

# **Studio ultrastrutturale degli effetti sugli apparati ipo ed epigei della pianta in risposta ad approcci agronomici eco-sostenibili**

**Alessandra Trincherà**  
**CREA-AA**

Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria  
Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente – Sede di Roma

## Studi agro-ambientali in relazione a:

- I. **Tecniche di innesto delle ortive per fronteggiare le fisiopatologie**
- II. **Formulazione di substrati di coltivazione eco-compatibili nel vivaismo**
- III. **Effetto allelopatico della segale sullo sviluppo delle infestanti in agricoltura biologica**
- IV. **Uso della pacciamatura verde in agricoltura biologica ed effetti sulla micorrizzazione radicale del carciofo**



## Microscopio a scansione elettronica EVO-MA 10 - Zeiss

Il fascio di elettroni è prodotto da una lampada a esa-boruro di lantanio ( $\text{LaB}_6$ ), ad elevata brillantezza. Il SEM è equipaggiato con Beem Sleeve technology, capace di estendere il vuoto in colonna a 2 mm dall'oggetto per migliorare il contrasto e l'accuratezza analitica.

L'oggetto può essere analizzato in altro vuoto (**modalità HV**) se a basso contenuto di acqua (es. metalli, suoli, rocce, ecc.).

Per campioni biologici ad alto contenuto in acqua (>10%) → pressione variabile (**modalità VP, 30-10 Pa**) riduzione disidratazione.

Detector utilizzati:

- **Elettroni secondari (SE):** eccitazione degli elettroni esterni degli atomi di superficie dell'oggetto, uscenti dal campione con energia minore o uguale a 50 eV. Fornisce informazioni sulla topografia/morfologia superficiale dell'oggetto.
- **Elettroni retro-diffusi (BSE):** gli elettroni di energia maggiore di 50 eV che derivano principalmente dalle interazioni del fascio primario con i nuclei degli atomi del campione.

**I.**

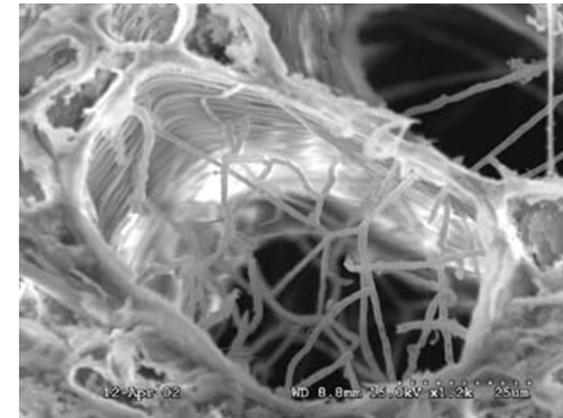
# **Tecniche di innesto delle ortive per fronteggiare le fisiopatologie**

## Il problema: la verticillosi del carciofo

Attacco del fungo patogeno *Verticillium dahliae* Kleb sugli apparati radicali delle ortive (carciofo, patata, ecc.).



Carciofo colpito da verticillosi

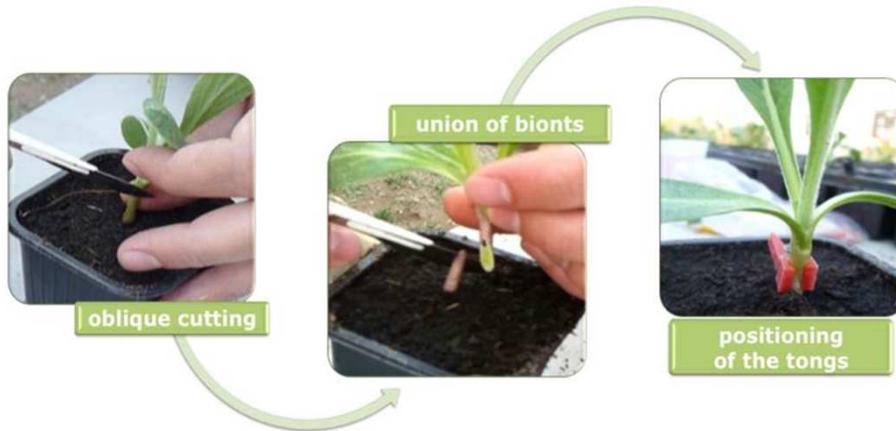


Microscopia SEM di tessuto vascolare radicale di patata infettato da *Verticillium*

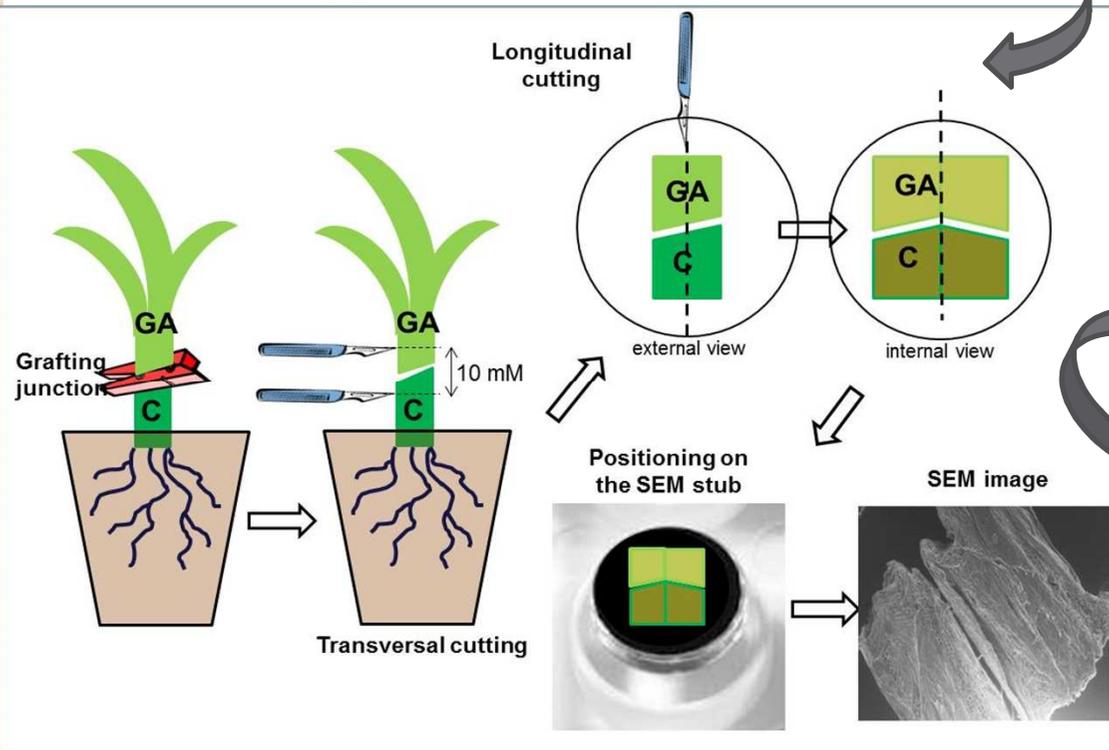
Clorosi ferrica e deperimento del carciofo



# Procedura di taglio all'interfaccia innesto/portinnesto - analisi in SEM

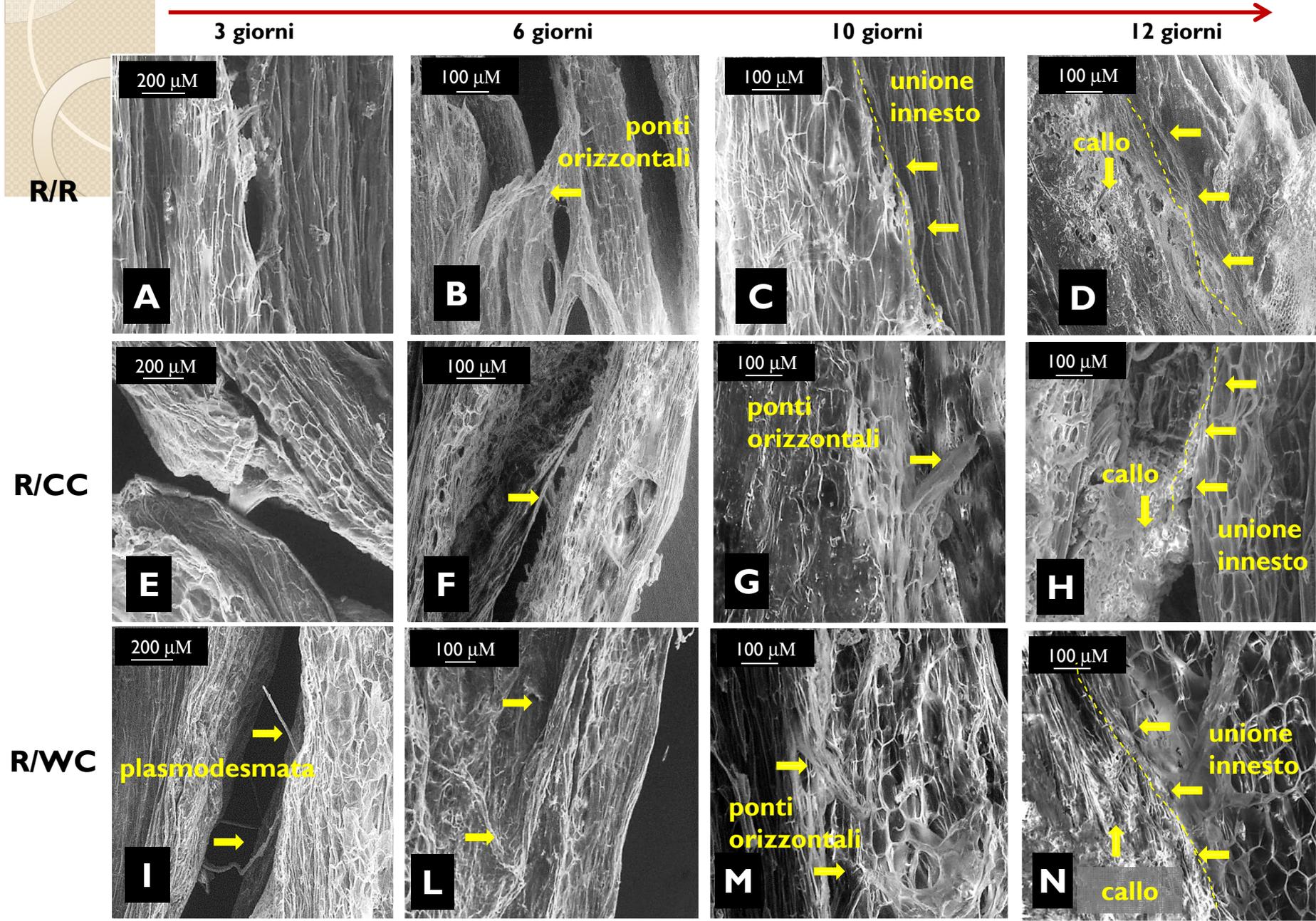


- Carciofo, var. Romolo (R), come innesto (TOP SEED, Salerno IT);
- Cardo, accessioni resistenti al *Verticillium dahliae*, come portinnesto:  
var. «Belgio», cardo coltivato (CC)  
var. «Sardo», cardo selvatico (WC)



Trinchera et al., 2013. Grafting of Globe Artichoke Plants onto Wild and Cultivated Cardoon: Agronomical and Physiological Aspects. *Acta Horticulturae*, pp. 231-236.

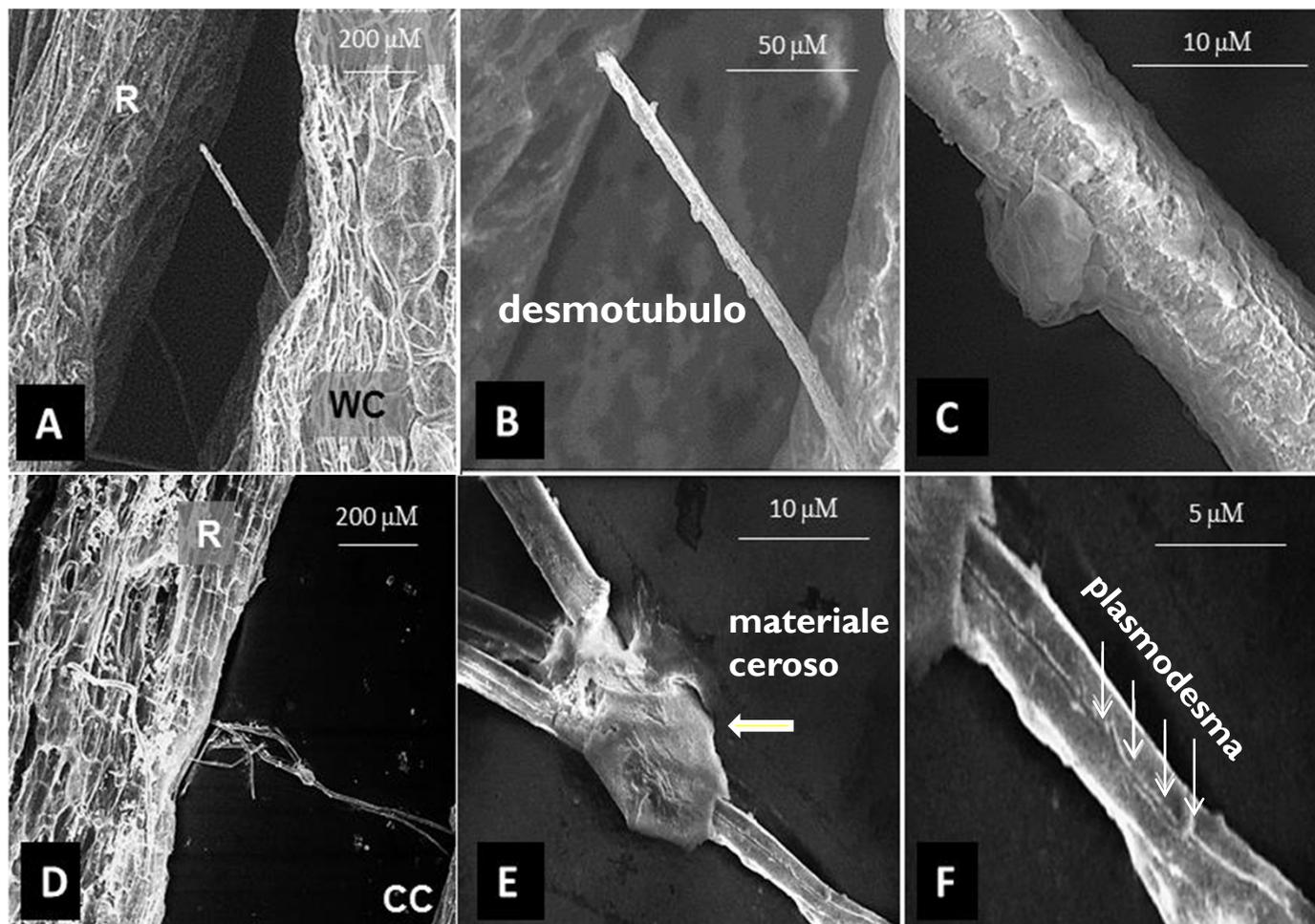
Formazione dell'innesto (gj) nelle combinazioni R/R (A-D), R/CC (E-H) e R/WC (I-N) (R = var. Romolo; CC = cardo coltivato, var. Belgio; WC = cardo selvatico, var. Sardo; Mag.: 250X e 700X).



# Immagini SEM (VP-SE) di interconnessione innesto/ portinnesto nelle combinazioni R/WC (A-C) e R/CC (D-F) a 3 gg dall'innesto

Mag.: 150X 500X 1.5kX

Interconnessioni  
filamentose  
(plasmodesmata) e  
presenza di  
materiale ceroso /  
lipidico sulla  
superficie in  
entrambe le  
combinazioni di  
carciofo/cardo



**SEM – detectors ad elettroni secondari (SE-VP,A-B) e retro-diffusi (BSE-VP, C-D) a 12 giorni dall'innesto tra R/WC (esperimento primaverile)**

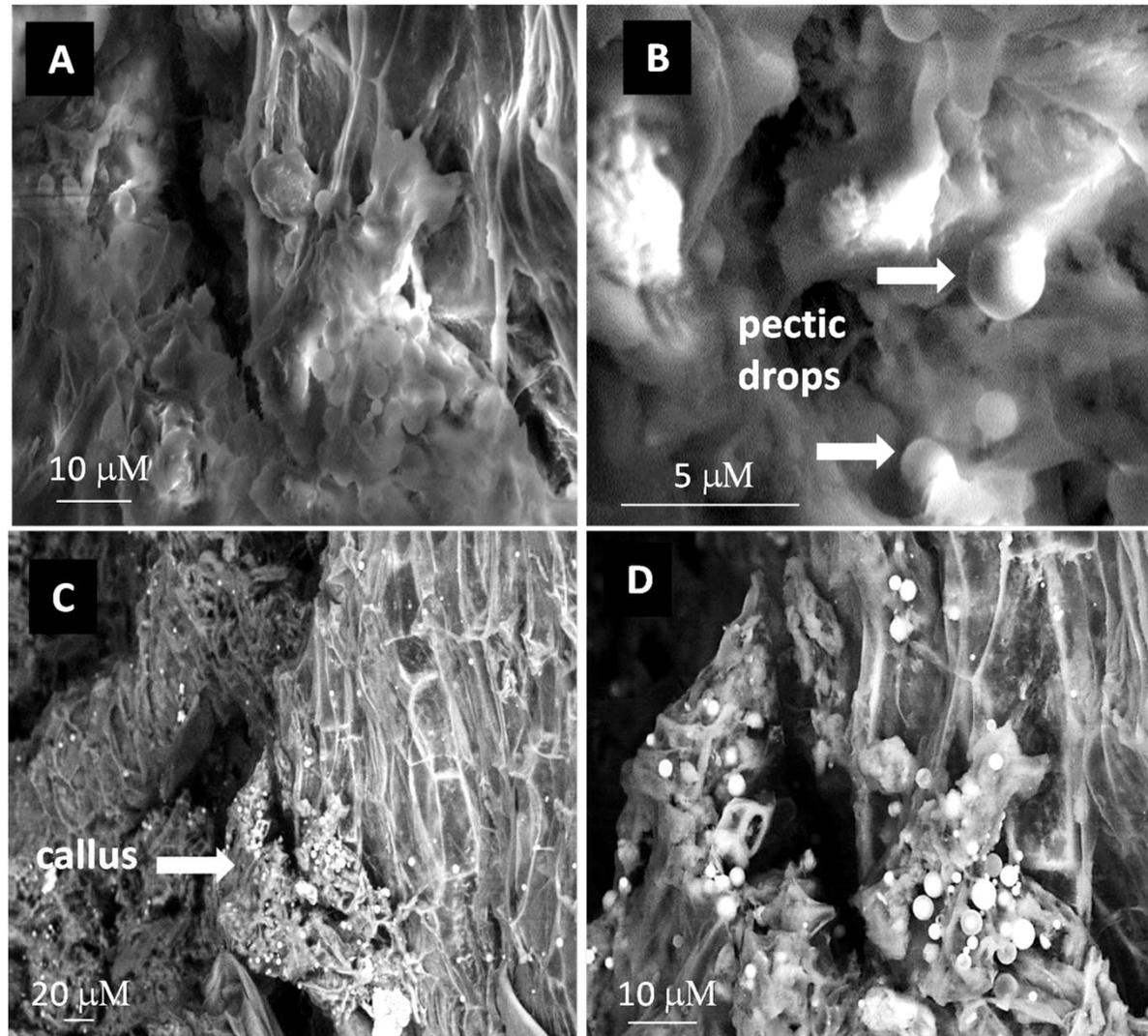
Materiale gelatinoso-colloidale depositato sul callo formatosi all'interfaccia del punto d'innesto tra R/WC (esperimento primaverile)

(Mag. 1kX - 2kX - 2,5kX)



gocce pectiniche, derivanti dall'attivazione dei ditirosomi dei corpi di Golgi nelle cellule all'interfaccia tra le superfici di innesto e portinnesto (adesione)

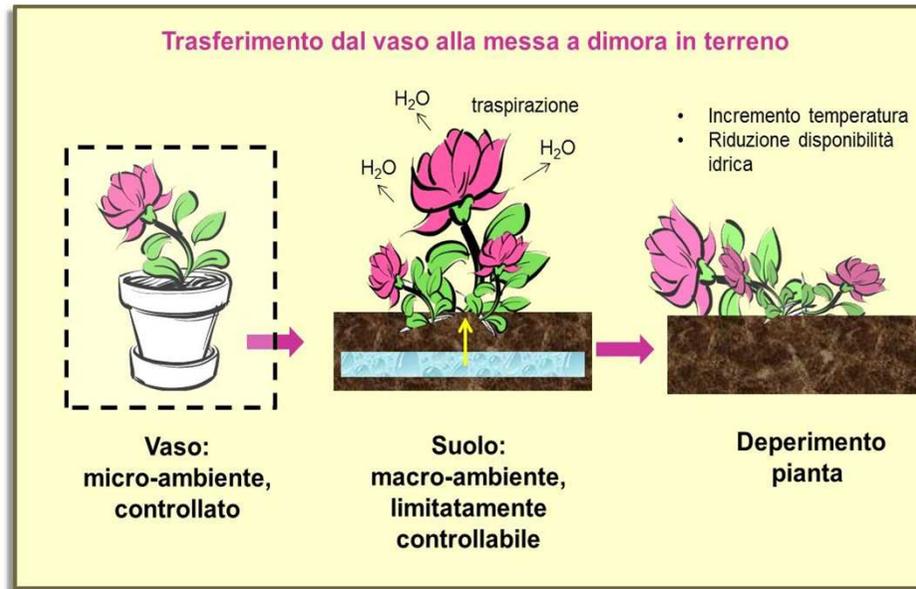
(Moore and Walker, 1981; Pina et al., 2012; Trinchera et al., 2013)



## **II.**

# **Formulazione di substrati di coltivazione eco-compatibili in floricoltura**

# Il problema: produzione di piante ornamentali destinate ad opera a verde: superamento dello stress da trapianto vaso - suolo



**Miglioramento degli apparati radicali  
per il superamento degli stress nella  
fase successiva al trapianto:**

- maggiore capacità di resistenza agli stress meccanici
- maggiore capacità di trattenimento dell'acqua
- maggiore capacità assorbimento nutrienti

# La strategia: miglioramento del substrato per aggiunta di zeolite e borlanda



## Prova in serra su talee radicate di rosa, cv. The Fairy (TF)

Exp I

- controllo (substrato inerte: sabbia di quarzo), **C**
- controllo + 3 % v/v zeolite granulare ( $\varnothing$ : 0.5-1 mm), **Z<sub>G</sub>**
- controllo + 3 % v/v zeolite micronizzata ( $\varnothing$ <30 mm), **Z<sub>P</sub>**
- controllo + 1000 mg/L borlanda (sottoprodotto viti-vinicolo), **V**
- controllo + 3 % v/v zeolite granulare + 1 g/L borlanda, **Z<sub>G</sub>V**
- controllo + 3 % v/v zeolite micronizzata + 1 g/L borlanda, **Z<sub>P</sub>V**

Exp II

- controllo (sabbia di quarzo), **C**
- controllo + 3 % v/v zeolite micronizzata + 1g/L borlanda, **Z<sub>P</sub>V**
- controllo + Luquasorb 1 % v/v, **Luquasorb**
- controllo + 2 g/L concime minerale a matrice vetrosa, **GMF**



## Rosa var. TF

Incremento sviluppo radicale con l'aggiunta di zeolite micronizzata ( $Z_p$ ) e con zeolite granulare/micronizzata + borlanda ( $Z_pV$  e  $Z_GV$ )



Effetto positivo dei trattamenti, in particolare Luquasorb e  $Z_pV$ .

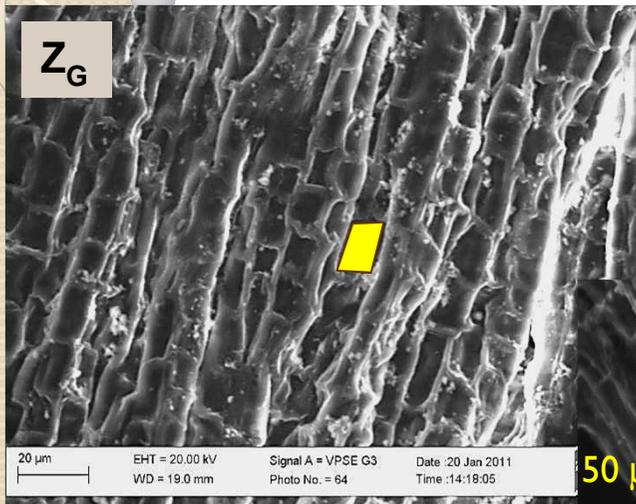
### Esperimento I



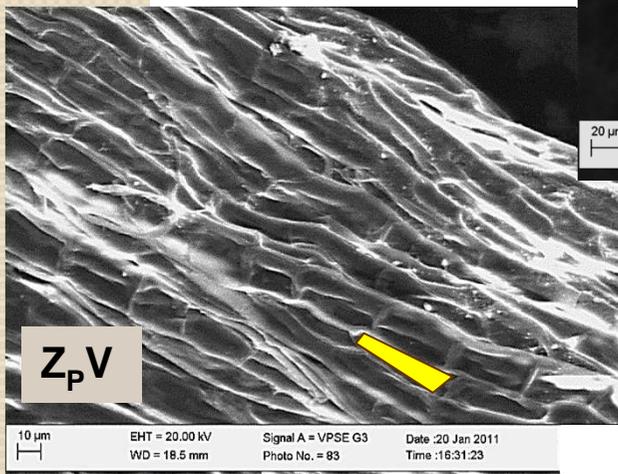
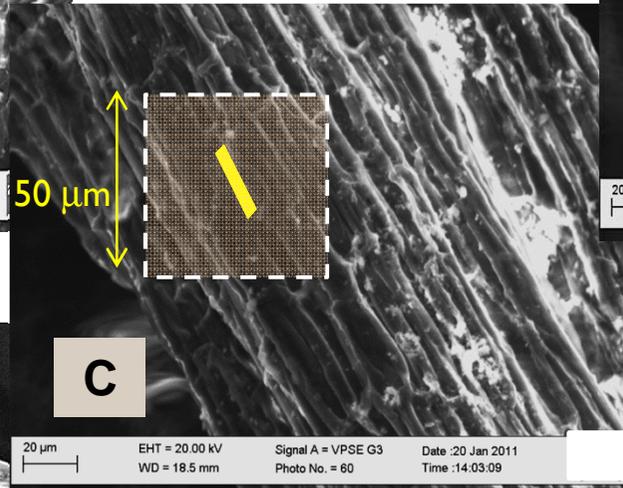
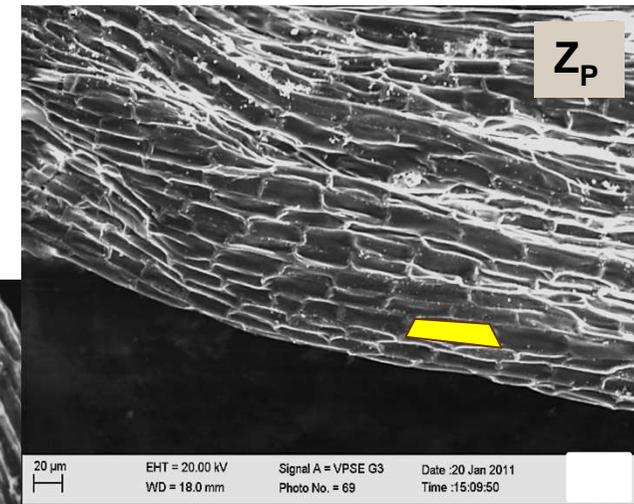
### Esperimento II



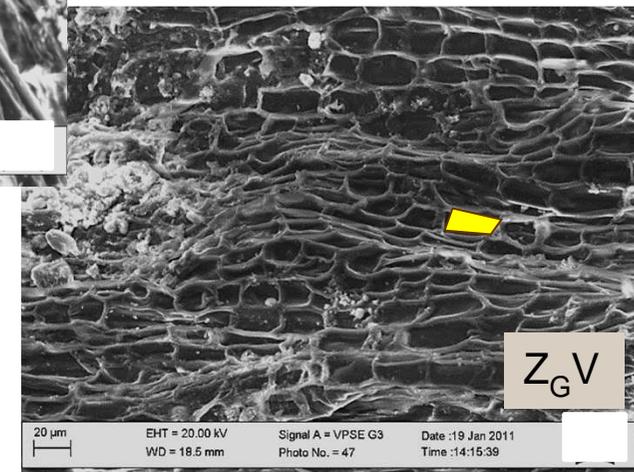
# Microscopia a scansione elettronica-VP di cellule meristematiche radicali di rosa TF nei differenti substrati ( $Z_G$ , $Z_P$ , $Z_G V$ , $Z_P V$ , C)



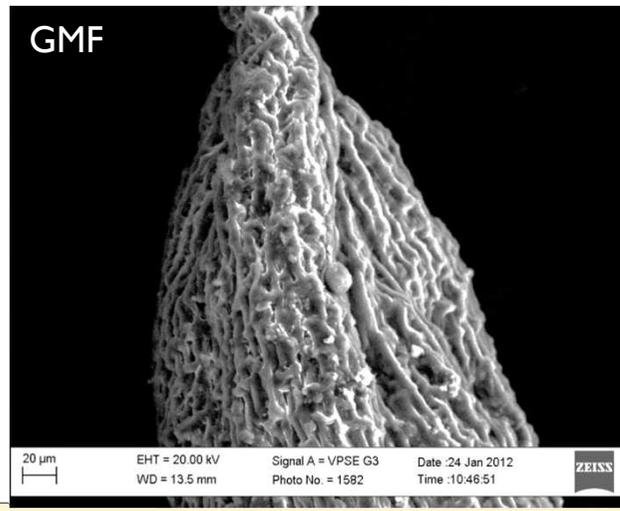
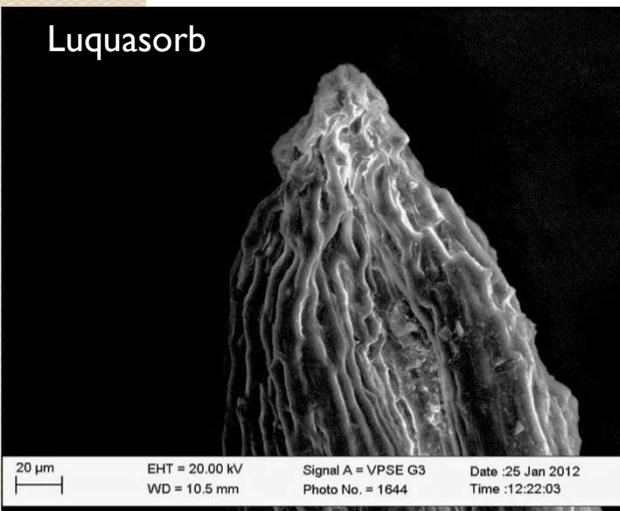
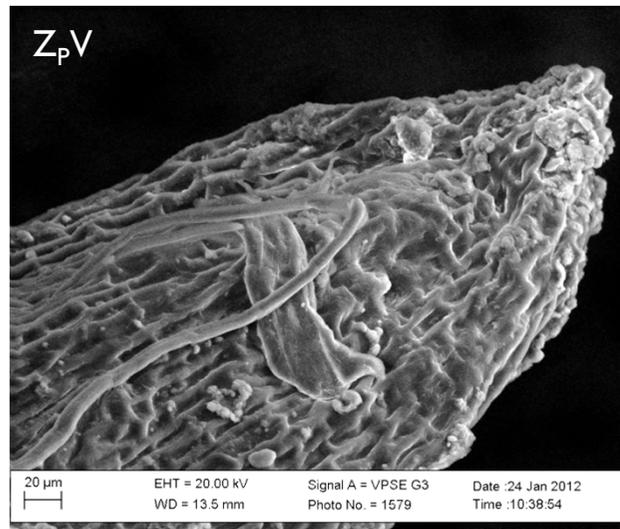
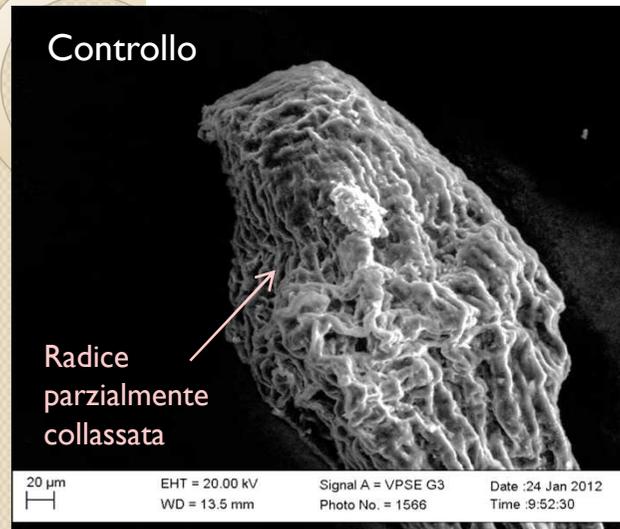
Oggetto  
cellule della cuffia radicale  
↓  
cellule meristematiche  
a 170 mm dalla cuffia



Condizioni operative SEM:  
WD 17,5  
690 X  
Lampada: tungsteno  
Detector:VP-SE  
Dimensioni medie delle  
cellule (lunghezza/larghezza)



# Microscopia a scansione elettronica (SEM) Effetti sulla cuffia radicale (rosa, varietà TF)

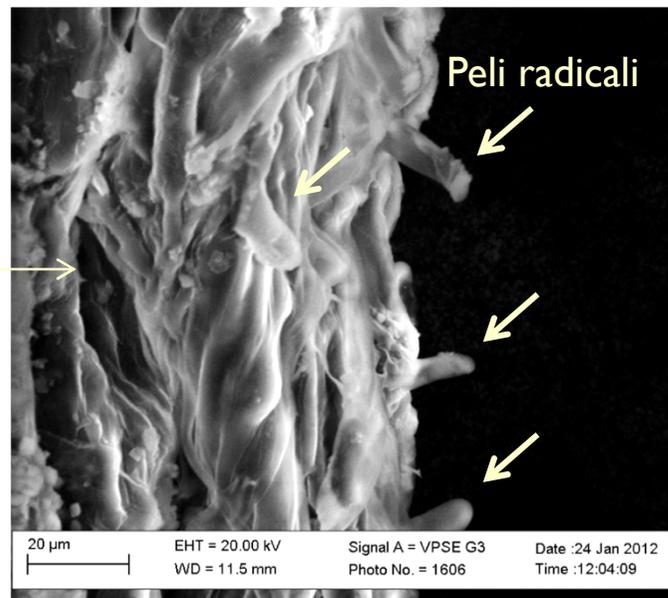
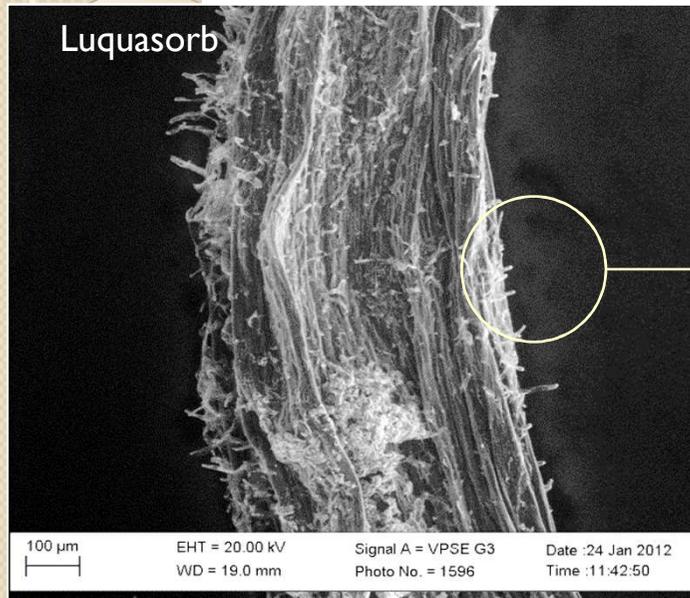


Condizioni operative SEM:  
Mag.: 800 X  
Detector:VP-SE  
Lampada: tungsteno  
Chamber pressure: 20 Pa

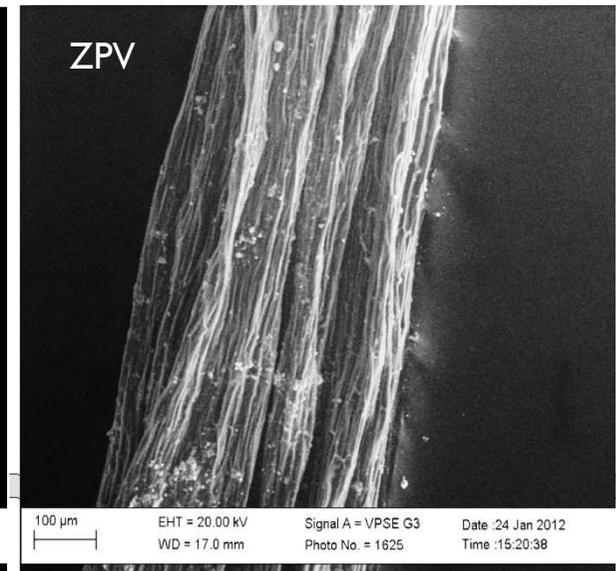
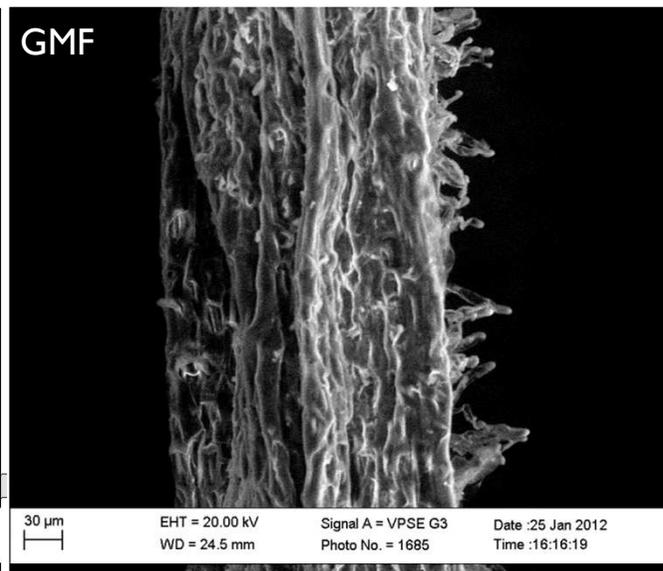
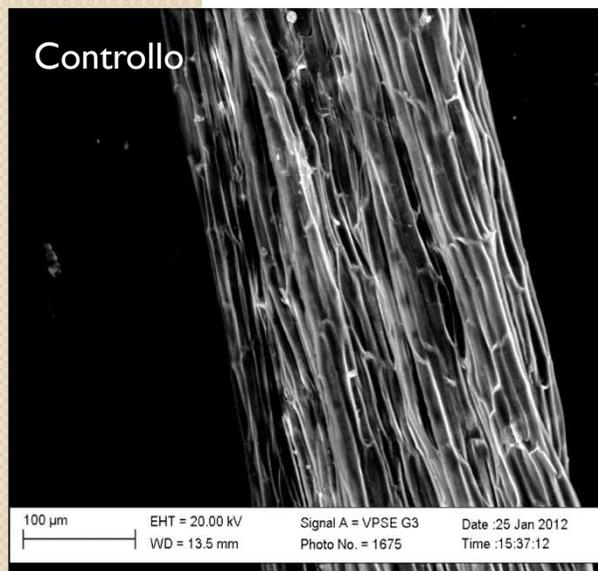
Le cuffie radicali delle  
piante trattate  
trattengono  
maggiormente l'acqua

Luquasorb: cellule della  
cuffia più regolari ed  
ordinate.

# Microscopia a scansione elettronica (SEM) Effetti su peli radicali (rosa, varietà TF)



Luquasorb e concime a matrice vetrosa (GMF) hanno determinato la proliferazione di peli radicali sulla superficie delle radici nell'area meristemica (Rosa, var. *The Fairy*).



### **III.**

# **Effetto allelopatico della segale sullo sviluppo delle infestanti in agricoltura biologica**

# Il problema: Contenimento delle infestanti in agricoltura biologica

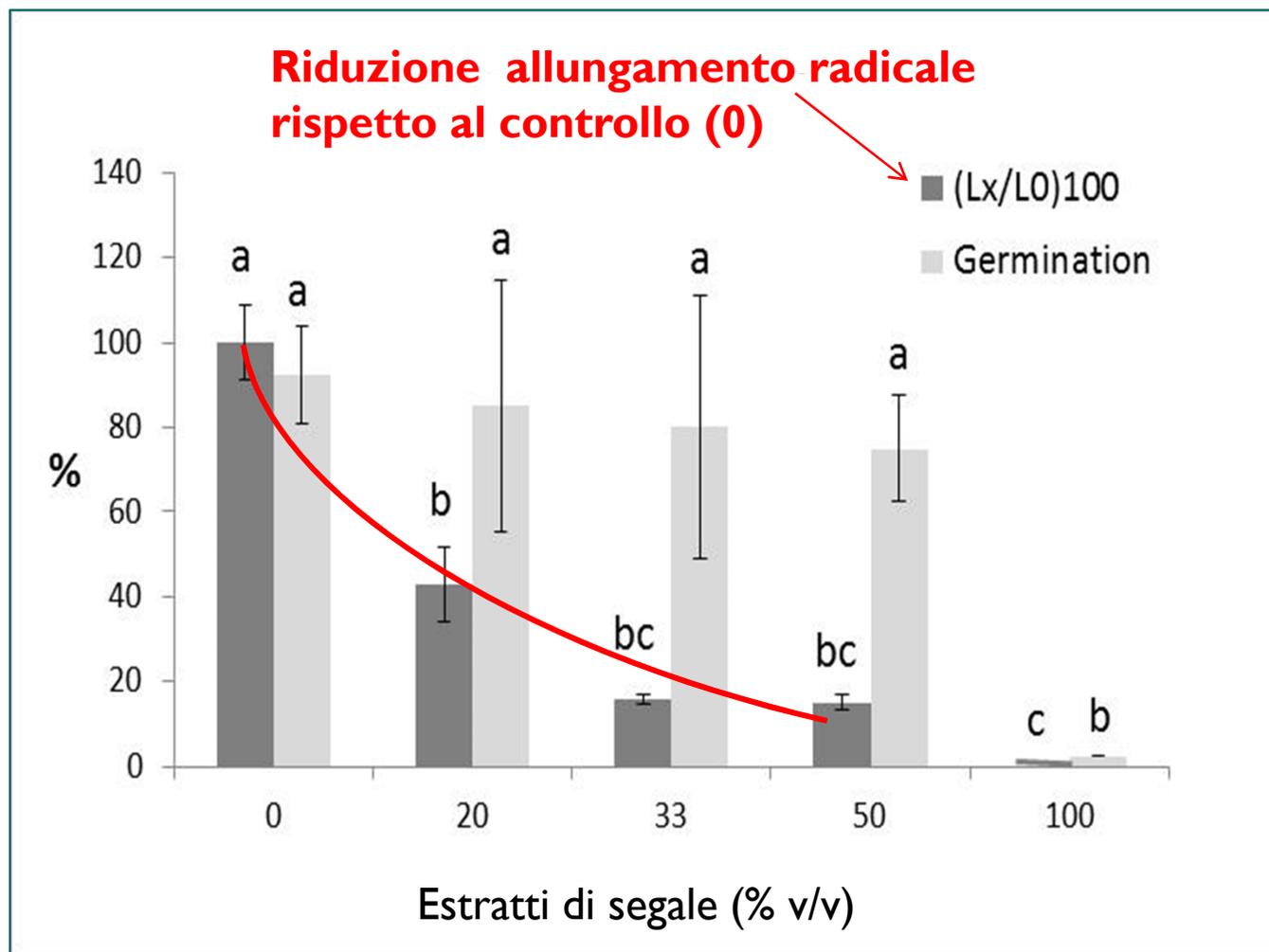
## La strategia: Effetto allelopatico dei cereali autunno-vernini

Valutazione dell'effetto di sostanze allelopatiche estratte dalla segale (cereale autunno-vernino) sulla crescita di infestanti, verificandone l'influenza sulla germinazione e sulla micorrizzazione nella prima fase di sviluppo.

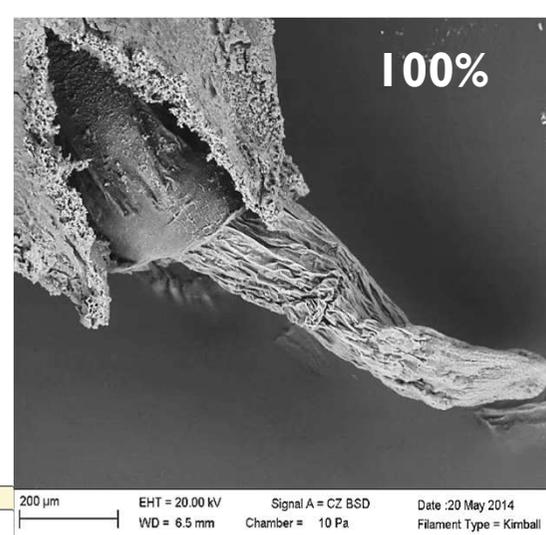
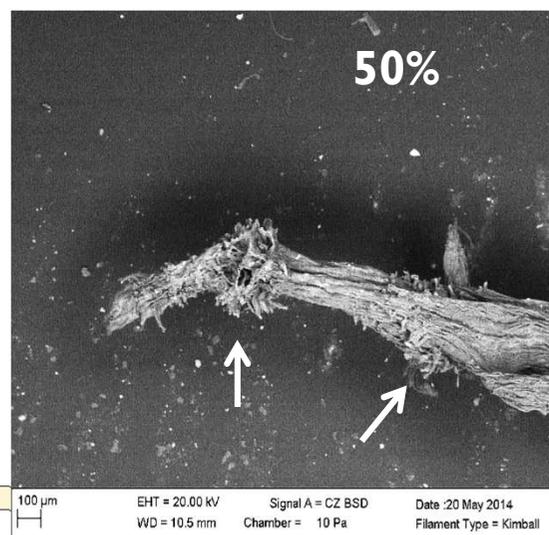
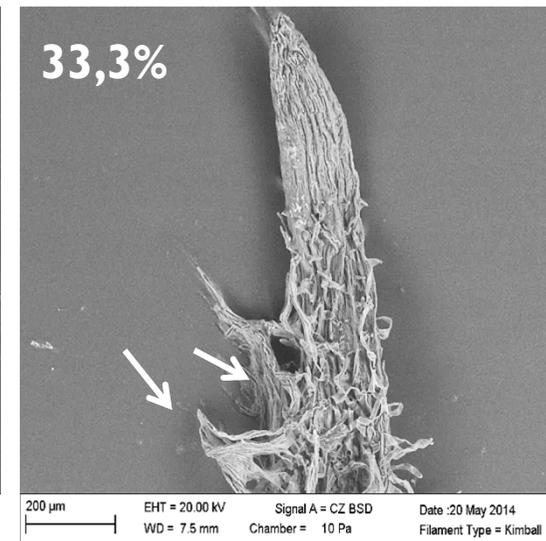
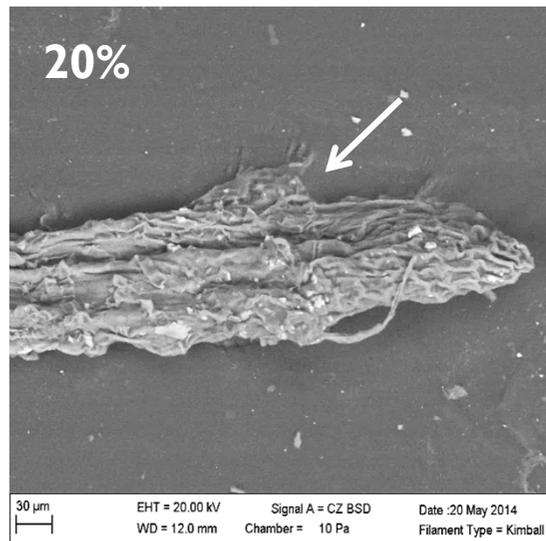
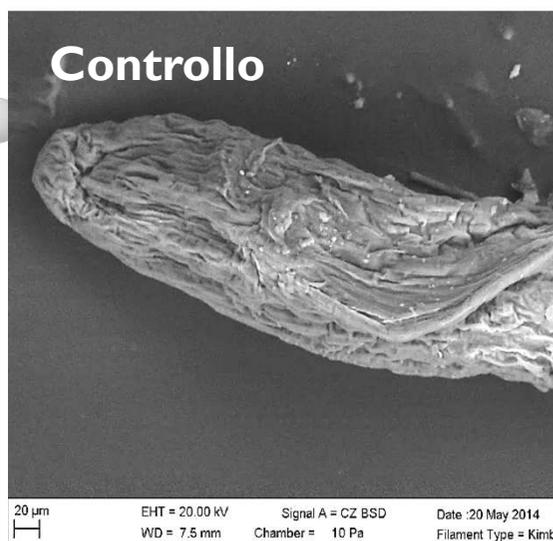


# Estratti di segale a concentrazione crescente:

100%, 50%, 33,3% e 20% ( $v_{EXTR}/v_{H2O}$ )



# Effetto di aggiunta degli EXTR a concentrazione crescente su semi di romice



Trinchera, A., Testani, E., Ciaccia, C., Tittarelli, F. and Canali, S. (2015). May barley and rye extracts have an allelopathic inhibition effect on weed seedling root development by suppressing mycorrhization? *Acta Horticulturae*. 1105, 361-368

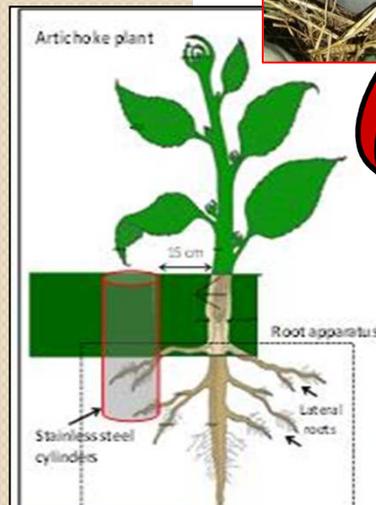
## **IV.**

# **Uso della pacciamatura verde in agricoltura biologica ed effetti sulla micorrizzazione radicale del carciofo**

# Il problema: Miglioramento delle interazioni agro-ecologiche

- Gestione: agricoltura biologica (CREA-ORA, Monsampolo del Tronto, AP)  
Coltura : carciofo (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.)  
2 varietà locali (Marche): **Jesino (Je)** and **Mazzaferrata (cv. Ma)**  
Trattamenti: controllo senza pacciamatura (**no LM**) e con pacciamatura verde (**LM**)

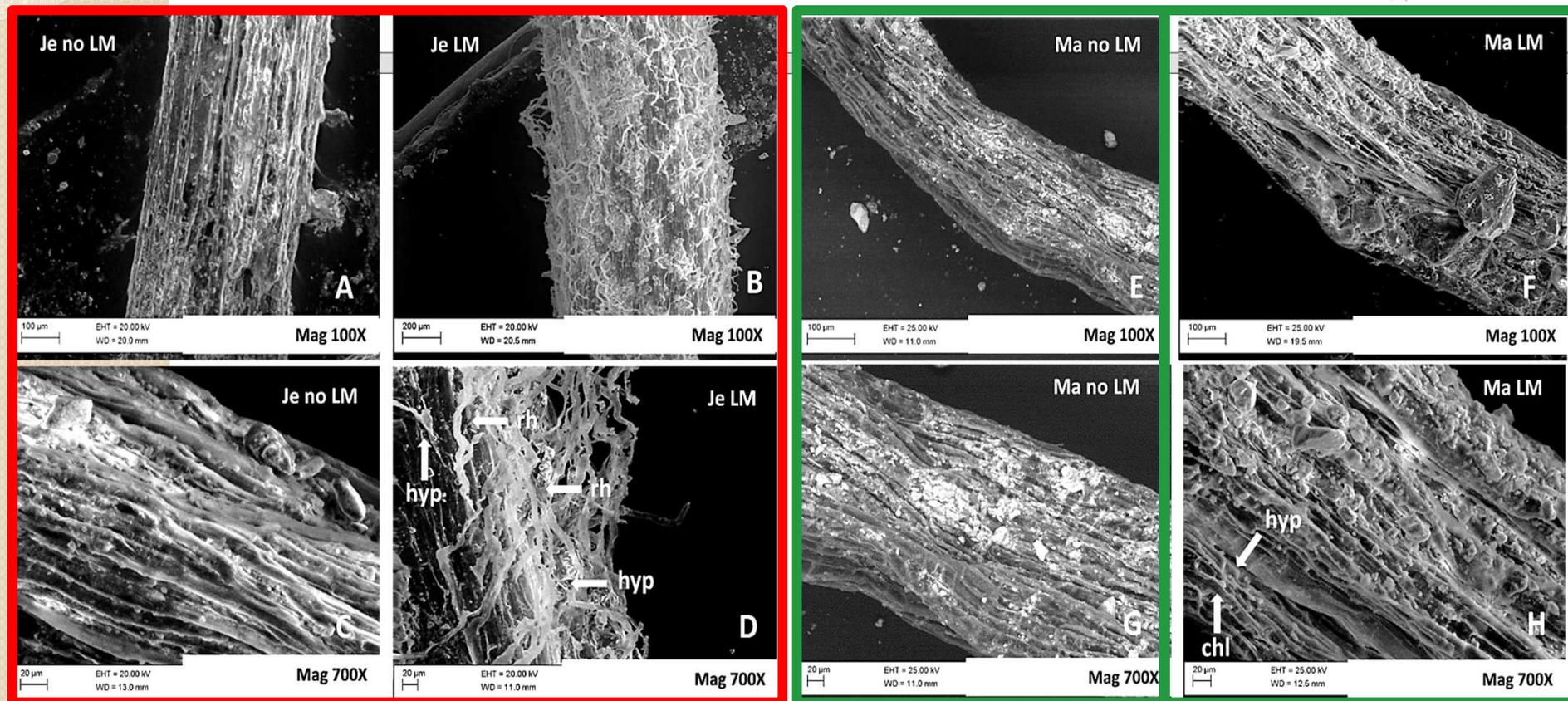
**Obiettivo:** verifica dell'effetto della pacciamatura verde sugli apparati radicali del carciofo e la loro micorrizzazione



Rilevazioni in SEM – VP su apparati radicali freschi

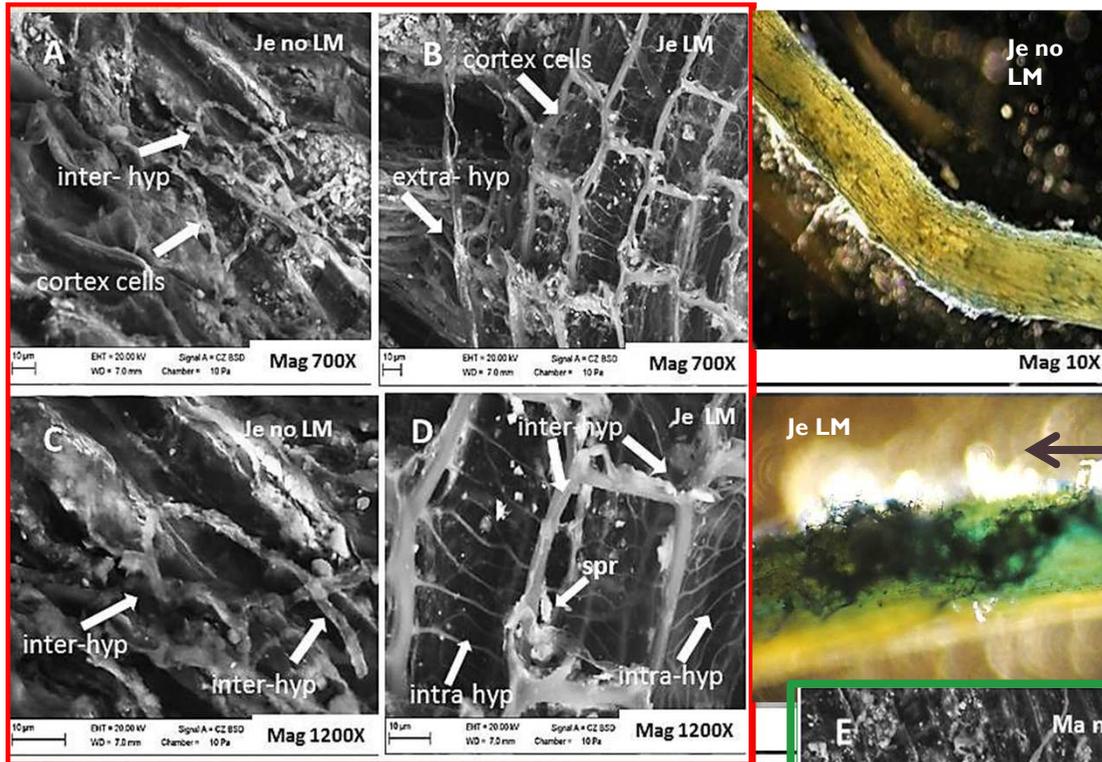
- A. Modifiche morfo-strutturali
- B. Incremento associazioni micorriziche

# A. Modifiche morfo-strutturali in carciofo Je e Ma



Incremento peli radicali e ife fungine nella varietà Jesino (Je) in presenza della pacciamatura verde (LM)

Trinchera A., Testani E., Ciaccia C., Campanelli G., Leteo F., Canali S. (2016). Effects induced by living mulch on rhizosphere interactions in organic artichoke: the cultivar's adaptive strategy. *Renewable Agriculture and Food Systems*. In press.

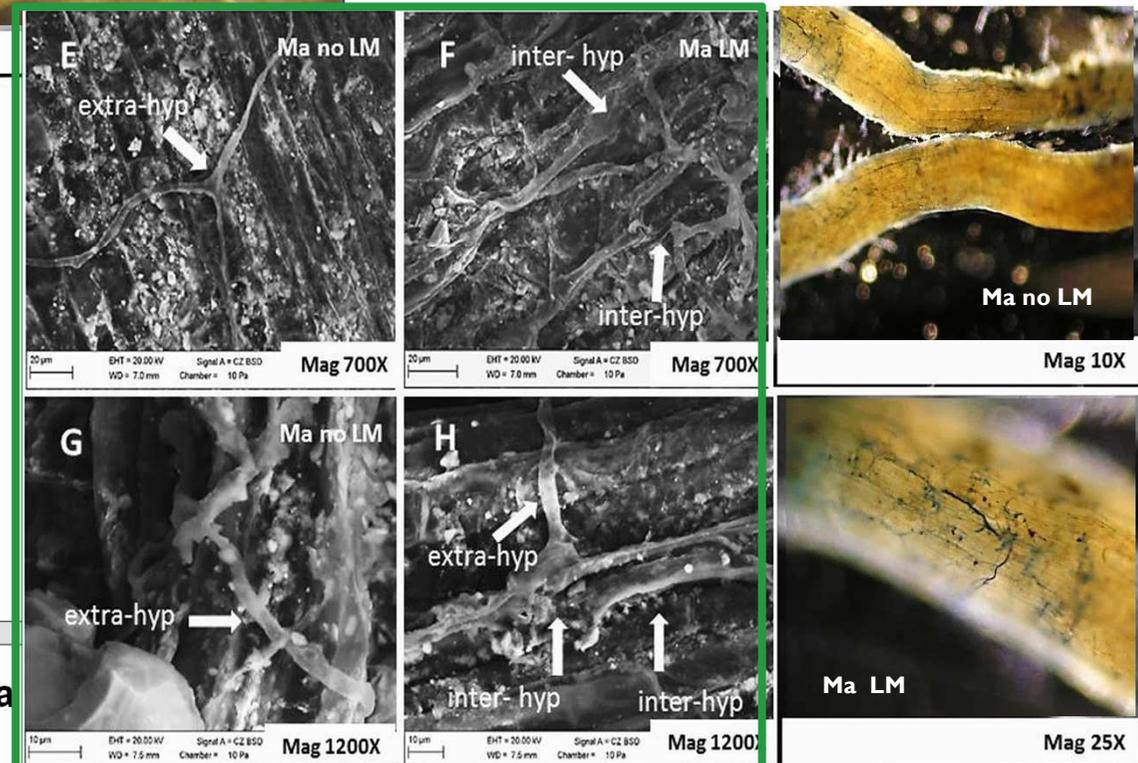


## Incremento associazioni micorriziche in varietà Jesino (Je)

In Je, presenza di inter-, extra- ed intra-ife micorriziche: incremento di colonizzazione endo-micorrizica in presenza di pacciamatura verde (LM)

Ridotta differenza nella varietà Mazzaferata (Ma)

↓  
**Effetto pacciamatura «cultivar-dipendente»**



## In conclusione...

Gli studi ultrastrutturali sulle piante /colture proposti permettono di individuare e teorizzare interessanti meccanismi fisiologici ed eco-fisiologici, successivamente verificabili anche attraverso analisi di tipo chimico, biochimico e fisiologico.

La microscopia SEM può essere quindi considerata un «apripista» per lo sviluppo di ricerche innovative, soprattutto nel campo della eco-fisiologia vegetale, mirata alla tutela dell'ambiente.

*Grazie per l'attenzione*

[alessandra.trincher@crea.gov.it](mailto:alessandra.trincher@crea.gov.it)



**CREA –AA - Centro di ricerca  
Agricoltura e Ambiente – Sede di Roma**

**28° ASSEMBLEA ANNUALE S.I.L.P.A - Seminari tecnico - scientifici  
8-9 giugno 2017, CREA-AA Roma,**