L'estratto contiene pagine non in sequenza

Biostimolanti in agricoltura

L'estratto contiene pagine non in sequenza

COLLANA EDAGRICOLE UNIVERSITÀ & FORMAZIONE

Agricoltura sostenibile [a cura di Michele Pisante]
Microbiologia enologica [a cura di Giovanna Suzzi e Rosanna Tofalo]
Igiene degli alimenti [a cura di Maria Schirone e Pierina Visciano]
L'acqua in agricoltura [a cura di Marcello Mastrorilli]
Difesa sostenibile delle colture [a cura di Paola Battilani]
Fertilizzazione sostenibile [a cura di Carlo Grignani]
Agricoltura di precisione [a cura di Raffaele Casa]
Malattie delle piante ornamentali
[Angelo Garibaldi, Domenico Bertetti, Stefano Rapetti, M. Lodovica Gullino]
Biotecnologie sostenibili
[a cura di Massimo Galbiati, Alessandra Gentile, Stefano La Malfa, Chiara Tonelli]
Oli e grassi [a cura di Giuliano Mosca]
I biostimolanti in agricoltura [a cura di Antonio Ferrante]
Gestione della qualità e conservazione dei prodotti ortofrutticoli
[a cura di Giancarlo Colelli e Paolo Inglese]
Arboricoltura speciale
[a cura di Alessandra Gentile, Paolo Inglese, Massimo Tagliavini]
Florovivaismo
[a cura di Valentina Scariot, Stefania De Pascale, Antonio Ferrante, Daniela Romano]
Coltivazioni erbacee I [a cura di Giuliano Mosca, Amedeo Reyneri]

Volumi in programmazione

Coltivazioni erbacee II
[a cura di Giuliano Mosca e Amedeo Reyneri Di Lagnasco]
Gestire le malerbe in agricoltura biologica
[a cura di Giuseppe Zanin, Francesco Tei, Luigi Sartori, Andrea Peruzzi]
Politica agraria e di sviluppo rurale [a cura di Angelo Frascarelli]
Agrometeorologia e Agroclimatologia
[a cura di Marco Bindi e Simone Orlandini]
Meccanica e meccanizzazione in agricoltura
[a cura di Fabrizio Mazzetto, Luigi Sartori, Marco Vieri]
Micropropagazione [a cura di Maurizio Lambardi, Maurizio Micheli]

DIRETTORE SCIENTIFICO
Michele Pisante

COMITATO SCIENTIFICO
Paola Battilani, Marco Bindi, Raffaele Casa, Giancarlo Colelli,
Stefania De Pascale, Antonio Ferrante, Angelo Frascarelli,
Massimo Galbiati, Alessandra Gentile, Carlo Grignani,
Maria Lodovica Gullino, Paolo Inglese, Stefano La Malfa,
Marcello Mastrorilli, Fabrizio Mazzetto, Giuliano Mosca, Simone Orlandini,
Andrea Peruzzi, Amedeo Reyneri, Daniela Romano,
Luigi Sartori, Valentina Scariot, Giovanna Suzzi,
Massimo Tagliavini, Francesco Tei, Rosanna Tofalo, Chiara Tonelli,
Marco Vieri, Giuseppe Zanin

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Biostimolanti in agricoltura

Presupposti scientifici e applicazioni pratiche

Seconda edizione

a cura di
Antonio Ferrante

edagricole

L'estratto contiene pagine non in sequenza

1ª edizione: novembre 2019
2ª edizione: maggio 2023

Riferimenti iconografici
– Copertina (da sinistra a destra): nednapa/Shutterstock; Alan Sau/Shutterstock; Uwe Ruhrmann/Shutterstock; Vladimir Mulder/Shutterstock; Mirages.nl/Shutterstock; nnattalli/Shutterstock; Paul Pellegrino/Shutterstock; Da Antipina/Shutterstock; NokHoOkNoi/Shutterstock; Alpaka Video/Shutterstock; malshkoff/Shutterstock; New Africa/Shutterstock;
– Il simbolo in apertura capitolo è di bsd studio/Shutterstock
– pagina 8: Black Mac/Shutterstock

© Copyright 2023 by «Edagricole - Edizioni Agricole di New Business Media srl»
via Eritrea 21 - 20157 Milano
Redazione: Piazza G. Galilei, 6 - 40123 Bologna - e-mail: libri.edagricole@newbusinessmedia.it

Vendite: tel. 051/6575833; fax 051/6575999 - email: libri.edagricole@newbusinessmedia.it
http://www.edagricole.it

5642

Proprietà letteraria riservata - printed in Italy

La riproduzione con qualsiasi processo di duplicazione delle pubblicazioni tutelate dal diritto d'autore è vietata e penalmente perseguibile (art. II della legge 22 aprile 1941, n. 633). Quest'opera è protetta ai sensi della legge sul diritto d'autore e delle Convenzioni internazionali per la protezione del diritto d'autore (Convenzione di Berna, Convenzione di Ginevra). Nessuna parte di questa pubblicazione può quindi essere riprodotta, memorizzata o trasmessa con qualsiasi mezzo e in qualsiasi forma (fotomeccanica, fotocopia, elettronica, ecc.) senza l'autorizzazione scritta dell'editore. In ogni caso di riproduzione abusiva si procederà d'ufficio a norma di legge.

Realizzazione grafica: Emmegi Group, via F. Confalonieri, 36 - 20124 Milano
Impianti e stampa: CASMA Srl, via Provaglia 3/ABC, 40138 Bologna
Finito di stampare nel maggio 2023

ISBN 978-88-506-5642-4

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Invito alla lettura

Che cosa dire di un libro che ha l'obiettivo di mettere ordine in una materia che, oltre a suscitare interesse scientifico, sta mobilitando, ormai da anni, sia le imprese produttrici di questi nuovi mezzi tecnici, sia gli agricoltori alla ricerca di spinte quanti-qualitative per i loro raccolti? Si potrebbe dire, inizialmente, che si affronta l'argomento con un filo di scetticismo, che però scompare ben presto se si pensa al curatore del volume, che conosco - sin da quando era studente - come un valente studioso, oggi appassionato ricercatore e professore ordinario dell'Università degli Studi di Milano.
Parlo di scetticismo perché provengo da una esperienza di ricerca che ha privilegiato, nell'ambito della fisiologia vegetale, l'individuazione precisa delle molecole coinvolte nella particolare manifestazione sulla quale si stava indagando. I biostimolanti sono però oggi uno strumento a disposizione degli agricoltori che li usano sempre più per migliorare i loro raccolti. L'intera Europa e tutto il mondo fanno ricorso a questi mezzi, come dimostrato dal Congresso Mondiale sui Biostimolanti che si è tenuto a Hollywood, Florida (USA) nei giorni 29 Novembre-2 Dicembre del 2021.
Va detto che, come ricordano anche gli autori di uno dei capitoli di questo libro, il Farm Bill USA del 2018 propone una definizione di tipo funzionale: i biostimolanti sono strumenti che non sono i fertilizzanti, ma servono a fronteggiare criticità ambientali (scarsità di acqua, eccesso di salinità dei suoli, stress abiotici in generale) comportando una riduzione di impiego di altri tradizionali mezzi tecnici. Essi provengono dai più diversi materiali: funghi e batteri benefici, sostanze umiche, composti azotati (tipo idrolizzati proteici), estratti di alghe, chitosani e altri biopolimeri.
In un primo momento stupiva la benefica influenza di queste sostanze su molte colture; oggi non sorprende più e, anzi, è accertato il loro ruolo positivo. Si tratta però, come affermano quasi tutti gli autori del libro, di sfidare la ricerca individuando le molecole (probabilmente più di una e ad azione convergente) attive nelle più diverse matrici e dissezionare la catena di eventi del meccanismo di azione, ancora in gran parte ignoto.
Che questo sia possibile è ottimamente dimostrato da alcuni gruppi attivi su questo piano; se è vero, infatti, che i meccanismi di azione dei biostimolanti sono in parte sconosciuti, è anche vero che non si possono ignorare importanti tentativi fatti in questo senso. Si è fatto bene a sottolineare come importanti passi siano stati compiuti mediante metodi di analisi non-supervisionata (i test supervisionati sono quelli che evidenziano tutte le azioni del prodotto sulla pianta).
Un passo importante si è fatto quando si è dedotto che l'azione di un biostimolante si esplica mediante una modifica dell'espressione genica della pianta. Come dicono gli autori, si ottiene una «fotografia molecolare» dell'azione del biostimolante sui singoli processi della pianta. In Italia è ormai dal 2012 che si usa la tecnica del *microarray* in questo campo, arrivando a evidenziare che un biostimolante può modulare l'espressione anche di 4000 geni (1700 up e più di 2000 down) variamente coinvolti nella risposta allo stress, nella trasduzione del segnale, nel metabolismo dei carboidrati, nel trasporto e nel metabolismo delle proteine.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Se per l'uso dei *microarray* è indispensabile la disponibilità del sequenziamento della specie vegetale studiata, con le nuove tecniche NGS (*Next Generation Sequencing*) ciò non è più necessario, in quanto è possibile il sequenziamento dei trascritti. Comunque, rimangono alcuni problemi aperti: ad esempio, l'identificazione delle singole molecole bioattive presenti nei biostimolanti.

Vorrei chiudere questa mia nota ricordando che la parte finale del testo riporta una interessante disamina dell'uso dei biostimolanti sulle principali colture orto-frutticole.

Finalmente gli agricoltori, le aziende produttrici e la comunità scientifica possiedono un testo che propone un aggiornato stato dell'arte utile per comprendere questi nuovi strumenti, uscendo da un diffuso scetticismo, ma riportando quanto è stato fatto e quanto ancora si deve fare per capire e gestire al meglio. E se qualche scettico - come lo sono stato anche io - guarderà questo ambito con rinnovato interesse, il testo avrà svolto non solo informazione, ma una vera e propria paideia.

Amedeo Alpi
Presidente Sezione Centro-Ovest Accademia dei Georgofili

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Gli Autori

Carlo Andreotti
Libera Università di Bolzano

Aldo Calcante
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Universita degli Studi di Milano

Claudio Ciavatta
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Giacomo Cocetta
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano

Nicola D'Ascenzo
Dipartimento di Innovazione in Ingegneria e Fisica, Istituto Neurologico Mediterraneo NEUROMED I.R.C.C.S.

Stefania De Pascale
Dipartimento di Agraria, Università degli Sudi di Napoli Federico II

Irene Donati
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Laura Ercoli
Centro di Ricerca in Produzioni Vegetali - Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

Andrea Ertani
Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), Università di Torino

Arianna Facchi
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Universita degli Studi di Milano

Antonio Ferrante
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano

Alessandra Francini
Centro di Ricerca in Produzioni Vegetali, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Ornella Francioso
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Tommaso Frioni
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore

Andrea Giro
Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università degli Studi di Padova

Chiara Manoli
Vice-chair Task Force Italia EBIC (European Biostimulants Industry Council) e Vice President ECOFI (European Consortium of Organic-based Fertilizer Industry)

Luigi Mariani
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia. Università degli Studi di Milano, Museo Lombardo di Storia dell'Agricoltura, Castello "Bolognini"

Daniele Massa
CREA Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo, Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Pescia (PT)

Serenella Nardi
Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università degli Studi di Padova

Marco Nuti
Centro di Ricerca in Produzioni Vegetali - Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

Roberto Oberti
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Universita degli Studi di Milano

Giancarlo Pagnani
Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università degli Studi di Teramo

Antonio Pannico
Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II

Marika Pellegrini
Dipartimento di Medicina clinica, sanità pubblica, scienze della vita e dell'ambiente, Università degli Studi dell'Aquila

Elisa Pellegrino
Centro di Ricerca in Produzioni Vegetali - Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

Pierdomenico Perata
Centro di Ricerca di Scienze delle Piante - Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

Michele Pisante
Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università degli Studi di Teramo

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Stefano Poni
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore

Daniela Romano
Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Università degli Studi di Catania

Domenico Ronga
Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Salerno

Paolo Sambo
Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università degli Studi di Padova

Antonietta Santaniello
Valagro SpA, PlantLab, Centro di Ricerca di Scienze delle Piante - Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa

Andrea Scartazza
Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri (IRET), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)

Michela Schiavon
Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), Università di Torino

Sebastian Soppelsa
Centro di Sperimentazione Laimburg, Bolzano

Francesco Spinelli
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Stefania Toscano
Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina

Alice Trivellini
Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Indice generale

Invito alla lettura ..... Pag. V
Gli Autori ..... ″ VII

PARTE GENERALE

1 ORIGINE STORICA ED EVOLUZIONE DEI BIOSTIMOLANTI IN AGRICOLTURA (L. Mariani) ..... ″ 1
1.1 Riflessioni in chiave storica ..... ″ 1
1.2 L'uomo e il letame ..... ″ 1
1.3 L'uomo e le alghe ..... ″ 4
1.4 Biostimolanti, nascita ed evoluzione del termine ..... ″ 6
1.5 L'approccio scientifico al tema dei biostimolanti ..... ″ 8
Bibliografia ..... ″ 8

2 DEFINIZIONE, CLASSIFICAZIONE E REGOLAMENTAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI DELLE PIANTE (C. Ciavatta, C. Manoli) ..... ″ 11
2.1 Introduzione ..... ″ 11
2.2 Definizione di biostimolante per le piante ..... ″ 12
2.3 Classificazione dei biostimolanti delle piante ..... ″ 13
2.4 Inquadramento normativo dei biostimolanti delle piante ..... ″ 14
2.4.1 L'attuale inquadramento normativo in Italia ..... ″ 14
2.4.1.1 Definizione normativa nazionale ..... ″ 14
2.4.1.2 Commercializzazione e vigilanza dei prodotti immessi sul mercato ..... ″ 15
2.4.1.3 I prodotti biostimolanti in Italia ..... ″ 17
2.4.2 L'inquadramento normativo in Europa ..... ″ 23
2.4.2.1 Il Regolamento (UE) 2019/1009 ..... ″ 23
2.4.2.2 Il Regolamento (UE) 2019/1009 sui prodotti fertilizzanti ..... ″ 24
2.5 Prodotti biologicamente attivi non classificabili come biostimolanti corroboranti e induttori di resistenza ..... ″ 25
2.5.1 Corroboranti ..... ″ 27
2.5.2 Induttori di resistenza ..... ″ 33
2.6 Note conclusive ..... ″ 33
Bibliografia e Normativa ..... ″ 34
Sitografia ..... ″ 37
Appendice 1 ..... ″ 39
Appendice 2 ..... ″ 43

3 PRINCIPALI COMPOSTI AD AZIONE BIOLOGICA NEI BIOSTIMOLANTI NON MICROBICI: BIOSAGGI E TECNICHE ANALITICHE PER LA CARATTERIZZAZIONE (A. Ertani, M. Schiavon, O. Francioso, S. Nardi) ..... ″ 47

L'estratto contiene pagine non in sequenza

3.1 Introduzione ..... Pag. 47
3.2 Biosaggi ..... ″ 52
Bibliografia ..... ″ 56

4 I MECCANISMI DI AZIONE DEI BIOSTIMOLANTI NELLA PIANTA (A. Santaniello, A. Scartazza, P. Perata) ..... ″ 61
4.1 Introduzione ..... ″ 61
4.2 Biostimolanti e molecole biologicamente attive ..... ″ 62
4.3 Metodi per la definizione del meccanismo di azione: la rivoluzione genomica ..... ″ 64
4.4 Metodi per la definizione del meccanismo di azione: fotosintesi, stress e produttività ..... ″ 67
4.5 Metodi per la definizione del meccanismo di azione: la fenomica ..... ″ 71
4.6 Conclusioni ..... ″ 73
Bibliografia ..... ″ 73

5 UTILIZZO DI BIOSTIMOLANTI MICROBICI PER MITIGARE GLI STRESS ABIOTICI ENFATIZZATI DAI CAMBIAMENTI CLIMATICI (F. Spinelli, I. Donati) ..... ″ 77
5.1 Introduzione ..... ″ 77
5.2 I biostimolanti microbici ..... ″ 78
5.3 Applicazione dei biostimolanti agli stress ambientali ..... ″ 80
5.3.1 Stress termici ..... ″ 80
5.3.2 Stress idrici ..... ″ 84
5.3.3 Precipitazioni intense, alluvioni e ristagni idrici ..... ″ 88
5.4 Limitazioni e prospettive future ..... ″ 89
5.5 Conclusioni ..... ″ 90
Bibliografia ..... ″ 91

6 EFFETTO DEI BIOSTIMOLANTI NEL SUOLO E INTERAZIONE CON LA RIZOSFERA (S. De Pascale, A. Pannico) ..... ″ 93
6.1 Generalità ..... ″ 93
6.2 Biodisponibilità dei nutrienti nel suolo ..... ″ 93
6.3 Assorbimento dei nutrienti ..... ″ 95
6.4 Assimilazione dei nutrienti ..... ″ 97
6.5 Grandi potenzialità per la nutrizione ..... ″ 98
Bibliografia ..... ″ 100

7 BIOSTIMOLANTI A BASE DI FUNGHI MICORRIZICI ARBUSCOLARI: POTENZIALITÀ IN AGRICOLTURA (L. Ercoli, M. Nuti, E. Pellegrino) ..... ″ 105
7.1 Introduzione ..... ″ 105
7.2 Distribuzione ..... ″ 105
7.3 Sviluppo e struttura della simbiosi ..... ″ 106
7.4 Effetti dei funghi AM sulle colture e sul suolo ..... ″ 108
7.4.1 Crescita e produzione ..... ″ 109
7.4.2 Assorbimento di nutrienti ..... ″ 112
7.4.3 Qualità delle produzioni ..... ″ 116
7.4.4 Altri effetti dei funghi AM ..... ″ 116
7.4.4.1 Stress idrico ..... ″ 119
7.4.4.2 Stress salino ..... ″ 119

L'estratto contiene pagine non in sequenza

7.4.4.3 Stress biotici ..... Pag. 119
7.4.5 Servizi ecosistemici ..... ″ 120
7.4.5.1 Aggregazione del terreno ..... ″ 120
7.4.5.2 Riduzione delle perdite di N ..... ″ 120
7.4.5.3 Trasferimento dei nutrienti tra le piante ..... ″ 121
7.5 Inoculazione in campo di funghi AM ..... ″ 121
7.5.1 Sviluppo dell'inoculo ..... ″ 123
7.5.2 Selezione dell'isolato ..... ″ 124
7.5.3 Produzione dei funghi AM ..... ″ 125
7.5.4 Sviluppo del formulato ..... ″ 126
7.6 Tecnica dell'inoculazione ..... ″ 127
7.6.1 Valutazioni preliminari ..... ″ 127
7.6.2 Epoca e metodo di applicazione ..... ″ 128
7.7 Caratterizzazione morfologica, biochimica e molecolare dei funghi AM ..... ″ 128
7.7.1 Metodi morfologici e biochimici ..... ″ 129
7.7.2 Metodi molecolari ..... ″ 129
7.8 Prospettive e limitazioni ..... ″ 130
Bibliografia ..... ″ 131

8 I BIOSTIMOLANTI E GLI STRESS ABIOTICI (A. Francini, A. Ferrante) ..... ″ 139
8.1 Introduzione ..... ″ 139
8.2 Biostimolanti e stress da alta e bassa irradianza ..... ″ 140
8.3 Biostimolanti e basse temperature ..... ″ 141
8.4 Biostimolanti e stress da caldo ..... ″ 143
8.5 Biostimolanti e stress salino ..... ″ 144
8.6 Biostimolanti e stress idrico ..... ″ 147
8.7 Biostimolanti e carenze nutrizionali ..... ″ 150
8.8 Conclusioni ..... ″ 151
Bibliografia ..... ″ 151

9 I BIOSTIMOLANTI NELLA RICERCA AGRONOMICA: APPROCCIO SPERIMENTALE PER LA CARATTERIZZAZIONE FUNZIONALE (A. Ferrante, A. Francini) ..... ″ 153
9.1 Biostimolanti e agronomia ..... ″ 153
9.1.1 Sostenibilità economica e ambientale dei biostimolanti ..... ″ 154
9.2 Le matrici utilizzate per la produzione di biostimolanti ..... ″ 155
9.2.1 Estratti vegetali ..... ″ 155
9.2.2 Idrolizzati proteici di origine vegetale ..... ″ 156
9.2.3 Estratti di alghe ..... ″ 157
9.2.4 Processi e metodi di estrazione ..... ″ 157
9.3 Valutazione dei biostimolanti mediante prove agronomiche ..... ″ 158
9.3.1 Analisi di crescita della coltura trattata con biostimolante ..... ″ 159
9.4 Ricerca e sperimentazione per la caratterizzazione dei biostimolanti ..... ″ 160
9.4.1 Effetto del biostimolante sul metabolismo primario e secondario ..... ″ 161
9.4.2 Caratterizzazione della composizione dei biostimolanti e standardizzazione delle procedure di produzione ..... ″ 163
9.4.3 Caratterizzazione del biostimolante in funzione delle risposte delle colture e identificazione degli effetti prodotti e riproducibili ..... ″ 164
9.4.4 Modalità di applicazione, tempistica e dosi di applicazione ..... ″ 165

L'estratto contiene pagine non in sequenza

9.5 Conclusioni ... Pag. 166
Bibliografia ... ″ 166

10 PASSATO, PRESENTE E FUTURO DEGLI APPROCCI DI FENOTIPIZZAZIONE AGRONOMICA NELLA RICERCA E NELLO SVILUPPO DI BIOSTIMOLANTI (G. Pagnani, M. Pellegrini, D. Ronga, N. D'Ascenzo, M. Pisante) ... ″ 167
10.1 Introduzione ... ″ 167
10.2 Indagini micro e macroscopiche dal laboratorio al campo ... ″ 168
10.2.1 *Screening* a scala microscopica ... ″ 168
10.2.2 *Screening* a piccola e media scala ... ″ 170
10.3 L'agricoltura di precisione nello studio degli effetti dei biostimolanti ... ″ 171
10.3.1 Biostimolanti e zone omogenee ... ″ 172
10.3.2 Agricoltura di precisione, nano-sensori e concia dei semi ... ″ 173
10.4 La tomografia ad emissione di positroni, nuove frontiere per l'interazione pianta-biostimolanti ... ″ 174
10.5 Conclusioni ... ″ 177
Bibliografia ... ″ 177

11 EFFETTI DALL'APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI SULLA QUALITÀ E SUL VALORE NUTRIZIONALE DELLE COLTURE ORTICOLE (G. Cocetta) ... ″ 181
11.1 Biostimolanti e qualità dei prodotti orticoli ... ″ 181
11.2 Effetto dell'applicazione di biostimolanti sulle proprietà nutrizionali e nutraceutiche di ortaggi a foglia ... ″ 183
11.3 Effetto dell'applicazione di biostimolanti sulle proprietà nutrizionali e nutraceutiche degli ortaggi a frutto ... ″ 186
11.4 Effetto dell'applicazione di biostimolanti sulle proprietà nutrizionali e nutraceutiche di altri ortaggi (radici, tuberi, semi, fiori) ... ″ 187
11.5 Conclusioni e prospettive future ... ″ 188
Bibliografia ... ″ 189

PARTE SPECIALE

12 I BIOSTIMOLANTI APPLICATI AI SEMI (A. Ferrante) ... ″ 193
12.1 Introduzione ... ″ 193
12.2 Biostimolanti e applicazioni ai semi ... ″ 194
12.3 Applicazione dei biostimolanti alle diverse specie ... ″ 195
12.4 Conclusioni ... ″ 197
Bibliografia ... ″ 198

13 TECNICHE DI APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI (R. Oberti, A. Facchi, A. Calcante) ... ″ 199
13.1 Modalità di applicazione alle colture ... ″ 199
13.1.1 Dose di applicazione e volume distribuito ... ″ 199
13.2 Applicazioni fogliari ... ″ 199
13.2.1 Caratteristiche dello spray e qualità dei trattamenti ... ″ 200
13.2.2 Classificazione dimensionale degli spray e relazione col volume di distribuzione ... ″ 200
13.2.3 L'irroratrice: la macchina per le applicazioni fogliari ... ″ 201

L'estratto contiene pagine non in sequenza

13.2.4 Gli ugelli di distribuzione ..... Pag. 203
13.2.5 Specificità dei trattamenti di applicazione fogliare nei diversi tipi di colture ..... ″ 205
13.2.6 Esempio di applicazione fogliare ..... ″ 207
13.3 Applicazioni su terreno con acqua irrigua ..... ″ 208
13.3.1 Microirrigazione e fertirrigazione ..... ″ 208
13.3.2 L'impianto di distribuzione ..... ″ 209
13.3.3 Dispositivi iniettori ..... ″ 210
13.3.4 Gli erogatori ..... ″ 211
13.3.5 Esempio di applicazione con microirrigazione ..... ″ 212

14 USO DEI BIOSTIMOLANTI IN FRUTTICOLTURA
(C. Andreotti, S. Soppelsa) ..... ″ 215
14.1 Introduzione ..... ″ 215
14.2 Effetti di alcuni biostimolanti sull'accrescimento vegetativo e la resa di piante da frutto ..... ″ 216
14.3 Uso dei biostimolanti in frutticoltura per il miglioramento della qualità dei frutti alla raccolta e durante la conservazione ″ 219
14.4 L'impiego dei biostimolanti per aumentare la tolleranza dei sistemi arborei produttivi nei confronti di stress abiotici riconducibili al fenomeno del cambiamento climatico ..... ″ 221
14.4.1 Stress idrici ..... ″ 221
14.4.2 Carenze nutrizionali ..... ″ 225
14.4.3 Stress da eccessiva salinità ..... ″ 225
14.4.4 Stress da temperature estreme ed eccessiva intensità luminosa ..... ″ 227
14.5 Conclusioni ..... ″ 229
Bibliografia ..... ″ 229

15 UTILIZZO DI BIOSTIMOLANTI IN VITICOLTURA
(T. Frioni, S. Poni) ..... ″ 235
15.1 La moderna prospettiva del viticoltore al crocevia tra competitività e sostenibilità ..... ″ 235
15.2 Utilizzo di biostimolanti per migliorare la tolleranza della vite a stress abiotici ..... ″ 235
15.3 Utilizzo di biostimolanti per migliorare la produttività del vigneto ..... ″ 238
15.4 Utilizzo di biostimolanti per migliorare la qualità delle uve ..... ″ 242
15.5 Considerazioni applcative ..... ″ 246
Bibliografia ..... ″ 247

16 APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI IN ORTICOLTURA
(A. Giro, P. Sambo) ..... ″ 249
16.1 Introduzione ..... ″ 249
16.2 Campi di applicazione ..... ″ 249
16.3 Uso di biostimolanti batterici promotori della crescita (PGPR) e di funghi micorrizici ..... ″ 252
16.4 Uso di acidi umici e fulvici ..... ″ 254
16.5 Applicazione dei biostimolanti nelle coltivazioni idroponiche ..... ″ 256
16.6 Conclusioni ..... ″ 256
Bibliografia ..... ″ 257

L'estratto contiene pagine non in sequenza

17 I BIOSTIMOLANTI NELLA PRODUZIONE DI *NOVEL FOODS*
(D. Romano, S. Toscano) ..... Pag. 259
17.1 *Novel foods*: *sprouts*, *microgreens* e *baby leaf* ..... ″ 259
17.2 L'impiego di biostimolanti ..... ″ 260
17.2.1 *Microgreens* ..... ″ 260
17.2.2 *Baby leaf* ..... ″ 262
Bibliografia ..... ″ 266

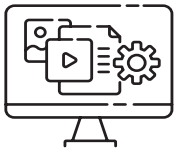
18 APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI NEL FLOROVIVAISMO
(D. Massa, A. Trivellini) ..... ″ 271
18.1 Introduzione ..... ″ 271
18.2 Biostimolanti per migliorare la propagazione, la crescita e la nutrizione di specie florovivaistiche ..... ″ 274
18.2.1 Sostanze umiche ..... ″ 275
18.2.2 Rizobatteri promotori della crescita ..... ″ 276
18.2.3 Funghi micorrizici arbuscolari ..... ″ 277
18.2.4 Chitina e derivati del chitosano ..... ″ 278
18.2.5 Silicio ..... ″ 278
18.2.6 Idrolizzati proteici ..... ″ 279
18.2.7 Estratti di alghe ..... ″ 279
18.3 Biostimolanti utili per aumentare la tolleranza agli stress abiotici ..... ″ 280
18.3.1 Funghi micorrizici arbuscolari ..... ″ 280
18.3.2 Silicio ..... ″ 281
18.3.3 Rizobatteri promotori della crescita ..... ″ 281
18.3.4 Estratti di alghe ..... ″ 281
18.4 Biostimolanti per migliorare qualità e post-raccolta del prodotto finale ..... ″ 282
Bibliografia ..... ″ 283

L'estratto contiene pagine non in sequenza

2 Definizione, classificazione e regolamentazione dei biostimolanti delle piante

Claudio Ciavatta, Chiara Manoli

2.1 INTRODUZIONE



In Italia, la ricerca e lo sviluppo di nuovi prodotti biostimolanti ad uso agronomico sono molto avanzati e costituiscono un vero e proprio fiore all'occhiello del nostro Paese.
Ad oggi, e sempre più nei prossimi anni, i prodotti biostimolanti si collocano come utili strumenti per l'agricoltore per fronteggiare le diverse criticità ambientali che sono emerse quali, ad esempio, la minor disponibilità di elementi nutritivi per la crisi energetica e la relativa attenzione per il riutilizzo degli scarti delle varie filiere produttive, i costi crescenti delle materie prime, la minore disponibilità di acqua da destinare all'agricoltura, la coltivazione in terreni salini, l'incidere di stress abiotici, così come per supportarlo in un'agricoltura maggiormente razionale (sostenibile), riducendo l'utilizzo di mezzi tecnici a fronte di una maggiore efficienza d'uso dei nutrienti, e redditizia grazie al miglioramento degli aspetti qualitativi del raccolto. Tutti aspetti che rientrano a pieno titolo nel Green Deal europeo, il pacchetto di iniziative legislative e non promosso dalla Commissione Europea con l'obiettivo ambizioso di raggiungere la neutralità climatica entro il 2050 e in particolare in alcune sue attività, come la strategia "dal produttore al consumatore" o il piano di azione per l'economia circolare.
A supporto dell'interesse e dell'importanza sempre maggiori del settore dei biostimolanti, l'applicazione del Regolamento europeo sui fertilizzanti (Regolamento (UE) 2019/1009) il 16 luglio 2022 rappresenta senza dubbio la base normativa senza la quale questi biostimolanti non potrebbero avere oggi, ma soprattutto nel prossimo futuro, un mercato armonizzato. Per quanto attiene nello specifico i biostimolanti delle piante (anche solo biostimolanti), questo Regolamento definisce gli aspetti relativi alla tipologia (sostanze e/o microrganismi), la funzione (stimolare l'efficienza degli elementi nutritivi (nutrienti) e/o la loro disponibilità nel suolo o nella rizosfera, la tolleranza agli stress abiotici e/o la qualità della coltura), il campo di applicazione (le piante o la rizosfera) e ribadisce che tali effetti sono indipendenti dal contenuto di nutrienti.
La grande novità del Regolamento (UE) 2019/1009 è che la definizione di "biostimolante delle piante" è basata sul *claim*, quindi sull'effetto del prodotto relativamente ai processi di nutrizione vegetale. Tale approccio, senza dubbio pionieristico sul campo normativo comunitario e non, inizialmente aveva generato forti speranze in merito alla spinta all' innovazione che riguarda i prodotti biostimolanti: orientarsi, per esempio, su una lista positiva, avrebbe rallentato molto il processo di inserimento in legge di prodotti innovativi, a discapito così del progresso tecnologico. Tuttavia, l'implementazione del Regolamento non è andata, almeno per il momento, in questa direzione, congelando così il grande potenziale di questo quadro normativo: a titolo esemplificativo, si pensi, ad esempio, alla lista dei microorganismi che possono essere utilizzati per la produzione di biostimolanti microbici. La lista, molto esigua, consta ad oggi di soli quattro generi/gruppi (*Azotobacter* spp., Funghi micorrizici, *Rhizobium* spp., *Azospirillum* spp.) e per la sua implementazione la Commissione non ha ancora definito la procedura.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Questo approccio, comunque, rappresenta uno strumento per i fabbricanti di biostimolanti di poter misurare la "bontà" del proprio prodotto mediante procedure standardizzate, accrescendo la credibilità di tutto il settore.
Nonostante il cambio di approccio portato dal nuovo Regolamento, la categorizzazione dei prodotti biostimolanti attualmente in commercio è senza dubbio utile ai fini illustrativi del settore, come vuole essere la finalità di questo capitolo, ed è tuttora utilizzata nelle *review* e negli articoli scientifici.
Questo capitolo offre una panoramica della definizione e del concetto di biostimolante, nonché delle principali categorie di prodotto e ne illustra l'attuale inquadramento normativo nazionale ed europeo.

2.2 DEFINIZIONE DI BIOSTIMOLANTE PER LE PIANTE

Pare che la parola "biostimolante" sia stata coniata proprio in ambito orticolo per descrivere quelle sostanze che promuovono la crescita delle piante senza essere nutrienti, ammendanti o agrofarmaci (du Jardin, 2015). È comunque interessante riportare che la prima discussione, più generale, sui "stimolanti biogenici" è attribuita al russo Prof. Vladimir Petrovich Filatov e risale agli anni '30 dello scorso secolo. Con questa definizione, egli si riferiva a del materiale biologico derivante da vari organismi, incluse le piante, che erano state esposte ad agenti stressanti e che potevano incidere sui processi metabolici ed energetici nell'uomo, negli animali e nelle piante (Yakhin *et al*, 2017). Un biostimolante vegetale, secondo du Jardin (2015), è «qualsiasi sostanza o microrganismo applicato alle piante allo scopo di migliorare l'efficienza nutrizionale, la tolleranza agli stress abiotici e/o gli aspetti della qualità del raccolto, indipendentemente dal suo contenuto di nutrienti». Per estensione, i biostimolanti vegetali designano anche prodotti commerciali contenenti miscele di tali sostanze e/o microrganismi. La definizione proposta dallo stesso autore è supportata da argomenti relativi alla conoscenza scientifica sulla natura, sulle modalità di azione e sui tipi di effetti dei biostimolanti sulle colture e sulle piante orticole.
In Europa, la definizione di biostimolante delle piante è stata a lungo dibattuta e revisionata durante la fase di pre-stesura del testo del Regolamento (UE) 2019/1009. Indubbiamente, quanto proposto da du Jardin (2012) ha decisamente influito sullo sviluppo di questa definizione, così come il lavoro di EBIC (*European Biostimulants Industry Council*), di cui si parlerà a breve.
Quella presente nel Regolamento (UE) 2019/1009 è la seguente: «**un prodotto fertilizzante dell'UE con la funzione di stimolare i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal tenore di nutrienti del prodotto, con l'unico obiettivo di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche delle piante o della loro rizosfera: a) efficienza dell'uso dei nutrienti; b) tolleranza allo stress abiotico; c) caratteristiche qualitative; o d) disponibilità di nutrienti contenuti nel suolo o nella rizosfera**».
Essa ha sicuramente rappresentato un punto di arrivo molto importante, poiché da un lato ha permesso di riconoscere una categoria di prodotti innovativi sempre più diffusi e impiegati, dall'altro ha delineato il confine tra i prodotti biostimolanti e gli altri prodotti fertilizzanti, i prodotti fitosanitari o gli agenti di biocontrollo.
Da segnalare, inoltre, che a livello europeo si è costituito nel giugno del 2011 un consiglio fra le maggiori industrie europee produttrici di biostimolanti per i vegetali, EBIC (*European Biostimulant Industry Council*). EBIC, fin dalla sua fondazione, ha l'obiettivo di:

a. creare un vero mercato europeo per i biostimolanti ad uso agronomico,
b. assicurare un quadro normativo che garantisca agli agricoltori che i biostimolanti immessi sul mercato siano efficaci, sicuri e redditizi,

L'estratto contiene pagine non in sequenza

c. favorire la domanda di biostimolanti per le colture,
d. definire una chiara distinzione tra prodotto fitosanitario e biostimolante,
e. far sì che le aziende che ne fanno parte rispettino un codice deontologico di condotta sul loro operato e sul modo con cui pubblicizzano i propri prodotti. E in particolare, in ambito di definizione di biostimolanti, EBIC ha contribuito attivamente alla stesura di quella che è attualmente presente nel Regolamento (UE) 2019/1009, coniugando da un lato le evidenze scientifiche e dall'altro le esigenze avanzate dal comparto industriale.

Inoltre, la definizione proposta può diventare un punto di riferimento per l'accettazione della categoria dei biostimolanti anche in normative extra comunitarie. A titolo di esempio si riporta il caso degli Stati Uniti d'America (USA), dove il 20 dicembre 2018, il cosiddetto *Agriculture Improvement Act of 2018*, conosciuto anche come il *2018 Farm Bill* è diventato legge (Farm Bill, 2018). Questo atto rappresenta un passo molto importante poiché per la prima volta, negli USA, è stato definito un biostimolante da un punto di vista normativo. Il *Farm Bill* del 2018 lo descrive come "una sostanza o un microrganismo che, quando applicato ai semi, alle piante o alla rizosfera, stimola i processi naturali per migliorare o stimolare l'assorbimento dei nutrienti, l'efficienza dei nutrienti, la tolleranza agli stress abiotici, la qualità delle colture o la resa". Inoltre, nel testo, era stato richiesto di presentare una relazione sullo stato regolatorio dei biostimolanti.
Nel 2019, quindi, l'USDA (Dipartimento di Agricoltura degli Stati Uniti) ha presentato il report, redatto in consultazione con l'EPA (l'agenzia per la protezione ambientale degli Stati Uniti) e altri *stakeholders*, al Congresso e al Presidente: il documento, oltre a descrivere l'attuale "dilemma" regolatorio sui biostimolanti e fornire alcune raccomandazioni di iniziative normative per dipanare la questione, propone due definizioni alternative. La prima va a specificare che se il biostimolante è una sostanza, essa può essere presente in natura o essere un suo equivalente derivato sinteticamente e che lo stimolo dei processi naturali può essere sia a livello di pianta che di suolo; inoltre non include tra i *claims* quelli relativi alla qualità e alla resa, ma ne menziona uno nuovo relativo al miglioramento delle caratteristiche del suolo come mezzo per la crescita vegetale (e per caratteristiche si intendono quelle fisiche, chimiche e/o biologiche). La seconda, invece, pone l'accento sull'effetto del biostimolante, che è indipendente dal suo contenuto di nutrienti, mantenendo i medesimi *claims* della definizione del 2018 (USDA, 2019).
Sempre nel 2019, l'EPA ha pubblicato una bozza di linee guida per i prodotti fitoregolatori e i loro *claim*, inclusi i prodotti biostimolanti. Questo documento, di recente aggiornato e inteso come documento "vivo", ha lo scopo di fornire maggiore chiarezza relativamente ai requisiti normativi attualmente previsti per questi prodotti a livello federale o statale, fornendo esempi sui prodotti da intendere come fitofarmaci o no e su come descrivere i loro effetti in etichetta (EPA, 2019 e successive revisioni).

2.3 CLASSIFICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI DELLE PIANTE

L'assenza ad oggi di un chiaro inquadramento normativo dei biostimolanti a livello internazionale (nonostante i grandi passi condotti di recente sia in Europa che negli USA) preclude la possibilità di classificare in modo univoco e dettagliato quelle sostanze e quei microrganismi che possono rientrare nel concetto di biostimolante. Tuttavia, ci sono delle categorie che sono generalmente accettate e riconosciute a vari livelli, anche quello scientifico e che sono state oggetto di alcune interessanti *review* (du Jardin, 2012; 2015; Calvo *et al*., 2014; Yakhin *et al*., 2017).
Secondo queste *review*, le principali categorie sono riconducibili alle seguenti tipologie di materiali: microrganismi (funghi e batteri benefici, inoculi microbici), sostanze

L'estratto contiene pagine non in sequenza

umiche (acidi umici e fulvici), composti azotati (proteine idrolizzate, aminoacidi, altri composti contenenti azoto), estratti di alghe e vegetali, chitosani e altri biopolimeri, composti inorganici.
Questo tipo di classificazione è basato su classi di composti o microrganismi e permette di avere una panoramica delle varie fonti dei biostimolanti attualmente presenti in commercio. Tuttavia, non tiene conto di altri fattori, quali ad esempio i processi industriali utilizzati per la loro produzione. Di difficile realizzazione sarebbe invece una classificazione basata sul "modo di azione" del biostimolante, non riconducibile ad una specifica molecola o alla modulazione di un unico processo nella pianta (Colla *et al.*, 2014).
È quindi importante che vi sia una definizione precisa per far sì che il mercato dei biostimolanti sia correttamente normato e che questa **definizione si basi su prove di efficacia**, la cui dimostrazione abbia un approccio olistico piuttosto che basarsi su uno specifico modo di azione. L'approccio olistico, infatti, si basa sull'azione che il biostimolante ha su una o più funzioni fisiologiche della pianta (funzioni supportate dai meccanismi cellulari) e che, complessivamente, ne determina il modo di azione. Allo stesso tempo, però, permette di misurare l'effetto "concreto" dell'azione a livello fisiologico, ovvero la funzione agronomica del biostimolante (l'aumento dell'efficienza d'uso dei nutrienti, la resistenza agli stress abiotici, il miglioramento dei tratti qualitativi, ecc.), funzione facilmente traducibile in termini economici e anche ambientali. Questo concetto è ben spiegato da du Jardin (2015), che riporta anche alcuni esempi. Se ad esempio si prende quello delle proteine idrolizzate, l'autore spiega che la funzione agronomica [o *claim* per riferirci alla definizione del Regolamento (UE) 2019/1009] di un idrolizzato enzimatico di erba medica è quella di aumentare la resistenza della pianta allo stress abiotico (nello specifico uno stress salino). Questa funzione ha sicuramente dei benefici economici per l'agricoltore (in questo caso ottenere una resa più alta in condizioni di campo stressanti), ma anche ambientali (per esempio, maggiore efficienza d'uso della superficie agricola). Andando a studiare l'effetto "macro" in campo, si può ipotizzare che esso derivi da una protezione dei flavonoidi contro danni ossidativi (la funzione fisiologica), in seguito alla stimolazione che l'idrolizzato enzimatico di erba medica ha avuto sull'enzima PAL (fenilalanina ammoniaca liasi), sull'espressione genica e sulla conseguente produzione di flavonoidi in condizione di stress salino, ovvero il meccanismo cellulare (Ertani *et al.*, 2013). Ciò non toglie che la ricerca scientifica debba continuare lo studio di questi prodotti, per poter spiegare sempre meglio da un lato gli effetti visibili in campo, dall'altro per approfondirne il modo di azione.

2.4 INQUADRAMENTO NORMATIVO DEI BIOSTIMOLANTI DELLE PIANTE

2.4.1 L'ATTUALE INQUADRAMENTO NORMATIVO IN ITALIA

I biostimolanti per uso agricolo in Italia rientrano nella categoria merceologica dei "fertilizzanti" e sono normati dal Decreto Legislativo 29 aprile 2010 n. 75 (D.Lgs. 75/2010). Vale la pena informare il lettore che, nel momento in cui gli autori hanno scritto questo capitolo, il D.Lgs. 75/2010 è in vigore nella forma in cui lo si conosce, aggiornato in alcune sue parti in seguito all'applicazione del Regolamento (UE) 2019/1009. Tuttavia, non è noto se, nel prossimo o lontano futuro, sarà soggetto ad una revisione più sostanziale per ottemperare ad alcune prescrizioni definite dal suddetto Regolamento.

2.4.1.1 *DEFINIZIONE NORMATIVA NAZIONALE*

I biostimolanti, ai sensi del D.Lgs. 75/2010, fanno parte della categoria dei «prodotti ad azione specifica», definiti come «i prodotti che apportano ad un altro fertilizzante o al suolo o alla pianta, sostanze che favoriscono o regolano l'assorbimento degli elementi

L'estratto contiene pagine non in sequenza

nutritivi o correggono determinate anomalie di tipo fisiologico, i cui tipi e caratteristiche sono riportati nell'Allegato 6» (D.Lgs. 75/2010).
Inoltre, per completezza d'informazione, relativamente ai "prodotti ad azione specifica", dell'allegato 6 sono presenti, oltre ai Prodotti ad azione su pianta (Cap. 4), categoria in cui rientrano i Biostimolanti (4.1), anche i "Prodotti ad azione su suolo (Cap. 3)" e su prodotto (Cap. 2) che, tuttavia, non rientrano fra i prodotti "biostimolanti" in senso stresso.

2.4.1.2 COMMERCIALIZZAZIONE E VIGILANZA DEI PRODOTTI IMMESSI SUL MERCATO

I biostimolanti vegetali in Italia, pertanto, rientrano nella categoria dei *prodotti ad azione specifica*.
Da un punto di vista qualitativo, ovvero dell'effetto del prodotto, al punto 4.1 dell'Allegato 6, in testa all'elenco delle "Denominazioni del tipo", è chiaramente scritto che «le proprietà biostimolanti sono dichiarabili solo per i prodotti sotto elencati. Per tali prodotti è obbligatorio descrivere in etichetta dosi di impiego e modalità d'uso. L'attività biostimolante non deve derivare dall'addizione di sostanze ad azione fitormonale al prodotto. Salvo approvazione della Commissione Tecnico-consultiva per i fertilizzanti di cui all'Art. 9[1], non è consentito dichiarare proprietà biostimolanti alle miscele dei prodotti di questa sezione con altri fertilizzanti». In generale i fertilizzanti immessi in commercio, inclusi i biostimolanti, sono sottoposti al controllo per l'accertamento della conformità alle disposizioni deli Regolamento (CE) n. 2003/2003 (abrogato il 15 luglio 2022 dal Regolamento (UE) 2019/1009) e del D.Lgs. 75/2010 (Art. 6, comma 1 "Norme per il controllo delle caratteristiche").
Da un punto di vista della sicurezza, è bene sottolineare che per i biostimolanti, così come per qualsiasi tipologia di fertilizzante inserita nel D.Lgs. 75/2010, deve essere soddisfatta la clausola di salvaguardia (enunciata nell'Art. 5) per cui i prodotti immessi sul mercato non possono rappresentare alcun rischio per la sicurezza o la salute delle persone, degli animali o delle piante ovvero un rischio per l'ambiente o per la pubblica sicurezza. Nel caso l'autorità italiana ravvedesse la necessità, sempre secondo il suddetto Art. 5, essa può vietare o subordinare a condizioni particolari la circolazione e l'immissione sul mercato del fertilizzante che rappresenta un tale rischio e informa immediatamente gli altri Stati membri e la Commissione europea, motivando la sua decisione.
Il fabbricante, ai sensi del comma 1, articolo 8 "Tracciabilità" del D.Lgs. 75/2010, prima dell'immissione in commercio del fertilizzante, convenzionale e/o consentito in agricoltura biologica, deve provvedere a richiedere l'iscrizione al Registro dei fabbricanti e all'iscrizione dei prodotti, compresi quelli biostimolanti, nei rispettivi Registri dei fertilizzanti istituiti presso il Ministero competente. Mentre nel passato questa registrazione avveniva attraverso l'invio della domanda in forma cartacea, con il Decreto Ministeriale 17 luglio 2012, n. 11175, sono stati modificati gli allegati 13 e 14 nell'ottica della semplificazione delle procedure e in sostituzione delle domande cartacee, definendo una procedura informatica con la quale i Fabbricanti di fertilizzanti effettuano la richiesta di iscrizione dei prodotti online. Nel luglio del 2015, il Registro dei fertilizzanti è diventato online nell'area di consultazione del SIAN (Sistema Informativo Agricolo Nazionale). È così possibile accedere a tutte le informazioni relative al prodotto e al suo fabbricante, sia

[1] Nonostante nelle varie revisioni del D.Lgs. 75/2010 questo articolo sia rimasto invariato, vale la pena informare che la revisione della spesa pubblica attuata nel 2012 ha di fatto soppresso questa Commissione e le attività che svolgeva sono state trasferite all'ufficio di competenza del Ministero. Successivamente, nel 2016 con un decreto, l'allora Ministro ha istituito un organo collegiale nominato "Gruppo di lavoro permanente per la protezione delle piante", suddiviso in varie sezioni, tra cui quella "fertilizzanti", costituita da 20 rappresentanti delle Istituzioni competenti e delle associazioni di categoria interessate. Seppur non definito chiaramente nel Decreto, questo gruppo di lavoro assolve le funzioni prima coperte dalla Commissione tecnico-consultiva.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

per i fertilizzanti ad uso convenzionale, sia per quelli ad uso biologico. Nel registro sono presenti i soli prodotti fertilizzanti nazionali, inclusi quindi i biostimolanti. Il registro online rappresenta indubbiamente uno strumento molto utile a vari livelli; garantisce trasparenza soprattutto all'utilizzatore finale che, in qualsiasi momento, può verificare se un prodotto è realmente registrato presso il Ministero e se le caratteristiche pubblicizzate coincidono con quelle previste dalla normativa. Così come permette di verificare in tempo reale se un prodotto è consentito in agricoltura biologica.
Con recente Decreto 10 ottobre 2022 del Mipaaf, la procedura di iscrizione dei prodotti nei registri è stata sostanzialmente modificata nei seguenti punti:

- il fabbricante, per completare la registrazione online, è tenuto ad allegare per ogni prodotto, oltre alla descrizione del processo produttivo e all'elenco delle materie prime, già previsti in passato, un certificato di analisi per i titoli e gli elementi previsti dalla corrispondente denominazione del tipo, il numero di registrazione e il numero di riconoscimento ai sensi del Regolamento (CE) 1069/2009 (se previsti), la dichiarazione di non addizione intenzionale di prodotti fitosanitari, i dati riportati nell'etichetta del prodotto che verrà posto in commercio e/o nel documento di accompagnamento in lingua italiana;
- è vietato l'utilizzo di termini che fanno riferimento ad azioni fitosanitarie o biocide, sia nel nome del prodotto, che nell'etichetta o nelle schede tecniche e/o informative;
- l'inserimento nei registri non sarà più successivo alla verifica da parte del Ministero delle informazioni fornite dal fabbricante, ma sarà in forma di autocertificazione, le quali saranno successivamente controllate a campione dal Ministero in una percentuale tra il 5 ed il 15% del totale delle domande presentate.

La normativa nazionale sui fertilizzanti è basata su "Denominazione del tipo", così come lo era il Regolamento (CE) n. 2003/2003. Questo significa che i prodotti, per essere immessi sul mercato, devono rispettare i requisiti di una specifica denominazione, in termini di modo di preparazione, componenti essenziali, titoli minimi garantiti e devono presentare in etichetta le indicazioni previste per quella denominazione. Qualora un fabbricante avesse sviluppato un nuovo prodotto, le cui caratteristiche non si riflettono in nessuna delle denominazioni del tipo esistenti, può richiedere l'inserimento di un nuovo fertilizzante o le modifiche degli allegati, come recita l'Art. 10: "1. All'inserimento di nuovi concimi nazionali, ammendanti, correttivi, substrati di coltura, matrici organiche, prodotti ad azione specifica, rispettivamente negli allegati 1, 2, 3, 4, 5 e 6, alla definizione di nuovi tipi di fertilizzanti ed alle altre modifiche degli allegati 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 si provvede con decreto del Ministro delle politiche agricole alimentari e forestali, previo parere della Commissione Tecnico-consultiva per i fertilizzanti di cui all'articolo 9.2. La domanda di inserimento di nuovi prodotti o la richiesta di definizione di nuovi tipi deve essere inoltrata al Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali (Mipaaf), ora Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste (Masaf), corredata della necessaria documentazione tecnica, di cui all'allegato 10, nonché della specifica indicazione dei metodi di analisi. I metodi di analisi presentati a corredo della domanda devono essere esaminati dalla Commissione di cui all'articolo 44 della legge 20 febbraio 2006, n. 82, al fine di verificarne l'applicabilità al prodotto in corso di inserimento e iniziare o meno l'attività necessaria per la successiva ufficializzazione".
Le "Misure di controllo" dei prodotti immessi sul mercato sono attuate dall'ICQRF (Ispettorato centrale della tutela della qualità e della repressione frodi dei prodotti agroalimentari), che fa capo al Ministero delle politiche agricole alimentari, forestali (Mipaaf), ora Masaf, così come prevede l'Art.11. del D.Lgs. 75/2010: «1. L'attività di vigilanza sull'applicazione delle disposizioni del presente decreto è esercitata dal Dipartimento dell'ispettorato centrale della tutela della qualità e repressione frodi dei prodotti agro-

L'estratto contiene pagine non in sequenza

alimentari (ICQRF) del Ministero delle politiche agricole alimentari, forestali e del turismo (ora Masaf e, secondo i principi dello sportello unico di cui all'articolo 4, comma 58, della legge 24 dicembre 2003, n. 350, dall'Agenzia delle dogane che accerta le violazioni al presente decreto, esercitando i poteri e le facoltà attribuiti dal Regolamento (CEE) n. 2913 del Consiglio, del 12 ottobre 1992, che istituisce un codice doganale comunitario e dal testo unico delle disposizioni legislative in materia doganale, approvato con decreto del Presidente della Repubblica 23 gennaio 1973, n. 43 (TULD). A tale fine, il Dipartimento dell'ispettorato centrale della tutela della qualità e repressione frodi dei prodotti agro-alimentari e l'Agenzia delle dogane utilizzano le risorse umane, finanziarie e strumentali disponibili a legislazione vigente».
Infine, per quanto concerne le sanzioni da irrogare nel caso che i prodotti in commercio non siano conformi, l'Art. 12 del D.Lgs. 75/2010 recita: «1. Salvo che il fatto costituisca reato, chiunque produce o immette sul mercato fertilizzanti non compresi nel Regolamento. (CE) n. 2003/2003 (abrogato il 15 luglio 2022 dal Regolamento (UE) 2019/1009), nel presente decreto e nei suoi allegati e nella legislazione vigente nel Paese dell'Unione europea di produzione, è punito con la sanzione amministrativa pecuniaria da seimila euro a trentamila euro».
L'autorità competente ad irrogare le sanzioni amministrative indicate all'articolo 12 (e riportate nell'Art. 13.) è il Dipartimento dell'Ispettorato centrale della tutela della qualità e repressione frodi dei prodotti agro-alimentari del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali, ora Masaf, che provvede utilizzando a tale fine le risorse umane, finanziarie e strumentali disponibili a legislazione vigente e senza nuovi o maggiori oneri per il bilancio dello Stato. Si applicano le disposizioni di cui alla legge 24 novembre 1981, n. 689, e le relative norme di attuazione.

2.4.1.3 *I PRODOTTI BIOSTIMOLANTI IN ITALIA*

In Italia, già dalla fine degli anni '90, nell'ambito dell'allora Commissione Tecnico-consultiva per i fertilizzanti (ex Art. 10 della legge 19 ottobre 1984 n. 748), ha avuto inizio il percorso di regolamentazione dei prodotti fertilizzanti, con la trattazione dell'argomento in un gruppo *ad hoc*, finalizzato all'inserimento in legge di prodotti compresi i "biostimolanti" per uso agricolo. I lavori sono proseguiti intensamente per oltre un quinquennio, incontrando numerosi oggettivi ostacoli da superare, in primis la parte analitica di caratterizzazione fisico-chimica e microbiologica, fino ad arrivare a metà anni duemila all'inserimento in legge di alcune importanti tipologie di prodotti (liquidi e solidi).
Per tali prodotti biostimolanti, sin da subito, la Commissione Tecnico-consultiva per i fertilizzanti, conscia delle loro peculiarità e dei loro effetti non comparabili con altre categorie più diffuse di prodotti (quali concimi, ammendanti, correttivi, ecc.) ha reso obbligatorio descrivere in etichetta dosi e modalità d'uso, informazioni peraltro non richieste obbligatoriamente per tutte le altre tipologie di fertilizzanti. Si tratta di una prescrizione quanto mai opportuna perché il risultato agronomico, trattandosi di prodotti applicati in quantità molto modeste per ettaro, risente molto dei tempi e delle modalità d'impiego, soprattutto perché l'effetto biostimolante non è legato all'apporto degli elementi nutritivi (Ertani *et al*., 2009; du Jardin, 2012; Cavani *et al*., 2017).
Ad oggi, i prodotti che hanno i requisiti per potere essere commercializzati ai sensi del D.Lgs. 75/2010 e quindi che possono dichiarare in etichetta "Il prodotto presenta proprietà biostimolanti" sono dieci (Tab. 2.1), precisamente con le seguenti "Denominazioni del tipo":

1. Idrolizzato proteico di erba medica;
2. Epitelio animale idrolizzato (solido o fluido);
3. Estratto liquido di erba medica, alghe e melasso;

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Tabella 2.1 | Elenco dei prodotti che presentano attività biostimolante ai sensi dell'Allegato 6 del D.Lgs. 75/2010.

N.	Denominazione del tipo	Modo di preparazione e componenti essenziali	Titolo minimo in elementi e/o sostanze utili. Criteri concernenti la valutazione. Altri requisiti richiesti
1	2	3	4
1.	**Idrolizzato proteico di erba medica**	Prodotto ottenuto per idrolisi enzimatica di un estratto proteico di erba medica a base di aminoacidi e peptidi	15% C organico 4,5% N organico 28% aminoacidi totali 3,5% aminoacidi liberi
2.	**Epitelio animale idrolizzato (solido o fluido)**	Residui di epitelio animale provenienti da concerie e da macelli, idrolizzati con acidi minerali	4% N Azoto valutato come azoto organico di cui almeno 1% azoto organico solubile 15% C organico Rapporto C/N: non superiore a 6
3.	**Estratto liquido di erba medica, alghe e melasso**	Prodotto ottenuto per reazione tra l'estratto di erba medica, l'estratto di alghe *Ascophyllum nodosum* e il melasso di barbabietola	Azoto organico 1% Carbonio organico 10% Ossido di potassio 6% Betaine (Sommatoria di glicinbetaina + betaina dell'acido γ-amminobutirrico + betaina dell'acido δ-amminovalerico) 1%
4.	**Estratto solido di erba medica, alghe e melasso**	Prodotto ottenuto per reazione tra l'estratto di erba medica, l'estratto di alghe *Ascophyllum nodosum* e il melasso di barbabietola	Carbonio organico 2% Ossido di potassio 1,5% Betaine (Sommatoria di glicinbetaina + betaina dell'acido γ-amminobutirrico + betaina dell'acido δ-amminovalerico) 0,2%
5.	**Estratto acido di alghe della Famiglia *Fucales***	Prodotto ottenuto per estrazione di alghe della Famiglia *Fucales* in soluzione acquosa acida	Sostanza secca: 4÷9% pH 5,0÷7,0 4% C organico sul secco 1% N organico sul secco 2% K_2O sul secco 2% SO_3 sul secco 5,5% Glicina-betaina sul secco
6.	**Inoculo di funghi micorrizici**	Riproduzione in condizioni di sterilità di inoculi di funghi endomicorrizici su radici di sorgo, in substrato formato da ammendante organico e da batteri della rizosfera	(1) Funghi endomicorrizici capaci di formare punti di ingresso nelle radici della pianta ospite ≥ 30% (2) Batteri (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* spp.) ≥ 5 x 106 unità formanti colonie
7.	**Idrolizzato enzimatico di *Fabaceae***	Prodotto ottenuto per idrolisi enzimatica di tessuti vegetali appartenenti alla famiglia delle *Fabaceae*	5% aminoacidi totali 1,5% aminoacidi liberi 30% grado di idrolisi

L'estratto contiene pagine non in sequenza

	Altre indicazioni concernenti la denominazione del tipo 5	Elementi utili e/o sostanze utili il cui titolo deve essere dichiarato. Caratteristiche diverse da dichiarare. Altri requisiti richiesti 6	Note 7
	---	C organico N organico Aminoacidi totali Aminoacidi liberi	Il rapporto (*Alanina + Glicina*)/(*Prolina + acido glutammico*) non deve discostarsi sensibilmente dall'unità.
	---	Azoto organico Azoto organico solubile C organico Rapporto C/N	Peso molecolare medio degli idrolizzati proteici. Rapporto glicina/(prolina+idrossiprolina) = 1,1 Grado di idrolisi sul secco>330 Aminoacidi liberi > 10%
	---	Azoto organico Carbonio organico Ossido di potassio Betaine	Il prodotto favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi
	---	Carbonio organico Ossido di potassio Betaine	Il prodotto favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi
	---	Sostanza secca pH C organico sul secco N organico sul secco K_2O sul secco SO_3 sul secco Glicina-betaina sul secco 0,06 mg/kg Isopenteniladenina e suoi derivati sul secco	Il prodotto presenta proprietà biostimolanti
	---	Matrice organica, micorrize, batteri della rizosfera, trichoderma	Il prodotto non deve contenere organismi geneticamente modificati ed organismi patogeni quali salmonella, coliformi fecali, mesofili aerobici e uova di nematodi
	---	Aminoacidi totali Aminoacidi liberi Grado di idrolisi	Il prodotto presenta attività biostimolanti Contenuto in triacontanolo di origine naturale pari ad almeno 6 mg/kg

L'estratto contiene pagine non in sequenza

N. 1	Denominazione del tipo 2	Modo di preparazione e componenti essenziali 3	Titolo minimo in elementi e/o sostanze utili. Criteri concernenti la valutazione. Altri requisiti richiesti 4
8.	**a) Filtrato di crema di alghe**	Prodotto ottenuto per diluizione al minimo al 10% in ambiente acquoso del filtrato di crema di alghe marine *Ascophillum nodosum*	C organico 1,7% Mannitolo 7,0 g/L
	b) Soluzione di filtrato di crema di alghe	Prodotto ottenuto per diluizione al minimo al 10% in ambiente acquoso del filtrato di crema di alghe marine *Ascophillum nodosum*	C organico 0,2% Mannitolo 0,7 g/L
9.	**Estratto umico di leonardite**	Prodotto fluido ottenuto per estrazione di leonardite	C umico sul tal quale 6% C fulvico sul tal quale 1,5% Grado di umificazione 80% Azoto organico sul secco 0,7% Rapporto C/N 40
10.	**Estratto fluido azotato a base di alga *Macrocystis Integrifolia***	Prodotto ottenuto per estrazione a freddo in acqua di alghe *Macrocystis Integrifolia*	N organico 0,2% C organico 0,7% Rapporto C/N 3,5

4. Estratto solido di erba medica, alghe e melasso;
5. Estratto acido di alghe della Famiglia "*Fucales*";
6. Inoculo di funghi micorrizici;
7. Idrolizzato enzimatico di "*Fabaceae*";

8a. Filtrato di crema di alghe; 8b. Soluzione di filtrato di crema di alghe;

9. Estratto umico di leonardite;
10. Estratto fluido azotato a base di alga *Macrocystis integrifolia*, le cui specifiche complete sono riportate in dettaglio nella tabella 2.2.

Questa lista non è chiusa e sarà aggiornata e ampliata ogni qualvolta che il Masaf, esperita la parte tecnica, di concerto con gli altri dicasteri interessati, darà parere positivo all'inserimento di un nuovo prodotto.
Per ciascuna "Denominazione del tipo", vi sono alcune indicazioni e caratteristiche fisico-chimiche che devono possedere i prodotti biostimolanti per potere essere posti in commercio e che nello specifico riguardano:

a) il modo di preparazione e le componenti essenziali,
b) il titolo minimo in elementi e/o sostanze utili,

L'estratto contiene pagine non in sequenza

	Altre indicazioni concernenti la denominazione del tipo 5	Elementi utili e/o sostanze utili il cui titolo deve essere dichiarato. Caratteristiche diverse da dichiarare. Altri requisiti richiesti 6	Note 7
	---	C organico Mannitolo	Il prodotto presenta proprietà biostimolanti e favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi.
	---	C organico Mannitolo	Il prodotto presenta proprietà biostimolanti e favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi. Possono essere addizionati microelementi. Indicare in etichetta la dose da utilizzare ai fini del controllo analitico dell'attività biostimolante del prodotto.
	---	C umico sul tal quale C fulvico sul tal quale Grado di umificazione Azoto organico sul secco Rapporto C/N Rapporto isotopico del C (δ ^{3}C ‰)	Il C umico e fulvico si determinano per assorbimento selettivo su supporti cromatografici (es. polivinilpirrolidone). Per accertare la provenienza è ammesso l'uso di metodi diisoelettrofocalizzazione. Il prodotto presenta proprietà biostimolanti. Indicare in etichetta la dose da utilizzare ai fini del controllo analitico dell'attività biostimolante del prodotto
		N organico C organico pH (10% p/v in acqua)	Il prodotto presenta proprietà biostimolanti. È consentita la dichiarazione di δ13C È consentita la dichiarazione di δ15N È consentita la dichiarazione di δ34S

c) i criteri concernenti la valutazione ed altri requisiti richiesti,
d) altre indicazioni concernenti la denominazione del tipo, elementi oppure sostanze utili il cui titolo deve essere dichiarato,
e) caratteristiche diverse da dichiarare, altri requisiti richiesti e
f) eventuali note.

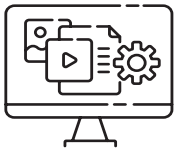
Pertanto, oggi, solo per queste dieci "Denominazioni del tipo" è possibile dichiarare le proprietà biostimolanti, le quali peraltro non devono in alcun modo derivare dall'aggiunta esterna, quindi deliberata, di sostanze ad azione fitormonale.
L'etichetta del prodotto, fondamentale per garantire le informazioni necessarie all'utilizzatore finale, deve essere redatta dal fabbricante (e soggetta a controlli dell'ICQRF) in conformità a quanto richiesto nel paragrafo 8 dell'Allegato 8 del D.Lgs. 75/2010 per i prodotti ad azione specifica (All. 6) e nei paragrafi 1 e 10 del medesimo Allegato, valido per tutti i prodotti fertilizzanti. In particolare, per questa tipologia di fertilizzanti, sulla confezione, in lettere maiuscole, è obbligatoria l'indicazione "PRODOTTO AD AZIONE SPECIFICA".
Alcuni prodotti biostimolanti sono presenti anche nella tabella 1 dell'allegato 13 del D.Lgs. 75/2010, che contiene l'elenco dei fertilizzanti idonei all'uso in agricoltura biologi-

L'estratto contiene pagine non in sequenza

7 Biostimolanti a base di funghi micorrizici arbuscolari: potenzialità in agricoltura

Laura Ercoli, Marco Nuti, Elisa Pellegrino

7.1 INTRODUZIONE



I funghi micorrizici arbuscolari (denominati comunemente AMF, *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) sono microrganismi di fondamentale importanza ecologica ed agraria. Essi danno luogo ad associazioni simbiotiche stabili con le radici di circa il 67% delle specie vegetali terrestri (Bueno *et al*., 2019) a formare olobionti (organismi formati da pianta e microrganismi) tra i più antichi noti in natura. Le piante ospiti e i funghi simbionti interagiscono producendo benefici reciproci: i funghi colonizzano le radici e ottengono carbonio (C) fotosinteticamente fissato (dal 4% al 20% dei fotosintetati), sotto forma di lipidi e zuccheri, che non sono in grado di sintetizzare, e le piante ricevono i nutrienti minerali assorbiti e traslocati dalla grande rete ifale extraradicale che si diffonde dalle radici micorriziche nel suolo circostante.

7.2 DISTRIBUZIONE

In termini evolutivi, i funghi AM rappresentano un grande successo, poiché le prime piante terrestri con associazioni endofitiche paragonabili alle micorrize arbuscolari risalgono al Devoniano inferiore (400 milioni di anni fa) (Bundrett, 2002). Inoltre, la loro presenza è stata documentata, attraverso i primi fossili di spore e sequenze di DNA, nell'Ordoviciano, e cioè circa 460 milioni di anni fa (Redecker *et al.*, 2000). Durante centinaia di milioni di anni, le simbiosi con funghi AM hanno influenzato l'evoluzione della morfologia e fisiologia delle radici delle piante e, a loro volta, i funghi AM si sono evoluti in modo che le loro caratteristiche ecologiche e fisiologiche sono diventate sempre più strettamente intrecciate con le funzioni delle radici delle piante. Nel corso dell'evoluzione dei funghi AM, la simbiosi è diventata non solo adattativa, ma obbligatoria poiché questi funghi hanno perso la loro capacità di acquisire C organico senza la partnership con piante viventi. I funghi AM sono infatti considerati biotrofi obbligati poiché non sono in grado di svilupparsi in assenza di una pianta ospite. Le simbiosi pianta/fungo AM sono dunque asimmetriche; le piante possono sopravvivere anche senza il fungo, ma il fungo non si sviluppa senza la pianta ospite.
I funghi AM sono ampiamente diffusi e sono distribuiti nelle zone climatiche polari, boreali, tropicali e temperate, nelle tundre artiche, nelle praterie e foreste tropicali, nella macchia mediterranea e negli ecosistemi desertici, come evidenziato nello studio di Opik *et al.* (2013). La simbiosi con funghi AM si osserva all'interno di tutti i *phyla* delle piante terrestri e nella maggior parte delle famiglie, ad eccezione delle specie appartenenti alle famiglie *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae* e *Cyperaceae* ed ai generi *Oenanthe* (*Apiaceae*) e *Astragalus* (*Fabaceae*). Le più importanti piante coltivate temperate e tropicali formano micorrize arbuscolari: i cereali, incluso riso, mais, orzo, frumento; la maggior parte dei legumi; la maggior parte degli alberi da frutto, incluso agrumi, pesco, vite, olivo; la

L'estratto contiene pagine non in sequenza

maggior parte delle specie ortive, come cipolla, fragola, pomodoro, patata e altre specie economicamente importanti come girasole, manioca, cotone, canna da zucchero, tabacco, caffè, tè, cacao, gomma, palma da olio e banano.
I simbionti fungini AM appartengono al *phylum* Glomeromycota (Redecker *et al*., 2013; http://www.amf-phylogeny.com). All'interno di tale *phylum* sono comprese 347 specie caratterizzate morfologicamente, appartenenti a 5 ordini e 13 famiglie (Fig. 7.1). Le specie di funghi AM hanno un'elevata variabilità funzionale, oltre che morfologica.

7.3 SVILUPPO E STRUTTURA DELLA SIMBIOSI

I funghi AM sono endosimbionti che colonizzano le cellule interne della corteccia radicale, formando strutture subcellulari ramificate note come arbuscoli, per lo scambio di nutrienti tra fungo e pianta, e vescicole, per l'accumulo di sostanze di riserva. Il ciclo vitale dei funghi AM è costituito da una sequenza di eventi che si verificano a partire dalla germinazione delle spore fino alla formazione di un'estesa rete ifale nel suolo (micelio extraradicale). Lo sviluppo del fungo può essere diviso in tre fasi principali (Fig. 7.2). La prima fase, presimbiotica, è costituita dalla germinazione delle spore, dalla crescita e ramificazione del micelio con il riconoscimento reciproco tra fungo e pianta attraverso lo scambio di segnali chimici, e dalla formazione di strutture infettive, gli appressori o ifopodi, che consentono l'adesione del fungo alla superficie delle radici e il passaggio all'interno tramite strutture chiamate punti di ingresso. La seconda fase, simbiotica, è data dallo sviluppo del fungo

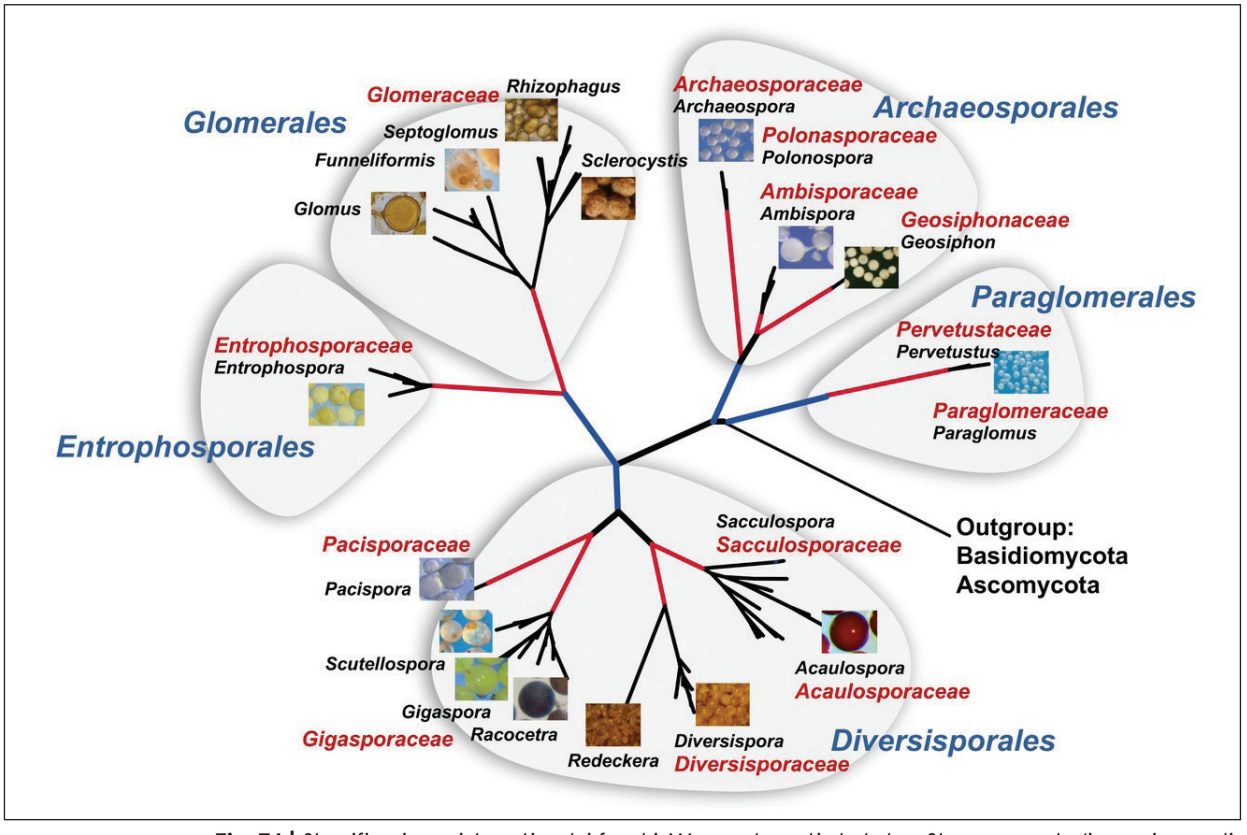


Fig. 7.1 | Classificazione sistematica dei funghi AM appartenenti al *phylum* Glomeromycota (immagine modificata di Arthur Schüβler).

L'estratto contiene pagine non in sequenza

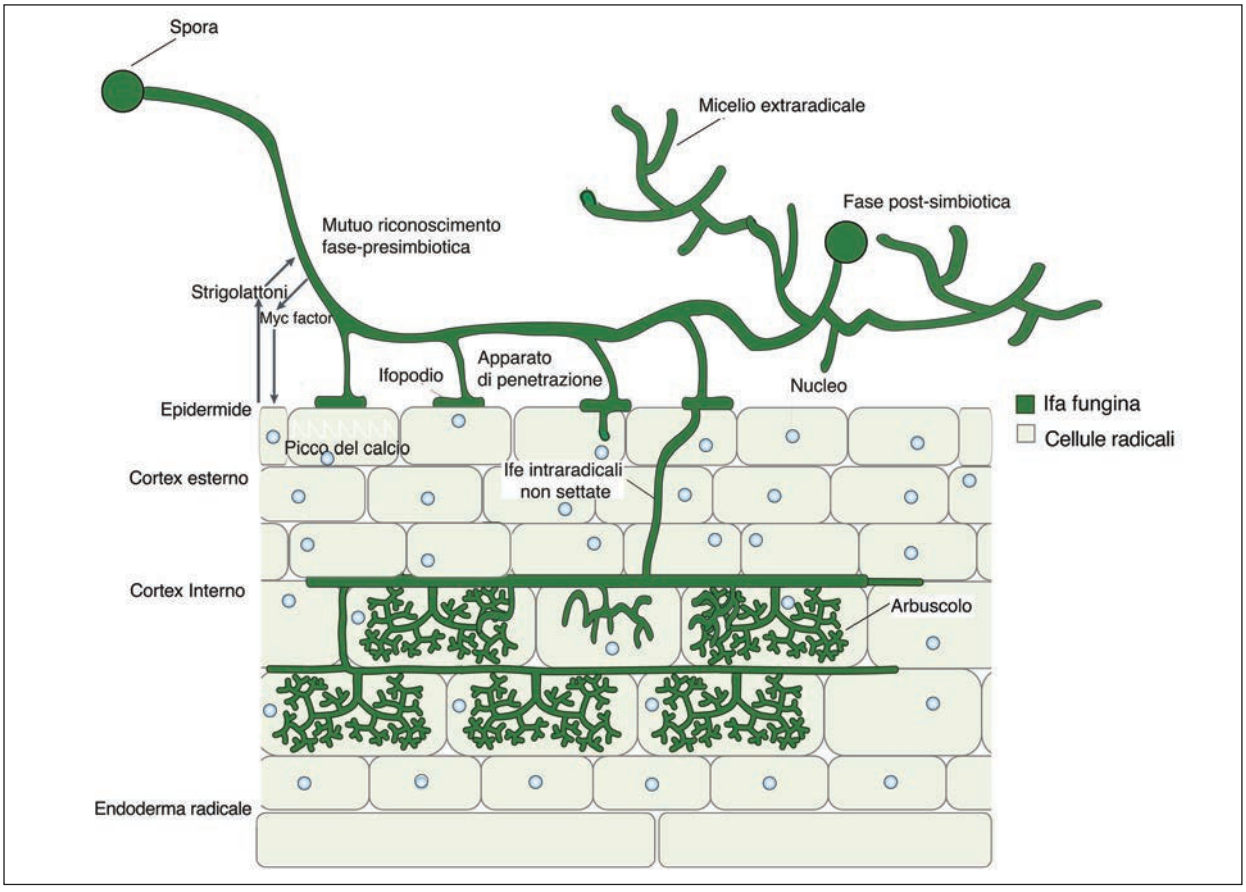


Fig. 7.2 | Sviluppo del fungo AM e scambio di segnali pianta ospite e fungo. Le radici delle piante sintetizzano ormoni (strigolattoni) che inducono la germinazione delle spore e la ramificazione delle ife. I funghi producono oligomeri di chitina a catena corta, che sono riconosciuti dalla pianta ospite e inducono oscillazioni del calcio nelle cellule epidermiche delle radici avviando l'instaurarsi della simbiosi. Dopo il riconoscimento del fungo, le cellule radicali producono un apparato di pre-penetrazione e le ife fungine possono entrare nella radice e formare gli arbuscoli (fase simbiotica). Successivamente si ha la fase post-simbiotica con lo sviluppo del micelio extraradicale.

all'interno della radice e dalla formazione di arbuscoli e vescicole, processi essenziali per drenare carbonio organico dall'ospite e fornire nutrienti all'ospite. Successivamente, nella terza fase, post-simbiotica, il micelio cresce al di fuori delle radici producendo grandi reti miceliali che esplorano l'ambiente circostante e assorbono nutrienti e acqua dal suolo. Il fungo completa il suo ciclo di vita mediante la formazione di nuove spore. Strutture caratteristiche dei funghi AM sono gli arbuscoli e le vescicole, entrambe intraradicali, le spore che si sviluppano nel suolo, con l'unica eccezione della specie *Rhizophagus intraradices* che può formare spore anche all'interno delle radici, ed il micelio extraradicale nel suolo. Il micelio extraradicale può anche collegare piante diverse.

Gli arbuscoli costituiscono il sito di scambio all'interno della radice di acqua e nutrienti, mentre le vescicole sono strutture simili a spore, formate all'interno della corteccia radicale, contenenti globuli lipidici, e per questo considerati organi di riserva. Le spore sono organi di riproduzione asessuata e multinucleate, presenti sia singolarmente che aggregate, in funzione della specie o *isolato fungino* (intendendo con questo termine una popolazione fungina omogenea derivante da un singolo isolamento). Le spore differiscono

L'estratto contiene pagine non in sequenza

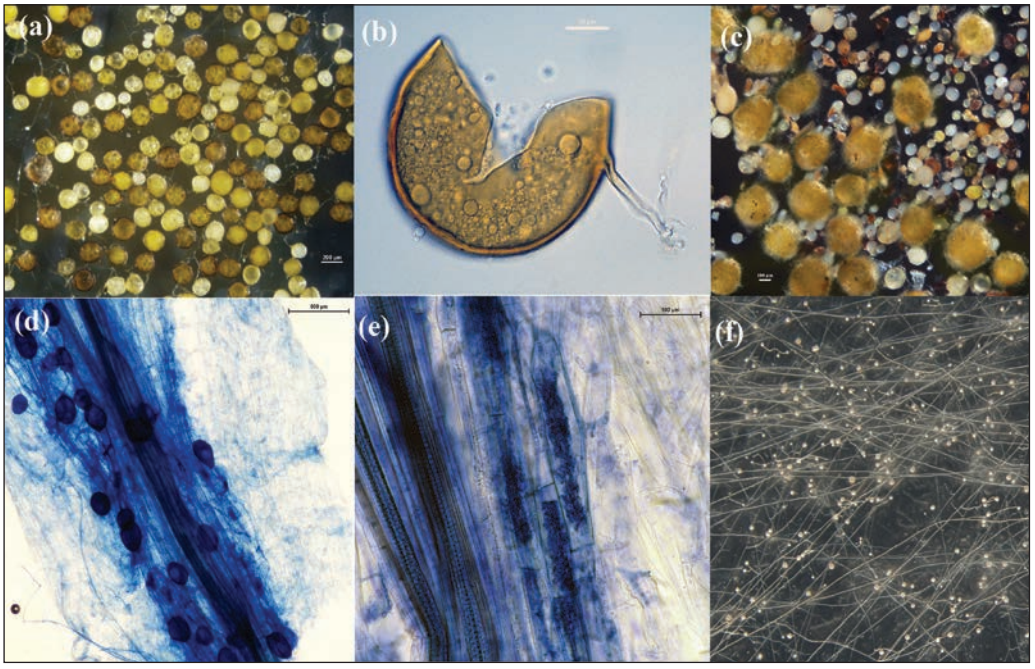


Fig. 7.3 | Spore di *Funneliformis mosseae* IT0201 isolato in terreni coltivati con frumento tenero presso il Centro di Ricerca Interdipartimentale Enrico Avanzi dell'Università di Pisa e depositato presso *The International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (INVAM) (https://invam.ku.edu/it201) (a); immagine di una spora di *F. mosseae* IT201 (b); spore di funghi AM estratte da suoli agrari: sono visibili sporocarpi di *Funneliformis* spp. e spore appartenenti a diverse specie (c); radici colonizzate con vescicole e spore intraradicali (d); radici colonizzate con arbuscoli (e); micelio extraradicale di *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 cresciuto *in vitro* su radici di *Medicago truncatula* (f).

per caratteristiche morfologiche, vale a dire forma, colore, dimensione, parete e struttura dell'ifa sottesa, presenza di sporocarpo, modalità di germinazione, ontogenesi e modalità di infezione – tutte caratteristiche che sono state usate per descrivere, differenziare ed identificare tassonomicamente i diversi funghi AM. In figura 7.3 sono riportate immagini di spore di funghi MA, di radici colonizzate con ife intraradicali, arbuscoli e vescicole e di micelio extraradicale.

Attraverso la fotosintesi, le piante sfruttano l'energia solare per sintetizzare molecole organiche da CO_2, acqua e minerali. La simbiosi con funghi AM incrementa la capacità adattativa delle piante che vivono in terreni carenti di elementi nutritivi perché i funghi forniscono alle piante elementi limitanti a bassa mobilità, come il fosforo sottoforma di ione fosfato (Marschner e Dell, 1994). Invece, le piante che vivono in terreni ricchi di nutrienti hanno meno da guadagnare dalle simbiosi con funghi AM; di conseguenza, la maggior parte dei taxa vegetali sono micotrofi facoltativi e regolano il loro grado di dipendenza dalle micorrize per integrare le condizioni ambientali del suolo (Graham e Eissenstat, 1994).

7.4 EFFETTI DEI FUNGHI AM SULLE COLTURE E SUL SUOLO

Le simbiosi con funghi AM svolgono un ruolo fondamentale per la produttività delle colture, la fertilità del suolo ed il mantenimento della stabilità, della biodiversità ed il funzionamento negli agroecosistemi (Fig. 7.4). I funghi AM sono infatti considerati strumenti utili a migliorare i processi funzionali che supportano la produzione agricola e riducono

L'estratto contiene pagine non in sequenza

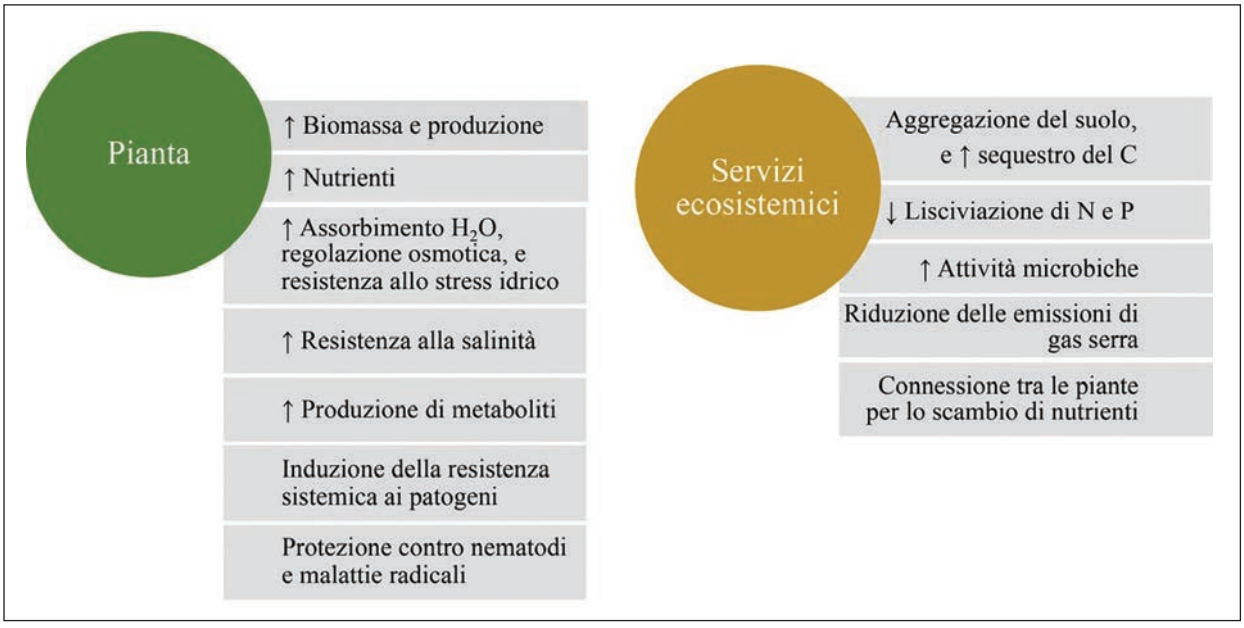


Fig. 7.4 | Panoramica dei potenziali benefici dei funghi AM sulla pianta e sui servizi ecosistemici.

gli input di risorse esterne. Molti esperimenti in laboratorio e in campo hanno analizzato la risposta delle colture all'inoculazione con funghi AM, mostrando che la biomassa e l'assorbimento di nutrienti possono differire notevolmente a seconda della specie vegetale e delle caratteristiche pedoclimatiche. La valutazione dei benefici agronomici nelle diverse colture è stata supportata da misure di abbondanza del fungo, come la conta delle spore e la colonizzazione intraradicale. Inoltre, la diversità della comunità fungina AM nel suolo e nelle radici e l'espressione di geni associati a parametri funzionali nelle piante e nel fungo (ad es. assorbimento di nutrienti) sono attualmente utilizzati per spiegare le interazioni meccanicistiche tra fungo AM e coltura, e quindi la risposta dell'ospite.

7.4.1 CRESCITA E PRODUZIONE

In una recente meta-analisi eseguita su 419 prove indipendenti sulla maggior parte della specie coltivate è stato evidenziato che la colonizzazione radicale nelle piante inoculate con funghi AM è mediamente aumentata del 30% rispetto alle piante non inoculate (Chandrasekaran, 2020). Anche la crescita e la biomassa totale delle piante inoculate con funghi AM erano superiori di circa il 30% (Chandrasekaran, 2020; Delavaux e*t al*., 2017). Questi risultati confermano i risultati di Lekberg e Koide (2005), che riportano incrementi di produzione e biomassa totale del 23% e 57%. Secondo Treseder (2013), l'indicatore dell'attività fungina AM e quindi dei potenziali benefici per la pianta ospite è la variazione della percentuale di colonizzazione delle radici in seguito all'inoculazione. Le dicotiledoni mostrano una maggiore riposta di crescita (35%) rispetto alle monocotiledoni (19%) e tra piante perenni ed annuali, le perenni hanno maggiori incrementi (38% *vs* 25%) (Chandrasekaran, 2020). Le colture erbacee sono quelle che rispondono meglio in termini di crescita (+54%) e la famiglia delle *Fabaceae* è quella che mostra un beneficio superiore (+48%), rispetto a *Malvaceae*, *Solanaceae* e *Poaceae*. All'interno delle *Poaceae*, l'inoculazione in pieno campo del frumento ha portato, mediando le risposte a livello globale, ad incrementi di produzione di granella del 20% (Pellegrino *et al*., 2015). In suoli sabbiosi, il beneficio dell'ospite in termini di biomassa per unità di incremento di colo-

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Tabella 7.1 | Sintesi dei risultati di alcuni studi sperimentali di campo sugli effetti dell'inoculazione con funghi micorrizici arbuscolari (AMF) su alcune colture erbacee di pieno campo di interesse agrario.

Coltura	Descrizione dell'esperimento	Tipo di inoculo e metodo di distribuzione	Effetto dell'inoculazione		Riferimento bibliografico
			Colonizzazione radicale	Crescita e resa	
Graminacee					
Frumento tenero	Meta-analisi	Specie appartenenti a *Glomeraceae* e *Gigasporaceae* e *Claroideoglomeraceae*; inoculi singoli e misti	Incremento proporzionale alla resa	Incremento della resa del 20%	Pellegrino *et al*., 2015
	Terreno argilloso: 11 vecchi genotipi e una varietà moderna (Blasco)	*Rhizophagus irregularis* DAOM197198 spore e attapulgite (carrier) incorporati nel suolo in presemina (6,8 g m^{-2}, 3444 spore m^{-2})	Incremento all'inizio dell'accestimento; nessuna differenza alla maturazione fisiologica	Incremento del peso delle radici all'inizio dell'accestimento; nessun effetto sulla resa	Pellegrino *et al*., 2020
	Terreno argilloso; 5 vecchi genotipi e due varietà moderne (Blasco e Bologna)	*Rhizophagus irregularis* MUCL43194. Concia del seme e attapulgite (0,55 g m^{-2} , 5556 spore m^{-2})	Incremento alla botticella in 3 vecchi genotipi	Incremento della resa in quattro genotipi	De Santis *et al*., 2022
Frumento duro	Terreno limoso: var. Cappelli e Svevo. Fertilizzazione azotata frazionata in pre-semina, inizio accestimento e inizio levata: 0-0-0, 0-40-40. 40-0-40. 40-40-0, 40-40-40 kg N ha^{-1}	*Rhizophagus irregularis* DAOM197198 spore e attapulgite (carrier) incorporati nel suolo in presemina (9,3 g m^{-2}, 8333 spore m^{-2})	Incremento all'inizio dell'accestimento e all'inizio della levata, ad eccezione della dose 120 kg N ha^{-1}. Nessuna differenza alla maturazione fisiologica	Incremento della lunghezza dell'apparato radicale in Cappelli all'inizio dell'accestimento; nessun effetto sulla resa	Ercoli et *al*., 2017
Mais	Var. 2B 688 HR. Fertilizzazione fosforica: P (200 kg P ha^{-1}) (+P) e controllo non concimato (-P)	*Rhizophagus clarus* e torba (Pt), *R. clarus* e vermiculite (V), *R. clarus* e fosfato (RP)	Diminuzione con V+P e V-P	Incremento della resa con Pt+P (12%) e RP-P (7%)	Barazetti *et al*., 2019
	Terreni variabili per disponibilità di P e abbondanza ed infettività di AMF	*Rhizophagus irregularis* SAF 22, inoculo grezzo al suolo sulla fila (2 L m^{-2})	Incremento	Incremento della resa (14%)	Bender *et al*., 2019

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Coltura	Descrizione dell'esperimento	Tipo di inoculo e metodo di distribuzione	Effetto dell'inoculazione		Riferimento bibliografico
			Colonizzazione radicale	Crescita e resa	
Sorgo	Terreno: argillo-limoso; var. SPV-96. Fertilizzazione minerale, *Rhizobium*, *Azospirillum* e *Bacillus* al seme	*Rhizophagus fasciculatus*. Concia del seme con spore (50 mg m^{-2}, 2,5 spore m^{-2}) + inoculazione al suolo sulla fila con 1,5 g m^{-2}, 75 spore m^{-2}	Incremento (24%)	Incremento della resa (150%)	Saini *et al*., 2004
Orzo	Terreni variabili per disponibilità di nutrienti. Suolo irradiato (bassa infettività) e non trattato (alta infettività)	Miscela di funghi AM nativi. Spore in soluzione acquosa incorporate nel suolo	Incremento nel terreno con bassa infettività	Nessun effetto sulla resa	Jensen, 1983
Leguminose					
Cece	Terreno: argillo-limoso; var. Dohad yellow. Fertilizzazione minerale, *Rhizobium*, *Azospirillum* e *Bacillus* al seme	*Rhizophagus fasciculatus*. Concia del seme con spore (50 mg m^{-2}, 2,5 spore m^{-2}) + inoculazione al suolo sulla fila con 1,5 g m^{-2}, 75 spore m^{-2}	Incremento (27%)	Incremento della resa (300%)	Saini *et al*., 2004
	Terreno: sabbio-limoso; var. Sultano	*Funneliformis mosseae* IMA1, *Rhizophagus intraradices* IMA5, mix di esotici (IMA1+IMA5), mix locale di AMF (LMix). Inoculo grezzo (1.3 kg m^{-2}).	Incremento alla terza foglia (24%) e alla maturazione fisiologica (47%)	Incremento della resa con LMix (85%), IMA1 (78%), IMA1+IMA5 (52%), IMA5 (40%)	Pellegrino e Bedini, 2014
Soia	Var. BRS 359 RR. Fertilizzazione fosforica: P (200 kg P ha^{-1}) (+P) e controllo non concimato (-P), inoculazione con *Bradyrhizobium japonicum*	*Rhizophagus clarus* e torba (Pt), *R. clarus* e vermiculite (V), *R. clarus* e fosfato (RP)	Incremento con V+P	Incremento della resa con V-P (16%)	Barazetti *et al*., 2019
Erba medica	Terreno argilloso; var. Giulia	*Funnelliformis mosseae* BEG 12, *F. mosseae* AZ225C, *Rhizophagus irregularis* BEG141, mix di esotici (BG12+AZ225C+ BEG141), mix di nativi (LMix). Inoculo grezzo al suolo (0,4 kg m^{-2}, 4000-10000 spore m^{-2})	Incremento	Incremento della resa con isolati singoli (61%), misti nativi (64%) e misti esotici (98%)	Pellegrino *et al*., 2022

L'estratto contiene pagine non in sequenza

nizzazione AM è maggiore rispetto ai suoli di medio impasto (Chandrasekaran, 2020). La morfologia dell'apparato radicale influenza la risposta delle colture all'inoculazione: specie vegetali con un sistema radicale fittonante hanno un beneficio maggiore rispetto a quelle con un sistema radicale fascicolato. In tabella 7.1 sono riportati i risultati di alcune prove di inoculazione in pieno campo con funghi AM su cereali e leguminose da granella e da foraggio. Per una più completa panoramica sui cereali si suggerisce di consultare le meta-analisi di Pellegrino *et al*. (2015) e di Zhang *et al*. (2018).
Tra gli studi su colture ortive è da evidenziare lo studio eseguito in campo in condizioni di bassa disponibilità di P con un mutante di pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.) che non è in grado di formare simbiosi con i funghi AM (denominato rmc) e il suo progenitore micorrizico non mutato (denominato 76R) (Cavagnaro *et al*., 2012). Le piante 76R alla raccolta presentavano una colonizzazione media del 21%, incrementi di biomassa epigea pari al 50% e incrementi del peso dei frutti freschi di tre volte rispetto alle piante rmc. Per un maggiore dettaglio sugli effetti dell'inoculazione con funghi AM su crescita e resa di alcune colture ortive si rimanda alla tabella 7.2, che riporta i risultati di alcuni lavori sperimentali di rilievo.
L'inoculazione con funghi AM di 320 genotipi di specie erbacee appartenenti alle famiglie *Poaceae*, *Fabaceae*, *Pedaliaceae*, *Asteraceae* e *Cucurbitaceae* ha incrementato la biomassa delle cultivar rilasciate dopo il 1950 in misura maggiore rispetto ai propri progenitori (Lehmann *et al*., 2012). Quindi è stato suggerito che non vi è effetto negativo del miglioramento genetico sulla risposta in biomassa all'inoculazione, almeno in condizioni di disponibilità di P da carenti a buone.
Studiando i fattori che determinano la risposta delle colture ai funghi AM in termini di crescita e produzione, Hoeksema *et al*. (2010) hanno evidenziato che oltre all'identità della pianta ospite, la complessità dell'inoculo è un fattore importante. Inoculi contenenti più specie fungine, o che includono anche microrganismi non micorrizici e altri biota, determinavano una maggior beneficio sulle piante ospiti. Hoeksema *et al*. (2018) hanno suggerito l'importanza di considerare, oltre al contesto ambientale, anche la storia evolutiva dei funghi AM e delle piante ospiti. Le migliori risposte in termini di biomassa sono quelle che corrispondono alle combinazioni pianta-fungo che si sono differenziate dal punto di vista evolutivo più recentemente. Ad esempio, la combinazione tra piante appartenenti alle *Fabaceae*, tra cui trifoglio ed erba medica, con taxa appartenenti al genere *Gigaspora* è migliore rispetto a combinazioni con *Funneliformis*, mentre nelle combinazioni tra piante appartenenti alle *Poaceae*, che includono frumento, sorgo e panico, si osserva l'opposto.

7.4.2 ASSORBIMENTO DI NUTRIENTI

Globalmente, mediando i risultati di lavori eseguiti in campo su piante coltivate, l'assorbimento di N e P incrementa con l'inoculazione con funghi AM, e l'effetto sul P è maggiore rispetto a quello osservato sull'N (Delavaux *et al*., 2017). I benefici delle piante sono però influenzati dalla disponibilità dei nutrienti nel terreno. L'aumento della disponibilità di nutrienti nel suolo diminuisce l'efficacia dei funghi AM nel promuovere il beneficio delle piante, anche se tale modello non è valido in presenza di patogeni o altri tipi di stress. Nella meta-analisi di Chandrasekaran (2020), gli autori riportano che globalmente i funghi AM aumentano l'assorbimento di P del 36%, di N del 22% e di K del 19%. La relazione tra grado di colonizzazione radicale AM e assorbimento di P, N e K è lineare e positiva. L'efficacia di specie diverse di funghi AM varia al variare del nutriente. Ad esempio, *Rhizophagus fasciculatus* ha in media un effetto positivo maggiore rispetto a *F. mosseae* e *R. intraradices* per l'assorbimento di P e K, mentre *F. mosseae* è più efficiente rispetto a *R. intraradices* se si considera l'assorbimento di N.
Molti studi con fosforo marcato (^{32}P) hanno dimostrato che la solubilità della forma di P applicata al terreno influenza l'accrescimento delle piante inoculate e la risposta è

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Tabella 7.2 | Sintesi dei risultati di alcuni studi sperimentali di campo sugli effetti dell'inoculazione con funghi micorrizici arbuscolari (AMF) su alcune colture ortive di interesse agrario.

Coltura	Descrizione dell'esperimento	Tipo di inoculo e metodo di distribuzione	Effetto dell'inoculazione		Riferimento bibliografico
			Colonizzazione radicale	Crescita e resa	
Pomodoro	Meta-analisi. Confronto tra pomodoro mutante che non sviluppa simbiosi con AMF (rmc) e un progenitore micorrizico non mutato (76R)	Funghi AM nativi	Incremento (34%)	Incremento della biomassa aerea, nessun effetto su radici	Watts-Williams e Cavagnaro, 2014
	Terreno medio impasto-sabbioso; var. Roma, Rio Grande, Perfect Peel	*Funneliformis mosseae* IMA1, *Rhizophagus intraradices* IMA6 ed IMA1+IMA6. Inoculo grezzo in vivaio (75% del volume)	Incremento con IMA6 (8%), IMA1 (7%), IMA1+IMA6 (8%)	Incremento della resa (54%) con IMA+IMA6 in Rio Grande	Njeru *et al*., 2017
	Terreno medio impasto-sabbioso; var. Pisanello e Rio Grande	*Gigaspora gigantea* PA125, *Scutellospora pellucida* MN408A, *Funnelliformis mosseae* MD118 e *Sclerocystis sinuosa* MD126. Inoculo grezzo in vivaio (20% del volume)	Incremento in Pisanello (19%) e Rio Grande (16%)	Incremento della resa in Pisanello (32%) e Rio Grande (38%)	Arcidiacono *et al*., 2022
	Terreno sabbioso; due popolazioni autoctone Giagiù e Lucariello	*Rhizoglomus irregulare* BEG72 e *Funnelliformis mosseae* BEG234. Inoculo microgranulare in vivaio (2 g per pianta, 25 spore g^{-1})	Incremento (20%)	Incremento della resa (31%)	Carillo *et al*., 2020
Lattuga	Var. Capitata *Batavia Rubia Munguía* (BRM) e Maravilla de Verano (MV), var. Longifolia *Cogollos de Tudela* (CT)	*Rhizophagus fasciculatus* (inoculo grezzo, 10 g L^{-1} substrato) e inoculo commerciale microgranulare con *R. intraradices* e *Funnelliformis mosseae* (6,3 g L^{-1} substrato, 630 spore L^{-1}) al trapianto	Incremento con *R. fasciculatus* (65%), con inoculo commerciale (58%)	Incremento della resa con *R. fasciculatus* (15%), con inoculo commerciale (28%)	Balsam *et al*., 2011a

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Coltura	Descrizione dell'esperimento	Tipo di inoculo e metodo di distribuzione	Effetto dell'inoculazione		Riferimento bibliografico
			Colonizzazione radicale	Crescita e resa	
Lattuga	Var. Capitata *Batavia Rubia Munguía* (BRM) e Maravilla de Verano (MV) Fertilizzazione minerale	Inoculo commerciale microgranulare con *Rhizophagus intraradices* e *Funnelliformis mosseae* (6,3 g L^{-1} substrato, 630 spore L^{-1}) al trapianto	Incremento (70%)	Incremento della resa (16%)	Balsam *et al*., 2011b
Basilico	Var. Genova	*Rhizophagus intraradices* BEG159, *Funneliformis caledonium* BEG162 e *F. mosseae* NBR 1-2. Inoculo grezzo in vaso (18% in peso)	Incremento con *F. caledonium* e *F. mossae* (15%), con *R. intraradices* (76%)	Nessun effetto	Toussain *et al*., 2007
Fragola	Var. Aromas. Fertilizzazione azotata a tre livelli	Inoculo commerciale con *Rhizophagus intraradices* in soluzione acquosa (100 spore per pianta) in vaso	Incremento (65-80%)	Nessun effetto	Castellanos *et al*., 2010
Carciofo	Var. Scolymus *Terom*	*Funneliformis mosseae* AZ225C, *Rhizophagus intraradices* IMA6, e AZ225+IMA6. Inoculo grezzo in vaso (7,1 g L^{-1})	Incremento con *F. mossae* (37%), con *R. intraradices* e AZ225+IMA6 (76%)	Incremento di area fogliare e lunghezza radicale, incremento della resa con AZ225+IMA6 (80%)	Ceccarelli *et al*., 2010
Peperone	Var. San Luis, stress idrico e controllo	*Rhigophagus fasciculatus*, consorzio nativo con *Funneliformis constrictum*, *F. geosporum*, *R. fasciculatus*, e *Glomus tortuosum* (MixFor); un consorzio nativo con (con *G. aggregatum*, *G. deserticola*, *F. geosporum*, *G. microaggregatum*, e *Sclerocystis coremioides* (MixDes). Inoculo grezzo al trapianto (71 g kg^{-1} substrato, 643 spore kg^{-1})	Incremento (90%)	Incremento della resa in condizioni di stress idrico con tutti gli inoculanti	Mena-Violante *et al*., 2006

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Coltura	Descrizione dell'esperimento	Tipo di inoculo e metodo di distribuzione	Effetto dell'inoculazione		Riferimento bibliografico
			Colonizzazione radicale	Crescita e resa	
Carota	Var. Red Cored Chantenay, Scarlet Nantes, Nelson e Napoli; terreno limoso; stress idrico e controllo	*Funneliformis mosseae* CA127, *F. mosseae* NC302C, *Rhizophagus clarus* CA401, *R. clarus* NC112A, *R. intraradices* CA502, *R. intraradices* NC200, *Septoglomus deserticola* CA113, *S. deserticola* NC302A. Inoculo grezzo alla semina (108 g per pianta)		Incremento della resa in Red Cored Chantenay e Scarlet Nantes (fino al 21% in condizioni di stress idrico)	Keller-Pearson *et al*., 2020

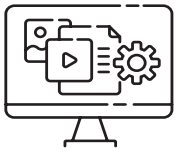
maggiore quando la fonte è meno solubile (Smith e Smith, 2011). La differenza tra piante inoculate e non inoculate nella capacità di acquisire P da fonti scarsamente disponibili può essere spiegata dai seguenti meccanismi: (i) la diminuzione della distanza che gli ioni P devono percorrere prima dell'assorbimento, grazie allo sviluppo nel suolo delle ife fungine oltre la zona di esaurimento della rizosfera; (ii) l'assorbimento più veloce di P dalla soluzione circolante grazie ad una maggiore affinità tra l'enzima prodotto dal fungo ed il substrato; (iii) riduzione del pH nella micorrizosfera rispetto alla rizosfera.
È noto che nutrienti del suolo diversi da P vengono assorbiti attraverso la via fungina AM (Smith e Smith, 2011). Tra questi sono da citare Zn e Fe, ma anche Ca, Cu, K, S come SO_2, e N in forma inorganica ed organica. È stato evidenziato che l'N assorbito dal micelio extraradicale è trasferito nelle ife principalmente in forma di arginina che poi è convertita in ione ammonio (NH_4^+) e trasferito alla pianta (Jin *et al*., 2005). L'assorbimento di N dal suolo nelle piante colonizzate con funghi AM rispetto alle non colonizzate è maggiore quando l'ammonio, meno mobile, è dominante rispetto al nitrato (NO_3^-) nel terreno.
Relativamente allo Zn, in una meta-analisi, Lehmann *et al*. (2014) hanno riportato che i funghi AM determinano un incremento della concentrazione di Zn nei tessuti vegetali. L'incremento varia nei diversi organi: nei frutti è del 13%, nella porzione epigea è del 18% e nelle radici del 32%. L'incremento della concentrazione in Zn nei frutti di piante inoculate con funghi AM era maggiore quando le piante erano cresciute in terreni sabbiosi rispetto a quelle cresciute in terreni limosi o argillosi. La disponibilità di Zn nel suolo influenza la risposta ai funghi AM dell'assorbimento di Zn. Infatti, le piante coltivate in terreni non carenti di Zn (> 0,5 ppm) mostravano una riduzione della risposta.
I funghi AM aumentano l'assorbimento di Cu del 29% e di Fe del 7%, mentre il Mn viene ridotto del 4% (Lehmann e Rillig, 2015). La concentrazione di micronutrienti nel suolo influenza la risposta ai funghi AM in termini di assorbimento di Cu: l'assorbimento mediato dai funghi AM aumenta quando la concentrazione di Cu nel suolo è minore. Per la risposta ai funghi AM in termini di Mn e Fe il modello è simile. La concentrazione dei micronutrienti nei tessuti fogliare influenza la risposta: a basse concentrazioni fogliari sono associate maggiori risposte ai funghi AM. Per un maggiore dettaglio sugli effetti nutrizionali su alcune colture erbacee di pieno campo ed ortive si rimanda alla Tab. 7.3 e alla Tab. 7.4 che riportano i risultati di alcuni lavori sperimentali di rilievo.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

11 Effetti dall'applicazione dei biostimolanti sulla qualità e sul valore nutrizionale delle colture orticole

Giacomo Cocetta

11.1 BIOSTIMOLANTI E QUALITÀ DEI PRODOTTI ORTICOLI



Oggi il mercato dei fertilizzanti e dei prodotti per la difesa sta attraversando profondi cambiamenti a causa delle crescenti limitazioni imposte da nuove leggi e regolamenti, in risposta alla crescente preoccupazione in merito agli effetti delle pratiche agricole sull'ambiente ed in particolare all'uso di prodotti di sintesi in agricoltura. Nascono quindi nuove forme di agricoltura, con l'obiettivo di ridurre l'impatto ambientale e promuovere una maggiore sostenibilità delle produzioni agroalimentari. Questi nuovi approcci prevedono l'utilizzo di prodotti di origine naturale, in grado di garantire un minore impatto ambientale e, allo stesso tempo, assicurare un'efficiente gestione delle risorse, un'elevata resa e una qualità ottimale delle produzioni. Per questi motivi, negli ultimi anni l'uso di biostimolanti in agricoltura è notevolmente aumentato. Anche se questi prodotti stanno riscuotendo un ampio successo commerciale, permangono alcune incertezze legate alla loro classificazione e utilizzo, ed è evidente la necessità di razionalizzare questo settore per sostenere adeguatamente lo sviluppo del settore.
Con il termine biostimolante si indica un ampio gruppo di sostanze che possono essere ottenute da materie prime di varia origine biologica, attraverso diverse tecniche di produzione e secondo diversi processi di trasformazione industriale. Come noto, uno dei metodi più comunemente utilizzati per classificare i biostimolanti si basa sull'origine della materia prima utilizzata. Seguendo questo criterio, du Jardin (2015) ha proposto una classificazione dei biostimolanti nelle seguenti classi:

- acidi umici e acidi fulvici;
- idrolizzati proteici;
- estratti vegetali ed estratti di alghe;
- chitosano e altri polimeri;
- composti inorganici;
- funghi e batteri benefici.

Dato che i biostimolanti possono essere di varia origine, caratterizzare la composizione della matrice allo scopo di individuare le molecole più attive è un'operazione piuttosto difficile. Inoltre, l'efficacia di un biostimolante non è dovuta solo alla presenza di una o più molecole attive, ma è il risultato dell'interazione di più componenti ed è spesso legata alla possibile formazione *de novo* di nuovi complessi responsabili dell'efficacia dei prodotti. Per questo motivo lo studio e caratterizzazione dell'esatta composizione di un biostimolante può risultare in alcuni casi uno sforzo inutile.
Un nuovo approccio, che si affianca a quello basato sullo studio della composizione, si

L'estratto contiene pagine non in sequenza

basa invece sulla caratterizzazione funzionale dei prodotti, elemento alla base del cosiddetto "claim" e degli effetti dichiarati in etichetta.
Di conseguenza, negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi volti a caratterizzare il meccanismo o la modalità di azione e a supportare l'efficacia dei biostimolanti con diversi approcci scientifici, dal campo al laboratorio e viceversa.
Sulla base di queste considerazioni, diversi autori hanno sottolineato che i biostimolanti dovrebbero essere classificati in base alle risposte fisiologiche della pianta, alla produttività e all'effetto positivo sugli aspetti agronomici, produttivi e qualitativi delle colture.
Tenendo conto di tutte queste considerazioni, una definizione esaustiva di biostimolanti è quella proposta da Yankhin e colleghi nel 2017:

«Un prodotto formulato di origine biologica che migliora la produttività delle piante come conseguenza delle proprietà nuove o emergenti del complesso di costituenti, e non come unica conseguenza della presenza di nutrienti vegetali essenziali noti, regolatori di crescita delle piante o composti fitosanitari».

Alcuni degli effetti più importanti dei biostimolanti sono legati alla loro capacità di migliorare l'efficienza nell'uso di acqua e nutrienti (Soppelsa *et al.*, 2019), di promuovere la crescita delle radici e di migliorare la resa (Kocira *et al.*, 2017).
L'efficacia agronomica e il successo dei biostimolanti è stato ampiamente dimostrato in diverse importanti colture ed è disponibile un ampio numero di pubblicazioni scientifiche incentrate su questo aspetto (Bulgari *et al.*, 2015; du Jardin, 2015; Yanhkin *et al.*, 2017; De Pascale *et al.*, 2017).
Oltre al noto effetto sul metabolismo primario delle piante e sulla produttività, in alcune colture è stato osservato anche un effetto positivo dei biostimolanti sulla qualità nutraceutica e nutrizionale dei prodotti. Questo aspetto è spesso correlato alla capacità dei biostimolanti di stimolare la biosintesi di composti legati allo stress e di metaboliti secondari (noti anche come "fitochimici" o "fitonutrienti") e quindi di svolgere un ruolo chiave nel contrastare gli stress abiotici nelle piante. Molti di questi composti possono avere effetti positivi sulle proprietà salutistiche di frutta e verdura; quindi, si può ipotizzare un ruolo rilevante per i biostimolanti nel potenziare le proprietà nutrizionali e nutraceutiche dei prodotti agroalimentari (Fig. 11.1).
Quest'ultimo aspetto è particolarmente importante, dal momento che la consapevolezza dei consumatori verso gli attributi che promuovono la salute degli alimenti di origine vegetale è in aumento, così come la relativa letteratura scientifica. Inoltre, negli ultimi anni sono state sviluppate nuove strategie agronomiche in grado di migliorare la qualità

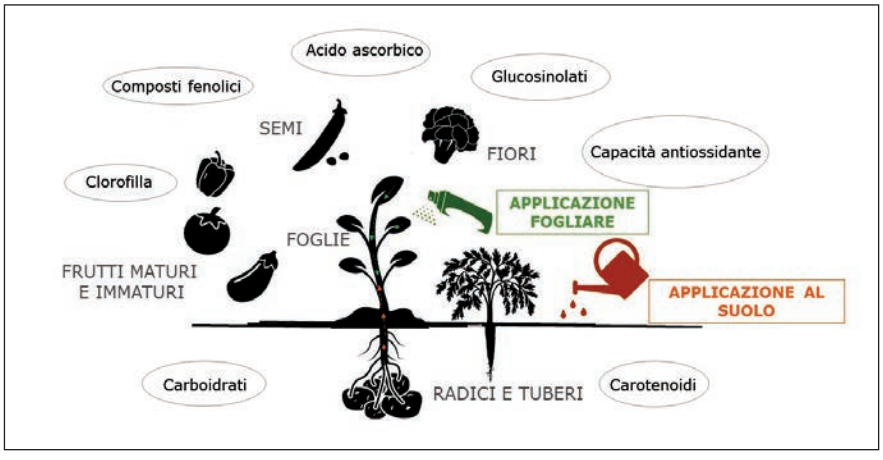


Fig. 11.1 | Schema generale che rappresenta gli effetti dell'applicazione di biostimolanti su vari ortaggi, con particolare riguardo alle proprietà nutrizionali e nutraceutiche dei prodotti ottenuti dalle varie parti commestibili della pianta.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

nutrizionale delle colture, attraverso l'applicazione dei principi della cosiddetta *nutrition-sensitive agriculture* (Passera *et al.*, 2020).
L'efficacia dei biostimolanti può variare a seconda di diversi fattori tra cui il dosaggio (Vargas-Hernandez *et al.*, 2017), i tempi e il numero di applicazioni all'interno del ciclo di crescita (Ertani *et al.*, 2014), il genotipo (Grabowska *et al.*, 2013; Pohol *et al.*, 2019; Giordano *et al.*, 2022) lo stadio di sviluppo (Ertani *et al.*, 2014), il metodo di applicazione, le condizioni ambientali (Grabowska *et al.*, 2013) e le pratiche agronomiche.
Lo studio delle risposte delle colture ai biostimolanti è alla base della comprensione della loro efficacia e permetterà di potenziare gli effetti positivi sulla qualità dei prodotti trattati, attraverso la conoscenza dei processi metabolici che portano all'attivazione di risposte specifiche, mediate da molecole segnale, geni e fattori di trascrizione direttamente legati alla sintesi e all'accumulo di metaboliti di interesse, che contribuiscono alla definizione della qualità nutrizionale dei prodotti (Fig. 11.2).
Alcuni esempi di importanti studi relativi all'effetto dei biostimolanti su diverse colture orticole saranno ulteriormente discussi in questo capitolo, con particolare attenzione al miglioramento della qualità nutraceutica e nutrizionale ottenuto attraverso l'applicazione dei biostimolanti. Poiché l'effetto dei trattamenti così come gli attributi di qualità può cambiare a seconda dell'organo della pianta considerato, le seguenti sezioni di questo capitolo sono state suddivise in base all'organo che è comunemente considerato la parte commestibile della pianta.

11.2 EFFETTO DELL'APPLICAZIONE DI BIOSTIMOLANTI SULLE PROPRIETÀ NUTRIZIONALI E NUTRACEUTICHE DI ORTAGGI A FOGLIA

Gli ortaggi a foglia trattati con biostimolanti mostrano solitamente un accumulo di molecole bioattive, responsabili dell'aumento della tolleranza agli stress abiotici o del miglioramento delle prestazioni delle colture. La qualità delle verdure a foglia dipende da molti fattori interni ed esterni che possono essere direttamente o indirettamente apprezzati dai consumatori.
I fattori di qualità immediatamente valutati dal consumatore sono il colore, la pezzatura, l'assenza di zone danneggiate o macchie. Tutti questi fattori contribuiscono e definiscono l'aspetto visivo del prodotto. Il consumatore è in primo luogo attratto da questi fattori e solitamente la scelta dei prodotti da acquistare ne è influenzata. Oggi però il consumatore è attento anche alla qualità nutrizionale e ai potenziali benefici che la composizione del prodotto può avere sulla sua salute. La qualità nutrizionale delle verdure a foglia è

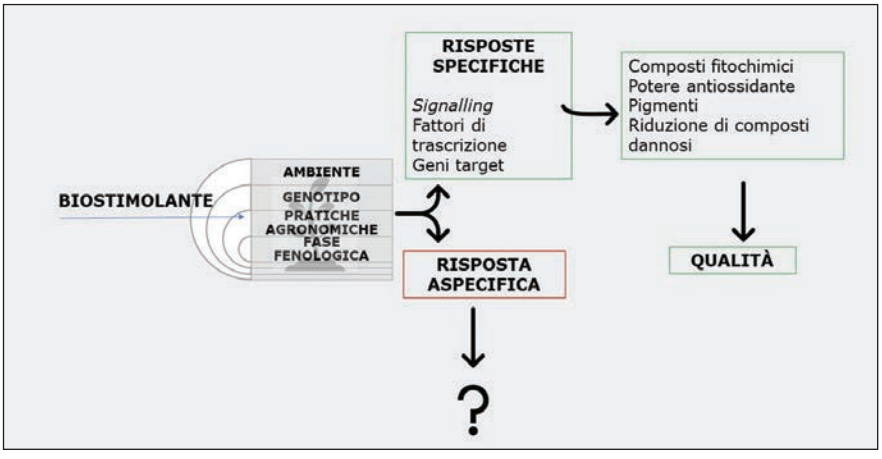


Fig. 11.2 | Rappresentazione schematica dell'effetto positivo dei biostimolanti e della loro interazione con fattori ambientali, genotipici, di sviluppo e agronomici, nel promuovere una risposta specifica e mirata, che porta all'accumulo di metaboliti di interesse e al miglioramento della qualità dei prodotti.

L'estratto contiene pagine non in sequenza

rappresentata, tra gli altri, da fattori come il contenuto di nitrati, la composizione minerale, il contenuto in vitamine, in composti antiossidanti come antociani, carotenoidi e fenoli, tra gli altri (Tab. 11.1).

I biostimolanti possono potenziare la biosintesi e possono indurre l'accumulo di alcuni di questi composti bioattivi, fondamentali nei meccanismi di interazione tra pianta e ambiente e nella definizione della qualità dei prodotti. L'incremento dell'uno o dell'altro composto dipende dalla composizione del biostimolante e dalla materia prima utilizzata per la sua preparazione, nonché dall'interazione di questi fattori con le agrotecniche, l'ambiente ed il *background* genetico delle colture considerate.

Lavori sperimentali eseguiti su lattuga (*Lactuca sativa* L.) hanno dimostrato che l'appli-

Tabella 11.1 | Effetto dei biostimolanti sui componenti nutrizionali o nutraceutici dei prodotti. Il simbolo + indica un aumento del parametro misurato e - indica una riduzione della concentrazione o del contenuto.

Prodotto biostimolante	Coltura trattata	Componenti nutrizionali o nutraceutici	Riferimento bibliografico
Estratto di alghe	Lattuga baby leaf (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*)	+ clorofilla, carotenoidi - nitrato	Shehata *et al.*, 2016
Estratto di alghe (*Ascophyllum nodosum*)	Lattuga (*Lactuca sativa* L.) 'Four Seasons'	+ vitamina C -nitrato	Dudaš *et al.*, 2016
Estratto di Borragine	Lattuga Romana (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)	+ carotenoidi + composti fenolici + flavonoidi	Bulgari *et al.*, 2017
Idrolizzato proteico	Spinacio (*Spinacia oleracea* L.)	+ composti fenolici	Rouphael *et al.*, 2018
Estratto di alga (*Ecklonia maxima*)	Spinacio baby leaf (*Spinacia oleracea* L.)	+ fenoli (acido sinapico) + citochinine	Rouphael *et al.*, 2018
Estratto di alga (*Ecklonia maxima*)	Spinacio (*Spinacia oleracea* L.)	+carotenoidi +prolina +citochinine	Kulkarni *et al.*, 2019
Moringa oleifera	Rucola (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa* c.v. Balady)	+ composti fenolici + carotenoidi + vitamina C	Abdalla, 2013
Estratto di alghe (*Ascophyllum nodosum*)	Rucola (*Eruca sativa* Mill.)	+carotenoidi -nitrato	Vernieri *et al.*, 2006
Idrolizzato proteico ed estratto di piante tropicali	Rucola (*Diplotaxis tenuifolia* L.)	+polifenoli +acido ascorbico	Caruso *et al.*, 2019a
Idrolizzato proteico ed estratto di piante tropicali	Pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.)	+polifenoli +acido ascorbico +licopene	Caruso *et al.*, 2019b
Estratto di erba medica e di alghe	Fragola (*Fragaria* X *ananassa* Duch.)	+polifenoli	Soppelsa *et al.*, 2019
Estratto di erba medica e di uva rossa	Peperoncino (*Capsicum chinensis*)	+polifenoli +acido ascorbico +β-carotene	Ertani *et al.*, 2014
Estratto di alga (*Macrocystis pyrifera*)	Cetriolo (*Cucumis sativus* L.)	+polifenoli +acido ascorbico	Trejo Valencia *et al.*, 2018
Estratto di alga (*Ascophyllum nodosum*)	Melanzana (*Solanum melongena* L.)	+zuccheri semplici +antociani +minerali	Pohl *et al.*, 2019

L'estratto contiene pagine non in sequenza

Prodotto biostimolante	Coltura trattata	Componenti nutrizionali o nutraceutici	Riferimento bibliografico
Estratto di alga (*Ascophyllum nodosum*)	Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)	+polifenoli totali, +acido sinapico +quercetina	Kałużewicz *et al.*, 2017
Aminoacidi	Carota (*Daucus carota* L.)	+nitrato +zuccheri semplici	Grabowska *et al.*, 2013
Nitrofenolato	Fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L.)	+attività anti-radicalica	Kocira *et al.*, 2017
Funghi micorrizici arbuscolari Batteri Lieviti Estratto di alghe Estratti di piante	Fagiolino (*Phaseolus vulgaris* L.)	+polifenoli	Petropoulos *et al.*, 2019
Solfati *Bacillus subtilis* Acidi Umici	Aglio (*Allium sativum* L.)	+minerali +proteine +potere antiossidante -carboidrati	Jędrszczyk *et al.*, 2019
Aminoacidi	Cipolla (*Allium cepa* L.)	+acido ascorbico +nitrato	Mikulewicz *et al.*, 2019

cazione di un biostimolante a base di estratto di alghe aumentava la resa e migliorava la qualità di lattughe *baby leaf*. Le piante trattate hanno mostrato un contenuto più elevato di pigmenti fogliari come clorofilla e carotenoidi. Risultati analoghi sono stati riscontrati nella varietà di lattuga 'Four Seasons' trattata con un biostimolante a base di *Ascophyllum nodosum*. Le piante trattate hanno mostrato valori più elevati di vitamina C (acido ascorbico), potassio, sostanza secca e concentrazioni inferiori di nitrati (Dudaš *et al.*, 2016). Anche gli estratti vegetali, come noto, possono agire come biostimolanti e l'efficacia dipende dalla loro composizione. La borragine (*Borrago officinalis* L.) è stata utilizzata, tra le altre, come pianta per produrre biostimolanti ottenuti attraverso un processo di macerazione acquosa. Gli estratti ottenuti rispettivamente da foglie e fiori, sono stati valutati attraverso l'applicazione su lattuga romana (*Lactuca sativa* L., var. *longifolia*), mediante applicazioni fogliari. I risultati hanno indicato che le piante trattate avevano un contenuto di composti fenolici, di antociani e di flavonoidi più elevati (Bulgari *et al.*, 2017). Gli stessi estratti, si sono dimostrati efficaci nel modulare il metabolismo del nitrato, sia in lattuga che in rucola selvatica (*Diplotaxis tenuifolia* L.) (Bulgari *et al.*, 2020). Sempre in rucola è stato riscontrato l'accumulo di composti nutraceutici dopo il trattamento con l'estratto di foglie di *Moringa oleifera* L.. I trattamenti con il 2% di estratto di foglie di Moringa hanno stimolato una maggiore concentrazione di composti fenolici (+36%), carotenoidi (+59%) e vitamina C (+44%). Trattamenti con estratti di piante tropicali e con un biostimolante a base di idrolizzato proteico derivato da leguminose, hanno determinato un aumento nel contenuto di polifenoli e di acido ascorbico in rucola selvatica (*Diplotaxis tenuifolia* L.) coltivata in una serra non riscaldata (Caruso *et al.*, 2019). L'applicazione di un biostimolante a base di un estratto di alghe marine ha aumentato la concentrazione di clorofilla e di carotenoidi e ridotto il contenuto di nitrati in rucola coltivata in un sistema idroponico (*Floating System*). In questo caso, il prodotto è stato somministrato integrandolo nella soluzione nutritiva. L'aggiunta di biostimolanti nella soluzione nutritiva contribuisce ad aumentare l'efficacia dei trattamenti, rendendo le molecole attive prontamente e costantemente disponibili all'assorbimento radicale. Ciò permette di razionalizzare l'uso dei biostimolanti e di ottimizzarne il dosaggio. Lo

L'estratto contiene pagine non in sequenza

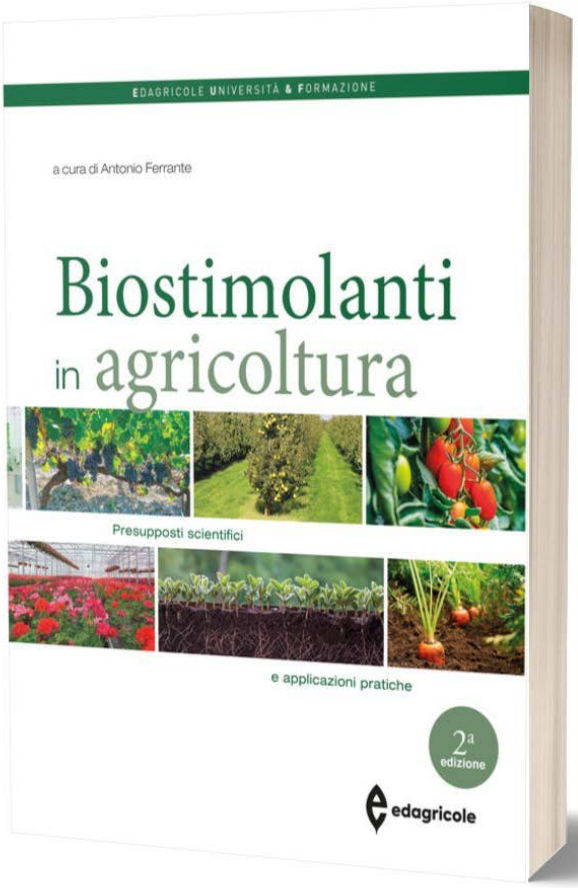
spinacio (*Spinacea oleracea* L.) è un importante ortaggio a foglia che può essere raccolto allo stadio adulto o di *baby leaf*. Come nel caso di lattuga e rucola, le tipologie *baby leaf* sono solitamente destinate all'industria di IV gamma e consumate crude. L'applicazione di biostimolanti contenenti idrolizzato proteico ed un estratto di alghe marine hanno stimolato l'accumulo di composti fenolici e di ormoni vegetali come le citochinine. Risultati analoghi sono stati ottenuti in spinaci trattati con estratti grezzi di *Ecklonia maxima* o con un biostimolante commerciale contenente questa alga. In questo caso, i trattamenti hanno indotto un aumento dei carotenoidi totali, di citochinine e di prolina. Il contenuto di composti fenolici totali non è cambiato, mentre i singoli composti fenolici hanno mostrato un comportamento diverso. Il livello di acido sinapico è aumentato in risposta a tutti i trattamenti biostimolanti e aumenti sono stati riscontrati anche per quanto riguarda i livelli degli acidi siringico e salicilico (Kulkarni *et al.*, 2019).

11.3 EFFETTO DELL'APPLICAZIONE DI BIOSTIMOLANTI SULLE PROPRIETÀ NUTRIZIONALI E NUTRACEUTICHE DEGLI ORTAGGI A FRUTTO

I frutti hanno una grande importanza economica in tutto il mondo. La qualità degli ortaggi a frutto può essere descritta adottando indici e parametri che possono essere influenzati da diversi fattori come lo stadio di maturità, il genotipo, le pratiche agronomiche e dall'interazione con le diverse condizioni ambientali di crescita. La fase di maturazione è molto importante per descrivere la qualità di un frutto e può svolgere un ruolo cruciale nell'accettabilità del prodotto. È possibile dividere gli ortaggi a frutto in due gruppi principali: frutti maturi e frutti immaturi. Il primo gruppo comprende anguria, melone, fragola, pomodoro, peperoncino, tra gli altri. D'altra parte, i frutti immaturi comprendono tutti gli ortaggi, il cui frutto viene comunemente consumato prima della completa maturazione e includono cetrioli, zucchine, melanzane e peperoni verdi. Data la diversa fase di sviluppo in cui i frutti vengono raccolti e commercializzati, la loro qualità può essere descritta da attributi chimico-fisici diversi. Le caratteristiche compositive dei frutti sono direttamente correlate al loro valore nutrizionale e nutraceutico, nonché alle proprietà salutistiche e sensoriali. In molti casi l'incremento di molecole di interesse nutrizionale o nutraceutico indotto dai biostimolanti può essere correlato alla capacità di questi prodotti di interagire e di modulare i meccanismi di risposta allo stress delle piante (Bulgari *et al.*, 2019) e di stimolare la biosintesi *de novo* delle molecole attive (*vedi* Tab. 11.1).
Gli effetti dell'applicazione fogliare di due diversi tipi di biostimolanti, un estratto di piante tropicali e un idrolizzato proteico, sono stati valutati in bacche di pomodoro coltivate secondo diversi sistemi di coltivazione (convenzionale vs biologico). I risultati ottenuti hanno mostrato che entrambi i biostimolanti hanno indotto un maggiore accumulo di composti fenolici, acido ascorbico e licopene e, allo stesso tempo, le bacche delle piante trattate hanno mostrato una maggiore attività antiossidante legata alla frazione lipofila (contenente, ad esempio, i carotenoidi) rispetto ai controlli non trattati (Caruso *et al.*, 2019). L'effetto di diversi prodotti biostimolanti è stato anche testato su piantine di fragole coltivate in condizioni di carenza nutrizionale (Sopplesa *et al.*, 2019). I diversi prodotti, somministrati come spray fogliare, hanno mostrato effetti diversi considerando vari aspetti tra cui la biomassa radicale, il numero di foglie e frutti, l'assimilazione di micronutrienti, alcuni indici di qualità dei frutti e le caratteristiche nutraceutiche. Un valore nutraceutico più elevato (correlato a livelli più elevati di composti fenolici) è stato riportato dagli autori nei frutti trattati con biostimolanti ottenuti da estratti di erba medica e di alghe.
Tuttavia, è importante notare che i livelli più elevati di composti fenolici non hanno comportato un aumento della capacità antiossidante (stimata *in vitro* con il saggio ABTS) e che i livelli di acido ascorbico sono stati significativamente ridotti in risposta ad alcuni dei trattamenti. L'applicazione fogliare di due biostimolanti a base di estratti vegetali (erba medica

edagricole

BIOSTIMOLANTI IN AGRICOLTURA | 2° EDIZIONE



Clicca QUI per ACQUISTARE il libro ONLINE

Clicca QUI per scoprire tutti i LIBRI del catalogo EDAGRICOLE

Clicca QUI per avere maggiori INFORMAZIONI

edagricole www.edagricole.it | gruppo tecniche nuove www.tecnichenuove.com

Servizio clienti libri:
libri.edagricole@newbusinessmedia.it
Tel. 051.6575833