

## LE INNOVAZIONI NEL COMPARTO VIVAISTICO: RUOLO DEI FITOREGOLATORI

Stefano Musacchi<sup>1</sup> e Don Elfving<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Colture Arboree – Università di Bologna - Italy

<sup>2</sup> Washington State University (WSU) Tree Fruit Research & Extension Center  
Wenatchee, WA, USA

Email: musacchi@agrsci.unibo.it

Il settore della propagazione è quello in cui nell'ultimo decennio sono state osservate più innovazioni anche se la bibliografia non è molto numerosa rispetto ad altre aree di ricerca. A partire dalla scoperta dei rami anticipati si è assistito ad un continuo susseguirsi di nuove tecniche per l'ottenimento di astoni sempre più performanti e in grado di ridurre il periodo improduttivo.

### OTTENIMENTO DEI PORTINNESTI

La quasi totalità dei portinnesti, utilizzati per le pomacee e larga parte delle drupacee, sono di origine clonale.

Tra le diverse tecniche di propagazione la più diffusa, almeno in Italia, è quella del margottaggio (margotta di ceppaia e propaggine di trincea). Un'altra tecnica usata per la produzione di soggetti difficili da far radicare con le tradizionali tecniche è la micropropagazione, tecnica utilizzata in passato per la produzione di piantine virus-esenti (più propriamente in tal caso si tratta di colture meristematiche in vitro) e materiale di base per le ceppaie (Lugli e Musacchi, 1993). A causa dei numerosi problemi di ringiovanimento osservati attualmente si tende a privilegiare tecniche che utilizzano materiale vegetale adulto

#### **Margotta di ceppaia e propaggine di trincea**

Il materiale di partenza per la costituzione di un campo di piante madri è rappresentato da piantine ben sviluppate e radicate, mentre per la produzione di soggetti certificabili sono utilizzate piantine virus esenti.

Anche l'epoca d'impianto è variabile. Normalmente si pratica già dall'autunno se si utilizzano piante radicate, mentre con le piante micropropagate a radice in pane di terra il trapianto viene fatto in primavera.

La distanza di piantagione dipende dal grado di meccanizzazione, dal tipo di macchine impiegate (va ricordato che, se si escludono le operazioni di impianto e le lavorazioni al primo anno, oggi è possibile meccanizzare quasi interamente il ciclo della ceppaia), e dal tipo di terreno. Normalmente la distanza tra le file varia da 130 a 160 cm, mentre lungo la fila si passa da 25-30 cm per la margotta di ceppaia a 35-40 cm per la propaggine di trincea, a seconda della vigoria della ceppaia a maturità.

È di particolare importanza la scelta del terreno che dovrà essere sciolto. Occorre evitare i terreni pesanti (con ristagni idrici) e i reimpianti. Nei terreni sabbiosi alla base del colletto e durante la successiva ricalzatura vengono aggiunti substrati organici leggeri, come la pula di riso e la paglia, allo scopo di favorire la radicazione, le operazioni di pulizia e l'estirpazione meccanica delle piante. Al secondo anno le rese salgono al 30% del totale e, di norma, già al 4°-5° anno la ceppaia può considerarsi in piena produzione.

La ceppaia richiede il mantenimento di alti livelli di fertilità del terreno ed un accurato controllo sanitario e delle infestanti. In queste condizioni è possibile conservare a pieno il potenziale produttivo per 15-20 anni (per produzioni certificabili il limite è di 15 anni). Dopo

lo svellimento delle piantine (fine inverno), che può essere meccanizzato, si seleziona il materiale per classi di calibro di fusto (Lugli e Musacchi, 1993).

### **CICLI DI PRODUZIONE DI PIANTE IN VIVAIO**

Anche in questo settore le innovazioni sono state molteplici e accanto al tradizionale ciclo biennale per la produzione di piante bimembri, sono stati sperimentati con successo i cicli brevi annuali, la produzione di piante knip e l'ottenimento di piante "innestate con tecnica del microinnesto" su cui l'innesto viene eseguito in fase di ambientamento dal vivaista che ha ottenuto attraverso la microporpagazione il portinnesto. Il materiale così ottenuto viene successivamente venduto ad altri vivaisti che faranno solamente l'allevamento dell'astone.

#### **Ciclo biennale**

Il ciclo biennale di produzione di piante in vivaio incomincia poco prima dell'inizio della primavera (fine febbraio-marzo) con la messa a dimora dei portinnesti.

L'anno in cui viene eseguita questa operazione è totalmente dedicato allo sviluppo del portinnesto e all'innesto (in genere si fanno innesti a gemma dormiente, a T e a chip-budding), mentre il secondo anno è usato per ottenere l'astone finito (Lugli e Musacchi, 1993).

L'innesto viene eseguito da fine luglio-agosto in avanti, di modo che i portinnesti si siano sufficientemente accresciuti e presentino ancora una buona attività vegetativa tale da permettere un facile sollevamento della corteccia (nel caso dell'innesto a T) ed una buona formazione di callo per chiudere la ferita riportata e ricostruire i tessuti.

Le gemme vegetative devono essere già differenziate e mature. I rami da cui sono prelevate sono defogliati a mano o a macchina avendo cura di lasciare, nel caso dell'innesto a T, un breve tratto del picciolo per rendere più semplici le operazioni di innesto (Hartmann *et al.*, 1990). È bene per avere un buon risultato usare solo le gemme che si trovano nella parte mediana del ramo, infatti quelle basali hanno scarsa attitudine al germogliamento mentre quelle apicali sono ancora immature.

Passate due o tre settimane dall'esecuzione dell'innesto, si controlla l'attecchimento della gemma che comunque resta quiescente fino alla primavera successiva, quando, per permettere lo sviluppo del germoglio viene asportata la parte di soggetto sopra ad essa.

Questa operazione viene fatta con macchine trinciatrici e poi rifinita a mano. Gli innesti più comuni sono a T ma recentemente si è diffusa la tecnica dell'innesto a "chip budding". Il primo viene solitamente eseguito ad un'altezza di circa 15-20 cm, ciò è da tenere in considerazione sia perché, almeno nel melo, la presenza di un tratto di portinnesto più o meno lungo regola il vigore della pianta e la sua messa a frutto, sia perché, in questo modo, anche se l'astone venisse piantato troppo in profondità, non si correrebbe il rischio dell'affrancamento dell'oggetto (Lugli e Musacchi, 1993).

Oltre all'allargamento del calendario ci sono altri vantaggi come un miglior contatto tra i due bionti, una saldatura più rapida, maggior uniformità degli alberi, una più solida unione, un maggior numero di rami anticipati e una miglior distribuzione di questi, minore sensibilità al freddo e minore sensibilità alle spore dei funghi (Howard *et al.*, 1974; Ligonniere, 1981).

#### **Ciclo biennale con innesto a marza**

Normalmente questo tipo di ciclo differisce da quello sopra descritto perché l'innesto è eseguito a fine inverno, la sua utilità è quella di sostituire gli innesti a gemma dormiente che non hanno attecchito.

Solitamente viene eseguito con il metodo a triangolo che è un particolare innesto ad incastro nel quale la base della marza è tagliata secondo due piani convergenti in modo da assumere, in sezione, una forma triangolare, oppure viene fatto utilizzando una macchina, verso fine febbraio, prima comunque che il soggetto riprenda a vegetare.

Il materiale da innestare in questo caso deve essere raccolto per tempo e deve essere conservato in locali refrigerati in modo tale che le gemme restino quiescenti (Lugli e Musacchi, 1993).

## **CICLI BREVI**

### **Tecnica dell'innesto vegetante "Chip Budding"**

Per eseguire questo particolare tipo di tecnica, come nel ciclo biennale, vengono utilizzati portinnesti messi a dimora a fine febbraio - inizio marzo. Le gemme impiegate nell'operazione di innesto, però non provengono da rami sviluppati nell'anno, ma da rami conservati in frigorifero. In questo modo quando vengono innestate a maggio, sono pronte per svilupparsi. Con cultivar quali mondial Gala, Golden Delicious e Breaburn si sono ottenuti astoni ben sviluppati già nel loro primo anno di età.

Le operazioni di innesto sono identiche a quelle descritte per il chip-budding dormiente (Lugli e Musacchi, 1993).

### **Tecnica dell'innesto a macchina**

Il melo è la *pomacea* in cui questo metodo ha trovato ma ampia diffusione.

La scelta del materiale è importante, infatti sono da preferire piantine ben radicate con classi di diametro medio-alte (9-11 e oltre 11). La conservazione invernale può avvenire sia all'aria aperta o in magazzino se si prevede di innestare presto (gennaio-febbraio) sia in cella frigorifera (2-4°C) con le radici sempre umide se si prevede di innestare verso marzo-aprile. Le marze devono essere di diametro corrispondente a quello del soggetto ed andranno raccolte durante l'inverno e conservate in celle frigorifere (4-6°C) in contenitori.

Prima dell'innesto il soggetto viene accorciato e le sue radici subiscono una potatura di pulizia.

I rami del nesto invece vengono suddivisi in marze con 2 o 3 gemme che vengono innestate a macchina o, se le due parti presentano grosse differenze di diametro, a mano. Affinché l'innesto abbia buon esito, non si abbia disidratazione e il rischio di infezione sia minimo, i due bionti devono essere perfettamente uniti, per far ciò si assicura la zona d'innesto con una legatura e si isola con paraffina.

Per favorire la rapida saldatura e l'unione dei cambi, le condizioni ambientali più favorevoli sono quelle di alta umidità e temperatura in cui le piante saranno tenute per 30-40 giorni.

Se si innesta presto le piante andranno conservate in cella frigorifera a 4-6°C in adeguate condizioni fino al momento in cui verranno piantate in pieno campo o sotto tunnel.

### **Produzione di astoni "knip"**

Particolare interesse infine hanno gli astoni di due anni già ramificati detti anche "knips". I rami anticipati di questi astoni devono essere qualitativamente uniformi e provvisti di gemme miste ed inseriti all'altezza corrispondente al primo palco delle forme a fusetto. Questa pratica viene usata in modo da anticipare l'entrata in produzione rispetto alle piante ottenute con il ciclo biennale.

La tecnica "knip" in Olanda prevede l'ottenimento di un astone con un innesto chip budding vegetante che al termine del primo anno può essere lasciato in loco o viene

estirpato e trapiantato in un altro vivaio con sestini di impianto più ampi. A questo punto viene cimato all'altezza desiderata e lasciato sviluppare liberamente per tutto il secondo anno di vivaio (Ravaglia e Corelli Grappedelli, 1990). Attualmente anche le piante ottenute con l'innesto a macchina possono essere impiegate per la produzione di astoni knip.

Da notare è che non tutte le varietà rispondono allo stesso modo all'emissione di rami anticipati, e questi pur se con le caratteristiche elencate prima, si presentano spesso troppo vigorosi e troppo assurgenti, con un angolo cioè stretto d'inserzione, perciò si sono cercati metodi alternativi per ottenerli. Uno di questi è l'uso di Promalin (Musacchi e Costa, 1992). Attualmente sono in corso di sperimentazione altri prodotti in grado di stimolare l'emissione di rami anticipati in vivaio come il TIBERON™ SC (Cyclanilide) il cui principio attivo è il 1-(2,4-dichlorophenylaminocarbonyl)- cyclopropane carboxylic acid (Elfving, 2009 comunicazione personale).

### **Astoni “multiasse”**

Da segnalare l'innovativo “Bibaum®” che permette di ottenere astoni bi-cauli preformati in vivaio. Questo tipo di pianta permette di evitare la cimatura degli astoni in campo e la conseguente perdita di un anno per la formazione della parte aerea.

### **Micropropagazione**

La micropropagazione, è uno dei settori d'impiego delle colture *in vitro*. Con questa tecnica si possono rapidamente ottenere, in maniera svincolata dai cicli vegetativi stagionali, tantissime piante (cloni) pur partendo da un'unica pianta madre.

La rapidità e l'efficienza della micropropagazione fanno sì che sia molto usata per l'introduzione sul mercato in tempi brevi di nuovi portinnesti o cultivar, oppure per propagare specie che con i metodi tradizionali trovano difficoltà (Webster e Jones, 1992).

I protocolli di lavoro usati prevedono un ciclo composto da quattro fasi principali ed una fase intermedia.

La micropropagazione, dati gli alti costi, ha trovato campi di applicazione nelle pomacee solo per portinnesti difficili da propagare per margotta o per favorire una rapida introduzione di nuovi cloni, infine questa tecnica è utilizzata per la propagazione di materiale “di base”, certificato sanitariamente, necessario per la costituzione dei campi di piante madri nei centri di moltiplicazione (Zimmerman, 1981). Le cultivar autoradicate hanno trovato scarsa diffusione e limitatamente alle specie pero ed actinidia (Sansavini, 1994; Sansavini 2004).

Il fatto che sia usata solo in questi casi eccezionali è dimostrato dai numeri: nel 2003 sono stati micropropagati solo 24.000 piantine di portinnesti di pomacee. A titolo di confronto, solo nelle province autonome di Trento, Bolzano e nella regione Emilia-Romagna, nel 2002 sono state prodotte in totale, con metodologie tradizionali, 9.308.000 portinnesti. La situazione è completamente differente per le drupacee, ed in particolare per il pesco ed il ciliegio i cui portinnesti sono in larga parte moltiplicati *in vitro* (GF 677, Gisela

### **Effetti epigenetici**

Il ritorno ad una fase giovanile è un evento temporaneo che quando si conclude lascia la pianta con il suo aspetto e i suoi caratteri originali, perciò non si può parlare di mutazioni vere e proprie (Webster e Jones, 1989, 1992; Sansavini et al. 2004). Le mutazioni possono interessare l'intero genoma, parti di cromosomi o anche semplicemente singole sequenze nucleotidiche, e tranne qualche raro caso (es. quando sono dovute ad istoni) sono stabili nel tempo.

Anche l'effetto dell'ambiente è da escludere perchè le caratteristiche giovanili si manifestano in qualsiasi ambiente in cui la pianta venga messa a dimora .

Le ragioni del cambiamento quindi sono da imputare ad altre cause, ovvero ai cosiddetti fattori epigenetici.

Si definiscono in questo modo i cambiamenti dell'espressione genica (quindi anche ereditabili) che non sono riconducibili a mutazioni della sequenza nucleotidica, ma hanno altre cause, come il cambiamento o il rafforzamento dei legami delle proteine legate alla sequenza di DNA, la metilazione del DNA e le modificazioni degli istoni e il rimodellamento della cromatina.

Il più studiato di questi effetti è senz'altro la metilazione del DNA che avviene a carico della citosina. In questo caso un gruppo metilico viene legato per mezzo dell'azione dell'enzima DNA-metiltransferasi, al carbonio in posizione cinque della base azotata. La sequenza che viene metilata è 5'-CG-3', questa è una sequenza quindi che contiene la citosina anche nel filamento opposto, e infatti il dna può definirsi emimetilato quando solo una delle due citosine è metilata oppure completamente metilato quando lo sono entrambe.

La metilazione nelle piante è in genere alta nelle zone di eterocromatina ed è anche associata con il silenziamento dei geni, mentre i geni che sono attivamente trascritti presentano un'ipometilazione. Le conseguenze di questa modificazione sono lampanti in piante mutanti di *Arabidopsis thaliana* che, non avendo DNA-metiltransferasi, hanno solo il 10% della normale metilazione, queste piante hanno l'epoca di fioritura, la fertilità e la morfologia delle foglie e dei fiori completamente mutate.

### **Microinnesto**

Questa tecnica è utilizzata per il risanamento da virus negli agrumi e consiste nell'asportazione dell'apice di un germoglio della cultivar che viene innestato sui germogli del portinnesti dopo 14-20 giorni di trapianto. L'asportazione dell'apice non colonizzato dai virus porta all'ottenimento di piante risanate in varia percentuale a seconda della specie. Tale percentuale può oscillare dal 60 al 100 % di successo.

### **BIBLIOGRAFIA**

<b>Hartman H.T., Kestner D.E. (1990).</b> Propagazione delle piante. Edagricole.
<b>Howard B.H. Skene D.S., Coles J.S. (1974).</b> The effects of different grafting methods upon the development of one-year-old nursery apple-trees. J. Hort Science 49, 187-295
<b>Ligoniere G. (1981)</b> Le chip-budding. Le Fruit Belge 396: 235-237.
<b>Lugli S., Musacchi S. (1993).</b> Tecniche e cicli produttivi delle <i>pomacee</i> in vivaio. Frutticoltura. 1, 25-33.
<b>Musacchi S. e Costa G. (1992)</b> Controllo della morfogenesi dei rami anticipati nel melo in vivaio. Frutticoltura 3, 103-106.
<b>Ravaglia G.F., Corelli Grappedelli L. (1990)</b> Le piante in vaso nel vivaismo frutticolo. Frutticoltura, 5, 65-70.
<b>Sansavini S. (1994).</b> Performance of micropropagated pear trees. Acta Horticulturae (367), 260-266.
<b>Sansavini S. (2004).</b> Colture "in vitro" e biotecnologie, un binomio per l'innovazione delle tecniche di miglioramento genetico e propagazione. Frutticoltura 12. 21-24.

**Webster C.A., Jones O.P. (1989).** Micropropagation of apple rootstock M9: effect of sustained subculture on apparent rejuvenation in vitro. *Journal of Horticultural Science* 64(4) 421-428.

**Webster C.A., Jones O.P. (1992)** Performance of field hedge and stoolbed plant of micropropagated dwarfing apple rootstock clones with different degrees of apparent rejuvenation. *Journal of Horticultural Science* 67(4) 521-528.

**Zimmerman R.H (1981)** Micropropagation of fruit plants. *Acta Horticultura* 120, 217-222.