



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA TUSCIA
VITERBO

Dipartimento di Produzione Vegetale

Dottorato di ricerca in ortoflorofrutticoltura A. A. 2008/2009 - Ciclo XXII

Tesi di Dottorato

Applicazione di miscele fertilizzanti composte da funghi micorrizici arbuscolari e concimi organici, di substrati innovativi e di tecniche di rigenerazione *in vitro* per l'ottenimento di una produzione di piante di pelargonio di qualita'.

AGR/04

Coordinatore

Prof. Alberto Graifenberg

Tutor

Dott.ssa Elvira Rea

Dott.ssa Mariateresa Cardarelli

Dottorando

Dott.ssa Monica Tullio

APPLICAZIONE DI MISCELE FERTILIZZANTI COMPOSTE DA FUNGHI MICORRIZICI ARBUSCOLARI E CONCIMI ORGANICI, DI SUBSTRATI INNOVATIVI E DI TECNICHE DI RIGENERAZIONE IN VITRO PER L'OTTENIMENTO DI UNA PRODUZIONE DI PIANTE DI GERANIO DI QUALITA'.

RIASSUNTO

Il settore della floricoltura, caratterizzato da una forte stagionalità sul singolo prodotto dovuta ai periodi di fioritura e di crescita, specifici per ciascuna specie botanica, copre un ampio spettro di prodotti, racchiuso nelle due macro categorie della coltivazione dei fiori recisi e dell'arboricoltura.

La floricoltura in Italia è da considerarsi uno dei comparti più attivi della nostra economia in quanto contribuisce per circa il 6% al totale del valore della produzione agricola europea in valore (D'Andrea, 2005). E' un settore economico fondamentale anche per l'immagine e per la diffusione del made in Italy, al pari della moda e delle altre produzioni.

I pelargoni sono, da un punto di vista economico, tra le specie più importanti tra quelle da vaso. Attualmente, il nord America e l'Europa sono i maggiori produttori e distributori di *Pelargonium* con un commercio annuale di circa 700 milioni di dollari. Esse vengono commercializzate sia come piante ornamentali per balconi e terrazzi sia per l'estrazione di oli essenziali utilizzati nel settore della profumeria, cosmetica e dell'industria farmaceutica (Mithila et al., 2001).

Lo studio condotto nell'ambito di tale dottorato ha avuto lo scopo di migliorare la produzione di pelargoni fornendo un prodotto di qualità ottenuto con tecniche colturali ecocompatibili. Sono state quindi individuate sia miscele fertilizzanti composte da un inoculo di funghi micorrizici e da un concime organico da aggiungere al substrato di allevamento sia substrati di allevamento in cui la torba veniva sostituita in parte da compost. Inoltre, per un miglioramento della filiera produttiva dei pelargoni, la ricerca si prefissava l'ulteriore obiettivo di applicare la metodica della propagazione *in vitro* quale tecnica alternativa per la propagazione agamica di specie di pelargoni profumati con difficoltà di radicazione della talea.

Nel corso della ricerca è stato valutato inoltre l'effetto della simbiosi micorrizica sul processo produttivo del pelargonio, in particolare nel miglioramento dei parametri qualitativi, sullo stato nutrizionale ed in specifiche fasi della cultura *in vitro*, per un miglioramento qualitativo e quantitativo della produzione.

L'attività sperimentale è consistita, nel primo anno, nella valutazione dell'effetto di miscele fertilizzanti composte da guano e da un inoculo grezzo commerciale di funghi micorrizici arbuscolari. La sperimentazione condotta ha visto la somministrazione, al substrato di allevamento, di due miscele fertilizzanti, composte da guano e dall'inoculo fungino, e dei singoli costituenti la miscela. La fase successiva della ricerca, oggetto dell'attività del secondo anno di dottorato, è stata l'individuazione della dose ottimale di inoculo fungino, nella suddetta miscela, al fine di un contenimento dei costi di allevamento. Infine, nel terzo anno di dottorato, si è saggiata la possibilità di una sostituzione parziale della torba con del compost. Sono state utilizzate diverse specie di pelargoni (pelargoni zonali- *P. hortorum* cv "Real polaris" e cv "Real sirius"; *Pelargonium crispum*- cv "pac angeleyes burgundi"; *Pelargonium grandiflorum*- cv "Lotus"). L'attività scientifica si è svolta presso le serre messe a disposizione dal Vivaio Piante e Fiori Albani e Ruggeri di Civitavecchia e presso i laboratori del CRA-RPS-Centro di ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo (Dr.ssa Elvira Rea).

L'attività sperimentale, che ha riguardato inoltre l'applicazione della metodica della propagazione *in vitro* quale alternativa alla propagazione agamica di questa specie, è consistita, nel corso del secondo anno di dottorato, nella individuazione e sviluppo di un efficace sistema di rigenerazione a partire da espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra. Successivamente, nel terzo anno di dottorato, l'attività si è incentrata sulla valutazione dell'utilizzo del bioreattore per la moltiplicazione degli espianti al fine di incrementare ulteriormente l'efficienza rigenerativa e per un abbattimento dei tempi di coltura. Infine si è voluto adottare la tecnica della micorrizzazione degli apparati radicali delle piantine micropropagate in fase di acclimatazione per incrementare la capacità di sopravvivenza di queste. Le specie utilizzate nelle prove di micropropagazione sono state: *Pelargonium lemon fancy* e *tomentosum*; *pelargonium crispum* cv Minor e cv Pac angeleyes burgundi; *pelargonium grandiflorum* cv Lotus. Il materiale vegetale è stato reperito presso vivai locali e,

per quanto riguarda il *pelargonium grandiflorum* cv lotus, alcuni esemplari sono stati messi a disposizione dall'azienda vivaistica Albani e Ruggeri (Civitavecchia, Rm). Le attività di micropropagazione sono state svolte presso il laboratorio del Dipartimento di Geologia e Ingegneria Meccanica, Naturalistica e Idraulica per il Territorio della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi della Tuscia, Viterbo (Dr.ssa Mariateresa Cardarelli), presso i laboratori dell'ENEA CASACCIA, Roma (Dr.ssa Loretta Bacchetta) e presso i laboratori del CRA-RPS-Centro di ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo (Dr.ssa Elvira Rea).

La somministrazione della miscela fertilizzante, in cui la dose dell'inoculo fungino è pari $7,5 \text{ l/m}^3$, permette di ottenere piante con requisiti qualitativi, quali peso fresco e secco della porzione epigea, area fogliare, numero di foglie per pianta, altezza della pianta e contenuto di clorofilla, superiori sia a quelli delle piante allevate con la tecnica standard sia a quelli delle piante allevate con i singoli costituenti la miscela. Inoltre, la quantità ridotta (metà di quella consigliata dal produttore) dell'inoculo fungino, nella miscela, consentirebbe anche una ricaduta positiva sui costi di allevamento. L'effetto positivo della miscela fertilizzante, sulla qualità delle piante ottenute, permane anche quando si utilizza un substrato di allevamento in cui vi è una parziale sostituzione (20%) della torba con un compost di qualità. Le piante mostravano di avere un miglioramento degli stessi parametri qualitativi osservati con l'applicazione della miscela fertilizzante su di un substrato di allevamento standard. E' bene notare che tali piante presentavano anche un maggior grado di accestimento. Questo parametro, allo stadio di sviluppo vegetativo della pianta in cui sono state effettuate le osservazioni (due mesi dalla messa a dimora della talea), è l'unico ad avere una implicazione economica, influenzando sul prezzo. L'entità della colonizzazione radicale da parte dei funghi micorrizici arbuscolari è stata incrementata dalla presenza del guano in quanto gli apparati radicali delle piante allevate con la miscela fertilizzante possedevano un grado di colonizzazione superiore di circa 1,4% rispetto alle piante allevate in presenza del solo inoculo, assumendo valori di colonizzazione pari a circa 86% (una ottima micorrizzazione radicale). La somministrazione di metà dose dell'inoculo fungino ha permesso di raggiungere il medesimo grado di colonizzazione radicale ottenuto con la somministrazione

della dose piena. La presenza di compost nel substrato di allevamento non ha influito sulla simbiosi micorrizica negli apparati radicali delle piante di pelargonio. Infatti, questi, dopo due mesi di allevamento, risultavano essere ben micorrizzati, con una percentuale di colonizzazione radicale pari a circa il 50%. Tuttavia, le risposte ai trattamenti imposti sono state diverse a seconda della specie o cultivar considerata. Il *Pelargonium x hortorum* cv “Real polaris” è stata la specie che, in tutte le prove condotte, ha sempre risposto positivamente, con piante di qualità superiore. Diverse sono state le motivazioni della scarsa risposta delle altre specie considerate. Il comportamento del *Pelargonium crispum* cv “Pac angeleyes burgundi” alle miscele fertilizzanti può essere spiegato sia dal minor grado di colonizzazione degli apparati radicali di questa specie rispetto a quelli del *P. x hortorum* sia dal fatto che è una specie tardiva (permette di iniziare la coltivazione con 3-4 settimane di ritardo) e con crescita debole. Per quanto riguarda il *Pelargonium grandiflorum* “Lotus”, le modeste dimensioni dell’apparato radicale di queste piante, determinate dalle difficoltà intrinseche nella radicazione di questa specie, potrebbero essere state la causa della mancanza di influenza dei trattamenti imposti sulla qualità delle piante ottenute. La tecnica colturale che prevede l’allevamento del pelargonio utilizzando delle miscele fertilizzanti composte da guano e funghi micorrizici arbuscolari ed un substrato di allevamento in cui si ha una parziale sostituzione della torba con un compost di qualità, alla luce dei dati raccolti nei tre anni di sperimentazione, risulta applicabile nella pratica vivaistica, permettendo un miglioramento della produzione dei pelargoni nell’ottica della sostenibilità ambientale.

Il protocollo di moltiplicazione *in vitro*, messo a punto nel corso del dottorato, che utilizza espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra, permette l’ottenimento di germogli con ottimi requisiti di qualità. E’ un protocollo efficace e può essere considerato una alternativa alla propagazione agamica di specie che presentano difficoltà di radicazione della talea. Inoltre l’applicazione di nuove biotecnologie quali i bioreattori, nella micropropagazione, ha permesso rese maggiori, in termini di materiale moltiplicato prodotto, in tempi minori. Le piantine risultavano essere più omogenee per il parametro lunghezza e qualitativamente superiori (all’inizio della fase di ambientamento) rispetto a quelle ottenute con la classica tecnica *in vitro*. Ciò può comportare importanti

ricadute economiche nei settori della profumeria, della cosmetica e dell'industria farmaceutica che utilizzano gli oli essenziali di queste piante. La simbiosi micorrizica, indotta all'inizio della fase di ambientamento, ha consentito un più facile superamento di questa. L'effetto benefico è stato osservato dopo circa 30 gg dall'inoculazione (tempo necessario allo sviluppo della colonizzazione micorrizica nell'apparato radicale della pianta ospite), permanendo anche dopo la fine della fase di ambientamento. Ne consegue che la simbiosi micorrizica con i funghi arbuscolari si è rivelata un valido strumento biotecnologico per migliorare i parametri qualitativi e lo stato nutrizionale delle piante attraverso un dosaggio mirato degli elementi nutritivi nel pieno rispetto dell'ambiente. Essa inoltre ha influito positivamente sulla sopravvivenza, durante la fase di acclimatazione, delle piantine micropropagate, garantendo un miglioramento della produzione.

USE OF FERTILIZER MIXTURES MADE UP OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND ORGANIC FERTILIZERS, INNOVATIVE GROWING SUBSTRATES AND *IN VITRO* REGENERATION TECHNIQUES FOR A HIGH QUALITY PELARGONIUM PLANTS YIELD.

ABSTRACT

Floriculture is a discipline of horticulture concerned with the cultivation of flowering and ornamental plants for gardens and for floristry, comprising floral industry. In Italy, is a productive division of the economy and it is fundamental for the image and for the diffusion of the made in Italy (D'Andrea, 2005).

During the last decade, there is the need to introduce to the consumers a high quality plants with the respect to the environment. In Europe and North America, most pot-grown ornamental plants are produced and sold in peat-based substrates. In conventional production systems, these substrates are usually supplemented with soluble fertilizers to achieve optimal supply of nutrients such as nitrogen and phosphorous. The “sustainable floriculture” discourages the use of synthetic chemical fertilizers and the use of peat is viewed critically because peat is a limited natural resource (Joosten and Clarke, 2002). This generates problems for horticultural producers because high quality ornamental plants require substrates with high nutrient availability during a short growth period for an optimal development. So, two are the critical factors in the commercial flowering ornamental plants: the choices of the growing substrate and the fertilization method (Perner et al., 2007).

The research, performed within this PhD course, had the goal to improve the pelargonium yield, given a high quality plants with ecological growing techniques. *Pelargonium* is one of the world's most important bedding and pot plants. Recent figures show that the annual sales in Europe and North America are worth in excess of US\$ 700 million annually. They are marketed as source of economically important geranium essential oil, too (Mithila et al., 2001).

Trials were carried out to test fertilizer mixtures (mycorrhizae and guano) and compost-peat based substrates for the increasing quality of pelargonium plants in

a sustainable management system; on the first year, two fertilizer mixtures and the single constituents of the mixtures were administered to the growing substrate. Afterwards, during the second year, the optimal dose of the fungal inoculum was identified in order to reduce the growing costs. Finally, on the third year, compost- peat substrates, with or without the fertilizer mixture, were tested. Many pelargonium species were used (*P. hortorum* cv “Real polaris” and cv “Real sirius”; *Pelargonium crispum*- cv “pac angeleyes burgundi”; *Pelargonium grandiflorum*- cv “Lotus”). Experiments were conducted in a 18.000 m² robot greenhouse (Albani and Ruggeri nursery) situated in Civitavecchia (Rm), central Italy and the analyses were performed in the labs of the ARC, Agricultural Research Council- Research Centre for the Soil-Plant System.

In this research, micropropagation method was applied such as an alternative technique for the agamic propagation of pelargonium species. Little information is available on organogenesis and plant regeneration of pelargonium using mature explants. Most available studies on plant regeneration from *P. x hortorum* were achieved using very young explants such as hypocotyls or cotyledons (Hassanein e Dorion, 2005). On the second year of the PhD course, an efficient plant regeneration protocol using mature pelargonium explants was carried out. Afterwards, during the third year, bioreactors for pelargonium explants propagation were tested in order to improve the regenerative efficiency and to reduce the culture time. Root mycorrhization technique in pelargonium micropropagated plants, at the beginning of the acclimation phase, was tested for an increasing of the survival ability. The used pelargonium species, in these trials, were *Pelargonium lemon fancy*, *Pelargonium tomentosum*; *Pelargonium crispum* cv Minor and cv Pac angeleyes burgundi; *Pelargonium grandiflorum* cv Lotus. The micropropagation trials were conducted in the labs of the “La Tuscia” University of Viterbo, department GEMINI, in the labs of ENEA- Research Centre CASACCIA and the analyses were performed in the labs of the ARC, Agricultural Research Council- Research Centre for the Soil-Plant System.

The administration of the fertilizer mixture with 7,5 l/ m³ of fungal inoculum to the growing substrate allowed to obtain pelargonium plants with better quality parameters such as fresh and dry shoot weight, leaf area, leaves number/plant, shoot height and chlorophyll content than those obtained with the standard

growing technique or with the administration of the single constituent of the mixture to the growing substrate. The lowered amount of the inoculum in the mixture determines a positive outcome on the costs of the pelargonium growing, too. The positive effect of this mixture on the plant quality remained with the use of a 20% compost-peat growing substrate. The obtained plants showed better qualitative features and they had an high branching value than the other ones, too. This parameter, in this growth stage (two months from the cutting transplant), is the only one which can influence the selling price. The root colonization from the arbuscular fungi was increased by guano since this parameter, in the plants grown with the fertilizer mixtures, was 1,4% higher than those grown with the fungal inoculum only. The administration of half dose of the inoculum allowed to reach the same rate of root colonization obtained with the administration of the entire dose. The presence of compost in the growing substrate didn't influence the mycorrhizal symbiosis. In fact, pelargonium root system, after two months from the inoculation, were well colonized (50% of root colonization). The behaviour of the pelargonium to the treatments was different in relation to the considered species. *Pelargonium x hortorum* cv "Real polaris" answered positively with high quality plants. The *Pelargonium crispum* cv "Pac angeleyes burgundi" behaviour to the fertilizer mixtures can be explained with the lower root colonization rate than the *P. x hortorum* one. Besides, this species is a late species with a weak growth. The little size of the root systems of *Pelargonium grandiflorum* "Lotus" could be the reason of the lack of the effect of the treatments on the quality of the obtained plants. The growing technique of the potted pelargonium which uses fertilizer mixtures (arbuscular mycorrhizae and guano) and a 20 % compost-peat growing substrate, on the basis of the results obtained during the three years of the testing, can be used for obtaining high quality floricultural products in a sustainable management system.

The *in vitro* multiplication protocol which uses pelargonium mature explants allowed to obtained high quality plantlets. This is an effective protocol and it can be considered an alternative technique for the agamic propagation of pelargonium species with cutting rooting difficulty. The use of bioreactors in the pelargonium micropropagation determined greater yield of multiplied plants in a short time. The plantlets were more homogeneous for the shoot height and they had better

quality parameters at the beginning of the acclimation phase than the other obtained with the *in vitro* standard techniques. It can involve important economic outcome in perfumery and in pharmaceutical industry which use essential oils of these plants

The mycorrhizal symbiosis with the arbuscular fungi was an efficient biotechnological tool in order to improve the qualitative parameters of the pelargonium plants. It influenced positively the survival of the micropropagated plants, during the acclimation phase, assuring an improving of the yield, too. This positive effect was observed after 30 days from the inoculation and it remained in the next period, too.

CAPITOLO 1.

1.1 La floricoltura in Italia

La floricoltura è quella branca dell'orticoltura che ha per oggetto la coltivazione e la vendita di fiori e piante da appartamento e da giardino. Il settore florovivaistico, caratterizzato da una forte stagionalità sul singolo prodotto dovuta ai periodi di fioritura e di crescita, specifici per ciascuna specie botanica, copre un ampio spettro di prodotti, racchiuso nelle due macro categorie della coltivazione dei fiori recisi e dell'arboricoltura (che include a sua volta tutte le piante verdi in vaso e da fiore da appartamento e le piante in zolle). Tradizionalmente il prodotto florovivaistico è percepito come un bene "voluttuario", legato molto ai sentimenti o a particolari ricorrenze, con una forte componente emozionale. Il consumo dei fiori esplode in occasioni come San Valentino, il 2 novembre, l'8 marzo, le feste tradizionali italiane (Creazza e Dallari, 2006)

Il florovivaismo in Italia è da considerarsi uno dei comparti più attivi della nostra economia in quanto contribuisce per circa il 6% al totale del valore della produzione agricola europea in valore (D'Andrea, 2005). E' un settore economico fondamentale anche per l'immagine e per la diffusione del made in Italy, al pari della moda e delle altre produzioni. Le aziende italiane operanti sono a tutt'oggi circa 38.000 (dati Istat) di dimensioni modeste (tipicamente familiari) dal punto di vista del tessuto produttivo (Creazza e Dallari, 2006). La superficie è in media pari a meno di un ettaro nel caso delle aziende floricole e a circa 2 ettari per quelle vivaistiche. A fronte delle limitate dimensioni, le aziende florovivaistiche sono caratterizzate da elevati impieghi di capitale e di manodopera, da consistenti investimenti e da elevati valori della produzione, tanto da far considerare il settore un comparto relativamente "ricco" (D'Andrea, 2005).

Effettuando considerazioni sulla ripartizione geografica delle produzioni, emerge una netta dominanza della regione ligure, con un valore della produzione di 523 milioni di euro, seguita a grande distanza da Campania (212 milioni) e Sicilia (175 milioni)- fonte Istat, 2003.

L'Italia, negli anni '80-'90, rivestiva un ruolo di leadership, insieme all'Olanda, in questo settore economico. Attualmente la sua posizione è cambiata. Purtroppo, fattori quali la crisi congiunturale dell'economia mondiale, le avverse condizioni climatico-meteorologiche degli ultimi anni, l'evoluzione delle coltivazioni in altri

paesi del mondo (che di fatto causa una grande crescita della disponibilità di prodotto floricolo nel mercato e di conseguenza anche di competizione) e la scarsa tendenza all'innovazione, hanno portato l'Italia a perdere progressivamente quote di mercato a favore di altri paesi, in primis l'Olanda (Creazza e Dallari, 2006). Infatti, pur possedendo la maggior superficie destinata alla produzione di piante e fiori in termini di produzione raccolta, l'Italia si colloca solamente al secondo posto, dopo l'Olanda, grazie alle tecniche adottate da quest'ultima ed alle strutture produttive in essa presenti (resa ad ettaro di circa il 70% più elevata rispetto a quella italiana) (D'Andrea, 2005).

In Italia, il 2008 si chiude con un bilancio negativo per le vendite sia di piante in vaso sia di fiori recisi, a causa di un rallentamento generale della domanda nel secondo semestre del 2008 (Lauricella, P., 2009). Infatti, come si evince dal consuntivo relativo a tale periodo, diffuso da Ismea, nella seconda parte del 2008 vi è stata una "decisa flessione". Le cause individuate sono state essenzialmente tre: il fattore climatico, la contrazione generalizzata dei consumi e la totale mancanza di programmazione delle produzioni stagionali.

Il mercato nazionale delle piante e del vivaismo ha risentito, come gli altri settori dell'economia, della critica situazione economica internazionale pur verificandosi casi di stabilità del fatturato complessivo. Il fattore climatico ha inoltre giocato un ruolo importante in quanto periodi molto piovosi si sono ripetuti in Italia per gran parte del semestre.

In pratica, alla congiuntura floricola già negativa nel 2007, la crisi economica e le sfavorevoli condizioni climatiche del secondo semestre 2008, hanno aggiunto ulteriore valenza negativa al già precario scenario. Le esportazioni hanno subito un lieve calo nei mesi di luglio- agosto- settembre (7% circa), dovuto principalmente ad una estate fresca e piovosa nel nord Europa; in seguito nell'ultimo trimestre del 2008 c'è stato un ulteriore decremento della domanda dell'ordine del 18% circa. I mesi di ottobre e novembre sono stati i peggiori.

Un ulteriore fattore che ha influenzato negativamente il mercato italiano, è stata l'errata programmazione delle produzioni stagionali, che aggiungendosi ai suddetti fattori esterni e non prevedibili, ha peggiorato la già precaria situazione. La relazione Ismea evidenzia la mancanza di coesione tra i produttori che genera periodicamente carenze di alcuni prodotti ed eccessi di altri. Il modello olandese,

basato su un sistema di aste e su una efficiente ridistribuzione dei prodotti, ha permesso a questo paese di diventare un leader su scala mondiale, rappresentando una vera porta di ingresso europea per i prodotti provenienti dai Paesi terzi.

L'istituzione, nel 2002, del consorzio Florasì può essere considerato un esempio dello sforzo di alcune società italiane per contrastare gli effetti negativi della frammentazione della produzione. L'organizzazione raggruppa più di 1.500 società, di grandi, medie e piccole dimensioni e si propone come uno dei più autorevoli interpreti delle esigenze di servizio, rappresentatività e tutela dell'azienda italiana che opera in questo comparto (Creazza e Dallari, 2006).

Il rilancio del florovivaismo italiano deve essere quindi basato sulla innovazione ed evoluzione di sistema, sulla coesione tra i produttori e sulla qualità estetica ed ecocompatibile del prodotto.

1.2 La qualità e la ecosostenibilità in floricoltura

Oggigiorno il concetto di qualità del prodotto agricolo, compreso il comparto floricolo, si è notevolmente ampliato. L'ecosostenibilità delle pratiche agronomiche adottate (un corretto e limitato uso di fertilizzanti, antiparassitari, un minor consumo di energie e di risorse idriche ed una minore produzione di rifiuti) è divenuto ormai un requisito indispensabile per il prodotto agricolo di qualità. Per rispondere a queste problematiche, nel 1997, è stata elaborata, da parte delle aziende della grande distribuzione organizzata (GDO), appartenenti al gruppo di lavoro "Euro-retailer Produce Working Group" (EUREP), la prima edizione del protocollo "EurepGap fruit & vegetables", rivolta, per la prima volta alla produzione primaria. Attualmente sono attivi cinque standards EurepGap che riguardano rispettivamente i seguenti settori:

- ✓ Fruit & vegetables
- ✓ Flower and ornamentals
- ✓ Integrated farm assurance
- ✓ Integrated acquaculture assurance
- ✓ Green coffee.

Lo standard EurepGap basa i propri principi sul documento "Terms of Reference" EurepGap, con particolare riferimento ai criteri di sicurezza alimentare provenienti dall'applicazione dei principi generali HACCP sulle Buone Pratiche

Agricole nell'ambito della protezione ambientale. Esso è rivolto a minimizzare gli impatti negativi dell'agricoltura sull'ambiente, a stabilire i criteri generali circa la salute e la sicurezza sul posto di lavoro, promuovendo consapevolezza e responsabilità verso argomenti sociali e, se applicabile, a stabilire i criteri generali del benessere degli animali nelle aziende agricole. Le aziende che intendono certificarsi per lo standard EurepGap devono individuare un Organismo di Certificazione, autorizzato da Eurepgap a svolgere attività di certificazione, che verifichi la documentazione prodotta e successivamente proceda alla registrazione dell'azienda al database Eurepgap ed alla pianificazione della visita ispettiva (Bisonti e Cacciola, 2007).

Il prodotto floricolo, per tradizione, essendo percepito come bene "voluttuario", ha sempre dovuto rispondere a standards estetici molto alti.

Per quanto riguarda, l'ecocompatibilità delle pratiche colturali adottate nel settore della floricoltura, l'Olanda, è stato il primo paese ad istituire, nel 1996, i marchi di qualità (MPS) nel settore della floricoltura. L'iniziativa era rivolta a valorizzare le produzioni floricole ottenute con un ridotto impiego di principi chimici (concimi ed antiparassitari) e di energia. Negli anni successivi, si è osservata la nascita di iniziative analoghe in molti altri paesi produttori. In breve tempo, i marchi di qualità ecocompatibile stanno diventando lo standard a livello europeo e non solo e le produzioni floricole che ne sono prive hanno sempre più difficoltà a trovare posto sul mercato.

In Italia, si è registrato un ritardo nell'applicazione di questi principi nel campo della floricoltura. Nel 2006, per la prima volta in Italia, un'azienda commerciale e 12 aziende di produzione hanno ottenuto la certificazione ISO 9001:2000 per il servizio connesso all'applicazione dello standard "EurepGap/ Fiori e piante ornamentali" per la produzione di fiori recisi, fronde verdi, fogliame a stelo, fronde fiorite, fronde con frutto, vaseria (Parodi, 2007).

La valorizzazione della produzione floricola italiana deve passare dalla adozione di marchi di qualità e certificazioni di prodotto. L'adozione di procedure colturali ecocompatibili permetterebbe il miglioramento del livello tecnologico delle aziende operanti in tale settore, mediante l'adozione di tecnologie innovative ed economicamente vantaggiose. Ciò consentirebbe di superare uno dei fattori, che insieme alla errata programmazione dovuta ad una debole coesione tra i

produttori, hanno determinato la perdita del ruolo di leadership dell'Italia nella commercializzazione internazionale di prodotti floricoli (Creazza e Dallari, 2006).

1.3 Il pelargonio

Il pelargonio (*Pelargonium*) è una pianta perenne originaria delle zone temperate del Sud Africa con portamento cespuglioso e abbondanti fioriture ad ombrello, rifiorenti dalla primavera all'autunno. Il pelargonio viene generalmente coltivato in vaso per ornare balconi, terrazzi e finestre. E' una pianta robusta, non molto esigente: sopporta la siccità, il vento ed i terreni molto poveri e assolati. Spesso viene indicato erroneamente con il termine “geranio”, pianta rustica, diffusa nella maggior parte delle zone temperate dell'emisfero boreale, che cresce spontanea nei boschi e nelle campagne. Viene utilizzata come pianta perenne per tappezzare giardini. I fiori dei due generi sono abbastanza simili, quelli dei pelargoni sono riuniti in gruppi piuttosto serrati mentre quelle dei gerani rustici sono singoli o riuniti in gruppi più aperti. La confusione fra i nomi geranio e pelargonio è molto antica ed è generata da un termine improprio usato molti anni fa e poi diventato comune, a danno del vero geranio, il quale rimane una pianta misconosciuta e quasi dimenticata.

Sono circa 200 le specie di pelargonio che crescono spontanee in Sud Africa. Alcune di queste sono state usate come “genitori” dei numerosi ibridi diffusi oggi in tutto il mondo. Le varietà più coltivate attualmente sono suddivisibili in tre gruppi botanici:

- ✓ *Pelargonium x hortorum* (ibridazione di varie specie del gruppo *Ciconium* tra cui *P. inquinans* e *P. zonale* che sono considerati i genitori fondamentali);
- ✓ *Pelargonium x hederæfolium*
- ✓ *Pelargonium x domesticum* (Fontanari, 2006)

I parametri ottimali del substrato di allevamento richiesti da alcune cultivar di pelargonio sono riportati in tab. 1. La temperatura ottimale di allevamento oscilla tra i 15-25°C (sono in grado di sopportare anche qualche breve gelata). Nella tab. 2 e 3 sono riportati i sintomi di eccesso/ carenza di alcuni elementi nutritivi ed i contenuti di alcuni elementi nutritivi nelle foglie di alcune cultivar di pelargonio rispettivamente.

Tabella 1. Parametri ottimali del substrato di allevamento richiesto da alcune cultivar di pelargonio. (Whipker, 1998)

Table 1. Optimal parameters of the growing substrate for some cultivar of pelargonium (Whipker, 1998)

Parametri	Valori ottimali (valori ottenuti con il “saturated-paste extract method”)		
	pelargonio zonale	pelargonio Ivy	pelargonio cv. Regal
pH	5,8-6,3	5,5-6,0	5,5-6
EC (mS/cm)	1,5-2,5	1-2	1,5-2,5
N (ppm)	200-250	200-250	150-250
P (ppm)	5-19	5-19	5-19
K (ppm)	150-250	150-250	150-250
Ca (ppm)	50-100	50-100	50-100
Mg (ppm)	25-50	25-50	25-50

Tabella 2. Sintomi di carenza e di eccesso di nutrienti del pelargonio zonale (Biamonte et al., 1993)

Table 2. Disease symptoms of Pelargonium zonal (Biamonte et al., 1993)

Elemento nutritivo	Sintomo carenza	Sintomo eccesso
N	Lenta crescita, clorosi fogliare	Crescita ridotta e mancanza di fioritura. La tossicità da N ammoniacale è espressa dall'arricciatura delle foglie più vecchie, clorosi e necrosi fogliare
P	Crescita scarsa con foglie di colore verde scuro, foglie di colore rosso porpora e successiva necrosi	Crescita ridotta, deficienza di Fe, Zn, Cu, Mn
K	Necrosi dei margini delle foglie più basse e sviluppo debole di steli	Ridotto assorbimento di Ca, Mg, Mn, Zn
Ca	Colore scuro delle gemme terminali e delle radici	Ridotto assorbimento di K, Mg, B
Mg	Clorosi tra le nervature ed arrotolamento dei margini delle foglie più vecchie	Ridotto assorbimento di Ca
Fe	Clorosi tra le nervature delle foglie più giovani. Sintomi di carenza possono essere osservati anche a valori alti di pH o in presenza di elevati livelli di P, Mn, Cu	Clorosi e presenza di macchie necrotiche delle foglie più basse. Ridotto assorbimento di Mn. Sintomi di eccesso di Fe possono essere osservati in presenza di valori di pH troppo acidi

Tabella 3. Analisi dei tessuti fogliari di alcune cultivar di pelargonio (Whipker, 1998)

Table 3. Leaf tissues analyses of some cultivar of pelargonium (Whipker, 1998)

Elemento	Pelargonio zonale	Pelargonio Ivy	cv Pelargonio cv. Regal
N (%)	3.8-4.4	3.4-4.4	3.0-3.2
P (%)	0.3-0.5	0.4-0.7	0.3-0.6
K (%)	2.6-3.5	2.8-4.7	1.1-3.1
Ca (%)	1.4-2.0	0.9-1.4	1.2-2.6
Mg (%)	0.2-0.4	0.2-0.6	0.3-0.9
Fe (ppm)	110-580	115-270	120-225
Mn (ppm)	270-325	40-175	115-475
Zn (ppm)	50-55	10-45	35-50
Cu (ppm)	5-15	5-15	5-10
B (ppm)	40-50	30-280	15-45

1.4 La fertilizzazione sostenibile.

L'esigenza di ottenere prodotti agricoli di alta qualità nel rispetto dell'ambiente, ha indotto la ricerca ad individuare tecniche colturali che determinassero il minimo impatto ambientale e la tutela della salute dei consumatori. L'agricoltura integrata prevede lo sfruttamento delle risorse naturali finché esse sono in grado di surrogare adeguatamente i mezzi tecnici adottati nell'agricoltura convenzionale, il ricorso a questi ultimi, solo quando si reputano necessari per ottimizzare il compromesso fra le esigenze ambientali e sanitarie e le esigenze economiche. In merito alle tecniche disponibili, a parità di condizioni, la scelta ricade principalmente su quelle di minore impatto, escludendo quelle di elevato impatto. L'agricoltura integrata può rappresentare un compromesso tra l'agricoltura convenzionale e quella biologica; rappresenta il modo più evoluto di realizzare l'agricoltura sostenibile. Essa infatti permette sia l'ottimizzazione dell'utilizzazione delle risorse e dei mezzi tecnici disponibili per conseguire la quantità di produzione necessaria alla richiesta nazionale ed internazionale, sia la produzione di cibi sani e sicuri, conservando e proteggendo le risorse ambientali. Consente, in tema ambientale, di rispettare e seguire le normative nazionali e

comunitarie; supera i concetti di *lotta biologica*, di *agricoltura biologica*, di *allevamento biologico*, in quanto non ancora sufficienti a soddisfare le esigenze di un'agricoltura di mercato (All.3- Disciplinare tecniche agronomiche di produzione integrata, Regione Marche).

Uno degli ambiti di applicazione dei principi dell'agricoltura integrata è la fertilizzazione.

Il mantenimento della fertilità del terreno e del migliore stato nutrizionale delle piante sono gli obiettivi fondamentali della fertilizzazione integrata che intendono essere raggiunti anche attraverso un dosaggio mirato degli elementi nutritivi.

Gli apporti dei tre principali macroelementi (azoto, fosforo e potassio) vengono calcolati sulla base di un bilancio tra asportazioni colturali e dotazioni del terreno. E' un approccio ragionato al tema della concimazione che richiede senz'altro un maggior impegno da parte dell'agricoltore rispetto all'applicazione di dosaggi standard. La contropartita di tale impegno è costituita dagli effetti positivi quali minori rischi di inquinamento e minore dispendio energetico, ma anche da benefici di carattere economico dovuti alla razionalizzazione dell'impiego di mezzi tecnici. Nella fase di predisposizione del piano di concimazione si devono sostenere maggiori costi, imputabili al prelievo di campioni di terreno, alle successive analisi di laboratorio e al tempo richiesto per il calcolo dei quantitativi di elementi nutritivi da distribuire. Il campionamento del terreno prevede, inoltre, una valutazione dell'omogeneità agronomica e pedologica dell'azienda, utile ad ottimizzare la gestione del suolo. Bisogna, poi, considerare l'eventuale necessità di effettuare un numero maggiore di interventi di concimazione azotata al fine di modulare gli apporti in relazione al ritmo di assorbimento delle piante. A fronte di questi oneri, si hanno dei vantaggi in termini di risparmi nell'impiego dei concimi, oltre a benefici di tipo indiretto. Infatti le colture, in condizioni di crescita equilibrata, sono meno soggette agli attacchi parassitari, agli stress idrici ed ai fattori climatici avversi, risultano più competitive nei confronti delle erbe infestanti e necessitano quindi di un minor uso di altri mezzi tecnici (antiparassitari, diserbanti, fitoregolatori, etc). Da questo punto di vista è quindi evidente che un apporto bilanciato degli elementi nutritivi, in particolare se si evitano gli eccessi di azoto che inducono un sovrabbondante vigore vegetativo, può avere una influenza rilevante.

D'altra parte deve essere evidenziato che i costi sostenuti per le analisi del terreno vengono ripartiti ed ammortizzati su più colture e in più anni, perché le informazioni ottenute in laboratorio si possono considerare valide per la durata di circa un quinquennio. In termini assoluti i risparmi che si possono conseguire razionalizzando le pratiche di fertilizzazione possono apparire esigui; occorre considerare però che in una situazione come quella attuale, il margine tra ricavi e costi è sempre più ristretto e riduzioni di costo, per quanto piccole in termini assoluti, possono risultare rilevanti ai fini di un bilancio economico finale (Carnevali e Sarno, 2007). L'approccio ragionato al problema concimazione comporta inoltre una specifica scelta del tipo di agente fertilizzante da utilizzare, nell'ottica di una fertilizzazione sostenibile.

La concimazione organica utilizza concimi organici che, ai sensi del d. lgs. 217/06, sono sostanze che contengono carbonio organico di origine biologica in quantità non inferiore al 7,5% (Possanzini, Tesi di Dottorato di ricerca in ortoflorofrutticoltura A. A. 2004/2005)

Essi permettono, a seconda della dose somministrata, il miglioramento sia dello stato nutrizionale delle piante che delle proprietà fisiche del terreno mantenendone la fertilità. La fertilità organica di un terreno dipende dalla percentuale di sostanza umica presente nel suolo il cui valore medio deve oscillare intorno al 3-5%. Molti terreni italiani sono purtroppo al di sotto dell'1%, e le produzioni risultano basse, la struttura del terreno alterata e l'attività microbica assai ridotta o assente (Giardini, 1986).

Nei concimi organici, in base al decreto legislativo su menzionato, rientrano 29 prodotti (tab.4), suddivisi nelle seguenti classi:

concimi organici azotati (solidi e liquidi): il titolo minimo di azoto organico, di origine vegetale o animale, risulta variabile, a seconda del prodotto considerato, dal 3 al 10% (ad eccezione della borlanda fluida con l'1,5%);

concimi organici NP: la somma del tenore di azoto organico e di quello di P₂O₅ deve essere pari ad almeno il 5%.

La maggior parte dei prodotti è di origine animale ad eccezione dei panelli e delle borlande. (Possanzini, Tesi di Dottorato di ricerca in ortoflorofrutticoltura A. A. 2004/2005)

Il mantenimento della fertilità del suolo è legato anche agli equilibri ecologici instaurati dalle comunità microbiche in esso viventi. Si parla infatti di fertilità biologica riferendosi a quella parte della fertilità che è strettamente connessa alla presenza ed alla attività dei microrganismi del suolo. Essi, con la loro azione, contribuiscono non solo ai cicli geochimici degli elementi ma anche al benessere della pianta, promuovendone la crescita ed effettuando un “biocontrollo” sui patogeni.

A causa della complessa natura dei residui organici nel suolo, numerose specie di microrganismi sono coinvolti nei processi di trasformazione della sostanza organica. La fertilità biologica è condizionata da un lato dalla velocità con cui si rendono disponibili l’azoto e gli altri elementi nutritivi (cicli), dall’altro dalla velocità con cui i microrganismi generano humus stabile (Bortolin et al., 1992).

Tabella 4. Concimi organici previsti dal d. lgs. 217/06 con relativi titoli minimi richiesti

Table 4. Organic fertilizers in the D. lgs. 217/06

CONCIMI ORGANICI			TITOLI MINIMI				
			N	P2O5	K2O	N+P2O5	C organico
azotati	Solidi	Pennone	10	-	-	-	-
		Cornunghia torrefatta	9	-	-	-	-
		Cornunghia naturale	9	-	-	-	-
		Pelli e crini	5	-	-	-	-
		Cuoiaattoli	5	-	-	-	-
		Cuoio torrefatto	5	-	-	-	-
		Crisalidi	5	-	-	-	-
		Sangue secco	9	-	-	-	-
		Farina di carne	4	-	-	-	-
		Panelli	3	-	-	-	-
		Borlanda essiccata	3	-	6	-	20
		Cascami di lana	8	-	-	-	-
		Miscela di concimi organici azotati	5	-	-	-	-
		Epitelio animale idrolizzato	4	-	-	-	15
		Letame essiccato	3	-	-	-	25

		Cuoio e pelli idrolizzati	10	-	-	-	-
	fluidi	Borlanda fluida	1,5	-	4	-	10
		Carniccio fluido in sospensione	3	-	-	-	10
		Sangue fluido	4	-	-	-	14
NP		Guano	3	3	-	6	-
		Farina di pesce	5	3	-	8	-
		Farina d'ossa	2	18	-	20	-
		Farina d'ossa degelatinata	1	15	-	20	-
		Rufetto d'ossa	3	12	-	15	-
		Concime d'ossa	2	11	-	13	-
		Pollina essicata	2	2	-	5	-
		Miscela di concimi organici NP	3	3	-	6	-
		Residui di macellazione idrolizzati	3	2	-	5	22
		Letame suino essiccato	2,5	2	-	5	30

1.4.1 Un concime organico: il guano

Il guano (dallo spagnolo “*huano*”) è costituito dagli escrementi degli uccelli marini, giacimenti di tali escrementi sono ubicati su alcune isole e coste sudamericane, in particolare del Cile e del Perù. Il guano è noto per essere un potente concime organico.

I peruviani si servivano del guano già prima della conquista spagnola e si rifornivano di questo materiale soprattutto sulle isole Chincha (fig.1), al largo della costa meridionale del Perù. Queste isole, insieme all'arcipelago Lobos a nord del paese, erano le aree dove gli uccelli marini andavano a riprodursi e dove i loro escrementi si accumulavano in mucchi che superavano i 30 m d'altezza (Microsoft® Encarta® Enciclopedia Online 2009).

Nel XIX secolo, rappresentava una componente importante del commercio tra la sponda dell'Oceano Pacifico dell'America Meridionale e l'Europa, quando in questa ultima cominciò a diffondersi la notizia del suo grande potere fertilizzante. Il guano era raccolto da società private o pubbliche sulle coste del Perù, sulle sue isole e le sue coste rocciose. Un esempio di sfruttamento è quello di Navassa, nel Mar dei Caraibi. I cormorani Guanay sono tra i più grandi produttori di guano, ed i loro escrementi sono più ricchi di sostanze azotate di tutte le altre specie di uccelli marini. Tra il 1840 e il 1879 lo sfruttamento economico del guano del Perù generò un'enorme ricchezza, in quanto godeva di un regime di quasi monopolio sul mercato mondiale dei fertilizzanti. Alcuni uomini d'affari impegnati nel suo sfruttamento, come il francese Auguste Dreyfus, accumularono enormi patrimoni con la sua estrazione e commercializzazione (Saltini, 2002).

Il guano è elencato tra i concimi organici NP (D. lgs. 217/06), a bassa salinità, con contenuti minimi di azoto del 3% e di P_2O_5 del 3%, variabili in funzione dell'origine delle deiezioni ed è consentito in agricoltura biologica.

Due sono le peculiarità di questo concime: la nitrificazione relativamente rapida ed la assenza di processi di insolubilizzazione a carico del P.

Per un suo utilizzo nella fertirrigazione, è necessario un periodo di fermentazione di almeno 10 giorni ad una temperatura di circa 27°C, il rapporto ottimale guano:acqua è di 1:10. L'azoto viene rilasciato in soluzione principalmente sotto forma ammoniacale. Tuttavia per quanto riguarda la preparazione delle soluzioni contenenti guano da utilizzare per la fertilizzazione, deve essere tenuta in conto la

relazione tra il grado di decomposizione di questo e la temperatura, al fine della determinazione dell'efficacia d'uso (Hadas e Rosenberg, 1992). La forma organica del P, non subendo processi di insolubilizzazione, rimane nel corso dei mesi a completa disposizione delle colture. Tali caratteristiche hanno determinato un largo utilizzo di questo concime soprattutto nella fase di vivaio.

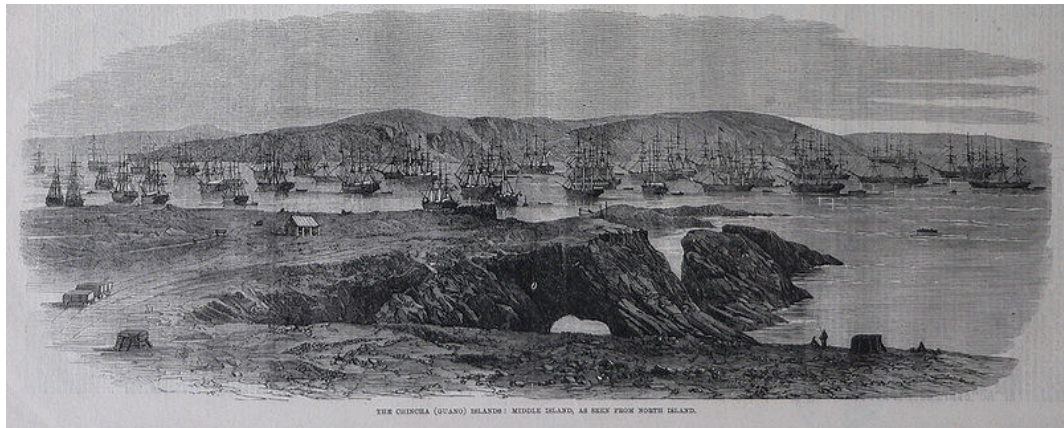


Figura 1. Le isole del guano a Chincha, Perù, 21 febbraio 1863 (Saltini, A.,2002. *Chimica agraria tra storiografia, geografia economica e ideologia politica*, in *Rivista di storia dell'agricoltura*, XLII, n. 1)

Picture 1. Islands of guano at Chincha, Perù, in 1863 (Saltini, A.,2002. *Chimica agraria tra storiografia, geografia economica e ideologia politica*, in *Rivista di storia dell'agricoltura*, XLII, n. 1)

1.4.2 I funghi micorrizi arbuscolari (AM)

Le micorrize sono simbiosi che si realizzano tra alcuni funghi e le radici della maggior parte delle piante. Entrambi i partners ottengono importanti benefici fisiologici, nutrizionali ed ecologici. I funghi migliorano il regime nutrizionale ed idrico, la tolleranza agli stress, determinando un maggiore vigore delle piante. L'ospite vegetale contribuisce con i prodotti derivanti dalla fotosintesi. Le micorrize arbuscolari sono molto diffuse in natura mancando solo negli ambienti acquatici. Essi instaurano simbiosi con piante economicamente importanti (molte graminacee, leguminose, piante da frutto e da legno). E' possibile rinvenire questi funghi anche in suoli disturbati dall'uomo e ricolonizzati, nonché in ambienti pionieristici come ad esempio le dune sabbiose marine (Rea e Bragaloni, 1997). Questa associazione comporta importanti conseguenze per l'agricoltura e per gli ecosistemi naturali.

I funghi micorrizici arbuscolari (AM) erano stati posti, in passato, nel phylum dei Zigomiceti. L'evoluzione nel campo della biologia molecolare e due caratteristiche di tali funghi quali la simbiosi obbligata e l'assenza di spore sessuali, hanno indotto Schüßler et al. (2001) ad identificare un nuovo phylum da inserire nel regno dei funghi, il Glomeromycota. Gli autori in questione hanno anche corretto il nome "Glomales" in "Glomerales".

I funghi AM sono simbionti obbligati ovvero si accrescono e si moltiplicano solo in presenza di radici della pianta ospite producendo spore vegetative. Presentano un abito filamentoso ed hanno una capacità di crescita indefinita purchè sia disponibile il carbonio da parte della pianta ospite. Formano le seguenti strutture (fig.2):

Arbuscoli, strutture simili ad alberelli originate dalla ramificazione delle ife intraradicali all'interno delle cellule corticali delle radici delle piante. L'arbuscolo si forma tra la parete cellulare e la membrana plasmatica. Sebbene di breve durata, gli arbuscoli possono apparire numerosi nelle radici durante la fase di crescita del fungo. Essi sono deputati alla regolazione degli scambi di C, di energia e di nutrienti tra l'ospite ed il fungo;

Vescicole, strutture contenenti corpi lipidici. Sono prodotte dalle ife nella corteccia radicale dalle specie fungine del subordine delle Glomineae. La forma varia da ovoidale ad ellissoide oppure anche irregolare. Le vescicole si differenziano molto presto durante lo sviluppo micorrizico in alcuni membri di *Glomus*, ma generalmente proliferano nel momento della sporulazione. Esse presiedono all'accumulo di lipidi durante lo sviluppo micorrizico per il mantenimento e ricrescita dell'organismo fungino dopo la cessazione delle funzioni metaboliche delle radici;

Cellule ausiliarie, ammassi di cellule originanti da ife extraradicali di funghi appartenenti al subordine delle Gigasporineae. Le cellule ausiliarie spesso si differenziano dal tubo di germinazione della spora prima dello stabilirsi della colonizzazione micorrizica. Sono spesso in basso numero o assenti in colture di piante trappola della durata superiore ai 4 mesi. ;

Spore, asessuali, sono rilasciate nel suolo e nelle radici in tutti i generi eccetto che nelle specie delle *Gigaspora*. In alcuni casi, sono prodotte in sporocarpi compatti ed altamente organizzati.

La sporulazione intraradicale, quando occorre, è più abbondante in alcune specie di *Glomus* (soprattutto *G. intraradices* e *G. diaphanum*). L'insorgenza della sporulazione varia nell'ambito delle specie e con le condizioni di crescita (influenzando direttamente il fungo ed indirettamente attraverso la fisiologia dell'ospite). Spesso avviene nelle 3-4 settimane dopo l'insorgenza della colonizzazione micorrizica (eccetto in presenza di un elevato livello di P nel suolo che inibisce tutte le fasi). Le spore di tutti i funghi arbuscolari hanno una funzione colonizzatrice e formano uno o più tubi germinativi. Tuttavia quelle dei funghi del genere *Gigaspora* sono quelle con la più alta capacità colonizzatrice;

Ife fungine, extra ed intraradicali. Le ife intraradicali si originano da un singolo punto di entrata e sembra che abbiano una crescita limitata. Queste sono *unità di colonizzazione*. Sono anche fonte di arbuscoli e di vescicole. Le ife extraradicali possono avere funzioni di *colonizzazione*, di *assorbimento* (ifa portante la spora). L'ifa *colonizzatrice*, penetrando in un nuovo punto della radice, permette l'inizio della colonizzazione radicale nella stessa radice, in un'altra radice della stessa pianta od in radici di piante adiacenti (<http://invam.caf.wvu.edu/index.html>). Le ife extraradicali costituiscono per la pianta ospite un ulteriore apparato di assorbimento che ha più grandi potenzialità di sfruttamento del suolo stesso. Le ife fungine, avendo un diametro inferiore a quello delle radici fini, riescono a penetrare in pori di piccole dimensioni e si sviluppano su maggiori distanze, superando eventuali zone di deplezione degli ioni, presenti nella soluzione circolante del suolo, che si creano attorno alle radici. Vengono migliorati gli assorbimenti di tutti gli elementi nutritivi e di acqua. In particolare, la simbiosi micorrizica favorisce gli assorbimenti di P, N, Cu e Zn, elementi che vengono trasportati a livello dell'arbuscolo e da questo ceduti alla pianta (Rea e Tullio, 2001; Jakobsen e Anderson, 1982). Pertanto l'effetto di tale simbiosi sulla pianta ospite, permette l'utilizzazione dei funghi arbuscolari come "fertilizzatori biologici" (Rea e Bragaloni, 1997). Il migliorato regime nutrizionale ed idrico delle piante micorrizzate influisce su alcuni parametri importanti per la determinazione del "grado" di qualità delle piante ornamentali e numerosi studi sono stati condotti in tal senso. Talee micorrizzate di Stella di Natale, ciclamino (Dubsky et al., 2002), verbena (Sramek et al., 2000) e piantine micorrizzate di geranio e fucsia (Nowak, 2004) mostrano valori più elevati nei principali

parametri biometrici quali peso fresco, peso secco, numero di foglie, area fogliare mentre la fioritura risulta avvenire anticipatamente; la micorrizzazione di piantine di lillium ha indotto effetti analoghi (maggiore taglia, lunghezza maggiore dello shoot, valori più alti di numero delle foglie della superficie fogliare, anticipo della fioritura di circa un mese) (Varshney et al., 2002). Sono stati condotti studi di micorrizzazione su alcune geofite (*Zephyranthes*, fiore arlecchino, giacinto e fnesia), allevate sia per la produzione di fiori sia di bulbi e bulbo-tuberi. La presenza della simbiosi nell'apparato radicale di queste piante determina un numero più alto di fiori e di foglie ed un anticipo della fioritura e dell'antesi florale. I fiori delle piante micorrizzate mostrano una maggiore longevità. La micorrizzazione inoltre influisce positivamente sulla biomassa e sulla produzione dei bulbi e dei bulbo-tuberi di queste piante. In particolare, in questi ultimi sono stati osservati contenuti più alti di P, N e Zn, comportando importanti conseguenze sulla loro qualità. Tuttavia, gli effetti della colonizzazione radicale da parte dei funghi AM si rilevano in modo più spiccato al secondo ciclo colturale di queste specie vegetali (Scagel, 2004, 2004a, 2004b, 2003). Il miglioramento della qualità del prodotto floricolo in seguito alla micorrizzazione si esplica anche nella maggiore facilità delle piante micorrizzate nel superare situazioni di stress nelle diverse fasi del loro allevamento (acclimatazione, trapianto) con conseguente aumento della sopravvivenza di queste ed incremento della resa produttiva (Franco et al., 2006 ; Romani et al., 2005). La simbiosi micorrizica inoltre stimola il processo di radicazione delle piante ospite, favorendo il loro allevamento sui substrati utilizzati nel vivaismo (Druege et al., 2006; Douds et al., 1995). Da ciò ne consegue che i funghi AM possono costituire un valido aiuto ai floricoltori per la propagazione ed allevamento di quelle specie vegetali che mostrano avere difficoltà in tal senso. Uno studio è stato condotto su quaranta specie di piante da fiore, endemiche e/o indigene delle isole Hawaii, le quali presentavano serie difficoltà nell'allevamento in serra. Sono state micorrizzate piantine e talee di queste specie con *Glomus intraradices*. La maggioranza di queste ha mostrato una risposta positiva alla micorrizzazione, con incrementi nella crescita e nella percentuale di sopravvivenza (Koske e Gemma, 1995). Gli effetti della simbiosi micorrizica possono essere resi ancora più efficaci in presenza della fertilizzazione con sostanza organica. In particolare, la

combinazione di un inoculo fungino con una fonte di fosforo organico, quale il guano, consente il raggiungimento dei massimi risultati in quanto la capacità, da parte dei funghi micorrizici arbuscolari, di liberare il fosforo inorganico dal fosforo organico migliora l'assorbimento nella pianta di tale elemento. Inoltre, è bene evidenziare che la miscela fertilizzante “guano/micorrize” può essere utilizzata in un sistema agricolo a conduzione biologica poiché il guano è un concime organico consentito in agricoltura biologica ai sensi del Decreto Legislativo n.217 del 29/04/2006. Ne consegue che la somministrazione, nel substrato di allevamento, di una miscela composta da un concime organico e da un inoculo di funghi micorrizici arbuscolari può essere considerata un valido strumento biotecnologico per il miglioramento dello stato nutrizionale delle piante attraverso un dosaggio mirato degli elementi nutritivi nel pieno rispetto dell'ambiente.

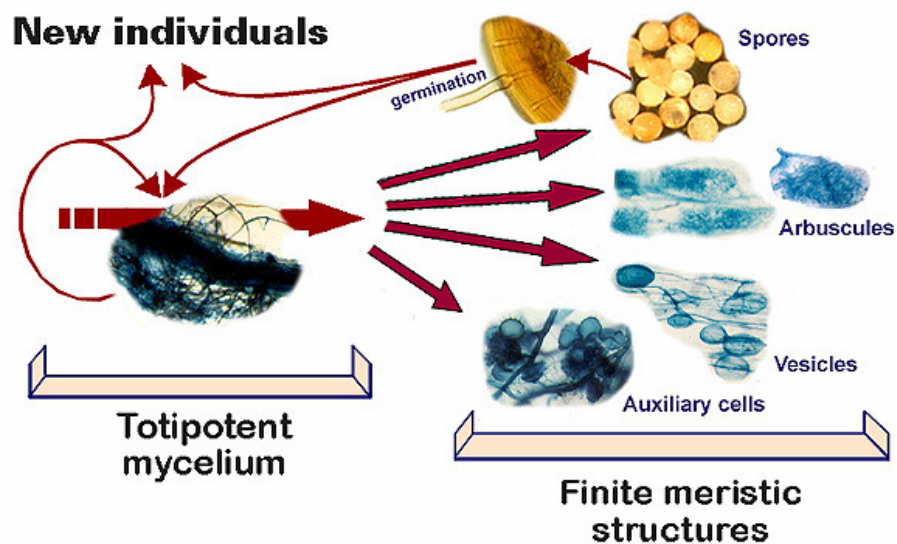


Figura 2. Ciclo di vita dei funghi micorrizici arbuscolari. (International Culture collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal fungi. <http://invam.caf.wvu.edu/index.html>)

Picture 2. Life cycle of the arbuscular mycorrhizal fungi (International Culture collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal fungi. <http://invam.caf.wvu.edu/index.html>)

1.4.3 I prodotti commerciali a base di funghi micorrizici.

Sono molte le ditte produttrici di inoculi micorrizici. Gli inoculi commercializzati vengono presentati in diverse formulazioni quali granulari (per la distribuzione

con microgranulatore), argillose (adatte per le colture alboree), in pastiglia (per un dosaggio preciso in colture orticole e floreali), polverulente ed in gel, studiate per poter semplificare l'utilizzo ed essere adatte alle varie esigenze colturali.

Questi inoculi sono composti da una matrice organica e da più ceppi o da un unico ceppo fungino. Spesso, vengono addizionati con batteri della rizosfera e con il fungo *Trichoderma* spp. e possono essere miscelati con biostimolanti (alghe marine). La presenza di microrganismi antagonisti tipici dell'ambiente tellurico permette di migliorare la crescita radicale e vegetativa delle piante, favorendo condizioni di maggior sanità della rizosfera a discapito di microrganismi patogeni e sostanze inibitorie per le piante. La concentrazione dei propaguli è tale da permettere l'instaurarsi nella pianta di una simbiosi micorrizica duratura. Di norma, è consigliata l'applicazione di questi in fase di semina o trapianto. Nel primo caso, l'inoculo può essere mescolato con le sementi stesse al momento della semina. Nel secondo, al trapianto, la dose di prodotto va collocato immediatamente sotto la piantina (il più possibile vicino all'apparato radicale), in modo tale che il contatto tra esso e la pianta sia il più diretto possibile.

I formulati, che a contatto con l'acqua formano gel, devono essere applicati tramite una breve immersione della pianta, a radice nuda. Questa operazione deve essere eseguita subito prima della messa a dimora nella buca. Per favorire lo sviluppo delle micorrize è necessario mantenere una certa quantità di umidità nel terreno (elemento vitale per i funghi).

Pochi sono gli accorgimenti da prendere per ottenere il massimo dei benefici da questi prodotti. Essi hanno una maggiore efficacia laddove venga utilizzata una fertilizzazione di fondo con concimi minerali e organo-minerali fosfatici a lenta cessione che costituiscono la fonte di reperimento per le endomicorrize che fungono da fosforo-fissatori e fosforo-trasformatori. L'apporto di fosforo deve essere ridotto a circa il 50% del valore tradizionale, in funzione della reale fertilità del suolo. Tutte le aziende produttrici sconsigliano l'utilizzo degli inoculi fungini commerciali insieme a fungicidi, ai quali questi ultimi potrebbero, infatti, inibire o addirittura uccidere le micorrize. Inoltre, essendo un prodotto vivo, è importante conservarlo in luogo fresco e aerato, al riparo dalla luce del sole e dagli sbalzi termici elevati.

E' bene evidenziare che questi prodotti non presentano controindicazioni poiché non determinano alcun effetto negativo sia sulla fisiologia e sviluppo della pianta sia sulla salute umana (Tullio et al., 2007).

1.5 Miscele di substrati a basso impatto ambientale per la coltivazione in vaso

Il substrato colturale assume un'importanza fondamentale nella coltivazione in contenitore poiché l'apparato radicale delle piante in esso allevate ha a disposizione un volume limitato da esplorare e presenta maggiori esigenze nei confronti di aria, acqua ed elementi nutritivi rispetto al suolo agrario. I substrati di coltivazione devono favorire lo sviluppo vegetale ed essere economicamente vantaggiosi. Il recente Decreto Legislativo 29 aprile 2006 n. 217 "Revisione della disciplina in materia di fertilizzanti", ha formalmente inserito i substrati di coltivazione tra i fertilizzanti dandone una definizione e riservando loro un intero allegato. In base alla loro natura (organici o minerali) od in funzione della loro origine (naturali, sintetici od alternativi), possono essere suddivisi in:

- ✓ substrati naturali organici, in gran parte costituiti da torbe di importazione dai Paesi del Nord e dell'Est Europa;
- ✓ substrati naturali inorganici quali la sabbia (originata dalla frammentazione di rocce silicee), la pozzolana, la pomice, le argille, i materiali vulcanici, il tufo, le zeoliti, ecc.;
- ✓ substrati organici sintetici, come il polistirolo derivato dalla polimerizzazione dello stirene o la schiuma poliuretanica, ottenuta per condensazione e polimerizzazione dell'isocianato;
- ✓ substrati inorganici sintetici quali la perlite (sabbie silicee di origine vulcanica) o la lana di roccia (che deriva dalla fusione di basalto effusivo);
- ✓ substrati alternativi come gli ammendanti compostati (verdi e misti) e vari materiali vegetali di scarto (fibra di cocco, fibra di legno, cortecce, ecc.) (Sequi et al., 2009).

Un substrato colturale di "qualità" deve rispondere ai seguenti requisiti:

- ✓ garantire un buon ancoraggio all'apparato radicale e la stabilità del complesso contenitore-pianta;

- ✓ presentare una buona capacità di ritenzione idrica ed una buona disponibilità di aria anche in corrispondenza della capacità idrica massima;
- ✓ mantenere il più a lungo possibile inalterate le caratteristiche fisiche e quindi resistere al compattamento ed alla riduzione di volume, mantenendo buone capacità drenanti;
- ✓ mantenere il più a lungo possibile inalterate le proprietà chimiche quali pH e salinità;
- ✓ essere privo di patogeni, parassiti e sostanze fitotossiche;
- ✓ essere omogeneo ed uniforme;
- ✓ avere un costo limitato;
- ✓ essere di facile reperibilità (Pardossi et al., 2007);

Fino a circa trent'anni fa, le necessità delle aziende vivaistiche venivano soddisfatte con miscele di materie prime reperite in loco (stallatici, terre di campo, foglie di faggio, aghi di pino). In seguito si è ricorsi all'utilizzo della torba e oggi questo è il substrato più richiesto da coloro che operano nel settore del vivaismo.

Le torbe possono essere impiegate tal quali in alcune colture mentre, nella maggioranza dei casi, si ricorre a miscele con altri componenti di origine e proprietà diverse. Anche i substrati commerciali pronti per l'uso, pur essendo a base di torba, spesso contengono altri elementi in relazione all'utilizzo specialistico per il quale sono stati formulati.

Si individuano come torbe propriamente dette quei materiali contenenti residui vegetali di specie palustri (muschi, sfagni) in particolari ambienti acquitrinosi (asfittici), più o meno decomposti, aventi un contenuto in ceneri inferiore al 10% (Lanzi, Tesi di Laurea, anno accademico 2004-2005). Fra le diverse categorie di torbe quelle di sfagno possiedono le caratteristiche ideali per un substrato di coltivazione. Rappresentano il materiale di partenza più utilizzato per la realizzazione di substrati in quanto sono leggere, omogenee, molto porose, relativamente stabili, possiedono una elevata capacità di assorbimento idrico, un limitato apporto di elementi nutritivi, non presentano sostanze fitotossiche (Castelnuovo, 1999); sono sicure dal punto di vista fitopatologico (anche se ci sono rischi di un inquinamento provocato dall'uso poco oculato dei diserbanti nelle torbiere). Hanno, in genere, un pH acido (pH uguale a 3) che però può essere

facilmente corretto con l'aggiunta di carbonato di calcio. Risulta fondamentale il comportamento della torba in relazione all'acqua in quanto le proprietà salienti della stessa sono legate alla sua capacità di immagazzinamento e cessione idrica che dipende dagli aspetti morfologici e botanici degli sfagni. Riguardo alle caratteristiche morfologiche, la possibilità di assorbire acqua è legata ai tipi di frammenti (foglie e branche) che sono presenti ed al loro grado di decomposizione. Se la torba risulta poco degradata, foglioline e branche esplicano in maniera ottimale l'azione di trattenimento nei confronti dell'acqua. Viceversa, all'aumentare del grado di decomposizione aumenta anche il livello di degradazione delle strutture fogliari, con peggioramento delle caratteristiche ideologiche della torba.

La torba è considerata il substrato ideale per l'allevamento delle piante in contenitore e ciò giustifica il suo grande utilizzo da parte di coloro che lavorano nel settore del vivaismo. Tuttavia il suo utilizzo comporta delle problematiche tutt'ora aperte: la questione ambientale e quella economica.

I tempi necessari per la costituzione della torba sono lunghi (migliaia di anni) ed i giacimenti, denominati torbiere, sono considerati siti di interesse naturalistico ed in alcuni casi anche archeologico. Per tali motivi, alcune nazioni del nord-centro Europa e Canada hanno imposto delle limitazioni ai volumi di estrazione in seguito all'intenso sfruttamento delle torbiere. Tali limitazioni unite alla grande richiesta di tale materiale ed all'incremento dei costi energetici che incidono su tutte le fasi del processo produttivo, compreso il trasporto dai paesi produttori del Nord Europa o del Canada, hanno innalzato notevolmente i prezzi della torba (Lanzi, Tesi di Laurea, anno accademico 2004-2005).

Inoltre, negli ultimi anni, la sempre maggiore attenzione alla tematica del rispetto ambientale ha indotto la ricerca di validi substrati "peat-free", alternativi alla torba (Pardossi et al., 2007). Nel Regno Unito, è stata condotta una campagna particolarmente aggressiva per la quale molte catene della grande distribuzione richiedono terricci aventi le suddette caratteristiche e piante allevate in substrati praticamente privi di torba (Holmes e Lighfoot-Brown, 2000) mentre la Commissione della Comunità Europea (CE), nel 2001, ha escluso dal rilascio del marchio comunitario di qualità ecologica (Ecolabel) i substrati di coltivazione che contengano torba o prodotti derivati. La componente organica presente in questi

substrati deve derivare dalla raccolta e/o dal trattamento di materiali di scarto (Sequi et al., 2009). Ne consegue che l'evoluzione del mercato dei substrati culturali è condizionata da fattori quali la domanda finale, la funzione tecnica, il miglioramento tecnologico, il costo di produzione e l'evoluzione della disponibilità delle materie prime. Tutti questi fattori sono strettamente legati fra di loro. Va innanzitutto evidenziato che se la domanda degli utilizzatori rappresenta il primo presupposto per un'evoluzione positiva del mercato, le modalità con le quali si va incontro a tale domanda costituiscono la chiave della sostenibilità economica (Sali, 2004).

L'individuazione di miscele di substrati alternativi alla torba ha comportato ricerche aventi come oggetto numerose materie prime di natura sia organica, con buone caratteristiche fisico-chimiche (per esempio compost e fibra di cocco) sia artificiale (spesso di recupero, come polistirolo, schiume di poliuretano, pellets di pneumatici esausti, ossa bovine frantumate ecc.) (tab. 5). Purtroppo, molte sono state le limitazioni riscontrate per un possibile utilizzo della maggior parte delle materie candidate alla sostituzione della torba. Nella tab. 6 sono riportate le caratteristiche fisiche e chimiche di alcuni materiali utilizzati per la preparazione di substrati di coltura.

Inoltre, le attività di ricerca sono state, in alcuni casi, indirizzate anche verso materiali che, per le loro caratteristiche, sono destinati anche ad essere utilizzati singolarmente (Marzioletti et al., 2006).

E' bene evidenziare che, nella realtà odierna, è molto difficile produrre substrati ottimali per ciascun gruppo di piante poichè i produttori utilizzano differenti tecniche d'irrigazione, differenti fertilizzanti e soluzioni nutritive, non possiedono la stessa qualità dell'acqua e cambiano o adattano costantemente le tecniche di coltivazione (Castelnuovo, 1999). Di conseguenza i substrati devono essere armonizzati alle condizioni di coltivazione e non alle tipologie di piante poichè un gran numero di specie, con l'impiego di tecniche appropriate, possono essere allevate in qualsiasi substrato (Pardossi et al., 2007)

La possibilità di utilizzare miscele di substrati contenenti compost per l'allevamento in vaso di piante è subito apparsa interessante, in quanto permetterebbe una gestione oculata dei rifiuti organici e l'ottenimento di substrati di coltura ecosostenibili. La gestione degli scarti industriali è un problema

concreto per molte aziende sia per aspetti ambientali che economici, per cui la possibilità di recuperare rifiuti organici e trasformarli in risorse potenzialmente compostabili, appare un sistema efficace per far fronte allo smaltimento dei rifiuti stessi. La possibilità di recupero e riutilizzo di matrici organiche interessa in particolare le aziende ma anche tutta la società che potrebbe essere indirizzata verso uno smaltimento differenziato dei rifiuti organici (Rea et al., 2009).

Il compost è il prodotto di un processo di trasformazione, detto bioconversione aerobica, attuabile tramite diversi procedimenti produttivi e promosso dai microrganismi presenti nei materiali da compostare (biomasse) che possono essere di diversa natura: rifiuti urbani, fanghi di depurazione, scarti industriali o agricoli. Proprio per questa estrema eterogeneità, sia delle biomasse che dei processi produttivi impiegati, il termine compost comprende, in genere, prodotti molto diversi tra loro, con caratteristiche fisiche e chimiche assai variabili.

I compost possiedono in genere pH che varia dalla neutralità alla sub-alcalinità e una salinità compresa tra 1,5 e 3,0 mS/cm (entrambi i parametri hanno valori superiori alla torba); il contenuto in sostanza organica risulta generalmente inferiore a quello delle torbe. Possiedono una elevata porosità ed una buona capacità di ritenzione idrica (tab.2). Oggigiorno, anche i compost devono possedere il requisito della “qualità” e pertanto devono rispondere agli standard stabiliti dal D. lgs. 217/06. (Marzioletti et al., 2006)

Nella messa a punto di substrati di allevamento formati da miscele a base di compost devono essere presi in considerazione diversi aspetti quali il materiale di partenza destinato al compostaggio, i rapporti tra i rifiuti organici industriali o urbani e la matrice verde (Minuto et al., 2007), le tecniche di compostaggio, la corretta gestione del processo e controllo della qualità, l’omogeneità del prodotto nell’ambito della stessa fornitura e di quelle successive per la sua standardizzazione (Rea et al., 2009). Stabilita la miscela di substrati, su di questa è necessario controllare i principali parametri (pH, conducibilità elettrica e granulometria) al fine di valutare un suo possibile utilizzo per l’allevamento di piante in vaso e quindi adeguare la tecnica di coltivazione in modo da ottimizzare le performance produttive (Lanzi, Tesi di Laurea, anno accademico 2004-2005).

Marzioletti et al (2006) riportano che alcune prove condotte al Centro Sperimentale per il Vivaismo di Pistoia hanno fornito buoni risultati, dimostrando

di poter sostituire, nella preparazione di substrati colturali, la torba con del compost di “qualità”, nella misura del 10-20%. Eventuali problemi riscontrati sono stati una ri-fermentazione del materiale, nel caso in cui la maturazione del compost non era stata perfettamente completata, che ha comportato una carenza di N nelle piante (è tanto più evidente quanto maggiore è la frazione di compost aggiunta al terriccio); valori elevati di salinità che hanno reso necessario ridurre la percentuale di miscelazione, soprattutto nei sistemi di coltivazione con ricircolo delle acque di drenaggio, dove maggiore è il rischio della salinizzazione del substrato col progredire della coltivazione; un costipamento del substrato, nel caso di utilizzo di compost proveniente dalla frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU), con conseguente riduzione della capacità di drenaggio dell'acqua e creazione di un ambiente asfittico per gli apparati radicali delle piante. Quest'ultimo fenomeno è dovuto alla granulometria fine di questo materiale. Infatti i compost derivati da FORSU hanno cicli molto serrati ed ottimizzati per minimizzare i tempi di lavorazione. Le biomasse sono finemente triturate per accelerare il processo di bioconversione aerobica, che, attraverso varie fasi, ha una durata di circa un mese. Il prodotto ottenuto è poi vagliato finemente per selezionare solo la frazione ben compostata che viene tenuta per circa due mesi in cumuli periodicamente rivoltati (per completare la maturazione) mentre il residuo viene reimmesso nel ciclo. È evidente che, con un simile ciclo produttivo, non è possibile ottenere un compost di granulometria grossolana poiché questo aumenterebbe i tempi di compostaggio oppure porterebbe ad ottenere un prodotto non perfettamente stabilizzato e soggetto a quindi a rifermentazione.

In un'ottica di lungo periodo, non può essere sottaciuto il valore ambientale di una progressiva sostituibilità della torba con il compost che permetterebbe il riutilizzo e la valorizzazione dei rifiuti con gli ovvi vantaggi dovuti al risparmio di risorse e di energia (Sali, 2004).

Tabella 5. Materie prime utilizzate per la preparazione di miscele da destinare alle colture in vaso

Table 5. Raw materials for potted growing substrates.

substrati naturali organici	substrati naturali inorganici	substrati organici sintetici	substrati inorganici sintetici	substrati alternativi
Torbe	Sabbia	polistirolo	Perlite	ammendanti
Lolla di	Pozzolana	Schiuma	Lana di roccia	compostati (verdi e misti)
riso	Pomice	poliuretana		Fibra di cocco
Paglia	Argille			Fibra di legno
	Lapillo			Cortecce
	Vermiculite			Alghe
	Argilla			Depositi di
	espansa			<i>Posidonia oceanica</i>
	Zeoliti			Pneumatici tritati
	Tufo			

Tabella 6. Alcune caratteristiche fisiche e chimiche di materiali utilizzati per la preparazione di substrati di coltura (Marzialesi et al., 2006)

Table 6. Physical and chemical features of raw materials for potted growing substrates (Marzialesi et al., 2006)

Parametro	Substrato ideale	Torba di sfagno	Compost	Derivati del legno	Fibra di cocco
Densità apparente (Kg/L)	0,15-0,60	0,07-0,30	0,30-0,40	0,12-0,13	0,08-0,10
Porosità totale (% vol.)	>85	>90	>80	>90	>90
Capacità per l'aria (% vol)	20-30	15-40	20-30	45-50	10-20
Acqua disponibile (% vol)	25-40	25-30	10-20	15-20	20-25
pH	4,5-6,0	2,5-3,5	7,0-8,0	6,0-6,5	5,5-7,0
Conducibilità elettrica (mS/cm)	<2,00	0,20-0,60	1,5-3,0	0,60-0,80	0,20-0,50

1.6 La tecnica della micropropagazione per la produzione di specie floricole

La produzione floricola è sostanzialmente effettuata per propagazione agamica di genotipi selezionati. Tuttavia, non sempre la propagazione *in vivo* riesce a soddisfare la richiesta e pertanto è necessario fare ricorso alla micropropagazione *in vitro* (Ruffoni, 2009).

La micropropagazione *in vitro* di specie vegetali consiste nell'allevare le gemme o le microtalee su idonei mezzi di coltura addizionati di ormoni vegetali in maniera tale da esaltare al massimo la produzione di nuovi germogli. Le piante, ottenute con questa tecnica, sono cloni della pianta che ha donato il tessuto. Nel processo di micropropagazione si distinguono quattro fasi:

- Induzione e stabilizzazione delle colture in ambiente asettico.
- Promozione dell'attività rigenerativa e moltiplicazione dei nuovi germogli.
- Induzione e sviluppo di nuove radici alla base dei germogli.
- Trapianto ed acclimatazione (Cricca, 2008).

La coltura *in vitro* è uno strumento di straordinaria efficacia, in grado di abbattere notevolmente i tempi di inserimento sul mercato e garantire la produzione di materiale di qualità, sano, esente da virus e batteri. In particolare, per quanto riguarda il prodotto floricolo, caratterizzato da un consumo e da un *turnover* veloce, tale tecnica risulta essere uno strumento molto utile per soddisfare la domanda di mercato (Ruffoni, 2009). Si stima che la richiesta mondiale di materiale di propagazione raggiunga i 16 miliardi di unità propagative (3/5 dei quali sono per piante floricole e 2/5 sono per piante ornamentali da vaso) (Prakash, 2007).

La tecnica di propagazione *in vitro* è da considerare economicamente vantaggiosa e quindi utile nell'aumentare le potenzialità di moltiplicazione di una coltura a livello vivaistico-industriale quando permette di ottenere in tempi brevi un elevato numero di piante di qualità e con un costo relativamente basso. La messa a punto di tale tecnica implica l'individuazione dei mezzi di coltura appropriati e delle condizioni ambientali ottimali per favorire un elevato coefficiente di moltiplicazione e di radicazione.

Per il successo di una coltura è necessario individuare il protocollo di propagazione che complessivamente riesca a conferire il massimo rendimento con la minore incidenza di costo. Il sistema completo di micropropagazione può essere obbligato se non vi sono alternative alla propagazione *in vitro* (es. gerbera). Le piante da fiore reciso, completamente prodotte *in vitro* e maggiormente commercializzate sono orchidee, gerbera e alstroemeria. Anche tra le specie ornamentali da vaso troviamo almeno sei specie che sono prodotte attraverso micropropagazione (Ruffoni, 2009). Nella maggior parte dei casi, la coltura *in vitro* si inserisce nella filiera propagativa con modalità specifiche; in questo caso il coinvolgimento è parziale e riguarda diverse applicazioni quali la semina *in vitro*, il risanamento delle piante, la propagazione di piante madri da genotipi selezionati, il supporto ai programmi di miglioramento genetico (tramite embricoltura), la preparazione di protocolli di rigenerazione per trasformazione genetica (George, 1993).

Le specie ornamentali emergenti nel campo della micropropagazione sono le essenze mediterranee semilegnose per la produzione di vasi fioriti, per la coltivazione di specie da fronda recisa, per piante da vivaio, giardino ed arredo urbano. Inoltre le specie mediterranee sono spesso piante a duplice attitudine, interessanti anche per l'estrazione di metaboliti. Anche il ranuncolo (Beruto e Debergh, 2004) ed i fiori da mazzeria (anemone, papavero, garofano, margherite), sono da considerare promettenti anche se questi ultimi necessitano di molto lavoro di ricerca per arrivare a protocolli definitivi di produzione *in vitro*.

Molti sono i punti di forza della tecnica della micropropagazione per la moltiplicazione di piante ornamentali. Essa permette l'ottenimento sia di piante e fiori di qualità elevata sia di prodotti altamente omogenei. Questa tecnica consente una estrema efficienza di propagazione agamica per selezioni e genotipi particolari ed elevate produzioni in tempi brevi. Inoltre è bene evidenziare che il carattere voluttuario delle specie floricole permette di giustificare il costo aggiuntivo del *vitro*. Tuttavia, la micropropagazione presenta anche dei punti di debolezza quali la forte incidenza della manodopera sul costo di produzione che ha favorito i prodotti provenienti da Paesi dell'Europa orientale, dell'Asia, dell'America del Sud, notoriamente usi all'impiego di manodopera a basso costo; la scarsa innovazione tecnico-scientifica (in particolare negli ultimi 15 anni) e, di

conseguenza, la mancanza di ricadute pratico-applicative, necessarie per determinare una riduzione dei tempi e/o della manodopera richiesta nel ciclo produttivo; il mancato superamento di barriere fisiologiche che tuttora impediscono la propagazione *in vitro* di specie cosiddette “recalcitranti”. Tali fattori, il più delle volte, sono responsabili della non competitività del costo di produzione delle piante micropropagate rispetto alle produzioni con tecniche tradizionali di propagazione.

Per il miglioramento della tecnica della micropropagazione delle specie ornamentali si rende necessario approntare studi che affrontino diverse tematiche quali il controllo ed abbattimento delle contaminazioni, la ricerca di sostanze chimiche innovative (regolatori di crescita), le tecniche alternative alla coltura su substrato gelificato, il miglioramento dei sistemi di stoccaggio delle colture, il superamento delle difficoltà ed onerosità delle fasi conclusive del ciclo (radicazione ed acclimatazione), l’individuazione di marcatori genetici e/o fisiologici per l’analisi precoce della conformità genotipica e fenologica e per la caratterizzazione dei passaggi tra le fasi propagative e gli stati di stress. Questi argomenti hanno oggi un carattere prioritario nell’ambito delle biotecnologie vegetali (Ruffoni, 2009).

Diverse ricerche, negli ultimi anni, si sono orientate verso l’automazione della tecnica di micropropagazione mediante l’utilizzo di bioreattori che permettono una significativa riduzione dei costi (Takayama e Akita, 1994; Leathers et al., 1995) e, in molti casi, favoriscono il processo propagativo (Paek et al., 2005; Preil, 1991; Sharma, 1992). Propaguli vegetali possono quindi essere coltivati intensivamente in bioreattori al fine di produrre nuove piante per produzioni industriali su larga scala. Attualmente le specie vegetali che meglio rispondono a tale tecnica sono *Stevia rebaudiana*, *Begonia*, *Chrysanthemum*, mela, uva, ananas, aglio e *Phalaenopsis* (Paek et al., 2005).

1.7 La direttiva CE sulla propagazione di piante ornamentali

La commercializzazione di materiale di propagazione di piante ornamentali è regolata dalla direttiva CE 98/56 del luglio 1998, a protezione del territorio contro l’introduzione di organismi nocivi e a garanzia dei coltivatori. Tale direttiva regola la materia. In particolare, gli Artt. 4 e 5 specificano quali debbano

essere i requisiti sanitari del materiale di propagazione. Nella direttiva vengono anche definiti i criteri qualitativi che devono essere posseduti da questi prodotti (“il materiale di propagazione deve essere esente da difetti tali da comprometterne la qualità”; “deve avere vigore e dimensioni sufficienti per l’uso”; “deve avere una identità ed una purezza varietale soddisfacente”). Inoltre la direttiva chiarisce le responsabilità della commercializzazione, affermando che il fornitore di materiale di propagazione è garante della qualità di questo. L’emanazione di tale direttiva CE è stato un passo di notevole importanza in quanto con essa si è voluto non solo impedire l’eventuale introduzione, nel territorio europeo, di patogeni che avrebbero potuto determinare gravi conseguenze sulle altre coltivazioni e sulla popolazione vegetale naturale ma anche garantire la qualità della merce messa in commercio. Tutte queste condizioni vengono facilmente soddisfatte nel caso di materiale di propagazione proveniente da coltura *in vitro* (Ruffoni, 2009).

1.8 Il settore della micropropagazione in Italia

Le prime esperienze di micropropagazione in Italia si hanno intorno agli anni ottanta durante i quali ci fu una grande attenzione verso questa tecnica in quanto poteva permettere l’ottenimento di un grande numero di plantule in tempi e spazi ridotti. L’improvviso successo che ne derivò ha però distolto le aziende italiane da una programmazione più oculata che considerasse gli sviluppi a lungo termine. Infatti, molti laboratori che si erano introdotti nel mercato negli anni ’80, ad un successo iniziale seguì un lento declino poiché essi non erano stati in grado di collocarsi su scala industriale. Inoltre, l’aumento dei costi e la stagnazione dei prezzi portarono le aziende a ridurre gli investimenti rivolti alla modernizzazione delle loro strutture o alla ricerca di nuove specie da proporre al mercato. Le aziende, progressivamente, invecchiavano e tal deficit non era legato ai soli investimenti aziendali ma a tutto il sistema di produzione, logistica e di commercializzazione dell’intero settore. Tale situazione si aggravò ulteriormente a seguito della stabilizzazione dei consumi pro-capite ed alla nascita sul mercato della grande distribuzione che richiede un’organizzazione ed efficienza che solo un sistema strutturato può fornire. Inoltre, l’approccio tradizionalmente individualista del nostro Paese ha indirizzato i laboratori verso una politica di sfruttamento di brevetti di terzi o di utilizzazione di materiale libero da

brevettazione. Al contrario, l'utilizzazione di genotipi e tecnologie di proprietà e l'organizzazione in catene produttive sono stati, a partire dagli anni '90, i punti fondamentali di sviluppo per l'Olanda, Francia e Stati Uniti. Ad oggi, l'Italia si trova a dover affrontare anche la competizione di pesi terzi aventi costi di produzione non sostenibili in paesi industrializzati. Ne consegue, l'esigenza di creare reti di collaborazione tra enti pubblici e privati nonché flussi produttivi organizzati che possano affrontare in modo più maturo l'attuale pressante concorrenza internazionale (Venturi et al., 2009).

1.9 La micorrizzazione quale strumento biotecnologico da applicare nella tecnica della propagazione *in vitro*

L'efficienza della tecnica della micropropagazione è spesso legata alla perdita di piante o ai danni da esse subiti durante l'ambientamento che viene considerato un punto critico della filiera di moltiplicazione *in vitro*. Le piante micropropagate sono estremamente vulnerabili durante questa fase poiché caratterizzate da una morfologia, anatomia e fisiologia peculiari, determinate da un microambiente in camera di crescita caratterizzato da condizioni asettiche, scarsità di luce, elevata umidità relativa associata ad una mancanza di approvvigionamento di CO₂ dall'esterno nel caso dei contenitori che non prevedono il ricambio gassoso, pronta disponibilità di zucchero nel substrato come fonte di carbonio; in tale ambiente i tessuti vegetali vivono in condizioni eterotrofiche con scarsa efficienza fotosintetica, malfunzionamento degli stomi e insufficiente protezione delle cere epicutcolari scarsamente depositate sulla parte esterna delle cellule dell'epidermide (Wang et al., 1993). Durante l'ambientamento, che dura circa 60 giorni, le piante hanno bisogno di raggiungere velocemente la massima funzionalità, sia per quanto riguarda l'assorbimento di acqua e minerali sia per quanto riguarda l'acquisizione di un completo autotrofismo. La sopravvivenza delle piante durante l'acclimatamento è strettamente dipendente dalla specie testata.

La micorrizzazione può essere presa in seria considerazione quale strumento biotecnologico per aiutare a superare la criticità di questa fase. La colonizzazione degli apparati radicali delle piante da parte dei funghi micorrizici permette l'incremento del vigore delle piante grazie all'aumentato assorbimento di acqua e

di elementi nutritivi, soprattutto del fosforo (Ruta e Morone Fortunato, 2009). In particolare, nel caso di colonizzazione da parte di questi funghi negli apparati di piante micropropagate, la simbiosi può ridurre gli stress ed influire positivamente sulla sopravvivenza e sul tasso di crescita dopo la fase di acclimatazione, come è riportato in bibliografia per numerose specie orticole, floricole e da frutto (Morone Fortunato et al., 2005, Duffy e Cassels, 2000, Rapparini et al., 1996, Wang et al., 1993, Lovato et al., 1992). La simbiosi determina non solo un incremento nella biomassa in termini di sviluppo dei germogli, numero di foglie, area fogliare, peso fresco e secco ma anche un aumento del tasso di fotosintesi, fondamentale per il migliore avvio dei processi fisiologici. Gli effetti benefici, determinati dalla combinazione della micropropagazione e della micorizzazione, perdurano nelle piante per tutta la durata del loro ciclo ontogenetico, influenzando positivamente e garantendo un miglioramento della produzione. Un altro aspetto da valutare, fondamentale per il buon esito di questa biotecnologia, è l'interazione pianta- fungo al fine di una selezione appropriata dell'isolato fungino da utilizzare al fine di ottenere, nei minori tempi possibili, adeguate colonizzazioni dell'apparato radicale della pianta ospite (Ruta e Morone Fortunato, 2009). Dodd e Thomson (1994) auspicano l'utilizzo di ecotipi fungini nativi che dovrebbero essere altamente efficaci nello stabilire la simbiosi. La determinazione dei livelli di infettività ed efficienza dei vari funghi nei confronti di piante diverse, rappresenta quindi un presupposto importante per la scelta, da parte degli operatori del settore, degli inoculi fungini da utilizzare nelle varie coltivazioni (Ruta e Morone Fortunato, 2009).

1.10 Obiettivo ed attività della ricerca

Lo studio condotto nell'ambito di tale dottorato ha avuto lo scopo di migliorare la produzione di pelargoni fornendo un prodotto di qualità ottenuto con tecniche colturali ecocompatibili. Sono state quindi individuate sia miscele fertilizzanti composte da un inoculo di funghi micorrizici e da un concime organico da aggiungere al substrato di allevamento sia substrati di allevamento in cui la torba veniva sostituita in parte da compost. Allo scopo di intervenire per un miglioramento della filiera produttiva dei pelargoni, la ricerca si è prefissata l'ulteriore obiettivo di applicare la metodica della propagazione *in vitro* quale

tecnica alternativa per la propagazione agamica di specie di pelargoni profumati con difficoltà di radicazione della talea. La maggioranza delle ricerche svolte sulla rigenerazione vegetale dei pelargoni riguardano espianti giovani come ipocotili e cotiledoni e sono scarse le informazioni sulla organogenesi e sulla rigenerazione vegetale a partire da espianti maturi di pelargoni (Hassanein e Dorion, 2005). Nel corso della ricerca è stato valutato inoltre l'effetto della simbiosi micorrizica sul processo produttivo del pelargonio, in particolare nel miglioramento dei parametri qualitativi, sullo stato nutrizionale ed in specifiche fasi della cultura *in vitro*, per un miglioramento qualitativo e quantitativo della produzione.

L'attività sperimentale è consistita, nel primo anno, nella valutazione dell'effetto di miscele fertilizzanti composte da guano e da un inoculo grezzo commerciale di funghi micorrizici arbuscolari. La sperimentazione ha visto la somministrazione, al substrato di allevamento, di due miscele fertilizzanti, composte da guano e dall'inoculo fungino, e dei singoli costituenti la miscela. La fase successiva della ricerca, oggetto dell'attività del secondo anno di dottorato, è stata l'individuazione della/le dosi ottimali di inoculo fungino, nella suddetta miscela, al fine di un contenimento dei costi di allevamento. Infine, nel terzo anno di dottorato, si è saggiata la possibilità di una sostituzione parziale della torba con del compost. Sono state utilizzate diverse specie di pelargoni (pelargoni zionali- *P. hortorum* cv "Real polaris" e cv "Real sirius"; *Pelargonium crispum*- cv "pac angeleyes burgundi"; *Pelargonium grandiflorum*- cv "Lotus"). L'attività scientifica si è svolta presso le serre messe a disposizione dal Vivaio Piante e Fiori Albani e Ruggeri di Civitavecchia e presso i laboratori del CRA-RPS-Centro di ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo (Dr.ssa Elvira Rea).

L'attività sperimentale, che ha riguardato l'applicazione della metodica della propagazione *in vitro* quale alternativa alla propagazione agamica di questa specie, è consistita, nel corso del secondo anno di dottorato, nella individuazione e sviluppo di un efficace sistema di rigenerazione a partire da espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra. Successivamente, nel terzo anno di dottorato, l'attività si è incentrata sulla valutazione dell'utilizzo del bioreattore per la moltiplicazione degli espianti al fine di incrementare ulteriormente l'efficienza rigenerativa e per un abbattimento dei tempi di coltura. Infine è stata utilizzata la tecnica della micorrizzazione degli apparati radicali delle

piantine micropropagate in fase di acclimatazione per incrementare la capacità di sopravvivenza di queste. Le specie utilizzate nelle prove di micropropagazione sono state: *Pelargonium lemon fancy* e *tomentosum*; *pelargonium crispum* cv Minor e cv Pac angeleyes burgundi; *pelargonium grandiflorum* cv Lotus. Il materiale vegetale è stato reperito presso vivai locali e, per quanto riguarda il *pelargonium grandiflorum* cv lotus, alcuni esemplari sono stati messi a disposizione dall'azienda vivaistica Albani e Ruggeri (Civitavecchia, Rm). Le attività di micropropagazione sono state svolte presso il laboratorio del Dipartimento di Geologia e Ingegneria Meccanica, Naturalistica e Idraulica per il Territorio della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi della Tuscia (VT) (Dr.ssa Mariateresa Cardarelli), presso i laboratori dell'ENEA CASACCIA, Roma (Dr.ssa Loretta Bacchetta) e presso i laboratori del CRA-RPS-Centro di ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo (Dr.ssa Elvira Rea).

CAPITOLO 2. SOMMINISTRAZIONE DI UN FERTILIZZANTE COMPOSTO DA UNA MISCELA DI GUANO E MICORRIZE ARBUSCOLARI E SOSTITUZIONE PARZIALE DELLA TORBA CON COMPOST PER UNA PRODUZIONE DI QUALITÀ ECOSOSTENIBILE DI PIANTE DI PELARGONIO.

2.1 Valutazione dell'effetto della somministrazione, al substrato di allevamento, di due miscele fertilizzanti, composte da guano e dall'inoculo fungino, e dei singoli costituenti la miscela. Materiali e metodi

Piano sperimentale e rilievi

Scopo dell'attività è stata la valutazione dell'efficacia di miscele fertilizzanti composte da un concime organico (guano) e da un inoculo grezzo di funghi micorrizici arbuscolari sulla qualità ecosostenibile di piante di pelargonio. Talee di pelargonio zonali (*P.x hortorum* cv “Real polaris” e “Real sirius”), fornite dal Vivaio Albani e Ruggeri, sono state allevate per circa due mesi in contenitori di diametro 8 cm (volume 0,2 l), in una serra automatizzata. Il substrato di allevamento era un terriccio compostato le cui caratteristiche sono riportate in tab. 1. Le miscele fertilizzanti utilizzate nella prova erano composte da guano (3 g/l) e da un inoculo di funghi micorrizici composto da più ceppi, tra i quali, il più importante, per effetto e quantità, era il *Glomus intraradices* (15 l/m³ - dose consigliata dal produttore- e 7,5 l/ m³). E' stato valutato anche l'effetto dei singoli costituenti la miscela. L'inoculo fungino ed il concime organico sono stati forniti dalla ditta Italtollina S.p.A.

Le tesi sono state le seguenti:

- ✓ CONTROLLO. Talee di pelargonio allevate con la classica tecnica colturale: CP (cv “Real polaris”- n° 150 repliche) e CS (cv “Real sirius”- n° 150 repliche)
- ✓ M1. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento al quale era stato aggiunto l'inoculo di funghi micorrizici arbuscolari (7,5 l/ m³): M1P (cv “Real polaris”- n° 75 repliche) e M1S (cv “Real sirius”- n° 75 repliche)

✓ M2. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento al quale era stato aggiunto l'inoculo di funghi micorrizici arbuscolari (15 l/ m^3): M2P (cv "Real polaris"- n° 75 repliche) e M2S (cv "Real sirius"- n° 75 repliche)

✓ G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento in presenza di guano (3 g/l): GP (cv "Real polaris"- n° 50 repliche) e GS (cv "Real sirius"- n° 50 repliche)

✓ M1G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento al quale era stata aggiunta la miscela fertilizzante composta dall'inoculo di funghi micorrizici arbuscolari ($7,5 \text{ l/ m}^3$) e da guano (3 g/l):M1GP (cv "Real polaris"- n° 50 repliche) e M1GS (cv "Real sirius"- n° 50 repliche)

✓ M2G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento al quale era stata aggiunta la miscela fertilizzante composta dall'inoculo di funghi micorrizici arbuscolari (15 l/ m^3) e da guano (3 g/l):M2GP (cv real polaris- n° 50 repliche) e M2GS (cv "Real sirius"- n° 50 repliche)

Il piano di fertilizzazione ha previsto, per le tesi alle quali non veniva somministrato il guano, un concime N:P:K= 1:0,6:1,3. Per le altre tesi si è approntata una concimazione con un apporto N:K= 1:1,3. Sono stati valutati i seguenti parametri biometrici:

- ✓ Peso fresco (porzione epigea, foglie, cauli, infiorescenze);
- ✓ Peso secco (porzione epigea, foglie, cauli, infiorescenze);
- ✓ Altezza pianta (misurata dal colletto alla base dell'infiorescenza);
- ✓ Numero foglie/pianta;
- ✓ Area fogliare;
- ✓ Numero infiorescenze/pianta;
- ✓ Numero boccioli/pianta,
- ✓ Numero boccioli chiusi/pianta.

Sono stati determinati i contenuti di clorofilla (Arnon, 1949). Le radici delle piante di pelargonio sono state colorate con il blue di metile (Grace e Stribley, 1991) e quindi osservate ad uno stereoscopio al fine di valutare l'entità della percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali attraverso il metodo del grid line intercept method descritto da Giovanetti e Mosse, 1980 (Giovanetti e Mosse, 1980).

Tabella 1. Composizione del terriccio (Technostrat srl, Gruppo Sopram) utilizzato per l'allevamento delle piante di pelargonio, in tutte le prove agronomiche.

Table 1. Potting substrate composition (Technostrat srl, Gruppo Sopram)

Composizione	% volume
Torba bionda (0-40 mm)	87
Agriperlite	10
Torba scura (0-10 mm)	0,3
	Kg
Concime per substrati di coltivazione PG Mix (Titolo: N-P-K= 14-16-18)*	1
Microelementi** dalla ditta Scotts nome commerciale = Micromax)	0,075
pH 5,5-5,8	
*Multimix, ditta Haifa	
**Micromax, ditta Scotts	



Foto 1. Piantine delle due cultivar di pelargonio a 15 giorni dal trapianto della talea.

Photo 1. Pelargonium plants after 15 days from the cutting transplant.



Foto 2. Piante delle due cultivar di pelargonio alla fine della prova

Photo 2. Pelargonium plants at the end of the trial

Analisi statistica

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi di varianza per valutare l'influenza delle due variabili (cultivar e trattamento) e della loro interazione sulla qualità della pianta di pelargonio (tab.2). La significatività delle differenze tra le medie è stata determinata tramite il Fisher's least significant difference (LSD) test.

Tabella 2. Tabella della significatività statistica delle variabili considerate.**Table 2.** Statistically significance table.

Parametri biometrici considerati	<i>Variabili</i>		
	<i>trattamento</i>	<i>cultivar</i>	<i>Trattamento x cultivar</i>
Peso fresco porz. epigea	NS	NS	NS
Peso fresco foglie	NS	***	**
Peso fresco infiorescenze	NS	**	NS
Peso fresco caule	NS	***	NS
Peso secco porz. epigea	NS	NS	**
Peso secco foglie	NS	***	NS
Peso secco infiorescenze	NS	***	**
Peso secco caule	NS	**	NS
Numero cauli/pianta	NS	***	NS
Lunghezza cauli	*	NS	*
Numero foglie/pianta	NS	**	NS
Area fogliare	*	***	**
Numero infiorescenze/pianta	NS	***	NS
Numero boccioli chiusi/pianta	NS	***	NS
Numero boccioli/pianta	NS	***	NS
Percentuale di colonizzazione*** micorrizica		NS	NS
Contenuto di clorofilla/ g di pesoNS fresco		*	*

NS, *, **, ***: non significativo, $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$ rispettivamente-

2.1.1 Risultati e discussione

Tutte le tesi che hanno previsto la somministrazione, al substrato di allevamento, di inoculi micorrizici mostrano apparati radicali ben micorrizati. In particolare, le piante allevate in presenza delle miscele fertilizzanti presentano i valori più alti di colonizzazione micorrizica (tab.3). Non si osserva un comportamento diverso delle cultivar per quanto riguarda la loro suscettibilità alla colonizzazione fungina. Tutte le piante non hanno subito alcuna variazione in funzione dei trattamenti effettuati per quanto riguarda il numero di foglie/ pianta (tab.4) ed i valori di altezza delle piante (tab. 5). La somministrazione della miscela fertilizzante M1G ha permesso di ottenere piante di pelargonio della cv “Real polaris” con i valori

più alti di peso fresco delle foglie, di peso secco della porzione epigea, delle infiorescenze e dell'area fogliare (tab. 6). La sommistrazione delle due miscele fertilizzanti ha determinato, nelle piante, una tendenza all'incremento, anche se non statisticamente significativa, dei valori di peso fresco delle infiorescenze, peso fresco e secco del caule, di peso secco delle foglie, del numero delle infiorescenze/pianta, del numero dei boccioli/pianta rispetto alle altre tesi (tab.7). I contenuti di clorofilla assumono lo stesso valore in tutte le piante di pelargonio cv "Real polaris" mentre, per quanto riguarda la cultivar "Real sirius", solo le piante allevate in presenza di guano mostrano i più alti contenuti fogliari di clorofilla (tab. 8). I parametri biometrici delle piante di pelargonio cv "Real sirius" non sono stati influenzati dai trattamenti imposti.

Tabella 3. Percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali delle due cv di pelargoni.

Table 3. Root mycorrhizal colonization in the two cultivar of pelargonium

cultivar "Real polaris"	%C	cultivar "Real sirius"	%C
M1	61,67a	M1	59,33a
M2	60,00a	M2	60,67a
M1G	85,33b	M1G	79,00b
M2G	85,67b	M2G	78,67b

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 4. Numero delle foglie/pianta nelle due cv di pelargoni.

Table 4. Leaves number/plant in the two cultivar of pelargonium

cultivar "Real polaris"	n°foglie/pianta	cultivar "Real sirius"	n°foglie/pianta
C	33b	C	25a
M1	26,6b	M1	22,6a
M2	25,2b	M2	26,6a
G	25,6b	G	23,2a
M1G	33,4b	M1G	21,6a
M2G	27,6b	M2G	25,2a

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 5. Valori di altezza della pianta (cm) nelle due cv di pelargoni.

Table 5. Shoot height (cm) in the two cultivar of pelargonium

cultivar “Real polaris”	(cm)	cultivar “Real sirius”	(cm)
C	8,33abc	C	9,44c
M1	9,25bc	M1	8,88bc
M2	9,5c	M2	9,76c
G	7,41a	G	9,60c
M1G	9,25bc	M1G	9,65c
M2G	8,81bc	M2G	8,10ab

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 6. Valori di peso fresco delle foglie (g), peso secco della porzione epigea (g), peso secco delle infiorescenze (g) e di area fogliare (cm^2) delle due cv di pelargoni

Table 6. Leaves fresh weight (g), shoot dry weight (g), inflorescences dry weight (g), leaf area (cm^2) in the two cultivar of pelargonium

cultivar “Real polaris”	Peso fresco foglie (g)	Peso secco porzione epigea (g)	Peso secco infiorescenze (g)	Area fogliare (cm^2)
C	24,90d	4,11ab	0,43a	448,67d
M1	19,97bcd	4,18ab	0,74ab	377,86bcd
M2	23,46cd	4,65abc	0,95abc	425,16d
G	22,11cd	4,86bc	0,84abc	395,04bcd
M1G	31,45e	6,18d	1,25bcd	586,06e
M2G	21,84cd	4,89bc	1,62cd	413,96cd

cultivar “Real sirius”	Peso fresco foglie (g)	Peso secco porzione epigea (g)	Peso secco infiorescenze (g)	Area fogliare (cm^2)
C	16,42ab	5,62cd	3,14e	323,74abc
M1	14,69ab	4,28ab	1,85d	303,68ab
M2	18,14abc	4,80bc	1,87d	379,25bcd
G	13,07a	3,54ab	1,56cd	259,05ab
M1G	13,52a	4,57abc	2,01d	275,17ab
M2G	15,52ab	3,80ab	1,60cd	306,09ab

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 7. Valori di peso fresco (g) delle infiorescenze, peso fresco (g) dei cauli, peso secco (g) dei cauli, peso secco (g) delle foglie, numero di infiorescenze/pianta, numero di boccioli/pianta di pelargonio e percentuale di boccioli chiusi /pianta delle due cv di pelargonio.

Table 7. Flowers fresh weight (g), stem fresh weight (g), stem dry weight (g), leaves dry weight (g), inflorescences number/plant, flower bud number/plant and closed flower bud percentage/plant in the two cultivar of pelargonium.

Cultivar “Real polaris”	Peso fresco infiorescenze (g)	Peso fresco cauli (g)	Peso secco cauli (g)	Peso secco foglie (g)	Numero infiorescenze/ pianta	Numero boccioli/pianta	% boccioli chiusi/pianta
C	12,85a	1,29a	1,16a	2,53b	1,4a	35,71b	94,39b
M1	10,2a	1,79a	1,0a	2,35b	1,6a	37,25b	90,98b
M2	13,19a	1,84a	1,0a	2,60b	1,8a	38,56b	78,99b
G	14,57a	1,95a	1,2a	2,79b	2,2a	38,55b	78,82b
M1G	17,13a	2,61a	1,2a	3,64b	2,4a	42,92b	82,39b
M2G	17,80a	2,50a	1,0a	2,26b	2,6a	39,92b	80,69b
Cultivar “Real sirius”	Peso fresco infiorescenze (g)	Peso fresco cauli (g)	Peso secco cauli (g)	Peso secco foglie (g)	Numero infiorescenze/ pianta	Numero boccioli/pianta	% boccioli chiusi/pianta
C	16,32b	3,67b	0,74b	1,74a	4b	31,05 a	77,62 a
M1	18,08b	3,94b	0,82b	1,62a	5,2b	29,35 a	73,24 a
M2	19,62b	4,32b	1,21b	1,72a	5,2b	27,27 a	81,22 a
G	18,58b	3,83b	0,73b	1,25a	4,2b	31,38 a	81,29 a
M1G	18,70b	3,74b	1,05b	1,51a	4,4b	32,86 a	76,99 a
M2G	18,75b	3,41b	0,76b	1,44a	5,2b	28,73 a	75,47 a

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 8. Contenuti di clorofilla (mg/1g fw) nelle due cv di pelargoni

Table 8. Chlorophyll content in the two cultivar of pelargonium

cultivar polaris”	“Real Clorofilla (mg/gfw)		cultivar sirius”	“Real Clorofilla (mg/gfw)	
C	156,37	abc	C	141,22	ab
M1	152,16	abc	M1	159,52	abc
M2	146,64	abc	M2	163,26	bc
G	129,18	a	G	208,30	e
M1G	136,96	ab	M1G	152,40	abc
M2G	162,18	abc	M2G	179,00	cd

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure



Foto 3. Piante di Pelargonio zonale cv “Real polaris” alla fine del ciclo culturale. A sx una pianta controllo; a dx una pianta allevata in presenza della miscela fertilizzante

Photo 3. Plants of Pelargonium zonal cv “Real polaris” at the end of the growing cycle. Sx: control plant; Dx: plant grown with the fertilizer mixture.

2.1.2 Conclusioni

Tutte le piante di pelargonio (*P. x hortorum* “Real polaris” e “Real sirius”) inoculate con i funghi micorrizici arbuscolari presentavano apparati radicali ben micorrizzati. La somministrazione della miscela fertilizzante ha permesso di ottenere piante con un grado di colonizzazione radicale maggiore rispetto a quelle che avevano ricevuto solo l’inoculo fungino (incremento della colonizzazione radicale di circa un 1,4%). Inoltre, l’integrazione della fertilizzazione con le due miscele fertilizzanti ha determinato lo sviluppo di piante di qualità tendenzialmente superiore rispetto a quelle allevate con la classica tecnica colturale. Infatti, i valori dei parametri biometrici di queste piante, pur non essendo statisticamente diversi da quelli delle piante controllo, mostrano una tendenza all’incremento. E’ bene osservare che il comportamento delle piante ai trattamenti imposti è stato cultivar-specifico, avendo osservato una risposta migliore da parte delle piante di *P. x hortorum* “Real polaris”. La causa dell’alta variabilità nei dati raccolti potrebbe essere stata determinata dalla diversa distribuzione della luce all’interno della serra ed il numero di repliche considerato. Si è ritenuto quindi opportuno, nella prova successiva, di aumentare il numero di repliche e di sostituire il pelargonio zonale “Real sirius” con un’altra specie di pelargonio.

2.2 Individuazione della dose ottimale di inoculo fungino per la costituzione della miscela fertilizzante. Materiali e metodi.

Piano sperimentale e rilievi

Scopo dell’attività è stata l’individuazione della dose minima di inoculo fungino da somministrare con il concime organico al fine di una ottimizzazione della suddetta miscela. Talee di pelargonio (pelargonio zonale *P. x hortorum* cv “Real polaris” e *Pelargonium crispum* cv “Pac angeleyes burgundi”), fornite dal Vivaio Albani e Ruggeri, sono state allevate per circa due mesi in contenitori di diametro 8 cm (0,200 l), in una serra automatizzata. Al substrato di coltivazione (tab.1), sono state aggiunte tre miscele composte da guano (3 g/l) e da diverse concentrazioni di un inoculo di funghi micorrizici arbuscolari composto da più ceppi, tra i quali, il più importante, per effetto e quantità, era il *Glomus intraradices* (15 l/m³ dose consigliata dal produttore- 7,5 l/ m³ e 3.75 l/ m³).

L'inoculo fungino ed il concime organico sono stati forniti dalla Italtollina S.p.A. Sono state allestite le seguenti tesi:

- ✓ CONTROLLO. Talee di pelargonio allevate con la classica tecnica colturale: CP (*P. x hortorum* cv "Real polaris"- n° 75 repliche) e CA (*P. crispum* cv "pac angeleyes burgundy" - n° 75 repliche)
- ✓ M1G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento miscelato con un inoculo fungino (3.75 l/ m³) e con guano (3 g/l):M1GP (*P. x hortorum* cv "Real polaris"- n° 24 repliche) e M1GA (*P. crispum* cv "pac angeleyes burgundy" - n° 24 repliche)
- ✓ M2G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento miscelato con un inoculo fungino (7.5 l/ m³) e con guano (3 g/l):M1GP (*P. x hortorum* cv "Real polaris"- n° 75 repliche) e M1GA (*P. crispum* cv "pac angeleyes burgundy" - n° 75 repliche)
- ✓ M3G. Talee di pelargonio allevate su di un substrato di allevamento miscelato con un inoculo fungino (15 l/ m³) e con guano (3 g/l):M1GP (*P. x hortorum* cv "Real polaris"- n° 75 repliche) e M1GA (*P. crispum* cv "pac angeleyes burgundy" - n° 75 repliche)

Il piano di fertilizzazione è stato il medesimo della prova precedente.

I parametri biometrici presi in considerazione sono stati i seguenti:

- ✓ Peso fresco (porzione epigea);
- ✓ Peso secco (porzione epigea);
- ✓ Altezza pianta (misurata dal colletto alla base dell'infiorescenza) ;
- ✓ Accestimento;
- ✓ Numero foglie/pianta;
- ✓ Area fogliare;
- ✓ Numero infiorescenze/pianta;
- ✓ Numero boccioli /pianta;
- ✓ Numero boccioli/infiorescenze/pianta.

Gli ultimi tre parametri biometrici sono stati misurati solo nelle piante di *P. x hortorum* cv "Real polaris" in quanto le piante dell'altra specie non presentavano alcun fiore. Sulle foglie sono stati determinati i contenuti di clorofilla secondo il metodo descritto da Arnon, 1949. Sono stati misurati i contenuti di macro, meso e microelementi mediante incenerimento a 400 °C per 24 hs, dissolvimento in

HNO₃ 1:20 v/v e successiva determinazione della soluzione ottenuta al Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometric (ICP). E' stata determinata inoltre la quantità di azoto presente nelle foglie di pelargonio secondo il metodo Kjeldhal, 1883. Le radici delle piante sono state colorate con il blue di metile (Grace e Stribley,1991) e quindi osservate ad uno stereoscopio al fine di valutare l'entità della percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali attraverso il metodo del grid line intercept method descritto da Giovanetti e Mosse, 1980.



Foto 4. Piantine delle due specie di pelargonio a 7 giorni dal trapianto della talea.

Photo 4. Pelargonium plants after 7 days from the cutting transplant.



Foto 5. Piantine delle due specie di pelargonio a 30 giorni dal trapianto della talea.

Photo 5. Pelargonium plants after 30 days from the cutting transplant.

Analisi statistica

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi di varianza per valutare l'influenza delle due variabili (specie e trattamento) e della loro interazione sulla qualità della pianta di pelargonio (tab.9). La significatività delle differenze tra le medie è stata determinata tramite il Fisher's least significant difference (LSD) test.

Tabella 9. Tabella della significatività statistica della variabili considerate

Table 9. Statistically significance table.

Parametri considerati	biometrici	<i>Variabili</i>		
		<i>trattamento</i>	<i>cultivar</i>	<i>Trattamento x cultivar</i>
Peso fresco porz. epigea		S	S	***
Peso secco porz. epigea		S	S	**
Altezza pianta		***	***	NS
Accestimento		***	***	NS
Numero foglie/pianta		S	S	***
Area fogliare		S	S	***
Numero infiorescenze/pianta		**		
Numero boccioli/pianta		**		
Numero boccioli/infiorescenze/pianta		**		
Contenuto di clorofilla/ g di S peso fresco			S	**
Percentuale di azoto totale S nelle foglie			S	***
Percentuale colonizzazione micorrizica	di	***	***	NS

NS, *, **, ***: non significativo, $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$ rispettivamente-

2.2.1 Risultati e discussione

Tutte le piante allevate in presenza delle miscele fertilizzanti, risultano avere i propri apparati radicali ben colonizzati dai funghi micorrizici arbuscolari. In particolare, le tesi che hanno previsto la somministrazione della miscela fertilizzante contenente l'inoculo micorrizico in quantità pari a 7.5 l/ m³ e a 15 del l/ m³ presentano i valori più alti di colonizzazione micorrizica rispetto a quelle tesi che avevano previsto la somministrazione della miscela fertilizzante contenente l'inoculo micorrizico alla dose pari ad un quarto di quella consigliata dal produttore (tab.10). E' stata riscontrata una relazione tra l'entità della colonizzazione radicale e la pianta. Infatti le radici delle piante di *P. x hortorum*

cv “Real polaris” presentano un grado di colonizzazione maggiore rispetto a quello di *P. crispum* cv “Pac angeleyes burgundi”. Le tesi trattate con le miscele fertilizzanti che prevedevano le due dosi più alte di inoculo fungino mostrano un incremento nei valori di accestimento, numero di foglie/pianta e di altezza della pianta rispetto alle altre tesi (tab. 11- 12, fig. 1). I parametri accestimento ed altezza della pianta hanno un andamento specie-dipendente. I contenuti di clorofilla nelle foglie assumono i valori più alti nelle piante allevate in presenza delle miscele fertilizzanti contenenti l’inoculo micorrizico alle due concentrazioni più alte (fig. 2). Non si ha alcuna differenza tra le tesi per quanto riguarda i contenuti fogliari dei macroelementi. In particolare, i contenuti fogliari di P risultano essere specie-dipendenti (il *P. x hortorum* cv “Real polaris” possiede valori più alti di questo elemento nelle proprie foglie rispetto al *P. crispum* cv “Pac angeleyes burgundi”) (tab 13).

In fig. 3 sono riportati i contenuti fogliari di N. La somministrazione sia della miscela fertilizzante composta da guano ed inoculo micorrizico (7.5 l/ m³) sia della miscela fertilizzante che prevedeva il doppio della dose di inoculo micorrizico ha prodotto l’incremento dei valori dei seguenti parametri biometrici solo nelle piante di pelargonio zonale cv “Real polaris”: peso fresco e peso secco della porzione epigea, area fogliare (fig. 4-5-6). I parametri riguardanti le inflorescenze (numero inflorescenze/pianta, numero boccioli/pianta, numero boccioli/inflorescenza/pianta), presenti solo nelle piante di pelargonio zonale, non hanno subito alcuna influenza dai trattamenti imposti (tab. 14).

Tabella 10. Percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali delle due specie di pelargonio.

Table 10. Root mycorrhizal colonization in the two pelargonium species.

trattamento	% col. mic	cultivar	% col. mic
M1G	49,33a	Real polaris	65,33b
M2G	68,83b	Pac angeleyes burgundi	59,56a
M3G	69,17b		

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 11. Valori di accestimento delle piante di pelargonio

Table 11. Branching values of the pelargonium plants

trattamento	accestimento	cultivar	accestimento
C	2,85a	Real polaris	2,28a
		Pac angeleyes	
M1G	3,15a	burgundi	4,55b
M2G	3,9b		
M3G	3,75b		

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 12. Valori di altezza della pianta (cm) nelle due specie di pelargonio

Table 12. Shoot height (cm) of the two pelargonium species

trattamento	H (cm)	cultivar	H (cm)
C	3,17a	Real polaris	4,02b
M1G	3,17a	Pac angeleyes burgundi	3,19a
M2G	4,505c		
M3G	3,585b		

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Tabella 13. Contenuti fogliari di P (ppm) nelle due specie di pelargonio

Table 13. P content (ppm) in the leaves of the two pelargonium species

cultivar	P (ppm)
Real polaris	4870,21b
Pac angeleyes burgundi	3915,4a

p-value<0,05

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

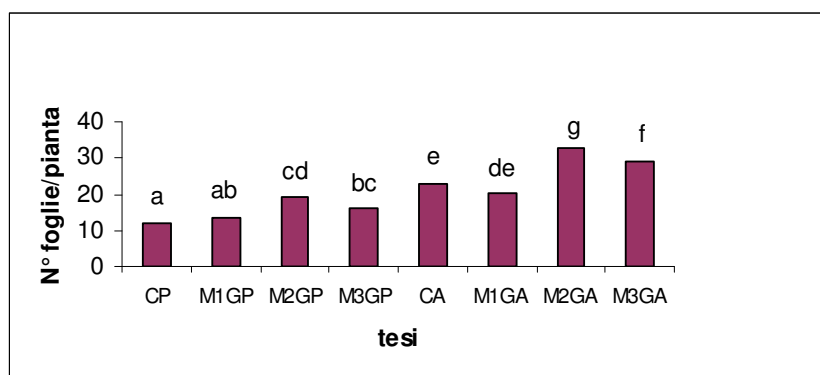
Tabella 14. Numero inflorescenze / pianta, numero boccioli / pianta, numero boccioli / inflorescenza / pianta nel *P. x hortorum* cv “Real polaris”

Table 14. Inflorescence number/plant, flower bud number/plant and flower bud number/inflorescence/plant in *P. x hortorum* cv “Real polaris”

tesi	N°infl/pianta	bocc/pianta	bocc/infl/pianta
C	1,2 a	22,8a	18,25a
M1G	1a	23,25a	19,6875a
M2G	0,9 a	27,5a	27,15a
M3G	0,7 a	21,9a	19,55a

p-value<0,05

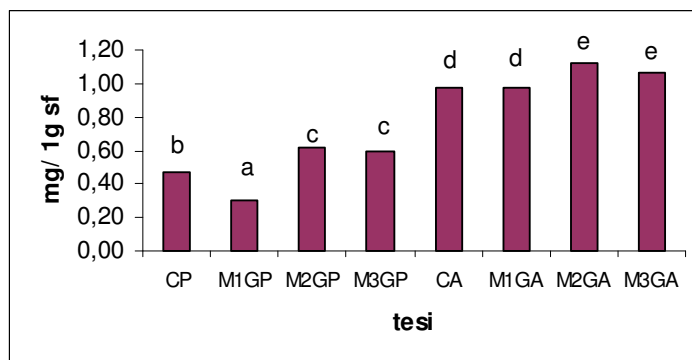
Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 1. Numero di foglie nelle due specie di pelargonio.

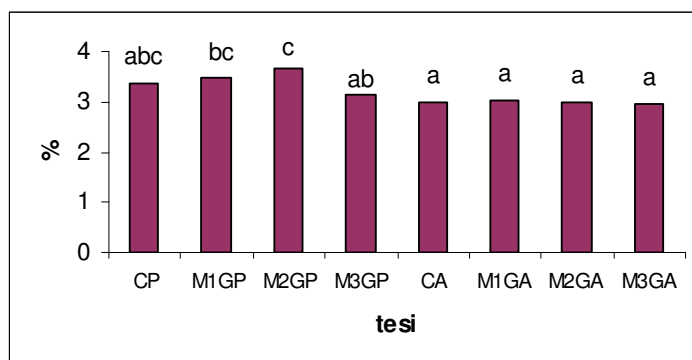
Figure 1. Leaves number in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 2. Contenuti di clorofilla (mg/1g sf) nelle due specie di pelargonio

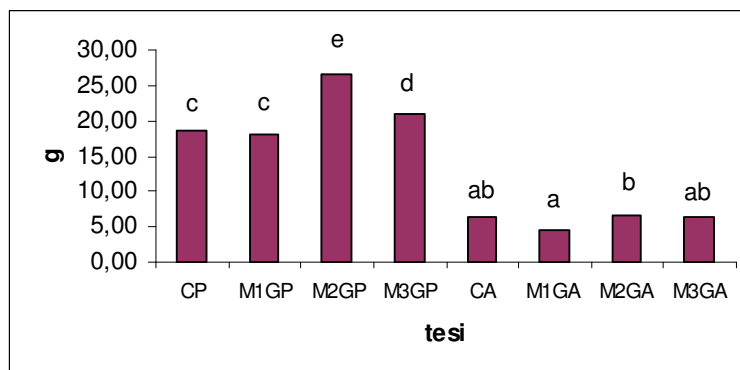
Figure 2. Chlorophyll content (mg/1 g fw) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 3. Contenuti fogliari di N (% ss) nelle due specie di pelargonio

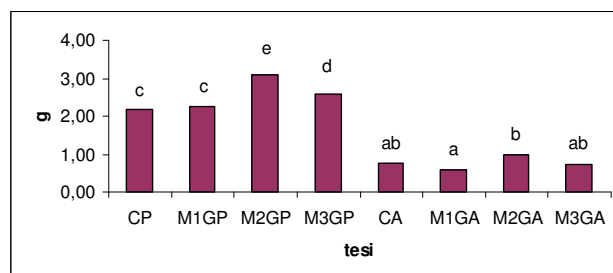
Figure 3. N content (% dw) in the leaves of the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 4. Valori di Peso fresco della porzione epigea (g) nelle due specie di pelargonio.

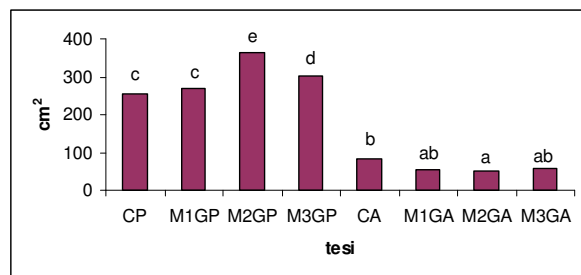
Figure 4. Shoot fresh weight (g) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 5. Valori di Peso secco (g) della porzione epigea (g) nelle due specie di pelargonio

Figure 5. Shoot dry weight (g) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 6. Valori di area fogliare (cm²) nelle due specie di pelargonio

Figure 6. Leaf area values in the two pelargonium species



Foto 6. *Pelargonium x hortorum* cv “Real Polaris”- Pianta controllo (dx) e pianta allevata in presenza della miscela fertilizzante contenente la dose di inoculo fungino pari a 7.5 l/ m³ (sx).

Photo 6. *Pelargonium x hortorum* cv “Real Polaris”- Control plant (dx) and plant grown with the fertilizer mixture (fungal inoculum dose 7.5 l/ m³) (sx)



Foto 7. *Pelargonium crispum* cv “Pac angeleyes burgundi”- Pianta controllo (dx) e pianta allevata in presenza della miscela fertilizzante contenente la dose di inoculo fungino pari a 7.5 l/ m^3 (sx).

Photo 7. *Pelargonium crispum* cv “Pac angeleyes burgundi”- Control plant (dx) and plant grown with the fertilizer mixture (fungal inoculum dose 7.5 l/ m^3) (sx)

2.2.2 Conclusioni

Tutte le piante allevate in presenza delle miscele fertilizzanti, risultano avere i propri apparati radicali ben colonizzati dai funghi micorrizici arbuscolari. Tuttavia, il grado di colonizzazione radicale risultava essere maggiore nelle piante che avevano ricevuto le due dosi maggiori di inoculo fungino. E' bene osservare che la capacità di stabilire la colonizzazione all'interno degli apparati radicali delle piante da parte del fungo micorrizico è stato diverso a seconda della specie ospite considerata. Infatti le radici delle piante di *P. x hortorum* “Real polaris” presentano un grado di colonizzazione maggiore rispetto a quello di *P. crispum* “Pac angeleyes burgundi”. La somministrazione delle miscele che prevedevano le due dosi maggiori di inoculo micorrizico hanno permesso anche l'ottenimento di piante di qualità superiore rispetto a quelle allevate con la tecnica tradizionale in quanto queste mostravano di avere valori più alti in molti dei parametri considerati (numero foglie/pianta, altezza della pianta, contenuto fogliare di clorofilla). In particolare, le piante di *P. x hortorum* “Real polaris” hanno risposto in modo migliore alle suddette miscele fertilizzanti rispetto all'altra specie in quanto presentavano i valori più alti anche di peso fresco e secco della porzione epigea e dell'area fogliare. Da tali risultati, si evince che la somministrazione di una miscela fertilizzante in cui la dose dell'inoculo fungino è pari $7,5 \text{ l/ m}^3$

permette di ottenere un prodotto floricolo qualitativamente superiore a quello ottenibile con la classica tecnica colturale.

La minore risposta della specie *P. crispum* alle miscele in questione può essere spiegata sia dal minor grado di colonizzazione degli apparati radicali di questa specie rispetto a quelli del *P. x hortorum* sia dal fatto che è una specie tardiva (permette di iniziare la coltivazione con 3-4 settimane di ritardo) e con crescita debole.

2.3 Effetto di substrati innovativi e di miscele fertilizzanti per l'allevamento di piante di pelargonio in vaso. Materiali e metodi.

Piano sperimentale e rilievi.

Lo scopo dell'attività è stata la valutazione della fattibilità di una parziale sostituzione della torba con un compost di elevata qualità; inoltre, si è voluta verificare l'efficacia della miscela fertilizzante, sperimentata in precedenza, in relazione al diverso substrato di allevamento utilizzato. Si è effettuato un lavoro di ricerca bibliografica al fine di acquisire le informazioni necessarie su compost di qualità prodotti nella regione Lazio. E' stato scelto di servirsi del compost prodotto dall'impianto di compostaggio di proprietà dell'AMAROMA S.p.A., società del comune di Roma, in quanto è un compost di qualità, come certificato del marchio del *Consorzio Italiano Compostatori*, è facilmente reperibile ed è prodotto nella stessa regione nella quale si effettuerà la prova agronomica (problematica del trasporto ridotta). Nel suddetto impianto, sito presso Maccarese (RM), conferiscono diverse tipologie di rifiuti organici raccolti in maniera differenziata (frutta, verdura, potature legnose, scarti della ristorazione ecc.) provenienti dalla raccolta che AMA effettua nei mercati rionali, nei ristoranti del Centro Storico ed in alcuni quartieri di Roma. I rifiuti umidi, dopo un periodo di lavorazione di 30 giorni nell'impianto e successivi 60 giorni di maturazione all'aperto, sono sottoposti a compostaggio. L'impianto ha una capacità di trattamento di 88 tonnellate/giorno. Campioni di compost sono stati prelevati e sottoposti ad analisi al fine di una sua caratterizzazione. Sono state effettuate le seguenti determinazioni:

- pH (metodo CEN, EN 13037)
- conducibilità elettrica (metodo CEN, EN 13037)

- contenuti dei principali macroelementi e dei metalli pesanti mediante incenerimento e successiva determinazione al Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometric (ICP).

- Contenuti di azoto totale secondo il metodo Kjeldhal, 1883.

- Determinazione della curva di ritenzione idrica (metodo CEN, EN 13041).

Si riportano in tabella 15, i valori dei parametri determinati su tale compost; la figura 7 mostra la curva di ritenzione idrica.

Talee di pelargoni (*Pelargonium x hortorum* cv “Real polaris” e *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus”), fornite dal Vivaio Albani e Ruggeri, sono state allevate per circa due mesi in contenitori di diametro 8 cm (0,200 l), in una serra automatizzata. Sono state formulate quattro miscele da utilizzare come substrati:

- 1) substrato di allevamento utilizzato nelle prove precedenti (80% vv) + compost di qualità prodotto dall’impianto di compostaggio di proprietà dell’AMAROMA S.p.A. (20% vv);

- 2) substrato di allevamento utilizzato nelle prove precedenti (60% vv) + suddetto compost (40% vv);

- 3) substrato di allevamento 1) e miscela fertilizzante composta da guano (3 g/l) e dall’inoculo di funghi micorrizici arbuscolari composto da più ceppi, tra i quali, il più importante, per effetto e quantità, era il *Glomus intraradices* (7,5 l/ m³);

- 4) substrato di allevamento 2) e la stessa miscela fertilizzante utilizzata per il precedente substrato.

L’inoculo fungino ed il concime organico sono stati forniti dalla Italtollina S.p.A.

Su tali substrati sono state effettuate le seguenti determinazioni, al fine di una loro caratterizzazione:

- pH (metodo CEN, EN 13037)
- conducibilità elettrica (metodo CEN, EN 13037)
- contenuti di macro, meso, microelementi e metalli pesanti mediante incenerimento e successiva determinazione al Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometric (ICP).

- Contenuti di azoto totale secondo il metodo Kjeldhal, 1883.

- Determinazione della curva di ritenzione idrica (metodo CEN, EN 13041)

- Determinazione della sostanza organica (metodo UNI, EN 13039)

- Determinazione della densità apparente secca (metodo UNI, EN 13041)

Si riportano in tab. 16-17-18, i valori dei parametri determinati; la figura 8 mostra le curve di ritenzione idrica.

Le tesi allestite sono state le seguenti:

- ✓ CONTROLLO. Talee di pelargonio allevate con la classica tecnica colturale su classico substrato di allevamento: TP (*P. x hortorum* cv “Real polaris” - n° 25 repliche) e TL (*P. grandiflorum* cv “Lotus” - n° 10 repliche)
- ✓ C20. Talee di pelargonio allevate sul substrato di allevamento n. 1: CP20 (*P. x hortorum* cv “Real polaris” - n° 25 repliche) e CL20 (*P. grandiflorum* cv “Lotus” - n° 10 repliche)
- ✓ C40. Talee di pelargonio allevate sul substrato di allevamento n. 2: CP40 (*P. x hortorum* cv “Real polaris” - n° 25 repliche) e CL40 (*P. grandiflorum* cv “Lotus” - n° 10 repliche)
- ✓ CM20. Talee di pelargonio allevate sul substrato di allevamento n. 3: CMP20 (*P. x hortorum* cv “Real polaris” - n° 25 repliche) e CML20 (*P. grandiflorum* cv “Lotus” - n° 10 repliche)
- ✓ CM40. Talee di pelargonio allevate sul substrato di allevamento n.4: CMP40 (*P. x hortorum* cv “Real polaris” - n° 25 repliche) e CML40 (*P. grandiflorum* cv “Lotus” - n° 10 repliche)

Il piano di fertilizzazione ha previsto, per le tesi alle quali non veniva somministrato il guano, un fertilizzante N:P:K= 1:0,6:1,3. Per le altre tesi si è approntata una concimazione con un rapporto N:K= 1:1,3.

Alle talee di *Pelargonium grandiflorum* è stato somministrato, sulla superficie di taglio, al momento della piantagione, un ormone radicante (RIZOPON AA 0,5% (3-indolyboterzuur)- 0,5 Kg) e talco (2,5 Kg).

I parametri biometrici presi in considerazione sono stati i seguenti:

- ✓ Peso fresco (porzione epigea);
- ✓ Peso secco (porzione epigea);
- ✓ Altezza pianta (misurata dal colletto al corno);
- ✓ Accestimento;
- ✓ Numero foglie/pianta;
- ✓ Area fogliare;

Sulle foglie sono stati determinati i contenuti di clorofilla secondo il metodo descritto da Arnon, 1949. E' stata determinata la quantità di azoto presente nelle foglie di pelargonio secondo il metodo Kjeldhal, 1883.

Le radici delle piante sono state colorate con il blue di metile (Grace e Stribley, 1991) e quindi osservate ad uno stereoscopio al fine di valutare l'entità della percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali attraverso il metodo del grid line intercept method descritto da Giovanetti e Mosse, 1980.

Tabella 15. Valori di pH, E.C. (mS/cm), K, N, P, (% ss) e metalli pesanti (mg/kg) del compost di qualità fornito dalla AMAROMA S.p.A.

Table 15. PH values, E.C. values (mS/cm), K, N, P, (% ss) and heavy metals (mg/kg) of the quality compost given by AMAROMA S.p.A.

Compost di qualità AMAROMA S.p.A.	
pH	8,3
EC (mS/cm)	1,9
K (% ss)	0,6970
N (% ss)	1,93
P (% ss)	0,4048
Cd (mg/kg)	0,56
Cr (mg/kg)	58,15
Ni (mg/kg)	24,72
Pb (mg/kg)	36,02

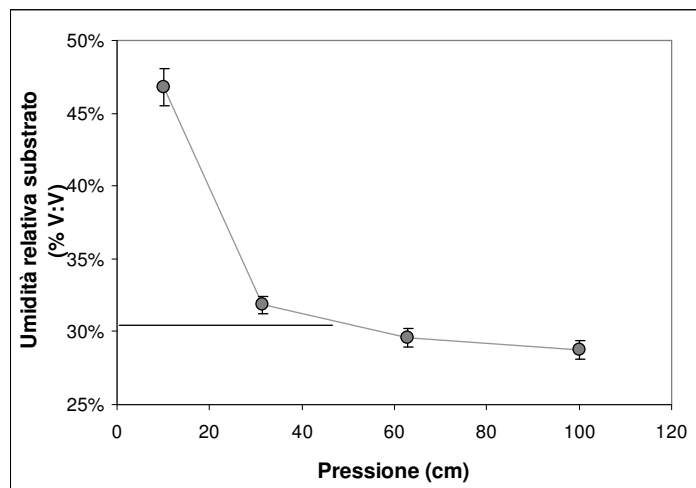


Figura 7. Curva di ritenzione idrica del compost di qualità fornito dalla AMAROMA S.p.A.

Figure 7. Water retention curve of the quality compost by AMAROMA S.p.A.

Tabella 16. Valori di pH e di E.C. (mS/cm) del substrato di allevamento di controllo e dei substrati alternativi

Table 16. PH and EC (mS/cm) values of the control substrate and of the other ones.

Substrati di allevamento	pH	C.E. (mS/cm)
controllo	5,8	0,32
C20	6,9	0,54
C40	7,3	0,63
CM20	7,0	0,86
CM40	7,4	0,90

Tabella 17. Valori di acqua disponibile (% vv) e di densità apparente (kg/L) del substrato di allevamento di controllo e dei substrati alternativi

Table 17. Available water (%vv) and bulk density (kg/l) values of the control substrate and of the other ones.

Substrati di allevamento	Densità apparente (Kg/L)	Acqua disponibile (% vv)
controllo	0,11	30,7
C20	0,15	30
C40	0,20	26,8
CM20	0,14	28,2
CM40	0,17	23,6

Tabella 18. Valori dei principali macroelementi, dei metalli pesanti e della sostanza organica del substrato di allevamento di controllo e dei substrati alternativi.

Table 18. Main macroelements, heavy metals and organic matter of the control substrate and of the other ones.

Substrato di allevamento	N (% ss)	P (% ss)	K (% ss)	Cd (ppm ss)	Cr (ppm ss)	Ni (ppm ss)	Pb (ppm ss)	Sostanza organica (% ss)
controllo	0,37	0,02	0,06	0,18	1,5	1	3,17	69,36
C20	0,76	0,10	0,27	0,4	4,33	2	11,17	68,67
C40	0,98	0,13	0,41	1,42	5,33	2,83	14,17	65,24
CM20	0,91	0,17	0,33	0,42	4,83	1,83	9,67	65,24
CM40	1,12	0,21	0,52	0,5	6,33	2,33	14	63,66

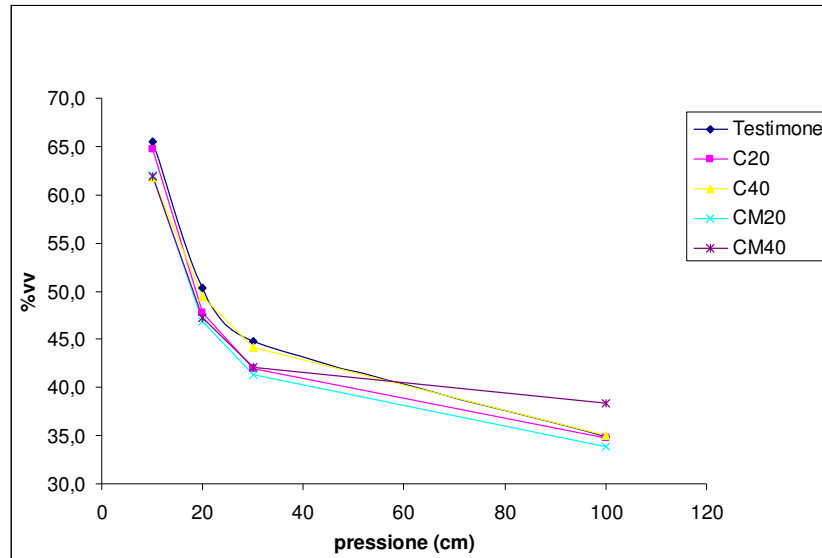


Figura 8. Curva di ritenzione idrica del substrato di allevamento di controllo e dei substrati alternativi.

Figure 8. Water retention curve of the of the control substrate and of the other ones.



Foto 8. Impianto di compostaggio di proprietà della AMAROMA S.p.A.

Photo 8. AMAROMA S.p.A.'s composting system



Foto 9. Piantine di pelargonio zonale a 30 giorni dal trapianto della talea.

Photo 9. Pelargonium zonal plants after 30 days from the cutting transplant.

Analisi statistica

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi di varianza per valutare l'influenza delle due variabili (specie e trattamento) e della loro interazione sulla qualità delle piante di pelargonio (tab. 19). La significatività delle differenze tra le medie è stata determinata tramite il Fisher's least significant difference (LSD) test.

Tabella 19. Tabella della significatività statistica
della variabili considerate

Table 19. Statistically significance table

<i>Variabili</i>			
Parametri considerati	biometrici	trattamento cultivar	Trattamento <i>x cultivar</i>
Peso fresco porz. epigea	S	S	***
Peso secco porz. epigea	S	S	***
Altezza pianta	S	S	***
Accestimento	S	S	***
Numero foglie/pianta	S	S	***
Area fogliare	S	S	***
Contenuto di clorofilla	S	S	***
g di peso fresco			
Percentuale di azoto	S	S	***
totale nelle foglie			
Percentuale di	***	***	NS
colonizzazione			
micorrizica			

NS, *, **, ***: non significativo, $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$
rispettivamente

2.3.1 Risultati e discussione

Al termine dei due mesi di allevamento, sugli apparati radicali delle piante di pelargonio è stata calcolata la percentuale di colonizzazione micorrizica. Purtroppo è stato possibile misurare questo parametro solo negli apparati radicali del pelargonio zonale in quanto l'altra specie, il *P. grandiflorum* cv "Lotus", presentava un apparato radicale di modestissime dimensioni (1 o 2 radichette di qualche cm) da non permettere alcuna stima. Le piante di *P. hortorum* cv "Real polaris", allevate in presenza della miscela fertilizzante, possiedono apparati radicali ben colonizzati dai funghi micorrizici arbuscolari e non si osservano differenze nella percentuale di colonizzazione radicale in funzione della quantità di compost presente nel substrato di allevamento (tab 20). La tecnica di allevamento che ha previsto l'utilizzo di un substrato con sostituzione al 20% con il compost di qualità prodotto dall'azienda AMA e la somministrazione della miscela fertilizzante guano e micorrize ha prodotto piante di pelargonio zonale

con valori più alti di peso fresco e peso secco della porzione epigea, numero di foglie, area fogliare, altezza della pianta ed accestimento (fig. 9- 10-11-12-13-14). I contenuti di clorofilla sono stati specie-specifici. Le piante cresciute sul substrato con il 40% di compost e la miscela fertilizzante hanno avuto un comportamento diverso a seconda della specie di appartenenza. In particolare, le piante di *Pelargonium x hortorum*, cresciute su questo substrato possedevano i contenuti più bassi di clorofilla (0.59 mg/1 g di peso fresco) mentre le piante di *Pelargonium grandiflorum* mostravano i contenuti più alti (1.11 mg/1 g di peso fresco) (fig. 15). In fig. 16 sono riportati i contenuti percentuali di N nelle foglie delle due specie di pelargonio. La specie *P. grandiflorum* mostra differenze più spiccate rispetto all'altra specie nei contenuti fogliari di questo elemento nelle varie tesi. In particolare, le piante allevate sul substrato con il 40% di compost presentano il valore più basso.

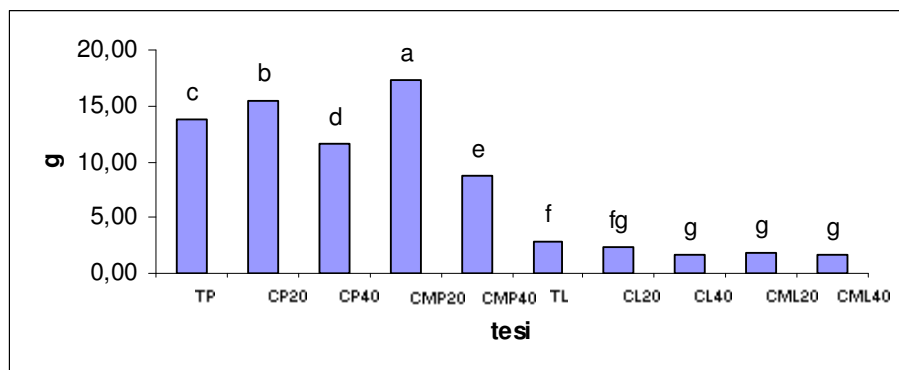
Le piante di *Pelargonium grandiflorum* cv "Lotus" non hanno beneficiato dei trattamenti imposti. Infatti le piante allevate sul substrato standard sono state quelle che hanno presentato i valori più alti in tutti i parametri biometrici considerati ad eccezione del numero di foglie/pianta in cui le tesi allevate sul substrato contenente il 20% di compost ed il controllo mostrano analoghi valori (fig. 9- 10-11-12-13-14).

Tabella 20. Percentuale di colonizzazione micorrizica negli apparati radicali nelle piante di pelargonio zonale.

Table 20. Root mycorrhizal colonization in pelargonium zonal.

Substrato di allevamento	% colonizzazione radicale (cm)
CM 20	52,33 a
CM 40	47,33 a

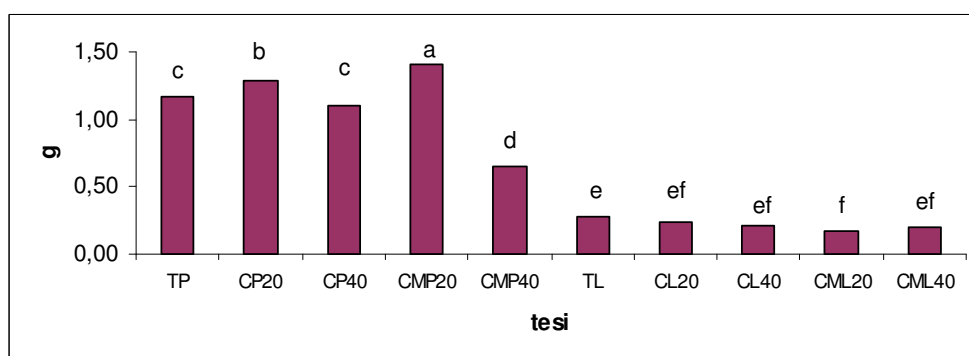
Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 9. Valori di Peso fresco della porzione epigea (g) nelle due specie di pelargonio

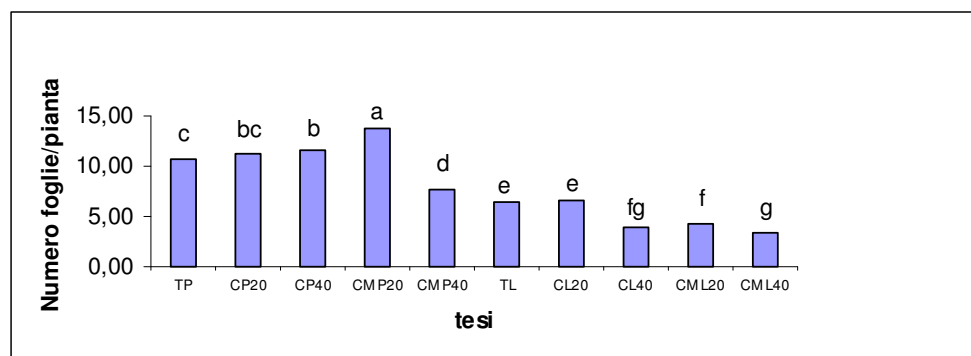
Figure 9. Shoot fresh weight (g) in the two species of pelargonium



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 10. Valori di Peso secco (g) della porzione epigea (g) nelle due specie di pelargonio

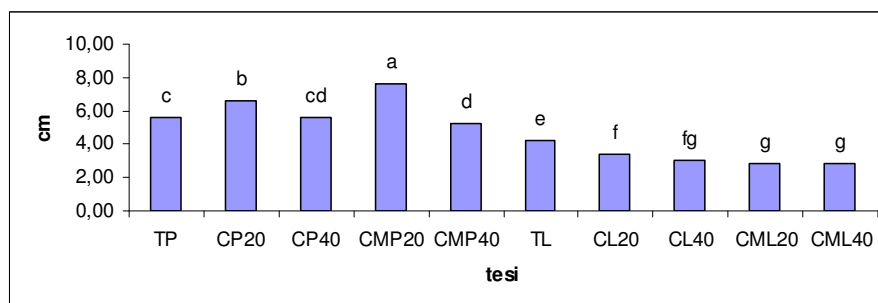
Figure 10. Shoot dry weight (g) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 11. Numero di foglie nelle due specie di pelargonio

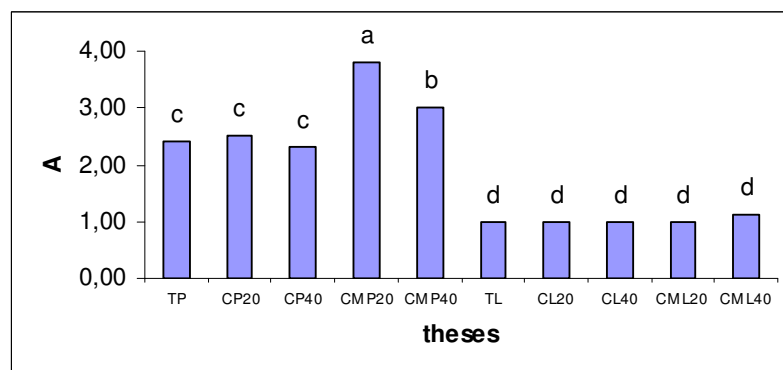
Figure 11. Leaves number in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 12. Valori di altezza (cm) della pianta nelle due specie di pelargonio

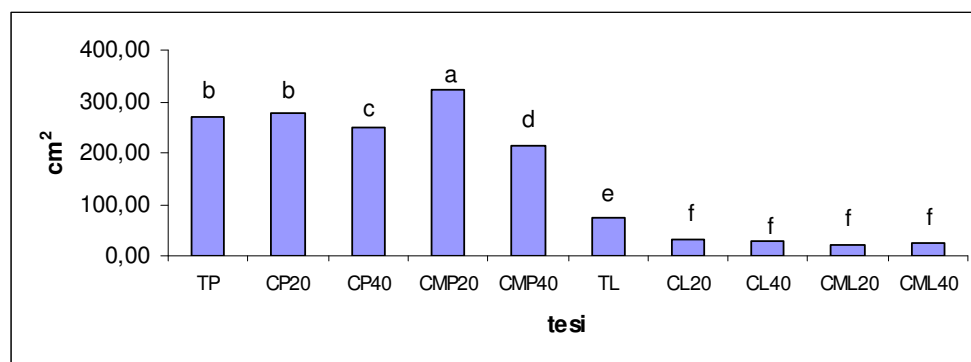
Figure 12. Shoot height (cm) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 13. Valori di accestimento/pianta nelle due specie di pelargonio

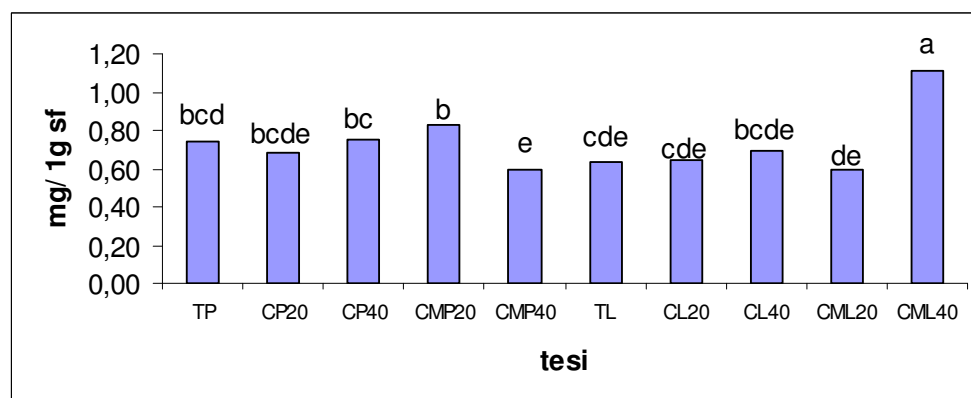
Figure 13. Branching values in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 14. Valori di area fogliare/pianta (cm²) nelle due specie di pelargonio

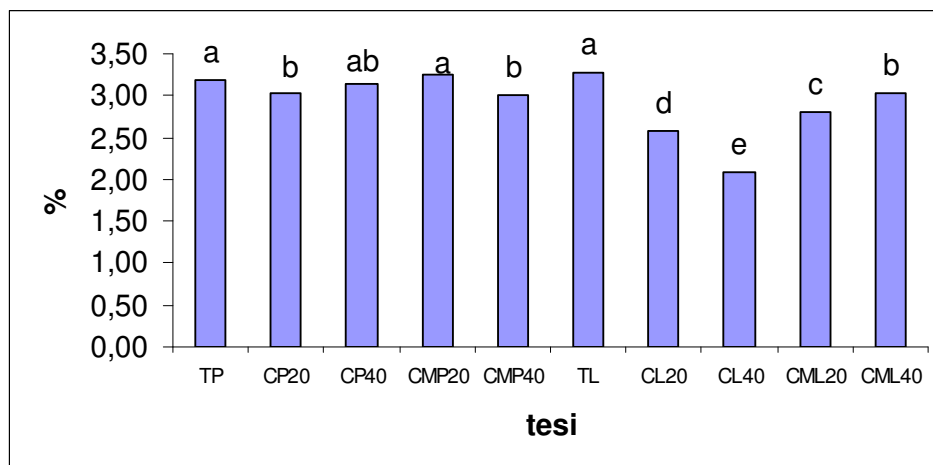
Figure 14. Leaf area values (cm²) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 15. Contenuti di clorofilla (mg/1g SF) nelle due specie di pelargonio

Figure 15. Chlorophyll content (mg/1 g FW) in the two pelargonium species



Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

Figura 16. Contenuti fogliari di N (% ss) nelle due specie di pelargonio

Figure 16. N leaf content (% dw) in the two pelargonium species

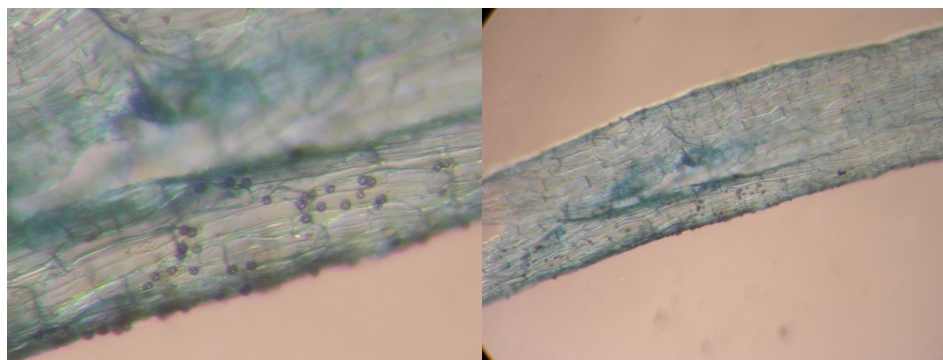


Foto 17. Particolare di radice di *P. x hortorum* “Real polaris” con strutture fungine

Photo 17. *P. x hortorum* “Real polaris” root with fungal structures

2.3.2 Conclusioni

I substrati alternativi predisposti per la prova, risultano essere idonei per l'allevamento di piante in contenitori. Le piante di *P. x hortorum* “Real polaris”, allevate sul substrato composto da compost di qualità e torba (1:5 vv) e la cui fertilizzazione prevedeva anche la miscela fertilizzante guano e micorrize, risultano essere qualitativamente superiori a quelle allevate con il substrato standard. Le modeste dimensioni dell'apparato radicale delle piante di *Pelargonium grandiflorum* “Lotus”, determinate dalle difficoltà intrinseche nella

radicazione di questa specie, potrebbero essere state la causa della mancanza di influenza dei trattamenti imposti sulla qualità delle piante ottenute. La simbiosi micorrizica negli apparati radicali delle piante di pelargonio non è stata influenzata dalla percentuale di compost presente nel substrato di allevamento. Gli apparati radicali del pelargonio zonale, dopo due mesi di allevamento, risultano essere ben micorrizzati con una percentuale di colonizzazione radicale pari a circa il 50%. Ne consegue che la tecnica di allevamento di piante di pelargonio che prevede la parziale sostituzione del substrato di allevamento con un compost di qualità e la concomitante somministrazione di una miscela fertilizzante composta da un inoculo micorrizico e da guano può essere applicata per l'ottenimento di un prodotto floricolo con parametri qualitativi superiori a quelli delle piante allevate con la tecnica tradizionale.

CAPITOLO 3. MICROPROPAGAZIONE DI SPECIE DIVERSE DI PELARGONI.

3.1 Individuazione e sviluppo di un efficace sistema di rigenerazione a partire da espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra. Materiali e metodi

Piano sperimentale e rilievi.

Scopo dell'attività è stato quello di approntare un protocollo di rigenerazione *in vitro* di pelargonio che utilizzasse espianti maturi di piante allevate in serra. Per la sperimentazione sono state utilizzate le seguenti specie: *Pelargonium lemon fancy* e *tomentosum*; *pelargonium crispum* cv Minor e cv Pac angeleyes burgundi; *pelargonium grandiflorum* cv Lotus. Il materiale vegetale è stato reperito presso vivai locali e, per quanto riguarda il *pelargonium grandiflorum* cv lotus, alcuni esemplari sono stati messi a disposizione dall'azienda vivaistica Albani e Ruggeri (Civitavecchia, Rm). Sono state prelevate foglie munite di peduncolo di *Pelargonium lemon fancy* e *tomentosum*; *pelargonium crispum* cv Minor e cv Pac angeleyes burgundi; *pelargonium grandiflorum* cv Lotus. Il materiale vegetale è stato sottoposto a diversi protocolli di sterilizzazione. Le foglie sono state lavate sotto acqua corrente per 15 minuti e poi sterilizzate con successive immersioni in una soluzione al 70% (v/v) di etanolo per 30 secondi e in una soluzione 1,5% (v/v) di ipoclorito di sodio per 15 minuti. Le foglie sono state quindi risciacquate per tre volte con acqua distillata sterile (sterilizzazione A). In alternativa il materiale vegetale è stato sterilizzato per immersione in una soluzione 1,5% (v/v) di ipoclorito di sodio per 15 minuti (sterilizzazione B). Il substrato di rigenerazione era composto da una base comune contenente 4,4 g l⁻¹ sali MS (Murashige e Skoog, 1962), 30 g l⁻¹ saccarosio (7 g l⁻¹ agar) (pH 5,7). I fitoregolatori acido α -naftalenacetico (NAA), 6-benzilaminopurina (BAP), zeatina (Zea), kinetina (Kin) e thidiazuron (TDZ) sono stati testati da soli o in combinazione tra loro (tab. 1). Essi sono stati precedentemente sterilizzati in autoclave per 15' a 121°C/103 kPa. Gli espianti erano rappresentati da una porzione di lembo fogliare di dimensione 5×5 mm munita di peduncolo (circa 5 mm). In ogni piastra Pestri (Ø 95 mm) sono stati posizionati dieci espianti sia in posizione assiale che subassiale. Ogni prova è stata condotta con tre repliche da

10 espianti ciascuna. Le capsule Petri sono state mantenute in camera di crescita in condizioni controllate di temperatura ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$), con un fotoperiodo di 16 ore di luce prodotte da lampade fluorescenti tipo “cool white” con un’intensità di $40\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La metà delle Petri sono invece state mantenute al buio per 18 giorni e poi sottoposte a fotoperiodo di 16 ore, sempre a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$. I parametri rilevati periodicamente sono stati la presenza/assenza di callo ed il numero di germogli/espianto. Sono stati presi in considerazione anche eventuali fenomeni di vitrificazione. Tutte le prove successive sono state realizzate solo utilizzando sul genotipo *P. grandiflorum* cv Lotus. Germogli lunghi 1,5 cm provenienti dal substrato contenente $4,4\ \text{g l}^{-1}$ sali MS (Murashige e Skoog, 1962), $30\ \text{g l}^{-1}$ saccarosio ($7\ \text{g l}^{-1}$ agar) e come fitoregolatori $0,2\ \text{mg/l}$ di NAA, $1\ \text{mg/l}$ di BAP e $1\ \text{mg/l}$ di zeatina (pH 5,7) sono stati trasferiti in contenitori sterili (volume 200 ml) in numero di 6 germogli per contenitore su 30 ml di substrato di allungamento formulato con $2,2\ \text{g l}^{-1}$ sali MS, $20\ \text{g l}^{-1}$ saccarosio ($7\ \text{g l}^{-1}$ agar) (pH 5,7) e vari fitoregolatori come indicato in tabella 1. Diciotto germogli sono stati utilizzati per ogni substrato considerato. I germogli sono stati sottoposti a fotoperiodo di 16 ore, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$. Dopo 30 giorni è stata misurata la percentuale di allungamento.

Tabella 1. Fitoregolatori singoli e miscele di questi utilizzati per lo screening di substrati di rigenerazione e di allungamento.

Table 1. Phytohormones (singles or mixtures) used for the substrates screening

Substrato	Fitoregolatori (μM)				
	NAA	KIN	TDZ	BAP	ZEA
S1	0.7				
S2	0.35				
S3		0.35			
S4		0.7			
S5			0.35		
S6			0.7		
S7	0.7	0.35			
S8	0.7	0.7			
S9	0.35	0.35			
S10	0.35	0.7			
S11	0.7		0.35		
S12	0.7		0.7		
S13	0.35		0.35		
S14	0.35		0.7		
S15	1				
S16		1			
S17			1		
S18	1	0.5			
S19	1	1			
S20	0.5	1			
S21	1		0.5		
S22	1		1		
S23	0.5		1		
S24	0.2			0.5	
S25	0.2			1	
S26				0.5	
S27				1	1
S28	0.2			1	1
S29				1	
S30	0.2			0.5	0.5
S31	0.1			0.1	0.1

(NAA) Acido α-naftalenacetico, (KIN) Kinetina, (TDZ) Thidiazur, (BAP) 6-benzilaminopurina, (ZEA) Zeatina.

3.1.1 Risultati e discussione

La procedura di sterilizzazione che ha garantito sterilità del materiale vegetale senza causare fenomeni di necrosi o imbrunimenti è stata quella che prevedeva il lavaggio in acqua corrente per circa 15 minuti; immersione in una soluzione di 1,5% (v/v) ipoclorito di sodio contenete alcune gocce di Tween- 20 per circa 15 minuti; risciacquo, ripetuto tre volte, in acqua distillata e sterile.

La risposta degli espianti di pelargoni ai diversi tipi di substrato di rigenerazione considerati è risultata essere genotipo-specifica.

Pelargonium crispum cv Minor e cv Pac angeleyes burgundi.

Dopo 30 giorni di coltura, il *Pelargonium crispum* cv Minor ed il *P. crispum* cv Pac angeleyes burgundi, mantenuti sui diversi substrati di rigenerazione, in condizione sia di fotoperiodo che di buio, non hanno mostrato fenomeni di callogenesi nè di rigenerazione diretta di nuovi germogli. Dopo 60 giorni di coltura, gli stessi espianti presentavano fenomeni di imbrunimento e necrosi e, pertanto, sono stati esclusi dalla sperimentazione.

Pelargonium lemon fancy

Il *Pelargonium lemon fancy*, in condizione di fotoperiodo, a 30 giorni di coltura, ha mostrato fenomeni di callogenesi solo in presenza dei substrati di rigenerazione S14, S19 e S28. In particolare, il fenomeno di callogenesi ha assunto una percentuale massima (44%) negli espianti posti in coltura su substrato S28. Dopo 60 giorni, tuttavia, non erano visibili nuovi germogli, né in corrispondenza del callo né direttamente dal lembo fogliare. Il callo prodotto e le restanti porzioni di espianto presentavano fenomeni di imbrunimento tali da determinarne la loro eliminazione. In condizioni di buio, negli espianti allevati sui substrati di rigenerazione considerati, non si osserva alcuna risposta morfologica.

Pelargonium tomentosum

Gli espianti di *Pelargonium tomentosum* hanno risposto positivamente sui substrati S14, S19 e S28 anche se quest'ultimo, in condizioni di fotoperiodo, ha determinato i migliori risultati di rigenerazione dei germogli. Dopo 30 giorni di coltura, si osservava una percentuale di rigenerazione diretta pari al 16% ma, dopo altri 30 giorni di coltura, i germogli rigenerati erano ancora di dimensioni estremamente ridotte (inferiore a 10 mm) mentre le restanti porzioni di espianto presentavano fenomeni di imbrunimento. Sugli altri substrati di rigenerazione

considerati, in condizione di fotoperiodo, il *Pelargonium tomentosum* presentava, già a 30 giorni di coltura, fenomeni di imbrunimento tali da determinare l'eliminazione degli espianti e dei germoglietti rigenerati. In condizione di buio, gli espianti allevati sui substrati di rigenerazione considerati, non mostravano fenomeni di rigenerazione.

Pelargonium grandiflorum cv Lotus

Il *Pelargonium grandiflorum* cv Lotus ha risposto positivamente alla tecnica della micropropagazione *in vitro*, conseguendo i risultati migliori per quanto riguarda la rigenerazione. Anche in questo caso, il substrato di rigenerazione S28 si è rilevato quello più consono per la coltura di questa specie. Dopo 30 giorni di coltura, la porzione di espianto composta da peduncolo e inizio del lembo fogliare, in condizioni di fotoperiodo, ha mostrato di avere la percentuale di rigenerazione maggiore rispetto alle porzioni di espianto composte da solo peduncolo o solo lembo, in condizioni sia di fotoperiodo che di buio. La posizione degli espianti, sul substrato di rigenerazione (assiale o subassiale), non ha influito sull'entità di rigenerazione (tab. 2). Non sono stati osservati fenomeni di vitrificazione ed i germogli rigenerati erano di ottima qualità.

Per quanto riguarda il substrato di allungamento, il *Pelargonium grandiflorum* cv Lotus ha avuto su substrato S30 il massimo sviluppo dei germogli ed un aspetto tomentoso caratteristico dei pelargoni. La percentuale di allungamento ha oscillato tra il 67% ed il 233%. Scarso è stato il fenomeno della vitrificazione.

Tabella 2. Valori della percentuale di rigenerazione di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus”, dopo 30 gg di coltura.

Table 2. Regeneration percentage (%) of *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” after 30 days of culture

Tipologia dell’espianto	Substrato di rigenerazione	Condizioni di illuminazione	Percentuale di rigenerazione (%)	Presenza fenomeni callogenesi
Peduncolo+inizio	S28	Buio/fotoperiodo	77	
lembo fogliare	S28	fotoperiodo	82	
Peduncolo	S28	Buio/fotoperiodo	47	X
	S28	fotoperiodo	71	X
Lembo fogliare	S28	Buio/fotoperiodo	63	
in posizione assiale	S28	fotoperiodo	66	
Lembo fogliare	S28	Buio/fotoperiodo	65	
in posizione subassiale	S28	fotoperiodo	67	

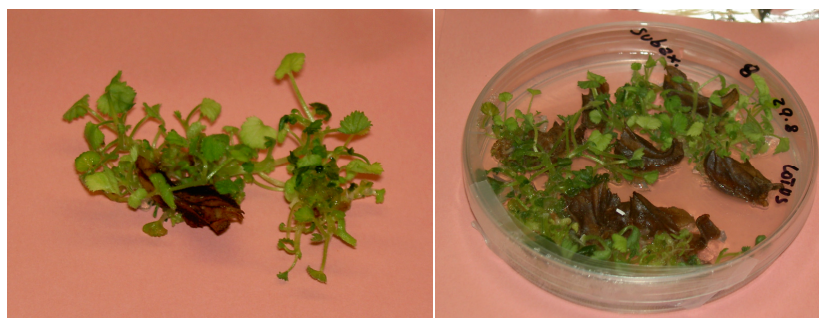


Foto 1. Germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” dopo 30 gg di coltura su substrato S28

Photo 1. *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” shoots after 30 days on S28 substrate

3.1.2 Conclusioni

Il protocollo individuato permette la moltiplicazione di piante di pelargonio allevate in serra a partire da porzioni di lembo fogliare e peduncolo in tempi relativamente brevi (circa tre mesi). Il substrato di rigenerazione individuato contiene due fonti di citochinine (la 6-benzilaminopurina e la zeatina) in combinazione con l’auxina (α - acido naftalenacetico). La percentuale di

rigenerazione dei germogli è alta (82%) ed i germogli che si ottengono sono di ottima qualità. E' bene notare che la risposta dei pelargoni alla tecnica della propagazione *in vitro* è stata specie-specifica.

3.2 Valutazione dell'utilizzo del bioreattore per la moltiplicazione degli espianti. Materiali e metodi

Piano sperimentale e rilievi.

Scopo dell'attività è stato quello di valutare l'utilizzo di bioreattori per la moltiplicazione degli espianti di pelargonio per un ulteriore miglioramento dell'efficienza rigenerativa e per un abbattimento dei tempi di coltura. Una parte di germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv "Lotus", ottenuti sul substrato di moltiplicazione contenente 4,4 g l⁻¹ sali MS (Murashige e Skoog, 1962), 30 g l⁻¹ saccarosio (7 g l⁻¹ agar) e come fitoregolatori 0,2 mg/l di NAA, 1 mg/l di BAP e 1 mg/l di zeatina (pH 5,7), sono stati trasferiti all'interno di due bioreattori RITA®system in 2 litri di substrato. Ogni bioreattore conteneva n. 10 germogli di *P. grandiflorum* cv "Lotus", aventi in media 10 nodi ciascuno. Il substrato liquido aveva la medesima composizione del substrato utilizzato per la rigenerazione degli espianti ossia 4,4 g l⁻¹ sali MS (Murashige e Skoog, 1962), 30 g l⁻¹ saccarosio (7 g l⁻¹ agar) e come fitoregolatori 0,2 mg/l di NAA, 1 mg/l di BAP e 1 mg/l di zeatina (pH 5,7). Il flusso di O₂ all'interno dei bioreattori era di 2- 2,5 cc/min*100. I bioreattori sono stati mantenuti in camera di crescita in condizioni controllate di temperatura (25±1°C) e con un fotoperiodo di 16 ore di luce. La coltura è stata mantenuta all'interno dei bioreattori per 40 giorni. Parallelamente analoghi germogli di *Pelargonio grandiflorum* cv "Lotus" sono stati posti in contenitori (volume 200 ml) con 35 ml del medesimo substrato utilizzato nella prova di moltiplicazione nei bioreattori solidificato con 7 g/l di agar. In ogni contenitore sono stati posti n. 4 germogli e sono state approntate n. 4 repliche (ogni contenitore costituiva una replica). Sono state effettuate n. 3 subcolture della durata di 30 giorni. Al termine delle prove, è stato calcolato il coefficiente di rigenerazione del materiale vegetale. Le piantine di pelargonio, dopo 40 giorni di coltura all'interno dei bioreattori, sono state messe su di un substrato di radicazione contenente 4,4 g/l di sali MS (Murashige e Skoog, 1962), 20 g l⁻¹ saccarosio (7 g l⁻¹ agar) e come fitoregolatori 1 mg/l di IAA (acido indolacetico)

(pH 5,7). Anche le piantine di pelargonio allevate su substrato solido, al termine della terza subcoltura, sono state messe sullo stesso substrato di radicazione utilizzato per le piantine provenienti dai bioreattori. Tutte le piante sono state collocate all'interno di una camera di crescita alla temperatura costante di $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e con un fotoperiodo di 16 ore di luce. Dopo 30 gg di coltura, sono stati rilevati i seguenti parametri biometrici:

- ✓ Peso fresco porzione epigea (g)
- ✓ Peso secco porzione epigea (g)
- ✓ Lunghezza germoglio/pianta (cm)
- ✓ Numero foglie/pianta
- ✓ Numero getti/pianta
- ✓ Lunghezza internodi/pianta (cm)
- ✓ Lunghezza apparato radicale/pianta (cm)
- ✓ Numero radici/pianta

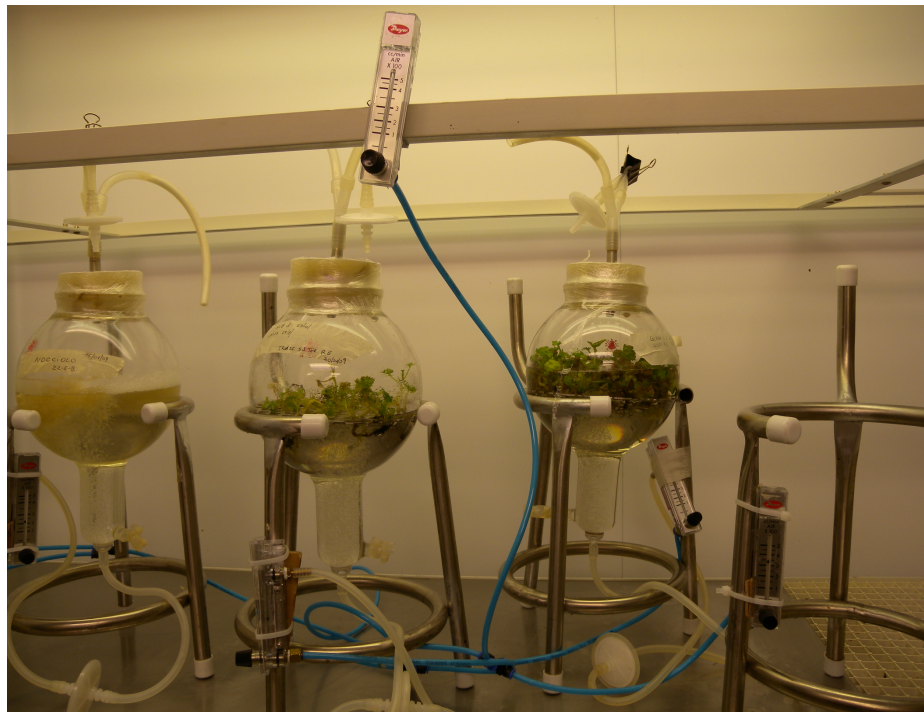


Foto 2. Germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” all’interno dei bioreattori (Casaccia- ENEA, Roma)

Photo 2. *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” shoots inside bioreactors (Casaccia- ENEA, Roma)

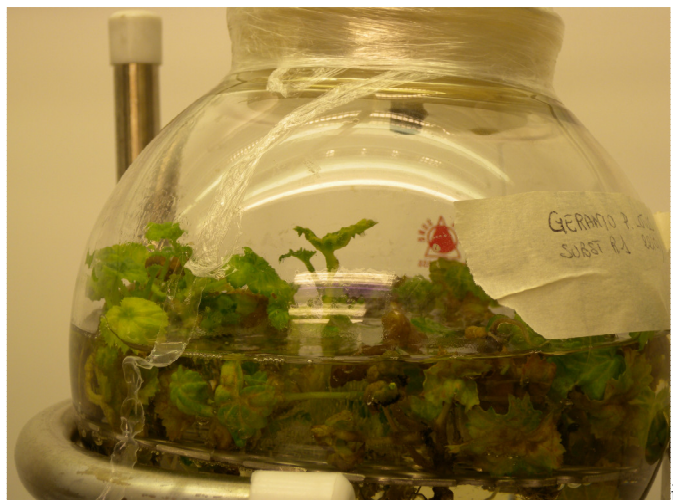


Foto 3. Germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” all’interno di un bioreattore (Casaccia-ENEA, Roma)

Photo 3. *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” shoots inside a bioreactor (Casaccia- ENEA, Roma)



Foto 4. Germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” all’interno di un contenitore (200 ml)

Photo 4. *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” shoots inside in a container (200 ml)

3.2.1 Risultati e discussione

Per quanto riguarda i germogli di *Pelargonium grandiflorum* cv “Lotus” trasferiti all’interno di due bioreattori, dopo 40 giorni di coltura in bioreattore, è stata effettuata la raccolta delle piantine rigenerate da questi (circa 300 piantine raccolte da 20 piante iniziali). Il coefficiente di moltiplicazione è stato pari a 14. Le piantine ottenute, di ottima qualità visiva, avevano una lunghezza compresa tra 1-2 cm. Anche sulle piantine di pelargonio rigenerate su substrato solido, al termine di ogni subcoltura sono state effettuate le seguenti osservazioni:

*) Termine I subcoltura- presenza cospicua di formazioni callose di buona qualità. Molte piantine rigenerate ma di dimensioni estremamente ridotte (lunghezza della piantina compresa tra i 2-3 mm); **) Termine II subcoltura- le piante raccolte sono state 22 (coefficiente di moltiplicazione pari a 0,38; percentuale di piante scartate pari a 45%). Al termine dei tre cicli colturali, le piante ottenute sono state 58, a partire da 16 piante iniziali (coefficiente di moltiplicazione pari a 2,63%). Le piante ottenute avevano una lunghezza compresa tra 0,5-2,5 cm.

I parametri biometrici delle piante, misurati al termine della fase di radicazione, sono riportati in tab. 3. Le piante rigenerate per mezzo di bioreattori presentavano valori superiori, rispetto a quelle rigenerate su substrato solido, di peso fresco della porzione epigea, lunghezza del germoglio/pianta, lunghezza degli internodi/pianta, lunghezza dell’apparato radicale/pianta e del numero di radici/pianta. Solo per quanto riguardava il numero di foglie/pianta ed il numero di getti/pianta, le piante rigenerate in bioreattore possedevano valori più bassi rispetto alle piante rigenerate su substrato solido.

Tabella 3. Valori dei parametri biometrici rilevati sulle piantine di pelargonio al termine della fase di radicazione.

Table 3. Biometric parameters recorded on the pelargonium plants at the end of the root phases

Parametri biometrici	Piantine moltiplicate in bioreattore	Piantine moltiplicate su substrato solido
Peso fresco porzione epigea (g)	0,22 a	0,11 b
Peso secco porzione epigea (g)	0,01 a	0,01 a
Lunghezza germoglio (cm)	4,14 a	1,52 b
Numero foglie/pianta	5,00 b	8,28 a
Numero getti/pianta	1,00 b	1,52 a
Lunghezza internodi/pianta (cm)	0,77 a	0,47 b
Lunghezza apparato radicale/pianta (cm)	1,59 a	1,02 b
Numero radici/pianta	3,38 a	2,40 b

Lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo ($p \leq 0.05$) in base al Fisher's least significant difference (LSD) procedure

3.2.2 Conclusioni

La risposta alla rigenerazione di espianti maturi di piante di pelargonio risulta essere incrementata dalla biotecnologia che prevede l'utilizzo di bioreattori. E' quindi auspicabile l'utilizzo dei bioreattori per la moltiplicazione di queste piante in quanto essi consentono una resa circa 5 volte superiore rispetto a quella ottenibile con la tecnica convenzionale. Al termine del ciclo colturale, le piantine sono più omogenee per il parametro lunghezza e, all'inizio della fase di ambientamento, risultano essere qualitativamente superiori a quelle ottenute su substrato solido. I tempi di moltiplicazione sono notevolmente ridotti (circa 1/3).

3.3 Micorrizzazione degli apparati radicali di piantine micropropagate in fase di acclimatazione. Materiali e metodi

Piano sperimentale e rilievi.

Scopo dell'attività è stato quello di valutare l'efficacia della tecnica di micorrizzazione degli apparati radicali di piantine micropropagate di pelargonio per un miglioramento della capacità di sopravvivenza di queste. Dopo la radicazione *in vitro*, le piantine di pelargonio sono state ambientate. A tale scopo, le piantine sono state trapiantate in contenitori (volume 75 ml), contenenti una

miscela di torba commerciale e perlite (3:1). Alla suddetta miscela è stato aggiunto un inoculo commerciale di funghi micorrizici composto da più ceppi, tra i quali, il più importante, per effetto e quantità, era il *Glomus intraradices* (15 l/m³) (Italpollina S.p.A.) Alla messa a dimora delle piantine, è stato somministrato a queste un fungicida ad ampio spettro di azione, Daconil SYGENTA (p.a. clorotalonil puro 480g/L) alla concentrazione 4ml/L. Le tesi sono state le seguenti:

- ✓ CONTROLLO, piantine di *Pelargonium grandiflorum* cv Lotus messe a dimora sulla miscela composta da torba commerciale e perlite (n. 20 repliche);
- ✓ MICORRIZATO, piantine di *Pelargonium grandiflorum* cv Lotus messe a dimora sulla miscela composta da torba commerciale e perlite, inocolata con l'inoculo fungino commerciale (n. 20 repliche).

Ogni contenitore prevedeva una singola pianta e costituiva una replica. La prova di ambientamento è stata effettuata in condizioni controllate di temperatura e umidità relativa: 25°C, 85% UR per i primi 10 giorni e, per i seguenti 20 giorni, temperatura minima di 18°C e 55% UR; le piantine sono state annaffiate giornalmente e umidificate tramite aspersione d'acqua sull'apparato epigeo in maniera tale da contrastare l'elevata traspirazione fogliare. Terminato questo periodo di primo ambientamento le piante sono state trasferite in serra. Ad intervalli di tempo dal trapianto (15, 30, 60, 90 giorni), è stato effettuato il conteggio delle piante sopravvissute. A fine ambientamento (60 giorni), le piante sono state trasferite in contenitori di volume maggiore (volume 300 ml) per continuare la loro crescita fino alla fase della fioritura.

3.3.1 Risultati e discussione

Le piantine di *P. grandiflorum* cv "Lotus", moltiplicate per mezzo del bioreattore e poste in ambientamento, sono state monitorate per la capacità di sopravvivenza. Dopo 15 giorni dal trapianto, nessuna pianta era morta. A 30 giorni dal trapianto, la percentuale di sopravvivenza delle piantine non inoculate era superiore a quella delle piante inoculate (tab. 4). Al contrario, alla fine della fase di ambientamento (60 giorni), la capacità di sopravvivenza è risultata maggiore nelle piante inoculate rispetto a quelle di controllo. Tale differenza è stata osservata anche a 90 giorni dal trapianto (tab. 4).

Tabella 4. Percentuale di sopravvivenza delle piantine di *Pelargonium grandiflorum* cv. “Lotus” a diversi intervalli di tempo dall’inizio della fase di ambientamento (15, 30, 60, 90 gg dal trapianto).

Table 4. Survival percentage of *Pelargonium grandiflorum* cv. “Lotus” plants at regular intervals from the transplant

Intervalli di tempo dall’inizio della fase di ambientamento (gg)	Percentuale di sopravvivenza (%)	
	Piantine inoculate	non Piantine inoculate
15 gg	100	100
30 gg	75	55
60 gg	35	45
90 gg	30	40



Foto 5. Piante di *Pelargonium grandiflorum* cv. “Lotus” a 90 gg dal trapianto (a dx: piante controllo; a sx: piante micorrizate)

Photo 5. *Pelargonium grandiflorum* cv. “Lotus” at 90 days from the transplant (dx: control; sx: mycorrhizal plants)

3.3.2 Conclusioni

La simbiosi micorrizica, indotta all’inizio della fase di ambientamento, può essere considerata una biotecnologia in grado di migliorare la resa di piante micropropagate. Infatti, la simbiosi micorrizica permette un incremento della capacità di sopravvivenza delle piantine micropropagate sia in fase di ambientamento sia successivamente. Nei primi trenta giorni dal trapianto, si ha lo sviluppo della colonizzazione micorrizica nell’apparato radicale della pianta ospite. Ne consegue che l’effetto benefico della simbiosi può essere osservato

successivamente e permane anche dopo la fine della fase di ambientamento (60 giorni).

CONCLUSIONI FINALI

La tecnica colturale che ha previsto l'allevamento del pelargonio utilizzando delle miscele fertilizzanti composte da guano e funghi micorrizici arbuscolari ed un substrato di allevamento in cui si ha una parziale sostituzione della torba con un compost di qualità, alla luce dei dati raccolti nei tre anni di sperimentazione, risulta applicabile nella pratica vivaistica, permettendo un miglioramento della produzione dei pelargoni nell'ottica della sostenibilità ambientale. Tuttavia le risposte ai trattamenti imposti sono state diverse a seconda della specie o cultivar considerata. Il *Pelargonium x hortorum* cv "Real polaris" è stata la specie che, in tutte le prove condotte, ha sempre risposto positivamente, con piante di qualità superiore. Diverse sono state le motivazioni della scarsa risposta delle altre specie considerate. Il comportamento del *Pelargonium crispum* cv "Pac angeleyes burgundi" alle miscele fertilizzanti può essere spiegato sia dal minor grado di colonizzazione degli apparati radicali di questa specie rispetto a quelli del *P. x hortorum* sia dal fatto che è una specie tardiva (permette di iniziare la coltivazione con 3-4 settimane di ritardo) e con crescita debole. Per quanto riguarda il *Pelargonium grandiflorum* "Lotus", le modeste dimensioni dell'apparato radicale di queste piante, determinate dalle difficoltà intrinseche nella radicazione di questa specie, potrebbero essere state la causa della mancanza di influenza dei trattamenti imposti sulla qualità delle piante ottenute.

La somministrazione della miscela fertilizzante permette di ottenere un prodotto floricolo qualitativamente superiore rispetto sia a quello ottenibile con la classica tecnica colturale sia a quello ottenuto applicando al substrato i singoli componenti della miscela. In particolare, le piante allevate in presenza della miscela, in cui la dose dell'inoculo fungino è pari $7,5 \text{ l/ m}^3$, risultavano avere requisiti qualitativi, quali peso fresco e secco della porzione epigea, area fogliare, numero di foglie per pianta, altezza della pianta e contenuto di clorofilla, superiori alle piante allevate con la tecnica standard. Inoltre, la quantità ridotta (metà di quella consigliata dal produttore) dell'inoculo fungino, nella miscela, consente anche una ricaduta positiva sui costi di allevamento. L'effetto positivo della miscela fertilizzante, sulla qualità delle piante ottenute, permane anche quando si utilizza un substrato di allevamento in cui vi è una parziale sostituzione della torba con un compost di qualità. Le piante mostravano di avere un miglioramento degli stessi parametri

qualitativi osservati con l'applicazione della miscela fertilizzante su di un substrato di allevamento standard. E' bene notare che tali piante presentavano anche un maggior grado di accestimento. Questo parametro, allo stadio di sviluppo vegetativo della pianta in cui sono state effettuate le osservazioni (due mesi dalla messa a dimora della talea), è l'unico ad avere una implicazione economica, influenzando sul prezzo.

L'entità della colonizzazione radicale da parte dei funghi micorrizici arbuscolari è stata incrementata dalla presenza del guano in quanto gli apparati radicali delle piante allevate con la miscela fertilizzante possedevano un grado di colonizzazione superiore di circa 1,4% rispetto alle piante allevate in presenza del solo inoculo, assumendo valori di colonizzazione pari a circa 86% (una ottima micorrizzazione radicale). La somministrazione di metà dose dell'inoculo fungino ha permesso di raggiungere il medesimo grado di colonizzazione radicale ottenuto con la somministrazione della dose piena. La presenza di compost nel substrato di allevamento non ha influito sulla simbiosi micorrizica negli apparati radicali delle piante di pelargonio. Infatti, questi, dopo due mesi di allevamento, risultavano essere ben micorrizzati, con una percentuale di colonizzazione radicale pari a circa il 50%.

Il protocollo di moltiplicazione *in vitro*, messo a punto nel corso del dottorato, che utilizza espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra, permette l'ottenimento di germogli con ottimi requisiti di qualità. E' un protocollo efficace e può essere considerato una alternativa alla propagazione agamica di specie che presentano difficoltà di radicazione della talea. Inoltre l'applicazione di nuove biotecnologie quali i bioreattori, nella micropropagazione, ha permesso rese maggiori, in termini di materiale moltiplicato prodotto, in tempi minori. Ciò può comportare importanti ricadute economiche nei settori della profumeria, della cosmetica e dell'industria farmaceutica che utilizzano queste piante per l'estrazione di oli essenziali. Le piantine risultavano essere più omogenee per il parametro lunghezza e qualitativamente superiori (all'inizio della fase di ambientamento) rispetto a quelle ottenute con la classica tecnica *in vitro*. Anche la simbiosi micorrizica può essere considerata una valida biotecnologia da applicare nel campo della micropropagazione. Essa, se indotta all'inizio della fase di ambientamento, considerata un punto critico della filiera di moltiplicazione *in*

vitro, consente un più facile superamento di questa. L'effetto benefico della simbiosi è stato osservato dopo circa 30 gg dall'inoculazione (tempo necessario allo sviluppo della colonizzazione micorrizica nell'apparato radicale della pianta ospite), permanendo anche dopo la fine della fase di ambientamento.

BIBLIOGRAFIA

1. Arnon. 1948, Plant Physiol., 24, (1),58-65.
2. Beruto, M., Debergh, P., 2004. Micropropagation of ranunculus asiaticus: a review and perspectives. Plant cell tissue and organ culture, 77 (3): 221-230
3. Biamonte, R., Holcomb, J., White, J., 1993. Fertilization. In: J. White (ed.). Geraniums IV. Ball Publ., West Chicago, IL: 39-54)
4. Bitonti, G., cacciola, E., 2007. EurepGap. Lo standard per la sicurezza dei prodotti agricoli. Alimenti e Bevande, 3: 45- 47
5. Bortolin, E., Cavalli, R., Valier, A., 1992. Gestione del suolo per un'agricoltura sostenibile, Monsanto - Edagricole.
6. Carnevali, G., Sarno, G., 2007. Le tecniche agronomiche per migliorare la gestione. Ermes agricoltura, suppl. 35: 19-21.
7. Castelnuovo, M., 1999. I substrati di coltura: caratteristiche e proprietà.
8. Creazza, A., Dallari, F., 2006. Speciale: la strada dei fiori. Logistica: 52-61.
9. Cricca, L., 2008. Micropropagazione, una tecnica per il futuro del vivaismo. Agronotizie, 187- rivista on-line (<http://agronotizie.imaginenetwork.com/settimanale.cfm>)
10. D'Andrea, F., 2005. Un piano per il settore florovivaistico. Agricoltura italiana on line, rivista telematica, febbraio e marzo (www.agricolturaitalianaonline.gov.it)
11. Dodd, J.C., Thomson, B.D., 1994. the screening and selection of inoculant arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 159 (1): 149-158
12. Douds, DD., Becard, G., Pfefer, PE., Doner, LW., Dymant, TJ., Kayer, WM., 1995. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on rooting of *Sciadopytis verticillata* Sieb & Zucc. Cuttings. Hort science, 30: 133-134
13. Druege, U., Xylaender, M., Zerche, S., 2006. Rooting and vitalità of poinsettia cuttings was increased by arbuscular mycorrhiza in donor plants. Mycorrhiza, 17: 67-72

14. Dubsky, M., Sramek, F., Vosatka, M., 2002. Inoculation of cyclamen and poinsettia with arbuscular mycorrhizal fungi and trichoderma harzianum. Rost Vyroba, 48 (2): 63-68.
15. Duffy, E.M., Cassels, A.C., 2000. The effect of inoculation of potato (*Solanum tuberosum* L.) microplants with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution. Applied soil Ecology, 15: 137-144
16. Fontanari, I., 2006. Il geranio “re” dei Balconi. Terra trentina, 5: 45-46
<http://www.riviste.provincia.tn.it/ppw/TerraTre.nsf>
17. Franco, JA, Martinez-Sanchez, JJ, Fernandez, JA, Banon, S., 2006. Selection and nursery production of ornamental plants for landscaping and xerogardening in semi-arid environments, Journal of Horticulural science & Biotechnology, 81 (1) : 3-17.
18. George, E.F., 1993. Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. Publ, Frome, Somerset, UK.
19. Giardini, L., 1986. Agronomia generale, 3, Bologna, Patron.
20. Giovannetti M., Mosse B., 1980. An evaluation of techiques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol., 71: 287-295.
21. Grace C., Stribley D.P., 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Mycol. Res., 95 (10): 1160-1162.
22. Hadas, A., Rosenberg, R., 1992. Guano as a nitrogen source for fertigation in organic farming. Fertilizer Research, 31: 209-214.
23. Hassanein, A., Dorion, N., 2009. Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (*Pelargonium x hortorum*) and two scented (*P. capitatum* and *P. graveolens*) geraniums. Plant cell. Tissue and Organ Culture, 83: 231-240.
24. Holmes, S., Lighfoot-Brown, S., 2000. A review of performance, future availability and sustainability for commercial plant production in the U.K. ADAS horticulture and Neil Bragg (Technical editor) for DEFRA, Horticulture and Potatoes division
25. Jakobsen, I., Anderson, A.J. 1982. Vesicular- arbuscular mycorrhiza and growth in barley: effects of radiation and heating of soil. Soil Biol. Biochem., 1:171-178.

26. Joosten, H., Clarke, D., 2002. Wise use of mires and peatlands- background and principles including a framework for decision making. International mire conservation group and international peat society. Saarijarvi, Finland.
27. Kjeldhal, J. (1883). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. Zeitschreft fur analytische chemie. 22: 366.
28. Koske, R.E., Gemma, J.N., 1995. Vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation of hawaiian plants: a conservation technique for endangered tropical species. Pacific Science, 49(2): 181-191.
29. Lanzi, A., anno accademico 2004-2005. Tesi di Laurea: I substrati alternativi alla torba: verifiche sperimentali sull'impiego di composte fibra di cocco nell'ortoflorovivaismo. Università di Pisa- Facoltà di agraria. Pp. 1-67
30. Lauricella, P., 2009. Piante e fiori: un 2008 da dimenticare?. Mondo pratico.it, rivista telematica, marzo (www.mondopratico.it)
31. Leathers, R.R., Smith, MAL, Christie, A.J., 1995. Automation of the bioreactor process for mass propagation and secondary metabolism. In: Christie, J.A., Kozai, T. & Smith, M.L. (eds) Automation and environmental control in plant tissue culture (pp 187- 214). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
32. Lovato,P., Guillemin, J.P., Gianinazzi, S., 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. Agronomie, 12: 873-880
33. Marzioletti, P., Pardossi, A., Pozzi, A., 2006. Materiali alternativi alla torba per la preparazione dei substrati di coltura impiegati nel vivaismo professionale. Notiziario Ce.Spe.Vi. Pistoia,vol. 151: 2-7.
34. Mithila,J., Murch, S.J., KrishnaRaj, S., Saxena, PK, 2001. Recent advances in *Pelargonium* in vitro regeneration systems. Plant Cell Tissue Org. Cult., 67: 1-9.
35. Minuto, A., Gullino, M.L., Garibaldi, A., 2007. *Gerbera jamesonii*, *Osteospermum* sp. And *Argyranthemum frutescens*: new hosts of

- Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*. J. of Phytopathology, 155: 373-376
36. Morone Fortunato, I., Ruta, C., Castrignano, A., Saccardo, F., 2005. The effect of mycorrhizal symbiosis on the development of micropropagated artichokes. *Scientia Horticulturae*, 106: 472-483
 37. Nowak, J., 2004. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilization on growth, flowering, nutrient uptake, photosynthesis and transpiration of geranium. *Symbiosis*, 37 (1-3): 259-266.
 38. Paek, K.Y., Chakrabarty, D., Hahn, E.J., 2005. Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. *Plant Cell Tissue and Organ Cult.*, 81: 287-300.
 39. Pardossi A., Incrocci L. , Marzalletti P., Bibbiani C., 2007. I substrati e la coltivazione delle piante in contenitore, *Fertilitas Agrorum*, 1.
 40. Parodi, D., 2007. Il punto di vista degli attori del mercato. Atti del Convegno “Fiori e Diritti- Verso una certificazione sociale ed ambientale per la floricoltura ligure”, Sanremo, 11 maggio 2007.
 41. Perner, H., Schwarz, D., Bruns, C., Mader, P., Eckhard, G., 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza*, 17: 469-474.
 42. Possanzini, G., Tesi di Dottorato di ricerca in ortoflorofrutticoltura A. A. 2004/2005 - Ciclo XVII: Individuazione di substrati e di fertilizzanti nella produzione di piantine da trapianto da destinare alla coltivazione in biologico.
 43. Prakash, J., 2007. Micropropagation of ornamental perennials progress and problems. *Acta Hort.*, Proc. AEMP2007, Faro, Portogallo. In stampa
 44. Preil, W., 1991. Application of bioreactors in plant propagation. In: debergh PC & Zimmerman RH (eds) *Micropropagation* (pp 425- 445). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
 45. Rapparini, F., Baraldi, R., Bertazza, G., 1996. Growth and carbohydrate status of *Pyrus communis* L. plantlets inoculated with *Glomus* sp. *Agronomie*, 16:653-661

46. Rea, E., Bragaloni, M., 1997. Protagonisti dell'agricoltura sostenibile: i funghi vescicolo-arbuscolari. Bollettino dell'associazione micologica ed ecologica romana, 41- 42: 41-48.
47. Rea, E., De Lucia, B., Ventrelli, A., Pierandrei, F., Rinaldi, S., Salerno, A., Vecchietti, L., Ventrelli, V., 2009. Substrati alternativi a base di compost per l'allevamento in contenitore di specie ornamentali mediterranee. *Fertilitas Agrorum*, 3 (1): 64-73
48. Rea, E., Tullio, M., 2001. Arbuscular Mycorrhizae: a natural answer to fertilisation need. *Recent Res. Devel. Plant Biology*. 1, 1
49. Romani M., Bonin I., Bianciotto V., Lumini E., Beltarre G., Bonfante P., 2005. Il ruolo delle micorrize arbuscolari nell'agricoltura moderna: le prime indagini in risaia. www.agricoltura.regione.lombardia.it/admin/rle_Documenti/1-2677/642_az_bio_7-2005.pdf.
50. Ruffoni, B., 2009. La micropropagazione di specie ornamentali e da fiore reciso: stato attuale e prospettive. *Italus Hortus*, 16 (2): 47-54.
51. Ruta, C., Morone Fortunato, I., 2009. Il ruolo delle micorrize durante l'ambientamento delle piante micropropagate. *Italus Hortus*, 16 (2): 226-230.
52. Sali, G., 2004. Dimensione e prospettive del mercato dei substrati colturali. Relazione interna Dipartimento di Economia Politica e Agraria, Agro-alimentare e Ambientale, Università degli Studi di Milano.
53. Saltini A., 2002. Chimica agraria tra storiografia, geografia economica e ideologia politica. In *Rivista di storia dell'agricoltura*, XLII, n. 1
54. Scagel, C.F., 2003. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alters nutrient allocation and flowering of freesia x hybrida. *J Environ Horticulture*, 21 (4): 196-205.
55. Scagel, C.F., 2004. Soil pasteurization amd inoculation with glomus intraradices alters flower production and bulb composition of *Zephyranthes* spp. *J Horticultural science & biotechnology*, 78 (6): 798-812.

56. Scagel, C.F., 2004a. Inoculation with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria alters nutrient allocation and flowering of harlequin flower. *Horttechnology*, 14 (1): 39-48.
57. Scagel, C.F., 2004b. Soil pasteurization and mycorrhizal inoculation alter flower production and corm composition of *Brodiaea laxa* "Queen Fabiola". *Hortscience*, 39 (6): 1432-1437
58. Schüßler, A., Schwarzott, D., and Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105:1413-1421.
59. Sequi, P., Rea, E., Trinchera, A., 2009. Aspetti legislativi per la normazione dei substrati di coltivazione. *Fertilitas Agrorum*, 3 (1): 36-42.
60. Sharma, N.K., 1992. Automation in plant tissue culture: problems and prospects. *Curr. Sci.*, 7: 507- 512.
61. Sramek, F., Dubsky, M., Vosatka, M., 2000. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and trichoderma harzianum on three species of balcony plants. *Ros Vyroba*, (3): 127-131.
62. Takayama, S., Akita, M., 1994. The types of bioreactors used for shoots and embryos. *Plant cell tiss. Cult.*, 39: 147- 156.
63. Tullio M., Rea, E., Colla, G., Cardarelli, M., Crinò, P., 2007. L'inoculo micorrizico costa poco e aumenta la resa produttiva. *Informatore agrario*, 28, 54-58
64. Varshney, A., Sharma, M.P., Adholeya, A., Dhawan, V., Srivastava, P.S., 2002. Enhanced growth of micropropagated bulblets of *lilium* sp inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi at different P fertility levels in an alfisol. *J of horticultural science & biotechnology*, 77 (3): 258-263
65. Venturi, A., Venturi, V., Beruto, M., 2009. Trent'anni di micropropagazione in Italia. *Italus Hortus*, 16 (2): 89-92
66. Wang, H., Parent, S., Gosselin, A., Desjardins, Y., 1993. Study of vesicular arbuscular mycorrhizal peat based substrates on symbiosis establishment, acclimatization and growth of three micropropagated species. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 118: 896-901
67. Whipker, B.E., 1998. Fertility management for geranium, 6/98 HIL-504 - <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-504.html>)

INDICE

Riassunto	Pag. 2
Abstract	Pag. 7
 CAPITOLO 1.	Pag. 11
1.1. La floricoltura in Italia	Pag. 11
1.2. La qualità e l'ecocompatibilità in floricoltura	Pag. 13
1.3. Il pelargonio	Pag. 15
1.4. La fertilizzazione sostenibile	Pag. 18
1.4.1. Un concime organico: il guano	Pag. 24
1.4.2. I funghi micorrizici arbuscolari (AM)	Pag. 26
1.4.3. I prodotti commerciali a base di funghi micorrizici	Pag. 30
1.5. Miscele di substrati a basso impatto ambientale per la coltivazione in vaso	Pag. 32
1.6. La tecnica della micropropagazione per la produzione di specie floricole	Pag. 39
1.7. La direttiva CE sulla propagazione di piante ornamentali	Pag. 41
1.8. Il settore della micropropagazione in Italia	Pag. 42
1.9. La micorrizzazione quale strumento biotecnologico da applicare nella tecnica della propagazione <i>in vitro</i>	Pag. 43
1.10. Obiettivo ed attività della ricerca	Pag. 44
 CAPITOLO 2. Somministrazione di un fertilizzante composto da una miscela di guano e micorrize arbuscolari e sostituzione parziale della torba con compost per una produzione di qualità ecosostenibile di piante di pelargonio.	Pag. 47
2.1. Valutazione dell'effetto della somministrazione, al substrato di allevamento, di due miscele fertilizzanti, composte da guano e dall'inoculo fungino, e dei singoli costituenti la miscela. Materiali e metodi	Pag. 47
2.1.1. Risultati e discussione	Pag. 51
2.1.2. Conclusioni	Pag. 56
2.2. Individuazione della/le dosi ottimali di inoculo	

fungino per la costituzione della miscela fertilizzante.	
Materiali e metodi.	Pag.56
2.2.1. Risultati e discussione	Pag. 60
2.2.2. Conclusioni	Pag. 67
2.3. Effetto di substrati innovativi e di miscele fertilizzanti per l'allevamento di piante di pelargonio in vaso.	
Materiali e metodi.	Pag. 68
2.3.1. Risultati e discussione	Pag. 76
2.3.2. Conclusioni	Pag. 81
 CAPITOLO 3. Micropropagazione di specie diverse di pelargoni	Pag. 83
3.1. Individuazione e sviluppo di un efficace sistema di rigenerazione a partire da espianti maturi provenienti da piante di pelargonio allevate in serra. Materiali e metodi	Pag. 83
3.1.1. Risultati e discussione	Pag. 86
3.1.2. Conclusioni	Pag. 88
3.2. Valutazione dell'utilizzo del bioreattore per la moltiplicazione degli espianti	Pag. 89
3.2.1. Risultati e discussione	Pag. 92
3.2.2. Conclusioni	Pag. 93
3.3. Micorrizzazione degli apparati radicali di piantine micropropagate in fase di acclimatazione	Pag. 93
3.3.1. Risultati e discussione	Pag. 94
3.3.2. Conclusioni	Pag. 95
 CONCLUSIONI FINALI	Pag. 97
BIBLIOGRAFIA	Pag. 100