitore.

3. Propagazione agamica

Le tecniche di propagazione agamica presentano il notevole vantaggio di produrre piante geneticamente omogenee tra loro e con la pianta madre (clonazione). Tale requisito è fondamentale in quanto un sistema arboreo sarà tanto più efficiente quanto più elevata è la produttività di ciascuna unità produttiva (pianta); inoltre, è possibile propagare genotipi provvisti di caratteri agronomici e biologici superiori che vengono trasmessi alle nuove piante prodotte. Questi aspetti sono particolarmente importanti soprattutto per la costituzione di moderni oliveti. Sappiamo, infatti, che negli oliveti tradizionali molto frequentemente le piante non sono omogenee tra loro ma sono rappresentate da cultivar-popolazioni nelle quali si evidenziano individui che mostrano variazioni biologiche e agronomiche più o meno accentuate.

La propagazione agamica rappresenta anche uno strumento per il miglioramento genetico delle varie cultivar all'interno delle quali possono essere individuati (selezione clonale) biotipi con caratteristiche agronomiche e biologiche superiori a quelle della cultivar-popolazione, che possono essere così propagati e diffusi commercialmente.

Le tecniche di propagazione agamica impiegate per l'olivo, oltre all'ovulo e al pollone radicato da tempo in disuso, sono attualmente rappresentate dall'innesto, dalla talea (Morettini, 1972) e dalla micropropagazione. Su queste tecniche, la letteratura degli ultimi anni è piuttosto vasta e fornisce un quadro di conoscenze molto approfondite sui vari aspetti fisiologici e applicativi (Fiorino e Mancuso, 2003; Fabbri et al., 2004).

3.1. Ovulo

E' una tecnica di propagazione vegetativa impiegata fino a prima degli anni '60 del secolo scorso ed oggi praticamente abbandonata. Come è noto, l'ovulo è una particolare iperplasia che si forma principalmente alla base del tronco dell'olivo in seguito ad attività proliferative, soprattutto intorno a iniziali gemmarie e radicali; può avere dimensioni piuttosto elevate, variando da alcune centinaia di grammi fino a qualche kg di peso. La sua caratteristica principale, di produrre germogli sulla parte superiore e radici avventizie su quella inferiore, ne ha fatto nel passato un organo importante per la propagazione dell'olivo.

La tecnica di prelievo dalla ceppaia era abbastanza laboriosa e doveva essere eseguita con una certa competenza. Dopo l'asportazione degli ovuli verso la fine dell'inverno, era importante levigare e disinfettare la ferita provocata sulla ceppaia. Gli ovuli erano quindi ripuliti, ricoperti con una poltiglia di argilla e letame maturo e collocati, rispettando la polarità con cui erano stati prelevati, in buche profonde alcuni centimetri riempite con una miscela di terreno e letame. Alla comparsa dei nuovi germogli, veniva

prescelto quello più vigoroso che avrebbe costituito il fusto e quindi la chioma della nuova pianta. Con questa tecnica di propagazione era importante accertare se la pianta dalla quale veniva prelevato l'ovulo era stata ottenuta da talea o da innesto, per garantire la rispondenza genetica delle nuove piante prodotte.

La scarsa produttività vivaistica, la laboriosità dell'operazione, i traumi e le ferite prodotte alla ceppaia costituivano i principali problemi di questa tecnica che ha riscosso sempre meno interesse, anche in conseguenza della sempre maggiore diffusione della propagazione per talea.

3.2. Pollone radicato

La tecnica consiste nell'interrare i polloni che si sviluppano alla base del tronco di piante adulte, una volta accertata la loro origine (se da talea o da innesto). Alla base del pollone interrato, specialmente se questo viene sottoposto ad una strozzatura con filo di ferro o un'incisione anulare, si formano, abbastanza facilmente, le radici. La rizogenesi è verosimilmente favorita da una minore differenziazione dei tessuti eziolati, da un maggiore accumulo di auxine endogene, sensibili alla luce e da un più facile sviluppo delle radici a seguito della maggiore disponibilità di carboidrati al di sopra della strozzatura. Alla fine del periodo di accrescimento il pollone radicato viene reciso al di sotto del nuovo apparato radicale andando così a costituire, ormai, una nuova pianta geneticamente identica a quella della varietà prescelta. Anche questa tecnica è stata abbandonata da molti anni per la scarsa produttività e la ridotta efficienza dal punto di vista vivaistico.

3.3. Innesto

L'innesto è il metodo di propagazione largamente adottato per l'olivo fino alla metà degli anni '60, cioè, fino a quando è iniziata la diffusione, su scala vivaistica, della propagazione per talea mediante la tecnica della nebulizzazione.

Attualmente tale tecnica ha decisamente sorpassato la propagazione per innesto, in quanto si stima che la produzione italiana di piante di olivo sia ottenuta per il 40 % circa per innesto e il restante 60 % per talea mediante nebulizzazione. Esistono ormai vivai o grosse aziende vivaistiche specializzate per la produzione di piante di olivo esclusivamente per talea mediante nebulizzazione, in grado di mettere a disposizione del mercato vivaistico alcuni milioni di piante all'anno.

Ciononostante le piante innestate continuano ad avere, almeno nel nostro paese, un loro mercato, sia perché ritenute più idonee per gli ambienti caratterizzati da primavera-estate siccitosa, con terreni poveri e ciottolosi, sia per propagare le cultivar che rispondono male alla moltiplicazione per talea.

Tralasciando di esaminare i vecchi metodi usati soprattutto nel meridione per il recupero di olivastri o di oleastri, nonché dei cormoni, usati in passato nel leccese, verranno illustrati brevemente i tipi di innesto che venivano e vengono tuttora largamente adottati dai nostri vivaisti.

3.3.1. Tipi di innesto

Gli innesti applicabili all'olivo sono diversi e come per le specie arboree da frutto possono ricondursi alle ben note categorie: innesti a gemma e a marza e tra questi gli innesti a scudo, a corona e ad intarsio. Quello che, però, ha trovato una maggiore applicazione dal punto di vista pratico è l'innesto a corona con una sola marza, detto "a penna" o a "becco di luccio" o a "becco di clarino", largamente adottato nei vivai olivicoli soprattutto del pesciatino.

3.3.1.1. Innesto a corona con una sola marza

E' il tipo di innesto adottato sui semenzali dopo un anno di permanenza nel nestoio, quando hanno raggiunto il diametro di circa 5 - 10 mm. Nel pesciatino viene eseguito nel mese di aprile, anticipando o posticipando tale epoca a seconda

dell'andamento stagionale o delle condizioni ambientali della località dove è ubicato il vivaio. In ogni caso i semenzali, per essere innestabili, devono avere iniziato l'attività vegetativa, cioè essere "in succhio" ovvero nella condizione in cui la corteccia si distacca facilmente dall'alburno.

La manualità dell'innesto consiste nel recidere la piantina a 8 - 10 cm dal suolo con un taglio leggermente obliquo e, sul bordo più basso del taglio, viene effettuata una incisione longitudinale della corteccia, lunga 10 - 15 mm, che serve per l'inserzione della marza. I due lembi di corteccia devono essere facilmente sollevabili dal cilindro centrale; tale condizione si realizza quando la piantina ha ripreso l'attività vegetativa.

Le marze vengono prelevate da rami di un anno posti alla periferia della chioma di piante in produzione. Sono provviste generalmente di due nodi dei quali, quello più basso viene defogliato, mentre a quello superiore vengono lasciate due foglie, con lamina fogliare ridotta di circa 1/3. Nella zona basale della marza, a partire dal nodo più basso, viene praticato un taglio obliquo in modo che l'estremità assuma la forma a penna o a becco di clarino. La marza viene quindi inserita tra i lembi di corteccia del soggetto con la zona del taglio rivolta verso l'interno, facendo in modo che le zone cambiali del soggetto e nesto siano ben aderenti tra loro. L'innesto viene quindi legato e ricoperto con cera o appositi mastici per impedire l'evaporazione e l'eventuale disseccamento dei lembi di corteccia prima dell'attecchimento (Figura 6).

Questo tipo di innesto, anche se di facile realizzazione, viene eseguito da personale specializzato che opera in gruppi di tre persone: la prima è addetta alla preparazione delle marze, la seconda esegue l'innesto e la terza provvede alla legatura.

Nel pesciatino, dove viene adottato esclusivamente questo tipo di innesto, la percentuale di attecchimento è generalmente molto alta, aggirandosi intorno al 100 %.

3.3.1.2. Innesto ad intarsio

L'innesto ad intarsio o ad incastro viene usato esclusivamente per il reinnesto di piante adulte quando si voglia cambiare varietà. In realtà si usa soltanto in casi particolari come potrebbe talvolta accadere che nella fornitura di un lotto di piante ve ne siano alcune appartenenti a varietà diversa da quella ordinata.

Per la sua esecuzione si procede con le stesse modalità adottate per le piante da frutto, praticando su branche o sul fusto di giovani piante un taglio trasversale all'altezza prestabilita. A partire dal margine di tale taglio vengono effettuate due incisioni convergenti a "v" in modo da asportare una piccola sezione del legno. Ne risulta che nella zona incisa viene aperta una cavità a forma di piramide triangolare con l'estremità rivolta verso il basso.

La marza, ricavata da rami di 1 o 2 anni, viene modellata in modo che la parte inferiore, mediante due tagli convergenti, assuma una forma triangolare analoga a quella ricavata sul soggetto, dopo di che la marza viene incastrata sul soggetto facendo attenzione che le zone cambiali siano perfettamente a contatto tra di loro. Si procede quindi alla copertura dei tagli con cera e mastice e se si è operato bene non necessita di legature.

3.3.1.3. Altri tipi di innesto

Oltre agli innesti descritti si può ricordare l'innesto a gemma o scudo che, sebbene molto diffuso per l'innesto del pesco o di altre drupacee, non viene adottato per l'olivo se non in passato per innestare piante spontanee. In ogni caso la procedura è identica a quella adottata per le drupacee.

Per quanto concerne altri tipi di innesto quali l'innesto a spacco semplice, a cella, ad anello o zufolo e a pezza, già descritti dal Morettini nel trattato di Olivicoltura (1972), non si ritiene opportuno esaminarli in questa sede in quanto venivano saltuariamente adottati in passato per

risolvere casi particolari e non rivestono attualmente nessuna importanza. Un cenno merita di essere invece fatto per l'innesto - talea.

3.3.1.4. Innesso – talea

E' una tecnica con la quale una marza di una varietà a difficile radicazione viene innestata (generalmente a doppio spacco inglese o a "penna") (Iacoboni e Fontanazza, 1976) su talee di un portinnesto a facile radicazione. Gli innesti-talea vengono quindi trasferiti nel cassone riscaldato dove l'elevata e costante umidità e una temperatura ottimale consentono la contemporanea saldatura dell'innesto e la radicazione del portinnesto. Questa tecnica presenta il vantaggio, rispetto all'innesto su semenzale, di richiedere un tempo minore per l'attecchimento dell'innesto e, in particolare, di produrre piante caratterizzate da una maggior uniformità genetica del portinnesto evitando così anche quelle più o meno evidenti differenze biologiche e agronomiche derivanti dall'eterogeneità dei semenzali.

3.3.2. Portinnesti

Purtroppo, nell'olivo, le ricerche finora condotte sui portinnesti sono molto carenti e frammentarie in quanto la necessità di ridurre la mole delle piante a differenza di alcune specie da frutto, come pero, melo, ciliegio ecc., nell'olivo non è stata molto sentita. Per cui secondo la tradizione affermata da decenni tra i vivaisti il portinnesto maggiormente per non dire esclusivamente usato è il franco. Infatti ad eccezione dell'oleastro e l'olivastro utilizzati in passato nel meridione, il franco ottenuto da varietà coltivate rappresenta il portinnesto classico dell'olivo. La preferenza di quest'ultimo nelle aree olivicole dell'Italia centrale, come è già stato accennato, deriva dal fatto che è risultato più resistente al freddo rispetto all'oleastro e olivastro, nonché delle varietà coltivate nel meridione.

Le prime ricerche effettuate sui portinnesti

dell'olivo sono state condotte in California da Hartmann nel 1958 e proseguite insieme a Whisler nel 1970. Questi autori misero a confronto piante innestate e autoradicate di diverse varietà e videro che tra queste esisteva una diversa variabilità nei confronti della vigoria. Infatti le cv. "Mission" e "Manzanilla" innestate erano più vigorose delle piante autoradicate, mentre l'esatto contrario è stato rilevato per la cv. "Gordales". I suddetti Autori, per ridurre la vigoria, hanno valutato la possibilità di introdurre tra portinnesto e nesto un terzo bionte, usando come intermediari nanizzanti "Dwarf A", "Dwarf D" e "Dwarf H". Inoltre Hartmann e collaboratori (1971), sempre in California, usando come portinnesti semenzali selezionati derivati da *Olea oblonga* hanno constatato la possibilità di indurre sulle cultivar innestate una certa resistenza al *Verticillium dahliae*.

In Italia l'interesse per la riduzione delle dimensioni della chioma nell'olivo è stato manifestato più recentemente soprattutto in funzione del sensibile aumento dei costi della manodopera per la raccolta delle drupe, che tra l'altro è divenuta sempre più difficilmente reperibile. Tale problema è stato affrontato con una intensa attività di ricerca sulla raccolta meccanica che tuttavia, nonostante i favorevoli risultati acquisiti in questi ultimi anni, non è stato completamente risolto. Pertanto contemporaneamente alla ricerca di varietà da olio con dimensioni ridotte sono state condotte ricerche volte ad individuare portinnesti nanizzanti. Tra questi vanno segnalati due soggetti che sono risultati capaci di influenzare la vigoria delle cv. "Ascolana Tenera" e "Giarraffa" dei quali il clone F17 (Fontanazza et al., 1992) è quello che ha indotto un maggior effetto nanizzante sulla cv. "Giarraffa". Tale clone è stato proposto anche per la produzione diretta di olive da olio negli impianti superintensivi ed è attualmente in corso di valutazione (Godini, 2006; Rallo, 2006; De la Rosa et al., 2006).

Più recentemente ricerche condotte da Rugini e

collaboratori, (1996), hanno prospettato interessanti risultati in merito alla individuazioni di portinnesti nanizzanti anche per l'olivo. Il lavoro è stato svolto partendo da piante della cv. "Leccino" e "Frantoio" che, trattate con raggi gamma, hanno consentito di selezionare individui mixoploidi e tetraploidi dai quali sono stati isolati i mutanti "Leccino Compact" e "Leccino Dwarf". Tali mutanti, usati come portinnesti, hanno mostrato di ridurre drasticamente la vigoria della cv "S. Felice" (Pannelli et al., 1992). I suddetti risultati sono stati confermati da Caruso et al. (2006) in un interessante lavoro dal quale è emerso che il "Leccino Dwarf" possiede notevoli potenzialità di essere impiegato come portinnesto nanizzante dell'olivo.

3.4. Propagazione per talea

L'uso della talea nella propagazione dell'olivo ha mostrato nel tempo una notevole evoluzione caratterizzata principalmente dal diverso stadio di differenziazione dei tessuti. Pertanto, da una talea legnosa, costituita da tessuti ben differenziati, impiegata molti decenni fa, siamo passati ad una talea semilegnosa i cui tessuti non sono ancora completamente lignificati.

3.4.1. Talea legnosa

Questa tecnica si basa sulla capacità di grosse talee (3,5 cm e più di diametro) prelevate da branche di una certa età, di produrre con relativa facilità radici avventizie e di possedere numerose gemme latenti e avventizie grazie alle quali una qualsiasi porzione di ramo, branca e tronco può dar luogo ad una pianta completa, provvista di apparato radicale e di una chioma normalmente sviluppata. Tale capacità va attribuita al potere rizogeno dei tessuti che è tanto più elevato quanto più vecchi sono i rami da cui si prelevavano le talee. Per lungo tempo, fino verso la metà del secolo scorso, l'olivo era dunque propagato mediante talee di alcuni anni di età e di un certo spessore, le quali, poste in posizione

verticale o orizzontale (Figura 9) in un terreno idoneo (fresco e permeabile), producevano radici avventizie e sviluppavano nuovi germogli.

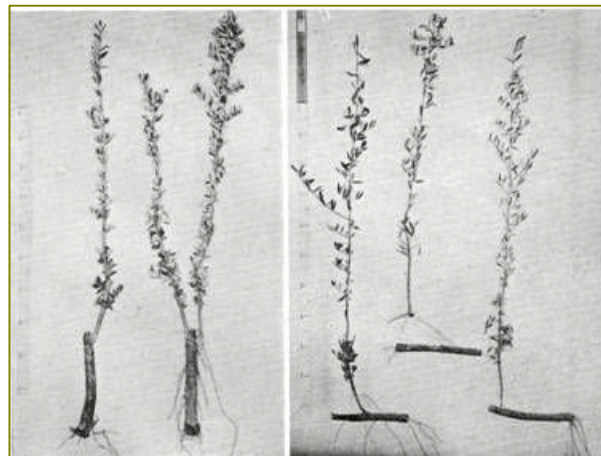


Figura 9. Barbatelle di olivo ottenute da grosse talee legnose collocate in posizione verticale e orizzontale. (da Scaramuzzi, 1962).

In alcune aree della Spagna (Andalusia) venivano utilizzate talee di 2 – 3 m, interrate per 40 – 50 cm e con il tronco ricoperto di terreno per mantenere l'umidità (Figura 10).



Figura 10. "Estaca planton" utilizzata nel passato in Andalusia (Spagna). Tutto il tronco della talea di 2 – 3 m di altezza veniva ricoperto di terra per ridurre lo stress idrico.

Uno dei maggiori problemi della talea legnosa, oltre al tempo necessario per ottenere una nuova

pianta, era rappresentato dalla difficoltà di reperire una sufficiente quantità di materiale di partenza che nella maggior parte dei casi era quello derivante dalle operazioni di potatura. Questa tecnica trovava forti limitazioni nel caso in cui si dovessero produrre quantitativi di piante molto elevati.

3.4.2. Talea semilegnosa

Gli sviluppi del settore vivaistico avvenuti dalla metà del 1900 fino ad oggi, hanno ulteriormente contribuito alla messa a punto di tecniche ad elevata efficienza in termini di quantità, e soprattutto di qualità, delle piante prodotte, come la propagazione per talea semilegnosa. Questa tecnica possiede un notevole potenziale vivaistico e consente di ottenere piante di olivo capaci di entrare in produzione già dopo 2 – 3 anni dall'impianto.

I vantaggi della propagazione per talea semilegnosa sono costituiti dall'uniformità genetica delle piante prodotte, dalla possibilità di realizzare più cicli di propagazione durante l'anno con costi di produzione inferiori e tempi più brevi rispetto all'innesto, da un buono stato sanitario, un equilibrato sviluppo dell'apparato radicale e della chioma, e dalla possibilità di produrre grandi quantità di piante. Da molti decenni questa tecnica di propagazione è estesamente impiegata e grazie all'elevato livello di specializzazione permette di ottenere piante di notevole qualità biologica e agronomica.

L'utilizzazione della talea semilegnosa ha dato una svolta significativa al vivaismo olivicolo ed è iniziata negli anni '50 del 1900, quando Hartmann, in California, sperimentò con successo la propagazione dell'olivo impiegando piccole talee semilegnose prelevate da germogli di un anno. Il grande vantaggio di queste talee era rappresentato dalla possibilità di poterne ottenere, ogni anno, quantitativi molto più elevati rispetto alle talee legnose, senza arrecare alcun danno alle piante madri. Il maggiore problema nell'utilizzazione delle talee semilegnose era

costituito dalla loro minore capacità rizogena rispetto alle talee legnose e che, essendo provviste di foglie, dovevano essere mantenute in un ambiente ad elevata e costante umidità relativa. Grazie agli oramai già noti effetti rizogeni dei trattamenti auxinici sull'olivo (Hartmann, 1946) e alla messa a punto della nebulizzazione, furono ottenuti i primi interessanti risultati che poi avrebbero rivoluzionato il vivaismo olivicolo in tutto il mondo. Intorno al 1960 queste nuove scoperte si diffusero rapidamente anche in Italia grazie alle prime informazioni di Breviglieri (1957, 1958) e alla sperimentazione condotta da Loreti (1962) con il primo impianto di nebulizzazione messo a punto presso l'allora Istituto di Coltivazioni Arboree dell'Università di Pisa e Loreti e Hartmann (1964) in California presso l'Università di Davis. La nuova tecnica di propagazione per talea si presentò, quindi, come una valida alternativa all'innesto su semenzale, tanto che in alcune zone, quest'ultimo, fu gradualmente sostituito. Infatti, da quel periodo la propagazione per talea ha reso possibile produrre grandi quantitativi di piante e l'intero comparto vivaistico olivicolo ha compiuto un salto di qualità raggiungendo una dimensione su scala industriale, in particolare in quelle aree caratterizzate da un'olivicultura moderna e intensiva.

La talea semilegnosa di olivo è rappresentata da una porzione di germoglio di un anno di età, robusto e ben differenziato, prelevato da zone ben soleggiate della chioma di piante madri di origine genetica nota, sane, in buono stato nutritivo e di media vigoria. Le talee, costituite da tessuti semilegnosi, sono provviste di foglie e gemme che garantiscono la produzione di carboidrati (fotosintesi) e auxine endogene, il cui ruolo è fondamentale per il metabolismo cellulare e per l'induzione e sviluppo delle radici.

La lunghezza della talea può variare intorno a 15 – 20 cm ma in generale è costituita da 4 – 5 nodi. Delle foglie presenti vengono lasciate, in generale, le 4 inserite sui due nodi apicali mentre le altre

vengono eliminate. Recentemente, in Spagna, per sopperire alla crescente domanda di piante di olivo per la costituzione di oliveti intensivi e superintensivi (Godini et al., 2006, Loreti, 2007) le talee sono state ridotte di dimensioni (2 – 3 nodi) in modo da ottenerne un maggior numero per germoglio.

Le talee vengono quindi trattate con un prodotto auxinico e successivamente piantate nel substrato di radicazione, in un tunnel situato all'interno di una serra e provvisto di impianto di nebulizzazione. Al termine della radicazione, le talee vengono gentilmente estratte dal substrato e trapiantate in contenitori di circa 1 litro di volume riempiti con torba. Alla fine del primo anno di accrescimento le nuove piantine di circa 50 - 100 cm di altezza vengono travasate in contenitori più grandi (15 x 15 x 20 cm) dove compiono il secondo anno di accrescimento al termine del quale, avendo raggiunto una dimensione di circa 1,5 – 2 m, sono pronte per la commercializzazione.

La formazione delle radici avventizie sulla talea avviene grazie alla "totipotenza" delle cellule vegetali, cioè la capacità di rigenerare un'intera pianta a partire da una sola cellula. Il processo di rizogenesi inizia con l'attivazione di complessi meccanismi fisiologici di induzione radicale e si sviluppa attraverso peculiari modificazioni anatomiche dei tessuti. La capacità di una talea nel produrre radici avventizie dipende innanzitutto da fattori di natura intrinseca ai tessuti, sui quali gli interventi esterni hanno scarsa possibilità di successo. Tra questi, è importante innanzitutto la predisposizione genetica della cultivar a una maggiore o minore capacità rizogena, lo stadio fisiologico e nutrizionale dei tessuti, il bilancio ormonale endogeno al momento del prelievo delle talee. L'intero processo rizogeno è quindi influenzato da molteplici fattori esogeni (tecnici e ambientali), come l'umidità, la temperatura, la luce, la disponibilità di anidride carbonica, il substrato di radicazione, il tipo e la concentrazione di auxina,

le modalità di trattamento, ecc., sui quali, invece, è possibile, entro certi limiti, intervenire per renderli più efficaci sulla rizogenesi.

3.4.3. Rizogenesi delle talee

3.4.3.1. Basi fisiologiche della rizogenesi avventizia

Come evidenziato in precedenza il processo rizogeno è molto complesso e influenzato da numerosi fattori. Un ruolo principale è svolto dagli ormoni ed in particolare dalle auxine, il cui effetto rizogeno è stato scoperto negli anni '30 del secolo scorso. L'acido indolacetico (IAA) è stato identificato come l'auxina naturale ma anche altre auxine di sintesi, come l'acido indolbutirrico (IBA) e l'acido naftalenacetico (NAA) hanno mostrato un'azione rizogena perfino maggiore dell'IAA. Nella formazione delle radici avventizie le auxine sembrerebbero diversamente coinvolte in relazione alla fase del processo di radicazione (Hartmann et al., 2002). In una fase iniziale, durante la quale vengono formati i meristemi radicali, si individuano due momenti importanti in cui entrano in gioco le auxine: un primo periodo, di circa quattro giorni, durante i quali è necessaria una elevata concentrazione di auxina (auxin-active stage) sintetizzata dalle gemme o applicata con trattamenti esogeni; a questo periodo ne seguirebbe un altro, di lunghezza simile al precedente, durante il quale l'auxina non avrebbe più alcun effetto (auxin-inactive stage) sulla formazione dei meristemi radicali. Alcuni ricercatori (Jarvis, 1986) ipotizzerebbero che un'elevata quantità di auxina dopo l'induzione rizogena sarebbe negativa sull'organizzazione del primordio radicale e sul suo accrescimento. Successivamente i primordi radicali cominciano ad allungarsi fino ad emergere dall'epidermide della talea. Dalla letteratura risulta come, in generale, il contenuto auxinico sia più elevato nelle cultivar e nei periodi a maggiore radicazione. Altri ormoni come le citochinine, che stimolano la divisione cellulare, possono avere un effetto

sulla rizogenesi variabile in relazione al rapporto con le auxine. Se il valore è a favore delle auxine sarà favorita la formazione delle radici, se invece prevalgono le citochinine sarà stimolata la differenziazione di gemme avventizie. Le citochinine, comunque, non vengono mai impiegate nei trattamenti alle talee effettuati allo scopo di incrementare la radicazione. Le gibberelline, note per il loro effetto sulla distensione cellulare, a concentrazione elevata inibiscono la rizogenesi ma a concentrazioni basse hanno mostrato su alcune specie un'azione favorevole. Anche questi ormoni non hanno trovato applicazioni a livello vivaistico. Infine l'etilene ha mostrato risulti contrastanti sulla rizogenesi.

Un ruolo importante nel processo rizogeno è svolto anche da altri composti diversi dalle auxine che svolgerebbero un effetto sinergico con queste ultime nel promuovere la radicazione. Questi composti, rinvenuti in molteplici specie arboree, denominati cofattori di radicazione, sarebbero rappresentati da polifenoli i quali, unendosi intimamente alle auxine, formerebbero un complesso auxinifenolico responsabile dell'induzione rizogena. I cofattori avrebbero la funzione di proteggere l'auxina naturale (IAA) dall'ossidazione esercitata dagli enzimi IAA-ossidasi, permettendo così all'ormone di raggiungere nei tessuti una più efficace concentrazione. Secondo Jarvis (1986) i cofattori avrebbero un ruolo importante nella fase iniziale di induzione del processo rizogeno in cui sono necessarie elevate concentrazioni di auxina. Nel caso dell'olivo, anche le poliammine applicate insieme all'auxina sembrerebbero particolarmente importanti sul processo rizogeno, come avrebbero messo in evidenza alcune ricerche effettuate già da alcuni anni (Rugini et al., 1990; Rugini, 1992; Ozkaya e Gelik, 1994).

3.4.3.2. Aspetti anatomici della differenziazione e dello sviluppo delle radici

Le radici avventizie hanno origine

prevalentemente da cellule differenziate situate nella zona esterna al tessuto cambiale e in particolare da cellule del floema secondario, dei raggi midollari, del cambio. Molto importante, ai fini della maggiore o minore capacità rizogena, è il tipo di cellula/e da cui prendono origini i meristemi radicali. Infatti, nei tessuti della talea possono essere presenti cellule rizogene competenti, cioè già provviste delle informazioni necessarie per la loro trasformazione in apice radicale. In questo caso la radicazione avviene facilmente da tali cellule (radicazione diretta), senza presentare problemi significativi. Quando i tessuti sono privi di queste cellule, invece, la radicazione è più difficile poiché la competenza rizogena deve essere indotta artificialmente nelle cellule della talea (radicazione indiretta); questo processo, spesso, non è facile da indurre e caratterizza principalmente i genotipi a difficile radicazione.

Negli studi morfo-anatomici effettuati allo scopo di individuare le cause della diversa attitudine rizogena delle cultivar, fu inizialmente supposto che tale differenza fosse da attribuire alla presenza di strutture particolari nei tessuti della talea che si opponevano alla fuoriuscita delle radici. Le ricerche di Ciampi e Gellini (1958) sembravano confermare questa ipotesi, indicando come causa della minore radicazione l'anello sclerenchimatico presente nel floema che caratterizza i tessuti di numerose specie arboree. In particolare, gli autori arrivarono alla conclusione che l'entità della radicazione dipendeva dalla consistenza e dalla continuità di questo anello, ritenuto un ostacolo fisico allo sviluppo delle iniziali radicali. Tuttavia, è necessario sottolineare che Ciampi e Gellini hanno condotto tali ricerche sulla cv Moraiolo, che ha mostrato frequentemente una scarsa attitudine rizogena. In realtà, più tardi, Sachs et al., (1964) e successivamente Fabbri (1980) dimostravano che le radici potevano formarsi e fuoriuscire dai tessuti della talea indipendentemente dalla presenza e dalle

caratteristiche dell'anello sclerenchimatico, comprovando pertanto che la capacità rizogena delle molteplici cultivar aveva origine diversa.

La formazione delle radici inizia con la de-differenziazione di cellule differenziate che riacquistano capacità meristematica (iniziali radicali); da queste cellule, a seguito di successive divisioni cellulari, si formano i primordi radicali, ovvero un gruppetto iniziale di cellule meristematiche che si accrescono, acquistando sempre più la fisionomia di un apice radicale. Questo aumenta di dimensioni ed attraversa i tessuti della talea fino a fuoriuscire dalla corteccia e dal taglio basale. Nel contempo i primordi radicali si connettono ai vasi conduttori (floema e xilema) della talea, ricostituendo un sistema vascolare completo ed efficiente. Pochi giorni dopo la piantagione delle talee nel substrato di radicazione, a seguito delle favorevoli condizioni ambientali, sul taglio basale della talea si forma un tessuto di cicatrizzazione (callo) costituito da cellule indifferenziate; questo rappresenta una barriera all'ingresso nella talea di funghi e batteri che potrebbero comprometterne lo stato sanitario. La presenza del callo è indipendente dalla capacità rizogena e la sola informazione che può fornire è che la talea è attiva metabolicamente. Nel caso in cui il callo si sviluppasse abbondantemente potrebbe costituire un problema sia perché la talea consuma elaborati per la sua formazione, che altrimenti andrebbero a favore delle radici, sia perché al momento del trapianto potrebbe danneggiarsi e andare incontro a marcescenza.

3.4.3.3. Fattori di variabilità della risposta rizogena

Importanza della cultivar

L'espressione della capacità rizogena delle talee è controllata dal genotipo e dunque scarse o del tutto inesistenti sono le possibilità di intervento. Tra le numerose cultivar di olivo, alcune possiedono un'elevata capacità di radicazione e

sono propagate con successo mediante talea (Tabella 1).

Molte altre cultivar manifestano, invece, risposte di radicazione del tutto insufficienti dal punto di vista vivaistico, nonostante le numerose ricerche effettuate negli anni e la loro propagazione avviene mediante altre tecniche come ad esempio l'innesto.

Anche nelle cultivar geneticamente provviste di un'elevata capacità rizogena, la risposta di radicazione può variare nel tempo, passando talvolta da valori elevati a valori molto bassi.

L'entità della radicazione, dunque, oltre ad una predisposizione genetica della cultivar, dipende anche dalle caratteristiche fisiologiche (ormoni, enzimi, stato nutritivo dei tessuti, ecc.) e istologiche (livello di differenziazione cellulare) dei tessuti al momento del prelievo delle talee e dalle condizioni ambientali (temperatura, umidità, luce) nelle quali avviene la radicazione.

Secondo dati dell'International Olive Council (2005), su 426 cultivar saggiate, 59 hanno mostrato una radicazione media di circa l'1,5 (con valori oscillanti tra 0 e 5 %), 213 cultivar mostravano un valore medio del 21,3 % (5 – 40 %), 86 cultivar una media del 54 % (40 – 70 %) e soltanto 68 cultivar hanno radicato oltre il 70 % fino al 100 % con una media dell'84,5 %.

Epoca di prelievo delle talee

Anche per l'olivo, la capacità rizogena delle talee può mostrare significative differenze in funzione dell'epoca di taleaggio (Hartmann e Loreti, 1965). Questo fattore, dopo quello genetico, influisce più di altri sul successo della radicazione. Infatti, i trattamenti rizogeni sono efficaci nel promuovere la rizogenesi se le talee posseggono già una certa predisposizione naturale a radicare e l'auxina esogena, in questo caso, è capace di amplificare il potenziale naturale già presente nei tessuti. Il problema di individuare l'epoca più opportuna per il prelievo delle talee è stato affrontato per numerose specie arboree ma nonostante le molteplici ricerche non è stato possibile mettere a

Tabella 1. Risposta di radicazione di alcune delle principali cultivar di olivo coltivate in Italia. I valori in tabella rappresentano la percentuale di ricerche (sul totale di ricerche svolte) in cui la cultivar ha mostrato una alta, media, bassa radicazione (da Bartolini OLEA databases, 2007). I dati evidenziano come la risposta rizogena può variare notevolmente per una stessa cultivar; le differenze sono probabilmente da mettere in relazione soprattutto alla diversa epoca di taleaggio e alle diverse condizioni sperimentali impiegate nelle ricerche effettuate.

Cultivar	Radicazione (%)			n. di ricerche
	Alta	Media	Bassa	
Ascolana	50	50	-	14
Carolea	83	-	16	6
Coratina	83	16	-	12
Cipressino	77	11	11	9
Dolce agogia	28	57	14	7
Frangivento	77	11	11	9
Frantoio	86	13	-	29
Giarraffa	16	16	66	6
Leccino	72	20	8	25
Leccio del Corno	16	16	66	6
Maurino	40	60	-	10
Mignolo	-	80	20	5
Moraiolo	56	25	18	16
Nocellara etnea	33	-	66	6
Nocellara del Belice	80	20	-	5
Pendolino	36	54	9	11

punto dei protocolli da trasferire nella pratica vivaistica. L'obiettivo era di caratterizzare determinati aspetti morfo-fisiologici della pianta madre (contenuto di auxine naturali, epoca di fioritura e accrescimento dei germogli, o dei frutti) che fossero correlati al momento di più elevata capacità rizogena delle talee. Tentativi per individuare l'epoca più idonea per il prelevamento delle talee correlata a parametri morfo-fisiologici, sono stati effettuati su *Arbutus unedo* nel quale la maggiore radicazione si aveva quando le talee venivano prelevate dopo la ripresa vegetativa delle piante, subito dopo la prima fase di sviluppo dei germogli (Lorenzi e

Ceccarelli, 1979). Tuttavia, le ancora insufficienti conoscenze sui meccanismi della rizogenesi rendono difficile identificare i fattori che potenzialmente potrebbero essere considerati marcatori rizogeni appropriati. Pertanto, per l'olivo, come per numerose altre specie di interesse vivaistico, le attuali conoscenze sull'epoca di maggiore radicazione delle talee sono state acquisite sperimentalmente. E' stato verificato che il periodo in cui la radicazione è generalmente più elevata è quello primaverile - estivo mentre durante i mesi invernali la rizogenesi risulta essere molto più bassa (Hartmann e Loreti, o.c.). Tale comportamento

potrebbe essere associato alle variazioni del contenuto in ormoni naturali e di metaboliti che sono, in generale, più elevati in primavera – estate quando nella porzione apicale, meglio illuminata, dei nuovi germogli in accrescimento il bilancio ormonale e l'attività fotosintetica sono verosimilmente più favorevoli alla rizogenesi.

Alla variabilità del potenziale rizogeno nelle diverse epoche, deve aggiungersi l'effetto di numerosi altri fattori come il tipo e concentrazione di auxina, il tipo di talea (basale, mediana, apicale), il numero di foglie sulla talea, le condizioni ambientali della serra di propagazione, ecc.

E' da mettere in evidenza che l'epoca di taleaggio può influire diversamente sulla lunghezza del ciclo di produzione con una diversa incidenza sui costi di gestione. Così, ad esempio, con un taleaggio primaverile-estivo il ciclo di produzione delle piante è di circa 2,5 anni mentre con un taleaggio autunnale-invernale sarebbe di circa 2 anni. Questo aspetto è da tenere in considerazione quando la capacità rizogena delle talee non mostra differenze importanti nelle diverse epoche di taleaggio.

Piante madri

La disponibilità di materiale di propagazione di elevata qualità è un presupposto importante per il successo della radicazione. Da molti anni sono stati confermati i vantaggi di impiegare talee prelevate da piante madri selezionate, allevate appositamente per la produzione di materiale di propagazione, sottoposte a controlli sanitari accurati ed a pratiche colturali che favoriscono la radicazione delle talee. Oltre a disporre di materiale di propagazione di qualità agronomica e biologica superiore è anche più facile individuare l'epoca e lo stadio fisiologico più appropriati alla radicazione e rendere più uniforme la risposta rizogena delle talee. Il prelievo delle talee da piante madri selezionate costituisce un punto cardine delle normative riguardanti la certificazione genetico-sanitaria dell'olivo.

Le caratteristiche delle piante madri che hanno mostrato di influire sulla radicazione delle talee sono rappresentate, una volta accertata la rispondenza genetica, dalla vigoria, dall'età, dallo stato nutrizionale e dallo stadio fisiologico e sanitario dei tessuti della pianta.

Età, vigoria e stato nutrizionale delle piante madri

Una buona attività vegetativa della pianta è importante per predisporre le talee alla radicazione. Dunque sarà fondamentale l'età della pianta madre e la gestione colturale cui questa è sottoposta. E' preferibile eseguire il prelievo delle talee da piante di relativamente giovane età nelle quali l'accrescimento è il risultato di una serie di meccanismi fisiologici e metabolici verosimilmente di maggiore efficacia, rispetto ad interventi di ringiovanimento di una pianta più vecchia. Le piante madri dovranno essere sottoposte a equilibrate concimazioni e irrigazioni in modo da fornire ai germogli, e quindi alle talee, una buona riserva di carboidrati e un apparato fogliare dotato di elevata capacità fotosintetica. In merito alla concimazione non è stata individuata una risposta univoca sugli effetti dei diversi elementi minerali; potassio, fosforo, calcio e azoto sembrerebbero maggiormente coinvolti nella rizogenesi senza però conoscerne l'effettivo ruolo. Ma in mancanza di protocolli sperimentali accertati è consigliabile un livello nutritivo idoneo a indurre un ritmo di crescita ragionevolmente vigorosa, senza tuttavia provocare eccessi o carenze. In merito all'irrigazione è da rilevare che un soddisfacente stato di turgore dei tessuti si rifletterà positivamente sul metabolismo della talea mentre condizioni di stress idrico, precedenti al taleaggio, influenzeranno negativamente la rizogenesi delle talee.

La vigoria delle piante madri è anche influenzata dal tipo di potatura e dalla forma di allevamento impiegata. In vista di ottenere un'elevata quantità e qualità di talee è stata proposta nel passato (Filippucci, 1977) una forma di allevamento a siepe, basata sulla formazione di speroni di 2 - 3

gemme sui germogli dell'anno precedente. Con questa potatura, da considerare piuttosto energica, è possibile produrre germogli provvisti di una sufficiente vegetatività grazie alla quale, oltre a ottenere talee caratterizzate da una buona rizogenesi, è anche possibile ridurre l'induzione a fiore e quindi la formazione di frutti. Infatti, nei riguardi degli assimilati fotosintetici è importante non sottovalutare la possibile competizione nutritiva tra germogli e frutti durante il periodo estivo; l'eventuale impoverimento dei tessuti nei riguardi dei carboidrati potrebbe influire negativamente sulla formazione e sull'accrescimento delle radici.

Stato fisiologico delle piante madri

Notoriamente le talee prelevate da piante in fase giovanile (semenzali) sono provviste di un'elevata capacità rizogena. Tale capacità, tuttavia, ha scarsa rilevanza pratica nel settore vivaistico in quanto l'interesse a propagare un determinato genotipo dipende dalle sue caratteristiche biologiche che si manifestano appieno quando la pianta ha raggiunto la fase di maturità ed ha perso i caratteri giovanili. Anche una pianta adulta, comunque, può formare germogli giovanili che conservano una più elevata attitudine a produrre radici avventizie. Come è noto, i succhioni che possono svilupparsi dagli sferoblasti lungo il tronco e i polloni sulla ceppaia in prossimità del terreno, manifestano caratteri morfo-fisiologici molto diversi (elevata vigoria, diverse dimensioni e forma delle foglie, mancanza di gemme a fiore, ecc.) da quelli dei germogli che si accrescono sulla chioma. Le talee prelevate da questi germogli, infatti, posseggono una capacità rizogena naturale più elevata e più prolungata nel tempo rispetto alle talee prelevate da germogli in fase adulta. Questa risposta può essere correlata ad una maggiore presenza di auxine naturali e di altri fattori di radicazione (cofattori) che determinano un effetto favorevole sulla rizogenesi. Un'altra causa potrebbe anche essere rappresentata dalla mancanza di frutti, e quindi di competizione

nutritiva, sui germogli giovanili a seguito della quale si avrebbe una maggiore disponibilità di elaborati per la rizogenesi. Questa ipotesi sarebbe confermata anche dalla maggiore capacità rizogena delle talee prelevate durante l'anno di "scarica" da piante madri in produzione. Il maggior problema derivante dall'impiego di talee prelevate dai succhioni e polloni, accertato che questi ultimi provengono dalla cultivar e non dall'eventuale portinnesto, è che l'entrata in fruttificazione è più tardiva rispetto alle piante derivate da talee adulte.

Stato sanitario delle piante madri

In generale, qualsiasi sia la tecnica di propagazione agamica che si impiega, lo stato sanitario (batteri, funghi, ecc.) delle nuove piante dipenderà da quello delle piante madri dalle quali è stato prelevato il materiale di propagazione. Una talea proveniente da una pianta madre in buone condizioni sanitarie ha sicuramente un potenziale metabolico superiore e possiede maggiori probabilità di radicare. Dunque, sarà importante sottoporre periodicamente le piante madri a severi controlli delle condizioni sanitarie ed intervenire tempestivamente con trattamenti specifici rivolti, in particolare, al controllo del *Verticillium dahliae* (fungo responsabile della verticillosi dell'olivo) e *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (batterio responsabile della rogna). Sarebbe buona regola prelevare le talee pochi giorni dopo l'esecuzione di un trattamento antiparassitario che darebbe una maggiore garanzia di uno stato sanitario più soddisfacente.

Cure al materiale di propagazione durante e dopo il prelievo

Il momento migliore per il prelievo del materiale di propagazione è al mattino presto, quando la radiazione solare e la temperatura sono ancora basse e l'umidità relativa è elevata. Poiché la rizogenesi dipende anche dal bilancio idrico della talea, il materiale dovrà essere manipolato in modo da evitare stress idrici, le cui ricadute sarebbero negative a livello fisiologico. Anche

durante il trasporto del materiale alla serra di propagazione si dovrà impedire la disidratazione (traspirazione delle foglie) impiegando sacchi di plastica chiusi, preventivamente umidificati ed evitando le ore più calde della giornata. Se non fosse possibile preparare le talee immediatamente, in particolare durante il periodo primaverile – estivo, sarà opportuno conservare il materiale, anche per breve tempo, in frigorifero ad una temperatura di circa 3 – 5 °C. Le operazioni di prelievo delle talee dai germogli e la successiva piantagione nel substrato di radicazione devono avvenire prima possibile. Un accorgimento per favorire l'assorbimento dell'auxina, può essere quello di conservare le talee per breve tempo in ambiente fresco, esponendole all'aria ma avendo cura di coprirle con un panno umido, in modo da determinare una lieve perdita di acqua dai tessuti, prima del trattamento auxinico.

Tipo di talea

La capacità rizogena delle talee si differenzia fra le diverse cultivar in base alla porzione (basale, mediana, apicale) del germoglio dalla quale è stata prelevata la talea stessa. La variabilità di risposta osservata nelle numerose ricerche non permette, tuttavia, di individuare il tipo migliore di talea. In generale, si può supporre che in corrispondenza della ripresa vegetativa, le talee sub-apicali siano più sensibili ai trattamenti auxinici e siano provviste di una maggiore capacità a radicare; le cause sarebbero da ricercare sia nella minore differenziazione dei tessuti, sia per un verosimile maggiore contenuto di auxine provenienti dalle giovani foglie e migranti in direzione basipeta. Nel periodo estivo, le talee mediane e basali hanno mostrato spesso una maggiore radicazione, forse per una maggiore presenza di carboidrati nei tessuti. Pertanto, la scelta del tipo di talea viene ancora fatta empiricamente sulla base soprattutto dell'esperienza acquisita dai vivaisti con le diverse cultivar.

3.4.4. Trattamenti alle talee

3.4.4.1. Trattamenti antiparassitari

Se non si hanno sufficienti garanzie sullo stato sanitario delle piante madri dalle quali vengono prelevate le talee, è opportuno procedere a titolo precauzionale ad un trattamento fungicida prima del trattamento auxinico. Tale trattamento è particolarmente utile in quanto le talee, una volta collocate sul bancale di radicazione, possono subire gli effetti di eventuali patogeni che potrebbero svilupparsi nelle favorevoli condizioni ambientali (umidità e temperatura) della serra di nebulizzazione. In queste condizioni, anche microrganismi non patogeni in pieno campo, potrebbero diventare fortemente aggressivi e provocare gravi danni ai tessuti della talea.

Il trattamento fungicida è importante sia per proteggere la parte della talea immersa nel substrato di radicazione, sia le foglie le quali sono comunque soggette ad una più o meno significativa abscissione. Il prodotto da utilizzare può essere rappresentato da uno dei formulati ad effetto fungicida che si trovano in commercio. Il trattamento può essere eseguito immergendo per alcuni istanti la metà basale o l'intera talea, nella soluzione fungicida, contenuta in un recipiente di dimensioni appropriate. Pochi minuti dopo l'applicazione del fungicida, quando cioè la base delle talee comincia ad asciugarsi, si procederà al trattamento auxinico. Nei riguardi dell'assorbimento dell'auxina, è verosimile che il trattamento fungicida eserciti un effetto tendenzialmente negativo; infatti, l'immersione della talea nella soluzione fungicida potrebbe aumentare il grado di imbibizione dei tessuti basali, con conseguente riduzione della capacità di assorbimento nei riguardi del prodotto auxinico. E' da rilevare, tuttavia, che lo stato sanitario delle talee può essere anche più importante dello stesso trattamento auxinico: una talea sana può sempre essere capace di radicare mentre una talea aggredita da qualche patogeno ha scarse possibilità di sopravvivenza. Per

compensare la minore capacità di assorbimento dei tessuti si potrebbero trattare le talee con una maggiore concentrazione di auxina.

3.4.4.2. Trattamenti rizogeni

L'efficacia delle auxine nel promuovere la rizogenesi è oramai nota dagli anni '30 del secolo scorso. Una vasta bibliografia ha dimostrato come l'applicazione esogena di questi ormoni può produrre significativi risultati sulla radicazione. Condizione fondamentale affinché l'auxina manifesti il suo effetto rizogeno è che le talee siano già provviste di una certa capacità naturale a produrre radici avventizie sulla quale l'auxina svolge un effetto di amplificazione. L'auxina, in mancanza di tale requisito, non sarebbe capace di indurre formazione *ex-novo* di radici. Per questo motivo è importante conoscere l'epoca in cui lo stato fisiologico dei tessuti è favorevole alla rizogenesi.

Nessun altro degli ormoni che notoriamente intervengono nei processi di accrescimento delle piante, come le gibberelline e le citochinine, ha mostrato effetti di qualche interesse vivaistico sulla radicazione delle talee di olivo.

E' importante sottolineare come i trattamenti auxinici, anche a talee di cultivar caratterizzate da elevata attitudine rizogena, possano determinare, entro certe concentrazioni, significativi vantaggi sulla qualità della radicazione; infatti, oltre ad aumentare la percentuale di talee radicate, il trattamento può favorire la formazione di un maggior numero di radici per talea e ridurre il periodo necessario per la radicazione. Oltre a possedere un'elevata efficacia rizogena, il trattamento auxinico dovrebbe anche assicurare una certa ripetibilità nel tempo che sappiamo, però, non dipendere dal trattamento stesso bensì dal variare delle condizioni fisiologiche delle talee. L'auxina, e come vedremo altri cofattori, ha il ruolo fondamentale di innescare i meccanismi di induzione rizogena alla quale fanno seguito altri processi, come la differenziazione e l'accrescimento delle nuove radici, che trovano

principalmente supporto nella quantità di carboidrati disponibili nei tessuti, derivanti dall'attività fotosintetica. Durante l'accrescimento delle radici aumenta il tasso di respirazione dei carboidrati che fornisce l'energia necessaria per la divisione cellulare e l'espansione radicale.

Tipo di auxina

Le auxine maggiormente impiegate in campo vivaistico sono rappresentate dall'acido indolbutirrico (IBA), dall'acido naftalenacetico (NAA) e dall'acido indolacetico (IAA). I primi due prodotti hanno avuto più estesa applicazione in quanto hanno mostrato una maggiore efficacia su numerose specie e sono più stabili alle diverse condizioni di impiego. Può accadere che in determinate epoche di prelievo delle talee, l'efficacia rizogena si differenzi tra le due auxine; pertanto, in assenza di informazioni precise sugli effetti dell'uno o dall'altro prodotto, può essere conveniente impiegare una miscela di entrambi. Altre auxine, come l'acido 2-4 diclorofenossiacetico (2,4-D), l'acido 2,4,5 triclorofenossiacetico (2,4,5-T) e l'acido 2,4,5 triclorofenossipropionico (2,4,5-TP) hanno scarsa importanza in campo vivaistico.

E' da mettere in evidenza che le auxine hanno mostrato talvolta una maggiore efficacia rizogena quando impiegate in combinazione con altri prodotti. Ad esempio, buoni risultati sono stati ottenuti con la vitamina B1 e B6, boro e, come evidenziato in precedenza, le poliammine (putrescina), nonché con composti come l'acqua ossigenata (Sebastiani et al., 2002; Sebastiani e Tognetti, 2004) e le ciclodestrine, che favorirebbero l'assorbimento dell'auxina (Mura et al., 1995; Mancuso et al., 1997). Le ciclodestrine sono oligosaccaridi prodotti dalla degradazione enzimatica dell'amido che legandosi all'auxina formano un complesso in cui quest'ultima è maggiormente protetta dall'attacco di batteri e di enzimi, in particolare l'IAA-ossidasi.

Concentrazione dell'auxina

Una concentrazione ottimale non esiste in quanto

l'effetto rizogeno può differenziarsi in funzione della cultivar e per una stessa cultivar, in base all'epoca di prelievo, il tipo di talea, lo stato nutrizionale dei tessuti, ecc. Il range di concentrazione varia da circa 1000 ppm a 7000 – 8000 ppm ma le concentrazioni più efficaci oscillano tra 2000 e 4000 ppm. Lo stimolo rizogeno dell'auxina aumenta, in generale, con l'aumentare della concentrazione ma fino ad un certo livello; al di sopra di un valore ottimale l'auxina può provocare un effetto tossico con conseguente riduzione della rizogenesi.

Un'indicazione sulla concentrazione da utilizzare per una determinata cultivar può essere ottenuta dalla letteratura o attraverso una sperimentazione diretta. Importante è anche il formulato impiegato per l'applicazione del trattamento, cioè se l'auxina è disciolta in soluzione idroalcolica, se sottoforma di sale o di preparato polverulento poiché, come vedremo in seguito, tra questi formulati l'efficacia rizogena può essere diversa a parità di concentrazione. Ovviamente l'effetto rizogeno della concentrazione dipende, come vedremo, anche dalla durata del trattamento.

Formulati auxinici per il trattamento rizogeno

Le auxine, allo stato puro, sono acidi e sono insolubili in acqua, cioè il vettore più appropriato per favorire un efficace assorbimento, da parte dei tessuti vegetali, di un determinato principio attivo. Pertanto, affinché l'auxina possa essere assorbita dai tessuti della talea è necessario ricorrere a formulati che, in un modo o nell'altro, consentono il trasporto del principio attivo alle cellule che daranno vita alle iniziali radicali. La lunga sperimentazione del passato in questo settore ha oramai accertato l'efficacia di tre diversi formulati a base di auxina e cioè la soluzione idroalcolica, il sale di potassio dell'auxina e il preparato polverulento. Come vedremo ciascun formulato si differenzierà per l'efficacia rizogena.

Soluzione idroalcolica

E' formata da una miscela di alcol etilico, auxina e

acqua distillata. L'alcol etilico è senz'altro il solvente più impiegato dell'auxina (altri sono rappresentati dall'acetone e dal metanolo). La procedura per preparare una soluzione idroalcolica prevede che, innanzitutto, una determinata quantità di auxina sia disciolta in alcol etilico al quale, successivamente, viene aggiunto, mantenendo la massa liquida in agitazione, un volume di acqua prestabilito per ottenere una certa concentrazione. L'alcol etilico è quantificato in funzione della concentrazione di auxina da solubilizzare e del grado di lignificazione della talea, tenendo in considerazione che l'alcol può provocare danni irreparabili ai tessuti con cui viene a contatto. Quindi è necessario non superare concentrazioni di alcol etilico di circa il 40 - 45 % che rappresentano una soglia critica di resistenza dei tessuti in talee semi-legnose. Con tali quantità di alcol è possibile solubilizzare una quantità di auxina corrispondente a circa 5000 – 7000 ppm mentre per concentrazioni di 1000 – 2000 ppm l'alcol può essere ridotto a circa il 15 – 20 %.

Le soluzioni idroalcoliche dell'auxina, nonostante i rischi di tossicità per i tessuti, esplicano, in generale, una maggiore efficacia rizogena in quanto l'alcol etilico, grazie alla sua elevata capacità di penetrazione nei tessuti e nelle cellule, consente un trasporto più veloce e profondo del principio attivo in esso disciolto che può così esercitare in maggior misura i suoi positivi effetti rizogeni.

Una procedura che permette di ridurre la quantità di alcol etilico nella soluzione idroalcolica consiste nel sostituire parzialmente l'alcol con circa il 30 % di glicerina che a sua volta è un solvente dell'auxina e non induce tossicità sui tessuti, essendo un prodotto naturale.

Sale di potassio dell'auxina

I possibili danni dell'alcol etilico possono essere evitati utilizzando il sale dell'auxina anziché la soluzione idroalcolica. Le auxine sono acidi deboli che in presenza di basi deboli formano sali

facilmente solubili in acqua. La procedura per la preparazione della soluzione salina prevede innanzitutto di ottenere il sale (K-IBA, K-NAA) sciogliendo l'auxina, ad esempio, in alcune gocce di K-OH (idrato di potassio) 1N (1 normale: il peso di 1 mole di KOH disciolto in 1 litro di acqua) e di portare a volume con acqua distillata. Questo formulato consente di preparare concentrazioni di auxina anche molto elevate, la cui conservabilità in frigo può protrarsi per diversi giorni. L'efficacia rizogena dei sali dell'auxina può, però, essere inferiore a quella della soluzione idroalcolica.

Trattamento polverulento

Questo tipo di trattamento prevede l'impiego del talco come matrice in cui viene dispersa l'auxina e non presenta problemi dovuti alla concentrazione (teoricamente può essere utilizzata qualsiasi concentrazione) e alla conservabilità del preparato. In pratica il principio attivo viene disciolto in un abbondante volume di acetone (altro solvente delle auxine) versato in una bacinella a superficie larga, al quale viene aggiunta una quantità di talco calcolata in base alla concentrazione da preparare. Tale miscela viene agitata manualmente, eventualmente aggiungendo altro acetone, fino a che tutta la massa del preparato non è bagnata uniformemente. L'esposizione del preparato ad un ambiente ventilato per un breve periodo consente la volatilizzazione dell'acetone ed al talco di riacquistare le sue tipiche caratteristiche fisiche. In questo modo l'auxina viene a trovarsi uniformemente dispersa nella componente polverulenta; condizione, quest'ultima, che non sarebbe realizzabile con la semplice miscelazione fisica di due prodotti allo stato polverulento.

Come la soluzione salina dell'auxina, anche il trattamento polverulento può mostrare una minore efficacia rizogena poiché l'auxina, trovandosi nuovamente sottoforma di acido, torna ad essere insolubile e quindi di difficile assorbimento da parte dei tessuti. La quantità di

principio attivo potenzialmente assorbibile dai tessuti è costituita da una frazione che viene lentamente solubilizzata stando a contatto dei tessuti a pH acido ed una frazione che penetrerà nei tessuti sottoforma di acido. Pertanto, il trattamento sarà efficace principalmente su cultivar di olivo ad elevata capacità rizogena. L'applicazione del trattamento avviene immergendo nel preparato polverulento i 2 – 3 cm basali della talea, eventualmente bagnata per favorire l'aderenza del prodotto ai tessuti. Una certa attenzione deve essere posta nel momento in cui le talee vengono piantate nel substrato di radicazione; infatti, lo sfregamento della porzione basale con il substrato può provocare l'asportazione di una parte del preparato, con conseguente eterogeneità della risposta di radicazione fra le talee di uno stesso gruppo. Per ovviare a questo inconveniente sarebbe necessario introdurre la talea in un foro praticato preventivamente nel substrato con un bastoncino di circa 4 – 6 mm di diametro. Nonostante questi problemi, il trattamento polverulento costituisce una valida alternativa in alcuni casi in cui le talee, non essendo molto lignificate come sono, in generale, quelle di olivo, sono più sensibili alla presenza dell'alcol etilico.

Prodotti commerciali pronti all'impiego

La preparazione dei formulati auxinici a partire dal principio attivo puro costituisce il modo più dinamico e razionale di approvvigionamento del trattamento auxinico, in quanto questo è più affidabile ed economico ed offre la possibilità di intervenire su alcuni parametri come tipo di auxina, concentrazione, percentuale di alcol etilico, ecc. in modo da massimizzarne l'efficacia. In commercio, tuttavia, vi sono numerosi prodotti pronti all'impiego che possono soddisfare esigenze diverse di trattamento. In generale, sono costituiti da miscele di auxine, in particolare IBA e NAA, a diverse concentrazioni in modo da ampliare il loro raggio di azione su molteplici specie e di esplicare l'effetto rizogeno

con vari tipi di talea in diversi periodi dell'anno. Questi prodotti si trovano sottoforma di formulazioni liquide (dove il principio attivo è il sale di potassio dell'auxina) o polverulento (a base di polvere di talco). Nei casi in cui un determinato prodotto fornisca risposte di radicazione soddisfacenti, il suo impiego è sicuramente più semplice e più economico dei preparati in azienda. Il mercato offre una gamma assai ampia di prodotti tra i quali il vivaista può scegliere quello che ritiene più adatto ai suoi scopi.

Conservazione dei formulati auxinici

Il principio attivo allo stato puro (prodotto integro) può essere conservato per molti mesi mentre i formulati sopra descritti mantengono inalterata la loro efficacia per periodi relativamente brevi. Ad eccezione dell'acido indolacetico che notoriamente è sensibile alla temperatura e alla luce, le altre auxine offrono una certa possibilità di conservazione, essendo più stabili alle suddette condizioni ambientali. Sono, comunque, necessari appropriati accorgimenti per evitare di rendere inefficace il trattamento. In generale, è sempre meglio preparare il formulato nel momento in cui si deve effettuare il trattamento. Le soluzioni idroalcoliche, specialmente quando la concentrazione di auxina è elevata e la temperatura ambientale è bassa (in questo caso l'acqua da impiegare potrebbe essere leggermente scaldata), devono essere impiegate pressoché immediatamente in quanto sono facilmente alterabili e soggette a precipitazione (cristallizzazione) del principio attivo; in questo caso la soluzione non può essere utilizzata e deve essere preparata di nuovo.

Un accorgimento per rendere più veloce la preparazione della soluzione idroalcolica, consiste nell'allestire una soluzione madre ad alta concentrazione di principio attivo disciolto in alcol etilico, conservabile per alcuni giorni, e nel prelevare da questa, al momento del trattamento,

una determinata aliquota da diluire in acqua, fino a volume prestabilito. Le soluzioni a base di sale di K e il preparato polverulento hanno un periodo di conservazione che può prolungarsi da alcuni giorni, fino ad alcune settimane. La conservazione, quando necessaria, deve avvenire in frigo a temperatura di 3 – 5 °C. In tutti i casi, l'eventuale residuo del formulato rimasto dopo un trattamento alle talee, non deve essere riutilizzato poiché il contatto con i tessuti della talea potrebbe aver provocato delle alterazioni (precipitazione) del principio attivo.

Modalità di applicazione dei trattamenti auxinici

E' necessario premettere che un criterio importante nell'esecuzione del trattamento è di fare in modo che tutte le talee vengano trattate nello stesso modo, per rendere uniforme l'assorbimento del principio attivo e favorire una radicazione uniforme. Generalmente l'auxina viene applicata alla base delle talee indipendentemente dal formulato utilizzato. Il singolo trattamento a ciascuna talea rappresenterebbe il modo più efficace per ottenere una maggiore uniformità rizogena ma dal punto di vista pratico è un'operazione laboriosa, che richiede un certo impegno di tempo e incide sui costi di produzione. Per rendere più veloce il trattamento, le talee vengono riunite in mazzi di un certo numero, facendo in modo che le basi si trovino alla stessa altezza, ed immerse con la porzione basale nella soluzione contenente l'auxina. Questa operazione deve essere eseguita a temperatura ambiente e lontano dalla luce diretta del sole.

Nel passato sono state valutate altre procedure come alternativa al suddetto metodo, nell'ottica di accelerare il trattamento. L'applicazione della soluzione rizogena nebulizzata sulle foglie (in un'unica soluzione o ripetuta aggiungendo l'auxina all'acqua di nebulizzazione) dopo che le talee erano state piantate nel substrato di radicazione, appariva la procedura più semplice ed economica per soddisfare tale requisito.

L'efficacia di questo trattamento non si è dimostrata, tuttavia, del tutto soddisfacente, sia perché la risposta rizogena tra le talee di uno stesso gruppo era eterogenea, sia perché, come rilevato su alcune specie arboree, le gemme laterali della talea erano soggette ad una minore schiusura, forse per un effetto inibitore della stessa auxina. Un'azione positiva era, invece, rappresentata da una maggiore persistenza delle foglie durante il periodo di radicazione, a vantaggio di un incremento del metabolismo della talea e quindi della rizogenesi.

Pertanto, il trattamento basale costituisce tutt'ora il metodo più appropriato per l'applicazione dell'auxina (Figura 11) e la sua efficacia è probabilmente da collegare al fatto che il principio attivo, somministrato in prossimità dei tessuti dai quali si differenziano le radici, esplica una maggiore azione rizogena.

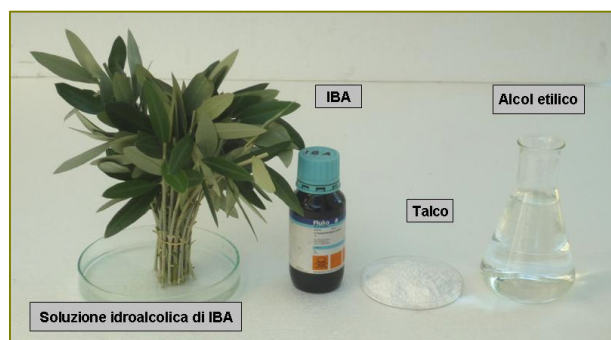


Figura 11. Esecuzione del trattamento auxinico a talee semilegnose di olivo.

In generale la durata del trattamento dipende dalla formulazione del principio attivo ed è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'auxina. Con i trattamenti basali, nel caso di soluzione idroalcolica o di sale di K, e di concentrazioni variabili tra 1000 e 5000 ppm, la durata è di circa 1 – 5 s mentre se il preparato è polverulento il trattamento può essere prolungato di 1 – 5 min. Concentrazioni di poche centinaia di ppm, richiedendo percentuali molto basse di alcol etilico, possono essere applicate con trattamenti prolungati fino a 6 – 12 ore. Quest'ultimo tipo di trattamento non ha trovato

diffusione a livello vivaistico in quanto, richiedendo tempi di esecuzione molto lunghi, rende più onerosa l'applicazione dell'auxina.

La condizione ottimale per uniformare la radicazione sarebbe di trattare le talee soltanto sul taglio basale. Dovendo raggruppare le talee in mazzi, tuttavia, è difficile rispettare questo criterio. Pertanto, le talee vengono immerse nel formulato auxinico per circa 1 – 2 cm di profondità a seguito del quale si avranno differenze nella quantità di principio attivo assorbito. In generale, entro un certo range di concentrazioni di auxina, il maggior assorbimento provoca una maggiore radicazione e/o incrementa il numero di radici per talea. Un trattamento eseguito ad una maggiore profondità, eventualmente con una concentrazione più bassa di auxina, può favorire una maggiore distribuzione delle radici, oltre che in prossimità del taglio basale, fino ad una certa altezza della talea, riproducendo una struttura simile a quella di un apparato radicale tipico di un semenzale.

Come in molte altre specie legnose, l'esecuzione di incisioni di 1-2 mm di profondità sulla porzione basale della talea può influire favorevolmente sulla radicazione, specialmente quando il taglio viene eseguito al di sotto di un nodo. L'effetto di questa operazione è ancora da attribuire al maggiore assorbimento di principio attivo rizogeno conseguente alla più estesa superficie di taglio. Tale operazione comporta un aumento del tempo necessario per il trattamento ma potrebbe essere vantaggiosa in particolare per le cultivar a più difficile radicazione.

Dopo il trattamento rizogeno le talee vengono piantate nel substrato di radicazione, ad una profondità di circa 5 – 10 cm e ad una distanza di 3 – 4 cm sufficiente a garantire una soddisfacente illuminazione delle foglie ed un'uniforme distribuzione dell'acqua di nebulizzazione sul substrato (Figura 12). Una densità troppo elevata delle talee potrebbe essere negativa per la maggiore facilità di diffusione di eventuali patogeni che si sviluppavano durante il periodo

radicazione.



Figura 12. Talee di olivo in radicazione su bancale provvisto di nebulizzazione. La densità delle talee (700 - 900/m²) deve permettere una buona illuminazione delle foglie, il cui metabolismo è importante per la produzione di ormoni e carboidrati che svolgono un ruolo fondamentale nel processo di induzione e accrescimento delle radici.

3.4.5. Tecniche di propagazione per talea

Il processo di radicazione è notevolmente influenzato dai fattori ambientali in quanto essi devono garantire una elevata attività metabolica della talea, in particolare quando questa proviene da germogli i cui tessuti, non essendo ancora interamente differenziati, sono provvisti di limitate disponibilità di sostanze di riserva. Dunque, la talea, durante la fase di radicazione deve sopperire alle richieste energetiche necessarie per attivare il processo rizogeno e sostenere il successivo sviluppo delle radici. I fattori ambientali che hanno una maggiore importanza sono rappresentati dall'umidità relativa, dalla temperatura, dalla luce, dal tipo di substrato, ecc.

3.4.5.1. Nebulizzazione, fog-system

Nebulizzazione

L'umidità relativa ambientale è uno dei fattori più importanti per mantenere nei tessuti uno stato di turgore sufficiente a permettere un'elevata attività metabolica fino a che la talea non ha formato le radici. La capacità dei tessuti a conservare tale

condizione varia con la specie ma, in generale, le talee costituite con germogli giovani, con un sottile strato epidermico e cuticolare, sono più sensibili alla perdita di acqua dai tessuti, rispetto a talee costituite da tessuti più differenziati. Prima della formazione delle radici, l'assorbimento di acqua da parte della talea è di difficile realizzazione e l'eventuale perdita di turgore dei tessuti potrebbe essere reintegrata, ma con effetti molto limitati, soltanto attraverso un assorbimento passivo dell'acqua dal taglio basale e dall'epidermide della talea. Dunque, il modo più efficace di conservare la turgidità dei tessuti è di evitare che l'acqua fuoriesca da questi attraverso la traspirazione. Quest'ultimo processo dipende strettamente dalla differenza della pressione di vapore tra il mesofillo fogliare e l'aria circostante che a sua volta è influenzata dalla differenza di temperatura dei tessuti e la temperatura dell'aria. Il fattore maggiormente responsabile dei suddetti processi è quindi la radiazione solare che influisce sulla temperatura, sulla pressione di vapore e sulla traspirazione. Il controllo della radiazione solare nell'ambiente di radicazione è uno dei fattori più importanti sia per conservare l'acqua nei tessuti sia per permettere una soddisfacente attività fotosintetica.

Il livello di umidità relativa nelle serre di propagazione viene controllato mediante uno specifico impianto realizzato mediante la tecnica di nebulizzazione, basata su un sistema di ugelli che erogano acqua ad elevata pressione. Le piccolissime gocce di acqua disperse nell'ambiente formano un velo liquido sulle talee che riescono a mantenere il loro stato di turgore. La perdita di acqua attraverso gli stomi, che non potrebbe essere reintegrata poiché non sono state ancora prodotte le nuove radici, viene quindi limitata, riducendo al minimo la traspirazione delle talee che conservano la capacità di fotosintetizzare. Troppo frequenti erogazioni di acqua potrebbero causare danni alle talee, sia per un abbassamento della temperatura del substrato di radicazione (in periodi autunnali e invernali),

sia perché potrebbero asportare dalle foglie alcuni nutrienti necessari per la formazione delle radici, sia perché un eccessivo accumulo di acqua nel substrato di radicazione potrebbe determinare la marcescenza dei tessuti corticali nella zona basale delle talee.

E' importante regolare gli intervalli di erogazione dell'acqua in modo da mantenere l'umidità relativa il più possibile uniforme ed elevata. Generalmente l'erogazione dura circa 10 – 20 secondi e gli intervalli tra un'erogazione e l'altra oscillano intorno ad alcuni minuti; ovviamente questi parametri varieranno in funzione delle condizioni ambientali esterne e con il periodo dell'anno e dovranno essere regolati in modo da mantenere le talee costantemente bagnate. Da non trascurare che anche durante il giorno gli intervalli dovrebbero variare, nelle diverse ore, in funzione della temperatura che aumenta dal mattino verso la metà della giornata e diminuisce con l'approssimarsi del tramonto. Diversi dispositivi permettono un soddisfacente controllo dell'umidità relativa; i timer (uno che controlla la durata dell'erogazione ed un altro l'intervallo tra due erogazioni successive), sono molto diffusi nonostante non consentano di modificare le erogazioni nelle diverse ore della giornata. La foglia elettronica, cioè uno strumento che simula la superficie fogliare e che attiva l'erogazione dell'acqua ogni qual volta che la superficie della foglia sintetica inizia ad asciugarsi, permette una regolazione più dinamica delle erogazioni in quanto l'evaporazione si differenzierà con la temperatura ambientale durante il giorno. Infine, un altro sistema di controllo è rappresentato da fotocellule o integratori solari che attivano i sistemi di erogazione dell'acqua ad intervalli e per tempi variabili in relazione alla diversa radiazione solare.

Il controllo dell'umidità relativa in ambienti molto grandi come quelli delle serre di propagazione non è di facile esecuzione, particolarmente nei periodi a più elevata temperatura. Già da diversi anni il problema è

stato ridotto ricoprendo i bancali di radicazione con un tunnel di materiale plastico (doppio tunnel) abbastanza trasparente, in modo da ridurre il volume in cui controllare l'umidità relativa (Figura 13). I risultati sulla radicazione sono stati rilevanti, grazie al minore stress idrico subito dalle talee che hanno potuto, in questo modo, mantenere un buon livello di attività metabolica anche in presenza di temperature abbastanza elevate. Oggi, la maggior parte delle serre di nebulizzazione utilizza con successo questa tecnica.



Figura 13. Talee di olivo all'interno di un doppio tunnel provvisto di impianto di nebulizzazione.

Fog-system

Il fog-system è un sistema di umidificazione alternativo alla nebulizzazione grazie al quale vengono prodotte gocce di acqua di dimensioni estremamente piccole fino a generare una sorta di nebbia artificiale (Figura 14). In condizioni di elevata temperatura e radiazione luminosa questa tecnica consente di ottenere livelli di umidità relativa molto elevati e costanti senza dover impiegare le notevoli quantità di acqua necessarie, invece, con la nebulizzazione. In questo modo, il

substrato di radicazione può essere modificato nelle sue caratteristiche fisiche (ad esempio impiegando un maggior contenuto di torba) non essendo più necessaria un'elevata capacità drenante. E' ancora più importante la qualità dell'acqua impiegata che deve avere un minore contenuto di sali e non portare in sospensione alcuna impurità che potrebbe ostruire gli spruzzatori. Il fog-system può essere impiegato contemporaneamente alla nebulizzazione per un migliore controllo dell'umidità relativa oppure da solo. Un effetto fisico del fog-system che si differenzia dalla nebulizzazione è che le foglie non vengono ricoperte di quel velo di acqua che evaporando può contribuire alla riduzione della temperatura dei tessuti fogliari.



Figura 14. Il fog-system genera una sorta di nebbia artificiale che permette di mantenere elevati livelli di umidità relativa nella serra di propagazione.

Qualità dell'acqua di nebulizzazione

E' un requisito molto importante poiché se l'acqua è troppo ricca di sali, in particolare di calcio, si va incontro a due tipi di problema: il primo che gli ugelli possono otturarsi e non erogare più un'omogenea quantità di acqua, il secondo che con l'evaporazione dell'acqua dalla superficie delle foglie, con il passare del tempo, si forma uno strato calcareo sulla lamina fogliare (Figura 15) che ne riduce il metabolismo, in particolare a seguito di una ridotta funzionalità stomatica. Inoltre, le caratteristiche dell'acqua

come la durezza e la conducibilità elettrica possono indurre fenomeni di salinità con ripercussioni negative sulla rizogenesi delle talee. In generale, la salinità non dovrebbe superare 100 mg/L. Nel caso di acque dure l'impianto di nebulizzazione potrà essere corredato di un sistema di addolcimento con resine a scambio cationico di ioni di K dal momento che quelle con NaCl possono provocare danni per eccesso di sodio nei tessuti.



Figura 15. Deposito di calcare su talee di olivo in nebulizzazione a seguito dell'evaporazione dell'acqua molto ricca di sali e non addolcita.

3.4.5.2. Riscaldamento basale e cassone riscaldato

Riscaldamento basale

Come tutti i processi fisiologici, anche la radicazione è influenzata dalla temperatura. Per una soddisfacente radicazione delle talee, pertanto, molto importante è controllare la temperatura del substrato all'altezza della porzione basale delle talee sulla quale devono formarsi le radici avventizie; tale fattore è importante, in particolare, quando il taleaggio viene effettuato nel periodo autunno-invernale caratterizzato da temperature minime molto basse (inferiori a 10 – 12 °C). In questi casi è opportuno ricorrere al riscaldamento basale che consiste nel collocare sul fondo del bancale di radicazione un sistema di tubi nei quali viene fatta circolare acqua calda ad una temperatura tale da

mantenere il substrato, in prossimità della base delle talee, intorno ai 18 - 20 °C anche nei periodi più freddi (Figura 16). E' importante fare in modo che la temperatura della parte aerea delle talee sia più bassa di quella del substrato di radicazione, così da favorire innanzitutto la radicazione rispetto alla schiusura delle gemme. In generale, la rizogenesi è favorita da una temperatura costante del substrato piuttosto che da fluttuazioni più o meno accentuate. Nel caso dell'olivo, il riscaldamento basale è una pratica molto diffusa in quanto, molto spesso, il taleaggio è effettuato in autunno e il periodo di radicazione può protrarsi fino all'inizio dell'inverno. Una soddisfacente temperatura del substrato, oltre a favorire la rizogenesi, influisce positivamente anche sul successivo accrescimento delle radici.



Figura 16. Bancale di radicazione provvisto di riscaldamento basale costituito da tubi a circolazione forzata di acqua calda che mantengono il substrato alla base delle talee ad una temperatura di circa 18 – 20°C.

Cassone riscaldato

Con questa tecnica le talee vengono piantate in un cassone di 40 – 50 cm di altezza, di larghezza e lunghezza variabili, contenente perlite, chiuso lateralmente con materiale plastico e provvisto di uno sportello nella parte superiore (Figura 17). La base è corredata di un sistema di riscaldamento che consente l'evaporazione dell'acqua dal substrato di radicazione e il ristagno del vapore nella camera d'aria che si crea al di sopra delle talee. Il ridotto volume di aria del cassone

consente di mantenere un elevato livello di umidità relativa. Nel cassone riscaldato sono stati ottenuti buoni risultati di radicazione delle talee e di attecchimento di innesti-talea di olivo (Iacoboni e Fontanazza, 1976; Fontanazza e Rugini 1981).



Figura 17. Cassone riscaldato impiegato per la propagazione dell'olivo mediante talea o innesto-talea proposto come alternativa alla nebulizzazione (da Fontanazza e Rugini, 1981).

Sistemi di controllo della temperatura dell'aria della serra

La temperatura della serra di propagazione può influire fortemente sul metabolismo delle talee e quindi è necessario poterla controllare affinché rimanga entro i valori ottimali. La temperatura dipende direttamente dalla radiazione solare che oscilla durante la giornata e nelle diverse stagioni. In primavera – estate, all'interno della serra si possono raggiungere valori di temperatura superiori a 30 – 35 °C che incrementano la traspirazione, favoriscono una precoce caduta delle foglie e riducono la radicazione. La temperatura dovrebbe essere mantenuta entro i 25 - 28 °C durante le ore più calde della giornata. Durante la notte i valori non dovrebbero scendere al di sotto di 13 – 14 °C.

Il controllo della temperatura può essere effettuato mediante sonde termiche e/o sensori della luce situati in prossimità delle talee. Diversi sistemi permettono di modificare la temperatura:

- *Reti ombreggianti.* Sono di materiale plastico, di vario colore e densità. Vengono disposte all'esterno o all'interno della serra e possono essere comandate mediante dispositivi automatici

di chiusura e apertura; l'ombreggiamento delle reti non dovrà essere troppo elevato per non ostacolare l'attività fotosintetica delle talee.

- *Cooling system.* Si basa sul principio che l'acqua evaporando assorbe calore. Questo sistema di raffreddamento è costituito da due elementi principali: un pannello di fibra porosa, permeabile e bagnabile, situato su una testata della serra che viene mantenuto costantemente umido e due grandi ventilatori situati sul lato opposto della serra (Figura 18); quando i ventilatori entrano in funzione l'aria interna della serra viene aspirata e



Figura 18. Nelle serre di propagazione la temperatura può essere controllata mediante il *cooling system*, cioè un impianto costituito da ventilatori (a sinistra) collocati su un lato della serra che estraggono l'aria interna e costringono l'aria in ingresso ad attraversare dei pannelli bagnati (a destra) abbassandone la temperatura.

gettata all'esterno, costringendo l'aria calda in ingresso a passare attraverso il pannello umido dove si raffredda e umidifica allo stesso tempo. La serra deve essere chiusa pressoché ermeticamente. Superficie del pannello e portata dei ventilatori dipendono dalle dimensioni della serra. Il sistema di raffreddamento è tanto più efficiente quanto più bassa è l'umidità relativa dell'aria esterna.

- *Apertura e chiusura automatica delle finestre.* Le finestre laterali e del colmo della serra vengono aperte e chiuse automaticamente durante il periodo di più elevata temperatura. Questo sistema può funzionare se la temperatura esterna alla serra raggiunge valori inferiori a quelli interni.

- *Bagnatura del tetto con acqua.* Consiste nel dotare il tetto della serra di un sistema di aspersione di acqua che viene recuperata e reintrodotta nel

circuito.

- *Imbiancatura provvisoria delle pareti con calce.* Riduce la temperatura interna grazie alla riduzione della radiazione solare; il grado di opacità dovrà comunque permettere una soddisfacente attività fotosintetica delle talee.

Un effetto positivo, seppure minimo, sulla riduzione della temperatura dei tessuti e dell'aria può essere ottenuto anche a seguito dell'evaporazione dell'acqua somministrata con la nebulizzazione. Infatti, il passaggio dell'acqua dallo stato liquido allo stato di vapore è una reazione endotermica (assorbe calore) e quindi, in tutti i casi in cui l'acqua evapora dai tessuti della talea e nell'aria circostante, si ha un abbassamento della temperatura. Tale processo contribuisce a diminuire la differenza di pressione di vapore tra i tessuti e l'aria, riducendo la traspirazione delle foglie e la respirazione, con conseguente minore consumo di carboidrati.

Anche durante i periodi più freddi il controllo della temperatura è importante ai fini della rizogenesi. Poiché per radicare le talee devono mantenere un certo metabolismo attivo, la temperatura ambientale non dovrà scendere al di sotto di certi valori. L'applicazione del doppio tunnel impiegando materiali plastici (tra i quali il polietilene è il più utilizzato), avvenuta già dopo gli anni '60 del secolo scorso, ha aperto nuove possibilità nel conservare il calore intorno alle talee. Le prime sperimentazioni effettuate con materiali trasparenti avevano evidenziato che le radiazioni luminose a maggiore lunghezza d'onda (caloriche) penetrano attraverso il polietilene e scaldano le talee, ma non essendo trattenute da questo materiale vengono nuovamente disperse durante il periodo notturno nell'aria circostante il tunnel. Il polietilene si raffredda durante la notte provocando escursioni termiche e favorendo la condensazione del vapore acqueo con conseguente riduzione dell'umidità relativa. L'impiego di materiali pigmentati di bianco consente di ridurre questo problema provocando la riflessione all'interno del tunnel delle radiazioni

a maggiore lunghezza d'onda, favorendo così una maggiore uniformità della temperatura. L'intensità della pigmentazione dovrebbe variare in relazione all'intensità della luce solare. Un materiale dotato di un buon effetto serra deve possedere un'alta trasparenza alle radiazioni in entrata (lunghezze d'onda nel rosso vicino e medio) e un'elevata opacità alle radiazioni in uscita (rosso lontano).

Un aspetto importante della temperatura riguarda l'eventuale differenza tra quella del substrato di radicazione e quella dell'aria intorno alla talea; in particolari condizioni ambientali, una più elevata temperatura dell'aria potrebbe favorire una schiusura anticipata delle gemme rispetto alla formazione delle radici, con conseguente riduzione della capacità rizogena della talea.

Substrato di radicazione

Il substrato di radicazione ha come funzione principale di sostenere la talea in posizione verticale ma in relazione alle sue caratteristiche fisico-chimiche può svolgere un ruolo molto importante sulla qualità della radicazione. I principali requisiti di un substrato sono rappresentati da una buona porosità e una buona capacità drenante per evitare eccessi di acqua, deve trattenere una sufficiente umidità, permettere un'elevata circolazione dell'aria (ossigeno) durante il periodo di radicazione ed essere esente da funghi e batteri. Nelle serre provviste di impianto di nebulizzazione, il materiale che più si adatta all'elevato apporto di acqua, è la perlite, costituita da granuli di 1 – 5 mm di diametro di roccia vulcanica porosa, inerte, sterile, leggera (95 – 140 Kg/m³), con pH di circa 6 – 7. La perlite viene posta nel bancale per un'altezza di circa 20 cm, abbondantemente bagnata e leggermente pressata prima di introdurre le talee. Grazie alle sue caratteristiche è il materiale più adatto come substrato di radicazione quando l'apporto di acqua alle talee è elevato, rispetto anche ad altri componenti come vermiculite, sabbia, ecc. Per la propagazione delle

talee di olivo, la perlite è impiegata allo stato puro ma potrebbe essere miscelata in piccola quantità (3:1) con la torba. Tale accorgimento potrebbe portare dei vantaggi alla talea dopo che le radici hanno cominciato a formarsi; infatti, essendo la perlite priva di elementi nutritivi, le radici potrebbero usufruire dei materiali contenuti nella torba beneficiando di un precoce assorbimento attivo di acqua ed elementi minerali. In presenza di torba le radici acquisiscono una migliore struttura caratterizzata da una maggiore ramificazione, fibrosità ed un minore contenuto di acqua.

3.4.5.3. Importanza della luce

Come evidenziato in precedenza, la possibilità di fotosintetizzare attivamente durante il periodo di radicazione costituisce per la talea una condizione di primaria importanza. Quindi, le condizioni di luce all'interno della serra dovranno essere sempre al di sopra di una certa soglia. Della luce sono importanti l'intensità durante il giorno e il fotoperiodo. La produzione di carboidrati da parte delle foglie deve essere superiore a quella respirata per il processo rizogeno. Se la luce fosse limitante, le foglie non sarebbero capaci di fotosintetizzare a sufficienza e verrebbero consumate le riserve di nutrienti a scapito della rizogenesi. In condizioni di intensità ridotta e fotoperiodo breve una possibile alternativa potrebbe essere quella di applicare una illuminazione supplementare artificiale; deve però essere attentamente valutata la convenienza economica di un tale intervento.

I carboidrati nel processo rizogeno

I carboidrati costituiscono la fonte di energia per i processi metabolici della talea (Rio et al., 1991). Pertanto, affinché la rizogenesi possa avvenire normalmente, questi composti devono essere sempre disponibili. La quantità di carboidrati di riserva utilizzati nella radicazione è relativamente bassa mentre sono più importanti quelli che vengono fotosintetizzati di volta in volta durante

il periodo di radicazione delle talee. Il loro ruolo nella radicazione è sempre stato controverso ma sembrerebbero non avere un effetto regolatore del processo rizogeno. Sarebbero però importanti per il successivo sviluppo delle radici una volta che si sono formate. Un certo interesse è stato rivolto all'eventuale relazione tra radicazione e rapporto C/N (carboidrati/azoto) nei tessuti delle talee. In alcuni casi un valore elevato di questo rapporto è apparso correlato ad una maggiore rizogenesi; tuttavia, poiché l'azoto ha mostrato di influire negativamente sulla rizogenesi, è probabile che il suddetto risultato fosse provocato da una minore quantità di azoto più che da un'elevata presenza di carboidrati.

3.4.6. Monitoraggio dello stato sanitario delle talee in radicazione

L'elevata umidità e temperatura dell'ambiente di radicazione nel periodo primaverile, estivo e autunnale, sono fattori favorevoli allo sviluppo di microrganismi (*Spilocaea oleagina*, *Pythium* spp, *Sphaerotheca pannosa*, *Botrytis cinerea*, ecc.) sulla talea che potrebbero compromettere la funzionalità fogliare e determinare filloptosi, con ripercussioni negative sulla risposta rizogena. E' dunque importante un controllo giornaliero dello stato sanitario delle talee in modo da intervenire tempestivamente qualora si individuassero le prime infezioni. La diffusione di certi microrganismi è assai veloce (a macchia d'olio) e può compromettere definitivamente la vitalità di numerose talee. Trattamenti fungicidi preventivi a cadenza pressoché settimanale, applicati la sera al termine del periodo di erogazione dell'acqua, possono dare maggiori garanzie sul mantenimento di uno stato sanitario soddisfacente. E' importante eliminare periodicamente le eventuali foglie abscisse in quanto, essendo soggette a degenerare rapidamente, costituiscono un buon substrato per lo sviluppo di diversi microrganismi che potrebbero poi insediarsi anche sulle talee ancora sane.

3.4.7. Durata del periodo di radicazione

Una talea si considera radicata quando alla sua base cominciano a fuoriuscire le radici. Questo sarebbe il momento migliore per il trapianto poiché le radici molto corte sono meno soggette ad essere danneggiate. Dal punto di vista pratico, però, il periodo di radicazione viene esteso fino al momento in cui le radici hanno raggiunto alcuni centimetri di lunghezza. In questo modo il vivaista, poiché la rizogenesi non è contemporanea in uno stesso gruppo di talee, può valutare meglio la qualità della radicazione espressa come numero e robustezza delle radici prodotte e loro disposizione sulla talea.

Il tempo necessario alle talee per radicare varia in relazione a diversi fattori tra i quali la cultivar, il periodo dell'anno, il trattamento auxinico, ecc. Con cultivar a facile radicazione il periodo sarà più breve e può avere una durata media di circa 1,5 - 2 mesi; talvolta sono necessari anche 80 - 90 giorni quando la rizogenesi è piuttosto limitata e in condizioni ambientali non del tutto soddisfacenti.

Preparazione delle talee radicate al trapianto

L'elevata umidità relativa cui sono sottoposte le talee durante la radicazione, determina nei tessuti un adattamento del metabolismo a queste anomale condizioni ambientali. Il problema maggiore è che gli stomi delle foglie, permanendo a lungo in una condizione di elevata umidità relativa, rimangono sempre aperti perdendo, in tutto o in parte, la capacità di chiudersi immediatamente quando l'umidità si riducesse repentinamente. Ancora più sensibili a questo processo sarebbero i nuovi germogli formati durante il periodo di radicazione. Pertanto, in vista del successivo trasferimento delle talee dalla serra di nebulizzazione è necessario predisporre i tessuti alle diverse condizioni ambientali caratterizzate soprattutto da minore umidità relativa. Questo obiettivo può essere facilmente raggiunto allungando gradualmente gli intervalli di erogazione dell'acqua, fino alla completa

sospensione, a cominciare da 10 – 15 giorni prima del previsto trapianto delle talee.

Trapianto e acclimatazione delle talee radicate

E' necessario premettere che il trapianto dal bancale di radicazione costituisce il primo momento critico in cui la nuova pianta è soggetta a stati di stress più o meno accentuati. Quindi si può ritenere l'operazione finale dalla quale dipende l'intero successo della filiera vivaistica. Al momento del trapianto, le talee radicate vengono gentilmente estratte dalla perlite sollevando dal basso il substrato, in modo da evitare possibili danneggiamenti (rottture) alle radici più lunghe. Infatti, sebbene le nuove radici abbiano iniziato a differenziarsi, e quindi ad acquisire una maggiore resistenza meccanica, il punto di leva nella zona di fuoriuscita della radice dai tessuti della talea è tale da provocare facilmente lesioni irreversibili alla radice stessa. Le talee radicate potranno quindi essere selezionate in base alla qualità che viene stabilita prendendo in considerazione lo stato sanitario, la presenza di foglie e la struttura dell'apparato radicale che deve essere costituito da almeno tre radici robuste disposte a raggiera (Figura 19). Le operazioni di estirpazione, cernita e trapianto nel substrato di acclimatazione delle talee radicate devono essere effettuate il più rapidamente possibile in quanto la traspirazione delle foglie può facilmente provocare stress idrici. Il trapianto viene generalmente effettuato in piccoli vasi di plastica di circa 1 litro di volume (10 x 10 x 10 cm) contenenti una miscela a base di torba, pomice e concime a lenta cessione. Il pH della torba viene spesso corretto con carbonato di calcio per renderlo meno acido. In fondo ai vasi viene collocata una piccola quantità di tale substrato sul quale si adagiano delicatamente le radici della talea; il vaso viene poi riempito con il substrato sul quale si esercita una leggera pressione per favorirne il contatto con le radici.



Figura 19. Talee di olivo al termine della fase di radicazione. Da notare l'elevata formazione di radici avventizie e l'ottimo aspetto morfologico e sanitario.

Successivamente le talee radicate vengono trasferite in un ambiente dove sia possibile controllare la temperatura, l'umidità relativa e l'intensità della radiazione luminosa che costituiscono i principali fattori verso i quali le nuove piantine devono completare la fase di acclimatazione, prima di essere trasferite definitivamente all'esterno. A questo scopo si impiegano serre di acclimatazione (Figura 20) provviste di riscaldamento nel caso in cui questa fase debba essere effettuata nel periodo invernale, come accade quando il taleaggio avviene in settembre - ottobre; oppure si ricorre ad aree del vivaio provviste di reti ombreggianti (ombrario, nel caso in cui sia necessario ridurre la temperatura) e/o di impianto di irrigazione sopra chioma, per evitare i possibili stress idrici derivanti da eccessiva traspirazione delle foglie non ancora del tutto assuefatte alle condizioni ambientali esterne.



Figura 20. Serre di acclimatazione dell'olivo "imbiancate" con calce al fine di ridurre la temperatura e l'intensità della luce solare, troppo elevate per il metabolismo della talee nel periodo primaverile-estivo.

La fase di acclimatazione può avere una durata di alcune settimane. Il periodo iniziale durante il quale le radici devono adattarsi al nuovo substrato a base di torba è quello più critico. Sarebbe quindi opportuno che in questo periodo la parte aerea della pianta fosse mantenuta in condizioni di elevata umidità relativa, in modo che il completamento dell'acclimatazione della pianta possa avvenire con minore rischio di stress. La fase di acclimatazione può essere considerata conclusa quando le piante possono adattarsi senza problemi alle condizioni ambientali (umidità relativa e radiazione solare) esterne. Al termine dell'acclimatazione, le piante inizieranno la fase di allevamento in vivaio fino al raggiungimento delle dimensioni commerciali; durante questo periodo esse saranno sottoposte ad una gestione colturale che prevede frequenti irrigazioni e concimazioni, controllo delle erbe infestanti, potature di allevamento ed un attento controllo dello stato sanitario.

3.5. Micropropagazione

E' una tecnica di propagazione vegetativa che in Italia si è sviluppata negli anni '70 del secolo scorso e ha prodotto notevoli risultati con

numerose specie erbacee e legnose delle quali, ogni anno, si producono svariati milioni di piantine. Tale tecnica offre diversi vantaggi quali: permette la propagazione di specie e cultivar che altrimenti presenterebbero grandi difficoltà con le tecniche tradizionali, è svincolata dalle condizioni ambientali esterne, richiede spazi e tempi più brevi per la produzione delle piante facilitandone la programmazione, consente di ottenere piante esenti da patogeni nonché di effettuare cicli produttivi durante tutto l'anno indipendentemente dalle variazioni stagionali.

Tuttavia, a differenza delle altre tecniche, la micropropagazione è una biotecnologia che presenta una serie di problematiche piuttosto complesse e specifiche per cui non può essere impiegata da chiunque anche se provvisto delle più approfondite conoscenze vivaistiche, ma sono necessarie maestranze altamente qualificate, confidenza con protocolli di coltura in vitro, locali equipaggiati con apparecchiature speciali che nel loro complesso rendono questa tecnica piuttosto onerosa e non alla portata di tutti.

Nel caso dell'olivo, la possibilità di propagare le numerose cultivar mediante l'innesto e la talea ha fatto sentire meno pressante l'esigenza di individuare tecniche alternative; tuttavia, considerato che con queste tecniche è necessario un lungo periodo per ottenere una pianta di dimensioni commerciali (2,5 – 3,5 anni), e poiché questo aspetto può ostacolare una corretta programmazione della produzione vivaistica, la micropropagazione è stata riconsiderata in vista di soddisfare in modo più dinamico le richieste di una olivicoltura sempre più esigente. Le ricerche sulla micropropagazione negli ultimi due decenni circa, si sono intensificate mettendo a disposizione una vasta gamma di conoscenze grazie alle quali, ad oggi, una trentina di cultivar sono suscettibili di essere micropropagate (Lambardi e Rugini, 2003). Le informazioni sul comportamento delle piante in campo (entrata in produzione, rispondenza fenotipica e genetica, tipo di olio prodotto, ecc.) sono del tutto

incoraggianti (Briccoli Bati, 2002; Zuccherelli e Zuccherelli, 2002; Leva, et al., 2002, 2003; Mencuccini, e Pollacci, 2003; Santos, et al., 2003; Briccoli Bati, et al., 2006;) e lascerebbero intravedere la possibilità di impiegare efficacemente piante micropropagate. Tuttavia, il settore vivaistico olivicolo, nonché gli olivicoltori, appaiono ancora esitanti circa l'introduzione di queste piante nella filiera di produzione e tardano a considerare la micropropagazione come una tecnica valida da affiancare alle tecniche tradizionali dell'innesto e della talea.

Sinteticamente, la micropropagazione si sviluppa in laboratori specializzati in cui la coltura in vitro inizia, generalmente, impiegando meristemi apicali, apici di germoglio e/o talee di 1 - 2 nodi prelevate da giovani germogli in accrescimento e opportunamente sterilizzati (fase di prelievo e sterilizzazione degli espianti). La migliore procedura per la sterilizzazione degli espianti consiste nell'utilizzare, in generale, piante madri di 1 – 2 anni, delle quali è sicura la rispondenza genetica, da allevare in contenitore in condizioni artificiali, ad esempio una cella climatica, nella quale è possibile controllare lo stato sanitario dei nuovi germogli dai quali sarà prelevato il materiale di partenza.

Dopo il prelievo gli espianti vengono coltivati su substrati di crescita sterili e in condizioni ambientali artificiali, dove viene indotta la formazione di nuovi germogli dalle gemme ascellari (fase di assuefazione al vitro). Le colture vengono incubate in una camera di crescita nella quale la temperatura è mantenuta costantemente intorno a 22 – 23 °C, ad una intensità di luce di circa 40 – 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ emessa da tubi fluorescenti e con fotoperiodo di 16 ore. Il substrato di crescita contiene componenti di base rappresentati da macro e micro nutrienti, vitamine e carboidrati (principalmente dal mannitolo), da prodotti ad azione ormonale quali auxine, citochinine e gibberelline in diverso rapporto tra loro in funzione della fase di coltura. Il substrato viene aggiustato ad un pH di 5,2 – 5,8

e gelificato con agar.

Dopo la fase di assuefazione al vitro, dalle gemme ascellari si sviluppano germogli di 1 – 3 cm circa; questi vengono a loro volta suddivisi in altre piccole talee che produrranno altri germogli e così via fino al raggiungimento del numero di germogli programmato. Questa fase, nota come moltiplicazione dei germogli, è controllata maggiormente dalla presenza di citochinine nel substrato di crescita, tra le quali la zeatina, il cui prezzo di acquisto è purtroppo particolarmente elevato, si è dimostrata più efficace. Ogni circa 20 giorni le colture vengono trasferite su substrato fresco per reintegrare le carenze nutritive che si sono determinate a seguito dell'assorbimento delle colture stesse. Il numero delle subcolture non è illimitato ma è definito in base ai rischi rappresentati dalla comparsa di possibili mutazioni che verosimilmente possono manifestarsi quando le colture vengono mantenute troppo a lungo nelle condizioni del vitro. La moltiplicazione dei germogli, nel caso dell'olivo, avviene con modalità diverse dalle altre specie arboree. Infatti, dalle gemme ascellari presenti sulla talea uninodale si sviluppano dei germogli i quali, a causa della forte dominanza apicale non sono capaci di produrre altri germogli nella parte basale, a meno che non venga eliminato il meristema apicale. Quindi il tasso di moltiplicazione viene espresso nella maggiore parte dei casi come numero di nodi (e non di germogli come avviene per le altre specie) prodotti in un determinato periodo di tempo; questo parametro varia tra le diverse cultivar.

Al termine della fase di moltiplicazione, i germogli, se di dimensioni troppo piccole, possono essere coltivati, per alcuni giorni, su un substrato arricchito in gibberellina che promuove l'allungamento degli internodi (fase di allungamento) (Grigoriadou et al., 2002).

La formazione di radici avventizie sui germogli (fase di radicazione) viene indotta aggiungendo al substrato di crescita, come unico ormone, l'auxina (IBA, NAA) ed eventualmente altri

composti tra i quali le poliammine che, come già messo in evidenza, sono molto efficaci sulla rizogenesi dei germogli di olivo. Il trattamento auxinico potrebbe anche essere eseguito immergendo per alcuni secondi la base dei germogli in una soluzione auxinica, facendo seguire poi il trasferimento dei medesimi su un substrato privo di auxine.

I germogli radicati vengono quindi sottoposti ad una delicata fase di acclimatazione durante la quale le nuove piantine devono riacquisire la capacità di accrescersi in condizioni naturali. In questa fase il metabolismo dei tessuti da eterotrofo torna ad essere nuovamente autotrofo nei riguardi dei carboidrati; inoltre le piantine devono adattarsi alle diverse condizioni ambientali che non sono più asettiche e sono caratterizzate da fluttuazioni della luce e della temperatura. Per quanto riguarda l'umidità relativa si può certamente affermare come questo fattore influenzi più degli altri l'esito dell'acclimatazione. Infatti, nei vasi in cui vengono incubate le colture gli scambi gassosi con l'esterno sono praticamente annullati a causa della chiusura pressoché ermetica; di conseguenza l'umidità relativa è sempre molto elevata. I tessuti si adattano quindi a queste condizioni anomale, soprattutto riducendo la produzione di cere e mantenendo costantemente aperti gli stomi che perdono la capacità di chiudersi rapidamente al variare delle condizioni ambientali. La fase di acclimatazione ha dunque lo scopo principale di riattivare i meccanismi di difesa dagli stress idrici e rendere le piantine capaci di reagire nuovamente alle variazioni dei fattori ambientali naturali.

In un immediato futuro, la micropropagazione dell'olivo è sicuramente da considerare una tecnica di notevole potenzialità e interessanti prospettive, capace di determinare un significativo progresso anche per il vivaismo olivicolo. I problemi che in questo momento ne rallentano l'affermazione sono principalmente rappresentati da uno scarso adattamento alle

condizioni in vitro di alcune cultivar molto diffuse nella nostra olivicoltura, dalla difficoltà di mettere a punto protocolli efficienti, economici e facilmente trasferibili nei laboratori commerciali, dalla complessità delle tecniche di sterilizzazione degli espianti, dalla comparsa di alterazioni fisiologiche come l'ossidazione dei tessuti, da un tasso di moltiplicazione dei germogli non molto elevato, dalla mancanza di substrati i cui componenti siano di facile reperimento e costo contenuto. Tuttavia, considerati i consistenti miglioramenti avvenuti nelle metodologie di propagazione in vitro negli ultimi 10 – 15 anni di ricerche, è verosimile che in breve tempo, anche i suddetti problemi, siano facilmente superati e che i vivaisti e gli olivicoltori acquisiscano maggiore confidenza e fiducia in una pianta di notevole qualità prodotta con una biotecnologia all'avanguardia.

3.6. Embriogenesi somatica e seme artificiale

Come è avvenuto per numerose altre specie arboree, anche l'olivo è stato oggetto di indagini per verificare la possibilità di impiegare l'embriogenesi somatica come tecnica di propagazione.

Come è noto, l'embriogenesi somatica è un processo grazie al quale cellule differenziate riacquisiscono capacità meristematica organizzandosi contemporaneamente in un polo radicale e un polo caulinare che caratterizzano un nuovo embrione. Gli embrioni somatici sono simili, per gli aspetti strutturali, agli embrioni zigotici.

La messa a punto delle colture cellulari in vitro su substrato liquido ha prospettato ulteriori e notevoli potenzialità di applicazione dell'embriogenesi somatica. Questo metodo si basa sulla coltura di callo embriogenico disperso in una soluzione nutritiva, dove le cellule, singole o riunite in piccoli raggruppamenti, vengono indotte prima a dividersi attivamente, poi a differenziarsi in embrioni somatici. L'efficienza di questo sistema di coltura è stata ulteriormente

ampliata attraverso l'impiego dei bioreattori, cioè apparecchiature complesse con le quali è possibile controllare e ottimizzare le condizioni fisiche e chimiche del substrato di coltura.

I maggiori vantaggi di questi metodi sono rappresentati principalmente dalla elevata quantità di piante che si può produrre, almeno per alcune specie, in tempi e spazi assai più limitati di quelli necessari per la micropropagazione. Inoltre, l'embrione somatico, essendo provvisto del meristema caulinare e radicale, consente di ridurre le manipolazioni delle colture, rispetto a quanto avviene con la micropropagazione con la quale i germogli devono essere prima moltiplicati e poi radicati.

Per quanto riguarda l'olivo, i primi risultati ottenuti da Rugini (1988) sono stati molto interessanti avendo messo in evidenza la capacità di produrre embrioni somatici a partire da embrioni zigotici immaturi coltivati in vitro di alcune cultivar di olivo. I risultati di queste ricerche hanno mostrato come la capacità embriogenica fosse strettamente dipendente dall'età degli embrioni zigotici (75 giorni dopo la piena fioritura) e come esistesse una "finestra di competenza" al di fuori della quale il processo embriogenico non avveniva. Tale risultato è stato poi osservato e confermato anche in altre ricerche (Leva et al., 1995; Pritsa e Voyiatzis, 1999) dove la "finestra di competenza" si manifestava dopo diversi periodi, variabili con la cultivar dalla quale era prelevato l'embrione zigotico di partenza. Inoltre, è emerso che la capacità embriogenica è fortemente influenzata da molteplici fattori (bilancio ormonale del substrato di coltura, condizioni ambientali, ecc.) che rendono tale processo particolarmente complesso da studiare.

Allo stato attuale delle conoscenze, l'embriogenesi somatica dell'olivo appare come uno strumento di propagazione molto interessante che, tuttavia, necessita ancora di molteplici importanti approfondimenti (Rugini et al., 2005). L'aspetto più rilevante è costituito dalle

caratteristiche genetiche delle piante derivate da embrioni somatici che con elevata probabilità saranno diverse da quelle del genotipo di partenza; infatti, l'embrione zigotico, derivando da fecondazione incrociata, sarà caratterizzato da una più o meno elevata eterozigosi e quindi anche gli embrioni somatici derivati da esso saranno sicuramente diversi dalla pianta madre. Inoltre, è da considerare che nel caso in cui gli embrioni somatici si differenziassero da tessuto di callo la probabile variabilità genetica sarebbe ancora più accentuata. Pertanto, per il momento, l'embriogenesi somatica appare essere un possibile strumento da valutare per la produzione di portinnesti e per l'ampliamento della biodiversità oltre quella attualmente esistente tra le diverse cultivar (Leva e Petruccelli, 2007, 2011). In una prospettiva di più lungo termine gli embrioni somatici potrebbero essere utilizzati per la produzione di "semi artificiali", cioè embrioni somatici incapsulati in una specifica matrice, capace di conferire una certa resistenza meccanica, di proteggere l'embrione, simulando un tessuto di riserva che al momento della germinazione, libera sali minerali, carboidrati, vitamine e regolatori di crescita precedentemente incorporati nella sua struttura. I semi artificiali sono del tutto simili ai semi naturali e per molteplici specie erbacee e legnose hanno fornito risultati di grande interesse applicativo in campo vivaistico. Negli ultimi anni è stata presa in considerazione anche la possibilità di costituire una sorta di "semi artificiali" utilizzando strutture diverse dagli embrioni somatici rappresentate da talee uninodali, gemme ascellari, apici di germoglio, ecc. (Standardi e Piccioni, 1998, Micheli et al., 1998).

3.7. Considerazioni conclusive

Uno degli aspetti su cui si è sviluppato un ampio dibattito fin dalla prima comparsa sul mercato vivaistico degli olivi propagati per talea, è rappresentato dalla preferenza per le piante innestate o autoradicate e quale fosse

l'orientamento più corretto da indicare ai vivaisti e agli olivicoltori. Ovviamente, nei casi in cui la rizogenesi avventizia di una cultivar è troppo bassa, la scelta non si pone e l'innesto rappresenta l'unica tecnica di propagazione praticabile. Ma per le cultivar che possiedono una buona o elevata radicazione, a parità di qualità vivaistica delle piante provenienti da talea e da innesto, possono sorgere dei dubbi su quale delle due sia migliore. Le ricerche effettuate negli anni '70 del secolo scorso non hanno portato ad una risoluzione univoca e generalizzabile sulla produttività (Guerriero et al., 1972, 1974), nel senso che le piante ottenute con i due metodi di propagazione hanno risposto diversamente in relazione alla zona in cui sono state effettuate le ricerche e alle cultivar impiegate (Moraiolo, Frantoio, Leccino). Per quanto riguarda il rapporto tra chioma e radici, il valore non è apparso modificato tra piante innestate e franche di piede (Scaramuzzi, 1963). Inoltre, le radici delle piante autoradicate erano inserite ad uno stesso livello sul fusto, mentre quelle delle piante innestate si distribuivano lungo un tratto del fittone originario di circa 15 – 20 cm. Infine, nelle piante da talea il sistema radicale mostrava una notevole presenza di radici (circa il 40 – 45 %) entro i primi 20 cm di profondità, mentre le piante innestate presentavano una più decisa tendenza ad accrescersi verso il basso. Queste differenze facevano presumere che le piante innestate producessero un apparato radicale più sviluppato in profondità e fossero quindi più idonee per gli ambienti meridionali, maggiormente soggetti a eventuali stress idrici. In realtà questa diversa conformazione può manifestare effetti positivi soltanto per un breve periodo dopo la messa a dimora delle piante, in considerazione del fatto che dopo un certo

numero di anni gli apparati radicali delle piante innestate e da talea si eguagliano. Inoltre, l'effetto dell'apparato radicale fittonante, come quello dei semenzali, si riduce a seguito della mutilazione cui è sottoposto il fittone quando la pianta viene allevata in contenitore, oggi molto diffuso per l'olivo, facendo perdere al sistema radicale parte della sua peculiarità. D'altra parte, un maggiore approfondimento delle radici delle piante autoradicate potrebbe essere ottenuto collocandole a dimora alcuni centimetri più profonde. Infine, non è da trascurare che i moderni oliveti sono spesso corredati di impianto di irrigazione che permette di supplire alle eventuali carenze idriche del terreno, facendo perdere di importanza alle eventuali differenze dell'apparato radicale.

Altre considerazioni riguardano il ciclo di produzione delle piante innestate e autoradicate (Figura 21). Per quelle innestate il tempo necessario per produrre una pianta di dimensioni commerciali è più lungo di circa un anno, la programmazione della produzione presenta maggiori difficoltà ed è necessaria una serie di interventi e tecniche colturali che rendono la filiera piuttosto onerosa e richiedono varie strutture (semenzai, ombrari) e spazi adeguati (nostaio). E' da sottolineare inoltre la difficoltà di reperire in un prossimo futuro personale specializzato per l'esecuzione degli innesti, operazione divenuta sempre più onerosa. Nel complesso la gestione colturale è, però, abbastanza semplice se si confronta, ad esempio, con la propagazione per talea. Quest'ultima tecnica offre una maggiore dinamicità, sebbene le strutture necessarie siano più complesse e richiedano un costante monitoraggio da parte di personale competente.

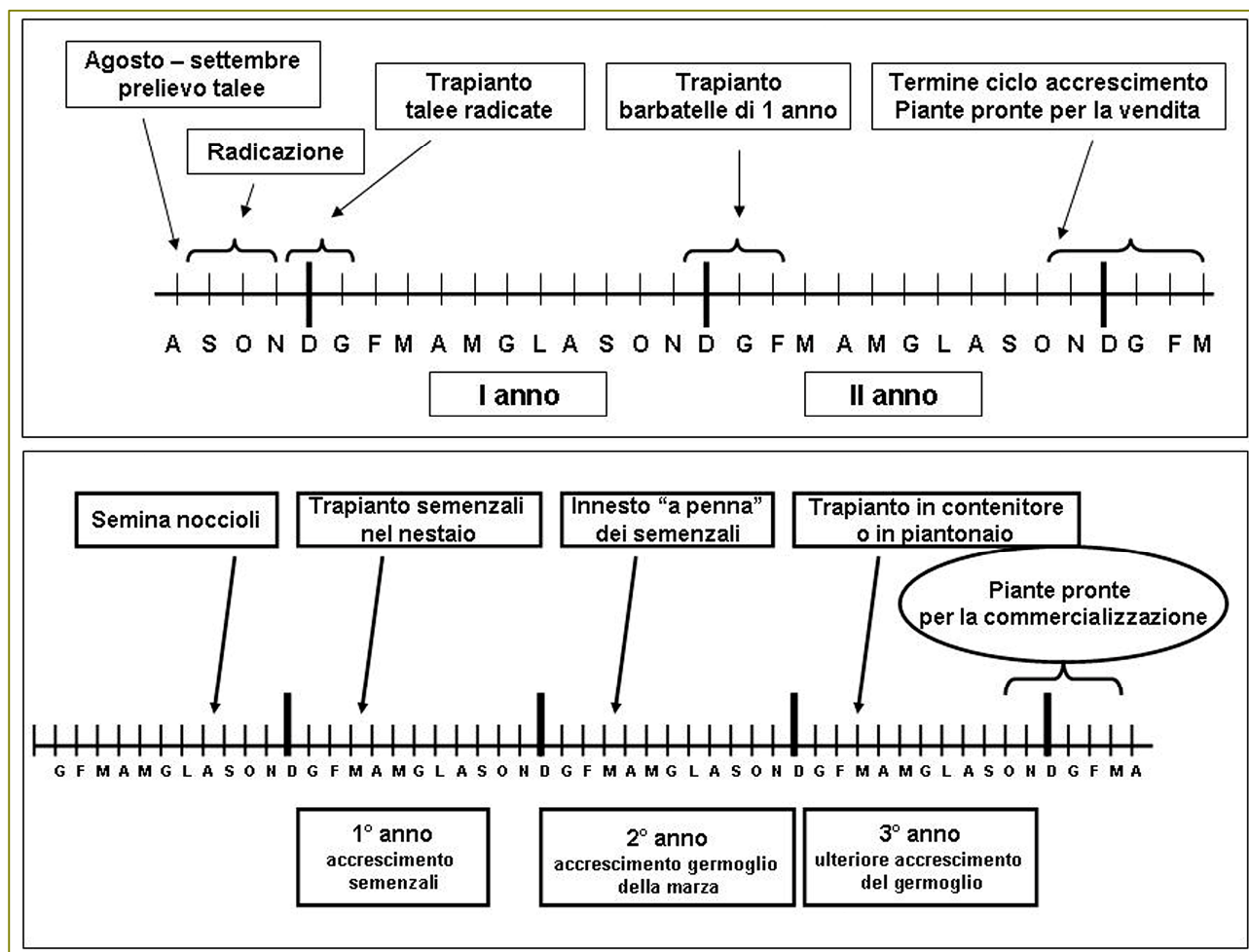


Figura 21. Illustrazione schematica dei tempi necessari per ottenere una pianta di dimensioni commerciali con la tecnica della talea semilegnosa (sopra) e dell'innesto (sotto).

In conclusione, in base alle considerazioni di cui sopra, la propagazione per talea è senz'altro più vantaggiosa, dinamica e in grado di fornire piante di elevata qualità vivaistica. Per un prossimo futuro è presumibile che il divario tra piante innestate e autoradicate aumenti anche in vista della costituzione di oliveti intensivi o superintensivi caratterizzati da un elevato o molto elevato numero di piante per ettaro. In questa prospettiva, la micropropagazione dell'olivo potrebbe costituire una tecnica di propagazione più efficiente e in grado di soddisfare agevolmente le esigenze della moderna olivicoltura. Pertanto la micropropagazione e, in una prospettiva più lontana, l'embrigenesi

somatica, potenzialmente capaci di produrre grandi quantità di piante in spazi ridotti e tempi brevi, potrebbero presumibilmente consentire di ridurre i costi di produzione e di conseguenza i prezzi delle piante sul mercato vivaistico.

Bibliografia

- Basso M. (1962). *Osservazioni sulla germinabilità dei semi di olivo*. "L'Agricoltura Italiana".
- Bartolini G. (2007). *Olea databases*. <http://www.oleadb.it>
- Breviglieri N. (1958). *L'olivo propagato per talea con il metodo della nebulizzazione (secondo contributo)*. L'Italia Agricola n. 4.
- Breviglieri N., Costa L. (1957). *La propagazione per*

- talea con la nebulizzazione*. L'Italia Agricola n. 1.
- Briccoli Bati C., Godino G., Nuzzo V. (2002). *Preliminary agronomic evaluation of two olive cultivars obtained by micropropagation*. Acta Horticulturae, 586: 867 – 870
- Briccoli Bati C., Godino G., Monardo D., Nuzzo V. (2006). *Influence of propagation techniques on growth and yield of olive trees cultivars "Carolea" and "Nocellara Etnea"*. Scientia Horticulturae, 2:173 - 182.
- Bussato M. (1612). *Giardino d'Agricoltura*. S. Combi Ed., Venezia.
- Caruso T., Motisi A., Buffa R., Lo Gullo M.A., Ganino T., Secchi L., Salleo S. (2006). *Meccanismi coinvolti nel controllo della crescita vegetativa dell'olivo attraverso l'impiego del portinnesto*. Frutticoltura, 3: 51 - 55.
- Ciampi C., Gellini R. (1958). *Anatomical study of the relationship between structure and rooting capacity in olive cuttings*. Nuovo Giornale Botanico Italiano, 65: 417 – 424.
- Cimato A. (1999). *Propagazione e certificazione dei piantoni*. Atti del Seminario internazionale sulle innovazioni scientifiche e loro applicazioni in olivicoltura ed elaiotecnica. Firenze, 10-12 Marzo.
- De La Rosa R., Leòn L., Guerrero N., Barranco D., Rallo L. (2006). *Resultados preliminares de un ensayo de densidades de plantacion en olivar en seto*. Especial olivicoltura, 160: 43 – 46.
- Fabbri A. (1980). *Influenza di alcuni caratteri anatomici sulla radicazione di talee di olivo cv "Frangivento"*. Riv. Ortoflorofrutt. Ital., 4: 325 - 335.
- Fabbri A., Bartolini G., Lombardi M., Kailis S. (2004). *Olive Propagation Manual*. Collingwood VIC (Australia), CSIRO Publishing, Canberra Ed. Landlinks Press, 3066.
- Filippucci B. (1977). *La moltiplicazione dell'olivo. Proposte per una forma di allevamento di piante madri per la produzione di talee*. Annali Ist. Sper. Oliv..
- Fiorino P., Mancuso S. (2003). *Tecniche di propagazione e vivaismo*. In: Olea - Trattato di Olivicoltura. Ed. Edagricole, Bologna, 307 - 329.
- Fontanazza G., Baldoni L., Corona C. (1992). *Osservazioni sull'impiego di portinnesti clonali negli olivi "Acolana tenera" e "Giaraffa"*. Frutticoltura, 11: 65 - 69.
- Fonatanazza G., Rugini E. (1981). *Radicazione delle cultivar di olivo con il metodo del "cassone riscaldato" III contributo*. Frutticoltura, n. 2: 39 – 44.
- Godini A., Palasciano M., Ferrara G., Campoese S. (2006). *Prime osservazioni sul comportamento agronomico di cultivar di olivo allevate con il modello superintensivo*. Frutticoltura, 3: 40 - 44.
- Grigoriadou K., Vasilakakis M., Eleftheriou E.P. (2002). *In vitro propagation of the Greek olive cultivar "Chondrolia Chalkidikis"*. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 71: 47 - 54.
- Guerriero R., Scaramuzzi F., Crescimanno F.G., Sottile I. (1972). *Ricerche comparative tra olivi innestati ed autoradicali*. Osservazioni sui primi anni di impianto. Tecnica Agricola, 4: 275 - 299.
- Guerriero R., Scaramuzzi F., Crescimanno F.G., Sottile I. (1974). *Confronto tra diverse combinazioni di innesto dell'olivo su piante autoradicate*. Tecnica Agricola, 4: 5-26.
- Hartmann H.T. (1946). *The use of rooting promoting substance in the propagation of olives by soft-wood cuttings*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 48: 303 – 308.
- Hartmann H.T. (1958). *Rootstock effects in the olive*. Amer. Soc. Hort. Sci., 72: 242 – 251.
- Hartmann H.T., Loreti F. (1965). *Seasonal variation in rooting leafy olive cuttings under mist*. Amer. Soc. Hort. Sci., 87: 194 – 198.
- Hartmann H.T., Whisler J.E. (1970). *Some rootstock influence in the olive (Olea europaea L.) cv Sevillano*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 5: 562 - 565.
- Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T.Jr., Geneve R.L. (2002). *Plant propagation*.

-
- Principles and practices*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey
- Hartmann H.T., Schnathorst W.C., Whisler J.E. (1971). "Oblonga". *A clonal olive rootstock resistant to Verticillium wilt*. Calif. Agric., 6: 12 – 15.
- International Olive Council, 2005. <http://www.internationaloliveoil.org/projects/paginas/Section-b.htm>.
- Iacoboni N., Fontanazza G. (1976). *L'innesto talea in cassone riscaldato alla base*. Italia Agricola, 133: 104 – 112.
- Jarvis B.C. (1986). *Endogenous control of adventitious rooting in non-woody species*. In M.B. Jackson Ed., *New root formation in plants and cuttings*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers.
- Lambardi M., Rugini E. (2003). *Micropropagation of olive*. In: *Micropropagation of woody trees and fruits*. Mohan Jain S., and Katsuaki Ishii Eds., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Lavee S., Avidan N., Haskal A., Ogrudovich A. (1996). *Riduzione della fase giovanile nei semenzali di olivo. Strumento di sviluppo del miglioramento genetico*. Olivae, 60: 33 – 41.
- Leva A.R., Muleo R., Petruccelli R. (2003). *Reproductive, vegetative and agronomic behaviour of micropropagated olive cv. "Maurino"*. Acta Hort., 616:309-311.
- Leva A.R., Muleo R., Petruccelli R. (1995). *Long-term somatic embryogenesis from immature olive cotyledons*. J. Hort. Sci., 70: 417 – 421.
- Leva A.R., Petruccelli R., Goretti R. (2002). *La micropropagazione dell'olivo: una biotecnologia per un moderno vivaismo olivicolo*. Frutticoltura, 10: 29 – 34.
- Leva A.R., Petruccelli R. (2007). *Field performance of olive somaclones derived from somatic embryos*. Acta Horticulturae, 748: 181 – 189.
- Leva A.R., Petruccelli R. (2011). *Dwarf olive trees for ornamental use: a morphological evaluation*. J. Hort. Sci. & Biotech., 86: 217 – 220.
- Lorenzi R., Ceccarelli N. (1979). *Rizogenesi e ciclo vegetativo in Arbutus unedo e Camellia japonica*. Rivista Ortoflorofrutticoltura Italiana, 4: 291 – 302.
- Loreti F. (1962). *Indagini sull'impiego di sostanze rizogene nella propagazione dell'olivo per talea con la tecnica della nebulizzazione*. Frutticoltura, n. 8-9: 638 – 645.
- Loreti F. (2007). *Riflessioni sulla rivoluzione globale nelle tecniche di coltivazione dell'olivo*. Atti della Accademia dei Georgofili, Anno 2007, serie VIII, Vol. 4. Tomo II. Pp. 87 – 109.
- Loreti F., Hartmann H.T. (1964). *Propagation of olive trees by rooting leafy cuttings under mist*. Amer. Soc. Hort. Sci., 85: 257 – 264.
- Mancuso S., Rinaldelli E., Mura P., Faucci M.T., Manderioli A. (1997). *Employment of indolebutyric acid and indoleacetic acids complexed with α -cyclodextrin on cuttings rooting in Olea europea L. cv. Leccio del Corno. Effects of concentration and treatment time*. Adv. Hort. Sci., 11: 153 – 157.
- Mencuccini M., Pollacci P. (2003). *Osservazioni in campo di piante di olivo micropropagate (Olea europaea L.)*. Italus Hortus, 4: 175 – 178.
- Micheli M., Mencuccini M., Standardi A. (1998). *Encapsulation of in vitro proliferated buds of olive*. Adv. Hort. Sci., 12: 163 – 168.
- Montefrancesco G. (2010). *La coltivazione dell'olivo, un po' di storia. Cultura Salentina*. Rivista di pensiero e cultura meridionale, 7 aprile 2010 Clentina.
- Morettini A. (1972). *Olivicoltura*. REDA, Roma
- Mura P., Ceccarelli L., Rinaldelli E., Mancuso S. (1995). *Improvement of solubility of indolbutyric acid by complexation with α -cyclodextrin and rhizogenic activity in Olea europea L. cultivar, "Leccio del Corno"*. Advances Horticulturae Science, 9, 119 – 121.
- Ozkaya M. T., Gelik M. (1994). *The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of Turkish olive cultivars Gemlik and Domat*. Acta Hort., 356: 31 – 34.
- Pannelli G., Famiani F., Rugini E. (1992). *Effects of a change in ploidy level on anatomical cytological,*
-

- reproductive and growth performance changes and polyamine contents, in mutant of gamma irradiated olive plants. Acta Horticulturae*, 317: 209 – 218.
- Pritsa T.S., Voyiatzis D.G. (1999). *The in vitro morphogenetic capacity of olive embryos, as affected by their developmental stage and the L-arginine and L-glutamine concentration in the nutrient substrate. Acta Horticulturae* 474: 87 - 90.
- Rallo L. (1995). *Selezione e miglioramento genetico dell'olivo in Spagna. Olivae*, 59: 46 - 53.
- Rallo L. (2006). *The olive industry in Spain*. Second International Seminar, Olivebioteq, Marsala-Mazzara del Vallo, 5 – 10 novembre, pp 151 – 161.
- Rallo L. (1999). *Miglioramento genetico*. Atti del Seminario Internazionale sulle Innovazioni scientifiche e loro applicazioni in olivicoltura ed elaiotecnica. Firenze, 10-12 Marzo.
- Rio C., Rallo L., Caballero J.M. (1991). *Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive. J. Hort. Sci.* 3: 301 - 309.
- Rugini E. (1988). *Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (Olea europaea L.) Plant Cell Tiss. Org Cult.*, 14: 207 – 214.
- Rugini E. (1992). *Involvement of polyamines in auxin and Agrobacterium rhizogenes induced rooting of fruit trees in vitro. J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 3: 532 – 536.
- Rugini E., Mencuccini M., Biasi R., Altamura M.M. (2005). *Olive (Olea europaea L.)*. In: Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants, S.M. Jain and P.K. Gupta (eds.), pp. 345–360 Springer, Printed in the Netherlands.
- Rugini E., Pannelli G., Ceccarelli M., Muganu M. (1996). *Isolation of triploid and tetraploid olive (Olea europaea L.) plants from mixoploid cv Frantoio and Leccino mutants by in vivo and in vitro selection. Plant Breeding*, 115: 23 – 27.
- Rugini E., Politi V., Bignami C., De Agazio M., Grego S. (1990). *Effect of polyamine treatments on rooting cutting of three olive cultivars. Acta Hort.*, 286: 97 - 100.
- Sachs R.M., Loreti F., De Bie J. (1964). *Plant rooting studies indicate sclerenchyma tissue is not a restricting factor. California Agriculture*, 18: 4 – 5.
- Santos C.V., Brito G., Pinto G., Fonseca H.M.A.C. (2003). *In vitro plantlet regeneration of Olea europaea L. spp. Maderensis. Sci. Hort.* 97: 83 - 87.
- Scaramuzzi F. (1957). *Ricerche sul potere germinativo dei semi di diversa età in Olea europaea. L'Agricoltura Italiana*, LVII: 212 - 216.
- Scaramuzzi F. (1958). *Influenza dell'epoca di raccolta dei frutti sulla germinabilità dei semi di olivo. "L'Agricoltura Italiana"*.
- Scaramuzzi F. (1962). *Problemi vecchi e nuovi nella propagazione dell'olivo. Frutticoltura*, n. 8-9: 613 – 623.
- Scaramuzzi F. (1963). *L'apparato radicale degli olivi in vivaio. L'Italia Agricola*, n. 12: 1 – 12.
- Sebastiani L., Tognetti R. (2004). *Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in Olea europaea L. (cvs 'Frantoio' and 'Gentile di Larino') cuttings. Scientia Horticulturae*, 1-4: 75 - 82.
- Sebastiani L., Tognetti R., Di Paolo P., Vitagliano C. (2002). *Hydrogen peroxide and indole-3-butyric acid effects on root induction and development in cuttings of Olea europaea L. (cv. Frantoio and Gentile di Larino). Adv. Hort. Sci.* 1: 7 – 12.
- Standardi A., Piccioni E. (1998). *Recent perspectives on synthetic seeds technology using nonembryogenic in vitro-derived explants. Int. J. Plant Sci.*, 159: 968 – 978.
- Venturi G. (1816). *Trattato degli innesti*. Reggio, per G. Davolio e figlio, Tipografi di Governo.
- Vezzosi C. (1990). *Il vivaismo pistoiense*. Centro Studi per il Vivaismo, Pistoia.
- Zuccherelli G., Zuccherelli S. (2002). *In vitro propagation of fifty olive cultivars. Acta Horticulturae*, 586: 931 – 934.