



Università degli Studi della Tuscia
Facoltà di Agraria
Dip. Di Produzione Vegetale

Dottorato di ricerca in
Ortoflorofrutticoltura XVIII ciclo

“Strategie per la riduzione dello stress salino in piante orticole”

Tutore: Chiar.mo Prof. Alberto Graifenberg

Candidato: Dott. Paolo Zuccarini

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Francesco Saccardo

Sede consorziata: Università degli Studi di Pisa – Dipartimento di
Biologia delle Piante Agrarie

*“...l'essenziale è invisibile agli
occhi” disse la volpe.*

Saint - Exupéry

INDICE

	Pag.
I – INTRODUZIONE.....	9
I. 1 - PROBLEMATICA DELLA SALINITA' IN AGRICOLTURA	10
I. 2 – EFFETTI DELLA SALINITA' IN AGRICOLTURA	12
I. 2. 1 – Effetti sul suolo	12
I. 2. 2 – Effetti sulla pianta	12
A - Effetti morfologici.....	12
B - Effetti fisiologici	13
C – Effetti sulla produzione	14
I. 3 – MECCANISMI DI TOLLERANZA DELLA PIANTA ALLO STRESS SALINO..	16
I. 4 - STRATEGIE DI INDUZIONE DI TOLLERANZA ALLO STRESS SALINO IN PIANTE AGRARIE	18
I. 4. 1 – Strategie di avoidance	18
A – Consociazione con piante alofite.....	19
B – Applicazione di sali di K	20
C – Gestione delle acque di irrigazione	21
D - Strategie di stampo prettamente agronomico.....	23
I. 4. 2 – Strategie di tolerance.....	26
A – Infezione micorrizica.....	26
B - Impiego di genotipi tolleranti	28
C – Impiego di regolatori di crescita.....	29
D – Applicazione di sali di Si.....	30
I. 5 - SCOPO DELLA RICERCA	32
II - CONSOCIAZIONE CON PIANTE ALOFITE	33
II. 1 - PROVA DEL I ANNO: CONSOCIAZIONE CON TRE DIVERSE SPECIE DI PIANTE ALOFITE	34
II. 1. 1 – Introduzione.....	34
II. 1. 2 – Materiali e Metodi	35
Analisi della qualità delle bacche.....	36
Metodi di analisi chimica dei macroelementi nella sostanza secca dei tessuti	37

	Pag.
II. 1. 3 - Risultati	38
Prova A: terreno non salino e acqua salina	38
Prova B : terreno salino e acqua non salina	39
Grafici Prova A	41
Grafici Prova B.....	47
II. 1. 4 – Discussione	53
II. 2 - PROVA DEL II ANNO: CONSOCIAZIONE TRA POMODORO E <i>PORTULACA</i> A DIVERSE EPOCHE DI SEMINA	55
II. 2. 1 - Introduzione	55
II. 2. 2 – Materiali e Metodi	55
II. 2. 3 - Risultati	56
II. 2. 4 - Discussione.....	62
III - INFEZIONE CON INOCULO MICORRIZICO: PARTE I.....	63
III. 1 – INTRODUZIONE	64
III. 1. 1 – Impiego dei microrganismi in agricoltura.....	64
III. 1. 2 – Generalità sulle micorrize	65
Ectomicorrize	66
Endomicorrize	67
Ectoendomicorrize	69
III. 1. 3 – Impiego dei funghi micorrizici come strategia contro gli stress abiotici	69
III. 1. 4 – Impiego dei funghi micorrizici come strategia contro lo stress salino.....	70
III. 1. 5 – Scopo del lavoro.....	72
III. 2 - MATERIALI E METODI.....	72
III. 2. 1 – Condizioni sperimentali	72
III. 2. 2 – Prova preliminare d’infezione	72
Colorazione delle radici	73
Valutazione del livello d’infezione	73
III. 2. 3 – Schema della prova	74
III. 2. 4 – Rilievi.....	75
III. 3 – RISULTATI	75
III. 3. 1 – Crescita.....	75
III. 3. 2 – Contenuto in clorofilla	76
III. 3. 3 – Area fogliare.....	76
III. 3. 4 –CE e pH del substrato.....	76
III. 3. 5 – Contenuto in Na, Cl, K, Ca nei tessuti delle piante.....	77
III. 3. 6 – Grafici e Tabelle.....	78
III. 4 – DISCUSSIONE.....	84

	Pag.
IV - INFEZIONE CON INOCULO MICORRIZICO: PARTE II	87
IV. 1 – INTRODUZIONE.....	88
IV. 1. 1 – Impiego di diversi livelli di fertilizzazione	88
IV. 1. 2 – Efficienza fotochimica	88
Il transiente della fluorescenza	91
IV. 1. 3 – Impiego di un singolo ceppo di fungo micorrizico	93
IV. 2 - MATERIALI E METODI	94
IV. 2. 1 – Condizioni sperimentali	94
IV. 2. 2 – Infezione micorrizica	95
IV. 2. 3 – Livelli di fertilizzazione	95
IV. 2. 4 – Acqua impiegata per l'irrigazione.....	95
IV. 2. 5 –Rilievi effettuati	96
IV. 3 – RISULTATI.....	98
IV. 3. 1 – Crescita.....	98
IV. 3. 2 – Efficienza fotochimica	99
IV. 3. 3 – Contenuto in Na, Cl e K nei tessuti della pianta	101
IV. 3. 4 – Tasso di infezione	102
IV. 4 – DISCUSSIONE.....	109
V - APPLICAZIONE DI SILICIO.....	113
V. 1 – INTRODUZIONE.....	114
V. 1. 1 – Importanza del Silicio per le piante superiori	114
V. 1. 2 – Importanza del Silicio in relazione allo stress salino	115
V. 1. 3 – Scopo del lavoro	117
V. 2 - MATERIALI E METODI.....	118
V. 2. 1 – Condizioni sperimentali	118
V. 2. 2 – Tesi messe a confronto	118
V. 2. 3 – Rilievi effettuati.....	120
Crescita.....	120
Conduttanza stomatica	120
Tasso di assimilazione fotosintetica	120
Turgore fogliare e area fogliare.....	121
Contenuto in Na, Cl, K nei tessuti delle piante	121
V. 3 – RISULTATI	122
V. 3. 1 – Crescita.....	122
V. 3. 2 – Conduttanza stomatica	122
V. 3. 3 – Tasso di assimilazione fotosintetica	122
V. 3. 4 – Turgore fogliare.....	123

	Pag.
V. 3. 5– Area fogliare.....	123
V. 3. 6 – Contenuto di Na, Cl e K nei tessuti delle piante	124
V. 3. 7 – Grafici e Tabelle	125
V. 4 – DISCUSSIONE.....	132
VI – CONCLUSIONI.....	135
VII - BIBLIOGRAFIA.....	139

I – INTRODUZIONE

I. 1 - PROBLEMATICA DELLA SALINITA' IN AGRICOLTURA

Uno dei problemi più urgenti per l'agricoltura odierna è l'accumulo di salinità nei terreni irrigui: si stima che circa un terzo delle terre irrigue nel mondo siano affette da eccessivi carichi salini, e che ogni anno 10 milioni di ettari irrigati siano mediamente abbandonati a causa di questo problema (Flowers *et al.*, 1986). Previsioni particolarmente pessimistiche arrivano a prefigurare che entro i prossimi 25 anni la salinizzazione causerà la perdita del 30% degli attuali terreni agrari, valore destinato a salire fino al 50% entro il 2050 (Altman, 1999). Queste proiezioni appaiono tanto più preoccupanti qualora si consideri che la popolazione umana sta crescendo a un ritmo tale che nel 2050 avremo superato i 10 miliardi di individui, mentre l'incremento annuo della produzione agricola ammonterebbe al solo 1,8% (Altman, come sopra).

La salinizzazione è inoltre uno dei principali fenomeni alla base di -e attraverso cui- si manifesta il processo di desertificazione dei terreni, processo che nelle sue forme più intense interessa oltre 100 paesi minacciando la sopravvivenza di più di 1 miliardo di persone. La situazione è particolarmente drammatica nelle zone aride, dove circa il 70% delle aree, corrispondenti a 1/4 dell'intera superficie terrestre, risultano minacciate. Ma il problema è largamente presente anche nelle zone temperate: da stime effettuate dalla Unione Europea risulta che il 27% del territorio italiano è esposto a un elevato rischio di erosione; le regioni della Puglia, Basilicata, Calabria, Sicilia e Sardegna mostrano un processo di desertificazione già avanzato (dalla prima conferenza mondiale sulla Convenzione delle Nazioni Unite per la Lotta alla Desertificazione (UNCCD), Roma, 1997).

La salinizzazione di un terreno agricolo può essere dovuta a due fenomeni: uno primario, indotto dalla costituzione del terreno, e uno secondario, legato all'applicazione intensiva di alcune tecniche colturali tra cui in particolare l'irrigazione con acque saline (Szabolcs, 1994).

Mentre il primo tipo di fenomeno è tipico dei terreni aridi e semiaridi, dove la rapida evaporazione della soluzione circolante lascia un accumulo di sali negli strati più superficiali, il secondo si verifica prevalentemente nelle aree costiere. Il motivo è che lo sfruttamento intensivo, unito agli scarsi apporti idrici, causano alle acque di falda un aumento del contenuto di sali per infiltrazione di acqua marina. Da ciò consegue un

accumulo di sali nel terreno e l'insorgenza nelle specie coltivate di stress, che in definitiva portano a una riduzione della produzione (Maas & Hoffman, 1977), accompagnata da precisi sintomi di tipo morfologico e fisiologico. Si capisce pertanto come il problema assuma dimensioni drammatiche soprattutto nei paesi a clima arido e semiarido situati in prossimità delle coste, quali ad esempio quelli del Medio Oriente, o ancora la costa occidentale degli Stati Uniti (California): la salinità congiunta dei terreni e delle acque ha obbligato i governi di questi paesi a investire nella ricerca di soluzioni applicabili su larga scala.

Gli sforzi degli studiosi si sono in un primo momento rivolti all'ottenimento di acque dolci utilizzabili per l'agricoltura, identificando come tecniche principali per il dissalamento dell'acqua l'osmosi inversa e il *boiling*, tecniche dotate di caratteristiche diverse che rendono più adatta l'una o l'altra a seconda delle condizioni di lavoro (in particolare, l'osmosi inversa si presta meglio su scale medio-piccole, mentre il *boiling* è preferibile laddove sia necessario conseguire un dissalamento più spinto, o qualora si debba lavorare su grande scala). Oggi 12500 impianti di desalinizzazione sono operanti nel mondo, il 60% dei quali concentrati in Medio Oriente. Essi forniscono 20 milioni di m³ di acqua dolce al giorno, pari all'1% della disponibilità mondiale giornaliera di acqua potabile.

Questi dati potrebbero sembrare confortanti, ma non è così. I costi di produzione sono infatti molto alti (mediamente 1,2 euro/m³ nei paesi mediterranei), e i volumi di acqua prodotti sono di gran lunga insufficienti a soddisfare il fabbisogno irriguo dell'agricoltura. Le tecniche di dissalamento dell'acqua trovano pertanto utile applicazione per l'impiego alimentare e domestico (si stima pari a 40 l/giorno la quantità minima di acqua potabile necessaria alla sopravvivenza di un individuo) ma non possono risolvere, allo stato attuale delle conoscenze, le richieste del comparto agricolo.

Il costo notevole delle tecniche di desalinizzazione delle acque ha spinto gli studiosi a indagare altre strategie di riduzione dello stress salino nelle piante agrarie, quali la selezione di genotipi tolleranti e l'impiego di adatte strategie di tipo agronomico, la cui individuazione e applicazione non può comunque prescindere dalla conoscenza dei meccanismi di azione dello stress salino al livello di suolo e pianta.

I. 2 – EFFETTI DELLA SALINITA' IN AGRICOLTURA

I. 2. 1 – Effetti sul suolo

Gli effetti negativi della salinizzazione sul suolo sono in prevalenza due: la deflocculazione e l'innalzamento del pH.

Alte concentrazioni di sodio portano ad un suo adsorbimento sulle superfici dei colloidi argillosi ed organici al posto di calcio e magnesio. Avendo il Na un'azione deflocculante sulla struttura del terreno, questa sostituzione ne favorisce, a lungo termine, il compattamento (Richards, 1954; Kovda, 1977). Si generano così problemi di asfissia radicale, dovuti alla minor permeabilità e al peggior drenaggio; inoltre questa peggiore struttura del terreno favorisce a sua volta l'accumulo di sali, portando a un ulteriore aggravamento del problema.

Un altro effetto dell'elevata concentrazione di sodio riguarda il pH, il cui valore tende ad alzarsi, in modo tale che diversi macro e microelementi si insolubilizzano, restando nella soluzione circolante in concentrazioni molto basse e poco disponibili per le piante (Kovda, 1977).

I. 2. 2 – Effetti sulla pianta

A - Effetti morfologici

La sintomatologia che si riscontra in piante sensibili o mediamente tolleranti (non alofite) cresciute su substrati eccessivamente salini è tipica, e generalizzabile a molte specie. I principali sintomi morfologici riguardano alterazioni più o meno evidenti della colorazione delle foglie, e un visibile ispessimento della lamina fogliare (Longstreth & Nobel, 1979; Nolan *et al.*, 1982); inoltre si possono manifestare, sempre sulla foglia, bruciature marginali e necrosi (Bernstein, 1975; Nolan *et al.*, 1982). Se le condizioni saline perdurano, si assiste a precoce filloptosi, con conseguente accorciamento del ciclo biologico e produttivo (Barbieri & De Pascale, 1992).

A tali sintomi, in piante non tolleranti, si collegano alterazioni del metabolismo quali un aumento della resistenza stomatica e della resistenza al movimento dell'acqua all'interno dei tessuti (Maas & Niemann, 1978; Adams & Ho, 1989), nonché una riduzione dei ritmi di assimilazione di CO₂ (O'Leary, 1984). Inoltre da alcuni Autori è stata riscontrata una

diminuzione della quantità di fitoregolatori come gibberelline e citochinine, specialmente a livello fogliare (Zeroni, 1988).

B - Effetti fisiologici

Le cause dei sintomi sopraelencati sono gli effetti negativi esercitati dai sali su alcuni processi fisiologici delle piante e sul terreno.

Gli effetti negativi dell'eccesso di ioni nella soluzione circolante sul sistema suolo-pianta si articolano, per quanto riguarda la pianta, essenzialmente in tre fenomeni (Luttge *et al.*, 1984; Pitman, 1984):

- Un incremento del potenziale osmotico dell'acqua del terreno, con riduzione dell'acqua disponibile per l'assorbimento da parte delle piante. Gli effetti che si producono sono paragonabili a quelli di un deficit idrico (siccità fisiologica) (Walter, 1961; Yeo, 1983; Barbieri & De Pascale, 1992). Questo fenomeno è anche detto *water stress*; la durata di tale fenomeno può risultare critica per la crescita di specie sensibili, ma può avere un effetto transitorio su quelle più tolleranti (Greenway & Munns, 1980).
- Un aumento nei tessuti della concentrazione di alcuni ioni, in particolare del Na, che hanno un effetto tossico e denaturante nei confronti degli enzimi del citoplasma, inibendo la sintesi proteica al livello degli acidi nucleici (Bernstein, 1961; Bernstein, 1975). Questo porta a un'alterazione della struttura delle membrane cellulari e dell'integrità funzionale dell'organo in maniera irreversibile; si determina una riduzione di crescita iniziale (riduzione dell'area fogliare, internodi accorciati) e successivamente, nei casi più gravi, imbrunimento, necrosi diffuse e morte dei tessuti. Questo fenomeno è detto *salt stress*.
- Un'alterazione nel bilancio dell'assorbimento di ioni da parte della pianta, con conseguenti squilibri nella concentrazione di elementi nutritivi all'interno dei tessuti (*ion imbalance stress*). Il motivo è l'antagonismo tra gli ioni, in particolare Na contro K e Ca, e Cl contro NO₃ (Lynch *et al.*, 1982; Flowers & Lauchli, 1983).

Recentemente è stato proposto un modello di risposta bifasica della crescita delle piante alla salinità (Munns *et al.*, 1995). Sulla base di questa ipotesi la crescita risulta inibita inizialmente dalla ridotta assunzione di acqua a livello radicale, causata dal basso potenziale idrico del terreno. In questa fase la pianta va incontro ad uno stress osmotico la cui entità è indipendente dal tipo di sale, ma dipendente dalla pressione osmotica da esso esercitata.

Successivamente l'ulteriore inibizione della crescita è dovuta ad uno stress di tipo tossico che si manifesta prima nelle foglie vecchie, che muoiono a causa del rapido incremento della concentrazione salina nelle pareti cellulari o nel citoplasma, quando i vacuoli non sono più in grado di contenere gli ioni tossici. Quando la perdita delle foglie più vecchie è superiore alla neosintesi, si manifesta un calo nella disponibilità di assimilati con consistenti danni alla crescita.

C – Effetti sulla produzione

Effetto finale delle alterazioni causate dalla salinità è, nelle specie agrarie, l'abbassamento della produzione. Questo problema si è rivelato tuttavia un valido criterio per la valutazione della tolleranza di varie specie, tramite confronti diretti. Si intende **produzione relativa** la resa di una coltura allevata in condizioni di salinità, espressa come frazione della sua resa in condizioni normali: questo parametro è importante, perché sulla sua base si possono confrontare colture le cui produzioni sono espresse in differenti unità.

La relazione tra salinità dell'acqua (o del suolo) e resa relativa viene espressa con l'uso di due parametri, secondo la formula di Maas & Hoffman (1977):

$$Pr = 100 - B * (CE - A)$$

dove

Pr = produzione relativa per una data CE dell'estratto saturo o dell'acqua di irrigazione

A = soglia di tolleranza espressa in dS/m: indica il livello massimo di salinità tollerata senza avere perdita della produzione

B = pendenza espressa in % per dS/m: rappresenta la riduzione percentuale di prodotto per unità di incremento di salinità oltre la soglia

CE = conducibilità dell'estratto saturo del terreno o dell'acqua di irrigazione

A e B sono parametri specifici per ciascuna coltura, e descrivono il suo comportamento nei confronti della salinità: il valore di A indica quanto rapidamente, all'aumentare del carico salino, si innesca la risposta (in termini di abbassamento di produzione) alla salinità, mentre B indica quanto sensibile è l'abbassamento percentuale. L'applicazione del modello di valutazione della risposta alla salinità proposto da Maas & Hoffman ha consentito di ottenere una classificazione della tolleranza alla salinità di alcune specie orticole (Tab.1).

Coltura	Estratto saturo del suolo		Acqua irrigua	
	Soglia (dS/m)	Pendenza (%)	Soglia (dS/m)	Pendenza (%)
Anguria.....MS	-	-	-	-
Asparago.....T	4,1	2,0	2,7	3,0
Bietola rossa.....MT	4,0	9,0	2,7	13,5
Carciofo.....MT	4,8	10,7	2,7	14,4
Carota.....S	1,0	14,0	0,7	21,0
Cavolfiore.....MS	-	-	-	-
Cavolo broccolo.....MS	2,8	9,2	1,9	13,8
Cavolo cappuccio.....MS	1,8	9,7	1,2	14,6
Cavolo di Bruxelles.....MS	-	-	-	-
Cetriolo.....MS	2,5	13,0	1,7	19,5
Cipolla.....S	1,2	16,0	0,8	24,0
Fagiolo.....S	1,0	19,0	0,7	28,5
Fragola.....S	1,0	33,0	0,7	49,5
Lattuga.....MS	1,3	13,0	0,9	19,5
Mais dolce.....MS	1,7	12,0	1,1	18,0
Melanzana.....MS	-	-	-	-
Melone.....MS	2,2	7,3	1,5	11,0
Patata.....MS	1,7	12,0	1,1	18,0
Peperone.....MS	1,5	14,0	1,0	21,0
Pisello.....MS	-	-	-	-
Pomodoro.....MT	2,5	9,9	1,7	15,0
Rapa.....MS	0,9	9,0	0,7	13,5
Ravanello.....MS	1,2	13,0	0,8	19,5
Sedano.....MS	1,8	6,2	1,2	9,3
Spinacio.....MS	2,0	7,6	1,3	11,4
Zucchino.....MT	4,7	9,4	3,1	14,1

Tab.1: Tolleranza alla salinità di specie ortive (dati individuati secondo il modello di Maas & Hoffman, 1977). (S = sensibili; MS = moderatamente sensibili; MT = moderatamente tolleranti; T = tolleranti).

I. 3 – MECCANISMI DI TOLLERANZA DELLA PIANTA ALLO STRESS SALINO

Le strategie che le piante possono mettere in atto per fare fronte e, possibilmente, resistere allo stress salino, possono essere distinte in quelle che prevedono l'esclusione o l'inclusione degli ioni.

Le **strategie di esclusione** degli ioni sono rappresentate da tutti quei meccanismi volti a impedire -o quantomeno limitare- l'effettivo ingresso di ioni tossici all'interno della pianta. Si tratta pertanto nella maggior parte dei casi di impedire, per quanto possibile, l'accumulo dei sali all'interno dei tessuti della pianta, e il conseguente verificarsi dei noti effetti di tossicità e limitazione della crescita. Questo vale in maniera particolare per le parti in espansione, che sono le fotosinteticamente più attive. I principali meccanismi di esclusione dei sali da parte di queste piante possono essere distinti in:

- Filtrazione o bloccaggio dei sali. Alcune piante effettuano una ultrafiltrazione attiva che determina un'elevata desalificazione dell'acqua del plasmalemma delle cellule parenchimatiche radicali. Altre piante bloccano il trasporto dei sali verso determinati organi. Per esempio, nella mimosacea *Prosopis farcta* o in alcune Fabacee, non c'è trasporto salino alle foglie, dato che i sali (in particolare ioni Na), sono trattieneuti a livello delle radici e dei fusti. In alcune specie di graminacee relativamente resistenti (*Hordeum*, *Triticum*, *Secale*) c'è un'alta selettività di assorbimento dello ione K^+ rispetto all' Na^+ (Rains & Epstein, 1967). Nelle specie di graminacee suddette si verifica un'attiva estrusione del Na in eccesso a spese di una pompa protonica a base di ATP dalla linfa xilematica nelle radici e nei primi tratti del fusto (Rains & Epstein, 1967; Nassery & Baker, 1972).
- Mantenimento del turgore cellulare favorito da un incremento della permeabilità all'acqua da parte delle radici.
- Mantenimento del turgore cellulare mediante sintesi di soluti organici. Si tratta in generale di molecole organiche a basso peso molecolare, quali prolina e betaina.
- Aumento dello spessore fogliare. Questo adattamento strutturale migliora l'efficienza dell'uso dell'acqua tramite una minore perdita per traspirazione e un'ottimizzazione della conversione fotosintetica della luce.

Le **strategie di inclusione** degli ioni mirano in genere a indurre maggior resistenza nell'organismo vegetale, servendosi degli stessi ioni della salinità per ridurre l'effetto della

siccità fisiologica. Si può in questo senso ritenere che le strategie di inclusione degli ioni comportino una risposta più mirata della pianta al modificarsi delle condizioni ambientali, e in certo qual modo impongono una maggior flessibilità adattativa dell'organismo vegetale.

I meccanismi tramite cui si esplica questo tipo di tolleranza possono essere suddivisi come:

- Compartimentalizzazione degli ioni nei protoplasmi o loro accumulo nei vacuoli. Le piante includenti gli ioni (in genere specie alofite) effettuano questo tipo di accumulo per creare una pressione osmotica interna maggiore di quella della soluzione circolante (Pitman, 1984). Il fattore limitante di questo meccanismo è il possibile eccesso di ioni tossici nel citoplasma, a cui si associa un decremento dell'anidride carbonica fissata, dovuto anche ad una alta resistenza stomatica (Boyer, 1975; Cowan & Farquhar, 1977).
- Confinamento ed eliminazione degli ioni. Alcune piante alofite eliminano l'eccesso salino per escrezione a livello fogliare, o direttamente per eliminazione di parti in cui i sali siano stati precedentemente accumulati. Per esempio, diverse mangrovie, diverse Plumbaginacee e erbe alofite come *Spartina*, *Distichlis* e talune specie di *Atriplex* producono ghiandole nel cui succo cellulare i sali si accumulano, dopodiché la ghiandola muore e si distacca. In altre piante alofite come *Plantago marina*, *Triglochin maritimum* e *Aster triporium*, l'eliminazione dei sali avviene tramite distacco delle foglie più vecchie, in cui si ha accumulo (filloptosi).
- Succulenza salina. E' una strategia molto diffusa sia tra le alofite di ambiente salino-umido (*Salicornia*) che tra piante tipiche di spiagge marine della famiglia delle Chenopodiacee, (nonché *Laguncularia* tra le mangroviacee). Consiste nel contenere gli effetti dannosi di un eccessivo accumulo di sali tramite la loro diluizione, in cellule che assorbono maggiori quantità di acqua e si gonfiano. La validità di questa strategia è dovuta al fatto che non è la quantità assoluta di sale, ma la sua concentrazione, a determinare o meno effetti negativi.

Le piante includenti gli ioni presentano un'elevata capacità di tolleranza ai sali, e molte specie (quali *Atriplex hortensis*, *Salicornia* spp., *Suaeda maritima*) sono studiate per un loro eventuale utilizzo agricolo diretto o come materiale genetico di base per eventuali selezioni di varietà transgeniche per la tolleranza al sale di specie agrarie (Austenfeld, 1976; Norlyn, 1980).

I. 4 - STRATEGIE DI INDUZIONE DI TOLLERANZA ALLO STRESS SALINO IN PIANTE AGRARIE

Come già accennato in precedenza, i lavori dei ricercatori si sono orientati verso l'individuazione e l'adozione di materiale genetico tollerante al fine di fornire una soluzione al problema della crescente salinizzazione dei terreni e delle acque impiegate per l'agricoltura. Nel corso di questa ricerca sono stati frequenti risultati positivi e incoraggianti, soprattutto nella direzione di adottare genotipi dalla maggior tolleranza (Aaronson, 1985, 1989; Epstein, 1983; Gallagher, 1985; Glenn & O'Leary, 1985) e di svilupparne di nuovi tramite le nuove tecniche di miglioramento genetico (Cuartero & Fernandez-Munoz, 1999; Ramage, 1980; Shannon, 1984). Inoltre, altri tentativi si sono indirizzati verso l'impiego del *leaching* (Hamdy, 1990a, 1990b) o di tecniche di desalinizzazione dell'acqua di mare (Lee, 1972; Muralev *et al.*, 1997). Ciononostante, la maggior parte di queste tecniche si è poi rivelata di non facile applicazione, essenzialmente per gli alti costi implicati.

Viene di seguito presentata una breve panoramica sulle diverse tecniche messe a punto negli ultimi venti anni per fare fronte al problema della salinità; il criterio di classificazione che è stato adottato si basa sulla distinzione ecofisiologica tra risposte di *avoidance* e *tolerance* della pianta allo stress salino (e agli stress abiotici in genere). Tale criterio pertanto suddivide le tecniche adottate tra quelle che cercano agire sull'ambiente (*avoidance*), e quelle che cercano di fornire all'organismo vegetale effettiva resistenza allo stress medesimo (*tolerance*).

I. 4. 1 – Strategie di avoidance

Le strategie di *avoidance* sono state ideate per migliorare l'ambiente di crescita della pianta, riducendo l'entità degli stress a cui essa è sottoposta. Queste soluzioni pertanto, anziché cercare di indurre resistenza nell'organismo vegetale, agiscono a monte dell'insorgenza della condizione di stress, limitandone la portata. Nel caso specifico della salinità, possono considerarsi strategie di *avoidance* tutte quelle volte a limitare il carico salino in prossimità della rizosfera.

A – Consociazione con piante alofite

Un campo di ricerca molto interessante e ancora non sviluppato è quello della consociazione. L'idea alla base è l'impiego di piante alofite, indicate per la loro capacità di assorbire i sali presenti nella soluzione circolante del terreno, in consociazione con specie ortive. Infatti l'azione di uptake dei sali (soprattutto il Na) effettuata dalle alofite dovrebbe creare un ambiente favorevole allo sviluppo della coltura anche in caso di irrigazione con acque saline: questa tecnica può essere applicata senza difficoltà sia in pieno campo che nel fuori suolo. La strategia assume un interesse ancora maggiore nel caso in cui le alofite vengano scelte tra quelle che possono avere un impiego alimentare come ortive minori, in modo da trarre un duplice vantaggio dal loro utilizzo.

Al momento, il numero di lavori pubblicati sull'argomento è esiguo (Zhao, 1991; Kovalev & Krylova, 1992; Zurayk *et al.*, 2001) benché si tratti di una tecnica di facile applicazione e che ha già dato risultati promettenti.

Albaho & Green (2000) hanno testato gli effetti della consociazione con l'alofta *Suaeda salsa* L. su crescita e rese di pomodoro coltivato in CIPS (*closed insulated pallet system*) in condizioni di salinità, nonché sull'accumulo di salinità nel mezzo di coltura. *Suaeda salsa* abbassava, nella tesi salina, la conducibilità elettrica e la [Na] del mezzo di crescita rispettivamente del 45,2% e del 50,8%. Sul pomodoro, la consociazione con l'alofta dava un decremento significativo (-37,6%) della [Na] nelle foglie, nonché un abbattimento dell'incidenza di BER (*blossom end rot*: marciume apicale delle bacche) pari a quasi il 50%; benché non si fossero riscontrati aumenti significativi di crescita e di rese, questo ha costituito già un risultato importante, ed è probabile che per salinità più moderate (quelle impiegate nella prova erano piuttosto alte) si sarebbero riscontrati anche effetti sulla produzione.

Graifenberg *et al.* (2003), hanno confrontato invece crescita, rese e qualità di pomodoro irrigato con 0 e 3 g/l NaCl, da solo o in consociazione con le alofite *Salsola soda* L. e *Portulaca oleracea* L., entrambe seminate rade o fitte, su terreno. Mentre la *Salsola* migliorava le rese del pomodoro in salinità solo quando seminata fitta, dando un incremento del 22%, la *Portulaca* funzionava a entrambe le densità di semina, e comunque meglio della *Salsola* (l'incremento medio della resa era del 33%).

Come si vede, la ricerca nel campo della consociazione con le alofite non è ancora ampia, ma i primi risultati sono incoraggianti anche considerando la semplicità ed economicità della tecnica. Ulteriori studi potranno fruttuosamente orientarsi sull'utilizzo di nuove specie di alofite e sul confronto tra varie densità di semina e tempi di trapianto dell'ortiva principale.

B – Applicazione di sali di K

Diversi Autori (Bar *et al.*, 1997; Feigin, 1985; Kafkafi *et al.*, 1982) hanno dimostrato come una concimazione minerale appropriata possa almeno in parte limitare gli effetti deleteri dell'eccessiva salinità del suolo o dell'acqua d'irrigazione. Inoltre altri lavori hanno evidenziato come tra gli elementi nutritivi, in questo senso, giochi un ruolo molto importante il K (Hepaksoy *et al.*, 1999; Taban *et al.*, 1999). Evans *et al.* (1966) hanno dimostrato come questo elemento sia in grado di attivare una serie di sistemi enzimatici nelle piante. Secondo Bernstein (1961; 1975) un'elevata disponibilità di ione K fa sì che esso possa competere, per effetto-massa, con Na nel venire assorbito dalla pianta, limitando gli effetti dannosi di quest'ultimo (effetto tossico e denaturante nei confronti degli enzimi citoplasmatici, che porta a un'alterazione della struttura delle membrane cellulari e dell'integrità funzionale dell'organo in maniera irreversibile). Botrini *et al.* (2000) hanno messo in evidenza come la somministrazione abbondante di K a coltura di pomodoro permettesse sensibili abbassamenti della concentrazione di Na in tutti gli organi della pianta, nonostante che questa fosse allevata in condizioni di salinità estreme (da 11,4 a 19,7 dS/m).

Economakis & Daskalaki (2003) hanno ottenuto, con salinità della soluzione circolante pari a 600 ppm NaCl, un aumento del 13% nelle rese a seguito di un incremento della concimazione potassica.

Achillea (2003) ha confrontato l'effetto di due diversi concimi, nitrato di potassio e nitrato di calcio, per paragonare l'efficacia dello ione Ca nel limitare l'assorbimento di Na da parte della pianta con quella dello ione K. La prova ha mostrato come i risultati migliori siano dati dal K: la somministrazione di KNO_3 ha aumentato le rese del 200% rispetto al controllo, mentre il $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ le ha incrementate solo dell'80%.

Ben-Asher *et al.* (1997) proposero un modello per spiegare i meccanismi che si innescano con la salinità in relazione al K, e che può essere usato per interpretare i risultati di Achillea. K è uno ione che aiuta l'assorbimento dell'anione nitrato da parte delle radici, nelle quali è usato per produrre proteine. Lo ione K inoltre fa da veicolo per il trasporto dello ione malato dalle foglie verso le radici, dove viene utilizzato come fonte di energia. L'aumento della concentrazione di NO_3 nella soluzione circolante, determinato da una concimazione sostenuta di KNO_3 , risulta inoltre favorevole perché esiste un rapporto di competizione tra NO_3 e Cl per l'assorbimento. Quindi una minore presenza di Cl nella pianta può evitare il manifestarsi delle tipiche necrosi dei tessuti a rapida moltiplicazione, come gli apici

vegetativi, determinata dal suo accumulo.

Pertanto il motivo per cui il nitrato di potassio risulta efficace nel ridurre lo stress salino trova spiegazione nel fatto che gli ioni K e NO₃ agiscono sinergicamente nell'alleviare gli effetti della salinità. Lo ione NO₃ presente nelle radici ha infatti bisogno del malato per essere convertito in proteine, e la presenza di malato nelle radici è a sua volta garantita dal suo trasporto dalla parte epigea mediata dal K (Ben-Asher *et al.*, 1997).

C – Gestione delle acque di irrigazione

Come è noto, la crescente salinizzazione delle acque di falda causa disponibilità di risorse irrigue più scadenti. Il lavoro di molti studiosi si è focalizzato su questo punto, che è quello più a monte del problema dello stress salino in agricoltura, per cercare di trovare soluzioni tecnologiche per la coltivazione. Esistono pertanto numerose ricerche che indagano il problema della salinità concentrandosi non tanto sulla pianta o sul terreno, bensì direttamente sulla gestione dell'acqua di irrigazione.

Spesso i risultati di questi studi sono ambigui: succede infatti che molte delle soluzioni proposte comportino la diluizione dell'acqua salina con quote variabili di acqua dolce, oppure il ricorso a frequenti lavaggi del substrato di coltivazione ancora con acqua dolce. Si tratta pertanto di soluzioni apparentemente poco decisive, perché impongono il consumo proprio di quell'acqua dolce che si voleva tesaurizzare, e dall'impiego della quale è logico aspettarsi una riduzione dello stress salino.

Lo sforzo, in realtà, sta nel cercare di elevare al massimo l'utilità marginale della poca acqua dolce investita, in modo che il vantaggio in termini di rese e crescita sia più che proporzionale all'investimento di acqua dolce effettuato. Lungo questo sottile confine si concentra l'impegno di numerosi ricercatori, e molteplici sono le idee messe in atto per conseguire il risultato desiderato.

Una delle più tradizionali strategie relative alla gestione dell'acqua di irrigazione è il ricorso al *leaching*. E' nota da tempo l'utilità di impiegare volumi di soluzione nutritiva sovradimensionati rispetto alla richiesta di evapotraspirazione della coltura, così da lavare parte dei sali accumulatisi nel substrato (Ayers & Westcot, 1985; Hanson, 1993).

Giuffrida & Lipari (2003) hanno studiato l'effetto dell'aggiunta quotidiana di diversi volumi (0, 95, 220 e 470 g/pianta) di acqua dolce (piovana) a pomodoro allevato fuori-suolo su argilla espansa, con *leaching fraction* del 6 %. L'assorbimento di P e K non è stato influenzato dai diversi trattamenti, mentre quello di N aumentava all'aumentare dell'acqua

dolce impiegata. La dose massima di acqua dolce (470 g /giorno * pianta) aumentava le rese del 21%, così come la biomassa fresca (22%); il calo del contenuto in soluti totali rispetto a condizioni di maggior salinità ha fatto sì che la biomassa secca aumentasse invece solo del 12%. Per 220 g/giorno si sono avuti incrementi produttivi più modesti; per 95 g/giorno tali incrementi sono stati quasi trascurabili. Come si può capire, all'aumentare del volume di acqua dolce impiegato diminuiva l'incidenza dello stress salino, ma ovviamente diminuiva anche l'efficienza idrica (WUE: *water use efficiency*); lo scopo del lavoro è stato individuare le combinazioni più vantaggiose. In generale è stato riscontrato come, per avere risultati rilevanti, sia necessario impiegare volumi di acqua di lisciviazione piuttosto consistenti: per piccoli volumi si ha solo consumo di acqua.

E' noto come, in fuori-suolo, tra sistemi aperti, semiaperti e chiusi, i primi siano i più indicati all'impiego di acque saline, in quanto riducono l'ulteriore accumulo di soluti inorganici che si verifica nell'acqua nei sistemi chiusi, ed esercitano un effetto dilavante (*leaching*) (Gielsing & Van Os, 1994; Van Os & Stanghellini, 2001), benché sia evidente che i volumi di acqua richiesti sono maggiori, portando a una ridotta WUE (*water use efficiency*). Confrontando i sistemi di subirrigazione e irrigazione a goccia (Venezia *et al.*, 2003), è emerso come la subirrigazione sia la meno idonea in condizioni saline. Questo deriva dal fatto che la risalita di acqua per capillarità causa l'accumulo di sali negli strati più alti del substrato, in assenza dell'effetto lisciviante esercitato dall'irrigazione a pioggia. Si tratta di un dato che si riallaccia agli esperimenti precedentemente menzionati riguardo il *leaching*, e indica come la subirrigazione sia una tecnica sconsigliabile quando si ha a che fare con carichi salini elevati nelle acque irrigue.

Una soluzione indagata da alcuni ricercatori riguarda la **variazione di conducibilità** della soluzione circolante tra giorno e notte, su fuori suolo. Adams & Ho (1989) proposero una combinazione DH/NL (*day high/night low*), somministrando soluzione a 8 dS/m il giorno e a 3 dS/m la notte, confrontata con DM/NM (*day medium/night medium*) in cui la soluzione era costantemente a 5 dS/m: il primo trattamento riduceva le rese e incrementava l'incidenza di BER (marciume apicale delle bacche). Altri Autori proposero dunque la soluzione inversa (DL/NH), che prevedeva un incremento del carico salino notturno (Sandoval-Villa *et al.*, 1999; Nederhoffs, 1999). Questa combinazione ha dato risultati più soddisfacenti, essendo il picco di assorbimento idrico da parte della pianta concentrato nelle ore diurne.

Il più recente dei lavori sull'argomento è di Santamaria *et al.* (2003), che hanno messo a confronto DL/NL (2 dS/m sia di giorno che di notte) e DL/NH (rispettivamente 2 e 6 dS/m). Quest'ultima non causava diminuzioni di rese complessive, numero e pezzatura dei frutti, e

non ne influenzava la qualità limitatamente ai parametri % s.s., acidità titolabile e contenuto in vitamina C; il residuo rifrattometrico era tuttavia più alto, e la concentrazione di Na quasi doppia rispetto al controllo. Il consumo idrico giornaliero non variava inoltre tra le due tesi. In definitiva la prova non ha evidenziato grandi differenze tra le due tesi, risultando più decisivo il carico salino dell'acqua diurna che non di quella notturna. Alla luce dei risultati poco rilevanti si può sostenere che la discriminazione notte-giorno su fuori-suolo sia una soluzione poco decisiva del problema della salinità.

La proposta forse più innovativa, nel campo della gestione dell'acqua irrigua, è rappresentata dallo “*split root system*”, tecnica che prevede di suddividere le radici della pianta in due porzioni, ognuna delle quali peschi in una differente soluzione nutritiva (nel nostro caso a differente salinità). In realtà la tecnica era già stata sperimentata in passato (Bingham & Garber, 1970; Zekri & Parsons, 1990), ma non tanto a fini applicativi quanto di indagine fisiologica. Tabatabaie *et al.* (2003) hanno confrontato varie combinazioni di trattamenti su pomodoro, in lana di roccia o in vasi di sabbia-ghiaia-perlite, evidenziando come in generale le rese maggiori fossero quelle delle tesi in cui almeno una delle due metà dell'apparato radicale era immersa in acqua dolce (incrementi fino al 200%). Le rese in tali tesi erano più o meno analoghe a quelle che si sarebbero avute dando solo acqua non salata ai pomodori, per via del fatto che la maggior parte dell'assorbimento idrico veniva operato dalla porzione di radici in acqua pura. L'immersione di metà dell'apparato radicale in acqua pura abbassava inoltre di molto l'incidenza di marciume apicale delle bacche, passando dal 38% al 12%. La tecnica appare quindi promettente, ma rimangono delle perplessità riguardo alla facilità di applicazione su ampia scala.

Le soluzioni che coinvolgono la gestione dell'acqua d'irrigazione sono pertanto assai numerose, e la ricerca può ampliare ancora di più la gamma di tecniche applicabili; è però necessario un certo discernimento per individuare la strategia più adatta al tipo di produzione che si intende attuare.

D - Strategie di stampo prettamente agronomico

Esistono numerose strategie di lotta allo stress salino caratterizzate dall'economicità e dalla facilità di messa in opera. Si tratta, nella maggior parte dei casi, di strategie di stampo prettamente agronomico, ovvero che prevedono l'impiego mirato di tecniche agronomiche tradizionali e consolidate, quali la pacciamatura, l'innesto e così via. Possiamo distinguerle, per comodità, tra tecniche che agiscono direttamente sulla pianta e tecniche che agiscono sul

sistema suolo-pianta-aria. Le seconde sono quelle che meglio si prestano ad essere applicate nell'ambiente di serra: comunemente mirano a una riduzione della traspirazione, e quindi a limitare lo stato di siccità fisiologica determinato da condizioni di salinità. In ambiente protetto, per raggiungere l'effetto di una riduzione della traspirazione della coltura si può ricorrere all'ombreggiatura con teli di plastica, che può presentare tuttavia l'inconveniente di un abbattimento eccessivo della radiazione solare (Lorenzo, 1996). Esistono vari studi sull'ombreggiatura fissa della serra (Willits, 2001; Miguel *et al.*, 1994) o sull'ombreggiatura interna mobile (Dayan *et al.*, 2000; Sanchez, 2002); di recente è stata sperimentata anche l'ombreggiatura mobile esterna, che ha dato su pomodoro risultati particolarmente interessanti, mostrando incrementi della *water use efficiency* fino al 62%, della RUE (*radiation use efficiency*) fino al 37%, abbattimento dell'incidenza di marciume apicale delle bacche fino all'80%, con una riduzione della radiazione lungo l'intero ciclo pari a circa il 36% (Lorenzo *et al.*, 2003).

Un'ulteriore tecnica di possibile applicazione è quella della riduzione di traspirazione tramite l'incremento dell'umidità dell'ambiente, sperimentata da Cohen *et al.* (2003) su rosa fuori-suolo, coltivandola sia a circuito aperto che a circuito chiuso: nel primo caso la traspirazione era ridotta del 25%, nel secondo del 20%. L'umidificazione mitigava il crollo di potenziale idrico fogliare dovuto all'elevata concentrazione della soluzione nutritiva, ma non causava effetti rilevanti sull'apertura stomatica delle foglie. Questo tipo di strategia va ad interessare direttamente la fisiologia della pianta, influenzando i suoi scambi idrici, ma presenta l'inconveniente di essere relegata strettamente all'ambiente di serra, poiché è impossibile agire sull'umidità atmosferica in pieno campo.

Prospettive interessanti, infine, vengono dall'impiego dell'innesto, una tecnica tradizionalmente usata nelle coltivazioni arboree. Questa tecnica si sta recentemente affermando anche nel settore ortivo, prevalentemente allo scopo di indurre resistenza ai patogeni (Biles *et al.*, 1989); è stato tuttavia in alcuni casi dimostrato come il portinnesto, modificando l'assorbimento e il trasporto di soluti al nesto, possa alterare le caratteristiche di quest'ultimo in termini di crescita e sviluppo (Turquois & Malone, 1996). Nei casi in cui un apparato radicale vigoroso ed efficiente venga innestato a una cultivar potenzialmente produttiva, ma dalle scarse capacità idriche, è possibile ottenere risultati soddisfacenti anche in condizioni di stress quali siccità o salinità (Ruiz *et al.*, 1997). Fernandéz-García *et al.* (2003) mostrano come l'innesto di pomodoro cv. Fanny su cv. AR 9704 in idroponica abbatta i valori di conduttanza idraulica (L_0), conduttanza stomatica ($\text{mmol m}^{-1} \text{s}^{-1}$) e del tasso di fotosintesi ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nel nesto in condizioni non saline, ma come al

contempo, qualora le piante siano allevate in salinità (NaCl 60 mM), l'innesto attenua invece l'abbattimento di tali parametri, a dimostrazione del fatto che l'innesto può aumentare la resistenza alla salinità tramite un miglioramento delle relazioni idriche e degli scambi gassosi.

I. 4. 2 – Strategie di tolerance

Le strategie qua elencate mirano tutte a indurre maggior resistenza alla salinità nell'organismo vegetale operando direttamente sul suo metabolismo, così che la pianta possa far fronte a carichi salini più elevati in prossimità dell'ambiente rizosferico.

A – Infezione micorrizica

Un campo di ricerca particolarmente fecondo, stimolato in particolare da una recente maggiore sensibilità ecologica in agricoltura e dal bisogno di trovare soluzioni a basso costo per incrementare la produttività, è quello relativo ai cosiddetti “biofertilizzanti”. Sono così definiti tutti quei microrganismi che, in virtù di loro determinate qualità, quali la capacità di fissare l'azoto atmosferico, solubilizzare i fosfati del terreno, stimolare la crescita delle piante o incrementarne l'uptake di minerali, vengono sempre più spesso utilizzati come “fertilizzanti viventi”. Le agricolture di paesi in via di sviluppo sono quelle che possono beneficiare maggiormente di tali metodologie, e la ricerca è ivi particolarmente fervente.

Molti sono i tipi di microrganismi interessati da questo tipo di impiego: batteri azotofissatori, attinomiceti e alghe azzurre per fare qualche esempio. Ma quelli che sono stati più approfonditamente studiati, sia ai fini dell'incremento delle rese che dell'induzione di resistenza a stress biotici e abiotici sono i funghi micorrizici.

I funghi micorrizici sono in grado di formare associazioni simbiotiche con circa l'80% delle piante terrestri, e con la maggior parte delle piante di interesse agrario, all'interno di un ampio range di condizioni ambientali (Al-Karaki & Al-Raddad, 1997; Mosse, 1986). Si tratta di una simbiosi mutualistica, che prevede la colonizzazione delle radici della pianta ospite da parte del fungo micorrizico, il quale riceve fotosintati (che non sarebbe in grado di sintetizzare autonomamente) cedendo in cambio nutrienti minerali (il cui uptake risulta pertanto migliorato a beneficio della pianta). Questo migliore assorbimento di nutrienti può tra l'altro essere determinante all'interno di condizioni di stress abiotici quali salinità, siccità o scarsità di nutrienti (Barea, 1991; Mohammad *et al.*, 1995; Rosendhal & Rosendhal, 1991). Questo incremento nell'assorbimento di nutrienti è permesso dall'abbassamento delle concentrazioni-soglia necessarie all'assimilazione (Bolan *et al.*, 1987)) e all'esplorazione di maggiori volumi di terreno, grazie all'espandersi delle ife fungine nella rizosfera (Rhodas & Gerdemann, 1980).

Partendo da queste premesse, i ricercatori sono andati a indagare l'effetto della simbiosi con funghi micorrizici come strategia per indurre resistenza alla salinità in specie agrarie. La resistenza viene indotta dal fungo micorrizico per mezzo di una discriminazione nell'assorbimento degli ioni disciolti nella soluzione circolante, e in particolare tramite il parziale bloccaggio di Na e Cl, e tramite il miglioramento delle condizioni osmotiche della pianta (Azcon, 1996).

Numerosi esperimenti mostrano come piante inoculate con funghi del genere *Glomus* subiscano, all'aumentare dello stress salino, diminuzioni di crescita, rese e qualità sensibilmente più modeste rispetto alle piante non inoculate (Al-Karaki & Hammad, 2001; Ruta *et al.*, 2002). Esistono inoltre prove a favore del fatto che livelli elevati di salinità non influiscano negativamente sul tasso di colonizzazione (Mergulhao *et al.*, 2001, su *Brachiaria humidicola*). A tal proposito, presentano una fitness ottimale ceppi fungini provenienti da suoli naturalmente salini: Copeman *et al.* (1996) confrontano su pomodoro ceppi del genere *Glomus* provenienti da suoli salini e non salini, mostrando come i primi inibiscano maggiormente l'accumulo di Cl nei tessuti.

Altri microorganismi-chiave nel migliorare la resistenza delle piante agli stress biotici e abiotici sono gli azotofissatori, in natura spesso associati alle micorrize: prove sono state condotte sia per confrontare l'efficienza dei due diversi microrganismi nell'indurre resistenza alla salinità, sia per evidenziare eventuali interazioni.

Ahmed (1996) mostra come, su *Vicia faba*, l'inoculazione sia di *Rhizobium* che di funghi micorrizici limitino significativamente i danni dovuti alla salinità.

Baker *et al.* (1995) hanno indagato le interazioni tra funghi micorrizici e batteri azotofissatori, inoculando contemporaneamente entrambi i microrganismi su *Prosopis juliflora* (Swartz): è emerso come la micorrizazione faciliti la colonizzazione da parte degli azotofissatori, fino a incrementi del 56% nel tasso di nodulazione. Simili osservazioni (la nodulazione favorita dalle VAM) erano già state fatte in precedenza (Barea *et al.*, 1992); il fenomeno è attribuibile al miglior assorbimento dello ione fosfato da parte della pianta micorrizzata, in quanto l'azotofissazione può essere ridotta da carenza di P (Becker *et al.*, 1991). L'effetto del P viene mostrato dalla differente risposta dei due tipi di microrganismi all'interferenza della concimazione: a seguito della somministrazione di alte dosi di superfosfato, infatti, mentre il tasso di nodulazione si alzava significativamente, l'infezione micorrizica ne veniva abbattuta (Ahmed, come sopra). Questo dimostra come, accostandosi all'uso di microrganismi come biofertilizzanti per l'agricoltura, non si possa prescindere da un'attenta valutazione delle loro interazioni reciproche e con le altre operazioni colturali.

B - Impiego di genotipi tolleranti

Una tradizionale risposta dell'uomo al problema degli stress biotici e abiotici in agricoltura (tra i più presenti proprio quello della salinità) è sempre stata il ricorso a specie e cultivar che a tali stress presentassero una tolleranza spiccata. Questa “forma mentis” ha portato storicamente a una caratterizzazione delle diverse aree geografiche del mondo in base a quelle che ne erano le colture tipiche, scelte tra le più “adatte” alle condizioni ambientali della zona, e spesso tale fenomeno ha influito sul destino economico e sociale di un paese.

La ricerca scientifica ha una lunga tradizione di studio in questo campo: esiste una ricca letteratura sul tema del confronto varietale in orticoltura (Saneoka *et al.*, 1993; Alarcon *et al.*, 1994, Alian *et al.*, 2000; Shalata *et al.*, 2001).

I confini di tale strategia sono tuttavia marcati, perché la variabilità genotipica offerta dalla natura non è illimitata. Nel caso della salinità, ad esempio, esistono specie (quali la fragola, la carota, il fagiolo) molto sensibili e prive di varietà tolleranti: per esse la coltivazione non è possibile in determinate zone.

L'affermarsi in tempi recenti delle nuove tecniche di biologia molecolare permette di ottenere e sperimentare nuovi genomi, inducendo mutazioni programmate o trasferendo le caratteristiche desiderate (quali ad esempio la resistenza ad un determinato stress) da certi organismi ad altri, che possono anche essere filogeneticamente molto lontani dai primi. La variabilità genotipica ottenibile in questo caso è potenzialmente illimitata, orientando le ricerche nella direzione che interessa a seconda del problema da risolvere, e non sono mancati i tentativi nel campo della salinità.

Nonostante esistano molte ricerche nell'ambito della tolleranza delle colture al sale, sono stati rari i casi in cui si sono sviluppate cultivar tolleranti, a causa della complessità del problema. La tolleranza al sale è infatti un fenomeno la cui regolazione genica è stadio-specifica e poligenica: da uno stadio ontogenetico all'altro cambia il pattern di espressione genica che è alla base della tolleranza (Foolad, 2004). Non mancano tuttavia casi in cui l'induzione di resistenza è veicolata da uno o pochi geni: pomodori transgenici in cui era espresso il singolo gene per una proteina che controlla il trasporto di Na^+/H^+ attraverso il vacuolo, trasferito da *Arabidopsis thaliana*, hanno mostrato alti livelli di tolleranza al sale, fino a concentrazioni di 200 mM NaCl (Zhang & Blumwald, 2001); il trasferimento del medesimo gene ha dato inoltre risultati positivi anche su *Brassica napus* (Zhang *et al.*, 2001); il trasferimento di geni codificanti per la produzione e l'accumulo di trealosio (uno

zucchero raro presente in numerosi funghi, batteri e piante superiori resistenti all'essiccamento) promette induzione di tolleranza alla salinità in varie specie ortive (Penna, 2003). I risultati fino ad ora non sono stati comunque incoraggianti, in base anche a quanto riferiscono Kuklev *et al.* (2003).

C – Impiego di regolatori di crescita

L'orticoltura moderna è strettamente legata all'uso di agrochimici quali fertilizzanti, prodotti per la difesa e regolatori di crescita, tra cui gli ormoni. Gli ormoni sono sostanze chimiche che agiscono sulla crescita e sullo sviluppo della pianta, alterando o correggendo specifici comportamenti fisiologici (Reinecke & Bandurski, 1990).

Un gran numero di regolatori di crescita è oggi usato in orticoltura: molti di essi influenzano le attività enzimatiche quali quelle che presiedono all'assimilazione di azoto e all'assorbimento dei minerali. Quest'ultimo effetto può essere positivamente sfruttato nell'induzione di resistenza alla salinità del mezzo permettendo un assorbimento più equilibrato, che può prevenire l'insorgenza di disordini fisiologici.

Indurre un incremento nell'elaborazione e nell'attività di un enzima può tuttavia, a seconda dei casi, rivelarsi controproducente, e addirittura peggiorare le performance della pianta trattata. La conoscenza incompleta dei rapporti di causa-effetto che si innescano a seguito della somministrazione di diversi fitoregolatori fa sì che a tutt'oggi la ricerca vada per tentativi, registrando talvolta risultati poco incoraggianti.

Tra gli ormoni vegetali, la classe di composti più studiata nell'ottica dell'applicazione alle colture è quella delle auxine, legate ai fenomeni di distensione, divisione e differenziamento cellulare: si è indagato l'effetto sia delle forme naturali, quali l'acido indolacetico (IAA), sia quello dei composti di sintesi, quali l'acido indolbutirrico, l'acido naftalenacetico e il 2,4 D (Hedden & Hoad, 1994).

Salas *et al.* (2003) hanno studiato l'effetto dell'acido indolbutirrico allo 0,4% (Exuberone) su melone in condizioni saline, ottenendo risultati poco interessanti. L'unico effetto dell'applicazione di IBA è stato infatti un'accelerazione della fioritura, mentre crescita, rese e qualità non hanno mostrato nessuna differenza rilevante tra il controllo e le due tesi trattate, che prevedevano l'impiego del prodotto a 0,5 l/ha e 1,0 l/ha.

Risultati più promettenti si sono avuti col Paclobutrazolo (PBZ). Questo composto è un inibitore della biosintesi di gibberelline, e funge pertanto da ritardante della crescita. E' già stato sperimentato con successo su soia verde riducendo l'uptake di Na e Cl (Saha & Gupta,

1998); su cotone, mitigando lo stress salino e inducendo tolleranza (Shen *et al.*, 1996); su pesco, riducendo lo stress salino (El-Khashab *et al.*, 1997).

Banòn *et al.* (2003) hanno studiato gli effetti della somministrazione di Paclobutrazolo (PBZ) per ridurre gli effetti dello stress salino su *Rhamnus alaternus*, confrontando piante in vaso irrigate con acqua a salinità 70 e 140 mM NaCl, trattate o meno con 30 mg di PBZ. Le piante trattate con PBZ sono risultate mediamente più piccole, con minor incidenza di filloptosi e necrosi apicali e marginali, soprattutto nella tesi a 140 mM (si sono avute riduzioni massime dell'80% dell'incidenza dei sintomi). La somministrazione di PBZ ha provocato inoltre un aumento del contenuto relativo in clorofilla per entrambe le salinità, e un incremento della conducibilità stomatica da 37,2 a 72,3 (doppia) $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ a 70 mM NaCl, e da 47,8 a 68,0 (+ 40%) a 140 mM NaCl. Il contenuto di sali nelle acque di lisciviazione era infine più alto per le piante trattate con PBZ, a suggerire che la presenza di questo composto renda meno disponibili i sali (in particolare gli ioni Na e Cl) all'assorbimento da parte della pianta.

D – Applicazione di sali di Si

Il Silicio non è un nutriente fondamentale per le piante, tuttavia non mancano i lavori che dimostrano l'utilità della sua somministrazione nell'indurre effetti benefici nelle specie coltivate.

Nella maggior parte dei casi, tali effetti si originano dal rinforzo meccanico delle pareti cellulari a seguito della deposizione di Si in forma di silice amorfa ($\text{SiO}_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$) e fitoliti (Inanaga & Okasaka, 1995; Epstein, 1999), con vantaggi derivanti che possono essere vari: piante più rigide ed erette hanno una migliore ricezione della luce, e di conseguenza maggiori rese (Yoshida *et al.*, 1969; Rafi & Epstein, 1997); la maggior resistenza meccanica dei tessuti può renderli più resistenti ad attacchi di insetti e di patogeni sia batterici che fungini (Adatia & Besford, 1986; Menzies *et al.*, 1991); in alcuni casi è stata dimostrata anche induzione di resistenza ai metalli pesanti (Barcelo *et al.*, 1993; Iwasaki *et al.*, 2002).

Per quanto riguarda l'interazione tra Si e stress salino, esistono in letteratura lavori che dimostrano come la somministrazione di dosi aggiuntive del microelemento migliorino le performances fisiologiche e produttive della pianta (Bradbury & Ahmad, 1990; Liang *et al.*, 1996; Stamatakis & Papadantonakis, 2003), ma rimane aperta la discussione sui meccanismi coinvolti nell'esprimersi di tali effetti. A tal proposito è stato teorizzato che il Si, depositandosi nelle foglie, limiti la traspirazione e quindi l'accumulo di sali (Matoh *et al.*,

1986), o ancora che eserciti un effetto complessante ai danni del Na a livello delle radici (Ahmad *et al.*, 1992). Una spiegazione alternativa è stata proposta da Yeo *et al.* (1999), che ha saggiato l'effetto del Si su riso allevato in salinità. È stato visto come il Si limitasse l'assorbimento di Na nella pianta senza per questo ridurre il volume di traspirazione: ciò ha portato ad escludere un'influenza del Si sui ritmi di assorbimento idrico (è stato visto anzi come in sua presenza il grado di apertura stomatica incrementasse).

La spiegazione che è stata data è che la presenza di Si limiti il *bypass flow* (la percentuale del volume di traspirazione che attraversa la radice per via apoplastica): a questa conclusione si è giunti confrontando l'uptake di Na con quello di un tracciante apoplastico (PTS). Si tratterebbe quindi di un bloccaggio parziale e specifico dell'assorbimento ionico radicale: non è tuttavia ancora ben chiaro se si tratti di uno specifico ostacolo all'ingresso di Na o un generale abbattimento del flusso apoplastico. A sostegno della seconda ipotesi ci sono una serie di calcoli (Yeo *et al.*, 1987; Garcia *et al.*, 1997) che dimostrano come il *bypass flow* veicoli una quota molto piccola del volume traspiratorio totale, ma sia al contempo responsabile di un afflusso di ioni sufficiente, in casi estremi, a indurre tossicità.

Quale che sia la spiegazione giusta, rimane il fatto importante che l'azione del silicio, riducendo lo stress salino senza limitare la traspirazione, può permettere la coltivazione in condizioni di salinità senza influenzare le rese.

I. 5 - SCOPO DELLA RICERCA

Scopo del presente lavoro è studiare tecniche agronomiche per l'utilizzo di acque saline per l'orticoltura. Tale indagine vuole fornire risposte al problema della crescente salinizzazione delle acque di falda, dovuta all'infiltrazione di acqua marina, che affligge in particolare le nostre coste e che crea problemi per l'irrigazione. Diverse tecniche sono state sperimentate, in una serie di esperimenti che in alcuni casi sono stati ideati in parallelo e separatamente.

Il criterio sulla base del quale sono state scelte le tecniche da testare è stato in generale quello della massima semplicità ed economicità di attuazione, cercando di evitare tecnologie che prevedessero costose modifiche all'ambiente di serra o lavorazioni aggiuntive troppo articolate e dispendiose. Un'attenzione particolare è inoltre sempre stata rivolta alla ecocompatibilità delle strategie scelte, e alla loro sostenibilità. A questo proposito vale la pena sottolineare come le tecniche di consociazione, in particolare, possano portare a un effetto cumulativo di riduzione della salinità nel terreno, e come l'inoculo micorrizico possa indurre nel tempo un miglioramento delle condizioni microbiologiche dell'ambiente rizosferico, portando a un incremento di fertilità del suolo che può consentire vantaggi più duraturi.

II - CONSOCIAZIONE CON PIANTE ALOFITE

II. 1 - PROVA DEL I ANNO: CONSOCIAZIONE CON TRE DIVERSE SPECIE DI PIANTE ALOFITE

II. 1. 1 – Introduzione

L'idea alla base della ricerca è l'impiego di piante alofite, indicate per la loro capacità di assorbire i sali presenti nella soluzione circolante del terreno, in consociazione con specie ortive. Le alofite sono rappresentate ampiamente sia da piante erbacee che arbustive e arboree, e molte specie alofitiche sono già apprezzate come foraggio (Malcom & Pol, 1986; O'Leary, 1988); di particolare interesse sono le specie della famiglia delle Chenopodiaceae, che da sola comprende circa il 25% della totalità delle alofite note nel mondo (Le Houèrou, 1993).

Come è già stato accennato, la consociazione con specie alofitiche è una delle strategie di risposta allo stress salino che sono state meno investigate, come dimostra la scarsità di materiale in letteratura. Per di più, quando tale strategia è stata testata, si è trattato il più delle volte di coltivazioni in fuori-suolo (Albaho & Green, 2000). Ci sono infatti buone ragioni di credere che l'impiego di piante alofite in pieno campo, per esempio come intercalari o in consociazione con piante agrarie ad ampia diffusione, possa dare dei grandi vantaggi nei casi in cui il suolo e/o l'acqua di irrigazione presentino il problema della salinità. Si ritiene infatti che l'azione di uptake e di accumulo dei sali (soprattutto lo ione Na) effettuata dalle alofite possa creare un ambiente favorevole allo sviluppo della coltura anche in caso di irrigazione con acque saline. Oltre a favorire la produzione, inoltre, si può ragionevolmente ritenere che sul medio-lungo periodo la reiterazione di tale operazione, specie se accompagnata da periodici sfalci, possa portare a una parziale "bonificazione" del terreno dal suo contenuto in sali.

La ricerca in questo settore si è articolata in due prove. Nella **prima** si è confrontato la consociazione di pomodoro con 3 diverse specie alofite, in due condizioni di salinità:

A – coltura con impianto in terreno non salino e irrigazione con acqua salina

B - coltura con impianto in terreno salino e irrigazione con acqua non salina

Nella **seconda** prova, sulla base dei risultati conseguiti con la prima, si sono confrontate differenti epoche di semina della Portulaca (che aveva dato i migliori risultati nella prova precedente) rispetto alla data di trapianto del pomodoro.

II. 1. 2 – Materiali e Metodi

La ricerca è stata condotta in serra presso i campi sperimentali del Dipartimento di Biologia delle Pianta Agrarie (San Piero a Grado, Pisa). La serra utilizzata presenta una struttura in ferro-PVC con pavimento in cemento, nella quale trovano posto bancali, anch'essi in cemento, di dimensioni pari a 1 x 6 x 0.25 m, riempiti con terreno a granulometria prevalentemente sabbiosa.

La prova, svoltasi dal mese di marzo al mese di luglio, non ha previsto né il riscaldamento della serra né la supplementazione della luce naturale con lampade. L'irrigazione era a goccia, automatizzata.

Le specie alofite usate sono state scelte tra quelle che possono avere un impiego alimentare come ortive minori, in modo da trarre un duplice vantaggio dal loro utilizzo. Le specie adottate erano *Salsola soda* L., *Portulaca oleracea* L. e *Atriplex hortensis* L. Come specie ortiva è stato utilizzato il pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.): tale scelta è stata dettata dall'importanza economica della specie, nonché dalla sua buona resistenza alla salinità, caratteristica che lo pone tra le orticole più tolleranti. Si è optato per la cultivar da tavola "Jama", adatta all'ambiente protetto.

Sono state eseguite, come detto nell'introduzione, due subprove contemporaneamente:

A – Terreno non salino (valore medio di EC dell'estratto saturo = 3 dS/m; concentrazione di Na scambiabile = 210 ppm) e acqua di irrigazione salina (acqua piovana + 0,7 g/l di concime 20/20/20 + 3 g/l di NaCl, per una EC complessiva pari a 5,8 dS/m)

B – Terreno salino (valore medio di EC dell'estratto saturo = 5,35 dS/m; concentrazione di Na scambiabile = 650 ppm) e acqua di irrigazione non salina (acqua piovana + 0,7 g/l di concime 20/20/20, per una EC complessiva pari a 0,84 dS/m).

In entrambe le prove, le tesi messe a confronto sono state le seguenti:

- Pomodoro da solo in condizioni non saline (Controllo)
- Pomodoro da solo in c.s.*
- Pomodoro + *Salsola* (75 g/m² di seme) in c.s.
- Pomodoro + *Portulaca* (10 g/m² di seme) in c.s.
- Pomodoro + *Atriplex* (4 g/m² di seme) in c.s.

(*: c.s. = condizioni saline)

Ogni tesi era costituita da un bancale; lo schema sperimentale era a blocco randomizzato con due ripetizioni.

Nella prima decade di marzo è stata effettuata la semina di *Salsola soda* L. e di *Atriplex hortensis* L. Si è trattato di una semina piuttosto precoce rispetto al trapianto del pomodoro, per permettere uno sviluppo equilibrato con quest'ultimo. I primi semi hanno iniziato a germinare dopo 2 settimane, in prevalenza nei bancali a terreno non salino.

Il 18/3 sono state trapiantate le piantine di pomodoro, alla distanza di 35 cm l'una dall'altra sulla fila e di 50 cm tra le due file, per un totale di 32 piante per bancale, corrispondente ad un investimento ad ettaro di circa 38000 piante.

Due settimane dopo il trapianto del pomodoro è stata effettuata la semina di *Portulaca oleracea* L.

Il 07/04/03 è iniziata l'irrigazione secondo il programma sopracitato: il bancale del pomodoro da solo in condizioni non saline è sempre stato irrigato con acqua non salina, i bancali della prima prova con acqua salina e quelli della seconda con acqua dolce.

La raccolta è iniziata il 5 giugno ed è terminata il 3 luglio. Essa veniva effettuata al momento dell'invasatura dei frutti.

Per ogni tesi la produzione è stata divisa in commerciale e scarto, e i dati parziali di peso e numero dei frutti sono stati registrati per ogni raccolta. Per ogni trattamento è stato poi selezionato un campione di bacche, destinate alle analisi della qualità (vedi sotto).

A metà del periodo di raccolta, per ogni tesi è stato prelevato un campione della parte epigea di due piante. Di ogni pianta è stato misurato il peso fresco degli steli e delle foglie e, in seguito all'essiccazione in stufa a 70°C fino a peso costante, il peso secco. I campioni essiccati sono stati macinati per effettuare su di essi le analisi chimiche. Per ogni alofita è stato prelevato un campione del quale si è misurato il peso fresco e quello secco, dopo di che si sono effettuate le analisi chimiche sul macinato per quanto riguarda Na, Cl, N, P, K, Ca.

Analisi della qualità delle bacche

Un campione di bacche proveniente da ogni bancale è stato sottoposto ad analisi della qualità.

La prima misura ha riguardato la consistenza delle bacche, valutata tramite penetrometro, dopodiché esse sono state omogeneizzate.

Per ogni campione si è quindi misurato la percentuale in sostanza secca (% s.s.), mettendo 100g di frullato in stufa a 70°C fino a peso costante.

Ciò che rimaneva del frullato è stato passato con filtri rapidi, e del filtrato ottenuto si è misurato il pH, l'acidità titolabile e il residuo ottico (°Brix).

Metodi di analisi chimica dei macroelementi nella sostanza secca dei tessuti

Dei campioni di fusti e foglie seccati e macinati, relativi a due piante per ogni bancale, sono stati analizzati Na, Cl, N, P, K, Ca.

Per l'N si è usato il metodo Kjeldahl: 250 mg di ogni campione sono stati digeriti con 6 ml di acido fosfosolforico e una pastiglia di selenio (catalizzatore) a 370 °C per 20'. I campioni digeriti sono stati poi distillati tramite Kjeltex System e infine titolati con HCl 0,1 N.

Per la misura di P, K e Na i campioni sono stati sottoposti a digestione nitroperclorica. 200 mg di campione sono stati digeriti con 5 ml di acido nitrico e 2 ml di acido perclorico, a 150 °C per 1h 15'. Successivamente i campioni sono stati raffreddati e portati a 100 ml con H₂O distillata.

Per la misura del P sono stati prelevati 8 ml di ogni campione, ad essi si è aggiunto 1 ml di soluzione di Iconogeno e 2 ml di soluzione di molibdato di ammonio, dopodiché sono stati portati a 25 ml con H₂O distillata, agitati e analizzati allo spettrofotometro a 640 nm (metodo Morgan).

Per le analisi di Na e K è stata eseguita la diluizione 1:12,5 di 2 ml di campione (2 ml di campione a 25 ml con H₂O distillata) e successiva lettura allo spettrofotometro con appositi filtri.

L'analisi del Cl è stata condotta secondo il metodo Zall *et al.*, (1956). Si è estratto il Cl con acqua calda (60-70 °C) da 200 mg di campione secco macinato, diluito con H₂O distillata fino a 200 ml e filtrato. In seguito, a 1,5 ml di filtrato per campione si sono aggiunti 2 ml di soluzione di tiocianato di mercurio, 5 ml di soluzione di ferroammonio e 10 ml di soluzione di acetato di Na (concentrazioni indicate nel protocollo). Il volume è stato portato a 25 ml con H₂O distillata, e i campioni letti allo spettrofotometro per una lunghezza d'onda pari a $\lambda = 460$ nm.

II. 1. 3 - Risultati

Prova A: terreno non salino e acqua salina

La produzione di biomassa delle piante di pomodoro è stata in generale minore nelle tesi irrigate con acqua salina rispetto al controllo (Fig.1). Il valore minimo di crescita si è avuto per il pomodoro consociato alla Salsola, probabilmente a causa dell'eccessivo sviluppo dell'alofita. La Portulaca ha favorito più dell'Atriplex lo sviluppo del pomodoro. Inoltre la consociazione con la Portulaca è l'unica che ha dato valori di crescita maggiori rispetto al pomodoro allevato da solo in salinità, mentre anche quando è stato allevato in presenza di Atriplex, la crescita non è stata favorita significativamente dalla consociazione.

Il contenuto in sostanza secca delle piante di pomodoro allevate nelle diverse situazioni non ha presentato particolari variazioni, se si eccettua il caso della consociazione con Salsola, dove i livelli sono stati lievemente più alti, a conferma del maggior stress subito dalle piante in questa tesi (Fig.2).

La produzione in termini di Kg e n° di frutti per pianta è stata massima nel controllo, come previsto, e minima nella consociazione con la Salsola, per i motivi sopracitati (Figg.3 e 4). Tuttavia bisogna notare come, tra una tesi e l'altra, il peso (Kg frutti/pianta) sia variato più sensibilmente del n° frutti/pianta, a indicazione del fatto che, là dove lo stress salino agisce, esso si manifesta più sulla pezzatura dei frutti che non sul loro numero. In particolare, solo osservando le rese in Kg di frutti per pianta è possibile apprezzare il fatto che la consociazione con Portulaca ha consentito una produzione significativamente maggiore del pomodoro da solo in salinità, anche se non sono stati raggiunti i livelli del controllo. Inoltre anche l'Atriplex ha permesso una produttività maggiore del controllo salino, fenomeno che non si era riscontrato a proposito dello sviluppo vegetativo.

In relazione alla qualità, il pH dei frutti non ha subito variazioni significative per nessuna delle tesi analizzate (Tab.2), così come la resistenza alla pressione, che ha mostrato solo un lieve decremento per tutti i trattamenti salini rispetto al controllo. Il contenuto in sostanza secca delle bacche di piante non consociate si è mostrato superiore a quello dei frutti provenienti da piante in consociazione, e lo stesso è avvenuto per l'acidità titolabile e il residuo ottico, di cui gli zuccheri sono la componente principale.

I livelli di Na nei tessuti della pianta di pomodoro hanno presentato i valori più elevati

nella coltura non consociata sotto stress salino, come era prevedibile, e lievemente minori nelle varie consociazioni rispetto al controllo (Fig.5). Anche il livello di Cl nei tessuti è risultato maggiore in assenza di alofite rispetto al controllo, ma i valori in consociazione sono stati anch'essi più alti (Fig.6).

In generale il contenuto in N delle foglie era mediamente sempre superiore rispetto allo stelo (Fig.7). E' stata la consociazione con Atriplex a manifestare i livelli più alti di questo elemento nei tessuti delle piante di pomodoro tra le tesi che prevedevano la consociazione, seguita da vicino da quella con Portulaca. I contenuti di N nelle piante allevate in presenza di Salsola sono risultati i più bassi.

Il P era presente a maggiori concentrazioni per tutte le tesi saline, se paragonato al controllo, e in particolare le concentrazioni massime si verificavano nel pomodoro in coltura non consociata salina e in consociazione con Salsola. La concentrazione di questo elemento nelle foglie era mediamente superiore che nello stelo (Fig.8).

Il contenuto di K presentava un pattern simile a quello di N (Fig.9). E' risultato significativamente minore in tutte le tesi saline, in confronto al controllo, e ciò è avvenuto con maggior incidenza nelle foglie rispetto allo stelo. La consociazione con Atriplex, e soprattutto quella con Portulaca, hanno determinato valori un po' più alti del contenuto in K rispetto alla coltura salina non consociata, mentre la presenza della Salsola ha determinato assorbimenti ancora più modesti.

Prova B : terreno salino e acqua non salina

La produzione di biomassa del pomodoro in consociazione era sorprendentemente più bassa di quella del pomodoro da solo sotto stress salino, che a sua volta ha superato lievemente il controllo (Fig.10). Tra le tesi con consociazione, i risultati migliori si sono ottenuti in presenza di Portulaca, ma qua la differenza con la Salsola è stata molto meno marcata che nel primo esperimento.

La % in sostanza secca per le piante di pomodoro da solo in condizioni di salinità è risultata minore rispetto al controllo, ma superiore rispetto alle tesi in consociazione, che hanno presentato tutte valori piuttosto uniformi (Fig.11).

Un analogo andamento è apprezzabile nella produzione di frutti, dove le performance delle piante del controllo salino sono state migliori, sia per volume produttivo che per pezzatura media (Figg.12 e 13).

Per quanto riguarda la qualità dei frutti, si sono avuti valori di residuo ottico, % s.s. e resistenza alla pressione minori nel trattato rispetto al controllo, e livelli analoghi dell'acidità titolabile. Non si sono notate differenze significative di pH (Tab.2).

Il contenuto di Na e Cl era opposto a quello riscontrato nella prima prova: i valori di Na sono risultati simili in tutti i bancali del trattato, e comunque maggiori rispetto al controllo (Fig.14), mentre quelli del Cl sono più bassi in consociazione rispetto alla coltura di solo pomodoro, e intermedi nel controllo (Fig.15).

Il contenuto N era lievemente più alto nelle tesi saline, a prescindere dalla presenza o meno di consociazione, rispetto al controllo (Fig.16). Anche il tenore in P era maggiore nelle piante cresciute in ambiente salino, ma la differenza è più pronunciata, con valori massimi per le piante allevate intercalate dalla Portulaca (Fig.17). Il K ha raggiunto la concentrazione massima per le piante consociate con la Portulaca, ma per tutte le altre tesi saline il suo contenuto era minore rispetto al controllo (Fig.18).

Grafici Prova A

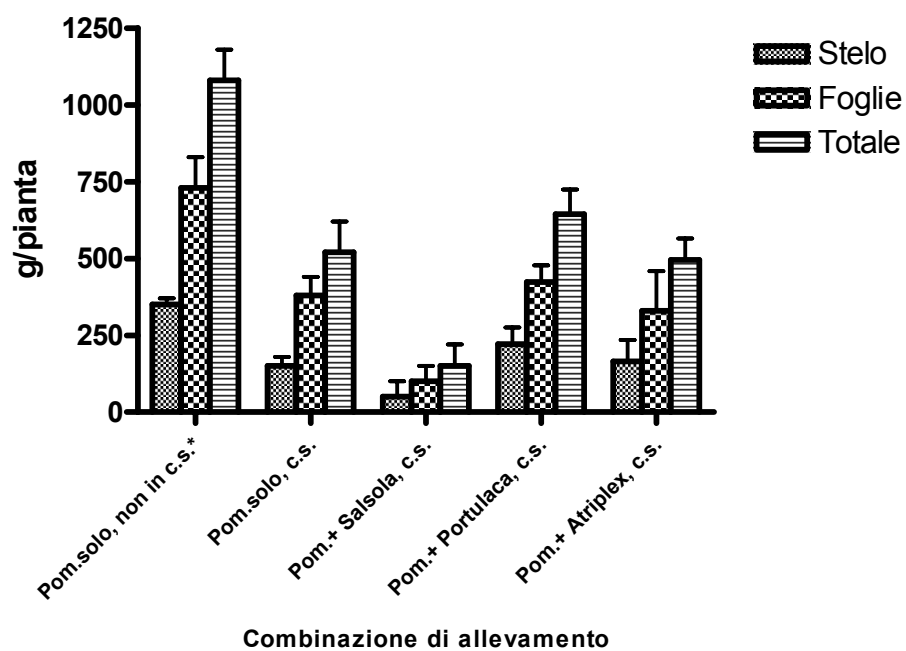


Fig.1 - Produzione di biomassa fresca della parte epigea vegetativa delle piante di pomodoro (g/pianta) nelle diverse tesi.

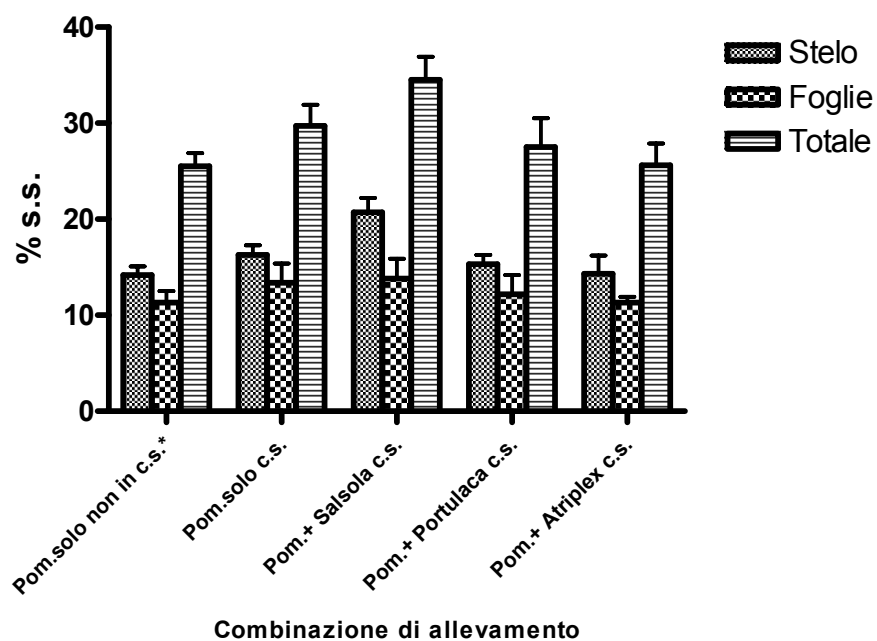


Fig.2 - Contenuto in sostanza secca delle piante di pomodoro (%) nelle diverse tesi.

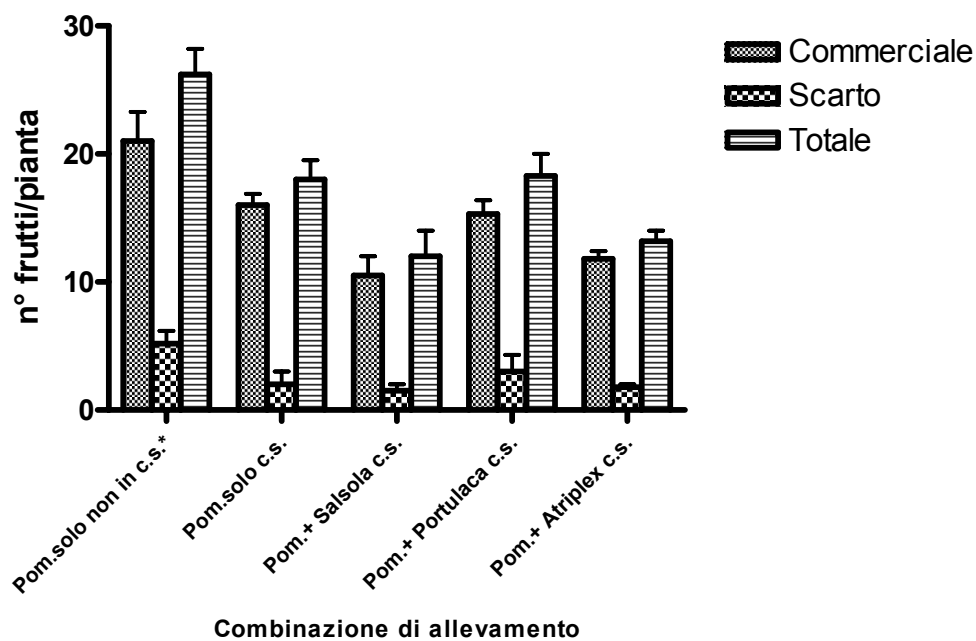


Fig.3 – Numero di frutti per pianta nelle diverse tesi.

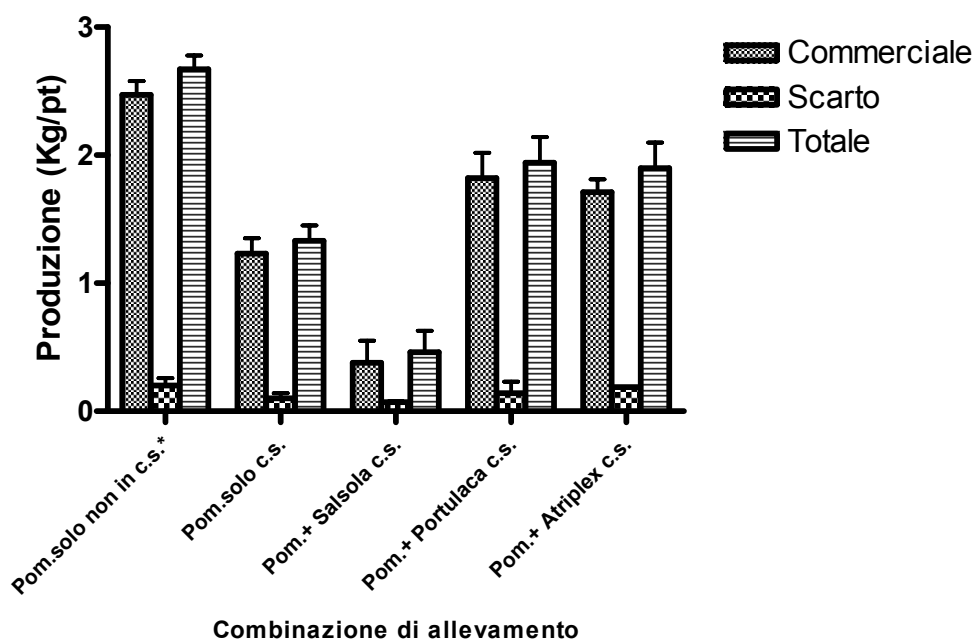


Fig.4 - Produzione di pomodoro nelle diverse tesi.

Tesi messe a confronto	% s.s.	°Brix (22°C)	pH	Ac.Tit. (% ac.citrico)	Res. alla press. (Kg/cm ²)
Pomodoro solo non in c.s.*	6,1a**	5,25a	4,14a	0,665a	5,5a
Pomodoro solo in c.s.	5,6ab	5ab	4,11a	0,546b	4,0b
Pomodoro + Salsola in c.s.	4,9cd	4,6b	4,1a	0,452bc	3,9b
Pomodoro+Portulaca in c.s.	4,5d	4,8ab	4,2a	0,462bc	4,5ab
Pomodoro + Atriplex in c.s.	5,4bc	4,75b	4,11a	0,406c	5,1a

*: c.s.= condizioni saline

** : I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.1 - Qualità del pomodoro da solo e nelle varie consociazioni, allevato in terreno di partenza non salino e irrigato con acqua salina.

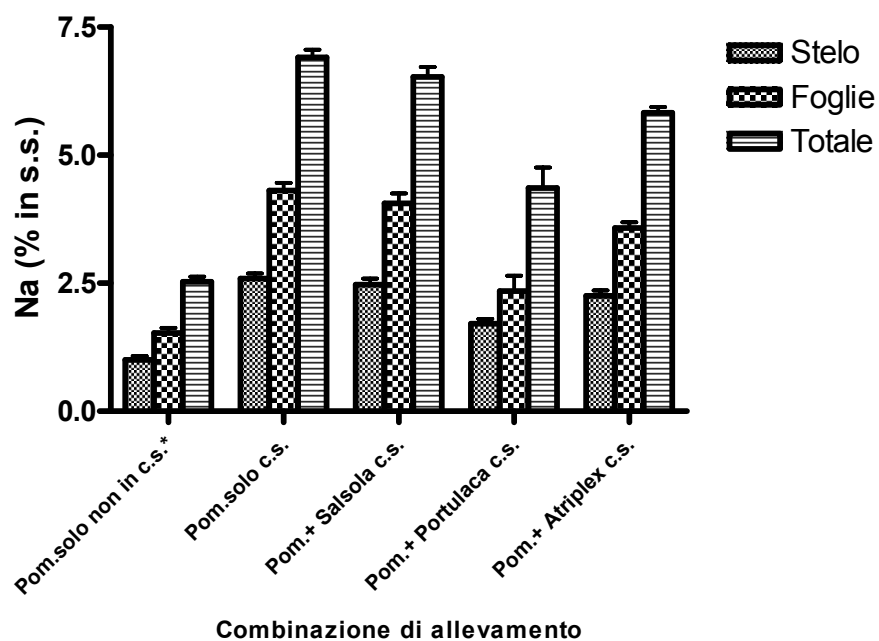


Fig.5 – Contenuto in Na sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza non salino.

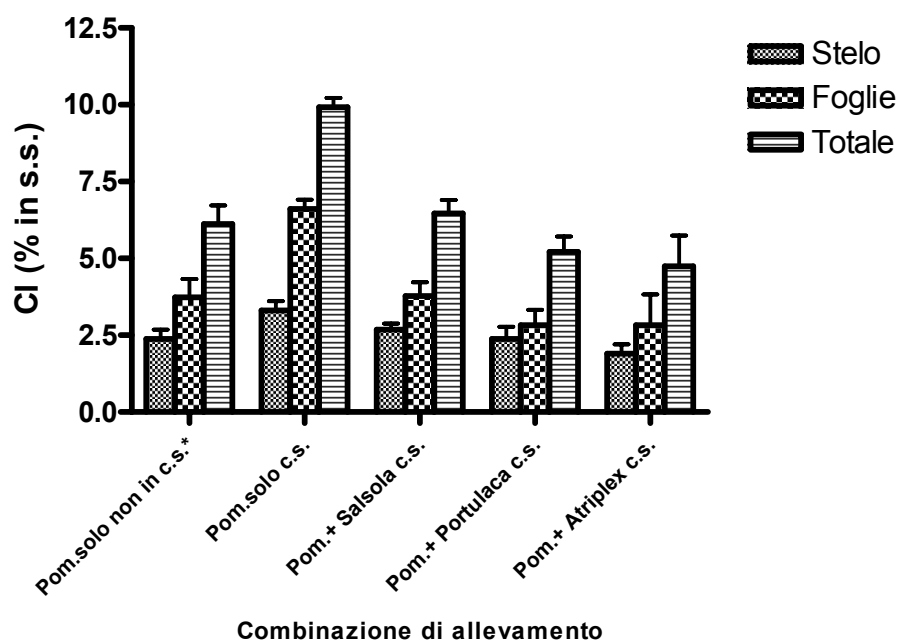


Fig.6 – Contenuto in Cl sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza non salino.

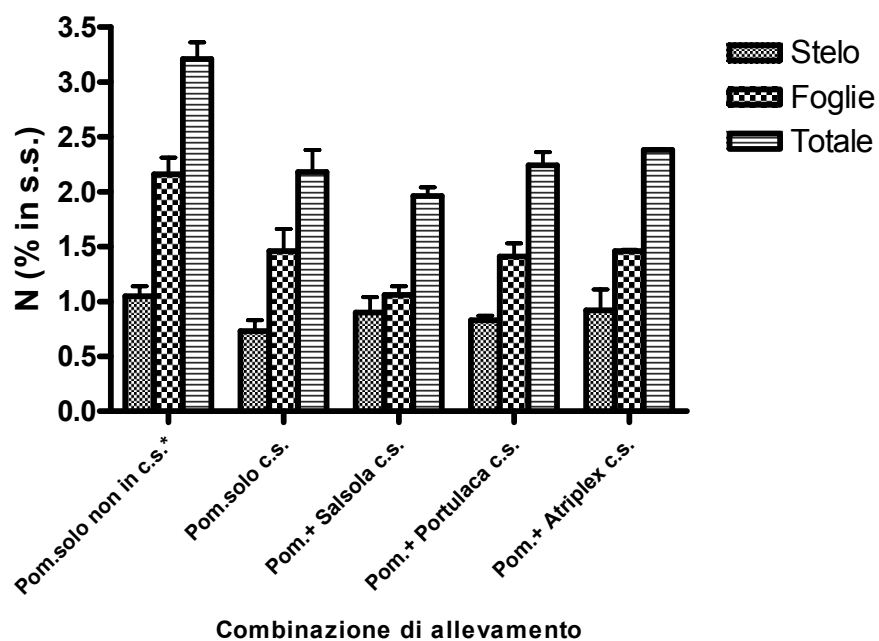


Fig.7 – Contenuto in N sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza non salino.

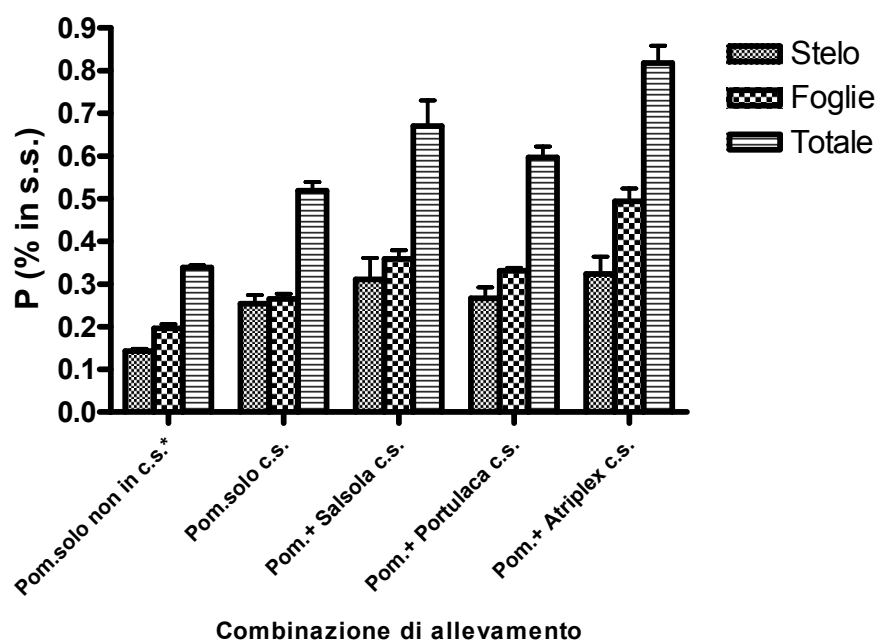


Fig.8 – Contenuto in P sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza non salino.

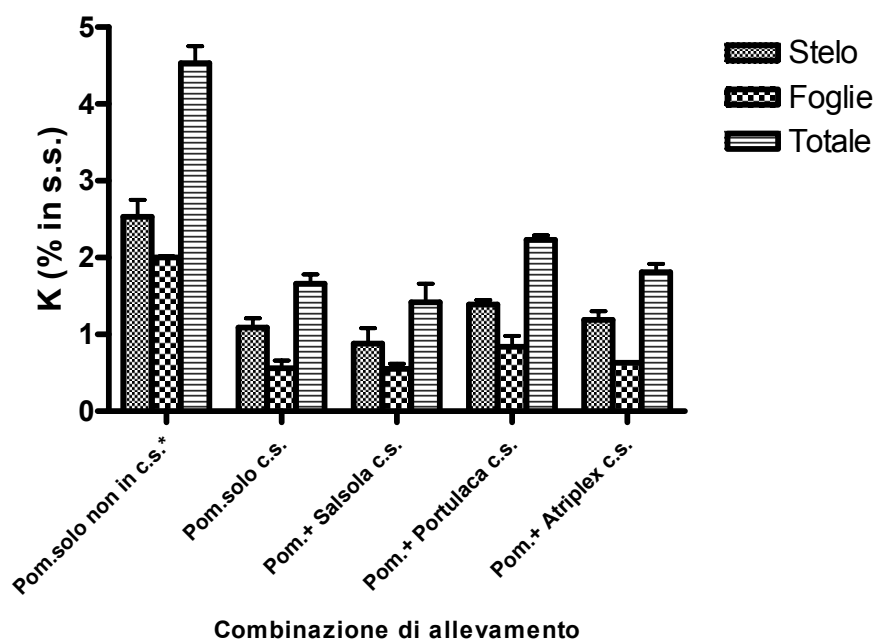


Fig.9 – Contenuto in K sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza non salino.

Grafici Prova B

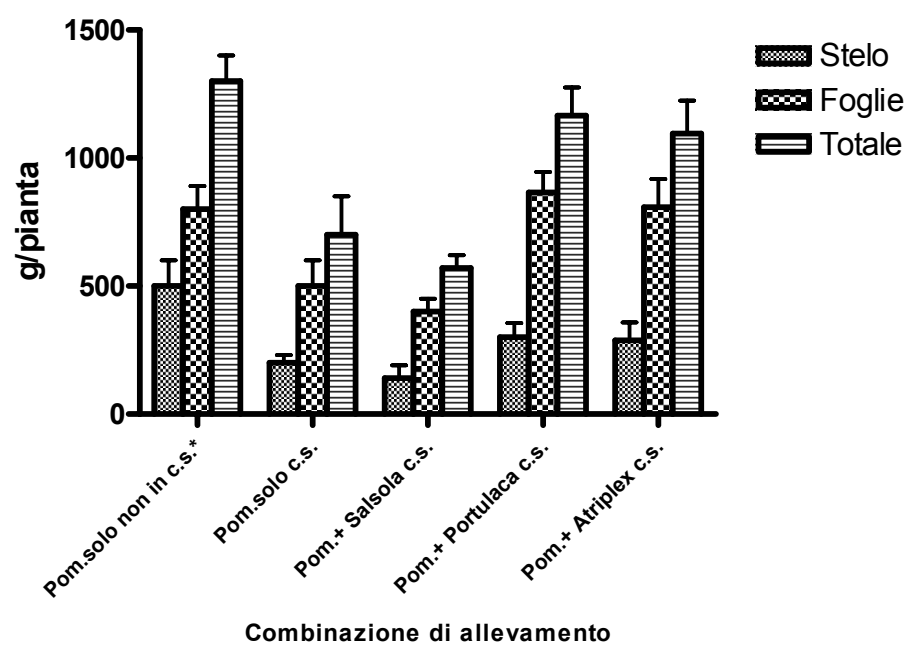


Fig.10 - Produzione di biomassa fresca delle piante di pomodoro nelle diverse tesi.

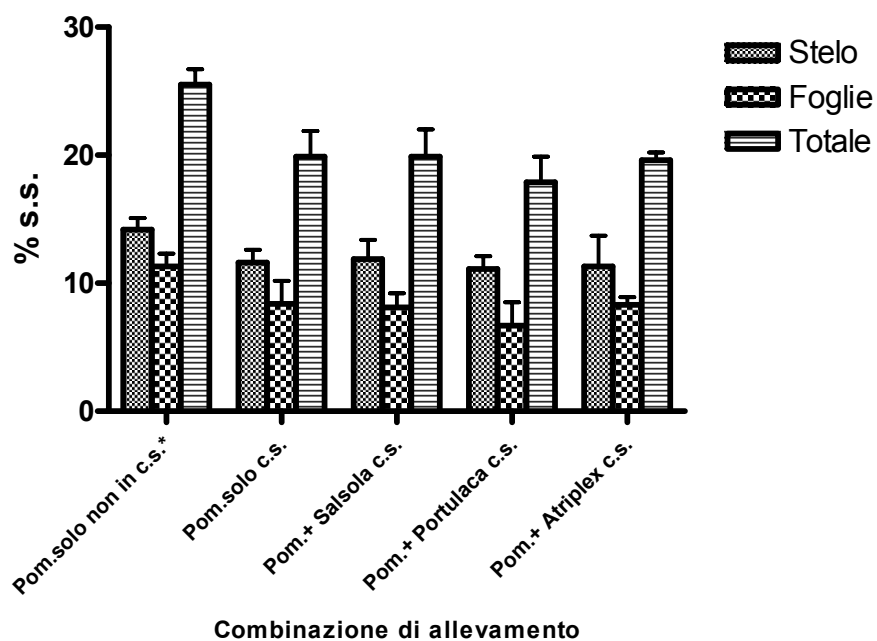


Fig.11 - Contenuto in sostanza secca nei tessuti delle piante di pomodoro (%) nelle diverse tesi.

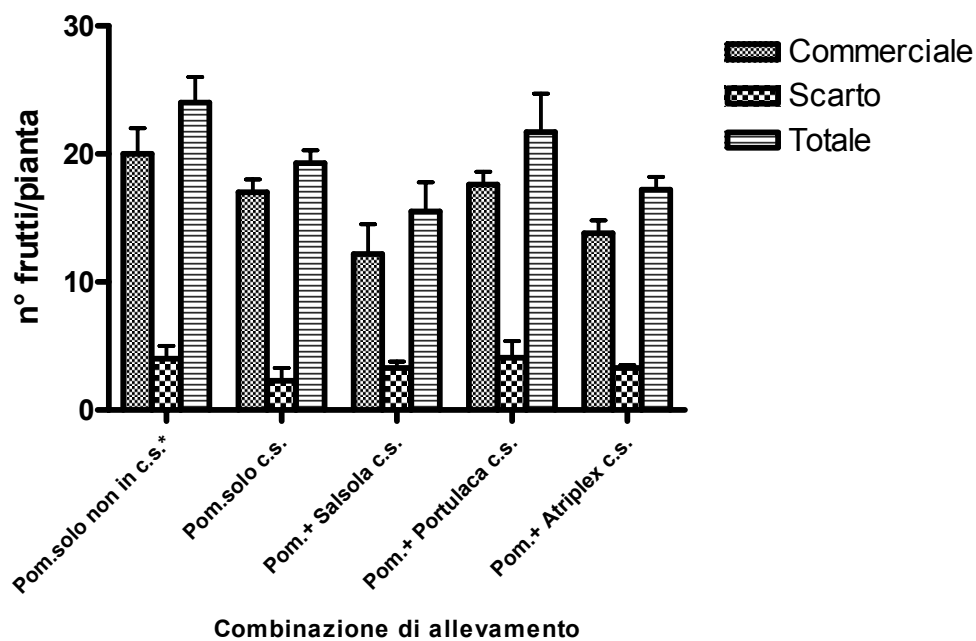


Fig.12 - Numero di frutti per pianta nelle diverse tesi.

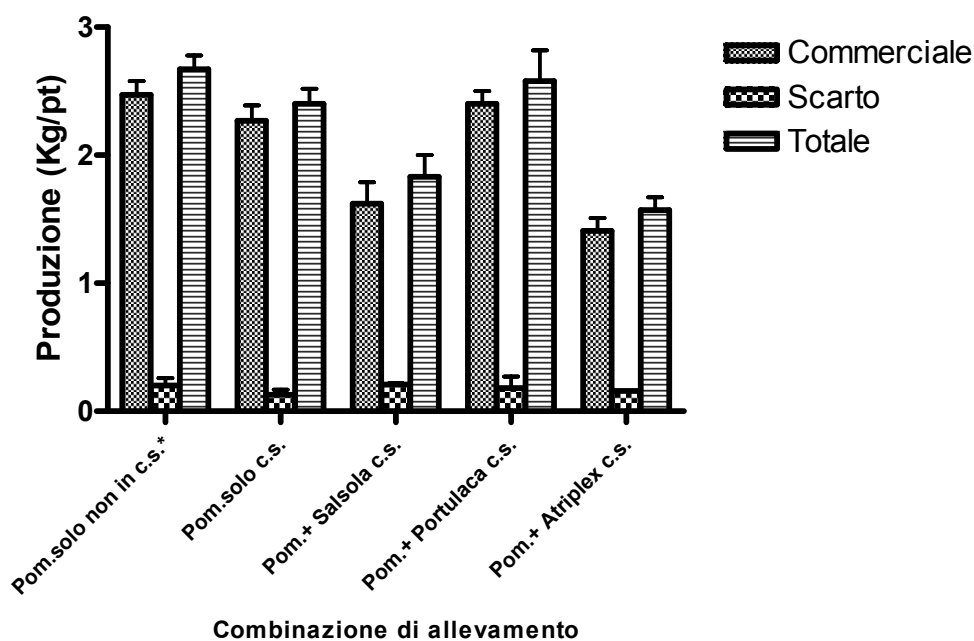


Fig.13 - Produzione di pomodoro nelle diverse tesi.

Tesi messe a confronto	% s.s.	°Brix (22°C)	pH	Ac.Tit. (% ac.citrico)	Res. alla press. (Kg/cm²)
Pomodoro solo non in c. s.	6,1a	5,25a	4,14a	0,665a	5,5a
Pomodoro solo in c.s.	4,9b	4,0b	4,2a	0,567c	4,2c
Pomodoro + Salsola in c.s.	3,8c	4,1b	4,2a	0,564c	3,9c
Pomodoro+Portulaca in c.s.	3,9c	3,75b	4,18a	0,602b	4,2c
Pomodoro + Atriplex in c.s.	4,7b	4b	4,16a	0,602b	4,8b

*: c.s.= condizioni saline

**: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.2 - Qualità del pomodoro da solo e nelle diverse consociazioni, allevato in terreno di partenza salino e irrigato con acqua non salina

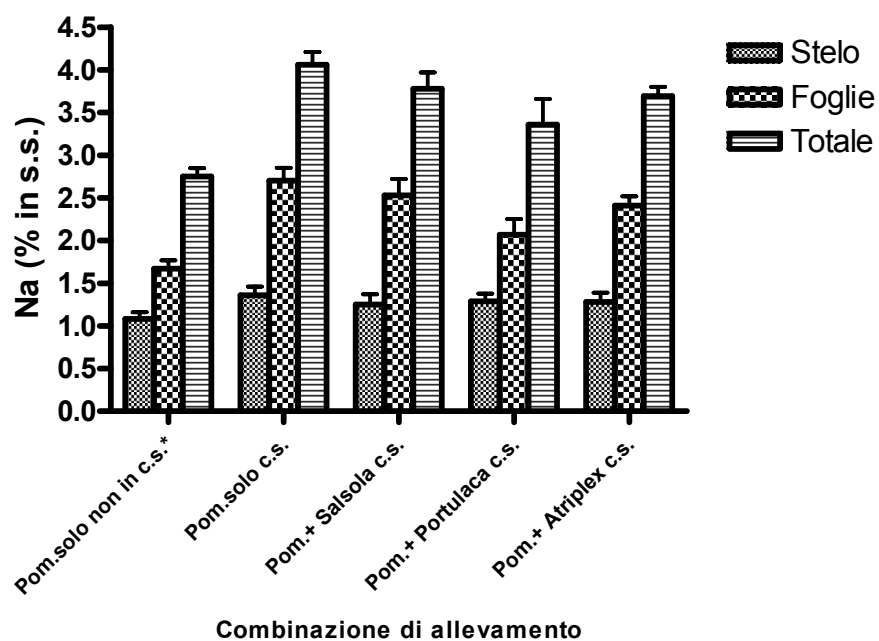


Fig.14 – Contenuto in Na sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza salino.

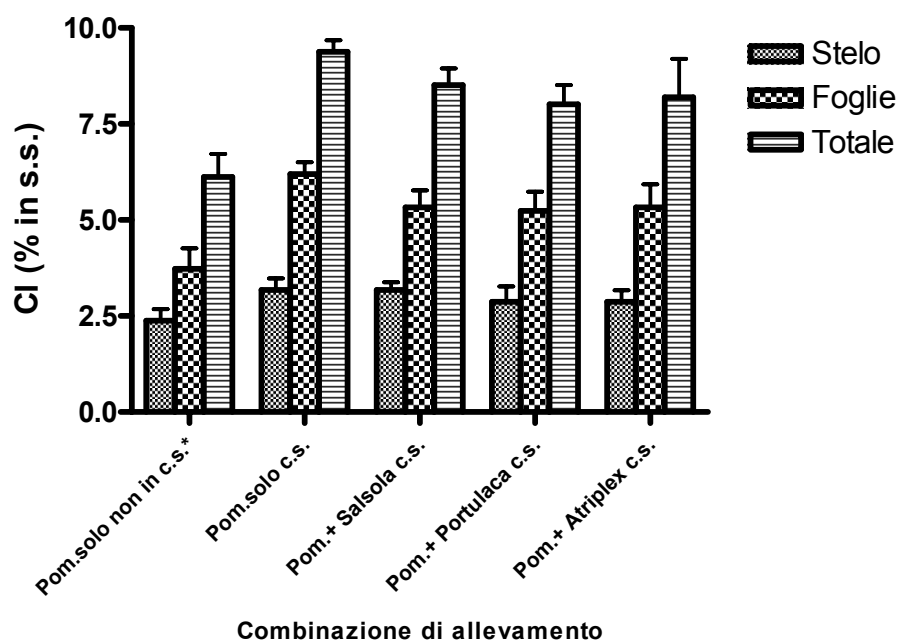


Fig.15 – Contenuto in Cl sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza salino.

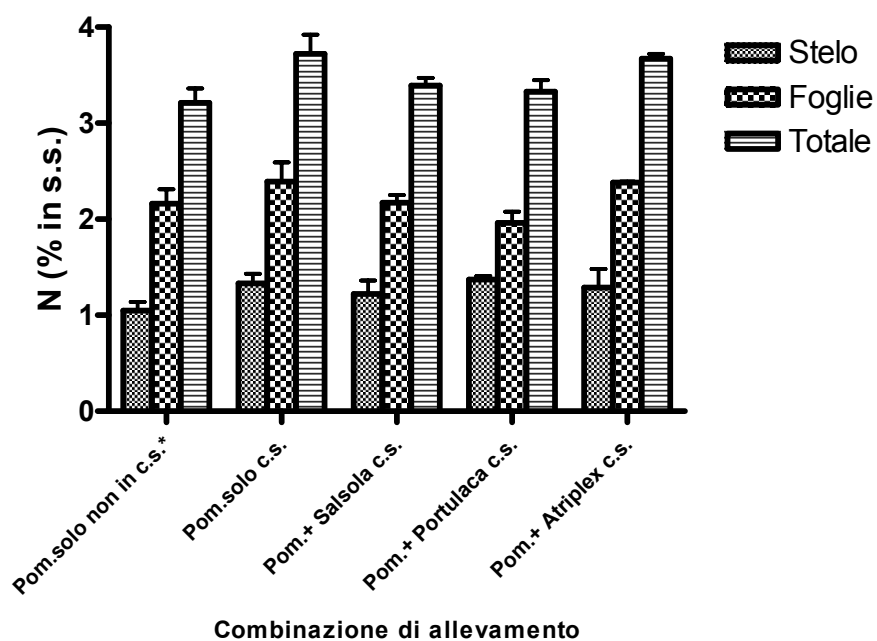


Fig.16 – Contenuto in N sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza salino.

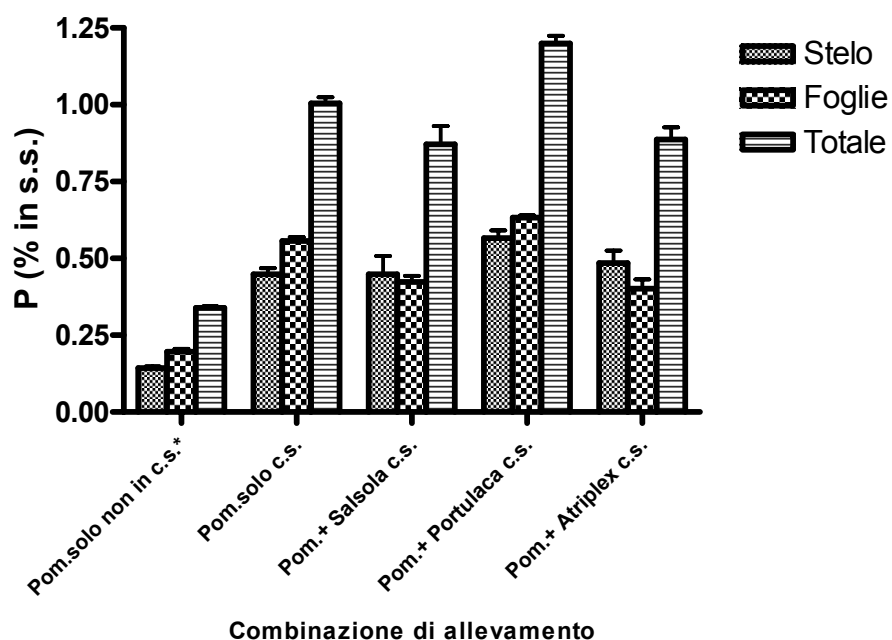


Fig.17 – Contenuto in P sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza salino.

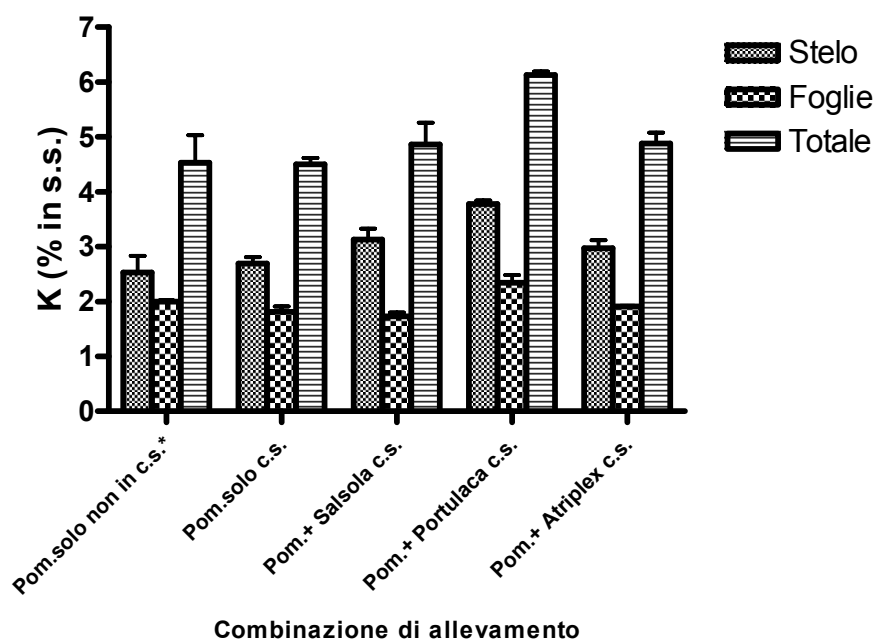


Fig.18 – Contenuto in K sulla sostanza secca (s.s.) dello stelo e foglie di piante di pomodoro nelle diverse tesi con terreno di partenza salino.

II. 1. 4 – Discussione

Dai dati della ricerca emerge chiaramente come lo stress salino, causato dall'acqua di irrigazione, determini una riduzione di sviluppo vegetativo e di produzione rispetto al controllo irrigato con acqua dolce. Questo effetto dello stress salino si verifica nella quasi totalità dei dati presenti in letteratura, come sintetizzato da Munns (1993). La consociazione ha dato in questo senso risultati complessivamente incoraggianti, ma ci sono notevoli differenze tra le tre alofite impiegate.

La *Portulaca* si evidenzia come quella più efficace nella consociazione col pomodoro, permettendone una maggior crescita e una più elevata produzione. La *Salsola* si dimostra la meno indicata, a causa del notevole sviluppo, che risulta competitivo ai danni di quello del pomodoro, specie se il trapianto di quest'ultimo avviene troppo tardivamente, mentre l'*Atriplex* presenta risultati intermedi tra le altre due alofite.

Lo stress salino non sembra causare significative modificazioni nella qualità dei frutti: questo fenomeno è probabilmente peculiare della varietà in esame, poiché sono numerosi in letteratura gli esempi in cui lo stress salino è stato dimostrato esercitare un sensibile effetto di miglioramento sulle caratteristiche organolettiche (e dei parametri ad esse correlati), sia in pieno campo (Heine *et al.*, 1987; Mitchell *et al.*, 1991) che in serra su terreno (Mizrahi *et al.*, 1998) e in idroponica (Nichols *et al.*, 1995; Sirigu *et al.*, 1999). E' d'altronde noto come in certe aree orticole della Sicilia (Pachino e Licata) e della Sardegna (S. Margherita di Pula), caratterizzate da acque saline (conducibilità elettrica di 3-6 dS/m) si producano pomodori da mensa con particolari caratteristiche organolettiche assai apprezzate dal mercato (Tesi & Graifenberg, 1995). E' invece rilevante la riduzione di pezzatura media delle bacche causata dallo stress salino, come già osservato da altri Autori (Sifola *et al.*, 1995; Pomper & Breen, 1997).

I dati della seconda prova (terreno di partenza salino e impiego di acqua non salina) di cui si componeva la ricerca indicano l'assenza di una effettiva condizione di stress determinato dal livello di salinità, pari a 5,35 dS/m, presente nel terreno della nostra prova al momento dell'impianto. Questo ci porta a supporre che la soglia di tolleranza alla salinità indicata in letteratura per il pomodoro, espressa in termini di CE dell'estratto saturo, e pari a 2,5 dS/m, (Maas & Hoffman, 1977) sia in realtà più bassa di quella di fatto sopportabile, quantomeno per la cultivar utilizzata nella presente ricerca.

Mettendo a confronto i risultati ottenuti nelle due prove della ricerca emerge pertanto come la salinità dell'acqua di irrigazione causi alle piante uno stress maggiore che non una salinità

di partenza del terreno, in cui poi per l'irrigazione venga utilizzata acqua dolce. Ciò può essere probabilmente spiegato a causa dell'effetto cumulativo determinato dall'impiego di acqua salina nel corso dello sviluppo della pianta. Questo accumulo provoca un danno maggiore che non una salinità di partenza del terreno d'impianto, che durante lo sviluppo della pianta viene diluita, nei casi in cui l'irrigazione sia attuata con acqua dolce. Questo fenomeno trova impiego nella comune pratica agronomica, con il nome di *leaching*, e prevede il ricorso a periodici lavaggi del terreno di coltura con abbondanti quantitativi di acqua dolce, al fine di allontanare i sali in eccesso. Usata tendenzialmente nelle aree in cui le risorse idriche sono abbondanti e l'alto tasso di evaporazione porta a un rapido accumulo di sali nel terreno, questa tecnica è stata più volte applicata in ambito sperimentale, con risultati piuttosto soddisfacenti (Ayers & Westcot, 1985; Hanson, 1993).

Le conclusioni di questa ricerca sono pertanto che la *Portulaca* presenta, tra le tre alofite prese in esame, la migliore efficacia nel ridurre lo stress salino su pomodoro in consociazione, e che la salinità dell'acqua d'irrigazione è più determinante della salinità del terreno nel causare insorgenza di stress nella coltura.

II. 2 - PROVA DEL II ANNO: CONSOCIAZIONE TRA POMODORO E *PORTULACA* A DIVERSE EPOCHE DI SEMINA

II. 2. 1 - Introduzione

Nella ricerca condotta nel corso del primo anno era emerso come la *Portulaca oleracea* L. consentisse tra le alofite a confronto (*Salsola soda* L. e *Atriplex hortensis* L.) di ottenere i migliori risultati in consociazione con la coltura del pomodoro in condizioni di stress salino.

Sulla base di questi risultati è stata effettuata una nuova prova con sola *Portulaca*, volta ad indagare gli effetti di diverse epoche di semina di questa alofita sulla crescita e sulla produzione del pomodoro allevato in condizioni di salinità, e quindi ad identificare il tempo di semina in grado di rendere minima la competizione nutrizionale ai danni della coltura.

II. 2. 2 – Materiali e Metodi

La prova è stata condotta in una serra situata presso il Centro Sperimentale di S.Piero a Grado. La serra in questione è in ferro-PVC con pavimento in cemento, contenente bancali anch'essi in cemento delle dimensioni di 1 x 6 x 0,25 m.

È stato impiegato un terreno a granulometria prevalentemente sabbiosa (sabbia 85,8%, limo 7,65%, argilla 6,55%), con pH 7,9 e conducibilità dell'estratto saturo (CE) pari a 1,8 dS/m.

Le tesi messe a confronto erano le seguenti:

- Pomodoro da solo in condizioni non saline
- Pomodoro da solo in condizioni saline
- Pomodoro + *Portulaca* con semina 10 gg prima del trapianto del pomodoro
- Pomodoro + *Portulaca* con semina contemporaneamente al trapianto del pomodoro
- Pomodoro + *Portulaca* con semina 10 gg dopo del trapianto del pomodoro
- Pomodoro + *Portulaca* con semina 20 gg dopo il trapianto del pomodoro

La densità di semina per la *Portulaca* è stata in tutte le tesi pari a 15 g/m² di seme.

Ogni tesi era costituita da un bancale; lo schema sperimentale era a blocco randomizzato con due ripetizioni.

L'acqua di irrigazione per le tesi non saline conteneva 1,0 g/l di concime 20/20/20, per una conducibilità elettrica pari a 1,1 dS/m; l'acqua per il trattamento salino conteneva inoltre 3 g/l NaCl, per una conducibilità di 4,5 dS/m.

Il pomodoro, cv. "Caramba", è stato trapiantato il 23 marzo in numero di 36 piante/bancale.

Dalla data del trapianto, un trattamento fitosanitario con poltiglia bordolese è stato effettuato ogni 10 giorni. Nel corso della prova non si sono verificati attacchi di insetti.

La raccolta, iniziata il 10 giugno, si è protratta fino al 20 luglio, venendo ripetuta in media ogni 2/3 giorni, al momento dell'invasatura dei frutti.

Nei giorni 1 luglio e 14 luglio sono stati prelevati campioni di frutti da ogni bancale, allo scopo di determinare le caratteristiche qualitative delle bacche (pH, resistenza alla penetrazione, gradi rifrattometrici, acidità titolabile e tenore in sostanza secca).

Il 6 luglio è stato prelevato un campione di due piante da ogni bancale per le analisi chimiche e la misura di peso fresco e secco.

Il peso secco è stato determinato mediante essiccazione in stufa a 70°C fino a peso costante. Per ogni tessuto è stata determinata la concentrazione dei macroelementi, del Cl e del Na. Na, Ca e K sono stati misurati mediante digestione nitroperclorica e lettura al fotometro a fiamma, il P col metodo Morgan, l'N col metodo Kjeldahl e il Cl col metodo Zall (1954). È stato determinato anche il peso della biomassa fresca asportata con la cimatura. Per quanto riguarda le alofite è stata determinata, per ogni bancale, la quantità di biomassa e la concentrazione dei macroelementi, del Cl e del Na nella parte aerea.

II. 2. 3 - Risultati

La produzione di biomassa fresca della parte epigea del pomodoro in consociazione è sempre risultata inferiore a quella del pomodoro da solo. In particolare, lo stesso pomodoro da solo irrigato con acqua salina ha mostrato risultati superiori a quelli del pomodoro in consociazione, qualsiasi fosse l'epoca di semina della Portulaca. (Tab.1). Tra le varie tesi in consociazione, inoltre, si è notato come le performances di crescita e produttive del pomodoro fossero tanto più modeste quanto più precoce fosse stata la semina dell'alofta.

La produzione in biomassa fresca da parte dell'alofta, inoltre, ha presentato un andamento opposto, in quanto i valori sono risultati tanto più ridotti quanto più tardiva era stata la semina (Tab.2).

La produzione da parte del pomodoro ha seguito più o meno lo stesso andamento della crescita, con rese massime là dove la semina della Portulaca era stata tardiva. Non ci sono prove a favore del fatto che diversi tempi di semina abbiano avuto effetto sulla pezzatura media dei frutti: infatti il rapporto tra numero di frutti e peso complessivo si è mantenuto costante. La percentuale di scarti è rimasta inoltre invariata per tutte le tesi.

Per quanto riguarda il contenuto in ioni, si nota come nel pomodoro in consociazione i livelli di Na e Cl siano risultati lievemente più bassi, e quelli di Ca lievemente più alti, rispetto al pomodoro da solo in condizioni saline (Tab.3). Gli ioni Na e Cl sono stati, come prevedibile, drasticamente incrementati in coltura salina non consociata rispetto al controllo, e le foglie sono state in generale l'organo che ha risentito maggiormente di questa modificazione. E' inoltre sempre a livello delle foglie che si sono verificati gli effetti più consistenti della consociazione con Portulaca nell'abbassare la concentrazione di Na e Cl. La più sensibile inibizione dell'assorbimento degli ioni tossici si è avuta nella tesi in cui la Portulaca era stata seminata dieci giorni dopo il trapianto.

I livelli di P e K sono stati leggermente ridotti per la coltura salina non consociata rispetto al controllo, e le diverse tesi di consociazione non hanno mostrato una significativa influenza sull'uptake di tali ioni da parte del pomodoro. L'N è stato incrementato nei casi in cui il pomodoro era stato allevato da solo in salinità, e ridotto dalla consociazione con Portulaca a tutti i tempi di semina (in particolare per quella anticipata).

Le asportazioni dei vari nutrienti da parte di Portulaca non hanno presentato differenze rilevanti al variare del periodo di semina, ad esclusione del Cl che è stato beneficiato dalla semina anticipata (Tab.4).

Il contenuto di ioni nei frutti ha seguito abbastanza fedelmente quello della porzione vegetativa (Tab.5), mostrando valori lievemente più bassi di Na e Cl e lievemente più alti di Ca nelle tesi in consociazione rispetto alle bacche di piante allevate da sole. Il K è risultato lievemente abbattuto nei frutti di pomodoro allevati in consociazione con Portulaca seminata tardivamente.

I livelli di conducibilità, residuo ottico, acidità titolabile e sostanza secca delle bacche cresciute in consociazione erano lievemente più bassi di quelli delle bacche di piante non consociate e irrigate con acqua salina (Tab.6 e 7); non si notano differenze significative causate dalle diverse epoche di semina. pH e resistenza meccanica non hanno mostrato differenze statisticamente rilevanti nemmeno tra consociazione e coltura di solo pomodoro.

Differenze più rilevanti si notano se si confrontano i valori dei due successivi campionamenti: le bacche raccolte per ultime hanno presentato mediamente valori più alti di

acidità titolabile, zuccheri solubili e percentuale in sostanza secca.

Tesi messe a confronto	Prod. Comm.		Prod. Scarto		Prod. Tot.		Biomassa Fresca Parte Epigea (Kg/pt)
	(kg/pianta)	n°frutti/pt	(kg/pianta)	n°frutti/pt	(kg/pianta)	n°frutti/pt	
Pomodoro da solo non in cond.saline	4,1a*	20,5a	0,2c	4,0c	4,4a	24,4bc	1,240b
Pomodoro in cond. saline	3,37ab	22,1a	0,4a	7,2ab	3,77b	29,2a	1,344a
Sem. -10 Trap.	2,2c	15,3b	0,2c	4,4c	2,4e	19,7d	0,829d
Sem. = Trap.	2,46bc	17,3b	0,3b	5,43bc	2,76de	22,7c	0,821d
Sem. +10 Trap.	3bc	20,3a	0,2c	5,1c	3,2cd	25,4b	1,057c
Sem. +20 Trap.	3,2b	20,6a	0,4a	7,5a	3,6bc	28,2a	1,313a

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.1 - Influenza dell'epoca di semina della Portulaca sulla produzione e sul peso fresco della parte aerea delle piante di pomodoro allevate in condizioni saline.

Giorni di semina rispetto al trapianto del pomodoro	Produzione di biomassa da parte di Portulaca	
	Peso fresco	Peso secco
	(kg/m ²)	(g/m ²)
-10	4,83b*	586,5c
0	5,4a	718,0a
10	4,45b	623,0b
20	2,75c	351,4d

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.2 - Produzione di biomassa della parte epigea della Portulaca per le diverse epoche di semina.

Tesi messe a confronto	Na		Cl		N		P		K		Ca	
	% in s.s.											
	Stelo	Foglie	Stelo	Foglie	Stelo	Foglie	Stelo	Foglie	Stelo	Foglie	Stelo	Foglie
Controllo	0,46c	0,54c	2,17d	3,13e	1,10b	2,10b	0,32a	0,59a	2,25a	1,37a	2,31a	5,16c
Condiz. saline	1,68b	3,20a	5,55a	13,40a	1,42a	2,43a	0,26a	0,49b	2,15ab	1,13b	2,16a	6,08a
Sem. -10 Trap.	1,80ab	2,84ab	5,23ab	10,43c	0,95c	1,78d	0,26a	0,44b	1,92c	1,05bc	1,75bc	5,08c
Sem. = Trap.	1,94a	3,00a	4,95b	12,1ab	1,08b	1,89cd	0,26a	0,53ab	1,82d	0,96c	1,61c	5,48b
Sem. +10 Trap.	1,77ab	2,55b	3,01c	6,65d	1,25ab	2,01bc	0,30a	0,51ab	2,06b	1,06bc	2,23a	6,08a
Sem. +20 Trap.	2,00a	2,88ab	5,50a	11,12b	1,20ab	2,20ab	0,31a	0,58a	2,18ab	0,97c	1,86b	5,66b

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.3 - Influenza dell'epoca di semina della Portulaca sulla concentrazione dei vari elementi nei tessuti della pianta di pomodoro allevata in condizioni saline.

Giorni di semina dell'alofta rispetto al trapianto del pomodoro	g/m ²					
	Na	Cl	N	P	K	Ca
-10	28,56b	29,38a	8,15b	1,99b	21,11b	9,09b
0	33,53a	31,95a	13,14a	2,15a	22,90ab	11,99a
10	30,71ab	24,80b	10,72ab	2,18a	24,36a	10,28ab
20	16,87c	15,15c	6,18c	1,09c	12,97c	5,80c

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.4 - Asportazioni di elementi da parte di Portulaca per le diverse epoche di semina.

Tesi a confronto	Na	Cl	N	P	K	Ca
	% in s.s.					
Controllo	0,24c	1,96d	2,10b	0,43a	3,66b	1,36a
Condiz. saline	1,24a	2,71a	3,20a	0,34c	3,64b	1,32a
Sem. -10 Trap.	1,01ab	2,65ab	2,65ab	0,40b	3,92a	1,45a
Sem. = Trap.	1,15a	2,22cd	2,93a	0,40b	3,93a	1,43a
Sem. +10 Trap.	1,05ab	2,40ab	2,70ab	0,39b	3,69b	1,38a
Sem. +20 Trap.	0,84b	2,37bc	3,00a	0,35c	3,60b	1,37a

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.5 - Influenza dell'epoca di semina della Portulaca sulla concentrazione degli elementi nutritivi nei frutti della pianta di pomodoro allevata in condizioni saline.

Tesi a confronto	% s.s.	°Bx (22°C)	pH	EC (dS/m)	Ac.Tit. (%)	Res.Press. (Kg/cm ²)
Controllo	5,01c	3,80c	4,49a	4,43b	4,90c	3,10ab
Condiz. saline	6,96a	5,83a	4,32b	7,57a	8,0a	3,20ab
Sem. -10 Trap.	6,12b	5,25ab	4,37ab	7,87a	7,6ab	2,90ab
Sem. = Trap.	6,05b	4,86b	4,34b	7,85a	7,43ab	2,85ab
Sem. +10 Trap.	6,38b	5,71a	4,31b	8,11a	7,65ab	2,70b
Sem. +20 Trap.	6,50b	5,38ab	4,33b	7,26a	7,10b	3,30a

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.6 – Qualità delle bacche raccolte al primo campionamento in relazione all'epoca di semina della Portulaca.

Tesi a confronto	% s.s.	°Bx (22°C)	pH	EC (dS/m)	Ac.Tit. (%)	Res.Press. (Kg/cm²)
Controllo	8,13d*	4,25c	4,50a	4,56d	6,68d	2,80c
Condiz. saline	9,33a	5,00a	4,33a	7,66b	8,93a	2,90bc
Sem. -10 Trap.	8,80bc	5,00a	4,36a	8,63a	8,90a	3,20ab
Sem. = Trap.	8,90b	4,73b	4,33a	7,27c	8,07b	2,70c
Sem. +10 Trap.	8,70c	4,88ab	4,32a	7,88b	7,30c	3,25a
Sem. +20 Trap.	8,97b	4,87ab	4,36a	7,12c	7,30c	3,10b

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.7 – Qualità delle bacche raccolte al secondo campionamento in relazione all'epoca di semina della Portulaca.

II. 2. 4 - Discussione

La consociazione con *Portulaca* ha dato risultati complessivamente negativi, portando a ottenere piante di pomodoro più piccole e meno produttive. Questo fenomeno si è verificato per tutte le tesi di consociazione, ed indica come la competizione della *Portulaca* ai danni del pomodoro abbia prevalso su un eventuale effetto benefico di assorbimento degli ioni di Na e Cl in eccesso. A riprova di questo fatto si deve notare come gli effetti dannosi della consociazione siano più accentuati nei casi di semina anticipata.

L'antagonismo che si è instaurato tra pomodoro e *Portulaca* trova conferma, inoltre, nel fatto che la *Portulaca* abbia raggiunto i maggiori livelli produttivi in caso di semina anticipata, osservazione supportata anche dal fatto che in tali circostanze la pianta ha avuto fino a un mese di tempo in più per vegetare rispetto agli individui seminati tardivamente.

Inoltre, il fatto che il contenuto in Na e Cl nelle piante di pomodoro non presenti valori minimi per le tesi di semina più anticipata dell'alofita, mostra come uno sviluppo precoce di quest'ultima non si traduca necessariamente in un beneficio per la pianta in produzione, in termini di riduzione dello stress salino, e anzi l'insorgenza di fenomeni di tossicità da sali può accompagnarsi a una riduzione della produttività a seguito della competizione, con risultati finali molto negativi.

Si deduce come la consociazione con *Portulaca*, su un terreno come quello utilizzato nella prova (buone condizioni chimico-fisiche di partenza, alta capacità drenante e bassa salinità) non sia conveniente, nonostante l'irrigazione sia stata effettuata con acqua salina. Probabilmente la consociazione con *Portulaca* avrebbe dato i suoi migliori risultati su un terreno in partenza più salino e pesante, mentre in questa prova la produzione del pomodoro in consociazione non eguaglia mai, per nessuna epoca di semina della *Portulaca*, quella del pomodoro allevato da solo in condizioni di salinità.

In definitiva se ne deduce come la consociazione con alofite possa essere una buona strategia di lotta allo stress salino, ma a patto che le condizioni di stress siano sufficientemente severe. In caso contrario si corre infatti facilmente il rischio che la competizione nutritiva esercitata dall'alofita (specie qualora la sua semina sia troppo precoce) superi gli eventuali benefici derivanti dall'assorbimento di ioni Na e Cl.

III - INFEZIONE CON INOCULO MICORRIZICO: PARTE I

III. 1 – INTRODUZIONE

III. 1. 1 – Impiego dei microrganismi in agricoltura

Negli ultimi anni, sotto la spinta di una nuova sensibilità ambientale in agricoltura e di una maggior attenzione alla gestione sostenibile degli agroecosistemi, ha assunto importanza il ruolo dei microrganismi nella conservazione della fertilità dei suoli. In vari centri di ricerca, alcuni dei più rappresentativi microrganismi del sistema suolo-pianta sono stati studiati nell'ottica di un loro impiego come “biofertilizzanti” (Lugtenberg *et al.*, 2002; Welbaum *et al.*, 2004). Nella maggior parte dei casi l'obiettivo è surrogare, almeno in parte, la concimazione chimica e l'effettuazione di determinate lavorazioni (Vessey, 2003); non va inoltre trascurata la loro importanza come mezzo per indurre resistenza a patogeni (Shanmugam *et al.*, 2002) o per la *bioremediation* (Sorlini, 1996).

Spesso si ricorre all'impiego di microrganismi capaci di fissare l'azoto atmosferico, sì da fornire alla pianta un apporto di nutrienti che avrebbe richiesto altrimenti ben più costose fertilizzazioni chimiche. I più comunemente usati a questo scopo sono i cianobatteri (Rai *et al.*, 2000^a; Hashem, 2001), ma hanno trovato applicazione con risultati soddisfacenti anche alghe verdi e azzurre (Rai *et al.*, 2000^b; Nayak *et al.*, 2004) e specie del genere *Sesbania* (Kalidurai & Kannaiyan, 1991).

Altre importanti applicazioni riguardano l'impiego di microrganismi in grado di mobilizzare nutrienti presenti nel terreno altrimenti scarsamente disponibili: Mba (1994) mise in evidenza l'efficacia degli Attinomiceti nel mobilizzare i fosfati nel suolo tramite la secrezione di enzimi extracellulari, mentre Hedge *et al.* (1999) dimostrarono come l'impiego di batteri P-solubilizzatori potesse far risparmiare fino a 30 Kg/ha di P₂O₅ da somministrare alle colture. Risultati ancora più soddisfacenti si sono ottenuti allorché diversi microrganismi dalle differenti attitudini sono stati impiegati congiuntamente (Bagyaraj, 1984; Brown *et al.*, 1988). Sarawgi *et al.* (1999) hanno incrementato significativamente crescita e assorbimento di P e N in *Cicer arietinum* trattato con azotofissatori del genere *Rhizobium* uniti a P-solubilizzatori, mentre Wu *et al.* (2005) hanno ottenuto un sensibile aumento della crescita e dell'uptake di nutrienti su mais, migliorando contemporaneamente lo stato fisico e nutrizionale del suolo, tramite l'uso integrato di N-fissatori del genere *Azotobacter*, batteri del genere *Bacillus* in grado di solubilizzare P e K, e funghi micorrizici del genere *Glomus*.

III. 1. 2 – Generalità sulle micorrize

Le micorrize sono associazioni simbiotiche che si instaurano tra le radici di un vasto numero di piante e funghi del suolo (dal greco *mykos*: fungo, e *rhiza*: radice). Furono osservate per la prima volta da Reissek nel 1847, che notò la presenza di ife fungine nelle cellule radicali di diverse Angiosperme.

Alcuni resti fossili fanno risalire l'esistenza delle micorrize al Devoniano, contemporaneamente all'apparizione dei vegetali sulle terre emerse. Secondo alcuni Autori (Pirozynski & Malloch, 1975; Allen, 1991), le micorrize ebbero un ruolo essenziale nell'espansione delle piante in ambiente terrestre.

Si tratta della forma di simbiosi più diffusa in natura: gran parte della vegetazione risulta avere radici associate a funghi micorrizici. L'83% delle Dicotiledoni, il 79% delle Monocotiledoni e tutte le gimnosperme possono formare associazioni micorriziche (Wilcox 1983). Sono escluse da queste associazioni le specie appartenenti alle famiglie *Cruciferae*, *Chenopodiaceae* (Gerdemann, 1968) e le piante acquatiche; inoltre le micorrize sono assenti in radici che crescono in suoli molto secchi, con salinità elevata o in condizioni di anossia, come si verifica in caso di allagamenti.

Circa 6000 specie fungine possono vivere in associazione con piante superiori, nelle cui radici sopravvivono, crescono e si moltiplicano.

I due organismi simbiotici, fungo e pianta, instaurano uno stretto rapporto fisiologico, ecologico e riproduttivo che si risolve in termini di vantaggio per entrambi. I funghi, essendo organismi chemioeterotrofi, non sono in grado di sintetizzare autonomamente alcun tipo di molecola complessa, così che traggono beneficio dalla simbiosi ricevendo dalla pianta parte dei suoi fotosintati. La pianta, a sua volta, beneficia della simbiosi col fungo perché questo permette:

- un aumento della superficie di scambio delle radici con il substrato, incrementando di molto la capacità di assorbimento di nutrienti minerali.
- un aumento, tramite la protrusione di strutture filamentose, del volume di terreno esplorato dall'apparato radicale.
- un più bilanciato uptake dei nutrienti minerali, e la mobilitazione di quelli meno facilmente disponibili grazie al rilascio di determinati enzimi nell'ambiente della rizosfera.

Le micorrize sono molto diverse tra loro dal punto di vista morfologico e fisiologico, e la

loro diversità dipende dalle specie di piante e funghi coinvolti nella simbiosi (Read, 1991).

I ricercatori hanno proposto, nel corso degli anni, varie classificazioni, che sono andate anche modificandosi nel tempo in seguito all'acquisizione di nuove conoscenze. Attualmente, nella classificazione più accettata, si distingue tra Ectomicorrize, Endomicorrize e Ectoendomicorrize, in base alla capacità o meno di penetrare all'interno dei tessuti radicali della pianta ospite.

Ectomicorrize

L'associazione simbiotica è costituita da funghi che non penetrano nelle cellule della pianta ospite.

Il fungo forma una spessa guaina di micelio (mantello o micoclina) che avvolge la parte apicale della radice e che è in grado di penetrare fra le cellule del parenchima corticale. Il mantello è una struttura variabile, sia per il numero di strati di cui può essere costituito, sia per il loro spessore e colore, e queste caratteristiche sono utilizzate per classificare i diversi tipi di ectomicorrize.

Dal mantello le ife si insinuano tra le cellule della corteccia radicale, formando un intreccio intercellulare, la rete di Hartig, mediante il quale avviene lo scambio tra gli zuccheri prodotti dalla pianta e i sali minerali (soprattutto fosfati e nitrati) assorbiti dal fungo.

Sempre dal mantello si diparte una fitta rete di ife fungine che si estendono notevolmente nel suolo circostante. La capacità del sistema radicale di assorbire elementi nutritivi è aumentata dalla presenza delle ife esterne, che possono ampliare il volume di suolo esplorato.

Le ife sostituiscono la funzione assorbente dei peli radicali delle piante superiori che non vengono più prodotti.

Le micorrize portano ad un aumento della superficie assorbente di sostanze nutritive e dell'area di suolo interessata dall'azione assorbente, nonché una maggiore ramificazione del sistema radicale, con possibile conseguente aumento del tasso di crescita delle piante ospiti.

Da tempo è stato dimostrato che tra piante e funghi micorrizici si verifica uno scambio bidirezionale di sostanze diverse. Fornendo $^{14}\text{CO}_2$ alla pianta, si è visto come il carbonio radioattivo ridotto veniva traslocato non solo alle radici della pianta ma anche al mantello e alle ife del fungo (Harley, 1969). In altri esperimenti, sostanze nutritive marcate isotopicamente (ioni fosfato, ammonio, nitrato ecc.) somministrate alle ife fungine sono state ritrovate poi anche nelle foglie dell'ospite (Lamberts *et al.*, dati non pubbl.).

Allorché è traslocato ai funghi, lo zucchero viene subito convertito in trealosio e mannitolo: in queste due forme gli zuccheri non possono più essere recuperati e metabolizzati dalla pianta ospite.

Le ectomicorrize sono tipiche di piante legnose diffuse principalmente nelle foreste e nei boschi di regioni subartiche e temperate; pochissime sono le specie erbacee interessate. Le specie fungine che formano ectomicorrize appartengono, per la maggior parte, ai Basidiomiceti, ma ne sono interessati anche diversi Ascomiceti (Harley, 1969).

Questi funghi formano spesso una fitta rete di ife anastomizzate nel suolo, con il risultato che ife fungine compatibili, spesso provenienti da differenti ospiti, si fondono a formare un sistema complesso con un diverso grado di cooperazione (Helgason *et al.*, 1998), per il quale sono state ipotizzate anche funzioni di redistribuzione dei nutrienti all'interno delle comunità arboree (Giovannetti *et al.*, 2001).

Endomicorrize

L'associazione simbiotica è costituita da funghi che penetrano all'interno delle cellule radicali della pianta ospite, senza formare il mantello esterno. Questo tipo di simbiosi è diffusa soprattutto tra le piante erbacee, delle quali circa l'80% ne è interessato, ed è quella che ha usualmente diretta applicazione nella pratica agronomica (Jindal *et al.*, 1996; Giri *et al.*, 2002).

La colonizzazione avviene a partire dalle spore che si trovano nel terreno, le quali germinano in presenza di radici ospiti perché stimulate dai loro essudati radicali. Si sviluppano fino a raggiungere la radice stessa, e la colonizzano penetrando sia attraverso gli spazi intercellulari sia direttamente nelle cellule. La penetrazione nella radice e la crescita intercellulare delle endomicorrize coinvolge una complessa sequenza di eventi biochimici e citologici, che implicano il riconoscimento del fungo da parte della pianta ospite. Questo riconoscimento sembra avvenire, come nelle interazioni pianta-patogeno, attraverso l'induzione o soppressione di meccanismi di difesa della pianta, tramite molecole specifiche denominate **elicitori** (polisaccaridi derivanti dalla parete cellulare del fungo o da un processo di secrezione) (Garcia-Garrido & Ocampo, 2002).

A seconda delle specie di piante e funghi coinvolti nella simbiosi si possono distinguere:

- micorrize vescicolari-arbuscolari (VAM);
- micorrize ericoidi;

- micorrize delle orchidee.

Le micorrize vescicolari-arbuscolari (VAM) sono le più importanti, almeno dal punto di vista della loro diffusione e perché riguardano praticamente tutte piante di interesse agrario. Malgrado l'enorme numero di piante interessate, pochi sono i funghi che agiscono in questo tipo di associazione: sono tutti Zigomiceti appartenenti all'ordine *Endogonales*, e di essi fa parte anche il genere *Glomus*, utilizzato nella nostra sperimentazione.

Inoltre, a differenza della maggior parte delle ectomicorrize, le associazioni VAM sono meno selettive, così che una stessa specie di fungo può infettare diversi tipi di piante. Generalmente, le VAM non mostrano una specificità, e i fattori che determinano la formazione delle micorrize sembrano dipendere dal genotipo della pianta ospite (Koide & Schreiner, 1992).

Le ife dei funghi endomicorizzici crescono con una disposizione meno densa delle ectomicorrize, così che non viene prodotto un mantello compatto di micelio fungino attorno alla radice. Le ife penetrano nella radice attraverso l'epidermide o i peli radicali, e si diffondono tra le cellule e dentro le cellule del parenchima corticale, dove formano diverse strutture: avvolgimenti ifali, vescicole ed arbuscoli.

Le vescicole, corpi ovoidali di 50-100 μm di diametro, svolgono la funzione di accumulo di prodotti di riserva.

Gli arbuscoli rappresentano l'interfaccia tra il fungo e la pianta ospite, dove avviene il trasferimento di elementi nutritivi: il fungo fornisce all'ospite i minerali accumulati sotto forma di granuli di polifosfato, e la pianta invia i carboidrati sintetizzati. L'arbuscolo si forma a partire da un'ifa che, una volta penetrata all'interno di una cellula radicale, comincia a ramificarsi ripetutamente fino ad invadere tutta la cellula.

Lo stato nutritivo della pianta ospite può avere un ruolo determinante nell'espansione dell'infezione micorrizica: carenze nutrizionali (di ione fosfato in particolare) tendono a promuovere l'infezione, mentre piante cresciute in un suolo ben fertilizzato possono reprimerne lo sviluppo (Mohammad *et al.*, 2003).

Benché le endomicorrize arbuscolari non inducano cambiamenti morfologici rilevanti (a differenza delle ectomicorrize), causano importanti modificazioni fisiologiche - che si traducono in vantaggi significativi - a carico delle piante ospiti.

In particolare, viene enormemente amplificata la capacità di esplorazione del suolo da parte dell'apparato radicale, così come la superficie di scambio suolo-radice; inoltre, come già accennato, viene facilitata la mobilitazione di nutrienti minerali altrimenti indisponibili (in

particolare il P) tramite la secrezione nel terreno di particolari enzimi.

E' inoltre stata dimostrata la capacità di funghi micorrizici di indurre o aumentare la resistenza delle piante a stress biotici e abiotici, quali la carenza idrica o l'attacco da parte di patogeni fungini (Smith & Read, 1997; Kubikova *et al.*, 2001). Le piante micorrizzate, con una bassa concentrazione di nutrienti nel suolo, presentano un più alto tasso di crescita rispetto a piante non micorrizzate (Aikio & Ruotsalainen, 2002).

Le endomycorricize ericoidi sono proprie delle piante appartenenti alla famiglia delle *Ericaceae*, e vengono generate da un particolare Ascomicete (*Hymenoschyphus*), che si insinua nelle radici filiformi, colonizzando circa l'80% del tessuto radicale, penetrando nelle cellule corticali e formando avvolgimenti ifali detti "coils" (gomitoli).

Le endomycorricize delle orchidee sono generate da alcuni Basidiomiceti. Di solito il fungo è già presente nei tegumenti del seme, per cui in questi l'infezione micorrizica diviene quasi ereditaria, e le sostanze emesse dal fungo simbiote sono determinanti per la germinazione dei semi.

Ectoendomycorricize

Le ectoendomycorricize, come il nome stesso suggerisce, hanno caratteristiche intermedie tra le due precedenti categorie: formano la micoclona e la rete di Hartig, e contemporaneamente penetrano all'interno delle cellule radicali.

Questo tipo di micorricize è stato osservato in diverse conifere, e possono assumere caratteristiche leggermente diverse in varie piante ospiti.

III. 1. 3 – Impiego dei funghi micorrizici come strategia contro gli stress abiotici

Il ruolo positivo delle micorricize nell'indurre nella pianta maggior resistenza agli stress abiotici è spesso mediato dalle interazioni tra i funghi micorrizici e gli altri microrganismi del terreno, interazioni che portano a un generale miglioramento dell'ambiente rizosferico e dell'assorbimento di nutrienti (Dixon *et al.*, 1993).

Ahmed (1996) mostra come, su *Vicia faba*, l'inoculazione sia di *Rhizobium* che di funghi micorrizici limitino significativamente i danni dovuti alla salinità. Diversi Autori (Azcon *et al.*, 1991; Herrera *et al.*, 1993; Baker *et al.*, 1995) hanno dimostrato inoltre come, inoculando contemporaneamente entrambi i microrganismi su una stessa pianta, la micorricizzazione

faciliti la colonizzazione da parte degli azotofissatori; il fenomeno è attribuibile al miglior assorbimento dello ione fosfato da parte della pianta micorrizzata, in quanto l'azotofissazione può essere ridotta da carenza di P (Becker *et al.*, 1991).

Riferendosi più specificamente ai soli funghi micorrizici, sono numerosi gli esempi in letteratura di successi nel loro impiego come strategia per limitare l'incidenza di stress abiotici sulle colture: è stata dimostrata l'efficacia dei funghi micorrizici nell'incrementare la resistenza a stress idrici tramite il meccanismo dell'*avoidance* (Reid & Bowen, 1979; Augé, 2001), che si associava spesso a un aumento di crescita, connesso alla migliore acquisizione di nutrienti (Sylvia *et al.*, 1993; Subramanian & Charest, 1999). In altri casi tale resistenza era conferita principalmente in virtù di una maggior capacità di aggiustamento osmotico delle foglie delle piante micorrizzate (Allen & Boosalis, 1983; Davies *et al.*, 1993). Ruiz-Lozano (2003) sostiene che il contributo della micorrizzazione alla resistenza allo stress idrico sia il risultato della combinazione di effetti a livello morfologico, nutrizionale, fisiologico e cellulare.

L'infezione micorrizica è inoltre stata dimostrata più volte favorire la crescita della pianta in condizioni di carenza di nutrienti: McArthur & Knowles (1991) dimostrarono come l'infezione micorrizica aumentasse significativamente la crescita di piante di *Solanum tuberosum* allevate in condizioni di grave carenza di P; Moora & Zobel (1998) hanno rilevato la capacità dei funghi micorrizici di alleviare gli effetti della competizione nutrizionale tra piante di *Hypericum perforatum* L. Ciò è connesso con la migliore capacità di esplorazione del suolo da parte della radice micorrizzata: è infatti nota la capacità dei funghi micorrizici di alterare la morfologia radicale della pianta ospite, e questo fenomeno è tanto più accentuato quanto più accentuate sono le condizioni di carenza di nutrienti (Price *et al.*, 1989; Berta *et al.*, 1993).

Esistono infine prove in letteratura a favore della capacità dei funghi micorrizici di alleviare lo stress da metalli pesanti (Schutzendubel & Polle, 2002) e da basse ed alte temperature (Zak *et al.*, 1998).

III. 1. 4 – Impiego dei funghi micorrizici come strategia contro lo stress salino

Numerosi ricercatori hanno studiato la possibilità di indurre tolleranza alla salinità in specie agrarie mediante la simbiosi con funghi micorrizici. L'induzione di resistenza si esplica tramite una limitazione, operata dal fungo, nell'assorbimento degli ioni Na e Cl presenti nella soluzione circolante, così da limitare l'ingresso degli stessi nella pianta a livelli

tollerabili (Al-Karaki & Hammad, 2001; Mohammad *et al.*, 2003), e tramite un generale miglioramento della nutrizione minerale, sia come bilanciamento tra gli ioni che come approvvigionamento di quelli meno facilmente disponibili, quali il fosfato (Graham, 1986). Altri Autori mettono in luce come i funghi VAM possano incrementare la resistenza alla salinità influenzando l'equilibrio ormonale della pianta (Danneberg *et al.*, 1992) o incrementandone l'uptake idrico (Ruiz-Lozano & Azcon, 1995).

Sono state inoltre fornite prove a favore dell'ipotesi che siano coinvolti in questo fenomeno anche meccanismi di accumulo di prolina (Azcon *et al.*, 1996) e di aumento della fotosintesi e dei parametri associati (Augè & Stodola, 1990). L'accumulo di prolina, in particolare, rappresenta una delle più note risposte di tolleranza delle piante agli stress idrici e salini: tramite l'accumulo nel citoplasma di soluti a basso peso molecolare (quali appunto la prolina) la pianta riduce infatti il suo potenziale osmotico, mantenendo così inalterata la capacità di suzione in situazioni nelle quali la soluzione circolante del terreno risulterebbe altrimenti troppo concentrata (Paleg *et al.*, 1984).

Numerosi esperimenti mostrano come piante inoculate con funghi del genere *Glomus* subiscano, all'aumentare della salinità, diminuzioni di crescita, rese e qualità sensibilmente più modeste rispetto alle piante non inoculate. Rosendahl & Rosendahl, (1991) dimostrarono come in cetriolo l'infezione micorrizica riducesse significativamente il grado di appassimento fogliare quando le radici delle piante erano immerse temporaneamente in soluzioni ad alta salinità; Al-Karaki & Hammad, (2001) rilevarono incrementi di oltre il 40% nelle rese di piante di pomodoro micorrizzate allevate in condizioni di salinità, rispetto al controllo. Cantrell & Linderman (2001), hanno osservato come l'inoculo micorrizico in condizioni di salinità producesse cipolle di maggior calibro e piante di lattuga con maggior biomassa radicale e un più alto contenuto di clorofilla nelle foglie; Yano-Melo *et al.* (2003) registrarono incrementi sino all'83% nella produzione di biomassa secca di radici e foglie di banana.

E' evidente che nella strategia per limitare lo stress salino, gioca un ruolo importante la scelta del ceppo fungino che si impiega. Benché queste simbiosi siano in genere altamente aspecifiche, è infatti probabile che le singole specie agrarie possano trarre maggior beneficio dall'infezione con ceppi diversi di funghi VAM. Inoltre non sono rari i casi in cui la salinità del terreno limiti lo sviluppo dell'infezione (Pande & Tarafdar, 2002; Gupta & Rautaray, 2005). A tal proposito, presentano una efficienza maggiore ceppi fungini provenienti da suoli naturalmente salini: Copeman *et al.* (1996), confrontando su pomodoro ceppi del genere *Glomus* provenienti da suoli salini e non salini, hanno evidenziato come i primi inibissero

maggiormente l'accumulo di Cl nei tessuti.

III. 1. 5 – Scopo del lavoro

Scopo del presente lavoro è stato quello di indagare gli effetti della micorrizazione sulla capacità di tolleranza allo stress salino di una tipica pianta ortiva, la *Lactuca sativa* L., sì da mettere in luce l'eventuale utilità della tecnica dell'infezione con VAM al fine di una sua utilizzazione in una orticoltura sostenibile.

III. 2 - MATERIALI E METODI

III. 2. 1 – Condizioni sperimentali

La prova è stata condotta in una serra ferro-vetro situata presso il Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, sez. Orticoltura, dell'Università di Pisa. La serra non era riscaldata, e la luce naturale non è stata supplementata con lampade.

La specie impiegata è stata *Lactuca sativa* L., cv. “Meraviglia d’Inverno”, ed è stata scelta per la rapidità del ciclo biologico e per la facilità a subire l'infezione da parte di funghi micorrizici, come riscontrato in letteratura (Ruiz Lozano *et al.*, 1996); si è optato per una varietà a ciclo invernale, perché adatta al periodo in cui si è condotta la sperimentazione.

I semi, non confettati per evitare eventuali interferenze di prodotti biocidi con l'inoculo micorrizico, sono stati posti a germinare in contenitori alveolati riempiti con sola torba bionda per il controllo, e con torba mescolata a inoculo micorrizico crudo per il trattato.

I contenitori alveolati non sono stati irrigati manualmente, ma mantenuti in *floating* in vasche di plastica della capacità di 65 l riempite con acqua di fonte costantemente ossigenata.

Come inoculo si è impiegato il prodotto commerciale Micosat®, miscela dei ceppi *Glomus mosseae*, *G.coronatum* e *G.intraradices*, fornito dalla ditta CCS (Aosta). In entrambe le tesi il terriccio è stato corretto con CaCO₃, nella misura di 6g per ogni 2,5 l.

III. 2. 2 – Prova preliminare d'infezione

E' stata condotta una prova preliminare d'infezione per testare la vitalità dell'inoculo: i semi sono stati fatti germinare in substrati contenenti concentrazioni in volume di inoculo

pari allo 0%, 10%, 20% e 30%, e successivamente le radici analizzate per stimare il tasso d'infezione. L'analisi è stata condotta seguendo il protocollo di Phillips & Hayman (1970) per colorare le radici, e il “*gridline intersect method*”, introdotto da Giovannetti & Mosse (1980), per la stima del tasso d'infezione. Il test effettuato ha mostrato come il grado di infezione sia risultato significativo in tutte le piante inoculate e cresciute in condizioni saline, con livelli decrescenti all'aumentare della salinità del mezzo (Fig.1).

Colorazione delle radici

La tecnica per la colorazione delle radici prevede la loro incubazione per 10 minuti in soluzione di idrossido di potassio (KOH) al 10%, alla temperatura di 100°C, il successivo lavaggio con acqua e la loro collocazione per 20 minuti in HCl al 2%, a temperatura ambiente. Questi passaggi sono essenziali alla loro preliminare decolorazione. Successivamente vengono incubate per 15 minuti nella soluzione colorante, costituita da acqua, acido lattico e glicerolo in rapporto 1/1/1 v/v/v, con l'aggiunta di 0,1% *tripan blue*. La soluzione colorante è tenuta costantemente a temperatura di ebollizione. Infine le radici vengono sciacquate e sono pronte per l'osservazione; nel caso sia necessario conservarle per successive indagini, si possono mantenere in una soluzione di acqua distillata e glicerina 2/1, v/v, con l'aggiunta di due gocce di Sodio azide allo 0,1%.

Valutazione del livello d'infezione

La valutazione del livello di infezione viene effettuata, come accennato, tramite il “*gridline intersect method*”. Il campione di radici colorate, immerse in acido lattico o nella miscela di acqua:glicerina 2:1, viene posto in una capsula Petri sulla quale è stata in precedenza incisa una griglia di quadretti di un centimetro di lato. Si osserva il campione al binoculare, e si prende nota del numero di intersezioni della griglia che incontrano una porzione colorata della radice, cosicché se, per esempio, su 100 intersezioni con le radici 40 interessano porzioni colorate, il livello d'infezione è stimato pari al 40%.

È importante che le radici non siano numerose, perché altrimenti il conteggio può essere falsato dalla densità eccessiva. In generale la quantità ideale di campione va da 1 a 5 grammi, ed è preferibile utilizzare il coperchio della capsula Petri, lievemente più ampio.

Per ottenere dati più significativi è necessario ripetere tre volte l'osservazione sullo stesso campione, ogni volta “riarrangiato” sulla capsula Petri.

Se l'osservazione viene effettuata rispettando le suddette condizioni, è possibile mettere in relazione il numero totale di intersezioni con la lunghezza totale del campione di radici presente nella capsula. Il calcolo è basato sulla formula di Newman (1966):

$$R = \pi A n / 2H$$

dove

R = lunghezza totale delle radici

A = area della capsula Petri

N = numero totale di intersezioni tra radici e linee

H = lunghezza totale delle linee

Questa formula può fornire una valida stima della lunghezza complessiva del campione di radici. E' infatti sufficiente rapportare l'equazione al peso fresco del campione esaminato, e da esso inferire la lunghezza totale dell'apparato radicale del soggetto.

III. 2. 3 – Schema della prova

Una volta dimostrata la vitalità dell'inoculo, si è passati alla prova vera e propria, confrontando lo sviluppo di piantine inoculate e non, in condizioni saline, secondo le seguenti tesi:

- piante non inoculate irrigate con acqua contenente 0 g/l NaCl
- piante inoculate irrigate con acqua contenente 0 g/l NaCl
- piante non inoculate irrigate con acqua contenente 1,5 g/l NaCl
- piante inoculate irrigate con acqua contenente 1,5 g/l NaCl
- piante non inoculate irrigate con acqua contenente 3 g/l NaCl
- piante inoculate irrigate con acqua contenente 3 g/l NaCl

L'inoculo è stato effettuato in contenitori alveolati di volume pari a 10 cm³ ciascuno, aggiungendo al substrato il 10% in volume di inoculo crudo.

A distanza di un mese dalla semina, le piantine sono state trapiantate in vasi del diametro di 16 cm, utilizzando come substrato torba opportunamente concimata.

Lo schema sperimentale adottato è stato quello a blocco randomizzato, con 6 vasi per ogni tesi, replicati 3 volte.

A un mese dal trapianto si è iniziato a praticare la fertirrigazione, nella misura di 1g/l di concime solubile 20/20/20.

III. 2. 4 – Rilievi

In concomitanza con l'inizio della fertirrigazione sono stati effettuati dei campionamenti delle piante in crescita, per un totale di tre, ripetuti con intervallo di una settimana, con il prelievo di 6 piante per ciascuna tesi. Delle piante prelevate si sono misurati i pesi freschi e secchi di foglie e radici; all'ultimo campionamento si è inoltre proceduto alla misura dell'area fogliare.

E' inoltre stato determinato il contenuto in clorofilla con clorofillometro portatile, a inizio (12 giorni dalla data del trapianto) e a fine prova, subito prima del terzo campionamento, sulle piante residue.

Sono stati anche rilevati CE e pH dell'acqua di irrigazione e del substrato a fine prova.

Il materiale vegetale raccolto nei vari campionamenti è stato seccato e macinato, per destinarlo alle successive analisi chimiche; una porzione di radici di ogni pianta è stata inoltre sottoposta ad esame del grado d'infezione.

Il contenuto in Na, Ca, K (digestione nitroperclorica e fotometria a fiamma), Cl (metodo Zall *et al.*, 1956) e P (metodo Morgan), è stato misurato in foglie e radici delle piante sottoposte ai vari trattamenti.

III. 3 – RISULTATI

III. 3. 1 – Crescita

In tutte le tesi si è riscontrato un costante aumento della parte epigea della pianta (g cespo/pianta) nel corso dei tre campionamenti (Fig.2), con massimi valori per le tesi non saline. In particolare, al terzo campionamento, le produzioni delle piante allevate senza inoculo hanno superato quelle della lattuga infettata.

I trattamenti salini (1,5 e 3 g NaCl/l) hanno in media presentato rese inferiori a quelle della lattuga allevata in condizioni non saline, come previsto. Tra i trattamenti salini, al primo campionamento, la produzione massima si è riscontrata nelle piante allevate a salinità lieve e col supporto dell'inoculo micorrizico, mentre la minima è stata registrata alle salinità più alte senza inoculo. La situazione è risultata diversa a fine ciclo, con livelli di produzione simili in tutte le tesi saline a confronto.

Il contenuto in sostanza secca della parte aerea delle piante analizzate ha mostrato in

generale un trend di crescita nel corso dei tre campionamenti (Fig.3); i massimi valori di % s.s. si sono avuti nelle due tesi saline senza inoculo micorrizico, mentre le piante infettate irrigate in assenza di salinità mostravano i valori più bassi.

Per quanto riguarda la produzione di biomassa fresca radicale, i risultati hanno mostrato un trend simile a quello della parte epigea (Fig.4). I livelli più alti si sono riscontrati nelle tesi non saline, nonché nella tesi a salinità lieve senza inoculo micorrizico. Questa situazione si è presentata in maniera molto marcata particolarmente in corrispondenza dell'ultimo rilievo, mostrando la crescita maggiore. I valori più bassi sono stati in media quelli ottenuti nelle tesi ad alta salinità, analogamente a quanto visto a proposito della porzione aerea.

Il contenuto in sostanza secca delle radici ha mostrato un aumento dal primo al terzo campionamento in tutte le tesi (Fig.5). I massimi valori, a fine prova, si sono riscontrati nei trattamenti alla salinità più elevata.

III. 3. 2 – Contenuto in clorofilla

Il contenuto in clorofilla (valutato in gradi Spad tramite l'uso di clorofillometro da campo), risultato simile in tutte e sei le tesi a inizio prova, si è poi differenziato significativamente con la crescita delle piante (Fig.6). La discriminante principale è risultata essere il trattamento di irrigazione effettuato, con valori crescenti all'aumento della salinità. Il contenuto più alto in clorofilla è stato registrato nella tesi che prevedeva irrigazione con acqua contenente 3 g/l di NaCl in presenza di inoculo, il più basso per acqua in assenza di NaCl e di inoculo.

III. 3. 3 – Area fogliare

In generale si nota come l'area fogliare tenda a diminuire all'incremento dei carichi salini (Fig.7). Inoltre, a parità della qualità dell'acqua d'irrigazione, le piante non micorrizzate presentano aree fogliari maggiori di quelle infettate.

III. 3. 4 –CE e pH del substrato

La conducibilità del substrato a fine prova è risultata proporzionale all'entità del carico salino somministrato (Fig.8), e per ogni singolo trattamento d'irrigazione ha raggiunto valori più alti allorché le piante non erano state infettate con l'inoculo. Il pH del substrato a fine prova non ha presentato significative differenze tra diverse salinità e presenza o assenza di inoculo (Tab.1).

III. 3. 5 – Contenuto in Na, Cl, K, Ca nei tessuti delle piante

Come si può rilevare dalla Fig.9, le concentrazioni del Na hanno mostrato una tendenza all'aumento nelle foglie al crescere del carico della salinità, come era atteso, ma nelle radici delle piante trattate con la salinità massima si è osservato una certa flessione rispetto a 1,5 g NaCl/l. Inoltre le piante sottoposte a inoculo micorrizico hanno mostrato mediamente minori concentrazioni di Na sia nelle foglie che nelle radici, rispetto alle piante non infettate. La concentrazione del Cl nei tessuti ha mostrato meno sensibilità all'entità del carico salino, ma si è mantenuta comunque minore nelle piante infettate.

I livelli di K, antagonista del Na, sono risultati ridotti dai trattamenti salini; l'infezione con inoculo micorrizico ha consentito livelli sensibilmente più alti di K nelle foglie di piante sottoposte a stress salino. Il Ca ha presentato un andamento simile a quello del K, mostrando concentrazioni inferiori nelle piante inoculate rispetto a quelle non infette, ad eccezione che nelle foglie delle piante sottoposte al grado maggiore di salinità.

III. 3. 6 – Grafici e Tabelle

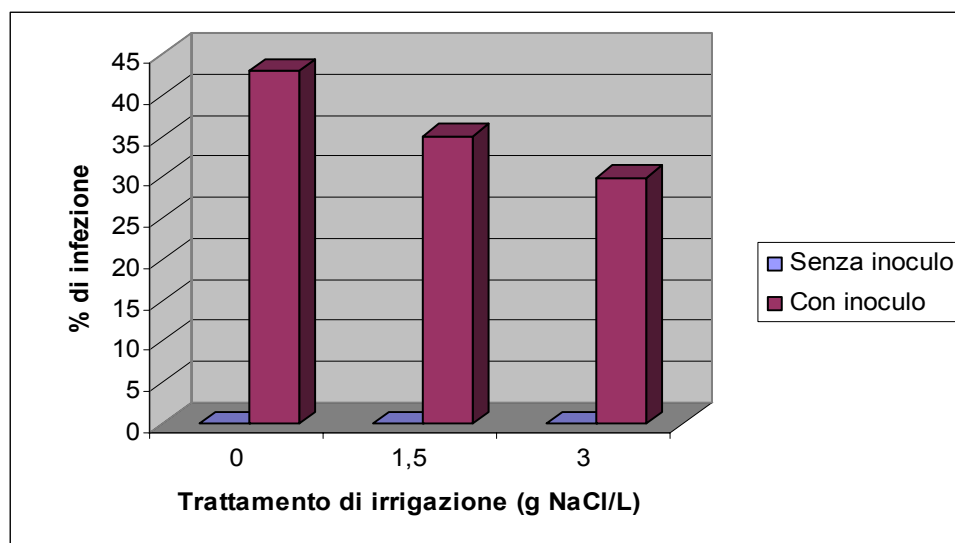


Fig.1 – Tasso d’infezione delle radici (espresso in percentuale, sulla base del “gridline intersect method”, Giovanetti & Mosse, 1980) per la prova preliminare d’infezione.

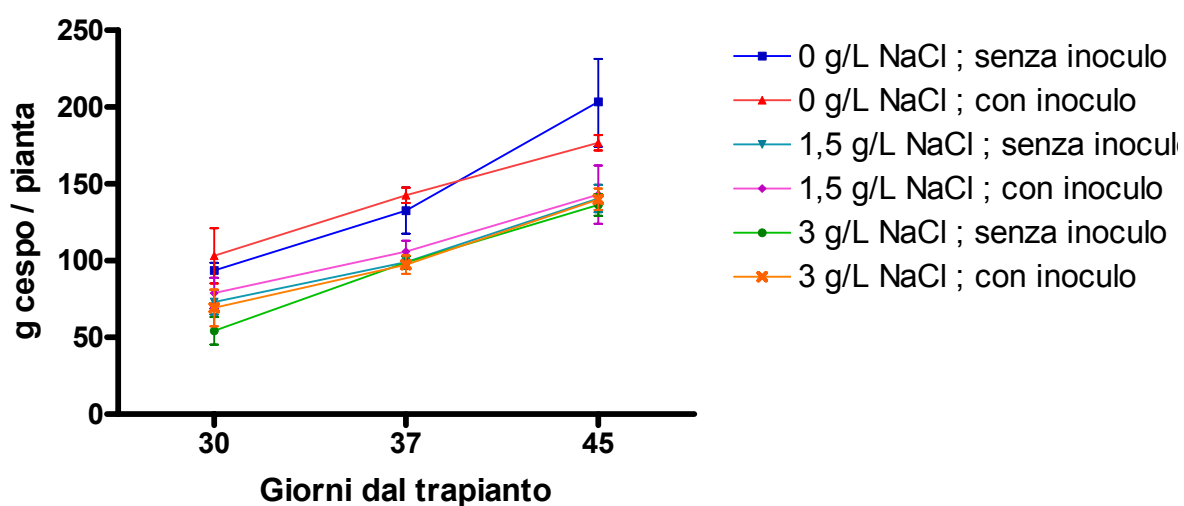


Fig.2 – Produzione di biomassa fresca della parte aerea delle piante di lattuga nei diversi trattamenti nei tre campionamenti.

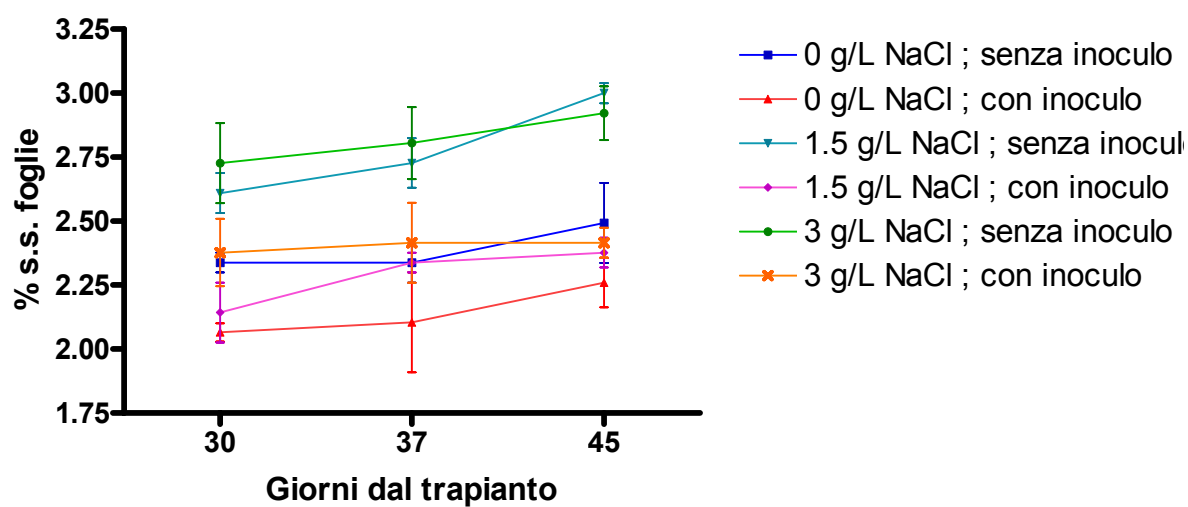


Fig.3 – Contenuto in sostanza secca della parte aerea delle piante di lattuga nei diversi trattamenti nei tre campionamenti.

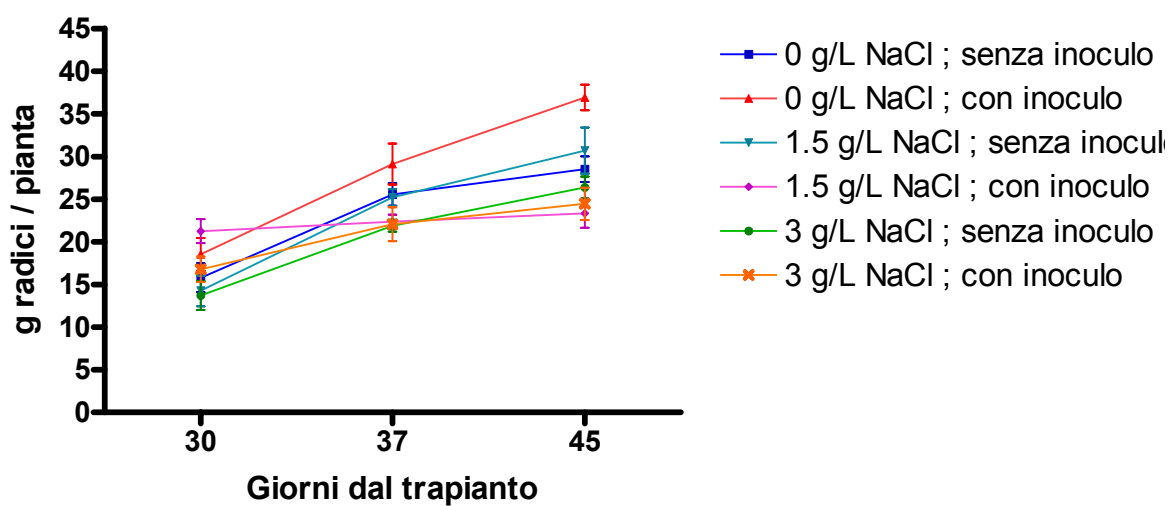


Fig.4 – Produzione di biomassa fresca della parte ipogea delle piante di lattuga nei diversi trattamenti nei tre campionamenti.

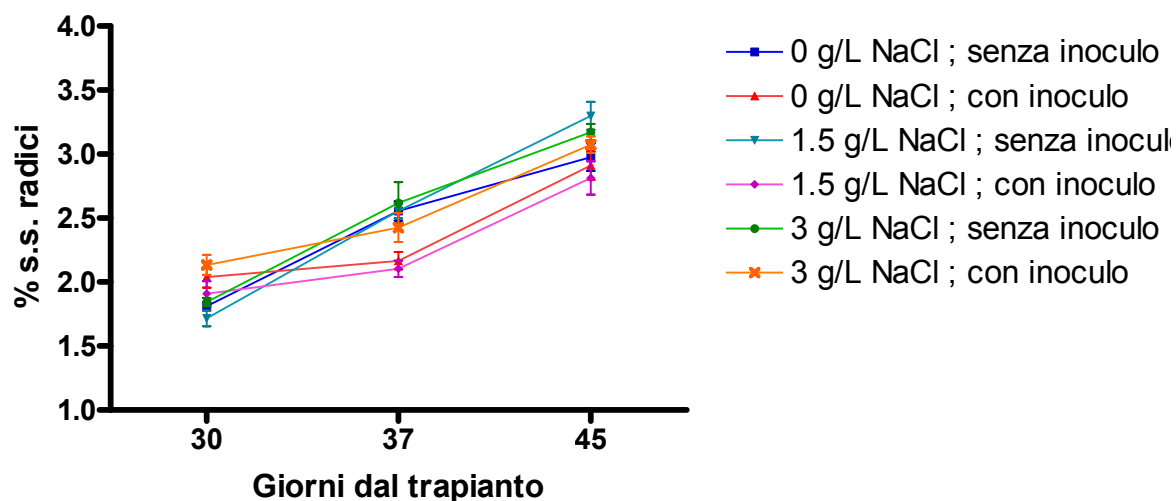
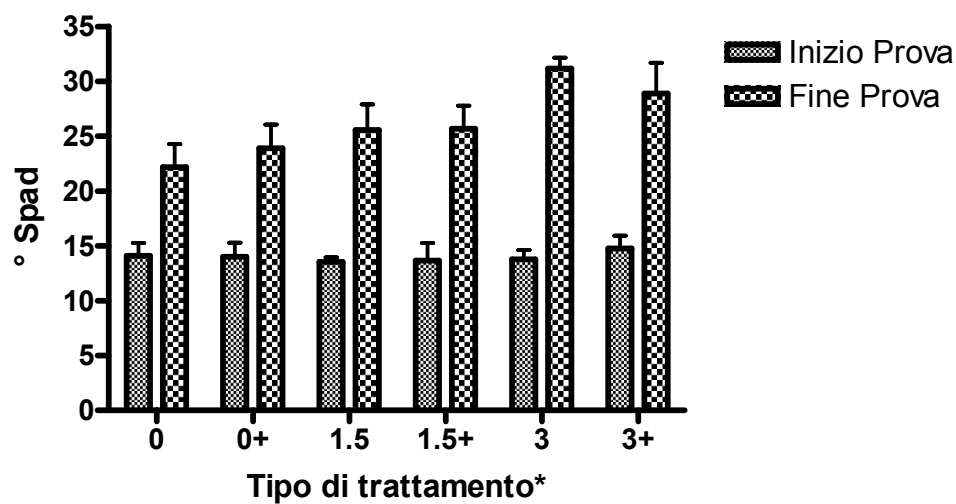


Fig.5 – Contenuto in sostanza secca della parte ipogea delle piante di lattuga nei diversi trattamenti nei tre campionamenti.



* : il numero si riferisce alla concentrazione di NaCl (g/l) nell'acqua d'irrigazione; il + e - indicano, rispettivamente, la presenza o assenza di inoculo.

Fig.6 – Contenuto in clorofilla (espresso in °Spad) delle piante di lattuga nei diversi trattamenti, al momento dell'invasatura e a fine prova.

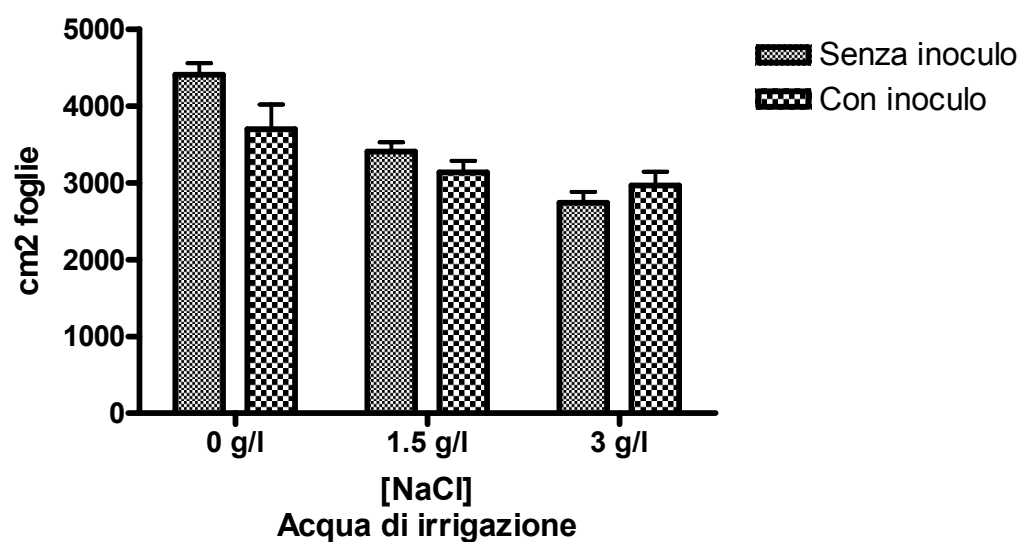


Fig.7 – Valori dell’area fogliare totale delle piante di lattuga allevate con e senza inoculo micorrizico, a diversi gradi di salinità dell’acqua di irrigazione, a fine prova.

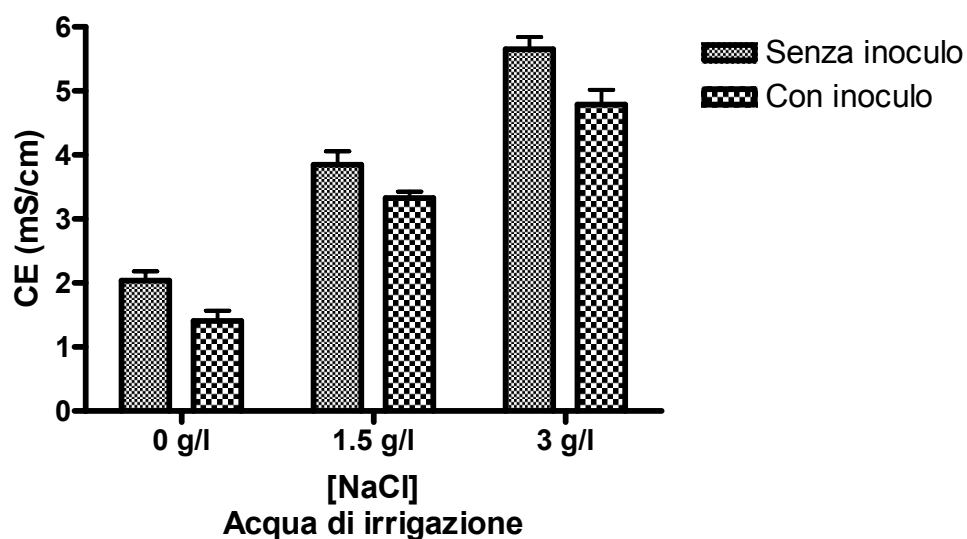


Fig.8 – Conducibilità elettrica (CE) dell’estratto saturo del substrato a fine prova.

Contenuto di NaCl nell'acqua di irr.	pH	
	Trattamento d'infezione	
[NaCl]	Senza inoculo	Con inoculo
0 g/l	6,32a*	6,37a
1,5 g/l	6,32a	6,29a
3 g/l	6,29a	6,38a

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla stessa lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.1 – pH del substrato a fine prova.

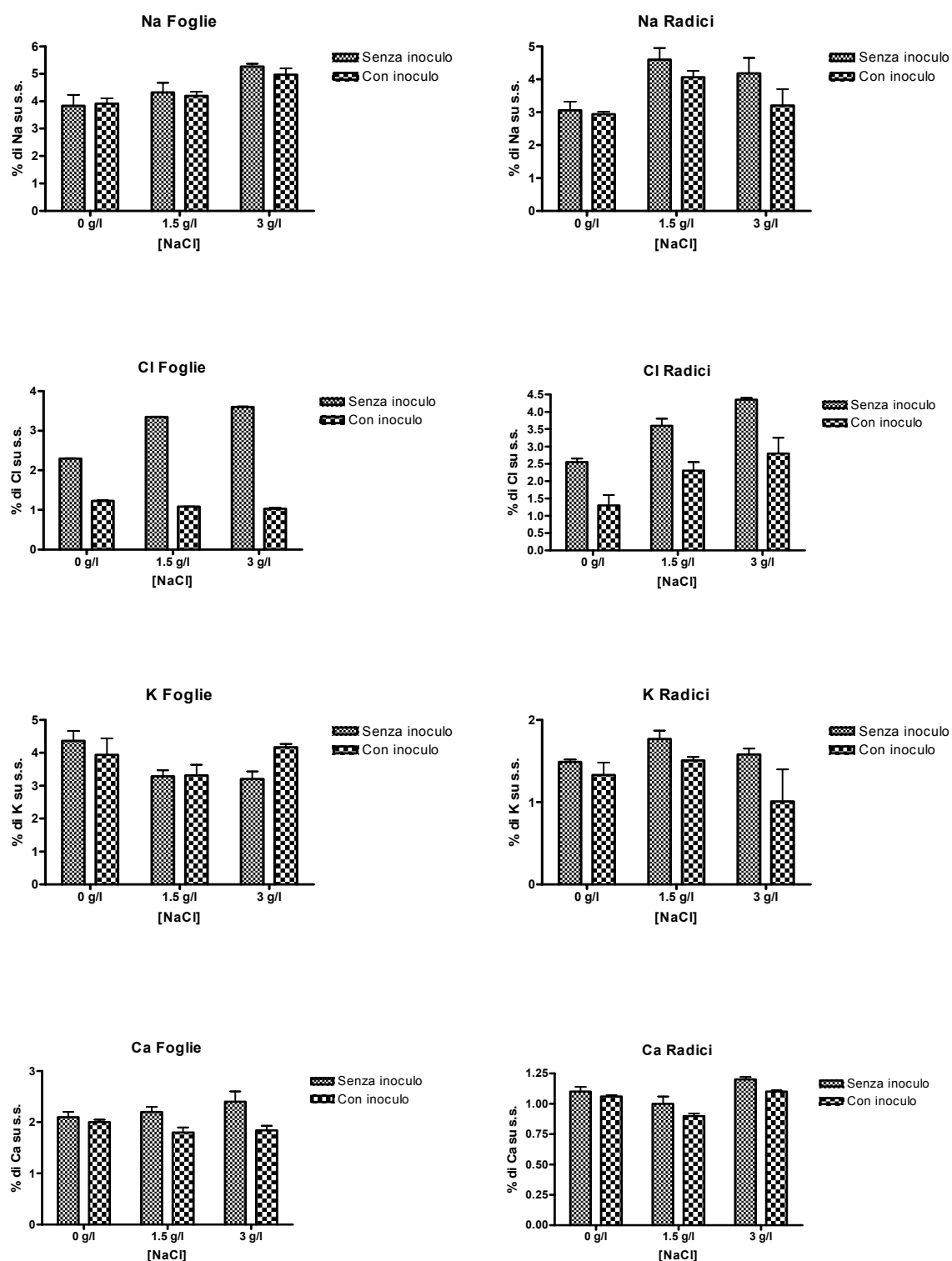


Fig.9 – Contenuto in macroelementi nella sostanza secca (s.s.) dei tessuti delle piante di lattuga allevate con o senza inoculo micorrizico, irrigate con acqua a diverse concentrazioni di NaCl.

III. 4 – DISCUSSIONE

In generale il diverso livello di salinità dell'acqua di irrigazione si è dimostrato essere una discriminante più forte della presenza o meno dell'inoculo, in relazione alla produzione. Infatti gli effetti negativi indotti dallo stress salino in termini di crescita, produzione e stato fisiologico della pianta si sono rivelati maggiori dei benefici apportati dalla micorrizzazione.

L'inoculo micorrizico sembra dare risultati significativi, in termini di miglioramento della produzione, solo ad alti livelli di salinità. Questo fenomeno è chiaramente riscontrabile anche nell'istogramma delle aree fogliari. La letteratura offre altri esempi in cui per avere un effetto rilevante da parte della micorrizzazione è necessario sottoporre la pianta a carichi salini elevati. Mohammad *et al.* (2003) hanno dimostrato, per esempio, come l'impiego di inoculo di *G.intraradices* su *Hordeum vulgare* iniziasse ad essere conveniente a partire da livelli di conducibilità elettrica dell'estratto saturo del terreno pari a 16,6 dS/m.

Anche il contenuto in clorofilla è dipeso chiaramente dal carico salino impiegato, pur risultando maggiore nelle piante inoculate rispetto a quelle non infette. Ne deriva che una pianta sottoposta a stress salino non sembra in grado di raggiungere, benché supportata dalla presenza di inoculo micorrizico, valori di capacità fotosintetica (stimata dal contenuto in clorofilla) pari a quelli di una pianta irrigata con acqua dolce, e pertanto le micorrize non risultano in grado di arginare completamente l'effetto negativo della salinità. Purtroppo esse garantiscono produzioni maggiori del controllo per ogni livello di salinità.

Si è riscontrato inoltre come l'inoculo micorrizico abbia consentito alla pianta di limitare l'ingresso degli ioni Na e Cl, consentendo inoltre un maggiore assorbimento di K, come riportato in letteratura (Al Karaki & Hammad, 2001). La riduzione del contenuto di Na e Cl nei tessuti è una nota strategia di resistenza alla salinità delle piante ritenute tolleranti (Greenway & Munns, 1980), e che, nella prova, si è dimostrata accentuata dalla presenza dei funghi micorrizici.

L'incremento nel contenuto in P nelle foglie indotto dalle micorrize concorda con quanto riportato in letteratura (Giri & Mukerji, 2004) e fornisce una prova di un migliore e più equilibrato uptake dei nutrienti minerali, permesso probabilmente anche dalla solubilizzazione del P operata dai funghi VAM. Il suo minore contenuto nelle radici delle piante infette può essere eventualmente spiegato con un'induzione della sua traslocazione verso i tessuti aerei operata dai funghi micorrizici.

In definitiva, possiamo concludere come l'inoculo di funghi micorrizici possa costituire un

valido strumento per la riduzione dello stress salino nelle piante ortive, a patto che venga utilizzato prevalentemente quando i carichi salini sono elevati. A basse salinità, infatti, gli effetti sulle rese non sono rilevanti e l'impiego di inoculo potrebbe non più costituire una scelta economicamente conveniente. Quella della micorrizzazione è una tecnica che può dare i migliori risultati se applicata in associazione con altre strategie di riduzione dello stress salino: questo fa sì che non possa essere considerata risolutiva, ma la sua economicità e semplicità di attuazione la rendono facilmente applicabile. L'azione piuttosto blanda esercitata dai funghi micorrizici in questa prova può essere probabilmente dovuta all'impiego di un prodotto commerciale, il cui uso avviene di solito contemporaneamente a quello di fertilizzanti e stimolatori di crescita. Potrebbe essere a tal proposito interessante condurre altre prove impiegando ceppi di funghi micorrizici in purezza, in modo da verificare un'eventuale maggiore loro efficacia e mettere in luce differenze di comportamento tra le varie specie.

IV - INFEZIONE CON INOCULO MICORRIZICO: PARTE II

IV. 1 – INTRODUZIONE

In questa ricerca si è studiato l'effetto congiunto della micorrizzazione e della fertilizzazione (bassa e “di lusso”) su piante di basilico sottoposte a stress salino. L'esperimento costituisce una continuazione e un'integrazione della precedente prova su lattuga.

IV. 1. 1 – Impiego di diversi livelli di fertilizzazione

In questo esperimento viene introdotta la componente relativa alla fertilizzazione, studiata in rapporto alla presenza o meno di micorrize. Ciò è stato ritenuto opportuno in base ai risultati della prova precedente, che aveva mostrato come un'adeguata concimazione in copertura determinasse una riduzione dello stress salino.

Sono numerosi in letteratura i lavori che comparano l'effetto della fertilizzazione (nella maggior parte dei casi specificamente fosfatica) e dell'inoculo micorrizico in modo disgiunto nell'indurre resistenza allo stress salino (Azcon & El Atrash, 1997; Cantrell & Linderman, 2001; Mohammad *et al.*, 2003).

Sono tuttavia più rare le ricerche in cui l'attenzione si è focalizzata sulle interazioni intercorrenti tra fertilizzazione e inoculo micorrizico in relazione a una condizione di stress (Nelsen & Safir, 1982; Kandil, 1997), e nella maggior parte dei casi ci si limita a dimostrare come la presenza di infezione micorrizica migliori l'uptake di fosfato da parte della pianta (Smith & Gianinazzi, 1988; Mohammad *et al.*, 2003). Può essere interessante quindi studiare come, in condizioni di stress salino, l'infezione da funghi micorrizici e l'apporto di fertilizzanti alla coltura possano influenzarsi reciprocamente, con effetti che possono rivelarsi sinergici o, al contrario, di limitazione. Di conseguenza, in questa prova si è deciso di confrontare l'effetto di due diversi livelli di fertilizzazione, in presenza o meno di micorrize in piante allevate in condizioni di stress salino.

IV. 1. 2 – Efficienza fotochimica

In questa prova è stato inoltre adottato un nuovo parametro, l'efficienza fotochimica, per valutare le condizioni fisiologiche della pianta, e quindi per stimare l'incidenza dello stress salino su di essa e l'efficacia delle strategie adottate per indurre la tolleranza.

La valutazione della fluorescenza emessa dalle foglie sottoposte a luce attinica è un metodo

per giudicare lo stato fisiologico della pianta e valutare l'efficienza fotochimica.

Quando una molecola di clorofilla, presente nelle membrane, assorbe un fotone, passa ad uno stato eccitato instabile e va incontro ad una serie di processi che terminano quando la molecola del pigmento torna nuovamente al suo stato di stabilità (Fig.1).

L'assorbimento di luce blu porta la molecola di clorofilla ad uno stato di eccitazione superiore all'assorbimento di luce rossa. In questo stato di eccitazione superiore (stato di singoletto) la molecola di clorofilla è estremamente instabile ed emette parte della sua energia sotto forma di radiazione termica, passando quindi ad uno stato di eccitazione minore dove riesce ad essere stabile per alcuni nanosecondi.

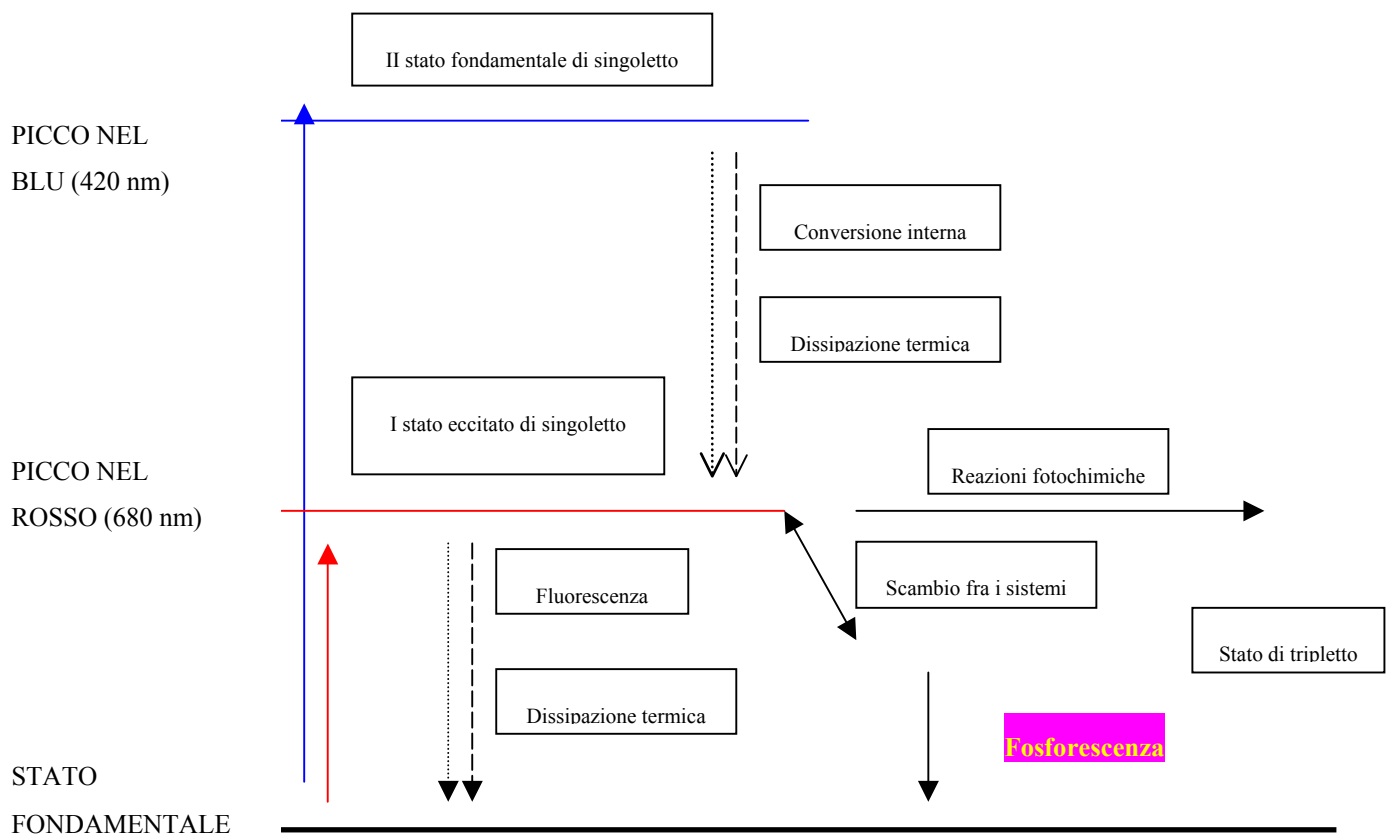


Fig. 1: Modello semplificato dell'assorbimento della luce e della dissipazione dell'energia da parte dei pigmenti fotosintetici.

Da questo stato di eccitazione il pigmento di clorofilla può tornare a quello di stabilità, emettendo l'energia assorbita attraverso:

- fluorescenza,
- radiazione termica,
- trasferimento di energia ad altre molecole fino al centro di reazione, innescando il processo fotochimico.

La quantità di energia riemessa per fluorescenza (F) dipende dall'intensità della luce assorbita (I_A) e dal rapporto tra la costante di velocità del decadimento per fluorescenza (K_F) e la sommatoria delle costanti di velocità di tutti i decadimenti (fluorescenza K_F , decadimento termico K_D e processo fotochimico K_P):

$$F = I_A \times K_F / [K_F + K_D + K_P (P)]$$

F = quantità di energia riemessa per fluorescenza

I_A = intensità della luce assorbita

K_F = costante di velocità del decadimento per fluorescenza

K_D = costante di velocità del decadimento termico

K_P = costante di velocità del processo fotochimico

P = concentrazione degli accettori primari disponibili

Il rendimento della fluorescenza (Φ_F) può essere quindi così espresso:

$$\Phi_F = F / I_A = K_F / [K_F + K_D + K_P (P)]$$

P è compreso tra 0 e 1;

quando:

P = 1, tutti i centri di reazione sono ossidati (centri aperti), quindi $K_P > K_F$, e l'energia di eccitazione viene utilizzata per il processo fotochimico. In questa condizione la fluorescenza sarà minima.

$$\Phi_{F0} = K_F / (K_F + K_D + K_P)$$

Φ_{F0} = rendimento minimo dell'emissione di fluorescenza

P = 0, tutti i centri di reazione sono ridotti (centri chiusi). La de-eccitazione della clorofilla, in questa condizione avviene per fluorescenza e radiazione termica, e in questo caso il rendimento della fluorescenza sarà massimo (Φ_{Fm}):

$$\Phi_{Fm} = K_F / (K_F + K_D)$$

Il rendimento del processo fotochimico (Φ_P) sarà quindi dato dall'equazione:

$$\Phi_P = K_P / (K_F + K_D + K_P) = \Phi_{Fm} - \Phi_{Fo} / \Phi_{Fm}$$

da questa si ottiene:

$$\Phi_P = (Fm - Fo) / Fm$$

Questo rapporto indica l'efficienza fotochimica massima. La misura della fluorescenza emessa dalla clorofilla rappresenta un valido metodo per valutare gli eventi fotosintetici e giudicare gli stress fisiologici a cui è sottoposta la pianta. Le misure di fluorescenza valutano l'emissione del PSII, che è il solo che si de-eccita attraverso l'emissione di fluorescenza, in quanto il PSI decade principalmente mediante radiazione termica.

Il transiente della fluorescenza

Illuminando un tessuto fotosintetico adattato al buio e misurando l'intensità dell'emissione di fluorescenza della clorofilla si osservano variazioni caratteristiche che dipendono dal tempo. Questo fenomeno è conosciuto come **transiente della fluorescenza** o effetto Kautsky (Cao & Govindjee, 1990).

Il transiente della fluorescenza può essere diviso in due fasi:

- rapido aumento dell'intensità della fluorescenza da un livello iniziale, F_o , ad un livello di intensità massima, F_m ;
- diminuzione dell'emissione della fluorescenza fino ad un livello più basso di equilibrio, che generalmente si approssima a F_o .

Questo andamento si osserva quando il tessuto fotosintetico, utilizzato per le misure di fluorescenza, viene adattato al buio per un periodo di 30 minuti, prima di essere illuminato. In questo modo tutti i centri di reazione del fotosistema sono ossidati (centri aperti); quindi la fluorescenza iniziale misurata (nei primi nanosecondi di illuminazione), F_o , corrisponde alla fluorescenza emessa quando tutto il PSII, in pratica il plastochinone Q_a , si trova allo stato ossidato.

Un incremento di F_o , determinato da un qualsiasi stress, come l'alta intensità luminosa o una bassa temperatura (Maxwell & Johnson, 2000), è stato attribuito ad una separazione del centro di reazione PSII dai pigmenti antenna associati, causando un blocco di trasferimento di energia allo stesso (Srivastava *et al.*, 1997).

La fluorescenza massima (F_m) si raggiunge quando tutti i centri sono ridotti (centri chiusi); in questo caso l'energia non viene utilizzata per il processo fotochimico. E' generalmente accettato che la fluorescenza massima, F_m , esprima lo stato del PSII quando tutte le

molecole Qa (Quinone a) sono allo stato ridotto (Srivastava *et al.*, 1997; Lazar, 1999).

La riduzione di Qa e la chiusura dei centri di reazione può essere espressa dalla fluorescenza variabile: $F_v = F_m - F_o$

Misurare le cinetiche di fluorescenza e stimare i parametri F_o , F_m , il rapporto F_v/F_m è un importante metodo per valutare l'attività e l'efficienza fotochimica di una pianta in condizioni normali e dopo trattamenti fotoinibitori (Srivastava *et al.*, 1997; Strasser & Govindjee, 1992; Carrasco-Rodriguez *et al.*, 2001). In condizioni fisiologiche normali il valore di F_v/F_m è pari a circa 0,83: questo indica che la probabilità massima di un fotone assorbito di essere convertito fotochimicamente è dell'83%. Più questo rapporto è basso minore è tale probabilità:

$$F_v / F_m = K_p / K_D + K_F + K_P = \Phi_P$$

Il transiente della fluorescenza nella nostra prova è stato misurato utilizzando il PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech); questo strumento è in grado di misurare l'emissione della fluorescenza determinata da diverse intensità di luce (fino a 3000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ sec}$) in tempi diversi (da 40 μsec a 120 sec).

In una foglia normale si osserva una curva di induzione della fluorescenza (Fig.1) che ha un andamento polifasico nel tempo (Cao & Govindjee, 1990; Strasser *et al.*, 1995).

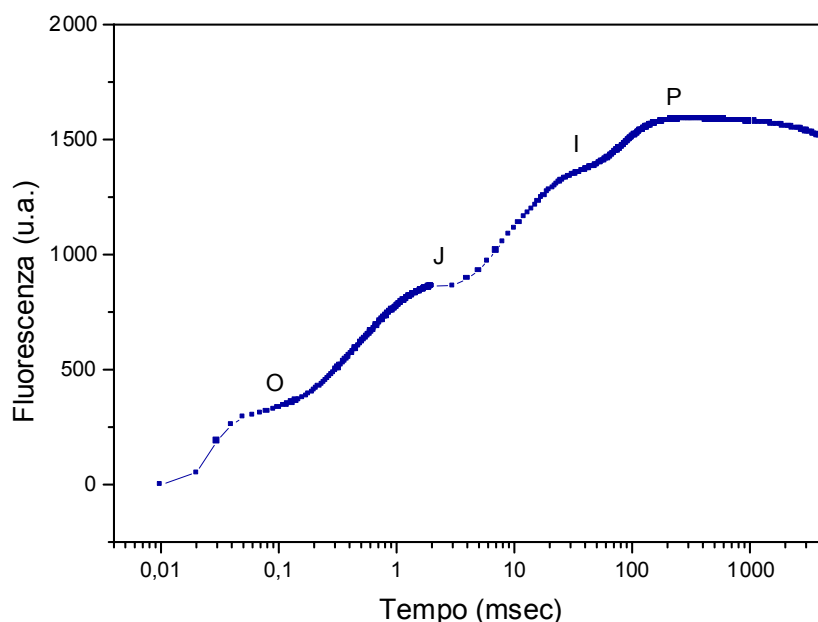


Fig.1 - Curva di induzione della fluorescenza nel tempo, espresso in scala logaritmica

La fase O-J è dovuta alla prima riduzione fotochimica di Qa a Qa-, mentre le transizioni J-I

e I-P potrebbero corrispondere ai vari livelli di riduzione di Qa e Qb; il livello P viene raggiunto quando tutte le molecole di plastochinone (PQ) sono in forma ridotta (PQH₂) (Strasser *et al.*, 1995).

La fotosintesi rappresenta il processo principale dello stato fisiologico di una pianta, e la curva di induzione della fluorescenza è una misura facilmente acquisibile che permette rapide stime dell'efficienza fotochimica in piante esposte a vari trattamenti che inducono fotoinibizione. La curva di induzione della fluorescenza cambia in relazione a diverse condizioni ambientali, come l'intensità luminosa, la temperatura, la siccità e influenze di sostanze chimiche (Strasser & Strasser, 1995).

IV. 1. 3 – Impiego di un singolo ceppo di fungo micorrizico

Infine nella presente prova si è deciso di adottare per l'infezione un singolo ceppo di fungo micorrizico, il *Glomus intraradices*, a differenza della prova precedente su lattuga, dove era stata impiegata una miscela di *Glomus mosseae*, *G.coronatum* e *G.intraradices*. Motivo di questa scelta è stata quella di studiare specificamente il comportamento di una singola specie di fungo micorrizico, in modo da dimostrare l'eventuale sua efficacia nel limitare lo stress salino. Infatti, negli esperimenti in cui viene impiegata una miscela di specie diverse, risulta poi difficile stabilire in quale misura i diversi microrganismi coinvolti possano avere contribuito all'effetto finale, lasciando il dubbio sulla reale efficacia di ciascuno di loro.

La scelta del *Glomus intraradices* è stata dettata dalla sua reperibilità in purezza, e dalla presenza in letteratura di diverse prove a favore della sua efficacia nel conferire alla pianta una maggior resistenza agli stress biotici e abiotici. *G.intraradices* è stato dimostrato incrementare la resistenza al piombo (Rydlova & Vosatka, 2003), migliorare le rese in condizioni di carenza nutrizionale fosfatica (Aguilera-Gomez *et al.*, 1999) e consentire maggiore crescita e migliori rese, in condizioni di stress salino, per sorgo, mais, cotone e *Pennisetum sp.* (Jalaluddin, 1993). Inoltre, Wamberg *et al.* (2003^a; 2003^b) hanno dimostrato una sua influenza sulla composizione della fauna rizosferica.

E' utile ricordare che in molte pubblicazioni dove si riferisce dell'uso di *G. fasciculatum*, la specie in questione è stata successivamente scoperta essere in realtà *G. intraradices*. Esiste inoltre, alla luce di esperimenti condotti utilizzando colture di *G. aggregatum*, il sospetto che anche questo fungo in realtà non sia altro che *G.intraradices* (Biermann & Linderman, 1983).

Quindi in conclusione la prova su basilico ha lo scopo di chiarire meglio i rapporti che intercorrono tra l'infezione micorrizica e l'apporto di fertilizzanti nell'indurre resistenza allo

stress salino nelle specie erbacee, e al contempo indaga la validità dell'efficienza fotochimica come parametro in grado di descrivere lo stato fisiologico di una pianta in funzione del grado di stress a cui è sottoposta.

Inoltre, l'impiego come inoculo della sola specie *Glomus intraradices* ci permette di studiarne in specifico l'efficacia, e potrebbe rappresentare il primo di una serie di esperimenti volti a comparare tra loro i comportamenti di diversi ceppi di funghi micorrizici su specie ortive allevate in condizioni di stress salino.

IV. 2 - MATERIALI E METODI

IV. 2. 1 – Condizioni sperimentali

L'esperimento è stato condotto in una serra ferro-vetro situata presso la School of Biological Sciences della University of East Anglia, Norwich, UK.

Le condizioni sperimentali all'interno della serra erano: temperatura media di 23°C (min.18°C, max 30°C) e umidità relativa nel range 50-70%.

L'intensità massima della luce PAR (*photosynthetically active radiation*), misurata tra le 12:00 e le 13:00 con Quantum Sensor (quantometer Radiation sensor, Li-Cor), variava da un valore massimo di 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nei giorni di pieno sole a uno minimo di 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nei giorni con foschia. La luce naturale era inoltre supplementata, per 12 ore al giorno (8:00-20:00) con lampade al tungsteno Metal Halide da 400W, che fornivano un'irradianza ulteriore pari a 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Semi di basilico (*Ocimum basilicum* L.) sono stati posti a germinare in contenitori alveolati riempiti con apposito substrato di crescita, e irrigati a pioggia con acqua di fonte avente conducibilità elettrica pari a 0,860 mS/cm.

Al 10° giorno, le piantine sono state trapiantate in vasi in plastica con capacità di 1750 cm³, riempiti con torba bionda o con torba bionda mescolata all'inoculo, a seconda della tesi.

In totale sono state messe a confronto otto differenti tesi, che rappresentavano tutte le possibili combinazioni ottenibili tra tre diversi tipi di trattamento.

Queste le tesi messe a confronto:

- Piante non infettate, trattate con bassa fertilizzazione e irrigate con acqua non salina
- Piante infettate, trattate con bassa fertilizzazione e irrigate con acqua non salina

- Pianta non infettata, trattata con alta fertilizzazione e irrigata con acqua non salina
- Pianta infettata, trattata con alta fertilizzazione e irrigata con acqua non salina
- Pianta non infettata, trattata con bassa fertilizzazione e irrigata con acqua salina
- Pianta infettata, trattata con bassa fertilizzazione e irrigata con acqua salina
- Pianta non infettata, trattata con alta fertilizzazione e irrigata con acqua salina
- Pianta infettata, trattata con alta fertilizzazione e irrigata con acqua salina

Per ogni tesi sono stati utilizzati 10 vasi, considerati come ripetizioni, in quanto i rilievi sono stati effettuati singolarmente su ogni pianta.

IV. 2. 2 – Infezione micorrizica

E' stato utilizzato un inoculo crudo, corrispondente a una miscela di terriccio, frammenti di radici e di micorrize, spore e miceli di fungo endomicorrizico *Glomus intraradices*, fornito dalla Plantworks Limited, UK.

Per i casi in cui era prevista l'infezione, i vasi erano riempiti con 1200 cm³ di torba bionda e con 300 cm³ del substrato di inoculo (4:1 v/v). I due diversi substrati non erano omogeneamente mescolati, poiché ciò avrebbe diluito eccessivamente la densità dei tessuti fungini, riducendo la probabilità e l'intensità di infezione. I vasi sono stati invece riempiti con circa 1000-1100 cm³ di torba bionda, nella quale è stato praticato un foro. Questo è stato riempito con quattro diversi strati di materiale, due di inoculo crudo e due di torba bionda intercalati, fino a colmare il foro, e in tale porzione è stata trapiantata la piantina di basilico. Questo sistema è stato scelto per la sua efficienza nel mettere in contatto le radici della pianta con i tessuti fungini, e favorire così l'infezione.

IV. 2. 3 – Livelli di fertilizzazione

Il terriccio era inoltre addizionato, prima di essere posto - con o senza inoculo - nei vasi, con una bassa o alta dose di concimazione. Il fertilizzante impiegato era un concime ternario N / P₂O₅ / K₂O 31/14/45, ed è stato addizionato al substrato nella quantità di 150 mg/vaso per le tesi a bassa fertilizzazione, e di 450 mg/vaso per quelle ad alta.

IV. 2. 4 – Acqua impiegata per l'irrigazione

L'acqua impiegata per l'irrigazione era la stessa utilizzata per le piantine nei contenitori

alveolati, e presentava una CE di 0,860 mS/cm. Per le tesi che prevedevano condizioni saline, all'acqua era addizionato NaCl nella quantità di 3 g/l, per una conducibilità elettrica pari a 5,6 mS/cm.

Le piante di tutte le tesi sono state irrigate con sola acqua non salina per tre settimane dopo il trapianto, dopodiché l'irrigazione sino alla fine della prova si è differenziata nei diversi trattamenti.

I vasi venivano quotidianamente cambiati di posto, al fine di evitare che eventuali disomogeneità nell'incidenza della luce artificiale (e in minor misura anche di quella naturale) falsassero le risposte fisiologiche e di crescita delle piante ai diversi trattamenti.

IV. 2. 5 –Rilievi effettuati

Nel corso della prova sono state effettuate misure di crescita, di efficienza fotosintetica e di contenuto di Na, Cl e K nei tessuti delle piante.

La crescita delle piante è stata monitorata misurandone l'altezza a intervalli regolari, in modo da fornire un quadro complessivo dei trend di sviluppo nel tempo.

L'efficienza fotosintetica delle piante è stata misurata come rapporto tra fluorescenza variabile e fluorescenza massima (vedi introduzione per dettagli sul significato di questo parametro), con un'apparecchiatura detta *Plant Efficiency Analyzer* (PEA, Hansatech). Lo strumento, portatile, è fornito di un'apposita pinza in cui inserire la foglia da analizzare; si tratta di un metodo non distruttivo di analisi che consente misure rapide e ripetute. La pinza presenta un'apertura circolare di 4 millimetri di diametro con uno *shutter* manuale, che consente di mantenere la foglia al buio per il tempo necessario, e si innesta su di un apparato illuminatore che emette la luce attinica. Nel nostro caso si è ritenuto necessario mantenere le foglie al buio 30 minuti prima di ogni misurazione; tale risultato è stato ottenuto schermando le piante con materiale plastico nero per 30 minuti prima di ogni serie di misurazioni. Queste sono state sempre effettuate - per i giorni in cui ciò era previsto - tra le ore 12:00 e le ore 14:00, e quindi nel periodo del giorno in cui l'irradianza è massima, di modo che fosse al picco più elevato il livello di fotosintesi delle piante prima di venire schermate.

Al momento della misura la pinza viene inserita sull'apparato illuminatore, viene aperto lo *shutter* e viene inviato il segnale di inizio misura. L'illuminazione è fornita da un gruppo di sei diodi in grado di emettere luce ad alta intensità (LED), ed è convogliata sulla superficie esposta della foglia. Il sistema di illuminazione emette luce rossa (da 580 nm a 700 nm) con un picco a lunghezza d'onda di 650 nm. L'irraggiamento ha un range di intensità che va da 0 a 3000 μmol di fotoni $\text{m}^{-2} \text{sec}^{-1}$. Caratteristica dei diodi è di emettere bassi livelli di calore

e di raggiungere la piena intensità luminosa in pochi μ secondi: in questo modo è garantita una misura accurata della fluorescenza iniziale (F_0).

Il segnale della fluorescenza è rilevato da un fotodiodo ad alta risoluzione associato ad un circuito amplificatore. A monte del rilevatore è posto un filtro che permette il passaggio di luce con una lunghezza d'onda maggiore di 700 nm. Il rilevatore di fluorescenza è poi collegato ad un'unità di controllo in cui è posto il microprocessore che controlla le funzioni dello strumento.

Il segnale ricevuto durante la registrazione è poi digitalizzato da un convertitore analogico/digitale. Il segnale della fase iniziale di rapida salita della fluorescenza viene digitalizzato con una velocità di 100.000 letture al secondo, in modo da garantire una buona risoluzione del valore di F_0 . I parametri della fluorescenza F_0 , F_m , F_v e F_v/F_m sono calcolati automaticamente dallo strumento. Il valore di F_0 è calcolato grazie ad un algoritmo utilizzato per determinare la retta di regressione tra i punti registrati nei primi istanti di illuminazione (dall'8° al 24° punto). La retta è estrapolata al tempo zero, inizio dell'illuminazione, per determinare il valore di F_0 . Il valore di F_m è calcolato dallo strumento mediando i valori intorno al picco massimo di fluorescenza. Le condizioni operative erano 100% di intensità luminosa, pari a $3000 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$, per un tempo di illuminazione di 4 secondi.

Al termine della prova foglie e radici sono state pesate e poste quindi in stufa a essiccare a 75°C per 5 giorni. La sostanza secca dei campioni è stata quindi digerita con acido nitrico, in modo da poter poi eseguire le analisi sul contenuto in elementi. Na e K sono stati determinati per via spettrofotometrica, il Cl con metodo Zall.

Una piccola quota delle radici di ogni pianta (mediamente un grammo) è stata prelevata prima dell'essiccamento in stufa, per compiere l'analisi del tasso di infezione micorrizica. Questa analisi è stata condotta seguendo il protocollo di Phillips & Hayman (1970) per colorare le radici, e successivamente si è applicato il "*gridline intersect method*", introdotto da Giovanetti & Mosse (1980) per la stima del tasso d'infezione.

Inoltre a fine prova, dopo la rimozione delle piante, sono stati misurati pH e conducibilità elettrica dell'estratto saturo del substrato di ogni vaso.

IV. 3 – RISULTATI

IV. 3. 1 – Crescita

In generale, per tutte le differenti combinazioni di irrigazione e fertilizzazione, le piante micorrizzate hanno mostrato livelli di crescita, in termini di altezza, superiori alle loro corrispettive prive di inoculo (Figg.1-4).

Sin dal primo rilievo, le piante micorrizzate si presentavano lievemente più alte di quelle non infette. Va ricordato che al momento della prima misura di altezza le piante avevano appena iniziato ad essere sottoposte a irrigazione salina e non, ma già da due settimane esse erano state differenziate sulla base dell'inoculo e dell'entità della fertilizzazione.

L'andamento della crescita nel corso del tempo è stato in generale piuttosto omogeneo in tutte le tesi, mostrando un incremento in altezza costante e regolare. Si può tuttavia notare una lievissima tendenza delle piante micorrizzate a un accrescimento maggiore nei primi giorni e a un rallentamento in seguito, mentre avviene l'opposto per quelle prive di inoculo. Si tratta tuttavia di un trend appena accennato.

Osservando comparativamente le Figg. 2 e 4, riferite alle tesi con alta fertilizzazione, si può rilevare come analogamente al parametro della fluorescenza, la somministrazione di una alta fertilizzazione abbia avvicinato i valori delle piante con e senza inoculo micorrizico, per la medesima qualità delle acque. Infatti, benché in tutte le combinazioni irrigazione-fertilizzazione le piante micorrizzate siano cresciute di più, la differenza con quelle non infette è stata più contenuta nei casi in cui si era compiuta una abbondante fertilizzazione.

I livelli maggiori di crescita si sono ottenuti nelle piante micorrizzate in presenza di fertilizzazione massima e in assenza di salinità (Fig.2), mentre la crescita minima si è registrata per le piante allevate in assenza di inoculo, bassa fertilizzazione e condizioni saline (Fig.3).

E' interessante notare, in base alle barre degli errori standard (che danno una misura del grado a cui ogni set di dati è disperso intorno alla propria media, rappresentata dal punto sul grafico) come si possano ottenere informazioni aggiuntive sui trend di crescita seguiti dalle piante sottoposte ai diversi trattamenti. In particolare, la differenza tra le altezze delle piante, micorrizzate e non, è diventata significativa (al 95%) mediamente più tardi nelle tesi con alta

fertilizzazione (giorno 67 per condizioni non saline, giorno 59 per condizioni saline). In quelle invece con bassa fertilizzazione, la micorrizazione ha generato una più precoce differenziazione nella risposta di crescita delle piante rispetto a quelle che non erano state infettate.

Lo stesso fenomeno si è osservato, a parità di tipo di fertilizzazione, tra trattamenti con irrigazione salina e non. Nelle tesi che prevedevano irrigazione con acqua salina, la differenziazione significativa di crescita tra piante M+ e M- è stata più precoce.

IV. 3. 2 – Efficienza fotochimica

Prima della diversificazione tra irrigazione salina e non, i livelli di fluorescenza delle piante appartenenti a tutte le tesi (M+ e M-; F+ e F-) erano omogenei e si aggiravano intorno a 0,78-0,82, che costituisce il range ottimale di fluorescenza per la specie.

L'andamento della fluorescenza è stato in generale costante e prossimo all'optimum per tutte le tesi che non prevedevano l'irrigazione con acqua salina (Figg.5 e 6).

In condizioni non saline e con bassa fertilizzazione (Fig.5) il livello di fluorescenza delle piante non micorrizzate si è mantenuto più o meno stazionario, salvo un lieve abbassamento alla fine del ciclo, che però l'errore standard non identifica come significativo. Le piante micorrizzate hanno presentato mediamente valori più alti, con una differenza massima intorno al 10%, rispettivamente 41 e 62 giorni dalla semina. Va tuttavia notato anche come gli andamenti delle piante, micorrizzate e non, non siano sempre stati marcatamente distinti, e ci sono stati anche giorni (55 e 59) in cui la Fv/Fm delle piante non micorrizzate è risultata lievemente superiore. La media di Fv/Fm calcolata su tutte e dieci le repliche e su tutti e dodici i giorni di misura è tuttavia significativamente più bassa per le piante non micorrizzate.

L'alta fertilizzazione, in regime non salino, ha reso assai più uniformi gli andamenti dell'efficienza fotochimica delle piante sia micorrizzate che non micorrizzate (Fig.6). Si può rilevare un andamento simile tra i due tracciati, e il trend era più o meno lo stesso al verificarsi di incrementi o decrementi temporanei che possono con tutta probabilità essere stati causati da variazioni di breve periodo nelle condizioni ambientali (in particolare l'intensità dell'irradiazione e l'umidità relativa).

Per entrambi i set di piante (M+ e M-) allevate a regime elevato di fertilizzazione e in condizioni non saline, il livello di Fv/Fm si è mantenuto complessivamente stazionario, e con valori sempre prossimi all'optimum, per l'intera durata della coltura.

Nei casi in cui l'irrigazione è stata effettuata con acqua salina, l'efficienza fotochimica delle piante di basilico è notevolmente diminuita nel corso della coltura, per tutte le possibili

combinazioni tra presenza o meno di infezioni e livello di fertilizzazione. Tuttavia, le diverse condizioni edafologiche hanno comportato trend differenti in questo calo comune.

Le piante supportate solo da bassa fertilizzazione sono quelle su cui lo stress salino ha mostrato gli effetti più negativi, in termini di efficienza fotochimica (Fig.7). La fluorescenza è diminuita significativamente per entrambe le tesi (M+ e M-), anche se in misura maggiore per le piante non micorrizzate (-31,2% rispetto all'optimum, contro il -19,5% delle piante infettate).

Si nota inoltre come i valori della fluorescenza delle piante M- abbiano cominciato subito a diminuire a seguito dell'inizio dell'irrigazione con acqua salina: già al 34° giorno dalla semina (il 3° di trattamento salino) si è verificato un calo del 5,5% rispetto all'optimum. La riduzione mostrata dalle piante infette è stato invece più tardiva.

Anche il trend generale delle due curve è differente, poiché le piante M- hanno registrato la riduzione della fluorescenza nei primi 2/3 del periodo di trattamento, con valori pressoché costanti nelle ultime due settimane di coltura. Nelle piante M+ tale riduzione (benché di entità più modesta) si è verificata verso la fine della prova.

Le *error bars* mostrano che le differenze tra i valori delle piante micorrizzate e non micorrizzate sono diventate significative a partire dal giorno 48° dalla semina. E' stato infatti tra il giorno 41° e 51° che le piante M- hanno avuto la diminuzione massima. Al giorno 51° si è avuta la differenza più alta tra il valore di fluorescenza di piante M+ e piante M-: quasi -0,200. La differenza si è ridotta poi per le misure successive, in corrispondenza delle quali anche i valori della fluorescenza delle piante infette avevano iniziato ormai decisamente a calare.

Anche in condizioni saline, l'alta fertilizzazione ha reso i valori e gli andamenti della fluorescenza di piante micorrizzate più omogenei e vicini tra loro (Fig.8). L'andamento generale delle due curve ha riproposto quello delle tesi con bassi livelli di salinità e fertilizzazione, ma con una serie di differenze.

Innanzitutto, come già accennato, la differenza tra i valori delle piante micorrizzate e non micorrizzate è stata meno marcata (alla fine della prova la differenza in Fv/Fm è minore di 0,100). In secondo luogo, il calo complessivo è stato più modesto rispetto alle tesi in cui la fertilizzazione era bassa: le piante M- hanno chiuso il ciclo con un -25% rispetto all'optimum, e le M+ con un -13%. Le piante non micorrizzate hanno presentato un calo della Fv/Fm più regolare nel tempo rispetto alle omologhe allevate con bassa fertilizzazione. Le due tesi (M+ e M-) si sono differenziate significativamente a partire dal giorno 55.

IV. 3. 3 – Contenuto in Na, Cl e K nei tessuti della pianta

Il contenuto in Na è aumentato, a seguito dell'irrigazione con acqua salina, sia nelle foglie che nelle radici (Tab.1). La sua allocazione nella pianta è avvenuta preferenzialmente nelle foglie. Infatti il rapporto tra la concentrazione del Na nell'apparato fogliare e in quello radicale è stato accentuato dal trattamento salino. Tale aumento di rapporto è stato inoltre osservato anche in correlazione con l'infezione micorrizica (2,22 contro 1,67 nella tesi con fertilizzazione minima).

Sia l'infezione con *G.intraradices* che l'alta fertilizzazione hanno contribuito ad abbassare il livello di Na, sia nelle foglie che nelle radici. L'effetto delle micorrize è stato tuttavia in questo senso più marcato di quello della fertilizzazione (-27,2% contro -7,93% nelle foglie; -45,3% contro -17,2% nelle radici).

Inoltre, se si confronta la diminuzione della concentrazione del Na determinata dalle micorrize ai due diversi regimi di fertilizzazione, si nota come in presenza di fertilizzazione elevata l'effetto benefico della micorrizazione sia stato limitato. Infatti, mentre con bassa fertilizzazione l'inoculo riduceva il contenuto in Na del 27,2% e del 45,3%, rispettivamente in foglie e radici, rispetto alle tesi "non infette", questi valori si abbassavano rispettivamente a un -4,4% e a un -27,4% nelle tesi in cui era stata somministrata fertilizzazione completa.

In condizioni non saline l'effetto delle micorrize sul Na è stato meno evidente, portando addirittura a un suo incremento nelle foglie.

Per quanto riguarda il contenuto di Cl, si è osservato un aumento sia nelle foglie che nelle radici delle piante sottoposte a irrigazione con acqua salina, con allocazione maggiore nelle radici (Tab.2). In condizioni non saline la micorrizazione ne ha incrementato il contenuto nelle tesi con fertilizzazione minima, e lo ha ridotto nei trattamenti dove era applicata la massima.

In condizioni di stress salino, sia l'infezione con *G.intraradices* che la fertilizzazione elevata hanno ridotto il contenuto in Cl, sia nelle radici che nelle foglie, ma l'effetto delle micorrize è stato molto più marcato (nelle radici, per esempio, -27,9% contro un -7,9% dovuto alla fertilizzazione).

Diversamente da quanto osservato per il Na, la sinergia tra alta fertilizzazione e infezione con inoculo micorrizico ha prodotto un più consistente abbattimento nell'uptake di questo elemento: infatti nelle foglie il solo inoculo ha determinato una riduzione del contenuto in Cl del 18,3%, mentre la combinazione di inoculo e alta fertilizzazione ha portato tale riduzione a un 28%.

Il K nei tessuti della pianta è stato in generale ridotto dalle condizioni saline (Tab.3), e sia

la micorrizzazione che una maggior dose di fertilizzanti hanno contrastato questo fenomeno, riportando il K a concentrazioni più alte. La fertilizzazione è stata in generale più efficace della micorrizzazione nel garantire alti livelli di K nei tessuti delle piante sottoposte a stress salino. Questo andamento è visibile ancora più chiaramente in assenza di stress salino: la micorrizzazione non ha incrementato particolarmente il contenuto in K, mentre il passaggio da bassa ad alta fertilizzazione lo ha praticamente raddoppiato sia nelle foglie che nelle radici.

IV. 3. 4 – Tasso di infezione

Il tasso di infezione massimo nelle radici si è registrato nelle piante che sono state allevate in condizioni non saline e con fertilizzazione minima (Tab.4). L'irrigazione con acqua salina ed un'alta fertilizzazione hanno ridotto entrambi il tasso di infezione delle radici. Il livello più basso di infezione (21,9%) si è osservato nelle piante sottoposte a tutte due queste condizioni.

IV. 3. 5 –CE e pH del substrato

La conducibilità elettrica del substrato a fine prova è risultata più elevata nelle tesi che prevedevano la fertilizzazione più elevata e l'irrigazione con acqua salina (Tab.5). Il trattamento salino, in particolare, si è rivelato in grado di incrementare la EC di oltre il 150%. La presenza di micorrize sembra ridurre lievemente la conducibilità del substrato per tutte le combinazioni di irrigazione e fertilizzazione, ma l'effetto è stato più deciso in condizioni non saline.

Il pH non ha subito particolari modificazioni nei diversi tipi di trattamento sperimentati.

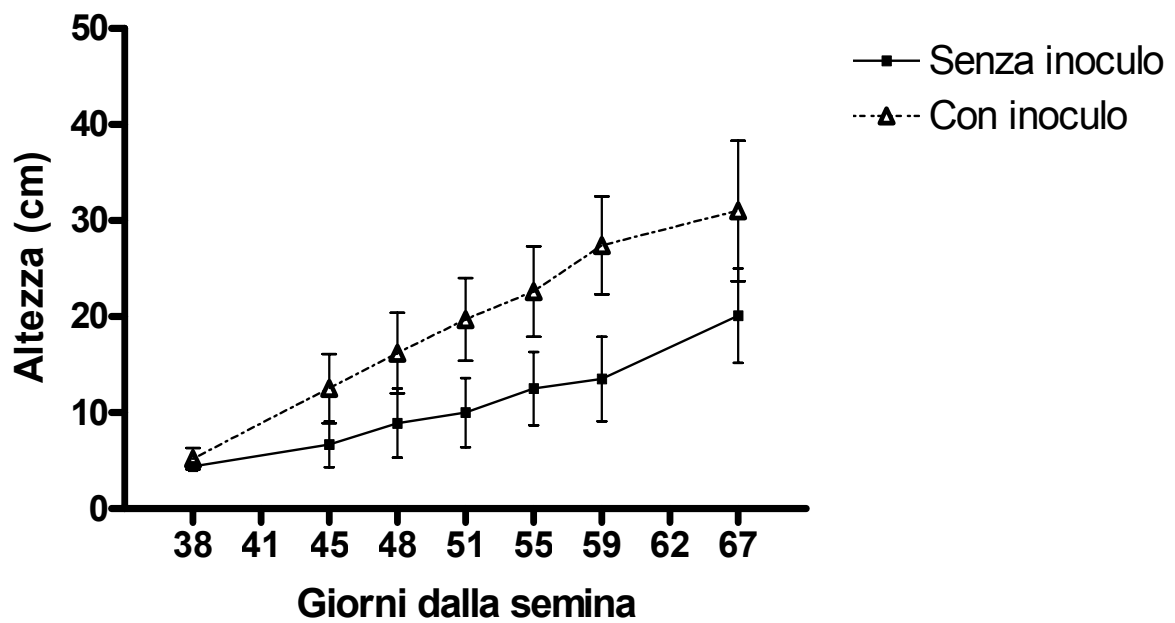


Fig.1 - Crescita in altezza nel tempo di piante di basilico allevate in condizioni non saline e di bassa fertilizzazione.

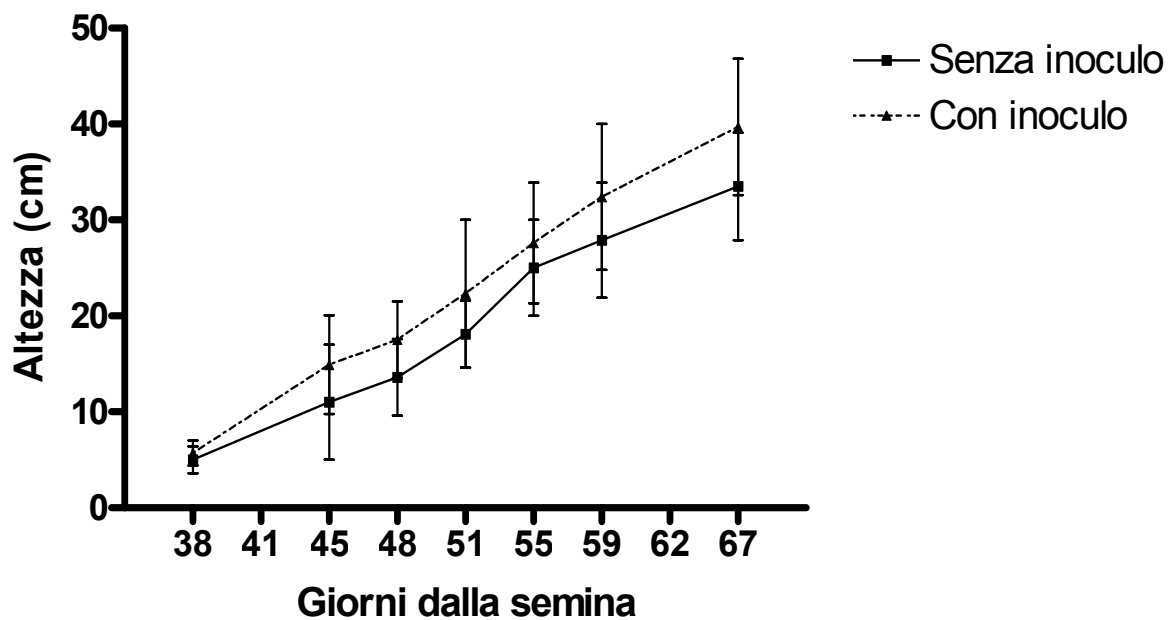


Fig.2 - Crescita in altezza nel tempo di piante di basilico allevate in condizioni non saline e di alta fertilizzazione.

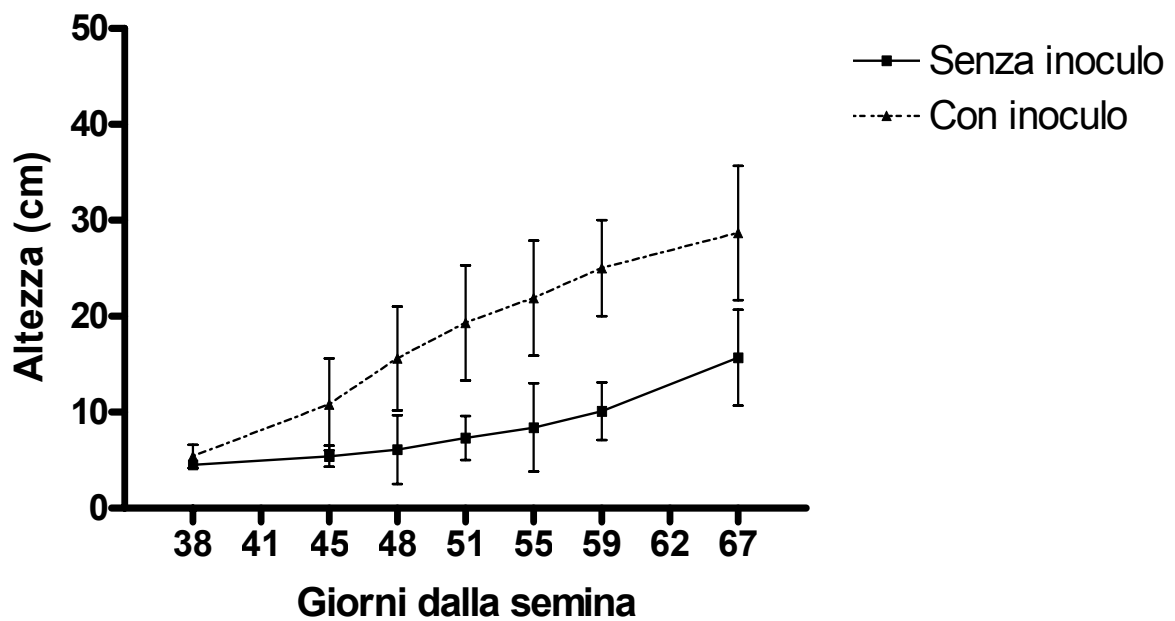


Fig.3 - Crescita in altezza nel tempo di piante di basilico allevate in condizioni saline (3 g NaCl per l di acqua di irrigazione) e di bassa fertilizzazione.

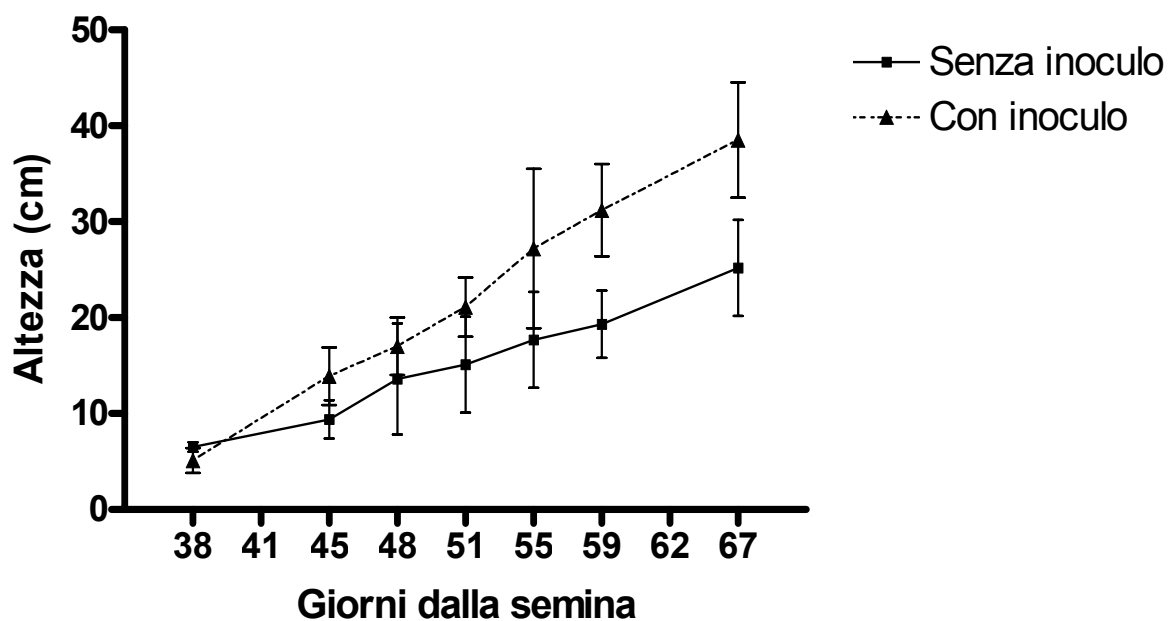


Fig.4 - Crescita in altezza nel tempo di piante di basilico allevate in condizioni saline (3 g NaCl per l di acqua di irrigazione) e di alta fertilizzazione.

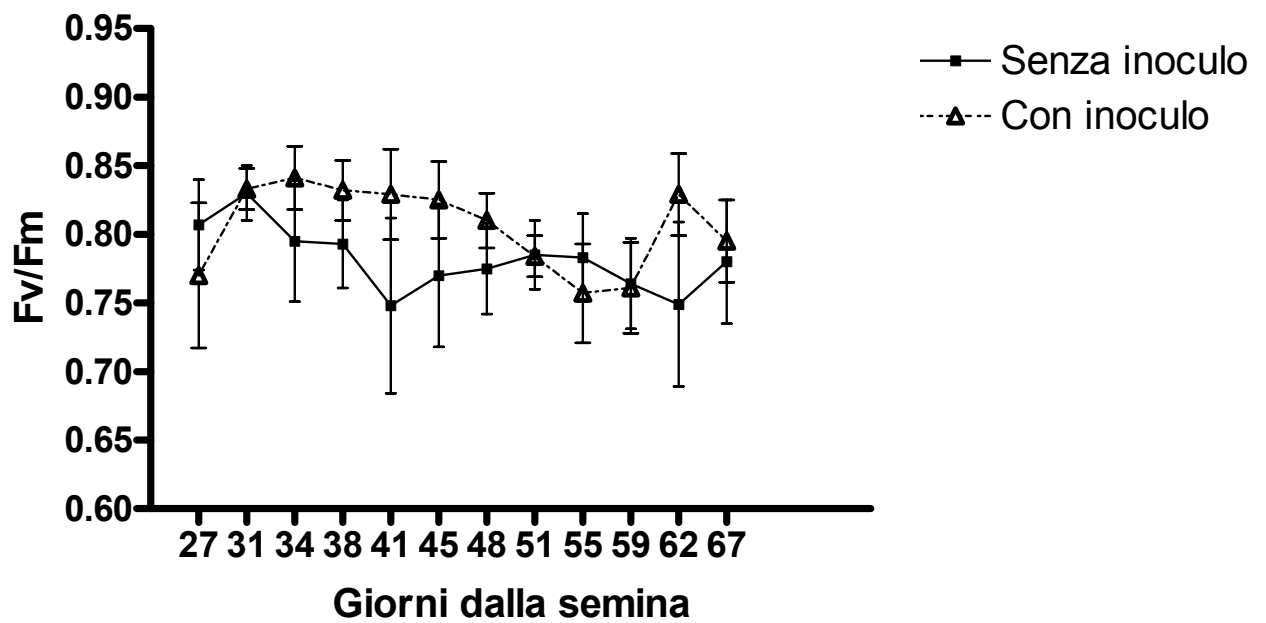


Fig.5 - Andamento della fluorescenza in piante di basilico allevate in condizioni non saline e di bassa fertilizzazione.

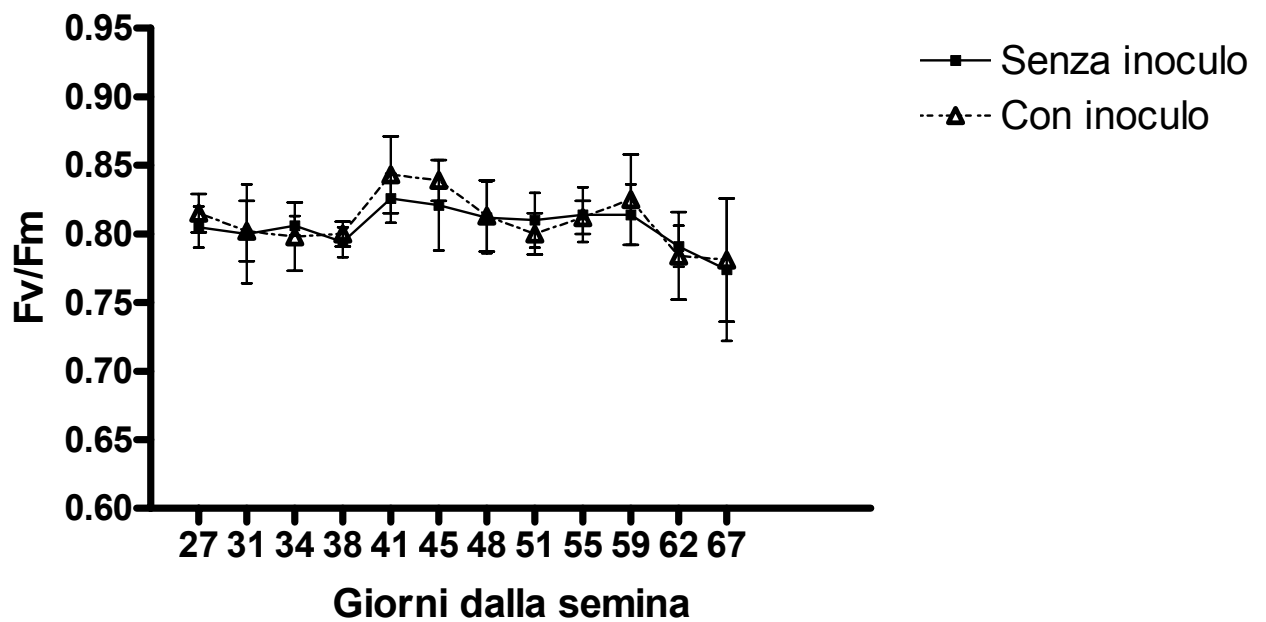


Fig.6 - Andamento della fluorescenza in piante di basilico allevate in condizioni non saline e di alta fertilizzazione.

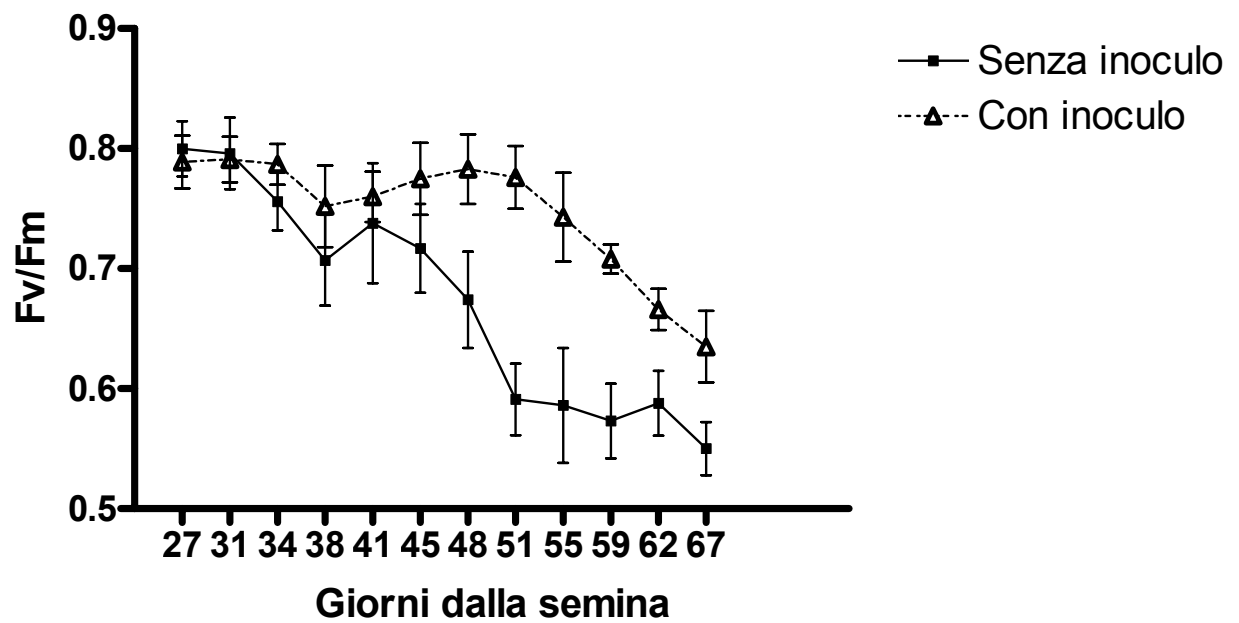


Fig.7 - Andamento della fluorescenza in piante di basilico allevate in condizioni saline (3 g NaCl per l di acqua di irrigazione) e di bassa fertilizzazione.

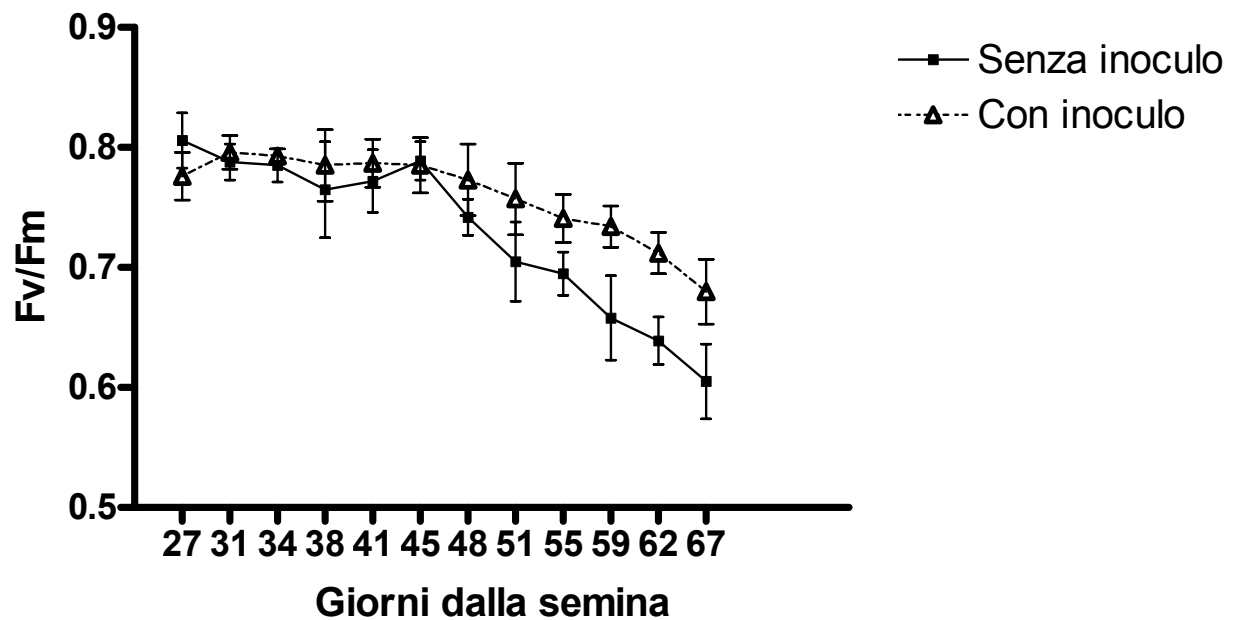


Fig.8 - Andamento della fluorescenza in piante di basilico allevate in condizioni saline (3 g NaCl per l di acqua di irrigazione) e di alta fertilizzazione.

	Na (% in s. s.)							
	0 g NaCl per l di acqua di irr.				3 g NaCl per l di acqua di irr.			
	Bassa fert.		Alta fert.		Bassa fert.		Alta fert.	
	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo
Foglie	3,15d*	3,33d	2,60e	2,91de	7,57a	5,51c	6,97ab	6,66b
Radici	2,24d	1,94de	1,76e	1,51e	4,54a	2,48cd	3,76b	2,73c

*: I valori della stessa riga contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.1 – Contenuto in Na nella sostanza secca (s.s.) di foglie e radici delle piante sottoposte alle diverse combinazioni di trattamenti.

	Cl (% in s. s.)							
	0 g NaCl per l di acqua di irr.				3 g NaCl per l di acqua di irr.			
	Bassa fert.		Alta fert.		Bassa fert.		Alta fert.	
	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo
Foglie	0,75d	0,98b	0,87c	0,83cd	1,20a	0,98b	1,25a	0,90bc
Radici	1,05bc	1,17b	0,98bc	0,90c	1,65a	1,19b	1,52a	1,28b

*: I valori della stessa riga contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.2 – Contenuto in Cl nella sostanza secca (s.s.) di foglie e radici delle piante sottoposte alle diverse combinazioni di trattamenti.

	K (% in s. s.)							
	0 g NaCl per l di acqua di irr.				3 g NaCl per l di acqua di irr.			
	Bassa fert.		Alta fert.		Bassa fert.		Alta fert.	
	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo
Foglie	2,32d	3,77c	4,93ab	5,74a	2,78d	3,54c	4,46b	4,87ab
Radici	1,57c	1,86bc	2,78a	3,07a	1,10d	2,03b	2,26b	2,90a

*: I valori della stessa riga contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.3 – Contenuto in K nella sostanza secca (s.s.) di foglie e radici delle piante sottoposte alle diverse combinazioni di trattamenti.

Trattamento di fertilizzazione	% di infezione	
	0 g NaCl per l di acqua di irr.	3 g NaCl per l di acqua di irr.
Bassa Fert.	56,3	48,1
Alta Fert.	32,5	21,9

Tab.4 - Tasso di infezione delle radici nelle tesi che prevedevano l'inoculo.

	0 g NaCl per l di acqua di irr.				3 g NaCl per l di acqua di irr.			
	Bassa fert.		Alta fert.		Bassa fert.		Alta fert.	
	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo	Senza inoculo	Con inoculo
CE (mS/cm)	1,87d*	1,40d	2,85c	2,37c	4,98b	4,16b	5,83a	5,72a
pH	6,34a	6,45a	6,35a	6,39a	6,29a	6,28a	6,31a	6,33a

*: I valori della stessa riga contrassegnati dalla medesima lettera non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

Tab.5 - Conducibilità elettrica (CE) e pH del substrato a fine prova, nelle diverse tesi.

IV. 4 – DISCUSSIONE

Dalla prova emerge come nelle tesi saline vi sia la tendenza delle piante micorrizzate a crescere più rapidamente subito dopo l'inizio dell'irrigazione con acqua salina piuttosto che verso la fine della coltura. Questo può essere spiegato con un'immediata risposta delle micorrize in termini di discriminazione nell'uptake dei minerali dalla soluzione circolante, e trova riscontro anche nell'andamento di F_v/F_m , che tende lievemente a decrescere a fine prova, quando la crescita rallenta.

Molto importante è il momento nel quale, nelle differenti tesi, l'altezza maggiore delle piante micorrizzate (M+) diventa significativamente differente rispetto a quella delle non micorrizzate (M-). Il fatto che in presenza di alta fertilizzazione ciò avvenga assai più tardivamente dimostra infatti come un buon livello nutrizionale sostituisca in parte l'effetto positivo delle micorrize nello stimolare la crescita dell'ospite. Questo fenomeno, nell'ottica di un'applicazione agronomica su larga scala delle tecniche in esame, ci porta di fronte a delle scelte riguardo a quella che può essere la soluzione più conveniente. Infatti quanto visto in questa prova sembra suggerire che la compresenza di infezione micorrizica e un buon livello di fertilizzazione possa essere una soluzione sovradimensionata, specie qualora i livelli di salinità che la coltura deve fronteggiare non siano eccessivi. Nell'ipotesi che si voglia adottare una strategia integrata di induzione di resistenza alla salinità si deve tener conto dei costi e dei benefici che le tecniche da applicare comportano, in modo da evitare spese eccessive.

Dai risultati della ricerca emerge che uno stress salino più marcato rende più evidente l'effetto positivo delle micorrize nello stimolare la crescita della pianta. Questo concorda con quanto riportato da Mohammad *et al.* (2003) secondo cui il più consistente effetto delle micorrize si aveva per salinità dell'ordine di 16,6 dS/m (contro un minimo di 2,4 dS/m) e da Rabie (2005), che ha dimostrato come per maggiori carichi salini l'aumento rispetto al controllo in termini di crescita, contenuto in clorofilla, root/shoot dw (dry weight) ratio e contenuto in zuccheri sia più elevato.

Le risposte fotochimiche rispecchiano abbastanza da vicino quelle della crescita. La fluorescenza delle piante micorrizzate in condizioni non saline e con bassa fertilizzazione è lievemente migliore di quella delle piante non inoculate; questo può essere dovuto al fatto che la micorrizzazione ottimizza l'uptake dei nutrienti minerali, in particolare del P (Mohammad *et al.*, 2003), presenti in tali tesi in quantità non abbondante, determinando un miglior stato fisiologico della pianta.

Tuttavia le differenze tra piante, micorrizzate e non, si appianano in condizioni di alta fertilizzazione, e i due grafici Fv/Fm diventano quasi simili. Questo può essere spiegato con l'ipotesi che una fertilizzazione abbondante ottimizzi a tal punto lo stato nutrizionale delle piante da rendere irrilevante l'eventuale effetto positivo sulla nutrizione esercitato dall'inoculo; già Ahmed (1996) aveva dimostrato come la fertilizzazione fosfatica riducesse la significatività dell'impatto della micorrizzazione nel limitare lo stress salino, essenzialmente perché lo stato nutrizionale e fisiologico della pianta ne era generalmente migliorato.

Dalla prova è emerso come la micorrizzazione delle piante determini una riduzione del contenuto in Na a livello sia di foglie che di radici. Questo è un fenomeno noto, di cui si ha riscontro in molti lavori presenti in letteratura sull'argomento (Al-Karaki, 2000; Giri & Mukerji, 2004). Esistono tuttavia anche ricerche in cui è stato rilevato l'aumento della tolleranza della pianta ospite allo stress salino senza che si avesse una concomitante riduzione di Na nei tessuti (Feng *et al.*, 2002, su mais), o addirittura un aumento (Tian *et al.*, 2004, su cotone). In tali casi il differente comportamento è da attribuire alle peculiarità della coppia fungo-ospite, e in ogni caso l'induzione di tolleranza è stata dimostrata essere garantita da un maggior accumulo di zuccheri solubili ed elettroliti (tra cui evidentemente anche Na) al fine di migliorare lo status osmotico della pianta in modo da non limitarne il volume di traspirazione.

Le piante allevate in condizioni di salinità hanno un'accentuata allocazione del Na a livello delle foglie: a questo fenomeno si connettono i noti effetti di tossicità sulla funzionalità delle membrane cellulari e in ultima analisi sulla crescita. L'abbassamento operato dalla micorrizzazione della concentrazione del Na nelle foglie appare in questo senso come un importante meccanismo di tolleranza al sale: la pianta è stimolata dall'infezione micorrizica a limitare la traslocazione del Na alle foglie, garantendosi una miglior funzionalità dei cloroplasti e una fotosintesi più efficiente, come notato da Al-Karaki (2000) su pomodoro o da Rabie (2005) su soia verde (*Vigna radiata* L.).

Dalla prova è emerso che la micorrizzazione determina anche un aumento nell'uptake del K; questo effetto è stato rilevato già nella precedente ricerca su lattuga, e nel lavoro di Al-Karaki *et al.* (2001) su pomodoro. Tuttavia la fertilizzazione si è dimostrata più decisiva che non l'inoculo con *G.intraradices* nel favorire l'uptake di K: questo può essere spiegato con l'alto contenuto in K nel fertilizzante impiegato, e pertanto in una maggiore effettività della competizione tra K e Na nella soluzione circolante, relativa all'assorbimento.

In relazione al tasso di infezione micorrizica delle radici si è rilevato come esso sia

maggiore in condizioni sia di bassa salinità che di limitata fertilizzazione, come confermato dalla letteratura in altre specie quali pomodoro (Al-Karaki, 2000; Al-Karaki *et al.*, 2001); *Prosopis juliflora* (Baker *et al.*, 1996); mais (Gupta & Rautaray, 2005). Occorre comunque aggiungere l'osservazione fatta da Pande & Tarafdar su mais (2002), secondo cui lo stress salino inibisce l'infezione micorrizica, ma quello idrico la incrementa. L'inibizione dell'infezione micorrizica causata dallo stress salino può essere connessa con una indotta limitazione dell'espansione delle ife nel terreno, come osservato da Juniper & Abbott (2004). In questo senso possono mostrare una migliore efficacia ceppi fungini che hanno subito trattamenti salini preliminari (Ghorbanli *et al.*, 2004) oppure provenienti da terreni salini (Copeman *et al.*, 1996).

La maggior fertilizzazione sembra avere un effetto più determinante della salinità nel ridurre il tasso di infezione. Ciò è dovuto al fatto che una pianta in condizioni nutrizionali vicine all'ottimo mostra una maggiore resistenza a subire la colonizzazione da parte del fungo micorrizico. La riduzione della percentuale di infezione causata da condizioni ottimali di fertilizzazione era già stata osservata da Ahmed (1996) su *Vicia faba*.

In conclusione, si osserva come in presenza di stress salino ci siano forti interazioni tra un incremento del livello di fertilizzazione applicato e l'infezione micorrizica. Posto che entrambe le tecniche, separatamente, possono garantire soddisfacenti riduzioni nell'incidenza dello stress, ciò non significa tuttavia che si possano trarre maggiori benefici dalla loro applicazione congiunta. Anche nei casi in cui tale sinergia si verifichi, è necessario non prescindere da una valutazione dei costi e dei benefici. E' comunque probabile aspettarsi un'effettiva utilità dell'impiego combinato delle due tecniche essenzialmente per livelli molto alti di salinità.

L'impiego di una singola specie di fungo micorrizico invece delle consuete miscele, che spesso si trovano anche in commercio, ha permesso di associare univocamente i risultati ottenuti a tale specie, e questo potrebbe costituire un primo passo nella direzione di una valutazione caso per caso dei vari ceppi di funghi micorrizici, in modo da mettere in evidenza una eventuale maggiore efficacia di uno rispetto all'altro per differenti piante ospiti e differenti condizioni di stress.

La presente prova ha infine messo in evidenza la validità dell'efficienza fotochimica come parametro sensibile e adatto all'indagine dell'intensità degli stress abiotici su piante coltivate, considerando anche che la determinazione di questo parametro mediante fluorimetro è semplice e non invasiva.

V - APPLICAZIONE DI SILICIO

V. 1 – INTRODUZIONE

V. 1. 1 – Importanza del Silicio per le piante superiori

Il Silicio è il secondo elemento più abbondante sulla Terra, ciononostante il suo ruolo all'interno della biologia e fisiologia vegetale è ancora lungi dall'essere compreso appieno (Lewin & Reimann, 1969; Epstein, 1994). Il motivo è essenzialmente che al momento attuale tutti i tentativi che sono stati fatti di associare il Si a particolari attività metaboliche della pianta non hanno portato a nessun risultato rilevante, e non è stato possibile dimostrare che il Si entri a far parte integrante di nessuna molecola funzionale al metabolismo vegetale, quali enzimi o costituenti di altro tipo (Okuda & Takahashi, 1965; Lewin & Reimann, 1969; Epstein, 1994, 1999). Conseguentemente il Si non è attualmente annoverato tra gli elementi essenziali per le piante superiori, se non nel caso di alcune specie appartenenti alle famiglie di Poaceae e Cyperaceae (Epstein, 1994). Allo stato attuale non è stato ancora possibile dimostrare che concentrazioni di Si superiori al livello di tracce siano essenziali per la crescita della pianta (Epstein, 1994). Ciononostante, è ormai comunemente accettato il fatto che il Si rappresenti un elemento in grado di migliorare la crescita e la salute delle piante, e sono numerosi in letteratura i lavori che mettono in evidenza i benefici agronomici che le piante possono trarre da applicazioni di Si come integratore nella fertirrigazione (Okuda & Takahashi, 1965; Lewin & Reimann, 1969; Epstein, 1994; Liang *et al.*, 1996; Epstein, 1999; Liang, 1998; Liang & Ding, 2002).

Nella maggior parte dei casi, l'effetto benefico del Si sulle piante coltivate si origina dalla sua deposizione a livello delle pareti cellulari sotto forma di Silice amorfa ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), con conseguente rinforzo delle pareti stesse (Inanaga & Okasaka, 1995; Marschner, 1995; Epstein, 1999). Questo aumento di resistenza meccanica garantito dal Si è stato dimostrato per esempio su riso, con incremento della rigidità dello stelo e conseguente rinforzo del portamento eretto (Yoshida, Navasero and Ramirez, 1969) e su frumento, con aumento della rigidità delle foglie (Rafi & Epstein 1997), e conseguente ottimizzazione nella ricezione della luce e, in definitiva, delle rese (Mitsui & Takatoh, 1963).

L'effetto di rinforzo meccanico del Si sui tessuti della pianta si è dimostrato fondamentale anche nell'aumentare la resistenza all'attacco di funghi, batteri e insetti (Adatia & Besford, 1986; Menzies *et al.*, 1991; Epstein, 1999), e nel ridurre su gerbera l'incidenza del disordine

fisiologico denominato “*bent neck*” (Savvas *et al.*, 2002).

In generale, sono numerose le prove che dimostrano come il Si possa limitare gli effetti negativi di molti stress biotici e abiotici sulle piante (Epstein, 1994; Liang *et al.*, 1996; Epstein, 1999; Liang *et al.*, 1999; Liang & Ding, 2002; Ma, 2004).

Alcuni lavori riportano il coinvolgimento del Si nel limitare gli effetti dannosi di concentrazioni tossiche di alluminio (Barcelo *et al.*, 1993; Hammond *et al.*, 1995; Liang *et al.*, 2001) e di manganese (Horst & Marschner, 1978; Horiguchi, 1988; Iwasaki *et al.*, 2002); inoltre in molte ricerche si dimostra il ruolo del Si nel limitare l’effetto di stress biotici e abiotici in alcune specie della famiglia delle Poaceae (Epstein, 1994; Matoh, Kairusmme and Takahashi, 1986; Ahmad, Zaheer and Ismail, 1992; Liang *et al.*, 1994, 1996).

V. 1. 2 – Importanza del Silicio in relazione allo stress salino

Sono numerosi gli Autori che hanno studiato l’effetto del Si su piante sottoposte a stress salino (Bradbury & Ahmad, 1990; Liang *et al.*, 1996), dimostrando come la sua applicazione contribuisca ad aumentare la tolleranza della pianta. Tale fenomeno è stato dimostrato su riso (Matoh *et al.*, 1986), frumento (Ahmad *et al.*, 1992), *Prosopis juliflora* (Bradbury & Ahmad, 1990) e orzo in idroponica (Liang *et al.*, 1996, 1998, 1999; Liang & Ding, 2002).

Non sono ancora ben noti i meccanismi di questa induzione di tolleranza. Matoh *et al.* (1986) riferiscono come una concentrazione di silicato pari a 0,89 mM riducesse la traslocazione di ione Na dalle radici alle foglie, e come a questo fenomeno si accompagnasse un significativo incremento di produzione di biomassa secca su riso sottoposto a stress salino, rispetto al controllo. In altri lavori (Ahmad *et al.*, 1992; Liang *et al.*, 1996) è stata osservata, in piante di frumento e orzo allevate in condizioni saline a cui era stato aggiunto Si, una repressione del trasporto di ione Na, concomitantemente ad un aumento della crescita. Possibili spiegazioni di questo fenomeno sono che la deposizione di Silice a livello delle foglie limiti la traspirazione (e pertanto l’accumulo di sali) (Matoh *et al.*, 1986), e che il Si complessi il Na al livello della radice, riducendone pertanto il trasporto alle foglie (Ahmad *et al.*, 1992).

Un interessante campo di ricerca, a riguardo dei meccanismi tramite i quali il Si induce resistenza allo stress salino, è quello che interessa i suoi effetti sulle membrane plasmatiche e sul loro funzionamento. E’ infatti noto come queste ultime vengano danneggiate dall’eccessivo accumulo di ioni Na e Cl nei tessuti di piante sottoposte a stress salino (Liu *et al.*, 1987; Hernandez *et al.*, 1993; Singha & Chandhuri, 1990).

E’ stato dimostrato come il Si incrementi l’attività fotosintetica dell’orzo in condizioni

saline (Liang, 1998) e riduca la perdita elettrolitica a livello delle foglie (Liang *et al.*, 1996). Inoltre è stato osservato come il Si possa migliorare l'ultrastruttura dei cloroplasti, che a causa dello stress salino subiscono vari danni, quali la scomparsa delle doppie membrane e la disintegrazione del grana (Liang, 1998).

Ulteriori studi hanno messo in evidenza come il Si incrementi il tasso di assorbimento del K da parte delle radici nella competizione con il Na, fornendo un'ulteriore spiegazione per la mitigazione degli effetti tossici da Na in piante stressate (Liang *et al.*, 1996).

E' noto come l'uptake selettivo di ioni minerali sia associato nella pianta all'attività H^+ -ATPasica (Marschner, 1995). Un possibile meccanismo che può spiegare l'effetto stimolante a favore dell'uptake di K, operato dal Si, è pertanto quello secondo cui il Si inneschi, o comunque stimoli, l'attività delle pompe H^+ -ATPasiche a livello della membrana. Questa stimolazione dell'attività H^+ -ATPasica transmembrana sarebbe anche responsabile di una limitazione di uptake di Na e Cl (Liang *et al.*, 1996, 2003).

Più recentemente, il ruolo del Si nell'alleviare l'incidenza dello stress salino è stato attribuito anche a un incremento nell'attività di quegli enzimi che proteggono i tessuti dai radicali liberi, o all'inibizione della perossidazione lipidica (Liang, 1999; Liang *et al.*, 2003). Esistono infatti numerose prove a favore del fatto che i danni alle membrane plasmatiche indotti da stress salino siano associati a un incremento nella produzione di radicali liberi altamente tossici (Liu *et al.*, 1987; Singha & Chandhuri, 1990; Hernandez *et al.*, 1993). In condizioni di stress salino, le attività della superossido dismutasi (SOD) e catalasi (CAT) declinano (Singha & Chandhuri, 1990; Hernandez *et al.*, 1993), mentre la malondialdeide (MDA) si accumula rapidamente (Hernandez *et al.*, 1993; Lutts *et al.*, 1996; Fadzilla *et al.*, 1997), con conseguente aumento di permeabilità delle membrane plasmatiche.

E' stato dimostrato come l'aggiunta di Si a orzo sottoposto a stress salino incrementi l'attività della SOD e riduca la concentrazione di MDA nelle foglie (Liang, 1999) e incrementi l'attività di SOD, perossidasi, CAT e glutazione reduttasi (GR), inibendo inoltre la perossidazione lipidica, al livello delle radici (Liang *et al.*, 2003).

Dette attività di ordine enzimatico, insieme con la capacità di ridurre la perdita elettrolitica osservata in foglie di orzo sotto stress salino (Liang *et al.*, 1996), evidenziano come il Si eserciti la sua azione di induzione di resistenza allo stress salino nelle piante per buona parte tramite il miglioramento della funzionalità delle membrane, e la limitazione del loro danneggiamento da parte dei radicali liberi.

Infine una spiegazione alternativa, che potrebbe essere complementare a quanto finora osservato, è stata fornita da Yeo *et al.* (1999), che hanno esaminato l'effetto del Si su riso

allevato in salinità. È stato visto come il Si limitasse l'assorbimento di Na nella pianta senza una contemporanea riduzione del volume di traspirazione: ciò ha portato ad escludere un'influenza del Si sui ritmi di assorbimento idrico (è stato visto anzi come in sua presenza il grado di apertura stomatica incrementasse). La spiegazione che è stata data è che la presenza di Si limiti il *bypass flow*, o flusso apoplastico (la quota del volume di traspirazione che attraversa la radice per via apoplastica): a questa conclusione si è giunti confrontando l'uptake di Na con quello di un tracciante apoplastico (PTS). Si tratterebbe quindi di un bloccaggio parziale e specifico dell'assorbimento ionico radicale. Non è tuttavia ancora ben chiaro se si tratti di uno specifico ostacolo all'ingresso di Na o un generale abbattimento del flusso apoplastico. A sostegno della seconda ipotesi c'è una serie di calcoli (Yeo *et al.*, 1987; Garcia *et al.*, 1997) che dimostrano come il *bypass flow* veicoli una quota molto piccola del volume traspiratorio totale, per cui un suo bloccaggio non ridurrebbe significativamente il volume di acqua che giunge alle foglie, ma esso sia al contempo responsabile di un afflusso di ioni sufficiente, in casi estremi, a indurre tossicità.

V. 1. 3 – Scopo del lavoro

Scopo del presente lavoro è stato quello di esaminare gli effetti dell'applicazione di Si su piante di *Phaseolus vulgaris* sottoposte a stress salino, con particolare attenzione, oltre che alla crescita, anche al monitoraggio di parametri di tipo ecofisiologico, non spesso presi in considerazione dalla ricerca, dato che la maggior parte dei lavori esistenti sul rapporto tra Si e salinità si è concentrata sullo studio dell'attività enzimatica e sulla funzionalità delle membrane.

V. 2 - MATERIALI E METODI

V. 2. 1 – Condizioni sperimentali

L'esperimento è stato condotto in una serra ferro-vetro nella University of East Anglia (Norwich, UK); le condizioni ambientali erano caratterizzate da una temperatura media di 25°C (min 20°C; max 33°C) e un'umidità relativa compresa tra il 50 e il 70%.

L'intensità massima della luce PAR (*photosynthetically active radiation*), misurata tra le 12:00 e le 13:00 con Quantum Sensor (*Quantometer Radiation Sensor*, Li-Cor), andava da un massimo di 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nei giorni di pieno sole a un minimo di 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nei giorni con foschia. La luce naturale era inoltre supplementata, per 10 ore al giorno (9:00-19:00) con lampade al tungsteno Metal Halide da 400W, che fornivano un'irradianza ulteriore di 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Semi di *Phaseolus vulgaris* L. sono stati seminati in un substrato apposito per consentire la germinazione, e irrigati quotidianamente con acqua di fonte avente una conducibilità di 0,860 mS/cm. La scelta della pianta è stata dettata dalla rapidità del suo ciclo biologico e dalla medio-alta sensibilità allo stress salino (Maas & Hoffmann, 1977).

Al decimo giorno dalla semina (il settimo dopo l'emergenza) le piantine sono state trapiantate individualmente in vasi di plastica, di volume pari a 1750 cm³.

Il substrato di coltura era costituito da una miscela 1,5:1 di torba:vermiculite. La scelta del substrato è stata dettata dall'esigenza di consentire un buon drenaggio e una buona aerazione della zona radicale. Questa esigenza era legata alla natura dell'indagine svolta e alle ipotesi preliminari che erano state formulate riguardo ai meccanismi fisici di azione del Si sull'apparato radicale della pianta (cfr.: Yeo *et al.*, 1999). Infine, la miscela di torba e vermiculite è indicata per favorire un'uniforme diffusione dei nutrienti al livello della rizosfera (Lopez *et al.*, 2002).

V. 2. 2 – Tesi messe a confronto

I trattamenti presi in esame prevedevano l'impiego di tre diversi livelli di salinità dell'acqua di irrigazione e due diversi livelli di apporto di Si, sempre nell'acqua di irrigazione, per un totale di sei combinazioni (6 tesi).

Queste le tesi esaminate:

- Piante allevate in assenza di salinità senza somministrazione di Si
- Piante allevate in assenza di salinità con somministrazione di Si
- Piante allevate in condizioni di bassa salinità senza somministrazione di Si
- Piante allevate in condizioni di bassa salinità con somministrazione di Si
- Piante allevate in condizioni di alta salinità senza somministrazione di Si
- Piante allevate in condizioni di alta salinità con somministrazione di Si

Per ogni tesi erano impiegati 10 vasi considerati come ripetizioni, dato che i rilievi venivano effettuati su ogni pianta. I vasi venivano quotidianamente spostati a random, al fine di evitare che eventuali disomogeneità nell'incidenza della luce artificiale (e in minor misura anche di quella naturale) falsassero le risposte fisiologiche e di crescita delle piante ai diversi trattamenti.

La salinità dell'acqua era data dall'aggiunta di NaCl. Le tre concentrazioni impiegate sono state rispettivamente 0, 30 e 60 mM, corrispondenti rispettivamente a 0; 1,75 e 3,5 g di NaCl per litro di acqua. L'aggiunta del sale alla soluzione nutritiva è stata graduale, per evitare alle piante uno shock osmotico, nell'arco di tre giorni, passando da 0 a 30 mM al ritmo di 10 mmol/l al giorno, e da 0 a 60 mM al ritmo di 20 mmol/l al giorno. L'inizio dei trattamenti con acqua salina è avvenuto a 6 giorni dall'invasatura, protraendosi sino a fine prova. Per i primi due giorni successivi all'invasatura le piante erano state irrigate con acqua di fonte, in seguito, per altri quattro, con soluzione Hoagland al 10% (Hoagland & Arnon, 1950). Si è scelto di utilizzare questa bassa concentrazione perché, essendo l'irrigazione quotidiana e su substrato solido (che possiede una propria tendenza ad accumulare i nutrienti) si voleva evitare un carico eccessivo di nutrienti alle piante, carico che avrebbe potuto eventualmente mascherare o falsare le risposte delle piante ai trattamenti, ed in più alterare il bilancio di uptake degli ioni a seguito di fenomeni indesiderati di competizione.

Il Si veniva aggiunto all'acqua come K_2SiO_3 . Si è scelto il sale potassico anziché il sodico per evitare interferenze con lo ione Na apportato da NaCl. Le concentrazioni di K_2SiO_3 (e quindi direttamente dello ione Si^{4+}) erano rispettivamente di 0 e 1,5 mM.

Al fine di mantenere la concentrazione di K nella soluzione di Hoagland (adottata per la fertirrigazione) al livello previsto da quest'ultima si riduceva l'apporto di KNO_3 nella misura fornita dal K_2SiO_3 , e si provvedeva a reintegrare la perdita di NO_3^- risultante da questa riduzione tramite aggiunta di acido nitrico. Il pH veniva infine aggiustato a 6,5-7,0 con 0,01 mol/l KOH e/o 0,01 mol/l H_2SO_4 .

L'aumento di conducibilità elettrica della soluzione nutritiva causato dall'aggiunta di

K₂SiO₃ è stato considerato come trascurabile.

Il pH della soluzione nutritiva era quotidianamente, e per tutte le tesi, aggiustato a 6,5-7,0.

V. 2. 3 – Rilievi effettuati

Sono state effettuate, nel corso della prova, misure di crescita, di parametri ecofisiologici e di contenuto in Na, Cl e K nei tessuti delle piante.

Crescita

La crescita è stata determinata mediante la biomassa secca della parte epigea. Questa veniva misurata a seguito di essiccamento in stufa a 75°C sino a peso costante. Le foglie impiegate per la stima del LRWC (vedi sotto) erano pesate a parte, e i loro pesi secchi aggiunti successivamente a quelli complessivi delle rispettive piante

Conduttanza stomatica

La conduttanza stomatica è stata misurata all'inizio, a metà e fine del periodo di trattamento (giorni 0, 7 e 14, corrispondenti rispettivamente ai giorni 6, 13 e 20 dall'invasatura), con porometro *steady state* (LiCOR Inc., Lincoln, NE). Le misure venivano prese sempre tra le 12:00 e le 14:00, nel momento della giornata associato alla massima intensità luminosa. Di ogni pianta le misure venivano effettuate su due foglie, le più espanse, e la misura replicata due volte.

Tasso di assimilazione fotosintetica

Il tasso di assimilazione fotosintetica della CO₂ ("A") veniva misurato nella stessa fascia di tempo e sulle medesime foglie del parametro precedente, con un'apparecchiatura portatile LI-6400, LiCOR. La porzione centrale della foglia veniva racchiusa in una camera fogliare (6 cm²) a temperatura controllata. La concentrazione di CO₂ in quest'ultima al momento delle misure era 360 µl/L; il "*photon flux density*" (PPFD) era pari a 1300 µmol m⁻² s⁻¹, che è stato dimostrato essere saturante per questa specie a queste condizioni (Lamberts *et al.*, dati non pubblicati), ed era fornito da una sorgente 6400-02 LED.

Tutte le misure sono state prese quando l'intensità luminosa sulla superficie fogliare si aggirava intorno a 1100-1200 µmol m⁻² s⁻¹.

Turgore fogliare e area fogliare

Il contenuto idrico fogliare relativo (“*leaf relative water content*”, LRWC) delle quattro foglie più espanse di ogni pianta è stato misurato dopo la raccolta delle piante.

Questo parametro fornisce informazioni sullo status idrico della foglia, e più precisamente sul livello di turgore, espresso come la % del contenuto idrico al momento della misura rispetto al valore massimo raggiungibile dalla foglia stessa. Si tratta di un parametro piuttosto accurato, perché il livello di turgore massimo viene misurato separatamente per ogni singola foglia. Il tasso di turgidità di una foglia ci dà informazioni sull’entità dello stress idrico della pianta.

La misurazione veniva effettuata sul lembo fogliare, con esclusione del picciolo. Le foglie venivano pesate (peso fresco, PF), immerse in H₂O distillata per tre ore, asciugate e pesate di nuovo (peso al massimo turgore, PT). Tre ore di immersione sono considerate sufficienti per consentire alla foglia di raggiungere il massimo livello di turgore. Infine le foglie venivano poste in stufa a 75°C per 3 giorni e pesate nuovamente (peso secco, PS).

Il contenuto idrico relativo (LRWC) era calcolato come:

$$\text{LRWC} = [(PF-PS)/(PT-PS)]*100$$

L’area fogliare totale è stata misurata a fine prova, con fogliarimetro (Δ T Area Meter MK2, Delta T-Devices, Burwell, UK).

Contenuto in Na, Cl, K nei tessuti delle piante

A fine prova campioni di radici e di parte epigea essiccati sono stati macinati e digeriti con acido nitrico. Si è quindi proceduto alla determinazione delle concentrazioni di Na e K tramite spettrometria a fiamma (Perkin Elmer mod. 290B), e a quella di Cl utilizzando il metodo Zall (1953).

V. 3 – RISULTATI

V. 3. 1 – Crescita

I risultati relativi a questo parametro indicano come, a 30 mM NaCl, l'applicazione di Si abbia compensato totalmente l'eventuale riduzione in biomassa, portando le piante a valori di peso secco assolutamente paragonabili a quelli del controllo (Fig.1). A 60 mM invece si è assistito a una riduzione in biomassa del 14,3%, che è stata tuttavia assai contenuta rispetto a quanto registrato per le stesse piante senza Si, dove la riduzione a seguito di stress salino era del 32,5%.

V. 3. 2 – Conduttanza stomatica

Le piante tendevano, nel corso del periodo di trattamento, a una diminuzione del tasso di scambio gassoso in tutte le tesi (Figg.2 e 3). Questa progressiva riduzione è stata in generale più evidente nelle tesi saline (nei controlli, con e senza applicazione di Si, non è possibile parlare di una riduzione significativa del volume di scambi gassosi). Inoltre, mentre concentrazioni intermedie di sale (30 mM NaCl) hanno provocato un più graduale abbassamento della conduttanza stomatica nel tempo, per 60 mM si è assistito a un drammatico calo durante la prima settimana di trattamento, e a uno più modesto durante la seconda.

Le tesi che prevedevano l'applicazione di Si hanno riprodotto piuttosto fedelmente l'andamento di quelle senza tale trattamento, ma in esse i livelli di conduttanza stomatica delle piante si sono mantenuti mediamente più alti (Figg.2 e 3; Figg.4 e 5).

L'effetto del Si nel limitare la riduzione di scambi gassosi conseguente all'insorgenza di stress salino è stato particolarmente evidente a 30 mM NaCl: a tale concentrazione, l'apporto di Si ha limitato la riduzione (il giorno 14, rispetto al controllo) a un -16,4%, in confronto con il -38,5% delle tesi senza Si (Fig.5).

Le differenze tra i valori di conduttanza stomatica di piante allevate rispettivamente in assenza e in presenza di Si si è fatta più accentuata a fine prova (giorno 14) piuttosto che a metà (giorno 7).

V. 3. 3 – Tasso di assimilazione fotosintetica

Il tasso fotosintetico ha riproposto nelle linee generali l'andamento nel tempo della

conduttanza stomatica, subendo una riduzione in tutte le tesi (ad esclusione dei controlli non salini) nell'arco del periodo di trattamento (Figg.6 e 7).

In assenza di Si si è avuta una diminuzione del 30,1% dell'efficienza fotosintetica passando da una concentrazione di NaCl nell'acqua di irrigazione di 0 a una di 30 mM (il 14° giorno) e un'ulteriore diminuzione del 19% passando da 30 a 60 mM NaCl.

L'aggiunta di Si ha limitato anche qui l'abbassamento dei valori del parametro "A" all'aumentare della concentrazione salina e del tempo di esposizione, e l'effetto benefico è stato particolarmente evidente per la concentrazione di 30 mM di NaCl (Figg.8 e 9). Quella che, in assenza di Si, era al 14° giorno una riduzione del 30% del tasso fotosintetico, in presenza di Si si è ridotta a 18,2%.

V. 3. 4 – Turgore fogliare

Il contenuto idrico fogliare relativo è diminuito significativamente all'aumentare della concentrazione salina nell'acqua di irrigazione (15,7% a 30 mM NaCl; 45,8% a 60 mM) (Fig.10).

L'applicazione di Si ha compensato totalmente il calo in turgore verificatosi alla concentrazione di NaCl di 30 mM, riportandolo a livelli analoghi a quelli del controllo non salino, mentre a 60 mM il recupero rispetto al controllo salino senza Si è stato del 16% (da 45% a 29%).

In entrambi i trattamenti, con e senza Si, il trend di risposta della pianta in termini di *leaf relative water content* (LRWC) alla dose di sale somministrata è stato analogo a quello di conduttanza stomatica e tasso fotosintetico. Per questi due parametri il calo più consistente si registrava passando da 0 a 30 mM NaCl; invece per LRWC si sono avuti valori alla dose di 30 mM NaCl che non si discostavano in maniera notevole dal controllo (addirittura, come già visto, in presenza di Si non presentavano differenze sostanziali), verificandosi invece una flessione consistente di LRWC solo a 60 mM.

V. 3. 5– Area fogliare

L'area fogliare è stata ridotta in tutte le tesi da entrambe le intensità di trattamento salino (Fig.11). Per le tesi in cui era applicato il Si, si registravano riduzioni molto più modeste (8,1% anziché 20,5% a 30 mM NaCl; 16,3% anziché 44,8% a 60 mM).

Bisogna tenere comunque presente come, anche dopo l'applicazione di Si, l'area fogliare complessiva delle piante sottoposte a stress salino si sia mantenuta inferiore a quella delle stesse piante non stressate.

Inoltre, nelle tesi non saline, le piante trattate con Si hanno mostrato aree fogliari mediamente più ridotte.

V. 3. 6 – Contenuto di Na, Cl e K nei tessuti delle piante

Le concentrazioni di Na, sia nelle foglie che nelle radici, sono state notevolmente maggiori nelle tesi che prevedevano irrigazione con acqua salina, sia in presenza che in assenza di Si (Tab.1). Pur tuttavia l'applicazione di Si ha ridotto significativamente il contenuto di Na in entrambi gli organi, per tutti i livelli di salinità. La riduzione del contenuto di questo elemento rispetto alle tesi Si- è stata in media lievemente più marcata nelle foglie che non nelle radici. In generale, la riduzione maggiore nella concentrazione di Na ad opera del Si si è verificata in assenza di trattamento salino. Va notato inoltre come la concentrazione del Na nelle radici sia risultata in media maggiore di quella nelle foglie.

Il contenuto in Cl è aumentato sia nelle foglie che nelle radici all'incremento della concentrazione del NaCl nell'acqua di irrigazione, con un'allocazione preferenziale dello ione nelle radici (Tab.3). Inoltre l'applicazione di Si nella soluzione nutritiva non ha modificato significativamente il livello di Cl nelle foglie né nelle radici.

L'esposizione allo stress salino ha avuto in generale l'effetto di abbassare la concentrazione di K in foglie e radici, effetto che ha teso a manifestarsi con maggior intensità in quest'ultimo organo (Tab.2). Infatti, in assenza di Si, passando da 0 a 30 mM NaCl e da 30 a 60 si sono avute riduzioni in concentrazione di K rispettivamente del 15,8% e del 35,8% nelle foglie e del 29,9% e del 48,4% nelle radici. L'applicazione di Si ha contribuito a limitare questa riduzione, e ancora una volta il suo effetto si è manifestato più fortemente a livello delle radici. Per esempio, a 60 mM NaCl, l'incremento in K apportato dal Si rispetto alle piante non trattate con esso è stato del 59,3% nelle radici contro un 28,6% nelle foglie. A 30 mM NaCl, per converso, la differenza d'intensità dell'effetto del Si su foglie e radici è stata più blanda.

V. 3. 7 – Grafici e Tabelle

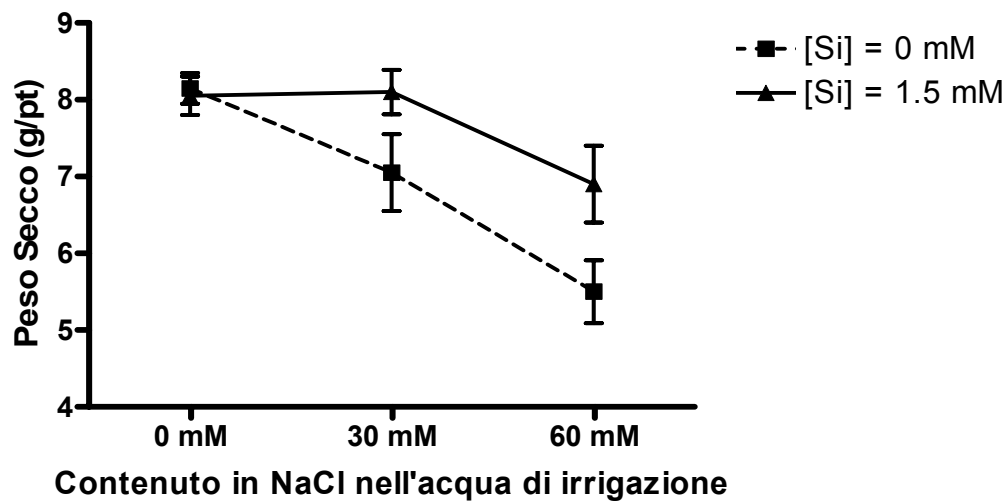


Fig.1 - Produzione di biomassa secca della parte aerea delle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

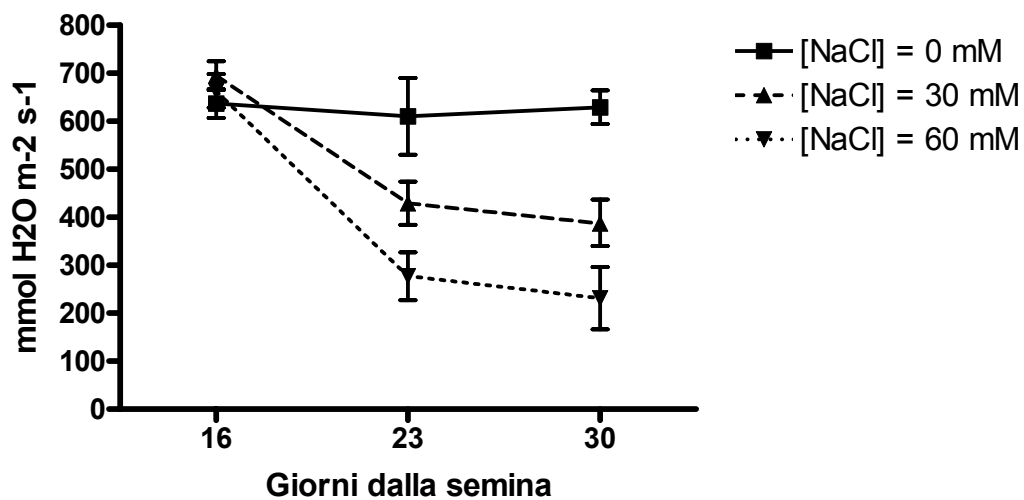


Fig.2 - Andamento della conduttanza stomatica nel tempo per le piante di fagiolo non sottoposte a somministrazione di Si.

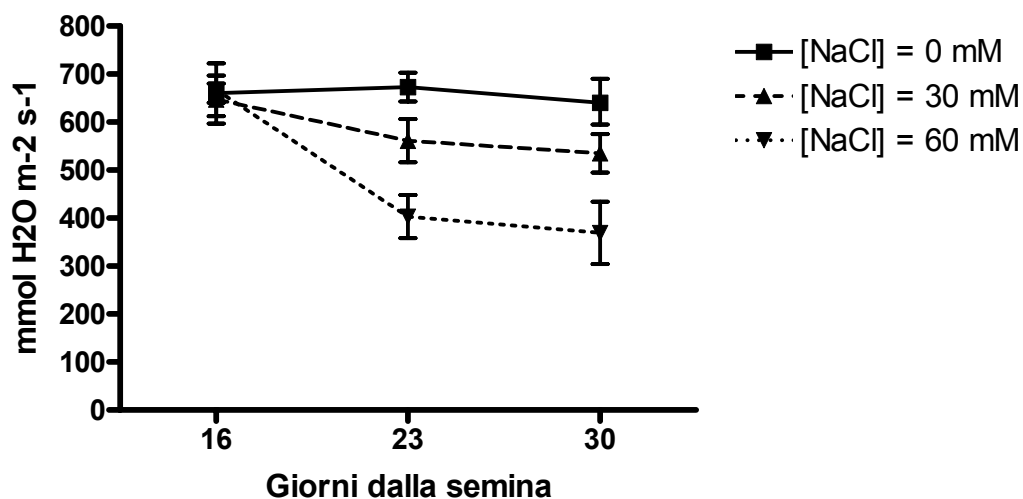


Fig.3 - Andamento della conduttanza stomatica nel tempo delle piante di fagiolo sottoposte a somministrazione di Si.

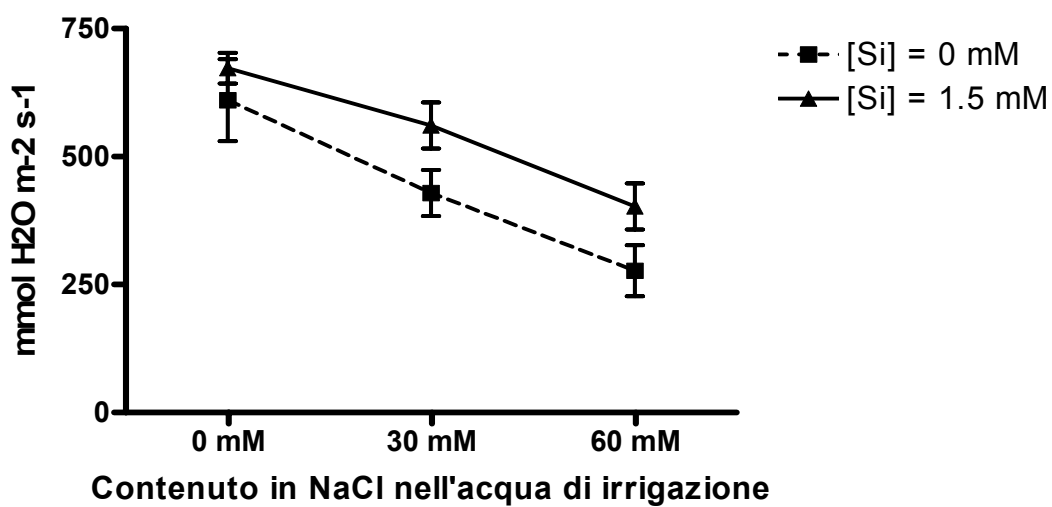


Fig.4 - Conduttanza stomatica a 7 giorni dall'inizio dell'irrigazione con acqua salina nelle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

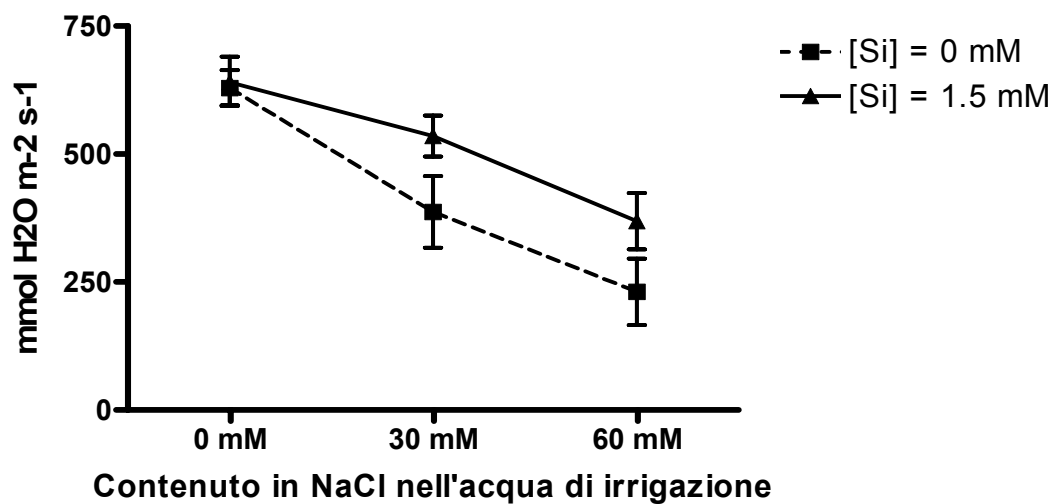


Fig.5 - Conduttanza stomatica a 14 giorni dall'inizio dell'irrigazione con acqua salina nelle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

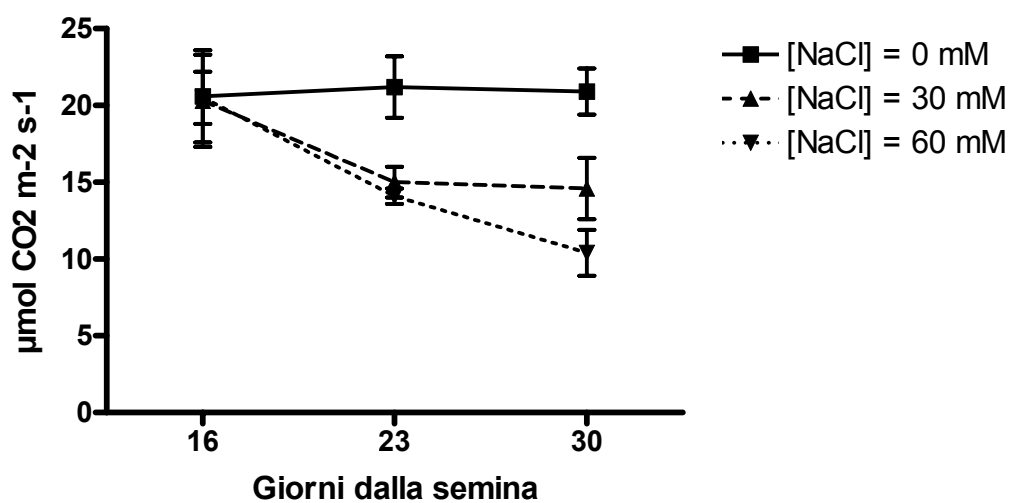


Fig.6 - Andamento del tasso di fotosintesi nel tempo per le piante di fagiolo non sottoposte a somministrazione di Si.

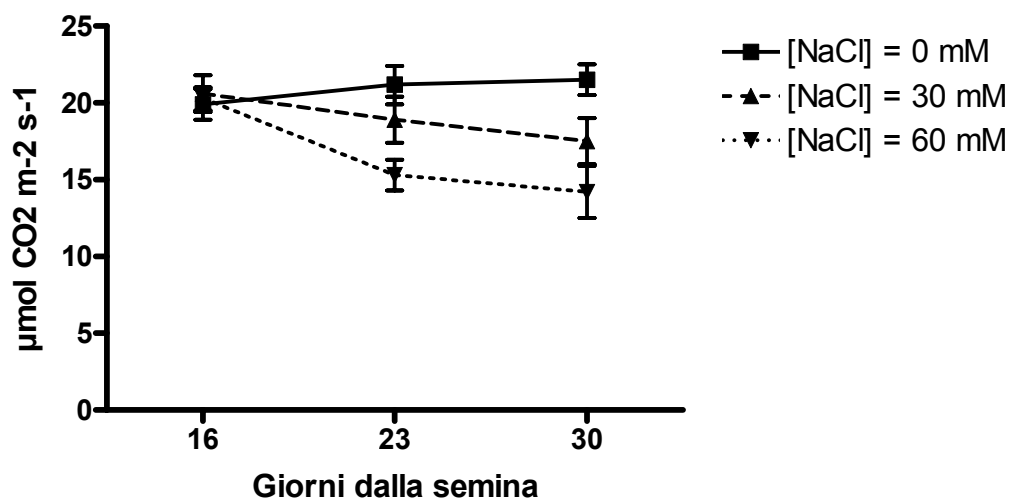


Fig.7 - Andamento del tasso di fotosintesi nel tempo per le piante di fagiolo sottoposte a somministrazione di Si.

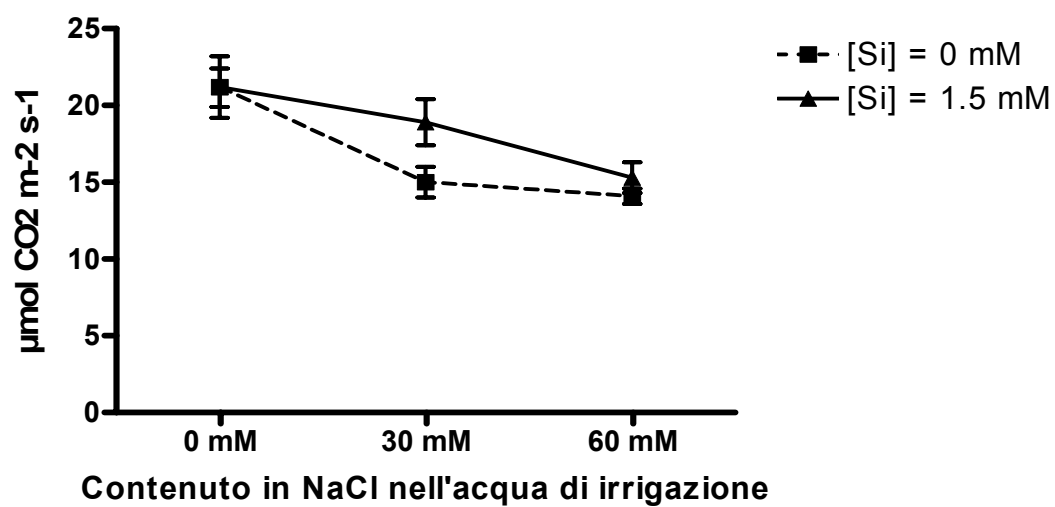


Fig.8 - Tasso di fotosintesi a 7 giorni dall'inizio dell'irrigazione con acqua salina nelle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

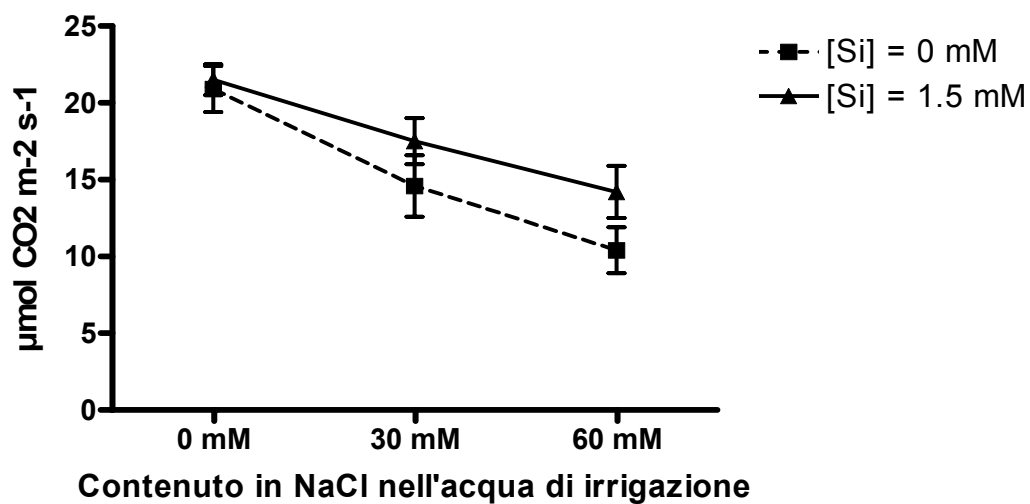


Fig.9 - Tasso di fotosintesi a 14 giorni dall'inizio dell'irrigazione con acqua salina nelle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

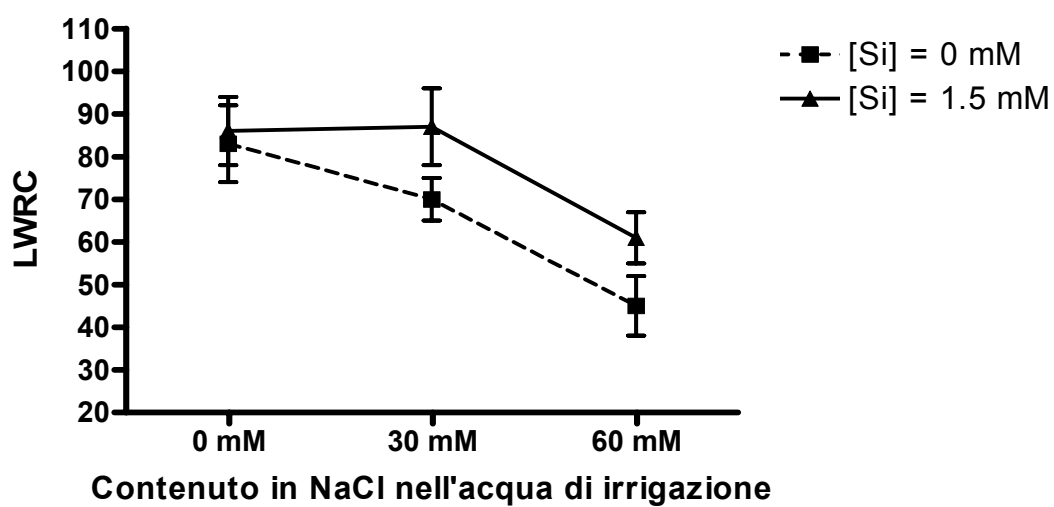


Fig.10 - Livello di turgore fogliare (LWRC) a fine prova per le piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

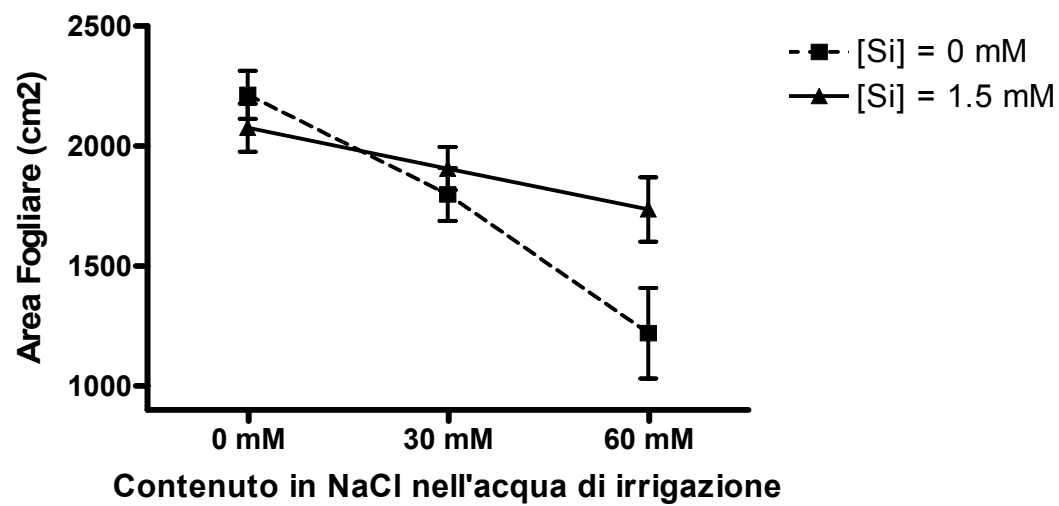


Fig.11 - Area fogliare a fine prova delle piante di fagiolo sottoposte o non a somministrazione di Si.

*: I valori della stessa colonna contrassegnati dalla medesima lettera **minuscola**, e della stessa riga contrassegnati dalla medesima lettera **maiuscola**, non sono tra di loro statisticamente differenti per $p < 0.05$, secondo il test di Duncan

NaCl nell'acqua di irr.	Contenuto in Na ($\mu\text{mol} / \text{g di s.s.}$)			
	Si = 0 mM		Si = 1,5 mM	
	Foglie	Radici	Foglie	Radici
0 mM	130cA*	78cB	52cBC	45cC
30 mM	360bB	480bA	201bC	303bB
60 mM	740aB	957aA	413aC	790aB

Tab.1 – Contenuto in Na in foglie e radici per le varie tesi.

NaCl nell'acqua di irr.	Contenuto in Cl (mmol / g di s.s.)			
	Si = 0 mM		Si = 1,5 mM	
	Foglie	Radici	Foglie	Radici
0 mM	0,22cA	0,07cC	0,19cA	0,11cB
30 mM	1,06bA	0,43bB	1,12bA	0,4bB
60 mM	2,01aA	0,81aB	1,94aA	0,75aB

Tab.2 – Contenuto in Cl in foglie e radici per le varie tesi.

NaCl nell'acqua di irr.	Contenuto in K (mmol / g di s.s.)			
	Si = 0 mM		Si = 1,5 mM	
	Foglie	Radici	Foglie	Radici
0 mM	1,2aB	1,57aA	1,14aB	1,53aA
30 mM	1,01abB	1,16bAB	1,07abB	1,4abA
60 mM	0,77bB	0,81cB	0,99bAB	1,29bA

Tab.3 – Contenuto in K in foglie e radici per le varie tesi.

V. 4 – DISCUSSIONE

Dalla ricerca è emerso che l'aggiunta di Si all'acqua di irrigazione in piante sottoposte a stress salino consente miglioramenti a livello di crescita e di importanti parametri ecofisiologici strettamente correlati con quest'ultima, quali conduttanza stomatica, tasso fotosintetico e stato idrico della foglia, nonché una riduzione dell'ingresso di Na e Cl nei tessuti della pianta. La spiegazione più plausibile è che questi effetti siano stati conseguiti a seguito del parziale bloccaggio del flusso apoplastico (*bypass flow*), responsabile dell'ingresso della maggior parte del Na nella pianta. Si tratta della componente di flusso traspiratorio che si muove a livello intercellulare, e che di fatto non attraversa mai le membrane. Esso costituisce una porzione molto ridotta (1-5%) del flusso traspiratorio complessivo, ma è responsabile dell'ingresso della maggior parte del Na nella pianta (Yeo & Flowers, 1987; Yadav, Flowers and Yeo, 1996; Garcia *et al.*, 1997). Queste ultime due circostanze fanno sì che, anche qualora il *bypass flow* venisse completamente bloccato, ciò non limiterebbe in maniera rilevante l'aumento di volume traspiratorio totale, risultante dall'incremento in conduttanza stomatica promosso dalla ridotta concentrazione di Na nelle foglie. Le basi fisiche di questo *pathway* apoplastico non sono ancora ben chiare, ma la letteratura suggerisce come esso avvenga al livello degli apici radicali, nella zona in cui la differenziazione tra rizoderma ed endoderma non è ancora completata, e nei punti in cui la formazione di radici laterali crea fratture in entrambe le strutture (Bell & McCully, 1970; Dumbrof & Pierson, 1971).

Il Si può essere un componente strutturale delle pareti delle cellule vegetali (Raven, 1983), e in alcune specie ne sono state registrate alte concentrazioni al livello dell'endoderma radicale, soprattutto nella parte interna della parete (Parri & Soni, 1972; Sangster, 1978). L'ipotesi è pertanto che il Si migliori l'integrità dell'endoderma tramite deposizione, limitando così drasticamente la portata del flusso apoplastico e conseguentemente l'ingresso di Na nella pianta.

Dalla prova è emerso come il Si non esercita alcuna influenza sullo sviluppo delle piante e sui loro parametri fisiologici qualora sia somministrato in piante non sottoposte a stress. Questo risultato concorda con quello di Matoh *et al.* (1986) che dimostrarono come l'applicazione di Si, in assenza di stress salino, non incrementasse significativamente il tasso

di crescita, nemmeno là dove il contenuto in Si nella parte aerea risultava 50 volte superiore.

La ricerca ha evidenziato come il tasso di assimilazione fotosintetica del carbonio rispetto al controllo si accompagni a una riduzione della conduttanza stomatica, così che è possibile tracciare una correlazione tra i due fenomeni. In particolare, si può dedurre come la riduzione della conduttanza stomatica, generata dall'insorgenza di stress salino, sia direttamente responsabile di una quota rilevante della complessiva riduzione del tasso di fotosintesi netta della pianta, come già riportato da altri Autori (Yeo, Caporn and Flowers, 1985; Brugnoli & Lauteri, 1991). D'altra parte, l'applicazione di Si in condizioni saline incrementa i valori di entrambi i suddetti parametri, così che il maggior tasso di assimilazione fotosintetica del carbonio può essere in buona parte spiegato con la più alta conduttanza stomatica. Sono state avanzate ulteriori teorie, per spiegare completamente l'incremento nella capacità di assimilazione fotosintetica in piante sottoposte a stress salino a cui era stato somministrato il Si: un'ipotesi, al momento non supportata da prove, è ad esempio che eventuali corpuscoli di Silice, che si possono accumulare nella foglia, fungano da "finestre" in grado di incrementare il trasporto di luce al mesofillo (Agarie *et al.*, 1998).

Se si confrontano i dati di produzione di biomassa secca con quelli di area fogliare, si nota come in condizioni saline il Si incrementi più consistentemente la prima che non la seconda. La spiegazione più probabile è che lo stress salino, in assenza di Si, agisca sulla pianta limitandone la crescita sia a livello di biomassa totale che di numero e dimensione delle foglie, e che l'applicazione di Si riequilibri invece parzialmente questo deficit, agendo più intensamente sulla biomassa prodotta che non sulla dimensione delle foglie, di cui ne aumenta l'efficienza fotosintetica, e in particolar modo la "*water use efficiency*" (Bursleim *et al.*, 1996). Sembra pertanto che l'applicazione di Si potenzi la capacità della pianta di operare questa forma di adattamento, in base anche a quanto riferito da Yeo *et al.* (1999) su riso.

In conclusione l'utilizzo del Silicio si è dimostrato positivo per ridurre lo stress salino, soprattutto tramite una riduzione dell'accumulo del Na nelle foglie, e la sua capacità di mantenere i tessuti fogliari a uno stato di equilibrio idrico, con conseguente miglioramento della capacità fotosintetica che si riflette nell'aumento di produzione di biomassa secca. Parametri fisiologici, quali la conduttanza stomatica, il tasso di assimilazione fotosintetica e il turgore fogliare, sono apparsi idonei a indicare il grado di stress di una pianta.

VI – CONCLUSIONI

Tutte le strategie indagate nel corso di questa ricerca possono determinare una riduzione dello stress salino, purché la loro applicazione avvenga secondo ben precise modalità.

La consociazione con piante alofite, infatti, ha consentito il conseguimento di maggiori rese e di un minor contenuto in ioni Na e Cl nelle piante di pomodoro allevate in condizioni di salinità, ma ha mostrato come si possano presentare effetti di eccessiva competizione da parte delle alofite ai danni dell'ortiva principale, con conseguente inefficacia dell'applicazione di questa tecnica. Tali effetti si manifestano quando la crescita dell'alofta in consociazione risulta troppo rapida e vigorosa, di modo che il volume di terreno esplorato dal suo apparato radicale diventa eccessivo, e accanto all'azione di uptake di sali tossici dalla soluzione circolante si associa un significativo assorbimento di nutrienti che vengono sottratti alla coltura principale. Il risultato di questo fenomeno può essere che l'effetto negativo della competizione nutrizionale sia maggiore di quello positivo della riduzione dello stress salino, così che l'ortiva può presentare, in consociazione, rese addirittura minori di quelle che si registrano in condizioni saline senza consociazione. Ovviare in parte a questo inconveniente può essere possibile ponendo particolare attenzione ai tempi di trapianto dell'ortiva e di semina delle piante alofite, per fare in modo che i rispettivi tempi di sviluppo siano compatibili con una crescita ottimale della coltura principale.

L'infezione con inoculo micorrizico ha dato risultati soddisfacenti in entrambi gli esperimenti in cui questa tecnica è stata applicata. Inoltre si è visto come gli effetti benefici di questa simbiosi siano particolarmente evidenti per alti livelli di salinità, e invece come per bassi carichi salini non si verificano consistenti aumenti delle rese. Questo comporta pertanto che il fungo utilizzato possa resistere a notevoli livelli di salinità. C'è quindi l'esigenza di selezionare dei ceppi fungini resistenti a condizioni elevate di questo tipo di stress. A tal proposito, Copeman *et al.* (1996) hanno confrontato, ai fini della simbiosi con piante agrarie sottoposte a stress salino, ceppi di funghi micorrizici provenienti da terreni più o meno salini, dimostrando come i primi presentassero una maggiore efficacia nell'indurre resistenza alla salinità nell'ortiva e nel perdurare nel tempo di tale effetto. Può costituire quindi un valido campo di ricerca quello volto a identificare – o selezionare – ceppi fungini adattati alla salinità, in modo da massimizzare i benefici che si possono ottenere dall'applicazione della simbiosi. A proposito di questa tecnica occorre inoltre aggiungere che, secondo Giovannetti *et al.* (dati non pubbl.), non tutte le specie e le cultivar agrarie hanno la medesima ricettività a

subire l'infezione da parte di funghi micorrizici. In particolare, secondo i detti Autori, sono meno suscettibili all'infezione le varietà di specie ottenute da selezioni particolarmente intensive, come avviene, ad esempio, per il pomodoro, mentre le cultivar più rustiche mostrano una migliore attitudine ad essere colonizzate. Infine, dalle prove è emerso come esistano forti interazioni tra il livello di fertilizzazione applicato e l'effetto dell'infezione micorrizica. Alti livelli di fertilizzazione possono contrastare lo stress salino quasi con la stessa efficacia dell'inoculo micorrizico, ma un'effettiva sinergia tra le due tecniche non si verifica indifferentemente in tutti i casi della loro applicazione congiunta. Ciò può dipendere infatti dall'entità del carico salino, dalle caratteristiche della specie e dalla natura della sua simbiosi col fungo. Il ricorso ad una fertilizzazione abbondante, può, infatti in certi casi addirittura ridurre il livello d'infezione, e pertanto prima di ricorrere all'impiego congiunto di queste due tecniche non si può prescindere da un'attenta sperimentazione.

L'applicazione di sali di Silicio si è dimostrata la tecnica con le minori controindicazioni, consentendo un aumento della crescita e un abbattimento della concentrazione di Na nei tessuti delle piante sottoposte a diversi livelli di stress salino. E' risultato come tale tecnica permetta di mantenere il livello di turgore fogliare, del volume di traspirazione e di efficienza fotosintetica a livelli superiori a quelli delle piante senza applicazione di Si. Rendono inoltre particolarmente conveniente questa tecnica l'economicità e la semplicità di utilizzo. E' tuttavia necessario tenere conto del rischio che prolungati periodi di somministrazione di sali di Silicio possano dare problemi di eccessiva salinizzazione del terreno.

In conclusione è evidente che la ricerca in questo settore non ha dato ancora risultati molto rilevanti. Interessanti, ai fini della riduzione dello stress salino, potrebbero essere ricerche che riguardino l'impiego di genotipi più tolleranti, insieme all'applicazione congiunta di più strategie agronomiche

VII - BIBLIOGRAFIA

Achillea O., 2003. Salinity-Induced Stress in Greenhouse Crops is Alleviated by Potassium Nitrate – Enhanced Nutrition. *Acta Horticulturae* 609: 341-348.

Al Karaki G. N. and Al Raddad A., 1997. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Mycorrhiza* 7: 87-88.

Al Karaki G. N. and Hammad R., 2001. Mycorrhizal influence on fruit yield and mineral content of tomato grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 24 (8): 1311-1323.

Al Karaki G. N., Hammad R., Rusan M., 2001. Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza* 11 (1): 43-47.

Alarcon J. J., Sanchez-Blanco M. J., Bolarin M. C., Torrecillas A., 1994. Growth and osmotic adjustment of two tomato cultivars during and after saline stress. *Plant & Soil* 166: 75-82.

Albaho M. S. and Green J., 2000. *Suaeda salsa*, a desalinating companion plant for greenhouse tomato. *Hort Sci.* 35: 620-623.

Alian A., Altman A., Heuer B., 2000. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. *Plant Sci.* 152: 59-65.

Allen M. F., 1991. The ecology of mycorrhizae. Ed. Cambridge University Press.

Allen M. F., Boosalis M. G., 1983. Effects of 2 species of VA-mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter-wheat. *New Phytol.* 93 (1): 67-76.

Altman A., 1999. Plant biotechnology in the 21st century: the challenges ahead. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol.2, n.2.

Auge R., 2001. International Directory of Mycorrhizologists. *Mycorrhiza* 11 (2): 115-116.

Auge R. M. and Stodola J. W., 1990. An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of droughted rose plants. *New Phytol.* 115 (2): 285-295.

Austenfild F. A., 1976. The effect of various alkaline salt in the glycolate oxidase of *Salicornia europaea* and *Pisum sativum* in vitro. *Plant Physiol.* 36: 82-87.

Ayers R. S. and Westcot D. W., 1985. Water quality for agriculture. FAO irrigation and drainage paper 29, Rome.

Azcon R. and ElAtrash F., 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth, nodulation and N₂ fixation (N¹⁵) in *Medicago sativa* at four salinity levels. *Biology and fertility of soils* 24 (1): 81-86.

Azcon R., Gomez M., Tobar R., 1996. Physiological and nutritional responses by *Lactuca sativa* L. to nitrogen sources and mycorrhizal fungi under drought conditions. *Biol. Fert. Soils* 22 (1-2): 156-161.

Azcon R., Rubio R., Barea J. M., 1991. Selective interactions between different species of mycorrhizal fungi and *Rhizobium meliloti* strains, and their effects on growth, N₂-fixation (N¹⁵) and nutrition of *Medicago sativa* L. *New Phytol.* 117 (3): 399-404.

Bagyaraj D. J., 1984. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. In: VA Mycorrhizas. C.L. Powell and D.J. Bagyaraj, es. CRC Press, Boca Raton, pp.131-153.

Baille A., Kittas C., Katsoulas N., 2001. Influence of whitening on greenhouse microclimate and crop energy partitioning. *Agr. and For. Meteor.* 107: 293-306.

Baker A., Sprent J. I., Wilson J., 1995. Effects of sodium chloride and mycorrhizal infection on the growth and nitrogen fixation of *Prosopis juliflora*. *Symbiosis* 19 (1): 39-51.

Banòn S., Ochoa J., Martínez J. A., Fernández J. A., Franco J. A., Sánchez-Blanco M. J., Alarcón J. J., Morales M. A., 2003. Paclobutrazol as aid to reducing the effects of salt

stress in *Rhamnus alaternus* seedlings. Acta Horticulturae 609: 263-268.

Bar Y., Apelbaum A., Kafkafi U., Goren R., 1997. Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. J. Plant Nutr. 20: 715-731

Barbieri G., De Pascale S., 1992. Salinità dell'acqua di irrigazione e colture ortofloricole. Colture Protette n.2.

Barcelo J., Guevara P., Poschenrieder Ch., 1993. Silicon amelioration of aluminium toxicity in teosinte (*Zea mays* L. ssp. Mexicana). Plant Soil 154: 249-255.

Barea J. M., 1991. *Vesicular Arbuscular Mycorrhizae as Modifiers of Soil Fertility*; Springer-Verlag: New York.

Bayuelo-Jiménez J. S., Debock D. G., Lynch J. P., 2002. Growth, gas exchange, water relations and ion composition of *Phaseolus* species grown under saline conditions. Field Crops Research 80: 207-222.

Becker M., Diekmann K. H., Ladha J. K., 1991. Effect of NPK on growth and nitrogen-fixation of *Sesbania rostrata* as a green manure for lowland rice (*Oryza sativa* L.). Plant Soil 132 (1): 149-158.

Bell J. J. and McCully M. E., 1970. A histological study of lateral root initiation and development in *Zea mays* L. Protoplasma B 22: 179–205.

Ben-Asher J. and Pacardo E., 1997. K uptake by root system grown in saline soil: a conceptual model and experimental results. pp. 360-369. In: A. E. Johnston (eds.), Food Security in the WANA Region, the Essential Need for Balanced Fertilization. International Potash Institute, Basel, Switzerland.

Bernstein L., 1961. Osmotic adjustments of plants to saline media. I. Steady State. Am. J. Bot. 48: 909-918.

Bernstein L., 1975. Effects of salinity and sodicity on plant growth. *Ann. Rev. Plant Pathol.* 13: 295-320.

Berta G., Fusconi A., Trotta A., 1993. VA mycorrhizal fungi and even-aged seedlings of two perennial Fabaceae species. *Oecologia* 91: 281-287.

Biermann, B. and Linderman R. G., 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles, and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytologist* 95: 97-105.

Biles C. L., Martyn R. D., Wilson H. D., 1989. Isozymes and general proteins from various watermelon cultivars and tissue types. *HortScience* 24: 810-812.

Bingham F. T. and Garber M. J., 1970. Zonal salinization of the root system with NaCl and boron in relation to growth and water uptake of corn plants. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34: 122-126.

Bolan N. S., Robson A. D., Barrow N. J., 1987. Effect of VAM on the availability of iron phosphates to plants. *Plant Soil* 99: 401-410.

Botrini L., Lipucci di Paola M., Graifenberg A., 2000. Potassium affects sodium content in tomato plants grown in hydroponic cultivation under saline-sodic stress. *HortScience* 35 (7): 1220-1222.

Boyer J. S., 1975. Effect of osmotic water stress on metabolic rates of cotton plants with open stomata. *Plant Physiol.* 40: 229-234.

Bradbury M. and Ahmad R., 1990. The effect of silicon on the growth of *Prosopis juliflora* growing in saline soil. *Plant Soil* 125: 71-74.

Brown M. S., Thamsurakul S., Bethlenfalvay G. J., 1988. The *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis VII. Phosphorus-use efficiency of CO₂ and N₂-fixation in mycorrhizal soybean. *Physiologia Plantarum* 74: 159-163.

Brugnoli E. and Lauteri M., 1991. Effects of salinity on stomatal conductance,

photosynthetic capacity and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C₃ non-halophytes. *Plant Physiol.* 95: 628-635.

Cachorro P., Ortiz A., Cerda A., 1993. Growth, water relations and solute composition of *Phaseolus vulgaris* L. under saline conditions. *Plant Sci* 95: 29-32.

Cachorro P., Martinez R., Ortiz A., Cerda A., 1995. Absciscic acid and osmotic relations in *Phaseolus vulgaris* L. shoots under salt stress. *J. Plant Growth Reg.* 14: 99-104.

Cantrell I. C. and Linderman R. G., 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil* 233 (2): 269-281.

Cao J. and Govindjee, 1990. Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1015: 180-185.

Carrasco-Rodriguez J. L. and del Valle-Tascon S., 2001. Impact of elevated ozone on chlorophyll a in field-grown oat (*Avena sativa*). *Environ. Exp. Bot.* 45: 133-142.

Cherif, M., Asselin, A., Belanger, R. R., 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology* 84: 236–242.

Cohen Y., Fuchs M., Li Y., Grawa A., Dayan E., 2003. Reducing transpiration by an evaporative pad to delay solute accumulation in closed-loop fertigation systems. *Acta Horticulturae* 609: 173-180.

Cohen S., Offenbach R., Suriano S., Aloni B., Karni L., Bar-Tal A., Keinan M., Maduel A., 2003. Managing of circulated nutrient solutions with saline water for pepper cultivation. *Acta Horticulturae* 609: 349-354.

Copeman R. H., Martin C. A., Stutz J. C., 1996. Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or nonsaline soils. *Hortscience* 1996 31 (3): 341-344.

Cowan I. R. and Farquhar G. D., 1977. Stomatal function in relation to leaf metabolism and

environment. Symp. Soc. Exp. Biol. 31: 471-505.

Cuartero J. and Fernàndez-Munoz R., 1999. Tomato and salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 83-125.

Danneberg G., Latus C., Zimmer W, Hundeshagen B., Schneider-Poetsch H. J., Bothe H., 1992. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on phytohormone balances in maize (*Zea mays* L.). *J. Plant Physiol.* 141: 33-39.

Davies F. T., Potter J. R., Linderman R. G., 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration - response in gas-exchange and water relations. *Physiol. Plantarum* 87 (1): 45-53.

Dayan E., Fuchs M., Plaut E., Presnov A., Grava E., Matan A., Solphoy U., Mugira U., Pines N., 2000. Cooling of roses in greenhouses. *Acta Hort.* 534: 351-360.

Dixon R. K., Garg V. K., Rao M. V., 1993. Inoculation of *Leucaena* and *Prosopis* seedlings with *Glomus* and *Rhizobium* species in saline soil: Rhizosphere relations and seedling growth. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 7 (2): 133-144.

Dumbroff E. B. and Pierson D. R., 1971. Probable sites for passive movement of ions across the endodermis. *Canadian Journal of Botany* 22: 35-38.

Economakis C. and Daskalaki A., 2003. Effect of potassium nutrition on yield and quality of tomato plants grown with nutrient film technique under sodium chloride saline conditions. *Acta Horticulturae* 609: 337-340.

El Kashab A. M., El Sammak A. F., Elaidy A. A., Salama M. I., Rieger M., 1997. Paclobutrazol reduces some negative effects of salt stress in peach. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (1): 43-46.

Epstein E., 1983. Crops tolerance of salinity and other stresses. In *Symposium on Better Crops for Food*. Eds. J. Nubent and M. O'Connor. pp. 61-82. Pitman, London, UK.

- Epstein E., 1994.** The anomaly of silicon in plant biology. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 11–17.
- Epstein, E., 1999.** Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 641–664.
- Evans H. J. and Sorger J. G., 1996.** Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. *Ann Rev. Plant Physiol.* 17: 47-77.
- Fadzilla N. M., Finch R. P., Burdon R. H., 1997.** Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *J. Exp. Bot.* 48: 325–331.
- Farina E., Allera C., Paterniani T., Palagi M., 2003.** Mulching as a technique to reduce salt accumulation in soilless culture. *Acta Horticulturae* 609: 459-466.
- Feigin A., 1985.** Fertilization management of crops irrigated with saline water. *Pl. Soil* 82: 285-299.
- Feng G., Zhang F. S., Li X. L., 2002.** Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12 (4): 185-190.
- Fernàndez-García N., Cerdà A., Carvajal M., 2003.** Grafting, a useful technique for improving salinity tolerance of tomato? *Acta Horticulturae* 609: 251-256.
- Flowers T. J., Hajibagheri M. A., Clipson T., 1986.** Halophytes. *Q. Rev. Biol.* 61: 313.
- Foolad M. R., 2004.** Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato. *Plant cell tissue and organ culture* 76 (2): 101-119.
- Forster B. P., Pakniyat H., Macaulay M., Matheson W., Phillips M. S., Thomas W. T. B., Powell W. 1994.** Variation in the leaf sodium content of the *Hordeum vulgare* (barley) cultivar Maythorpe and its derived mutant cv. Golden Promise. *Heredity* 73: 249–253.
- Gallagher J. K., 1985.** Halophytic crops for cultivation at seawater salinity. *Plant Soil* 89: 323-336.

Garcia A., Rizzo C. A., Ud-Din J., Bartos S. L., Senadhira D., Flowers T. J., Yeo A. R., 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium:potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant, Cell and Environment* 22: 1167–1174.

García-Garrido J. M. and Ocampo J. A., 2002. Regulation of plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *J. Exp. Bot.* 53 (373): 1377-1386.

Gerdemann J. W., 1968. Vescicular-arbuscular mycorrhizae and plant growth. *Annual Review of Phytopathology* 6: 397-418.

Ghorbanli M., Ebrahimzadeh H., Sharifi M., 2004. Effects of NaCl and mycorrhizal fungi on antioxidative enzymes in soybean. *Biol. Plantarum* 48 (4): 575-581.

Gieling T. H. and Van Os E. A., 1994. Monitoring and control of quality by means of water supply and nutrient application. *Worksh. Le coltivazioni a ciclo chiuso, Capannori.*

Giovannetti M., Fortuna P., Citernesi A. S., 2001. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytol.* 151 (3): 717-724.

Giovannetti M. and Mosse B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vescicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.

Giri B., Kapoor R., Mukerji K. G., 2002. VA mycorrhizal techniques VAM technology in establishment of plants under salinity stress conditions. In: *Techniques in mycorrhizal studies*, pp. 313-327.

Giri B. and Mukerji K., 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza* 14 (5): 307-312.

Giuffrida F. and Lipari V., 2003. Leaching irrigation to prevent salt accumulation in the

substrate. *Acta Horticulturae* 609: 435-440.

Glenn E. P. and O’Leary J. W., 1985. Productivity and irrigation requirements of halophytes grown with seawater in the Sonoran Desert. *J. Arid Environ.* 9, 81-91.

Gorham J., Budrewicz E., Wyn Jones R. G., 1985. Salt tolerance in the Triticeae: growth and solute accumulation in leaves of *Thinopyrum bessarabicum*. *J. Exp. Bot.* 36: 1021–1031.

Graham J. H., 1986. Citrus mycorrhizae: potential benefits and interactions with pathogens. *HortScience* 21: 1302-1306.

Graifnberg A., Botrini L., Giustiniani L., Filippi F., Curadi M., 2003. Tomato growing in saline conditions with biodesalinating plants: *Salsola soda* L. and *Portulaca oleracea* L. *Acta Horticulturae* 609: 301-305.

Greenway H. and Munns R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 149–190.

Gupta N. and Rautaray S., 2005. Growth and development of AM fungi and maize under salt and acid stress. *Acta Agr. Scand.* 55 (2): 151-157.

Hamdy A., 1990a. Management practices under saline water irrigation. In Symposium on Scheduling of Irrigation for Vegetable Crops Under Field Conditions. *Acta Hortic.* 278 (2): 745-754.

Hamdy A., 1990b. Saline irrigation practices: Leaching management. In Proceedings of the Water and Wastewater '90 Conference, Barcelona, Spain, 10 pp.

Hammond K. E., Evans D. E., Hodson M. J., 1995. Aluminium/silicon interactions in barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Plant Soil* 173: 89-95.

Hanson B. R., 1993. Leaching. *Drought tips* n. 92-16.

Harley J. L., 1969. The biology of mycorrhiza. 2nd edition Leonard Hill, Oxford University

Press.

Hashem M. A., 2001. Problems and prospects of cyanobacterial biofertilizer for rice cultivation. *Aust. J. Plant Physiol.* 28 (9): 881-888.

Hedden P. and Hoad G. V., 1994. Growth regulators and crop productivity. pp. 173-198. In: Basra A. S. (ed.). *Mechanisms of plant growth and improved productivity. Modern approaches.* Ed. Marcel Dekker. New York, USA.

Hegde D. M., Dwivedi B. S., Babu S. N. S., 1999. Biofertilizers for cereal production in India - A review. *Indian J. Agr. Sci.* 69 (2): 73-83.

Heine H., Habben J., Ohms J. P., Duden R., 1987. Geschmack von Tomatensorten. *Gemüse* 8: 368.

Helgason T., Daniell T. J., Husband R., 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394 (6692): 431-431.

Hepaksoy S., Kilic C. C., Can H. Z., Anac D., Aksoy U., Okur B., Anach S., Ul M. A., Dorsan F., 1999. The effect of potassium fertilization and rootstock on leaf sodium content of satsuma mandarins under saline conditions. In: J Hagin and A. E. Johnson (eds.), *Nutrient Management under Salinity and Water Stress.* Technion – Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

Herrera M A, Salamanca C P, Barea J M., 1993. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified mediterranean ecosystems. *Appl. Environ. Microb.* 59 (1): 129-133.

Hernandez J. A., Corpas F. J., Gomez M., del Rio L. A., Sevilla F., 1993. Salt-induced oxidative stress mediated by active oxygen species in pen leaf mitochondria. *Physiologia Plantarum* 89: 103–10.

Hoagland D. R. and Arnon D. I., 1950. The water culture method for growing plants without soil, *Calif. Expt. Sta. Circ.* 347: 1–39.

Horiguchi T., 1988. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants. IV. Effects of silicon on alleviation of manganese toxicity of rice plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* 1: 65–73.

Horst W. J., Marschner H., 1978. Effect of silicon and manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil* 50: 287–303.

Inanaga S. and Okasaka A., 1995. Calcium and silicon binding compounds in cell walls of rice shoots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 41: 103-110.

Iwasaki K., Meier P., Fecht M., Horst W. J., 2002. Effects of silicon supply on apoplastic manganese concentrations in leaves and their relation to manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Plant Soil* 238: 281-288.

Jalaluddin M., 1993. Effect of VAM fungus (*Glomus intraradices*) on the growth of sorghum, maize, cotton and *Pennisetum sp.* under salt stress. *Pakistan Journal of Botany* 25 (2): 215-218.

Jindal V., Atwal A., Sekhon B. S., Singh R., 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on metabolism of mung plants under NaCl salinity. *Plant Physiology and Biochemistry* 31 (4): 475-481.

Juniper S. and Abbott L., 1993. Vesicular-Arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4 (2): 45-57

Kalidurai M. and Kannaiyan S., 1991. *Sesbania* as a biofertilizer for rice. *Bioresource Technol.* 36 (2): 141-145.

Kafkafi U., Valoras N., Letey J., 1982. Chloride interaction with nitrate and phosphate nutrition in tomato. *J. Plant Nutr.* 5: 1369-1385

Kandil M. M. A., 1997. Role of mycorrhizal fungi as a biofertilizer for wheat under salt and water stress. Thesis (M.Sc. in Soil and Water Science), Fac. of Agri., Alexandria Univ., Egypt.

Koide R. T. and Schreiner R. P., 1992. Regulation of the vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* 43: 557-581.

Kovalev V. M. and Krylova N. P., 1992. Use of halophytes to improve arid pastures. (Russian) *Sel'skokhozyaistvennsya Biol.* 4: 141

Kovda V. A., 1977. Arid land irrigation and soil fertility: problems of salinity, alkalinity, compaction. *Arid Land Irrigation in Developing Countries*. Pergamon Press, Oxford.

Kubikova E., Moore J. L., Ownley B. H., Mullen M. D., Augè R. M., 2001. Mycorrhizal impact on osmotic adjustment in *Ocimum basilicum* during a lethal drying episode. *J. Plant Physiol.* 158: 1227-1230.

Kuklev M. Y., Soloviev A. A., Karnaukhova T. V., 2003. The adaptative potential of tomato transgenic plants (*L. esculentum*) to drought and salty conditions in the greenhouse. *Acta Horticulturae* 609: 39-46.

Lazar D., 1999. Chlorophyll-a fluorescence induction. *Biochim. Biophys. Acta* 1412: 1-28.

Le Houèrou H. N., 1993. Grasslands of the Sahel. In: Coupland R. T. (ed.), *Natural Grassland, Eastern Hemisphere and Résumé. Ecosystems of the world*, Vol.8 B, pp. 197-220. Amsterdam: Elsevier Science Publisher. 556 pp.

Lee K. N., 1972. Water, growth, and politics in coastal California: the Diablo Canyon desalting facility. Water Resources Center, University of California, Berkeley. Institute of Governmental Studies, No.2, 145 pp.

Lewin J. and Reimann B. E. F., 1969. Silicon and plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20: 289-304.

Liang Y. C., Shen Q. R., Shen Z. C., Ma T. S., 1996. Effects of silicon on salinity tolerance of two barley cultivars. *J. Plant Nutr.* 19: 173-183.

Liang Y. C., Ma T. S., Li F. J., Feng Y. J., 1994. Silicon availability and response of rice and wheat to silicon in calcareous soils. *Commu. Soil Sci. Plant Anal.* 25: 2285–2297.

Liang Y. C., 1998. Effects of Si on leaf ultrastructure, chlorophyll content and photosynthetic activity in barley under salt stress. *Pedosphere* 8 (4): 289–296.

Liang Y. C., 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant Soil* 29: 217–224.

Liang Y. C., Yang C. G., Shi H. H., 2001. Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminium. *J. Plant. Nutr.* 24: 229–243.

Liang Y. C. and Ding R. X., 2002. Influence of silicon on microdistribution of mineral ions in roots of salt-stressed barley as associated with salt tolerance in plants. *Sci. China (Series C)* 45: 298–308.

Liang Y. C., Chen Q., Liu Q., Zhang W. H., Ding R. X., 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Plant Physiol.* 160: 1157–1164.

Liu Y. L., Mao C. L., Wang L. J., 1987. Advances in salt tolerance in plants. *Commun Plant Physiol* 23: 1–7.

Longstreth D. J. and Nobel P. S., 1979. Salinity effects on leaf anatomy, consequences for photosynthesis. *Plant Physiology* 63: 700-703.

Lopez C. M. L., Takahashi H., Yamazaki S., 2001. Plant-water relations of kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. *J. Agronomy & Crop Science* 188: 73-80.

Lorenzo P., 1996. Intercepción de luz, bioproductividad e intercambio gaseoso durante la ontogenia de un cultivo invernal de *Cucumis sativus*, L. Almería. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Monografías 17/96.

- Lorenzo P., Sàncnez-Guerrero M. C., Medrano E., García M. L., Caparròs I., Giménez M., 2003.** External greenhouse mobile shading: effect on microclimate, water use efficiency and yield of a tomato crop grown under different salinity levels of the nutrient solution. *Acta Horticulturae* 609: 181-186.
- Lugtenberg B. J. J., Chin-A-Woeng T. F. C., Bloemberg G. V., 2002.** Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Anton. Leeuw. Int. J. G.* 81 (1-4): 373-383.
- Luttge U. and Pitman M. G., 1976.** Transport in Plants II, Part B, Tissues and Organs, *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. II.* Springer-Verlag, Berlin.
- Lutts S., Kinet J. M., Bouharmont J., 1996.** NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78: 389–98.
- Ma J. F., 2004.** Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50 (1): 11-18.
- Ma J. F. and Takahashi E., 1993.** Interaction between calcium and silicon in water cultured rice plants. *Plant and Soil* 22: 107–113.
- Maas E. V. and Hoffmann G. J., 1977.** Crop salt tolerance - current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division, ASCE* 22: 115 - 134.
- Maas E. V. and Niemann H., 1978.** Physiology of plant tolerance to salinity. *Am. Soc. Agron.* 32: 277-299.
- Malcolm C. V., Pol J. E., 1986.** Grazing and management of saltland. *Journal of Agriculture Western Australia* vol.27 (2), pp. 59-63.
- Marschner H., 1995.** Mineral Nutrition of Higher Plants, second ed., Academic Press, London, pp. 18–30/313–363.
- Matoh T., Kairusmee P., Takahashi E., 1986.** Salt-induced damage to rice plants and

alleviation effect of silicate. Soil Sci. Plant Nutr. 32: 295–304.

Maxwell, K. and Johnson G. N., 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal of Experimental Botany 51; 345: 659-668.

Mba C. C., 1994. Field studies on 2 rock phosphate solubilizing actinomycete isolates as biofertilizer sources. Environ. Manage. 18 (2): 263-269.

McArthur D. A. J. and Knowles N. R., 1993. Influence of species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus-nutrition on growth, development, and mineral-nutrition of potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Physiol. 102 (3): 771-782.

Menzies J. G., Ehret D. L., Glass A. D. M., Helmer T., Koch C., Seywerd F., 1991. The effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginia* on *Cucumis sativus*. Phytopathology 81: 84-88.

Mergulhao A. C. E. S., Burity H. A., Tabosa J. N., Figueiredo M. V. B., Maia L. C., 2001. Influence of NaCl on *Brachiaria Humidicola* inoculated or not with *Glomus etunicatum*. Investigacion Agraria. Produccion y Proteccion Vegetales 17 (2): 219-227.

Miguel A. F., Silva A. M., Rui R., 1994. Solar Irradiation Inside a Single-span Greenhouse with Shading Screens. J. Agric. Engng. Res. 59: 61-72.

Mitchell J. P., Shennan C., Grattan R., 1991. Developmental changes in tomato fruit composition in response to water deficit and salinity. Physiol. Plant. 83, 177-185.

Mitzui S. and Takato H., 1963. Nutritional study of silicon in Gramineous crops. Part I. Soil Sci. Plant Nutr. 9: 49-53.

Mizrahi Y., Taleisnik E., Kagan-Zur V., Zohar Y., Offenbach R., Matan E., Golan R., 1988. A saline irrigation regime for improving tomato fruit quality without reducing yield. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 113 (2), 202-205.

Mohammad M. J., Malkawi H. I., Shibli R., 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi

and phosphorous fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. *Journal of Plant Nutrition* 26 (1): 125-137.

Mohammad M., Pan W., Kennedy A., 1995. Wheat response to esicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded topo-sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59: 1086-1090.

Moora M. and Zobel M., 1998. Can arbuscular mycorrhiza change the effect of root competition between conspecific plants of different ages? *Can. J. Bot.* 76 (4): 613-619.

Mosse B., 1986. Mycorrhizae in sustainable agriculture. *Biol. Agric. Hort.* 4: 191-210.

Munns R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypothesis. *Plant Cell Environ.* 16: 1107-1114.

Munns R., Schachtman D. P., Condon A.G., 1995. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 22, 561-569.

Muralev E., Nazarenko P. I., Poplavskij V. M., Kutznetsov I. A., 1997. Seawater desalination. In *Nuclear Desalinization of Seawater. Proceedings of a Symposium in Taejon, republic of Korea*, pp. 355-366. International Atomic Energy Agency, Austria, Vienna.

Nassery H. and Baker D. A., 1972. Extrusion of sodium ions by barley roots. I. Characteristics of the extrusion mechanism. *Annu. Bot* 36: 881.

Nayak S., Prasanna R., Pabby A., 2004. Effect of urea, blue green algae and *Azolla* on nitrogen fixation and chlorophyll accumulation in soil under rice. *Biol. Fert. Soils.* 40 (1): 67-72.

Nederhoff E., 1999. Effect of different day/night conductivities on blossom-end rot, quality, and production of greenhouse tomatoes. *Acta Hort.* 481: 495-502.

Nelsen C. E. and Safir G. R., 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved P nutrition. *Planta* 154: 407-413.

Newman E. I., 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology* 3: 139.

Nichols M. A., Fadallan E. F., Fisher K. J., Morgan L. M., 1995. The effect of osmotic stress on the yield and quality of tomatoes. In: International symposium on quality of fruit and vegetables: influence of pre-and post-harvest factors and technology, Chania, Greece, 20-24 sett. 1993. *Acta Horticulturae* 379: 105-111.

Nolan S. L., Ashe T. H., Martens D. C., 1982. Effect of sodium chloride levels on four foliage plants grown at two light levels. *Hort. Sci.* 17: 815-817.

Norlyn J. D., 1980. Breeding salt tolerance crop plants. In: Genetic Engineering of Osmoregulation: Impact on Plant Productivity for Food, Chemicals and Energy. (Raines D.W. *et al.* Eds.), Plenum Press, New York.

O'Leary J. W., 1984. Physiological basis for plant growth inhibition due to salinity. Food, Fiber and the Arid Lands. Mc Guinness eds. Tucson University, Arizona.

O'Leary J. W., 1986. Saline environments and halophytic crops. Proc. Intl. R. and D. Conf., Arid Lands: Today and Tomorrow, Tucson, Arizona, U.S.A., Oct. 20-25 (1985). Westview Press, Boulder, Colorado.

Okuda A. and Takahashi E., 1965. The role of silicon. In *The Mineral Nutrition of the Rice Plant*. pp 123–146. Proc. Symposium of the International Rice Research Institute. Johns Hopkins Press. Baltimore, MD.

Paleg L. G., Stewart G. R. & Bradbeer J. W., 1984. Proline and glycine betaine influence protein solvation. *Plant Physiol.* 75: 974-978.

Pande M. and Tarafdar J. C., 2002. Effect of phosphorus, salinity and moisture on VAM fungal association in neem (*Azadirachta indica* Linn.). *Symbiosis* 32 (3): 195-209.

Parry D. W. and Soni S. L., 1972. Electron-probe microanalysis of silicon in the roots of

Oryza sativa L. Annals of Botany 22: 781–783.

Penna S., 2003. Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants. Trends in Plant Science 8 (8): 355-357.

Phillips J. M. and Hayman D. S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Pirozynski K. A., Malloch D. W., 1975. Origin of land plants - matter of mycotropism. Biosystems 6 (3): 153-164.

Pitman M. G., 1984. Transport across the root and shoot/root interactions. Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement. Ed. R. C. Staples, pp. 93-123. Wiley, New York.

Pomper K. W. and Breen P. J., 1997. Expansion and osmotic adjustment of strawberry fruit during water stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122 (2): 183-189.

Price N. S., Roncadori R. W., Hussey R. S., 1989. Cotton root growth is influenced by phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol. 111: 61-66.

Rabie G.H., 2005. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and kinetin on the response of mungbean plants to irrigation with seawater. Mycorrhiza 15 (3): 225-230.

Rafi M. M. and Epstein E., 1997. Silicon deprivation causes physical abnormalities in wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Plant Physiol. 151: 497-501.

Rai L. C., Kumar H. D., Mohn F. H., 2000. Services of algae to the environment. J. Microbiol. Biotechn. 10 (2): 119-136.

Rai A. N., Soderback E., Bergman B., 2000. Cyanobacterium-plant symbioses. New Phytol. 147 (3): 449-481.

Rains D. W. and Epstein E., 1967. Sodium absorption by barley roots: its mediation by

mechanism of alkali action transport. *Plant Physiol.* 42: 319-322.

Ramage R. T., 1980. Genetic methods to breed salt tolerance in plants. In *Genetic engineering of osmoregulation: impact on plant production for food, chemicals and energy*. Eds. Rains D. W., Valentine R. C. and Hollaender A. pp. 311-318. Plenum Press, New York.

Raven J. A., 1983. The transport and function of silicon in plants. *Biological Reviews* 22: 179-207.

Read D. J., 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-390.

Reid C. P. P. and Bowen G. D., 1979. Effect of water-stress on phosphorus uptake by mycorrhizas of *Pinus radiata*. *New Phytol.* 83 (1): 103-107.

Reinecke D. M. and Bandurski R. S., 1990. Auxin biosynthesis and metabolism. In: *Plant hormones and their role in plant growth and development*. pp. 24-42. Davies P. J. (ed.). Ed. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.

Rhodas L. H., Gerdemann J. W., 1980. Nutrient translocation in VAM. In *Cellular Interactions in Symbiosis and Parasitism*; Cooks C. B., Pappas P. W., Rudolph E. D., Eds.; Ohio State University Press: Columbus, OH, 173-195.

Richards L. A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *Agriculture Handbook* nr. 60, U. S. D. A.

Rosendahl C. N., Rosendahl S., 1991. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 31 (3): 313-318.

Ruiz D., Martinez V., Cerda A., 1997. Citrus response to salinity, growth and nutrient uptake. *Tree Physiol.* 17: 141-150.

Ruiz-Lozano J. M., 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13 (6): 309-317.

Ruiz-Lozano J. M. and Azcon R., 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiol. Plant.* 95: 472-478.

Ruiz-Lozano J. M., Azcón R., Gómez M., 1996. Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiologia Plantarum* 98: 767-772.

Rydlova J. and Vosatka M., 2003. Effect of *Glomus intraradices* isolated from Pb-contaminated soil on Pb uptake by *Agrostis capillaris* is changed by its cultivation in a metal-free substrate. *Folia Geobotanica* 38 (2): 155-165.

Saha K. and Gupta K., 1999. Effect of plant growth retardants on salinity stress induced changes in sunflower (*Helianthus annuus*). *Indian J. Agri. Sci.* 69 (8): 570-574.

Salas M. C., Urrestarazu M., Lòpez J., 2003. Effect of IBA application by fertigation on melon in soilless culture. *Acta Horticulturae* 609: 225-228.

Sánchez A., 2002. Estudio comparativo de dos sistemas de sombrero (pantalla aluminizada y encalado tradicional) en cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) para ciclo de primavera. Trabajo final de carrera. Universidad de Almería. p. 107.

Sandoval-Villa M., Wood C. W., Guertal E. A., 1999. Effects of nitrogen form, nighttime nutrient solution strength, and cultivar on greenhouse tomato production. *J. Plant Nutrit.* 22: 1931-1945.

Saneoka H., Shiota K., Kurban H., Chaudary M. I., Premachandra G. S., Fujita K, 1999. Effect of salinity on growth and solute accumulation in two wheat lines differing in salt tolerance. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45: 873-880.

Sangster A. G. 1978. Silicon in the roots of higher plants. *American Journal of Botany* 22: 929-935.

Santamaria P., Susca L., Elia A., Serio F., 2003. Different day and night salinity levels, water use and yield of tomato. *Acta Horticulturae* 609: 321-328.

Sarawgi S. K., Tiwari P. K., Tripathi R. S., 1999. Uptake and balance sheet of nitrogen and phosphorus in gram (*Cicer arietinum*) as influenced by phosphorus, biofertilizer and micronutrients under rainfed condition. Indian J. Agron. 44 (4): 768-772.

Savvas D., Manos G., Kotsiras A., Souvaliotis S., 2002. Effects of silicon and nutrient-induced salinity on yield, flower quality, and nutrient uptake of gerbera grown in a closed hydroponic system. J. Appl. Bot. 76: 153-158.

Schutzendubel A. and Polle A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization J. Exp. Bot. 53 (372): 1351-1365.

Shalata A., Mittova V., Volokita M., Guy M., Tal M., 2001. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. Physiol. Plant. 112: 487-494.

Shanmugam V., Senthil N., Raguchander T., 2002. Interaction of *Pseudomonas fluorescens* with *Rhizobium* for their effect on the management of peanut root rot. Phytoparasitica 30 (2): 169-176.

Shannon M. C., 1984. Breeding, selection, and the genetics of salt tolerance. In Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement. Eds. R. C. Staples and G. H. Toenniessen. pp. 231-254. John Wiley, New York.

Shen F. F., Yin C. Y., Gao F. Z., Yu Y. J., 1996. The promotion of salt tolerance of cotton seedlings from seed soaked in MET solution. China Cottons 23 (5): 9-10.

Sifola M. I., De Pascale S., Romano R., 1995. Analysis of quality parameters in eggplant grown under saline water irrigation. In: First international symposium on solanacea for fresh market. Malaga, Spain, 28-3 March. Acta Horticulturae 412; 176-184.

Singha S. and Choudhuri M. A., 1990. Effect of salinity (NaCl) stress on H₂O₂ metabolism in *Vigna* and *Oryza* seedlings. Biochem. Physiol. Pflanz. 186: 69-74.

Srivastava A., Guissè B., Greppin H., Strasser R. J., 1997. Regulation of antennae structure and electron transport in photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll-a fluorescence transient. OKJIP. Biochim. Biophys. Acta 1320: 95- 106.

Smith S. E. and Gianinazzi P., 1988. Physiological interactions between symbionts in VA mycorrhizal plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 39: 221-224.

Smith S. E. and Read D. J., 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd edition London Academic Press.

Sorlini C., 1996. Biotechnological use of microorganisms in agriculture production and environment protection. Ann. Microbiol. Enzim. 46: 171-185.

Stamatakis A., Papadantonakis N., Lydakis-Simantiris N., Kefalas P., Savvas D., 2003. Effects of silicon and salinity on fruit yield and quality of tomato grown hydroponically. Acta Horticulturae 609: 141-148.

Strasser R. J. and Govindjee, 1992. On the O-J-I-P- fluorescence transient in leaves and D1 mutants of *Chlamydomonas Reinhardtii*. Research in Photosynthesis (Murata N., ed.), Vol. II, pp. 29-32. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Strasser R. J., Srivastava A., Govindjee, 1995. Polyphasic chlorophyll-a fluorescence transient in plants and Cyanobacteria. Photochem. Photobiol. 61: 32-42.

Strasser J. B. and Strasser R. J., 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-Test. Photosynthesis: from light to biosphere (ed. P. Mathis) Vol. V, pp. 977-980. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Subramanian K. S. and Charest C., 1999. Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. Mycorrhiza 9 (2): 69-75.

Sylvia D. M., Hammond L. C., Bennett J. M., 1993. Field response of maize to a VAM

fungus and water management. *Agron. J.* 85 (2): 193-198.

Szabolcs I., 1994. Soils and salinization. *Handbook of Plant and Crop Stress*, Ed. M. Pessarakali, Marcel Dekker, New York, pp. 3-11.

Taban S., Ozguven N., Celik H., Katkat V., 1999. Effects of potassium on macroelements distribution in maize plants grown under salt stress. p. 215-222. In: J. Hagin and A. E. Johnston (eds), *Nutrient Management under Salinity and Water Stress*. Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

Tabatabaie S. J., Gregory P. J., Hadley P., Ho L., 2003. Split root system for the use of saline water in hydroponic tomato production. *Acta Horticulturae* 609: 307-312.

Tesi R. and Graifenberg A., 1995. Nutrizione minerale e qualità dei prodotti orticoli. *Atti dell'Accademia dei Georgofili*. Anno 1995. 7° serie. Vol. XLII: 509-525.

Tian C. Y., Feng G. and Li X. L., 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Appl. Soil Ecol.* 26 (2): 143-148.

Turquois N. and Malone M., 1996. Non-destructive assessment of developing hydraulic connections in the graft union of tomato. *J. Exp. Bot.* 298: 701-707.

Van Noordwijk M. and Raats P. A. C., 1980. Drip and Drainage Systems for Rockwool Cultures in Relation to Accumulation and Leaching of Salts. *Proc. V Int. Congr. Soilless Culture*: 279-287.

Van Os E. A. and Stanghellini C., 2001. Diffusion and environmental aspects of soilless growing systems. *Italus Hortus* 8 (6): 9-15.

Venezia A., Tonini A., Piro F., Di Cesare C., Schiavi M., 2003. Water and nutrient use efficiency of tomato soilless culture as affected by irrigation method and water quality. *Acta Horticulturae* 609: 417-422.

Vessey J. K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255 (2): 571-586.

Wamberg C., Christensen S. and Jakobsen I., 2003^a. Interaction between foliar-feeding insects, mycorrhizal fungi, and rhizosphere protozoa on pea plants. *Pedobiologia* 47: 281–287.

Wamberg C., Christensen S., Jakobsen I., Müller A. K. and Sørensen S. J., 2003^b. The mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) affects microbial activity in the rhizosphere of pea plants (*Pisum sativum*). *Soil Biology & Biochemistry* 35 (10): 1349-1357.

Walter H., 1961. Salinity problems in the arid zones. The adaptation of plants to saline soils. *Arid Zones Res. (U. N. E. S. C. O.)* 14: 129-134.

Welbaun G. E., Sturz A. V., Dong Z.M., 2004. Managing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23 (2): 175-194.

Wilcox H. E., 1983. Fungal parasitism of woody plant roots from mycorrhizal relationships to plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 21: 221-242.

Willits D. H., 2001. The effect of Cloth Characteristics on the Cooling Characteristics on the Cooling Performance of External Shade Cloths for Greenhouses. *J. Agric. Engng. Res.* 79 (3): 331-340.

Wu S. C., Cao Z. H., Li Z. G., 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125 (1-2): 155-166.

Yadav R., Flowers T. J., Yeo A. R., 1996. The involvement of the transpirational bypass flow in sodium uptake by high- and low-sodium-transporting lines of rice developed through intravarietal selection. *Plant, Cell and Environment* 22: 329–336.

Yano-Melo A. M., Saggin O. J., Maia L. C., 2003. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa* sp. cv. Pacovan) plantlets to saline stress. *Agr. Ecosyst. Environ.* 95 (1): 343-348.

Yeo A. R., 1983. Salinity resistance: physiologies and prices. *Physiol. Plant.* 58: 214-222.

Yeo A. R., Caporn S. J. M., Flowers T. J., 1985. The effect of salinity on photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.): gas exchange by individual leaves in relation to their salt content. *Journal of Experimental Botany* 22: 1240–1248.

Yeo A. R., Flowers S. A., Rao G., Welfare K., Senanayake N., Flowers T. J., 1999. Silicon reduces sodium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions and this is accounted for by a reduction in the transpirational bypass flow. *Plant Cell Environ.* 22: 559–565.

Yeo A. R., Yeo M. E., Flowers T. J., 1987. The contribution of an apoplastic pathway to sodium uptake by rice roots in saline conditions. *Journal of Experimental Botany* 22: 1141–1153.

Yoshida S., Navasero S. A., Ramirez E. A., 1969. Effects of silica and nitrogen supply on some leaf characters of the rice plant. *Plant and Soil* 22: 48–56.

Zak J. C., McMichael B., Dhillon S., 1998. Arbuscular-mycorrhizal colonization dynamics of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) growing under several production systems on the Southern High Plains, Texas. *Agr. Ecosyst. Environ.* 68 (3): 245-254.

Zall M. D., Fisher D., Garner M. Q., 1956. Photometric determination of chlorides in water. *Anal. Chem.* 28: 1665-1668.

Zekri M. and Parsons L. R., 1990. Response of split root sour orange seedlings to NaCl and polyethylene glycol stresses. *J. Exp. Bot.* 41: 35-40.

Zeroni M., 1988. Plant tolerance of salinity in greenhouse. Physiological and practical considerations. *Acta Horticulturae* 229: 55-72.

Zhang H. X., Blumwald E., 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat. Biotech.* 19 (8): 765-768.

Zhang H. X., Hodson J. N., Williams J. P., Blumwald E., 2001. Engineering salt-tolerant Brassica plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98 (22): 12832-12836.

Zhao K. F., 1991. Desalination of saline soils by *Suaeda salsa*. Plant Soil 135: 303-325.

Zuriak R. A., Koury N. F., Talhouk S. N., Baalbak R. Z., 2001. Salinity heavy metal interactions in four salt-tolerant plant species. J. Plant Nutrit. 24: 1773-1786.

Desidero ringraziare il Prof. Alberto Graifenberg e il Dott. Luca Botrini per la guida datami in questo lavoro, nonché il Dott. Ferruccio Filippi, il Dott. Lorenzo Giustiniani e tutto il personale del Dip. Di Biologia delle Piante Agrarie.

Ringrazio inoltre il Dott. Tony Davy e Mr. Stephen Lambert della School of Biology della University of East Anglia (Norwich, UK) per la professionalità e per aver reso (tra gli altri) il mio soggiorno all'estero più che speciale.

E ringrazio Sissi per quel caffè.