



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

## FLORE

# Repository istituzionale dell'Università degli Studi di Firenze

### **Studio della tuberizzazione in vitro della patata (*Solanum tuberosum* L.) e ruolo dell'azoto**

Questa è la Versione finale referata (Post print/Accepted manuscript) della seguente pubblicazione:

*Original Citation:*

Studio della tuberizzazione in vitro della patata (*Solanum tuberosum* L.) e ruolo dell'azoto / E. Palchetti. - (2004).

*Availability:*

This version is available at: 2158/779900 since:

*Terms of use:*

Open Access

La pubblicazione è resa disponibile sotto le norme e i termini della licenza di deposito, secondo quanto stabilito dalla Policy per l'accesso aperto dell'Università degli Studi di Firenze (<https://www.sba.unifi.it/upload/policy-oa-2016-1.pdf>)

*Publisher copyright claim:*

(Article begins on next page)



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE

Facoltà di Agraria

Dipartimento di Scienze Agronomiche  
e Gestione del Territorio Agroforestale

DISAT

Dottorato di ricerca in Agro - biotecnologie per le Produzioni Tropicali  
(XV Ciclo)

STUDIO DELLA TUBERIZZAZIONE  
IN VITRO DELLA PATATA (*Solanum  
tuberosum* L.) E RUOLO DELL'AZOTO

**Coordinatore**

Chiar.mo Prof. Alessandro Giorgetti

**Tesi di dottorato di**

Enrico Palchetti

**Docente guida**

Chiar.mo Prof. Vincenzo Vecchio

Anno Accademico 2003/2004

# **PARTE GENERALE**

# 1. INTRODUZIONE - LA COLTURA DI PATATA

## 1.1 ORIGINE E DIFFUSIONE DELLA COLTURA

La Cordigliera delle Ande è ritenuta, da numerosi Autori, la patria di origine della patata. Secondo Burton (1948) nell'ambito delle circa 2000 specie botaniche comprese nel genere *Solanum*, oltre 150 producono tuberi eduli e molte di queste crescono selvatiche sugli altopiani dell'America Centrale e Meridionale. Esse rappresentano un alimento prezioso per le popolazioni indigene che iniziarono a coltivare le forme più produttive e più resistenti. Fra le specie che si imposero ne furono caratterizzate due: *Solanum andigenum*, Juz. Et Buck., e *Solanum tuberosum*, L. La prima è tipica dell'ambiente tropicale con 12 ore di luce, la patata più diffusa nella Cordigliera delle Ande a latitudini comprese tra 24° Sud e 10° Nord; mentre la seconda trova condizioni ottimali nelle regioni temperate del Cile meridionale, dove in estate le giornate sono lunghe, a latitudini comprese fra i 45° e i 30°. Le due specie ebbero probabilmente origine comune nelle Ande Peruviane e Boliviane e le condizioni climatiche molto diverse del Cile Meridionale, col concorso del lavoro di selezione attuato dall'uomo, condussero alle modificazioni caratteristiche di *Solanum Tuberosum*.

Si potrebbe considerare che in realtà si tratti di una sola specie – *Solanum andigenum* – e che l'uso del termine *Solanum tuberosum* indichi la specializzazione raggiunta, nelle regioni longidiurne, da una parte nel Cile Meridionale, dall'altra in Europa.

## 1.2. INTRODUZIONE E DIFFUSIONE IN EUROPA

Qualche decennio dopo la conquista del Perù e del Cile da parte degli Spagnoli, la patata venne portata (1560-70) alla Corte di Spagna e da qui si diffuse al Portogallo, alla penisola Italiana ed in tutto il resto dell'Europa continentale.

Pare accertato che le prime patate giunte al continente Europeo fossero tondeggianti a buccia rossa ed a fiori di un violetto cupo (violetto-blu); quelle giunte alle Isole Britanniche oblunghe di buccia bianco-ocra e di fiori porporino-rosa (violetto-rosso).

Le vicende storiche sull'introduzione della patata nell'alimentazione europea sono caratterizzate da una prolungata diffusa resistenza a considerarla un alimento umano; soprattutto in Italia era considerata un utile alimento zootecnico ma era guardata con scetticismo come promettente nuovo prodotto gastronomico.

Con molta probabilità le cause di questa avversione sono da ricercare nei difetti delle prime varietà importate, nelle scarse conoscenze sul modo corretto di conservarle e cucinarle, nel pre-germogliamento e rinverdimento che porta alla formazione di solanina, un alcaloide tossico.

Dalla sua introduzione in Europa, la patata ha impiegato più di due secoli per affermarsi anche se con sensibili differenze cronologiche sull'adozione nei vari paesi Europei, in alcuni dei quali è riportata ad esempio di "monofagismo" dell'età moderna. Inizialmente fu vista nel nostro continente come rara curiosità botanica e solo durante la guerra dei trent'anni (1618-48) ebbe qualche diffusione di carattere agrario.

In Italia, introdotta dalla Spagna verso il 1565, è presente negli orti botanici di Padova (1591) e di Verona (1608) ma a lungo non suscita interesse nella coltivazione. Si afferma che nel 1625 venne coltivata in Toscana dai frati Carmelitani che la importarono direttamente dalla Spagna.

Evidentemente si trattava degli inizi timidi di questa coltivazione. Solo dopo le grandi carestie del 1745 e soprattutto del 1771-72, si iniziò la sua coltivazione in pieno campo. In Inghilterra ed in Austria si ebbero le prime coltivazioni di un certo rilievo. Poi, nei primi decenni del secolo scorso gli investimenti di questa coltura ebbero un crescendo imponente ovunque.

Soddisfazioni ed entusiasmi crebbero in alcuni casi a dismisura. In Irlanda, dove la diffusione di questa coltura fu eccessiva tanto da giungere praticamente alla monocoltura, diventa una delle principali fonti di alimentazione della popolazione. Immane fu la tragedia che colpì l'isola con la grave infestazione di peronospora a partire dal 1845 fino al 47 con la

completa distruzione della produzione. Si calcola che i morti furono circa un milione e gli emigrati, in ondate successive verso gli Stati Uniti, molti di più.

### **1.3 PRODUZIONE DEL TUBERO-SEME**

#### **1.3.1 IMPORTANZA E DESCRIZIONE MORFOLOGICA DEL TUBERO**

Il tubero è un organo di riserva che si forma all'estremità degli stoloni nella parte ipogea della pianta, esso rappresenta la parte edule ma è anche la parte che viene usata per seminare la coltura in pieno campo.

Nel tubero si distinguono la parte apicale (o corona) e la parte opposta dove vi è l'inserzione dello stolone (parte ombelicale). Il tubero è provvisto di gemme (o occhi) spesso più frequenti nella parte apicale. Accanto alle gemme principali vi sono le gemme laterali.

Il tubero in età giovane è ricoperto dall'epidermide che si sfalda facilmente. Al disotto c'è la parte corticale i cui strati esterni (10-15) di cellule si suberificano e danno origine alla buccia provvista di lenticelle per gli scambi gassosi. Nella parte interna troviamo la parte midollare. Parte corticale e midollare sono separate da un anello vascolare.

Le analisi relative alla caratterizzazione della distribuzione della materia secca nel tubero dimostrano che la percentuale in materia secca aumenta passando dalla buccia alla parte corticale interna e midollare esterna, mentre diminuisce proseguendo verso l'interno del midollo.

Nell'ambito delle sostanze contenute nei tuberi assumono rilevanza l'amido, glucidi, diversi amminoacidi, grassi ceneri, acidi organici, solanina (glucoalcaloide velenoso), e talune vitamine (C,A,B). Per quanto riguarda l'amido (60-80% su s.s.) la maggiore quantità di granuli si trova in prossimità del cambio: quindi nella parte periferica del midollo e nella parte interna della corteccia. La zona più interna del midollo appare spesso translucida perché la più povera di amido.

I tuberi possono diversificarsi per dimensione e forma, per numero, disposizione, profondità delle gemme, colore forma delle gemme, per il colore e caratteristiche del tessuto suberoso esterno, per il colore della polpa, ecc.

#### **1.3.2 TECNICHE DI MOLTIPLICAZIONE IMPIEGATE PER L'OTTENIMENTO DI TUBERO-SEME**

Il materiale vegetale oggi largamente impiegato nella coltivazione della patata (*Solanum Tuberosum*) è rappresentato da tuberi con calibro tra 28-60 mm e peso compreso tra 55-60 g. Per ottenere tale materiale possiamo considerare due metodi principali: convenzionale e coltura in vitro.

- Metodo convenzionale

Tale sistema di produzione di tubero-seme viene effettuato in pieno campo attraverso una serie di moltiplicazioni. Oggi questo metodo è quello più largamente diffuso.

Esso si realizza partendo da tuberi-seme sicuramente sani, moltiplicati senza contaminazioni per più anni. I tuberi capostipiti sono studiati accuratamente attraverso il comportamento delle discendenze delle piante a cui appartengono. Lo stato sanitario è studiato secondo più direttrici (allevamento di tuberi in serra o pieno campo, esami sierologici, esami con piante indicatrici, esami istologici, citologici, biochimici). La selezione si compendia nella selezione massale, realizzata attraverso la sola selezione negativa con la quale vengono eliminate le piante che in coltura manifestano sintomi di virosi.

Come indicato precedentemente questo è un metodo di pieno campo per cui la scelta dell'ambiente adatto è un fattore determinante per ottenere un prodotto sano, soprattutto per quanto riguarda le virosi che rappresentano l'insidia maggiore che può compromettere gravemente la produttività, e che non danno manifestazioni sui tuberi affetti ma i sintomi si possono rilevare sulla discendenza dei tuberi-seme. Inoltre un ambiente adatto è importante anche per ottenere tuberi-seme con ottimo vigore vegetativo.

I requisiti necessari perché una zona sia adatta alla produzione di patate da seme sono: inverni freddi, primavere fresche, notti fresche, forti venti e precipitazioni frequenti. Il clima rigido non risulta compatibile col clima biologico degli afidi. Gli inverni freddi ostacolano lo svernamento degli afidi adulti. Le primavere fresche impediscono il moltiplicarsi delle prime generazioni di afidi. Le notti fresche ne frenano l'attività. I venti forti e continui impediscono l'atterraggio ed il soffermarsi degli afidi sulle coltivazioni. Le piogge frequenti e violente disturbano la fisiologia degli afidi. Queste condizioni possono ricorrere sia in pianura che a monte. Nei paesi del centro e nord Europa – come Olanda, Irlanda, Regno Unito, Scozia, Germania – la pataticoltura da semente si fa per lo più in pianura ed in bassa collina.

In alcuni paesi produttori vengono realizzate delle aree denominate “zone chiuse” che sono comprensori dove si coltivano solo patate da seme o si impiegano sistematicamente tuberi-seme eletti. Un esempio è la Polonia che ha zone chiuse la cui scelta è basata sull'assenza di organismi nocivi compresi in liste di “quarantena”. Tutti gli appezzamenti investiti a patata, anche quelli non destinati alla produzione dei tuberi da semina sono sottoposti agli stessi controlli previsti ai fini della certificazione dei tuberi-seme. Altri esempi sono le “high grade regions” del Regno Unito.

Un altro aspetto della pataticoltura da semina è la distruzione anticipata dei cespi. Questa tecnica trova amplissimi riferimenti bibliografici nella letteratura scientifica di tutti i paesi



produttori di patate da semina. L'esperienza conferma che – salvo alcuni particolarissimi casi ove ricorrono condizioni ambientali nettamente sfavorevoli alla diffusione dei vettori di infezioni virotiche – senza ricorso alla distruzione dei cespi risulta quasi impossibile limitare la contaminazione. Nella maggior parte dei Paesi della CEE la disposizione assume un carattere di obbligatorietà; in taluni casi la distruzione è soltanto raccomandata.

Nelle zone dove di norma compaiono infestazioni tardive di afidi responsabili delle infezioni virotiche si deve procedere alla distruzione dei cespi da effettuarsi entro precise scadenze. Si possono così evitare in gran parte le eventuali infezioni tardive pur con evidente parziale sacrificio della quantità ponderale del raccolto dei tuberi. Nella esecuzione di questa pratica è di grande importanza la scelta dell'epoca in cui eseguirla. L'indicazione è data dalla presenza degli afidi alati. La frequenza degli alati di *MYZUS PERSICAE* è rappresentata da una curva con due sommità corrispondenti alla colonizzazione primaria ed a quella secondaria di massa che parte dalle piante ospiti estive (normalmente è la più pericolosa). Secondo il noto afidologo olandese H. R. Lambers l'epoca dell'estirpamento dovrebbe coincidere con la massima fase di colonizzazione secondaria; ossia quando la curva tende alla seconda sommità.

Le date di distruzione variano in funzione delle condizioni ambientali delle zone di produzione, della classe di precocità delle varietà, della categoria di appartenenza delle patate da semina, ecc. Per le categorie e classi meno elevate tale data viene talvolta lievemente dilazionata, rispetto all'epoca ottimale, così da raggiungere un compromesso tra stato sanitario dei tuberi e contrazione del raccolto. In taluni paesi, quando il produttore ritarda la distruzione, viene operato d'ufficio il declassamento o la disapprovazione definitiva della coltura.

La distruzione dei cespi può essere fatta con metodi fisici o chimici. Al momento della distruzione i tuberi possiedono una buccia tanto più sottile quanto l'operazione è stata effettuata presto; è dunque indispensabile mantenerli nel terreno per un periodo di almeno 25-30 giorni, così che con il perfezionamento dei tessuti aumenterà la resistenza agli urti e saranno limitate le perdite di peso dovute alla evaporazione durante la conservazione.

- Coltura in vitro

Sin dal 1953 (Baker, Norris, ecc.) sono stati numerosi gli autori che hanno condotto studi sulle tecniche di moltiplicazione in vitro per *Solanum Tuberosum*. Attualmente esiste una ricca bibliografia sull'argomento e sono numerosi i laboratori in tutto il mondo che utilizzano le tecniche di coltura in vitro sia per la moltiplicazione e mantenimento del germoplasma che per la produzione di propagoli vegetativi quali microtuberi e minituberi. Nell'accezione più comune, vengono considerati come vitrotuberi (o microtuberi) quelli

prodotti in vitro, aventi diametro di 3-10 mm e peso di 20-700 mg; sono definiti minituberi, invece, quelli ottenuti in vivo da vitropiantine oppure da vitrotuberi, con diametro di 5-20 mm e peso di 1-6 g (Lommen e Struik, 1990).

I parametri considerati fondamentali per lo studio della tuberizzazione in vitro sono stati: il substrato, il fotoperiodo, l'intensità luminosa, la temperatura ed il genotipo (Rosell e al. 1987; Garner e Brake, 1989; Marinus, 1990; Forti e al. 1990).

La caratteristica della coltura in vitro è che viene fatta in ambienti chiusi, asettici, in condizioni controllate (per quanto riguarda la temperatura, fotoperiodo, ecc.). Considerando che nell'ambito della coltura in vitro ogni laboratorio ha sviluppato una tecnica particolare si descrivono di seguito i passaggi principali che sono comuni per tutti.

a) Il materiale di partenza è dato da meristemi espuntati dai germogli del tubero della varietà che si vuole moltiplicare. In genere prima dell'espunto i germogli subiscono un trattamento chimico o termico per una maggiore sicurezza sanitaria. Poi il meristema espuntato viene messo in un substrato adatto che in genere è rappresentato da MS (Murashige & Skoog, 1962) modificato e in condizioni opportune per quanto riguarda fotoperiodo e temperatura. Ricordiamo che per la coltura in vitro l'utilizzo del meristema come materiale di partenza garantisce l'eliminazione di eventuali virus senza indurre cambiamenti genetici, come può avvenire nel caso del callo (Wang e Hu, 1980)

b) Dopo alcune settimane si ottengono delle vitropiantine che possono essere utilizzate per una successiva moltiplicazione del materiale. Ciò viene fatto tramite talee uninodali mediane, perché si è visto che sono queste ultime ad avere una maggiore capacità di crescita rispetto a quelle basali e apicali (LE "SMALL CAP", C.L.,1991), che vengono traslocate a loro volta su un substrato opportuno ed in condizioni adatte.

c) Le piantine così ottenute possono essere indotte a tuberizzare sempre agendo sul substrato e sulle condizioni di crescita.

Tutte le operazioni descritte vengono effettuate sotto cappa a flusso laminare e con strumenti sterili.

L'impiego dei microtuberi potrà in futuro essere in grado di razionalizzare il sistema di produzione del tubero-seme, in quanto garantisce una migliore qualità e riduce il tempo necessario per l'ottenimento dei tuberi certificati rispetto al sistema convenzionale, passando da circa 7-9 generazioni a 4-5 (Vecchio et al., 1991).

Oggi nei paesi del nord Europa, anche se più fortunati dal punto di vista sanitario, lo svolgimento delle prime moltiplicazioni in condizioni protette (laboratorio e greenhouse) permette un minore impegno di terreno rispetto alla tradizionale selezione clonale che, come è noto, richiede molti cicli di moltiplicazione. Ciò risulta anche vantaggioso per il

minore rischio di accumulo di fitopatie nel suolo, nel momento in cui non esistono possibilità di poter adottare rotazioni ampie (in Olanda, per esempio, il 21% della superficie totale è annualmente coltivata a patata) (Haverkort et al., 1991).

Nell'ambito dei vari tipi di propagoli, i vitrotuberi possono rappresentare una valida alternativa alle vitropiantine, anche per lo scambio di germoplasma, poiché sono più tolleranti alle variazioni di luce e di temperatura e sono meno suscettibili a danneggiamenti. Il maggiore entusiasmo per i vitrotuberi è derivato, comunque, da un loro possibile utilizzo in programmi di moltiplicazione di patata da seme. Di fatto, condizioni logistiche particolari (elevata distanza fra laboratorio di produzione dei propagoli e screenhouse di allevamento) e la necessità di svincolare i tempi di produzione in laboratorio, rispetto a quello di utilizzo in campo dei materiali propagati, possono consigliare l'impiego di vitrotuberi in alternativa oppure in combinazione con quello delle vitropiantine (Ranalli et al., 1994).

Quindi possiamo dire che le tecniche di propagazione in vitro rappresentano un supporto essenziale in programmi di moltiplicazione di tubero-seme in ambienti con condizioni sanitarie sfavorevoli. Il contributo di queste tecniche è rappresentato dalla possibilità di ottenere in breve tempo, e a partire da pochi espianti iniziali completamente sani, grossi quantitativi di propagoli sani, da utilizzare per le successive moltiplicazioni in screenhouse oppure in pieno campo (in questo caso in condizioni particolari di isolamento: nicchie). L'aspetto innovativo di questo approccio è che, una volta ottenuti grossi quantitativi di tuberi-seme pre-base, occorrono ancora poche moltiplicazioni in pieno campo (con ridotti rischi di abbattimento della sanità iniziale oltre limiti pregiudizievoli) per arrivare ai quantitativi prefissati di tubero-seme certificato (RANALLI et al., 1994).

### **1.3.3 SITUAZIONE ATTUALE DELLA PRODUZIONE DI TUBERO-SEME IN ITALIA**

Da sempre, il punto di maggior debolezza della pataticoltura italiana è ravvisabile nella dipendenza dall'estero per l'approvvigionamento del seme. I governanti si sono ripetutamente preoccupati di tale situazione, almeno dalla fine dell'ultima guerra, ma con sforzi non coronati da successi netti.

A metà degli anni 80, la migliore attività di ricerca di base stava formando conoscenze e mezzi di applicazione generale, che parevano meritevoli di sfruttamento anche specifico per la patata. La coltivazione in vitro, appariva utilizzabile pure per la patata, per attività di moltiplicazione rapida in sanità, con proporzionale "sganciamento" dalla moltiplicazione in pieno campo. Sul piano diagnostico delle virosi, poi, erano sul punto di trovare utilizzazione nuove tecniche di rapida applicazione, utilizzabili pure per il saggio del contingente livello di sanità di grandi numeri di piante in tempi brevi e con conseguenti costi ridotti. Simili situazione incoraggiò l'avvio di un nuovo organico "Progetto nazionale per la patata-seme", di durata quinquennale, a partire dal 1985, con finanziamento dell'allora Ministero dell'agricoltura e foreste. In complesso la ricerca sviluppata nei cinque anni seguenti dava risposte quanto mai chiare.

Sul piano diagnostico, venivano messe a punto modalità del tutto affidabili ed applicabili routinariamente su grandi numeri di piante in tempi assai brevi.

Per la moltiplicazione in vitro, erano individuate le condizioni più opportune per ottenere grandi numeri di piantine sane, adatte al miglior attecchimento in screenhouse. Analogamente, erano messe a punto le migliori tecniche di coltivazione in screenhouse, con l'ottenimento di materiale pre-base del tutto idoneo per l'ulteriore moltiplicazione in campo. Le coltivazioni in campo fornivano indicazioni articolate, in funzione dei vari ambienti e delle varie epoche di coltivazione. Alla fine del quinquennio la situazione poteva essere così riassunta:

- a) le tecniche di moltiplicazione in ambiente confinato (in vitro e sotto screenhouse) sono ormai perfezionate e pronte per una ampia applicazione a livello pratico, al servizio dei coltivatori di patata da seme;
- b) il passaggio dalla fase moltiplicativa in ambiente protetto a quella a cielo aperto presenta difficoltà diversi per i vari ambienti italiani. Quasi sicuramente è necessario che le prime fasi di coltivazione a cielo aperto possano avvenire in microambienti specializzati ("nicchie" collocate in aree ed in epoche colturali particolari), con criteri tecnici specifici, messi a punto e perfezionati per ciascun ambiente;

c) la moltiplicazione della patata da seme in pieno campo non può prescindere, oltre che dagli altri affinamenti colturali, da una interruzione anticipata (con “trattamento disseccante”) delle coltivazioni in atto, in un certo giorno da individuare, di volta in volta, in funzione dei fattori che mettono a rischio la sanità del prodotto. Le ricerche condotte hanno evidenziato come, nei vari ambienti italiani, possono assumere importanza preminente indici di valutazione diversi: virosi localmente dominanti, evoluzione delle popolazioni afidiche, primi momenti dell’infezione della pianta, diversa suscettibilità varietale e forse anche altri fattori, considerati da soli o in diverse combinazioni fra loro (Casarini, 1994).

Attualmente il fabbisogno italiano di patata da seme risulta essere di circa 2.000.000 di quintali, pari ad una superficie di circa 90.000 ha (fonte ISMEA 1997), impiegando mediamente 22 q di seme per ettaro. A fronte di tale necessità, la produzione certificata in Italia nel 1997 è stata di 132.116 q, mentre il quantitativo di tuberi seme importato dall’estero è stato di circa 940.000 q (fonte QS s.r.l. 1997), con un esborso di 70-80 miliardi di lire. Il resto è rappresentato dal reimpiego aziendale.

Le zone di produzione di patata da seme in Italia sono:

- Alto Adige (48.082 q);
- Appennino Tosco-Emiliano (12.272 q);
- Altopiano Silano (71.762 q) (Adinolfi, 1998).

Dall’esame dei dati relativi all’attività di controllo e certificazione dell’Ente Nazionale delle Sementi Elette, nel periodo 1992-97 (tab. 1), si evidenzia un andamento decrescente sia delle superfici approvate che dei quantitativi certificati di patata da seme: difatti dai 2.176 ha del 92 si è passati a 1.239 ha nel 1997 e dai 219.000 q del 92 si è passati ai 132.000 q del 97 (Adinolfi, 1998).

La pataticoltura italiana è caratterizzata da un’estrema frammentazione produttiva, sia sotto il profilo delle varietà che della superficie media destinata a tale coltura, che non supera 0,3 ha. Questo valore risulta di gran lunga inferiore alle medie di altri paesi comunitari, come ad esempio il Regno Unito o i Paesi Bassi, dove la superficie media investita a patata è rispettivamente di 3,6 e 3,8 ha.

Le principali varietà da seme coltivate in Italia sono: Spunta 43%, Kennebec 13,5%, Majestic 10,4%, All Gelbe 6,4%, Draga 5,5%, Desireè 4,3%, Liseta 2,9%. Queste 7 varietà rappresentano complessivamente l’86% circa della produzione italiana del 1997. Il restante è rappresentato da altre 28 varietà, la maggior parte delle quali di provenienza olandese (Adinolfi, 1998).

Bisogna segnalare, tra l'altro, che non disponiamo ancora di costituzioni italiane alternative alle suddette varietà. Infatti, nel 1997 tra le varietà di costituzione italiana, sono stati controllati solo 1.3 ha di Alba, 0.59 ha di Desital, 2.3 ha di Imola, 2.45 ha di Merit, con un quantitativo totale di seme certificato pre-base e base di 312 q.li (Adinolfi, 1998).

Ricordiamo a tale proposito che la presenza di sole varietà straniere ha consentito per ragioni di brevetto e di royalties di intervenire solo nella parte finale del sistema di moltiplicazione del tubero, producendo seme certificato con destinazione per la sola produzione di tubero da pasto e da industria.

In Italia a seguito del DPR n° 576 del 8 agosto 1994 la classificazione dei tuberi si articola in:

- tubero-seme base S (Super),
- tubero-seme base SE (Super Elite);
- tubero-seme base E (Elite);
- tubero-seme certificato A-B;

Inoltre i tuberi-seme di base devono presentare le seguenti caratteristiche:

la percentuale di piante che presentano sintomi di gamba nera "Erwinia caratavora" non deve essere superiore a.

- 0 per la categoria base, classe "S";
- 0.5 per la categoria base, classe "SE";
- 1.0 per la categoria base, classe "E";
- 1.5 per la categoria certificata, classe "A";
- 2.0 per la categoria certificata, classe "B".

I tuberi seme devono essere esenti da:

- Globodera rostochiensis;
- Dytlenchus destructor;
- Corynebacterium sepedonicum;
- Pseudomonas solanacearum;
- Synchytrium endobioticum.

La classificazione su riportata riguarda infine anche la percentuale di infezione virotica presente nel materiale prodotto: i tuberi con 1% di virosi vengono classificati S, con 2% SE, e con 3% E, percentuali superiori al 7% fino al 10% comprendono i tuberi certificati.

Come ricordato sopra le zone più vocate per la patata da seme sono localizzate nell'Alto Adige ed in particolare in tutta l'alta Pusteria, e sull'altopiano della Sila.

Per quanto riguarda l'alta Pusteria questa potrebbe rappresentare una ampia "nicchia" atta alla conservazione di uno stato sanitario abbastanza completo per il seme da sottoporre ad alcuni cicli moltiplicativi tra una prima moltiplicazione in ambiente protetto e le successive coltivazioni nei diversi ambienti già collaudati per la produzione del "certificato" (Casarini, 1994).

Per quanto riguarda l'altopiano della Sila, secondo Adinolfi (1998), i produttori silani dispongono di un ambiente ideale per la produzione di tuberi-seme. Essi hanno compiuto grandi progressi nella tecnica colturale ed hanno migliorato le loro strutture di conservazione e lavorazione. Un ulteriore sforzo da parte loro deve essere compiuto nel campo del miglioramento della produzione: con un accurata rotazione (per evitare il pericolo di infestazioni di nematodi), con l'epurazione dei ceppi virosati, con la distruzione anticipata dei ceppi, con la creazione di "aree chiuse", con trattamento contro malattie fungine e batteriche durante la fase di conservazione dei tuberi-seme.

In merito va ricordato che nelle località del Centro Europa – in aree ben conosciute per essere tra le principali produttrici del miglior seme certificato –, l'incidenza afidica risulta tra le più elevate (fino a 7 mila afidi per pianta con punte di oltre 20 mila), ma nonostante ciò la sanità del prodotto non viene compromessa grazie ai tempestivi interventi di epurazione e di distruzione anticipata dei cespi virosati.

In Sila nel periodo giugno-settembre si sono contati non più di 60 afidi per pianta. Tali dati evidenziano che non è tanto il numero di afidi che deve preoccupare quanto la presenza di fonti di inquinamento. La stessa Olanda è tra le nazioni tradizionalmente più soggette a migrazioni afidiche (Hanewijn, 1980) e la sua attuale posizione di preminenza è da ritenere il solo effetto di una valida ed efficiente organizzazione.

Per concludere il quadro tracciato, si evidenzia chiaramente che la possibilità di sviluppo e di miglioramento della pataticoltura da seme nel nostro paese è subordinata alla rimozione di alcuni fattori negativi, quali la mancata attuazione di tutte le più razionali tecniche colturali, la mancata diversificazione delle fonti di approvvigionamento di seme certificato ed il mancato sviluppo dei circuiti commerciali. La rimozione di tali fattori, associata ad una maggiore divulgazione dell'uso delle sementi certificate, rappresenta la premessa indispensabile per incentivare una delle produzioni di maggiore interesse per l'economia del nostro paese, soprattutto per il recupero delle aree interne di montagna, dove non esistono valide alternative colturali.

Bisogna aggiungere al quadro descritto il fatto che nel 1998 è stato iniziato il "Progetto di ricerca sul miglioramento genetico della patata" con il quale si punta alla realizzazione di genotipi idonei ad essere coltivati in ciclo autunno-vernino-primaverile per la produzione

della patata precoce o novella ed in ciclo estivo-autunnale per la patata bisestile, che rappresentano due tipologie produttive esclusive degli ambienti mediterranei; inoltre l'Italia potrebbe assumere una posizione strategica nella fornitura di tuberi-seme ai paesi del Nord-Africa e del Medio-Oriente (Terra E Vita, 1999).



#### 1.4 ASPETTI PRINCIPALI DELLA FISIOLOGIA DELLA TUBERIZZAZIONE

Il risultato finale della tuberizzazione è la formazione di amido nei tuberi nelle proporzioni che caratterizzano ciascuna tipologia di tubero. Il materiale necessario per la tuberizzazione arriva dalla fotosintesi e dalla conseguente ripartizione degli assimilati. Secondo Moorby (1970) alla fine della stagione il 90% dei fotosintati proviene dalle foglie mentre il 10% dal fusto.

Nella patata i tuberi e la parte epigea competono, quindi, per il materiale di fotosintesi. Se il carbonio andrà alla parte epigea o nei tuberi dipende dal rapporto GA:ABA. Se tale rapporto è alto si ha un maggiore sviluppo vegetativo mentre la tuberizzazione è limitata o ritardata (Krauss, 1978a, b). L'alto livello di gibberelline riduce l'attività dell'enzima ADPG, questo enzima permette la formazione dell'amido nei granuli a partire dalle molecole di glucosio quindi una riduzione della sua attività rallenta o impedisce la formazione dei tuberi (Mares et al., 1980).

Molti fattori ambientali possono influenzare questo rapporto. Temperature alte durante la notte (fase in cui avviene il trasferimento dei carboidrati) producono un alto livello di gibberelline. In passato questa risposta alle alte temperature ha impedito la produzione di patate nei climi tropicali. Il C.I.P. nel Perù sta usando due approcci per superare questo problema. Con i cloni tradizionali, che hanno problemi a produrre con alte temperature, stanno provando varie tecniche di ombreggiamento per ridurre la temperatura del suolo. Il secondo approccio è quello di selezionare nuovi cloni con una maggiore tolleranza ai climi tropicali.

Alcuni cloni presentano un alto livello di gibberelline quando sono in condizioni di fotoperiodo lungo (Krauss et al., 1982). Questo potrebbe essere un problema per le regioni temperate nelle quali però le cultivar più comuni sono neutrodiurne e quindi probabilmente hanno perso questa risposta al fotoperiodo.

Un ruolo importante sulla distribuzione dei carboidrati è svolto anche dall'azoto. In alcuni studi (Sattelmacher et al., 1979; Krauss et al., 1982) si è visto che sotto condizioni climatiche induttive (20°C e 12h) e con nutrizione azotata continua le piante presentavano un basso livello di ABA e un alto livello di GA, tali piante non hanno tuberizzato. Sotto le stesse condizioni con una nutrizione azotata discontinua si è osservato un aumento di ABA ed una diminuzione di GA per cui si sono formati tuberi. Con la ripresa della nutrizione azotata il rapporto ABA/GA si è nuovamente abbassato e i tuberi hanno formato gli stoloni, si è verificata quindi una ricrescita. Sotto condizioni climatiche non induttive (30°C e 18h) l'interruzione della nutrizione azotata ha aumentato l'ABA ma non si è ottenuto una

diminuzione di GA, in questo caso non si sono formati i tuberi. Questi risultati indicano che l'azoto, come il fotoperiodo e la temperatura, può controllare la tuberizzazione influenzando il rapporto ABA/GA (Sattelmacher et al., 1979; Krauss et al., 1982).

Sotto condizioni di bassa intensità luminosa ( $100 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ) non solo si è avuta una minore fotosintesi ma si è avuta anche una bassa percentuale di trasferimento di carboidrati nei tuberi (Gawronska et al., 1985).

I tuberi si formano nella parte ipogea della pianta ed esattamente sugli stoloni che si formano dai nodi basali della pianta. Affinché si abbia lo stimolo alla formazione degli stoloni il livello di gibberelline dovrebbe essere alto, mentre le gemme laterali formeranno stoloni solo se si ha anche un livello basso di citochinine a causa della dominanza apicale. L'allungamento degli stoloni dipende anche da un alto livello di gibberelline ed uno basso di citochinine. La cessazione della crescita dello stolone, essenziale affinché inizi il processo di tuberizzazione, è favorita da un basso rapporto gibberelline/etilene, il livello di quest'ultimo dipende anche dagli stress meccanici incontrati dagli stoloni nel suolo (Vreugdenhil e Struik, 1989). I vari stoloni di una stessa pianta non sono identici tra di loro. Essi differiscono sia per l'età che per la distanza dalle varie fonti di ormoni (tubero-seme, apice della pianta, radici). Si ritiene che il tubero-seme fornisca gibberelline per cui gioca un ruolo importante nella fase iniziale della formazione e crescita degli stoloni. Gli stoloni più vicini al tubero, ricevendo una maggiore dose di ormone, risultano più allungati e ritardano la tuberizzazione. Un'altra causa di differenza tra gli stoloni è che mentre essi si allungano incontrano differenti livelli di stress meccanici nel suolo con una conseguente differenza di livelli di etilene per cui si ha una differenza per quanto riguarda il momento in cui inizia la tuberizzazione. Infine è chiaro che l'accrescimento delle varie parti della pianta non dipende solo dal livello dei vari ormoni ma anche dalla sensibilità dei vari organi a tali ormoni, sensibilità che è data dalla presenza di recettori, per cui se il livello dei recettori cambia durante l'accrescimento degli stoloni è ovvio che anche questa potrebbe essere una causa di differenza. Gli stoloni hanno internodi allungati e la parte apicale è curva. L'inizio della tuberizzazione si ha quando lo stolone cambia il suo tipo di accrescimento, cioè passa da un accrescimento longitudinale ad uno radiale (Vreugdenhil e Struik, 1989). È stato dimostrato infatti che è possibile creare condizioni ambientali che impediscono la crescita degli stoloni senza induzione di tuberizzazione; dall'altra parte si è visto anche che è possibile ottenere una crescita radiale senza riduzione della crescita longitudinale ottenendo come risultato dei tuberi molto allungati o delle catene di tuberi. Questi risultati dimostrano che la cessazione dell'allungamento da una parte e l'accrescimento radiale dall'altra sono

due processi separati e differenti ma intimamente legati tra di loro e consecutivi (Vreugdenhil e Struik, 1989).

Ciascun tubero si forma nella parte subapicale dello stolone, specialmente all'altezza degli internodi più recenti. Il passaggio all'accrescimento radiale avviene prima a livello midollare con un aumento di volume delle cellule seguito rapidamente da un aumento della divisione cellulare nella maggior parte del parenchima. In seguito la divisione cellulare avviene soprattutto nel parenchima della parte midollare esterna e in quello della parte corticale interna, cioè a ridosso dell'anello vascolare con cambio, però questa fase è più breve della precedente. Il volume finale è dato da un aumento di volume delle cellule, in particolare di quelle situate nelle zone della seconda fase descritta sopra. Gli internodi dello stolone vengono coinvolti nella formazione del tubero in senso centripeto, quindi la parte apicale dello stolone risulta poco accresciuta ma con molte gemme (occhi), ecco perché la parte apicale del tubero è più ricca di gemme. L'induzione alla tuberizzazione è sotto il controllo fotoperiodico e lo stimolo parte dalle foglie (Gregory, 1965).

È stato studiato l'effetto di alcuni regolatori di crescita sulla tuberizzazione in pieno campo sulla varietà Ruset Burbank; per questa prova sono stati utilizzati il CCC e l'ETH (acido 2-cloroetilfosfonico) sia singolarmente che in combinazione. Il risultato è stato un maggior numero di tuberi però piccoli e quindi non commerciabili per cui si è concluso che l'utilizzo di queste sostanze, in pieno campo, non apportano alcun beneficio (Brian L. R., 1992).

Durante la tuberizzazione si hanno anche dei grossi cambiamenti morfologici nella pianta. Si formano meno foglie ma più larghe e più sottili, si riducono anche le ramificazioni, la fioritura, la produzione di bacche e la crescita dell'apparato radicale. A causa di questi cambiamenti si può capire perché un'induzione precoce può portare ad un rapporto peso tubero: peso pianta più alto ma anche ad una formazione di tuberi complessivamente inferiore.

Come abbiamo visto il ruolo degli ormoni dalla formazione degli stoloni alla tuberizzazione è importante, ma la maggior parte degli studiosi convengono che essi si limitano ad un ruolo permissivo o inibitorio secondo i modi descritti sopra per cui essi ritengono che deve essere presente uno stimolo sconosciuto che è il fattore scatenante della tuberizzazione (Vreugdenhil e Struik, 1989). Come vedremo nel paragrafo 5 tale stimolo potrebbe essere dato da una sostanza estratta recentemente dalle foglie di patata.

## 1.5 EFFETTO DELLA TEMPERATURA SULLA TUBERIZZAZIONE

La tuberizzazione è influenzata da diversi fattori come il fotoperiodo, il livello di azoto nell'ambiente di crescita, la temperatura, la varietà, ecc. In generale la temperatura favorisce la tuberizzazione se non è eccessivamente alta (20°-22°), inoltre una certa escursione termica fra giorno e notte risulta favorevole.

Le alte temperature invece (>28°) sono sfavorevoli soprattutto sotto la condizione di fotoperiodo lungo (Wheeler et al., 1986; Snyder e Ewing, 1989). L'esposizione di piante con un'età di 4 settimane ad alta temperatura del suolo per 3 settimane causa la stessa riduzione nel peso secco dei tuberi di quanto faccia una loro esposizione ad alta temperatura dell'aria (Menzel 1983a). Esperimenti fatti in modo da esporre la parte epigea a temperatura diversa dalla parte ipogea hanno confermato che le alte temperature sulla parte aerea sono di gran lunga più inibitorie per quanto riguarda la tuberizzazione. Temperature alte sulla parte ipogea hanno avuto effetti meno negativi, mentre con temperature alte intorno ai tuberi e agli stoloni non hanno prodotto alcun effetto (Ewing e Struik, 1993).

L'effetto inibitorio delle alte temperature del suolo diminuisce se vengono rimosse le gemme della parte epigea, ciò che non avviene quando è l'aria ad avere alta temperatura (Menzel 1981, 1983a). Sotto condizioni di alta temperatura è stato visto che le gemme producono un alto livello di sostanze gibberelliche (Menzel, 1983b) che sono inibitrici della tuberizzazione.

Con temperatura dell'aria fresca e quella del suolo calda si è visto che la tuberizzazione è scarsa; ciò, però, non è dovuto al fatto che non sia partito lo stimolo dalle foglie, infatti talee da tali gemme hanno tuberizzato ugualmente indipendentemente dalla temperatura del suolo a cui si trovava la pianta madre (Reynold e Ewing, 1989b). Gli stoloni nel suolo caldo diventano ortotropici, ma quando raggiungono la superficie in cui l'aria è più fresca formano tuberi aerei; ciò indica che lo stimolo è arrivato agli stoloni ma non poteva essere espresso a causa dell'alta temperatura del suolo (Reynolds e Ewing, 1989b).

La crescita degli stoloni è stata moderatamente stimolata quando la temperatura intorno alla parte aerea, o ipogea, o intorno agli stoloni stessi veniva aumentata. La maggiore crescita degli stoloni è stata seguita da una maggiore ramificazione degli stessi il che ha creato più siti in cui si potevano formarsi i tuberi (Struik et al. 1989b, c). Presumibilmente ciò spiega il maggior numero di tuberi formati con temperature più alte. Le dimensioni medie di tali tuberi erano basse con il risultato che la resa è stata molto bassa, soprattutto con temperature alte intorno alla parte aerea.

Esperimenti in vaso hanno mostrato che il numero dei tuberi è stato influenzato maggiormente aumentando la temperatura durante la fase di tuberizzazione piuttosto che durante le prime fasi o le ultime della crescita della pianta (Struik e Kerckhoffs, 1991).

Esperimenti con materiali riflettenti in modo da tenere più bassa la temperatura del suolo in condizioni di clima tropicale hanno dimostrato che un tale raffrescamento ha avuto degli effetti positivi sulla precocità di tuberizzazione e sulla resa totale di tuberi (Midmore, 1984).

A tale proposito la capacità della pianta di riflettere le radiazioni, (es: foglie pubescenti) potrebbe avere qualche correlazione con tale aspetto (Midmore e Mendoza, 1984).

Comunque la percentuale di materia secca nel tubero diminuisce inesorabilmente man mano che la temperatura durante la crescita aumenta (BEN Khedher e Ewing, 1985).

## 1.6 PROCESSO DI TUBERIZZAZIONE IN VITRO

Gli studi sulle tecniche di coltura in vitro della patata sono iniziati sin dai primi anni 50 (Norris 1954, Mes e Menge 1954, Kassanis 1957, ecc.). La patata è una coltura che risponde molto bene a queste tecniche per cui la coltura in vitro è stata e viene ampiamente utilizzata sia per la conservazione del germoplasma, sia per il miglioramento e sia per la produzione del tubero seme come già è stato descritto nei paragrafi precedenti.

La coltura in vitro a partire dal meristema non è l'unica utilizzata. Altre tecniche partono da antere, da callo o da protoplasti. Quella da meristema è la più usata per ottenere micro e minituberi e/o per la conservazione del germoplasma. Le altre tecniche vengono utilizzate per il miglioramento.

La tuberizzazione in vitro è influenzata da diversi fattori: fotoperiodo, temperatura, substrato di coltura, varietà.

In generale dai vari studi effettuati fino ad oggi risulta che la risposta della coltura è genetico-specifica, quindi non si può formulare un protocollo generale che vada bene per tutte le varietà, per cui ogni varietà deve essere sottoposta ad uno screening per poter ottimizzare i fattori suddetti.

Per quanto riguarda il fotoperiodo si sono avuti risultati diversi fra i vari autori. Alcuni hanno usato luce continua, altri luce alternata, altri ancora hanno alternato luce e buio o buio continuo. Lawrence e Barker (1963) trovarono che le loro colture producevano tuberi solo con buio continuo oppure con buio continuo interrotto da una luce a bassa intensità. Nessun tubero venne prodotto con 8-16-24 ore di luce. Schilde (Anonimo, 1982b) trovò che la produzione di microtuberi era più veloce quando le piantine venivano indotte al buio piuttosto che con 8 ore di luce. Anche Stallnecht e Farnsworth (1982a, b) ottennero risultati con buio continuo. Wang e Hu (1982) trovarono che un fotoperiodo con 8 ore di luce era migliore di quello di 16 ore, ma non lo hanno confrontato con prove a luce continua o a buio continuo. Thieme e Pett (1982) osservarono una migliore tuberizzazione con fotoperiodo con meno di 12 ore di luce.

Un altro lavoro effettuato da Wang e Li (1990) ha dimostrato come una luce a più alta intensità ed un fotoperiodo di 8 ore di luce siano favorevoli alla tuberizzazione rispetto a quello che avviene al buio. Ciò che però viene influenzato, e quindi migliorato non è il numero di tuberi quanto piuttosto il loro peso fresco. Ciò venne attribuito al fatto che probabilmente luce ad alta intensità migliora il processo fotosintetico. Infatti il peso è determinato dagli assimilati che sono a disposizione degli organi di riserva nel processo di partizione. Quindi una più alta intensità fornisce più energia che quindi permette una

maggiore produzione di assimilati. Un altro lavoro invece afferma il contrario (Cheng T.; Zhang Y., 1990), questi autori hanno ottenuto i migliori risultati al buio completo sia per quanto riguarda il numero che il peso dei microtuberi.

Altri lavori suggeriscono anche che varietà precoci tuberificano prima in condizioni di fotoperiodo lungo, mentre il fotoperiodo corto anticipa la tuberizzazione nelle varietà tardive (Sladky e Bartosova, 1990).

In uno studio recente (Gopal et al., 1997) sono stati confrontati i microtuberi prodotti al buio con quelli prodotti in presenza di luce. Infatti gli autori hanno ottenuto da 18 genotipi due tipi di microtuberi:

- verdi: prodotti in condizioni di 10h di luce;
- bianchi: prodotti inizialmente sotto condizioni di 16h di luce (2 mesi) e per altri 2-3 mesi in condizioni di buio completo.

I microtuberi così ottenuti sono stati messi in vaso (1 per vaso) e poi sono stati presi in considerazione 22 caratteri morfologici e agronomici. Dai risultati gli autori hanno dedotto che i microtuberi verdi risultano migliori per la maggior parte dei caratteri presi in considerazione. Si ritiene che questa superiorità possa essere dovuta al maggior numero di occhi presenti appunto sui microtuberi verdi. Inoltre si è visto che i microtuberi verdi non hanno dormienza e spesso germogliano prima del raccolto, si può quindi dire che con i microtuberi verdi si ottiene un'emergenza più precoce. La differenza del numero degli occhi tra microtuberi verdi e bianchi non si è riscontrata nei tuberi che ne sono derivati e questo è un risultato che rinforza l'opinione che il materiale ottenuto in vitro mostra di avere stabilità genetica (Gopal et al., 1997).

La temperatura, come già è stato visto, se alta ( $>28^{\circ}$ ) inibisce la tuberizzazione. In generale la temperatura utilizzata dai vari autori è compresa tra  $20^{\circ}$ - $25^{\circ}$ C. Si è visto che anche in vitro l'effetto inibitorio della alta temperatura è correlato positivamente con un alto livello di gibberelline e si è visto come l'uso di un anti-gibberellico attutisce tale inibizione. Le tecniche di coltura in vitro possono essere uno strumento efficiente per avere informazioni utili sull'effetto della temperatura sulla tuberizzazione e sulla crescita in generale (Harvey et al., 1992).

Il substrato è un altro fattore che è stato molto studiato e anche in questo caso ci sono risultati diversi. Comunque si può dire che, in generale, il substrato base utilizzato è l'MS. A questo poi i vari autori hanno apportato delle modifiche con l'aggiunta di varie sostanze ognuna delle quali è risultata favorevole o sfavorevole alla tuberizzazione. Di seguito si descrivono alcune di queste sostanze.

Il saccarosio è molto importante per la tuberizzazione. Infatti in pieno campo risulta favorevole una luce ad alta intensità ma siccome in vitro tale intensità non si può raggiungere, a causa del riscaldamento che subirebbero i contenitori, i carboidrati necessari vengono appunto forniti dal saccarosio. Per quando riguarda la concentrazione possiamo dire che in generale una concentrazione compresa tra l'1% e l'8% aumenta la percentuale e la precocità di tuberizzazione. Numerosi lavori dimostrano che l'optimum si ha tra il 6% e l'8% (Wang e Hu, 1982; Lawrence e Barker, 1963; Catchpole e Hillman, 1969; Palmer e Smith, 1970; Obatasasamoto e Suzuki, 1979; Stallknecht e Farnsworth, 1979; Giordano I. e al, 1994; Vecchio et al, 1997). E' stato visto inoltre che una concentrazione superiore al 10% è risultata inibitoria per la tuberizzazione (Catchpole e Hillman, 1969; Palmer e Smith, 1970; Lawrence e Barker, 1963). Il saccarosio è stato confrontato con altri zuccheri monosaccaridi (fruttosio, glucosio) e disaccaridi (maltosio); dal confronto è risultato che per la tuberizzazione il saccarosio dà i migliori risultati sia perché è assimilato molto più facilmente dalle piantine che lo convertono più facilmente in amido, sia perché ha anche la funzione di mantenere una osmolarità ottimale per la tuberizzazione che è intorno a 400mM (Khuri and Moorby, 1995).

Le citochinine stimolano la tuberizzazione. Quella più usata è la BA (benziladenina) con una dose che va da 10 mg/litro (Wang e Hu 1982) a 25 mg/litro (Mauk e Langille, 1978). Con zeatina il dosaggio ottimale è risultato 3 mg/litro (Palmer e Smith, 1969; Mauk e Langille, 1978).

Secondo Wattimena (1983) le citochinine sono necessarie solo quando la tuberizzazione avviene al buio così come hanno dimostrato anche altri lavori (Palmer e Smith, 1970; Palmer e Barker, 1973; Tizio e Biain, 1973; Minqgo-Castel et al, 1976).

Il CCC (cloruro di [2-cloroetil] trimetilammonio) è un'altra sostanza usata per stimolare la tuberizzazione. La presenza di CCC nei terreni di coltura sembra avere una minore efficacia rispetto ad altri regolatori di crescita (es: BA, BAP) (Cheng, 1990); l'effetto del CCC è anche quello di esaltare l'azione positiva di altri fattori induttivi della tuberizzazione (Hussey e Stacey, 1984). Il CCC viene usato in genere con una concentrazione di 500 mg/litro. Anche nel C.I.P. (Centro internazionale della patata) in Perù per indurre la tuberizzazione utilizzano il CCC con il dosaggio visto sopra insieme al BAP lasciando però le piantine nel buio completo. Secondo questi autori con induzione in fotoperiodo corto si ottengono microtuberi con una dormienza di 60 gg, mentre in condizioni di buio tale dormienza è di 210 gg (Estrada et al., 1986).

Un'altra sostanza che stimola la tuberizzazione è la Coumarina con dosaggi da 25 mg/litro a 50 mg/litro (Leclerc e Donnelly, 1992).



Recentemente è stata trovata un'altra sostanza con un'alta capacità di promuovere la tuberizzazione in vitro, tale sostanza è l'acido jasmonico (acido 3-ossi-2(2'-pentenil)-ciclopentanacetico) che è simile ad una sostanza estratta dalle foglie di patata (Koda et al. 1988) e che viene prodotta in condizioni induttive (fotoperiodo corto, temperature notturne più fresche) e sembra essere un forte promotore della tuberizzazione con una concentrazione tipica di un ormone (Koda and Okazawa 1988). Gli autori che hanno studiato gli effetti dell'acido jasmonico affermano che esso ha una capacità di promuovere la tuberizzazione venti volte maggiore della chinetina (6-(furfurilamino) purina) che era considerata la sostanza più efficace, infatti per ottenere la stessa percentuale di tuberizzazione occorrono 0.5  $\mu$ M di Ac. J. contro 11.6  $\mu$ M di chinetina. Un'altra caratteristica del Ac. J. È che esso stimola tutto lo stolone e non solo la parte apicale come fa la chinetina, per cui si ottiene un maggior numero di tuberi per stolone. Infine con l'ac. Jasmonico si ottengono tuberi con un peso fresco 6.4 volte maggiore di quello dei tuberi ottenuti con la chinetina. L'ac. Jasmonico è associato con fenomeni di senescenza, si presume quindi che la sostanza simile che si trova nelle foglie viene prodotta in seguito ad una risposta fotoperiodica e che una volta in circolo funge da segnale chimico per innescare il processo di tuberizzazione (Pelacho et al., 1991).

In India sono stati confrontati gli effetti di alcuni triazoli (triadimefon, uniconazolo) con il BAP su alcune cultivar indiane tipiche. I triazoli sono dei potenti fungicidi e anche regolatori di crescita. In questo studio è stato osservato che i triazoli hanno una maggiore efficacia sulla tuberizzazione sia perché è stato ottenuto un maggior numero di microtuberi con un peso medio più alto, sia perché questo risultato è stato ottenuto con concentrazioni mille volte più basse rispetto al BAP (10 mg/l contro concentrazioni che vanno da 0.1 mg/l a 0.01 mg/l per i triazoli). Si può anche dire che i triazoli, agendo con concentrazioni così basse, possono contribuire alla riduzione dei costi di produzione dei microtuberi (Chandra et al., 1992)

Infine altri lavori sono stati fatti con l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) e l'etilene. Per la prima è risultata più evidente un'azione stimolante nei confronti della tuberizzazione (Mingo-Castel et al., 1974, 1976a) con una esposizione da 3 a 5 giorni con una percentuale tra l'8% e il 10%.

Per quanto riguarda l'azoto se è presente con alte concentrazioni risulta inibitorio per la tuberizzazione (Stallknecht e Farnsworth, 1979; Wattimena, 1983; Dodds J.H. et al., 1988).

Altri studi sono stati fatti sugli effetti dell'azoto su piantine indotte con le citochinine. Un primo risultato è stato che una riduzione del livello di azoto causa una diminuzione del peso medio dei microtuberi e del loro diametro, inoltre si è ottenuto un aumento del

numero dei microtuberi. Con alti livelli di N (60 meq) si assiste solo ad una diminuzione della tuberizzazione in piantine indotte con citochinine rispetto all'effetto inibitorio in quelle indotte con cumarina. Gli autori pensano che anche l'azoto, insieme agli altri fattori già descritti, regola il processo della partizione dei carboidrati. Però gli autori affermano che è meglio utilizzare 60 meq di N piuttosto che 15-30, questo perché è vero che si ottengono meno microtuberi, ma il diametro che si ottiene è maggiore per cui si ottengono microtuberi più adatti per la conservazione e per il trapianto in campo (Debabrata e Prakash, 1998).

Ci sono alcuni autori che ritengono che non sia affatto necessario usare i regolatori di crescita per ottenere una buona tuberizzazione. Questi autori ritengono che l'MS con l'8% di saccarosio sono sufficienti, a questo va aggiunta una permanenza delle piantine di almeno 4 settimane in condizioni di fotoperiodo lungo, per ottenere sviluppo vegetativo più vigoroso, con successivo trasferimento in condizioni di fotoperiodo corto. Il tasso di tuberizzazione ottenuta con questa tecnica è risultato pari, se non più alto, rispetto agli altri metodi in cui vengono utilizzati i regolatori di crescita. Anche presso il CIP i tassi ottenuti vanno dal 69% al 27% rispetto a questa tecnica che ha dato un tasso del 100% (Garner e Blake, 1989).

Come si può vedere il panorama della coltura in vitro della patata è molto vasto e i risultati sono i più vari anche se per alcune sostanze si è raggiunta una certa omogeneità (es: saccarosio). Ciò è dovuto al fatto che, come è stato detto sopra, la risposta è innanzitutto genetico-specifica, quindi attualmente possiamo dire che ogni laboratorio usa le sostanze che ritiene più opportune e combina i vari fattori che abbiamo descritto nel modo che ritiene più efficace ed in base ai cloni con cui si lavora.

Tra i microtuberi e i tuberi prodotti in campo ci sono similitudini e differenze. È stato visto che è più difficile ottenere infezioni di *Streptomyces scabies* nei microtuberi (Barker e Page), ed in generale la resistenza ai patogeni è maggiore nelle cultivar suscettibili se i tuberi vengono prodotti in vitro (Lawrence e Barker, 1963), ciò deve essere dovuto più a differenze biochimiche che anatomiche. Infatti si è visto che dal punto di vista anatomico non ci sono grosse differenze tra i due tipi di tuberi. In entrambi i vari strati sono identici secondo lo schema descritto nel paragrafo 2.1, la differenza sta nel fatto che le dimensioni del microtubero non superano il centimetro ed inoltre non c'è nessun rilevante aumento del numero di cellule nella parte corticale e midollare dall'inizio della tuberizzazione alla fine, questo perché la fase di espansione radiale nei microtuberi è dovuto soprattutto ad un aumento di volume delle cellule corticali e midollari (Peterson e Barker, 1979).

Questa similitudine tra i due tipi di tubero per quanto riguarda la struttura anatomica e il modello di sviluppo giustificano l'uso delle tecniche in vitro per gli scopi già descritti.

## **1.7 RUOLO DELL'AZOTO NELLA TUBERIZZAZIONE, NELLA PRODUZIONE E NELLA QUALITÀ DEI TUBERI -INTRODUZIONE AL PROBLEMA SCIENTIFICO**

Quello della tuberizzazione è un fenomeno molto complesso legato a fattori sia endogeni (equilibri ormonali, C/N) che esogeni della pianta. Tra quelli esogeni di tipo ambientale il fotoperiodo (Gregory, 1956; Sladky and Bartosova, 1990; Thieme and Pett, 1982 ; Lawrence and Barker, 1963; Jackson et al., 1996), la temperatura (Snyder and Ewing, 1989; Reynold and Ewing, 1989; Struik and Kerckhoffs, 1991) e la luminosità (Dalla Costa e Giovanardi, 1999) per il loro coinvolgimento nella modifica dell'equilibrio ormonale e di alcuni meccanismi fisiologici di tipo enzimatico (Krauss, 1978; Menzel 1983; Okazawa, 1960; Ewing & Struik, 1992) insieme a fattori nutrizionali quali l'N (Sattelmacher et al., 1979; Krauss et al., 1982; Debrabata and Prakash, 1998; Vecchio et al., 1996) sono in grado di anticipare o ritardare la tuberizzazione e quindi influire anche sull'espressione di geni responsabili dell'induzione e della formazione dei tuberi. In vitro il C/N può essere un indicatore precoce di tuberizzazione (Andrenelli et al., 1999) e la differente disponibilità di N può determinare anticipi o ritardi della tuberizzazione e tempi diversi della durata della dormienza nei tuberi prodotti. Alcune indicazioni evidenziano il coinvolgimento della modalità di gestione dell'azoto, dello stato nutrizionale della pianta e dell'attività fotosintetica sia sull'inizio della tuberizzazione che sulla resa (Vecchio et al., 2000).

Il raggiungimento di buoni risultati qualitativi e produttivi nella coltura della patata, è fortemente legato oltre che a fattori genetici ed ambientali anche a quelli agronomici, in particolare ad una corretta gestione della nutrizione azotata nella pianta. Dalla letteratura, risulta che la concimazione azotata nella patata agisce sulla produzione aumentando le rese ed il peso dei tuberi nonché il contenuto in zuccheri riduttori nella polpa (Cremaschi, 1983; Neeteson, 1989; Vecchio et al, 1990). I risultati acquisiti hanno anche dimostrato come sia ingiustificata la tendenza a somministrare dosi di N oltre i 200 kg ha<sup>-1</sup> (Ifenkwe e Allen, 1983) in quanto provocano un ritardo della tuberizzazione, un maggiore accumulo di N non proteico (nitrati e nitriti) nei tuberi, una riduzione del contenuto di s.s. e di amido e la facile comparsa di fitopatie (Ivory et al, 1986; Augustin et al, 1977). La dose ottimale di N in patata primaticcia è risultata di 150 kg ha<sup>-1</sup> mentre dosi di N superiori a 100 kg ha<sup>-1</sup> comportano un incremento dell'N-NO<sub>3</sub> residuo nel terreno (Guarda, 1993). Nonostante che da alcuni anni gli agricoltori sono impegnati nell'attuazione di pratiche gestionali a ridotti input energetici per effetto delle misure agroambientali comunitarie (Reg CE 2078/92 e 1257/99), ancora troppi sono i casi di eccessivi apporti di N soprattutto nelle

colture exstrastagionali. Nell'ambito dei sistemi di agricoltura a produzione integrata si fa ricorso per la determinazione degli apporti ottimali, a bilanci che tengono conto dell'N disponibile nel terreno e di quello assorbito dalla coltura durante il ciclo produttivo (stimato sulla base della resa presunta). Il bilancio azotato risulta di fatto alquanto semplificato perché non tiene conto degli apporti di N atmosferico, delle perdite per lisciviazione, denitrificazione e volatilizzazione. Spesso i risultati conseguenti l'elaborazione di un buon bilancio azotato sono vanificati dalle non idonee modalità di distribuzione. Nella maggior parte dei casi infatti la fertilizzazione azotata viene normalmente effettuata in un'unica soluzione al momento dell'impianto o al massimo in due interventi molto ravvicinati all'inizio del ciclo (impianto + emergenza o inizio tuberizzazione).

Allo scopo di meglio combinare l'effetto dell'azoto nel terreno con quelle che sono le richieste della coltura, la maggior parte degli studiosi sono oggi concordi nel ritenere che una corretta fertilizzazione debba prevedere l'apporto di una parte dell'N a inizio coltura seguita, quando necessario, da uno o più interventi frazionati di copertura durante la stagione di crescita ottenendo così una migliore efficienza della fertilizzazione, una riduzione delle perdite per lisciviazione e uno stimolo verso un anticipo nella produzione dei tuberi (Nitisch e Varis, 1991; Gianquinto e Bona, 2000; Denuit et al., 2001). La richiesta di N supplementare e il momento dell'intervento dovrebbero essere valutati sulla base dell'effettivo stato nutrizionale della coltura. Lo scopo della gestione della fertilizzazione azotata è dunque quello di guidare gli agricoltori sulle decisioni da prendere in merito all'apporto di concime organico o minerale, sulle rotazioni colturali e la pratica di colture intercalari, così da fornire delle regole per l'ottimizzazione della produzione, la protezione dell'ambiente e il mantenimento della fertilità dei suoli (Magdhoff et al., 1997). Dopo una prima generazione di modelli per il calcolo delle dosi totali di fertilizzanti in funzione di una valutazione generale delle esigenze della pianta e delle riserve presenti nel terreno, vengono adesso usati modelli dinamici per calcolare le date degli interventi di concimazione. Sono oggi disponibili degli indicatori diagnostici che possono consentire di ridurre eventuali errori nella gestione dell'N (Meynard et al., 1997). Esempi di indicatori nutrizionali sono: rilevamento del contenuto di N nitrico nei piccioli (PSNC) o nelle parti terminali degli steli (Williams e Maier, 1990), determinazione del contenuto di clorofilla nella foglia con il Clorophyll meter (SPAD) che tra l'altro sembra essere correlata con la concentrazione di N, infine sono considerati validi anche gli strumenti basati sulla riflettanza della coltura (Cropscan). Altre metodologie più laboriose ma riconosciute come metodi ufficiali di analisi da diversi organismi internazionali sono: metodo Kjeldahl (Bradstreet, 1965) per la

determinazione dell'N organico e il metodo Dumas (Kirsten e Gunnar, 1983) per l'N totale.

Indipendentemente dal metodo prescelto per l'analisi sulla pianta, la sua ottimale applicazione dipende essenzialmente dalla determinazione di un Valore Critico o di un Range al disopra del quale la coltura non risponde a dosi aggiuntive di N. Al di sotto del Valore Critico la richiesta di N dovrebbe essere strettamente legata alla deviazione da esso. Tuttavia, stabilire una concentrazione azotata ottimale o un Valore Critico è alquanto difficile poiché la concentrazione dell'N varia a seconda delle diverse parti della pianta e del suo stadio di sviluppo, del genotipo e di fattori tecnici o climatici oltre che per l'apporto di N. Questi indicatori sono considerati dei buoni indici dello stato nutrizionale (N) della pianta, sia nella patata (Olivier et al., 1999; 2001) che nei cereali (Maes et al., 2000; Rozbicki e Samborski 2001), in quanto presentano una buona sensibilità verso l'N disponibile nel terreno. Risultati ottenuti da Vecchio et al. (2002) fanno ipotizzare che in coltura di patata precoce le misure di SPAD consentono di diagnosticare, con una certa attendibilità, uno stato nutrizionale differente in relazione alla fase di crescita, alla tuberizzazione e all'ingrossamento dei tuberi. Inoltre è emerso che una riduzione dell'impiego di N (70 kg ha<sup>-1</sup> + 50 kg ha<sup>-1</sup> come dotazione del terreno) del 40-50% rispetto a quello che comunemente viene fatto, incrementa la produzione di tuberi di taglia media e riduce la presenza di N nitrico nel suolo dopo la raccolta. Quindi la difficoltà nel generalizzare queste metodologie sta nella variazione naturale degli indici, a causa di effetti genetici e ontogenetici e ai fattori ambientali e colturali (Rodrigues et al., 2001).

Le colture agrarie mettono in atto meccanismi bio-fisiologici e produttivi che sono sotto il controllo del genotipo e delle condizioni agroecologiche dei sistemi colturali adottati.

Gli equilibri endogeni sono condizionati dalla nutrizione minerale e dal potenziale idrico, sia a livello ormonale che di soluti, che possono modificarne le risposte biologiche, fisiologiche e produttive. L'azoto e l'acqua, nell'area del Mediterraneo, nelle diverse tipologie di coltivazione della patata (precoce, comune e bisestile) sono in grado di influenzare sia la quantità che la qualità dei tuberi prodotti.

Da non trascurare l'effetto che il fattore azoto determina, se in eccesso, sul degrado delle risorse naturali e sull'inquinamento delle acque di falda. Oggi la revisione dei sistemi colturali impone una limitazione dei fertilizzanti di sintesi e, tra i vari aspetti da considerare per raggiungere tale obiettivo, particolare attenzione merita il miglioramento dell'efficienza d'uso dell'azoto e degli altri elementi nutritivi, nonché il ruolo che essi giocano sulla formazione dei tuberi. Gli studi effettuati sulla tuberizzazione (Chapman, 1958; Kraus &

Marschener, 1982; Garner & Blake, 1989; Vreugdenhil & Struik, 1989) indicano che essa è legata a condizioni ambientali in grado di indurre cambiamenti nell'equilibrio endogeno; in particolare la sospensione della nutrizione azotata in coltura idroponica di patata modifica il rapporto ABA/GA3 (Kraus & Marschener, 1982) e in vitro quello C/N (Andrenelli et al., 1999). Lo sviluppo del tubero in vitro è un fenomeno molto complesso che risulta influenzato da fattori sia endogeni che esogeni alla pianta. Fattori endogeni, sottoposti a variazioni ambientali (fotoperiodo, temperatura) e nutrizionali della pianta, esercitano il controllo dell'iniziazione e crescita del tubero attraverso la variazione dei livelli di fitormoni, di fotoassimilati e dell'attività enzimatica (Ewing & Struik, 1992). Un altro fattore che agisce sulla tuberizzazione è la nutrizione azotata della pianta. La ridotta disponibilità di azoto, in piante sottoposte a condizioni non induttive, comporta un minor sviluppo del germoglio e induce la tuberizzazione. La maggiore disponibilità di azoto ostacola l'induzione a tuberizzare in quanto favorisce lo sviluppo vegetativo della pianta anziché promuovere il trasporto degli assimilati verso i tuberi (Andrenelli, 1995).

La concimazione azotata, da ricerche finora compiute (Laureti, 1981; Cremaschi, 1983; Neeteson, 1989; Vecchio et al., 1990; Guarda, 1993), risulta agire sulla produzione aumentando le rese ed il peso dei tuberi nonché il contenuto in zuccheri riduttori nella polpa. E' stato dimostrato come sia ingiustificata la tendenza a somministrare dosi di azoto superiori ai 200 Kg/ha (Ifenkwe e Allen, 1983), e che in patata primaticcia la dose tecnica ottimale (DTO) di azoto ha valori non superiori ai 150 Kg/ha (Guarda, 1993). Applicazioni di azoto più elevate rispetto al limite sopra ricordato ritardano la tuberizzazione (formazione e maturazione), favoriscono l'accumulo di azoto non proteico (nitrati e nitriti) nei tuberi, abbassano il contenuto di s.s. e di amido, abbassano la conservabilità degli stessi e aumentano la suscettibilità alle fitopatie (Ivory et al., 1986; Augustin et al., 1984). Viceversa applicazioni di dosi ridotte di azoto, oltre che abbassare la suscettibilità della solanacea verso la peronospora (*Phytophthora infestans*) e gli afidi, migliorano anche la qualità delle patate precoci (Beukema e Van der Zaag, 1979). L'applicazione frazionata di azoto, tenendo conto che circa il 70% dell'elemento viene assorbito dalla patata entro le prime 7-8 settimane, comporta una migliore efficienza e abbassa il contenuto dei nitrati nel suolo (Nitsch & Varis, 1991).

Risulta inoltre che le perdite di azoto in coltura di patata sono molto alte a causa di una bassa "Apparent Nitrogen Recoverg" (ANR) che corrisponde a circa il 50-60%. L'efficienza azotata si abbassa ulteriormente in condizioni di coltura irrigua in molte aree dell'ambiente mediterraneo, caratterizzate da elevata permeabilità dei suoli (Guarda, 1993). La corretta gestione della fertilizzazione azotata richiede, sia per ragioni economiche che di

tutela ambientale, la stima a priori delle necessità colturali di azoto e anche la conoscenza della sua distribuzione. La fertilizzazione azotata è normalmente effettuata al momento dell'impianto e spesso le quantità di azoto distribuite sono eccessive rispetto alle reali necessità della coltura che variano tra 100 e 200 Kg/ha portando ad una riduzione della qualità dei tuberi e ad un eccesso di residui azotati nel suolo. Le esigenze della pianta e quindi gli apporti di fertilizzante sono fortemente influenzati dalle condizioni pedoclimatiche specifiche dell'ambiente di coltura, dalla cv, dal tipo e dalle modalità di distribuzione del fertilizzante e anche dalla gestione di diverse pratiche agricole (irrigazione, sistemi colturali, apporto organico, ecc.). Da alcuni anni gli agricoltori sono impegnati nell'attuazione di pratiche gestionali a ridotti input energetici per effetto delle misure agroambientali conseguenti al recepimento dei regolamenti comunitari (Reg CE 2078/92 e 1257/99). Nonostante la consistente riduzione nell'uso dei fertilizzanti ancora troppi sono i casi di eccessivi apporti di N soprattutto nelle colture extrastagionali. Nell'ambito dei sistemi di agricoltura a produzione integrata si fa ricorso per la determinazione degli apporti ottimali, a bilanci che tengono conto dell'azoto disponibile nel terreno e di quello assorbito dalla coltura durante il ciclo produttivo (stimato sulla base della resa presunta).

Le previsioni di produzione sono fondamentali per la gestione della coltura, in modo tale che gli agricoltori possano effettuare le loro scelte in materia di pratiche agronomiche (fertilizzazione inclusa) alla luce dei risultati attesi. Molti esperimenti hanno evidenziato che a determinati stadi di sviluppo della coltura, la concentrazione di azoto nei tessuti delle piante così come la concentrazione di altri nutrienti può essere correlata con la quantità dei tuberi prodotti (Kolbe et al., 1990). Le informazioni ottenute dalle attività sperimentali possono essere usate dai ricercatori per sviluppare modelli che, se usati nel modo giusto permettono ad agricoltori e divulgatori di prevedere la produzione della coltura. Variazioni del prodotto e delle componenti azotate, così come l'acido ascorbico, zuccheri e componenti della parete cellulare, appaiono essere correlati con la concentrazione di azoto nei tuberi (Kolbe et al., 1990). Questo dovrebbe essere di grande interesse per definire i parametri e la concentrazione dei nutrienti durante i primi stadi di crescita dei tuberi, allo scopo di stimare la qualità finale del prodotto e aggiustare l'input dei nutrienti per soddisfare la domanda di qualità ad es. nei tuberi destinati alla trasformazione industriale.

Da alcuni anni la qualità (Ferraro e Vecchio, 1990) del prodotto patata, intesa come proprietà alimentare ed organolettica, viene sempre più apprezzata per la valorizzazione della tipicità (Lunati, 2000) della produzione italiana, alla pari di quanto si è già fatto in altri paesi europei. Con il cambiamento progressivo dei modelli di acquisto delle patate fresche, dal sistema tradizionale a quello della distribuzione organizzata, in Italia le qualità culinarie



e gustative sono diventate caratteri decisivi per la segmentazione e quindi per la valorizzazione del prodotto (Lovati, 2000). Per ciò che riguarda l'aspetto nutrizionale la patata possiede un valore energetico modesto, pari a 85 calorie ed un contenuto in grassi e proteine particolarmente basso. Tutto ciò, comunque, non significa che il tubero sia povero in sostanze nutritive: al contrario, costituisce una delle più importanti fonti di amido 15-20 % s.s. (Eppendorfer WH, Eggum BO., 1994), di potassio (570 mg/100gr di prodotto) e di vitamina C (50 mg/100gr di prodotto). Tra la patata comune e la novella esiste una piccola differenza nel contenuto di glucidi disponibili e una rilevante diversità nel tenore di potassio e vit. C (Tab. n° 1).

La qualità del prodotto patata può quindi essere definita attraverso parametri oggettivi e sensoriali. Tra i primi, quelli maggiormente utilizzati sono: lavabilità, colore della buccia, sostanza secca, glucosio, nitrati, acido ascorbico, che risultano essere influenzati dalla gestione agronomica della coltura.

**Tabella 1: Composizione e valore energetico della patata comune e novella (100 gr. di prodotto)**

<b>Patata comune</b>			
Parte edibile	83.0 %	Sodio	7 mg
Acqua	78.5 g	Potassio	570 mg
Proteine	2.1 g	Ferro	0.6 mg
Lipidi	1 g	Calcio	10 mg
Glucidi disponibili	18 g	Fosforo	54 mg
Fibra alimentare	1.6 g	Niacina	2.4 mg
Energia	85 Cal	Vit. C	15 mg
<b>Patata novella</b>			
Parte edibile	96.0 %	Sodio	0 mg
Acqua	81.9 g	Potassio	0 mg
Proteine	2 g	Ferro	0.6 mg
Lipidi	0 g	Calcio	10 mg
Glucidi disponibili	15.8 g	Fosforo	54 mg
Fibra alimentare	1.6 g	Niacina	2.4 mg
Energia	67 Cal	Vit. C	28 mg

Fonte: Istituto Nazionale della Nutrizione

# **PARTE SPERIMENTALE**

## **2. MATERIALI E METODI**

Gli obiettivi delle prove in vitro sulla gestione dell'Azoto erano:

- individuare se l'azione induttiva dell'Azoto può essere paragonata a quella induttiva del fotoperiodo corto;
- individuare se esiste una soglia di contenuto di N nella pianta che possa essere utilizzato come indicatore dell'avvenuta induzione della tuberizzazione, cioè quale valore del contenuto di N nella pianta può essere associato alla condizione di pianta indotta alla tuberizzazione. Eventualmente anche il rapporto C/N;
- studiare la capacità di assimilazione di Azoto delle piante in vitro in funzione della quantità di Azoto presente nel substrato;
- elaborare un modello di assorbimento dell'N da parte della pianta di patata in vitro per poi applicarlo al pieno campo.

### **2.1 ARTICOLAZIONE DEL LAVORO DI TESI**

La sperimentazione è stata articolata in più prove (tre), ciascuna condotta con tempistiche e tecnologie differenti, perciò ciascuna prova verrà descritta, trattata e discussa separatamente. Nonostante ciò però alcune caratteristiche e tecniche sono state comuni a tutte le sperimentazioni effettuate e verranno quindi introdotte per prime.

Più precisamente facciamo riferimento a:

- La tecnica di coltura in vitro;
- Le varietà prescelte (ALBA e DÈSIRÈE);
- I livelli di azoto nei substrati;
- I rilievi e le analisi svolte.

L'articolazione, nonché l'ordine cronologico delle tre prove sono quindi i seguenti:

#### **I PROVA**

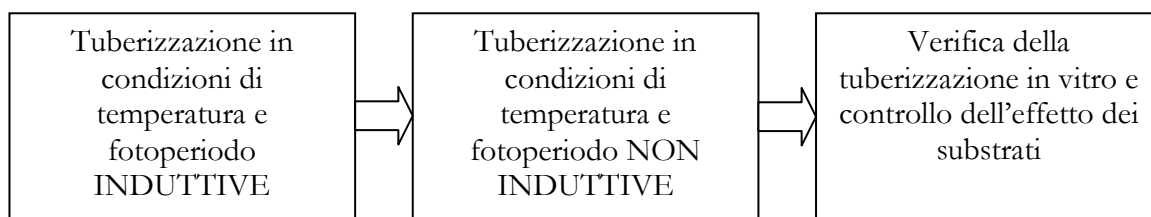
Tuberizzazione in condizioni di fotoperiodo e temperatura INDUTTIVE;

#### **II PROVA**

Tuberizzazione in condizioni di fotoperiodo e temperatura NON INDUTTIVE;

#### **III PROVA**

Verifica della tuberizzazione in vitro e controllo dell'effetto dei substrati.



In riferimento alle caratteristiche in comune alle diverse prove, procediamo con le motivazioni che ci hanno portato a tali scelte.

## 2.2 PERCHÉ LA SCELTA DI EFFETTUARE LE PROVE IN VITRO

La tecnica della coltura in vitro viene innanzitutto effettuata in contenitori di dimensioni standard, nel nostro caso i contenitori chiamati “magenta”, di dimensioni 6x6x10 per un volume complessivo di 360 cc, al cui interno si ritrovano condizioni identiche per tutte le repliche. Tale standardizzazione delle condizioni, nonché dei volumi di substrato utilizzati (25 ml di MS), consente di ridurre al minimo la variabilità entro le repliche. Inoltre la pressoché totale assenza di patogeni, sbalzi di temperatura e di qualunque tipo di interferenza esterna alla prova, contribuisce ulteriormente a diminuire la componente ambientale della variabilità.

Lo scopo è, naturalmente, quello di indagare il più possibile a fondo l'effetto che la componente Azoto ha sulla tuberizzazione.

Data la particolare natura della prova, in cui gioca un ruolo fondamentale il contenuto di Azoto presente nel substrato, l'utilizzo dei terreni tipo Murashige and Skoog ci ha permesso di aggiungere dosi precise dell'elemento oggetto di studio o, più importante ancora, di poterlo completamente escludere dal substrato.

Il terreno utilizzato è stato quindi il Murashige and Skoog (MS) la cui composizione è riportata in tabella n° 2.1.

**Tabella 2.1** Composizione del Murashige and Skoog

Componenti	mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	[M]	Stock	Dose stock ml <sup>l</sup> <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650.00	[10X]	I	100
KNO <sub>3</sub>	1900.00			
CaCl <sub>2</sub>	440.00	[20X]	II	50

<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	170.00	[20X]	III	<b>50</b>
<b>MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	370.00	[20X]	IV	<b>50</b>
<b>FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	278.00	[20X]	V	<b>50</b>
<b>Na EDTA</b>	373.00			
<b>Mio-Inositolo</b>	4000.00			
<b>Acido Nicotinico</b>	20.00			
<b>Piridossina HCl</b>	20.00	[200X]	VI	<b>5</b>
<b>Tiamina HCl</b>	20.00			
<b>Glicina</b>	80.00			
<b>MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O</b>	338.00			
<b>ZnSO<sub>2</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	172.00			
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	124.00			
<b>KI</b>	16.60	[100X]	VII	<b>10</b>
<b>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O</b>	5.00			
<b>CoCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O</b>	0.20			
<b>CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O</b>	10.00			

Il contenuto totale di N elementare nel substrato standard è quindi pari a **840.77 mg l<sup>-1</sup>**, dose che da adesso definiremo “di forza intera” o “100%” della dotazione normale dell’MS. Per poter poi produrre terreni con livelli diversi di azoto sono state utilizzate, in fase di produzione dell’MS, dosi frazionate dello stock n° 1 (l’unico a contenere azoto) che, unite agli altri stocks ci hanno permesso di ottenere i substrati utilizzati nelle tre sperimentazioni, substrati che sono stati identificati come frazioni della dose intera, cioè:

- Substrato 100% N - MS con dotazione intera di azoto, (**N=840.77 mg l<sup>-1</sup>**)
- Substrato 80% N - MS con 80% della dotazione intera di azoto, quindi 80 ml dello stock 1 in 1 litro di soluzione; (**N=672.62 mg l<sup>-1</sup>**)
- Substrato 60% N - MS con 60% della dotazione intera di azoto, quindi 60 ml dello stock 1 in 1 litro di soluzione; (**N=504.46 mg l<sup>-1</sup>**)
- Substrato 40% N - MS con 40% della dotazione intera di azoto, quindi 40 ml dello stock 1 in 1 litro di soluzione; (**N=336.31 mg l<sup>-1</sup>**)
- Substrato 20% N - MS con 20% della dotazione intera di azoto, quindi 20 ml dello stock 1 in 1 litro di soluzione; (**N=168.45 mg l<sup>-1</sup>**)
- Substrato 0% N - MS privo di azoto, quindi 0 ml dello stock 1; (**N=0 mg l<sup>-1</sup>**)

I livelli di azoto rappresentano 6 tesi sperimentali a cui si aggiunge il trattamento che definiremo “sospensione” o N<sub>sosp</sub> in cui le vitropiantine sono state allevate per 10 giorni su terreno privo di azoto per poi essere nuovamente trasferite su terreno al 100% di azoto.

### **2.3 DIFFERENZE TRA I SUBSTRATI**

#### **Substrato di crescita**

Utilizzato nella prima fase di coltura, il terreno Murashige and Skoog di crescita è essenzialmente costituito da tutti i gli stock con l'aggiunta di 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> di Acido Gibberellico (GA), 30 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> di Saccarosio e 1g<sup>l</sup><sup>-1</sup> di Phytigel; su di esso sono state poste le talee destinate alla sperimentazione, la dose di Phytigel usato corrisponde al 50% della dose normalmente impiegata, lo scopo è quello di renderlo meno consistente e facilitare quindi il trasferimento (trapianto) delle vitropiantine dopo 20 giorni.

#### **Substrato di tuberizzazione**

Le differenze con il substrato di crescita risiede principalmente nel maggiore contenuto di saccarosio impiegato (80 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>), e nella dose intera di Phytigel (questo è il terreno definitivo) su cui si svilupperà la prova dei livelli di azoto).

### **2.4 VARIETÀ PRESELTE**

Le varietà utilizzate per le prove sono state DÈSIRÈE ed ALBA le cui schede agronomiche sono di seguito riportate in tabella 2.3; Dèsirèe è stata scelta in quanto è molto conosciuta e studiata in Europa ed esiste una voluminosa bibliografia, possiede inoltre la caratteristica di maturazione semi-tardiva che la contrappone fortemente alla medio-precoce Alba. Nell'ottica della prova sperimentale avere due varietà con livelli di precocità diversi, consente di valutare meglio le differenze dovute al variare delle condizioni fotoperiodiche.

In riferimento ad Alba, si tratta di una varietà di vecchia costituzione che solo recentemente, dopo un periodo di oblio da parte dei produttori, è stata rimessa in produzione dall'associazione di produttori Italpatata. Poco si conosce delle caratteristiche peculiari che la distinguono dalle altre ma risulta essere molto apprezzata dal mercato.

**Tabella 2.3 – Schede tecniche delle varietà**Scheda tecnica Varietà **DÈSIRÉE** (Urgenta x Depesche)*Caratteristiche agronomiche*

Maturazione tuberi	Semitardiva
Tuberi	Grossi, poco sensibili alla maculatura blu interna, buccia rossa, occhi superficiali.
Produzione	Da alquanto buona a buona; pezzatura uniforme.
Sostanza secca	Contenuto alquanto elevato.
Qualità culinarie	Alquanto resistente alla cottura, di sapore neutro, di colore fermo, adatta alla preparazione di patate fritte.
Cespo	A sviluppo alquanto rapido, copre bene, resiste bene alla siccità.
Malattie	Alquanto sensibile alla peronospera sul cespo, poco sensibile sui tuberi, molto sensibile all'accartocciamento, molto resistente al virus Y, immune al cancro.

*Caratteristiche morfologiche*

Pianta	Steli alquanto numerosi, lunghi, alquanto grossi, più tardi procombenti, rosso bruno intenso; foglie alquanto piccole, rigide, grigio verde scuro; foglioline alquanto piccole, ovali, con nervatura alquanto profonda; fioritura abbondante; infiorescenze grosse, di colore intenso; fiori rosso violetto chiaro.
Tuberi	Lungovali; buccia rossa e liscia; pasta giallo chiaro; occhi superficiali.
Germoglio luce	Allungato, all'inizio lungovale, più tardi a forma di stelo corto, rosso violetto alquanto chiaro; tomento fitto ed eretto; apice piccolo, che si apre tardi

Scheda tecnica Varietà **ALBA** (Resy x Kaspá) Istituto Nazareno Strampelli di Lonigo. La varietà non è ancora iscritta al Registro Nazionale*Caratteristiche agronomiche*

Maturazione tuberi	Precoce
Tuberi	Tondo-ovale
Produzione	Buona
Sostanza secca	Medio basso
Qualità culinarie	Categoria B
Cespo	-
Malattie	-

*Caratteristiche morfologiche*

Pianta	Sviluppo determinato, leggermente procumbente, colore fusto: verde chiaro, colore fiore: bianco;
Tuberi	Buccia gialla; Pasta Gialla chiara; contenuto in sostanza secca: medio-basso;
Germoglio luce	-

**2.5 ANALISI ELEMENTARE DI AZOTO E CARBONIO METODO DUMAS**

Le determinazioni del contenuto elementare di Carbonio ed Azoto sono state effettuate su tre differenti parti di pianta: parte aerea, parte radicale e micro-tuberi; al momento del

campionamento le vitropiantine sono state prelevate dalla magenta, ripulite dal substrato rimasto attaccato mediante lavaggio in soluzione fisiologica (soluzione acquosa di NaCl al 2 per mille) ed asciugate. Sulle vitropiantine si è quindi proceduto a suddividere mediante bisturi la parte aerea da quella radicale recidendole al colletto e si è provveduto a separare i microtuberi, su ciascuna parte sono state fatte le misurazioni necessarie (lunghezza e peso fresco); le parti campionate sono state quindi poste in stufa a 80° C per 36 ore in seguito alle quali sono stati fatti i pesi secchi.

La preparazione del campione per la determinazione del contenuto elementare di N e C ha previsto, sul campione secco, la macinazione del materiale sino a ridurlo una polvere impalpabile (utilizzando un mulino tipo Cyclomill della PBI); parti di campione rimasti più grossolani sono stati in seguito pestati manualmente in mortaio di porcellana.

Da ogni campione si fanno tre pesate di circa 500 µg, ovvero si effettua una pesata in triplo e si fa la media; in seguito prima di procedere alle pesate i campioni vanno nuovamente essiccati in stufa a 100 C° per 4 ore, trascorso questo intervallo di tempo il campione si pesa nuovamente all'interno di capsule di stagno chiuse e schiacciate.

Sul campione macinato e pesato si è quindi proceduto ad applicare la metodologia dell'analizzatore automatico elementare, (apparecchiatura Thermo-finningan) il quale rileva il contenuto di Carbonio e Azoto totale tramite il metodo Dumas; il principio di funzionamento è quello della gas-cromatografia. Il campione viene bruciato all'interno di una colonna di quarzo riempita con trucioli di rame alla temperatura di 1000 C° ed il gas Elio che passa forzatamente all'interno della colonna fa da trasportatore degli ossidi di N, C ed H che si formano. Gli ossidi di N che si sono formati vengono successivamente ridotti in una colonna di riduzione fatta ad U riempita di trucioli di Rame e Quarzo in scaglie nella proporzione di 5:1 e tappata con lana di Quarzo.

La seconda fase operativa inizia con la taratura e la messa a punto della macchina, operazione basata su una lettura in bianco, ovvero una lettura di uno o più standard a cui fa seguito la lettura vera e propria dei campioni.

I bianchi altro non sono che capsule di stagno vuote e chiuse cercando di schiacciarle il più possibile per eliminare l'aria.

La scelta degli standard viene fatta in funzione della composizione ipotetica dei campioni. In questo caso abbiamo usato acetanilide (scaglie irregolari bianche) con 10,36 % N, 71,09 % C e 6,71 % H.

Il quantitativo di materiale introdotto nella capsula nelle nostre analisi variava da 600 a 800 µg.



Prima di iniziare un ciclo di analisi si procede a resettare il calcolatore e si reimpostano i parametri: tempi di ritenzione, numero di analisi, fattore di conversione proteica, durata dell'analisi, ecc..

Sulla ruota numerata soprastante la macchina si posizionano i campioni nel seguente ordine:

- 1 B primo bianco
- 2 B secondo bianco
- 3 St primo standard
- 4 St secondo standard
- 5 SAMPLE

La visualizzazione dei contenuti di ciascun elemento avviene mediante un integrale e dal calcolo della area ad esso sottesa si individua il valore del contenuto dell'elemento.

Inizialmente attraverso la lettura dei due bianchi la macchina rileva le aree relative alle percentuali di N, C e H e ne fa la media che poi verrà sottratta dall'area degli standard e delle rispettive percentuali.

Attraverso la lettura degli standard la macchina calcola il KN, KC e il KH che utilizzerà per valutare le percentuali di N, C e H dei campioni successivi.

Per calcolare il valore del KN dello standard si applica questa formula:

$$KN_{st} = \frac{\% N_{teorico} \times W_{st}}{IN_{st} - (I_{medioB})}$$

con:

**$KN_{st}$**  costante per la determinazione dell'N nello standard;

**$\% N_{teor}$**  la percentuale di N dello standard come segnalato dalla ditta fornitrice;

**$W_{st}$**  peso dello standard

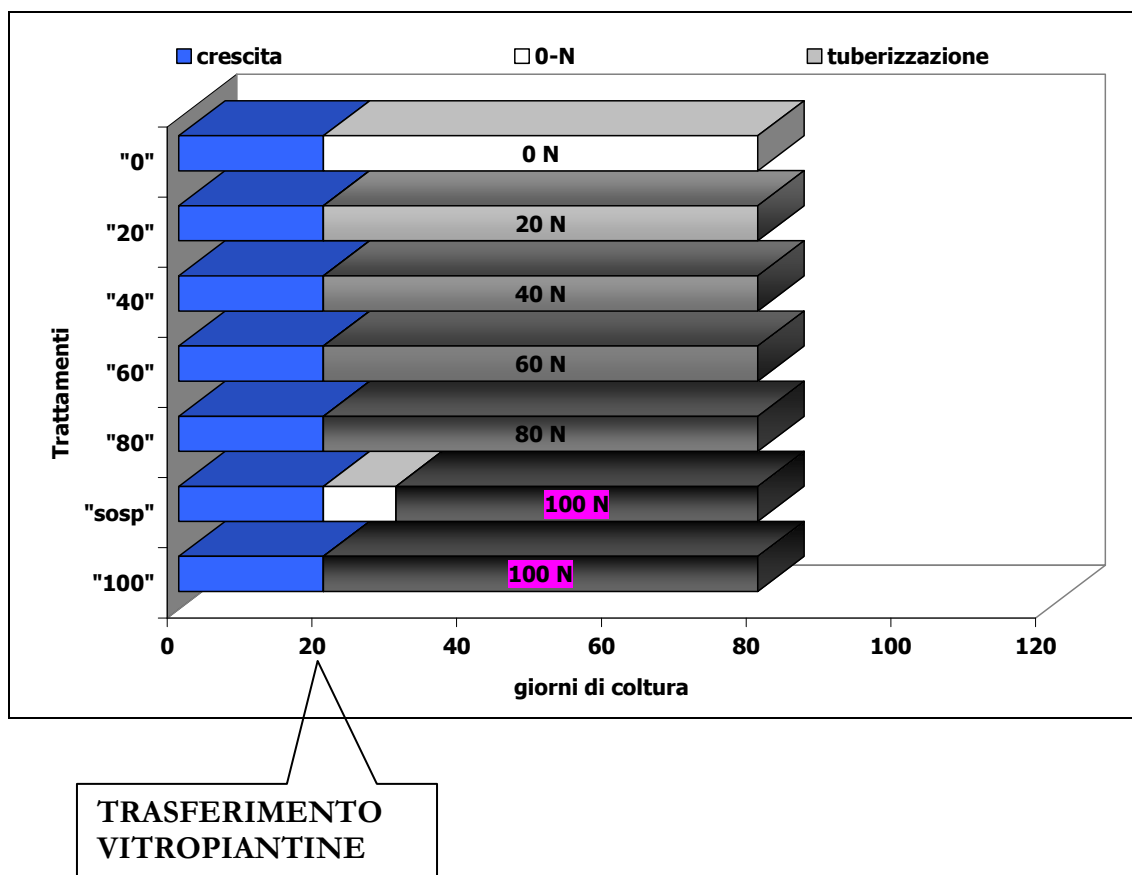
**$IN_{st}$**  integrale dell'N dello standard( cioè l'area corrispondente alla percentuale dell'N rilevata dalla macchina durante l'analisi)

**$I_{medioB}$**  l'integrale medio dei due bianchi, sempre relativo alla % di azoto

### 3. PROVA I: TUBERIZZAZIONE IN CONDIZIONI DI FOTOPERIODO E TEMPERATURE INDUTTIVE

#### 3.1 DESCRIZIONE DELLA PROVA

Figura 1 – Condizioni INDUTTIVE: Schema dei trattamenti e tempistica della prova



La prova si è interamente svolta in camera climatica in cui, durante il primo periodo di crescita (20 giorni), erano presenti le seguenti condizioni:

- Fotoperiodo lungo : 16 ore di luce, 8 ore di buio;
- Temperatura: 18°C durante la notte, 24°C durante il giorno;
- Terreno: MS + 3% saccarosio, 0.1% Phytigel.

Successivamente le vitropiantine sono state trasferite sino alla fine della prova (80 giorni) nelle condizioni "induttive" di seguito descritte:

- **Fotoperiodo corto: 8 ore di luce, 16 ore di buio;**
- **Temperatura: 18°C durante la notte, 24°C durante il giorno;**
- **Terreno: MS + 8% saccarosio, 0.1% Phytigel.**

Le condizioni che vengono definite induttive per la tuberizzazione sono soprattutto il fotoperiodo e la temperatura; il fotoperiodo corto, in modo particolare, stimola la tuberizzazione.

La prova si è svolta in magenta (25 ml di substrato) ciascuna contenente 5 piante provenienti da talee uninodali, per ciascun trattamento erano presenti 12 magenta (corrispondenti a 60 piante), quindi lo schema sperimentale ha previsto:

$$7 \text{ trattamenti} \times 2 \text{ varietà} \times 12 \text{ ripetizioni} = 168 \text{ magenta}$$

84 magenta di ciascuna varietà

per un totale di 840 vitropiantine.

### 3.2 RILIEVI

Suddivisi in campionamenti in vivo effettuati in fase di allevamento e campionamenti distruttivi effettuati sia durante lo svolgimento della prova che al termine della stessa (raccolta finale).

Campionamenti in vivo, effettuati ogni tre giorni:

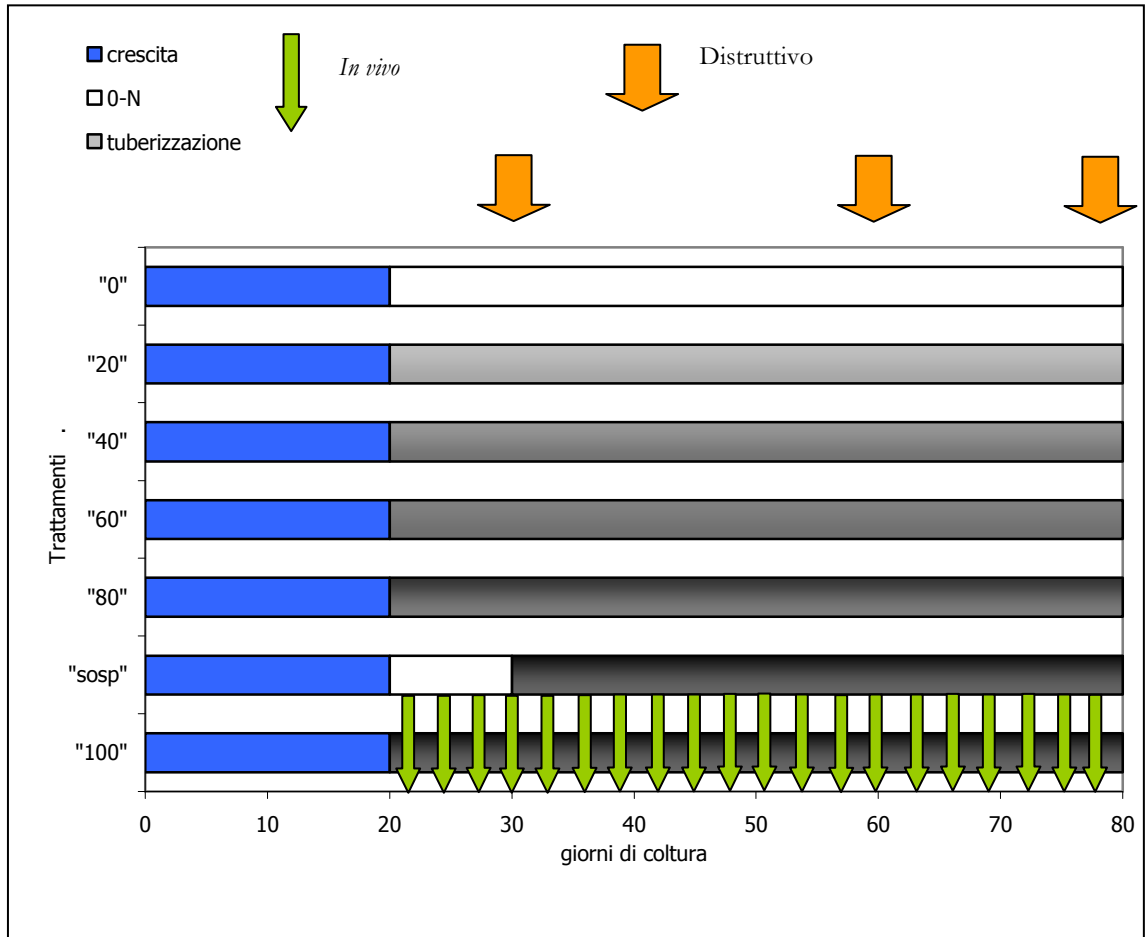
- Inizio formazione stoloni a partire dal 3° giorno dal trasferimento;
- Inizio formazione tuberi a partire dal 3° giorno dal trasferimento;
- Numero di tuberi formati a ciascuna osservazione;
- Posizione dei tuberi,

Campionamenti distruttivi, ogni 20 giorni ed alla raccolta finale (80° giorno di coltura) su 4 magenta (20 vitropiantine) per ciascuna varietà:

- Peso fresco parte aerea (**PFP**) e radicale (**PFR**);
- Peso secco parte aerea (**PSP**) e radicale (**PSR**);
- Peso fresco (**PFT<sub>i</sub>**), diametro maggiore (longitudinale) (**DL<sub>i</sub>**) e diametro minore (trasversale) (**DT<sub>i</sub>**) di ciascun tubero di una magenta;
- Numero tuberi (**NT**);
- Contenuto elementare di azoto e carbonio di piante, radici e tuberi.

Il primo campionamento di 4 magenta per varietà di tipo distruttivo è stato effettuato a 30 giorni dal trapianto, 10 giorni dopo il trasferimento sul terreno di tuberizzazione; dal trasferimento in poi con cadenza 3 giorni sono effettuati i rilievi in vivo (osservazioni) su tutte le magenta presenti; in seguito, con cadenza di 30 giorni, sono stati effettuati i rilievi distruttivi provvedendo a campionare 4 magenta per ciascuna varietà. In questo modo si sono potuti effettuare 3 campionamenti distruttivi e 20 campionamenti in vivo (Figura n° 3).

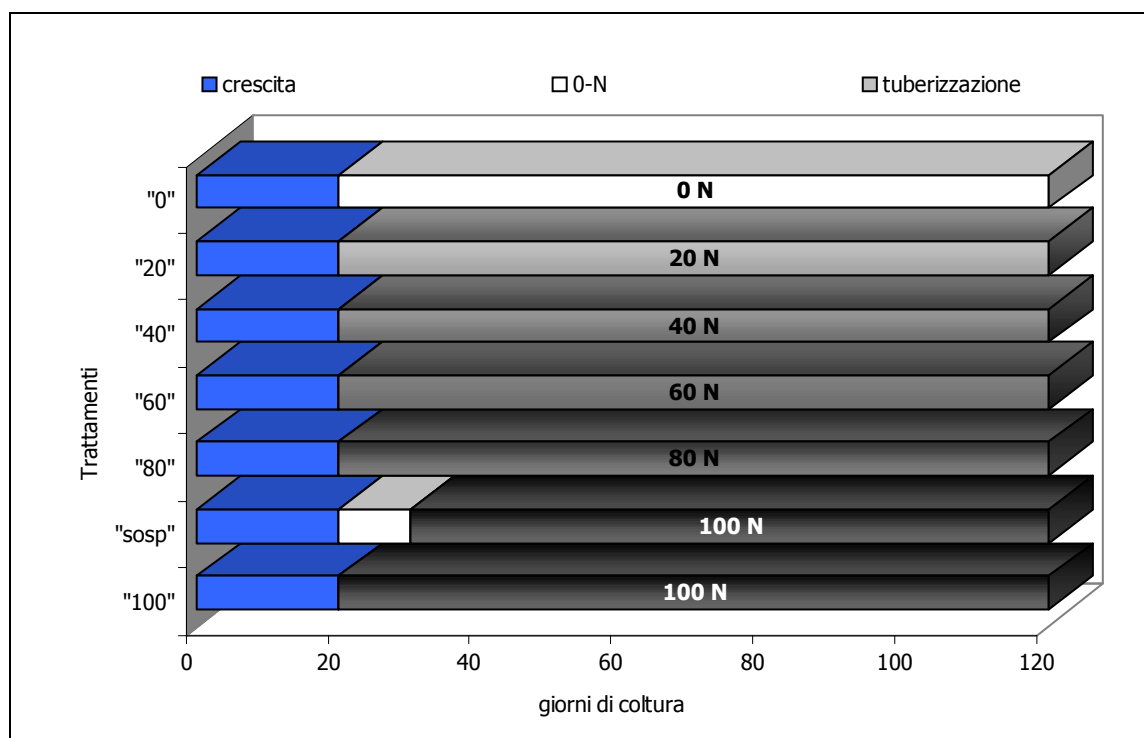
**Figura 3 – Condizioni INDUTTIVE : Articolazione e tempistica dei rilievi**



## 4 PROVA II TUBERIZZAZIONE IN CONDIZIONI DI FOTOPERIODO E TEMPERATURE NON - INDUTTIVE

### 4.1 DESCRIZIONE DELLA PROVA

Figura 2 – Condizioni NON INDUTTIVE: Schema dei trattamenti e tempistica della prova



#### TRASFERIMENTO VITROPIANTINE

Le condizioni iniziali di coltura, in questa seconda prova, sono state le medesime della prima prova e cioè:

- Fotoperiodo lungo : 16 ore di luce, 8 ore di buio;
- Temperatura: 18°C durante la notte, 24°C durante il giorno;
- Terreno: MS + 3% saccarosio, 0.1% Phytigel.

Successivamente le vitropiantine sono state trasferite sino alla fine della prova (120 giorni) nelle condizioni "non - induttive" di seguito descritte:

- **Fotoperiodo lungo: 16 ore di luce, 8 ore di buio;**
- **Temperatura: 18°C durante la notte, 24°C durante il giorno;**
- **Terreno: MS + 8% saccarosio, 0.1% Phytigel.**

Anche questa prova si è svolta in magenta (25 ml di substrato) ciascuna contenente 5 piante provenienti da talee uninodali, per ciascun trattamento erano presenti 12 magenta (corrispondenti a 60 piante), quindi lo schema sperimentale ha previsto:

$$7 \text{ trattamenti} \times 2 \text{ varietà} \times 12 \text{ ripetizioni} = 168 \text{ magenta}$$

84 magenta di ciascuna varietà

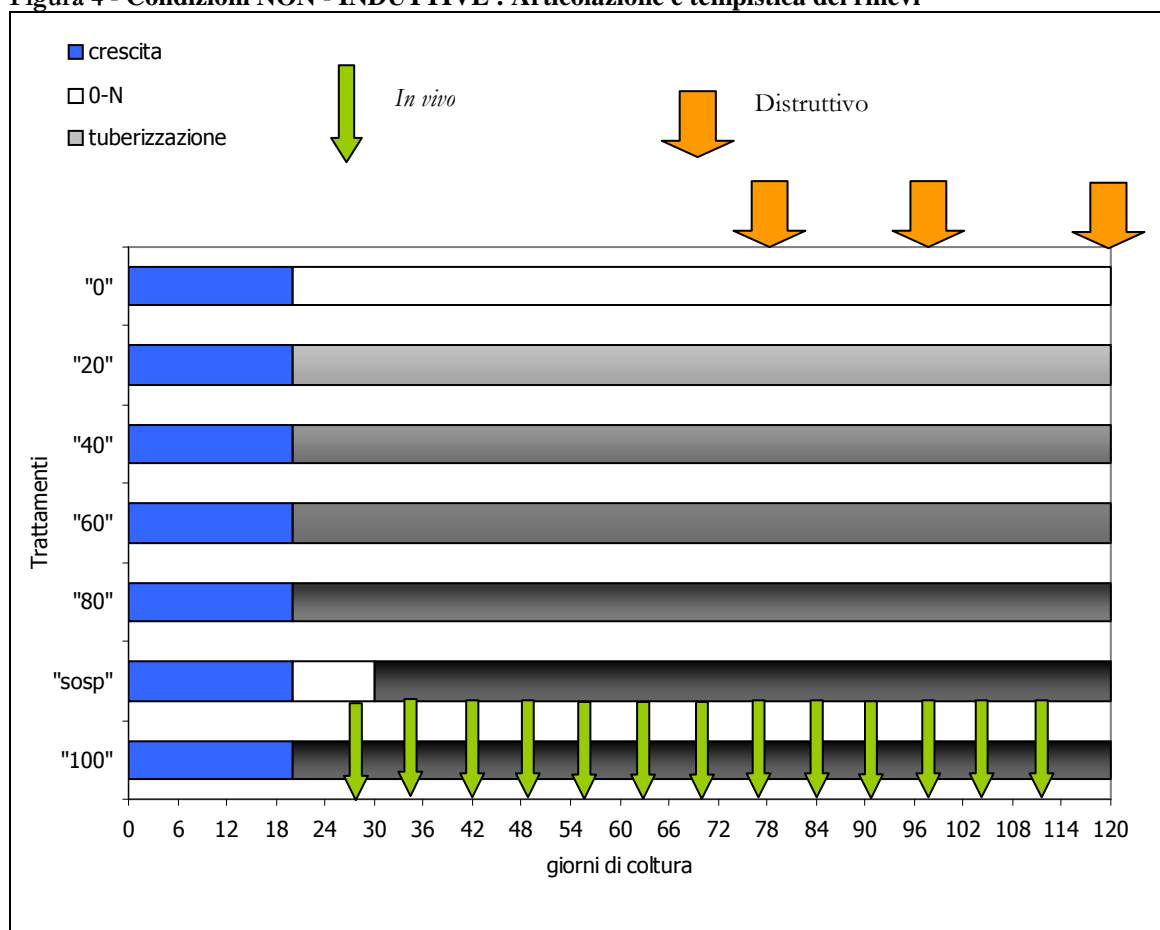
per un totale di 840 vitropiantine.

La lunghezza temporale della prova è stata necessariamente modificata perché le condizioni non induttive hanno comportato un ritardo nell'inizio della tuberizzazione e, conseguentemente un allungamento di tutta la prova.

I rilievi effettuati sono stati i medsimi descritti per la prima prova e le tempistiche sono illustrate in figura 4.

**Figura 2**

**Figura 4 - Condizioni NON - INDUTTIVE : Articolazione e tempistica dei rilievi**



## **5. PROVA III - VERIFICA DELLA TUBERIZZAZIONE**

### **PROVA DI CONTROLLO DELL'INFLUENZA DEL SUBSTRATO SULLA TUBERIZZAZIONE**

La necessità di allestire una terza prova di tuberizzazione in vitro è sorta principalmente dall'esigenza di esaminare alcune caratteristiche dimostrate in fonte di incertezza nelle due prove precedenti, le domande che ci siamo posti sono qui di seguito illustrate.

#### **Ruolo dello stress da trapianto nell'induzione della tuberizzazione**

Poiché gli stress rappresentano generalmente un fonte di stimolo per la tuberizzazione, volevamo indagare se lo stress generato sulle piante dal trasferimento da un terreno di crescita ad uno di tuberizzazione potesse essere uno stimolo alla tuberizzazione.

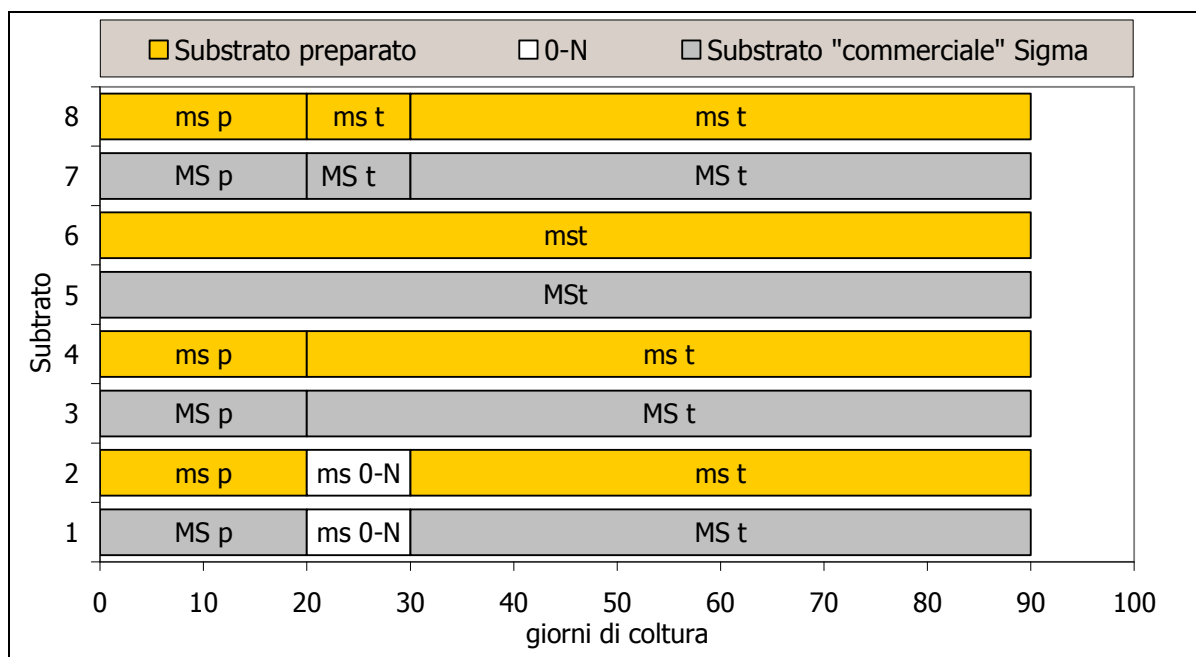
#### **Importanza della tipologia di substrato sulla tuberizzazione**

Il substrato Murashige and Skoog utilizzato nelle due prove precedenti doveva obbligatoriamente essere preparato in laboratorio per consentirci di dosare l'azoto, lo stesso terreno esiste anche in formulazioni commerciali standard; abbiamo quindi deciso di testarli entrambi.

Da tutto ciò nasce l'articolazione della III prova la cui dinamica e organizzazione viene qui di seguito illustrata.

## 5.1 DESCRIZIONE DELLA PROVA

**Figura 5 – VERIFICA: Schema dei trattamenti e tempistica della prova**



## 5.2 DESCRIZIONE DEI TRATTAMENTI

La prova ha previsto l'utilizzo sia di substrato in busta prodotto dalla ditta Sigma, che da questo momento verrà indicato con il termine "MS $\sigma$ ", sia di substrato prodotto da stocks, da adesso definito "MS sali"; per ciascun tipo di substrato sono previste le combinazioni:

1. MS $\sigma$ P - MS P sali: terreno di propagazione al 100 % di azoto.
2. MS sali N0%: terreno privo di azoto
3. MS $\sigma$ T - MS T sali: terreno di tuberizzazione al 100% di azoto.

I diversi substrati sono stati tra loro combinati come illustrato in figura n° 5 allo scopo di effettuare diverse combinazioni di trapianti:

- Due trapianti con sospensione azotata: trattamenti 1 e 2;
- Un trapianto da un substrato di propagazione ad uno di tuberizzazione: trattamenti 3 e 4;
- Zero trapianti: vitropiantine allevate sempre su substrato di tuberizzazione: trattamenti 5 e 6;
- Due trapianti senza sospensione azotata: vitropiantine trasferire due volte consecutive da un substrato di propagazione ad uno di tuberizzazione: trattamenti 7 ed 8.



La prova si è svolta sulla sola Varietà Desirée e comprendeva 10 magenta (con 5 talee uninodali ciascuna) per ogni terreno; per un totale di:  $10 \times 8 = 80$  magenta.

La tempistica adottata è stata:

- Un trasferimento a 20 giorni dall'impianto ( questo per tutti i trattamenti esclusi i numero 5 e 6)
- Per i trattamenti 1, 2, 7 ed 8: permanenza per 10 giorni in terreno a 0% azoto (trat. 1 e 2) ed a 100% azoto (Trat. 7 ed 8).
- Un secondo trasferimento a 30 giorni dall'impianto , per i trattamenti 1, 2, 7 ed 8, su terreno di tuberizzazione (Sigma o da sali).

Sono inoltre stati effettuati dei campionamenti distruttivi durante lo svolgimento della prova ai giorni: 20, 30, 60 e 90 dall'inizio della coltura.

Le condizioni fotoperiodiche sono state di tipo non induttivo alla tuberizzazione nei primi 20 giorni (fotoperiodo lungo) ed induttive per i giorni restanti (fotoperiodo corto).

## 6. RILIEVI

### 6.1 DATI RACCOLTI E PARAMETRI RILEVATI

Dai dati raccolti nel corso delle osservazioni si è potuto derivare alcuni parametri calcolati:

#### - Tempo Medio di Tuberizzazione (TMT):

$$TMT = \frac{\sum_{i=1}^n ((n^{\circ} tub_m - n^{\circ} tub_{m-1}) \times gg_m)}{\sum_{i=1}^n gg_m}$$

Il parametro indica il tempo (giorno o frazione di esso) necessario mediamente per la formazione di un microtubero, esso tiene in considerazione sia la precocità di formazione dei microtuberi, sia la quantità degli stessi formatasi alla fine della coltura in vitro; può quindi essere considerato un buon indicatore dell'andamento della tuberizzazione in funzione del tempo. A valori di TMT bassi corrispondono tuberizzazioni piuttosto precoci e numericamente significative soprattutto nelle fasi iniziali. A parità di data di prima tuberizzazione, ha il TMT più basso la pianta che ha formato più microtuberi.

#### - Tasso Relativo di Tuberizzazione (TRT):

$$TRT = \sum_{i=1}^n \frac{(n^{\circ} tub_m)}{gg_m}$$

A differenza del TMT si tratta di un parametro che risulta maggiormente influenzato dal numero di microtuberi prodotti, in particolar modo risulta più elevato quanto un numero elevato di MT viene prodotto in fase iniziale di coltura mentre è numericamente meno importante quando i tuberi sono prodotti alla fine della coltura.

#### - Numero Tuberi all'osservazione t-esima (NTGGt):

Semplicemente si tratta del numero di microtuberi determinati nel corso dei rilievi in vivo prima della raccolta.

#### - Velocità di Tuberizzazione (VT):

$$VT = gg \text{ comparsa primo MT}$$

Si tratta del numero di giorni necessari affinché la vitropiantina produca il primo microtubero, indipendentemente dalla quantità prodotta. E' il parametro che meglio esprime il concetto di "precocità" di tuberizzazione.

Dai dati raccolti nei tre campionamenti distruttivi, effettuati al 30°, 60° ed 80° giorno di coltura è stato possibile ricavare alcuni parametri derivati, ovvero:

- **Peso Medio Tubero (PMT):**

$$PMT = \frac{\sum_{i=1}^n PT_i}{\sum_{i=1}^n n^{\circ}Tub_i}$$

- **Peso Totale Tuberi (PTT):**

$$PTT = \sum_{i=1}^n PT_i$$

- **Diametro trasversale medio (DTMed):**

$$DTMed = \frac{\sum_{i=1}^n DT_i}{\sum_{i=1}^n n^{\circ}Tub_i}$$

Ove:  $\sum_{i=1}^n DT_i$  è la sommatoria dei diametri trasversali dell' *i-esimo* microtubero della *n-esima*

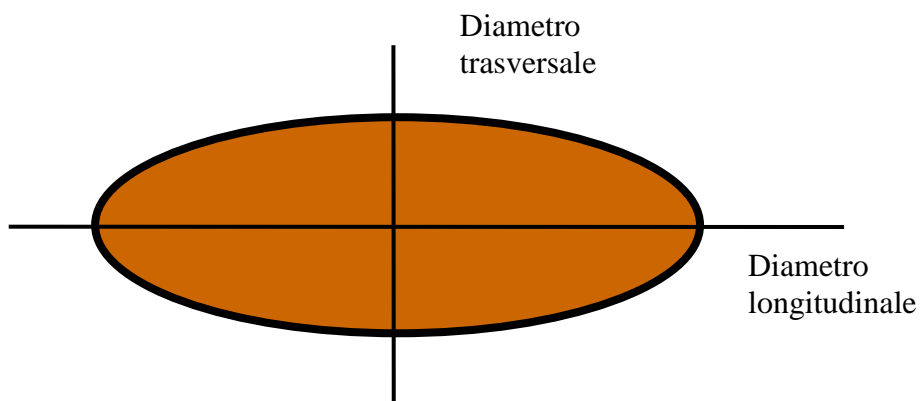
magenta; e  $\sum_{i=1}^n n^{\circ}Tub_i$  è la somma del numero di microtuberi della *n-esima* magenta

- **Diametro Longitudinale Medio (DLMed):**

$$DLMed = \frac{\sum_{i=1}^n DL_i}{\sum_{i=1}^n n^{\circ}Tub_i}$$

Ove:  $\sum_{i=1}^n DL_i$  è la sommatoria dei diametri longitudinali dell' *i-esimo* microtubero della *n-*

*esima* magenta; e  $\sum_{i=1}^n n^{\circ}Tub_i$  è la somma del numero di microtuberi della *n-esima* magenta



- Contenuto percentuale di AZOTO nella parte aerea ( $N\%_{pia}$ );
- Contenuto percentuale di AZOTO nella parte radicale ( $N\%_{rad}$ );
- Contenuto percentuale di AZOTO nei tuberi ( $N\%_{tub}$ );
- Contenuto percentuale di CARBONIO nella parte aerea ( $C\%_{pia}$ );
- Contenuto percentuale di CARBONIO nella parte radicale ( $C\%_{rad}$ );
- Contenuto percentuale di CARBONIO nei tuberi ( $C\%_{tub}$ );
- Rapporto Carbonio Azoto nella parte aerea ( $C/N_{pia}$ );

$$C / N_{pia} = \frac{C\%_{pia}}{N\%_{pia}}$$

- Rapporto Carbonio Azoto nella parte radicale ( $C/N_{rad}$ );

$$C / N_{rad} = \frac{C\%_{rad}}{N\%_{rad}}$$

- Rapporto Carbonio Azoto nei tuberi ( $C/N_{tub}$ );

$$C / N_{tub} = \frac{C\%_{tub}}{N\%_{tub}}$$

- Contenuto “reale” di AZOTO nella parte aerea ( $[N]_{pia}$ );

$$[N]_{pia} = N\%_{pia} \times PSP$$

- Contenuto “reale” di AZOTO nella parte radicale ( $[N]_{rad}$ );

$$[N]_{rad} = N\%_{rad} \times PSR$$

- Contenuto “reale” di AZOTO nei tuberi ( $[N]_{tub}$ );

$$[N]_{tub} = N\%_{tub} \times PTT$$

- Contenuto “reale” di CARBONIO nella parte aerea ( $[C]_{pia}$ );

$$[C]_{pia} = C\%_{pia} \times PSP$$

- Contenuto “reale” di CARBONIO nella parte radicale ( $[C]_{rad}$ );

$$[C]_{rad} = C\%_{rad} \times PSR$$

- Contenuto “reale” di CARBONIO nei tuberi ([C] tub);

$$[C]_{tub} = C\%_{tub} \times PTT$$

## 6.2 ANALISI STATISTICA DELLE OSSERVAZIONI

Sui parametri derivati dalle osservazioni si è proceduto ad eseguire l'analisi della varianza secondo il modello fisso riportata in tabella 6.1, sui parametri significativi si è poi proceduto ad effettuare il test delle Minime Differenze Significative (MDS) la cui significatività è stata testata con il test del Bonferroni.

**Tabella 6.1 - Analisi della varianza delle osservazioni**

F.V.	G.d.L.	Atteso della varianza
<b>Blocco</b>	<b>1</b>	$\sigma_b^2$
<b>Varietà (V)</b>	<b>1</b>	$\sigma_e^2 + n s \frac{\sum_{i=1}^2 \alpha_i^2}{(2-1)}$
<b>Substrato (S)</b>	<b>6</b>	$\sigma_e^2 + n \times v \frac{\sum_{j=1}^7 \beta_j^2}{(7-1)}$
<b>V x S</b>	<b>6</b>	$\sigma_e^2 + n \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^7 \frac{\gamma_{ij}^2}{(2-1)-(7-1)}$
<b>errore</b>	<b>92</b>	$\sigma_e^2$

## 6.3 ANALISI STATISTICA DEI CAMPIONAMENTI DISTRUTTIVI

Sui dati raccolti con i campionamenti distruttivi si è proceduto all'analisi statistica, i fattori sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo il modello riportato in tabella 6.2; l'effetto della fonte di variazione "Substrato" è stato ulteriormente indagato mediante contrasti ortogonali (Tabella n°5).

**Tabella 6.2 - Analisi della Varianza dei Campionamenti distruttivi**

F.V.	G.d.L.	Atteso
Blocco	1	$\sigma_b^2$
Varietà (V)	1	$\sigma_e^2 + ns \frac{\sum_{i=1}^2 \alpha_i^2}{(2-1)}$
Substrato (S)	6	$\sigma_e^2 + n \times v \frac{\sum_{j=1}^7 \beta_j^2}{(7-1)}$
100% N $\Rightarrow \mu$	1	
sosp $\Rightarrow \mu$	1	
0% $\Rightarrow \mu$	1	
(60% N + 80% N) $\Rightarrow$ (20% N + 40% N)	1	
60% N $\Rightarrow$ 80% N	1	
40% N $\Rightarrow$ 20% N	1	
V x S	6	$\sigma_e^2 + n \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^7 \frac{\gamma_{ij}^2}{(2-1)-(7-1)}$
errore	92	$\sigma_e^2$

#### 6.4 CONTRASTI ORTOGONALI

La tecnica dei contrasti ortogonali (Tabella n° 6.3) permette di scorporare la quota di varianza dovuta ai differenti substrati e ci consente di valutare com'è ripartita tale quota; tra tutti i contrasti possibili è stato necessario applicare un modello che fosse completo ovvero in cui la somma delle righe fosse sempre uguale a zero ed in cui la somma dei prodotti per riga delle colonne prese a due a due fosse uguale a zero.

**Tabella 6.3 - Dettaglio dell'analisi dei contrasti ortogonali**

Contrasto	Substrati (%N)						
	0	20	40	60	80	S	100
100% N $\Rightarrow \mu$	+6	-1	-1	-1	-1	-1	-1
(0% N + sospN) $\Rightarrow \mu$	+2	-1	-1	-1	-1	+2	0
(60% N + 80% N) $\Rightarrow$ (20% N + 40% N)	0	+1	+1	-1	-1	0	0
40% N $\Rightarrow$ 20% N	0	+1	-1	0	0	0	0

60% N ⇒ 80% N	0	0	0	+1	-1	0	0
0% ⇒ sosp	+1	0	0	0	0	-1	0

Ove  $\mu$  rappresenta la media di tutti gli altri trattamenti

Per tale motivo i contrasti scelti sono quelli riportati in tabella e ci hanno consentito di valutare:

- quanto i singoli substrati "N0", "N100" ed "N sosp" si differenziano dalla media degli altri;
- di confrontare la coppia di substrati (N60+N80) e (N20+N40);
- di valutare le differenze all'interno dei substrati con simili contenuti in azoto (N60 - N80) e (N40 - N20).

Sui parametri risultati statisticamente significativi si è poi proceduto ad effettuare il test delle Minime Differenze Significative (MDS) la cui significatività è stata testata mediante il test del Bonferroni.

## 6.6 CORRELAZIONI

Le correlazioni sono state testate mediante il test Pearson e la loro significatività è stata testata mediante il test del Bonferroni.

La matrice delle correlazioni (Tabella n° 6.4) ha preso in considerazione tutte le possibili combinazioni in riferimento ai campionamenti distruttivi, ha quindi compreso tutti i dati morfometrici su piante, radici e tuberi, il contenuto percentuale di azoto e carbonio ed il contenuto assoluto di azoto e carbonio.

**Tabella 6.4: matrice delle correlazioni**

	PFP	PFR	NT	PSP	PSR	PT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM	N%	C%	C/N	[N]	[C]
PFP																	
PFR																	
NT																	
PSP																	
PSR																	
PT <sub>1</sub>																	
DT <sub>1</sub>																	
DL <sub>1</sub>																	
PTT																	
PMT																	
DTM																	
DLM																	
N%																	
C%																	
C/N																	

[N]																		
[C]																		

Tutte le elaborazioni statistiche sono state effettuate utilizzando il pacchetto statistico SYSTAT 5.0 .



## 7. RISULTATI I PROVA

### 7.1 RISULTATI CAMPIONAMENTI IN VIVO

I risultati dell'analisi statistica delle osservazioni sono riportati in tabella n° 7.1.

**Tabella 7.1 - Risultati analisi statistica**

F.V.	G.d.L.	TRT	TMT	N°TUB
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	*	n.s.	**
Substrato (S)	6	**	**	**
V x S	6	n.s.	n.s.	n.s.
errore	92			

#### TASSO RELATIVO DI TUBERIZZAZIONE (TRT)

Il valore del TRT appare (Graf. n° 7.1.1) essere fortemente legato al contenuto di azoto nel substrato, mostrando un andamento crescente passando dal valore più basso di 0.26 MTgg<sup>-1</sup> nel substrato "N0" in assenza completa di azoto, fino a 0.41 MTgg<sup>-1</sup> nel substrato contenente l'80% ("N80") della dotazione intera di N del Murashige and Skoog; il valore più alto però si riscontra nel trattamento con la "sospensione" della nutrizione azotata, contale substrato si riscontra infatti un TRT pari a 0.42 MTgg<sup>-1</sup>. Riguardo al trattamento "N100", esso comporta un TRT pari a 0.33 MTgg<sup>-1</sup>.

Le due varietà mostrano (Graf. n° 7.1.2) avere un trend dei valori del TRT simile con la differenza che Alba mostra il valore più elevato di 0.49 MTgg<sup>-1</sup> nel trattamento "N80" e il valore di 0.45 MTgg<sup>-1</sup> nel trattamento "sospensione" azotata

#### TEMPO MEDIO DI TUBERIZZAZIONE (TMT)

L'effetto dei substrati di coltura (Graf.n° 7.1.3) comporta un TMT molto basso pari a 1.89 gg MT<sup>-1</sup> nel trattamento "N40", mentre nella sospensione si registra il valore più alto pari a 2.74 gg MT<sup>-1</sup>. I valori relativi agli altri trattamenti sono simili per "N0", "N60" e "N80" con valori intorno ai 2.2 gg MT<sup>-1</sup> e per "N100".

Analizzando nel dettaglio il comportamento di ciascuna varietà (Graf. n° 7.1.4) è soprattutto Desirée a mostrare i valori di TMT bassi in "N40" mentre Alba, che mediamente mostra comunque valori più elevati del parametro, esibisce il valore più basso di TMT in "N80".

#### NUMERO MICROTUBERI ALLA OSSERVAZIONE *t*

Il rilievo del numero microtuberi per pianta sarà presentato come "andamento della tuberizzazione" in un secondo momento, qui verrà discussa solo l'ultima osservazione prima della raccolta. A tale riguardo il parametro mostra avere, relativamente ai substrati di coltura (Graf. n° 7.1.5) un trend molto simile a quello manifestato dal parametro TRT ovvero: il valore più elevato (2.02 MT pianta<sup>-1</sup>) nel trattamento "sospensione" ed il più basso (1.15 MT pianta<sup>-1</sup>) nel trattamento "N0". Per gli altri trattamenti si evidenzia un andamento crescente del n° MT passando dal substrato "N20" a "N80"; invece il valore di nMT (1.55 MT pianta<sup>-1</sup>) su "N100" si pone tra "N40" e "N60".

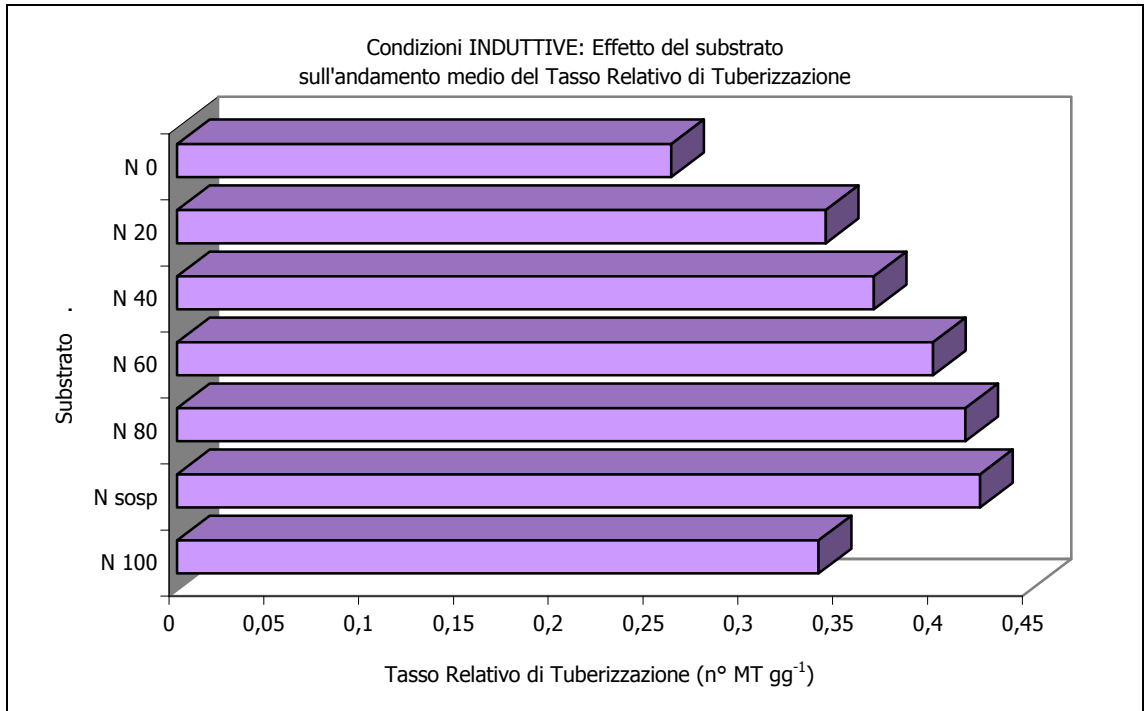
Le due varietà hanno comportamenti pressoché paralleli (Graf. n° 7.1.6) a parte il fatto che, mediamente, Alba mostra valori più elevati di Desirée.

#### VELOCITA' DI TUBERIZZAZIONE (VT)

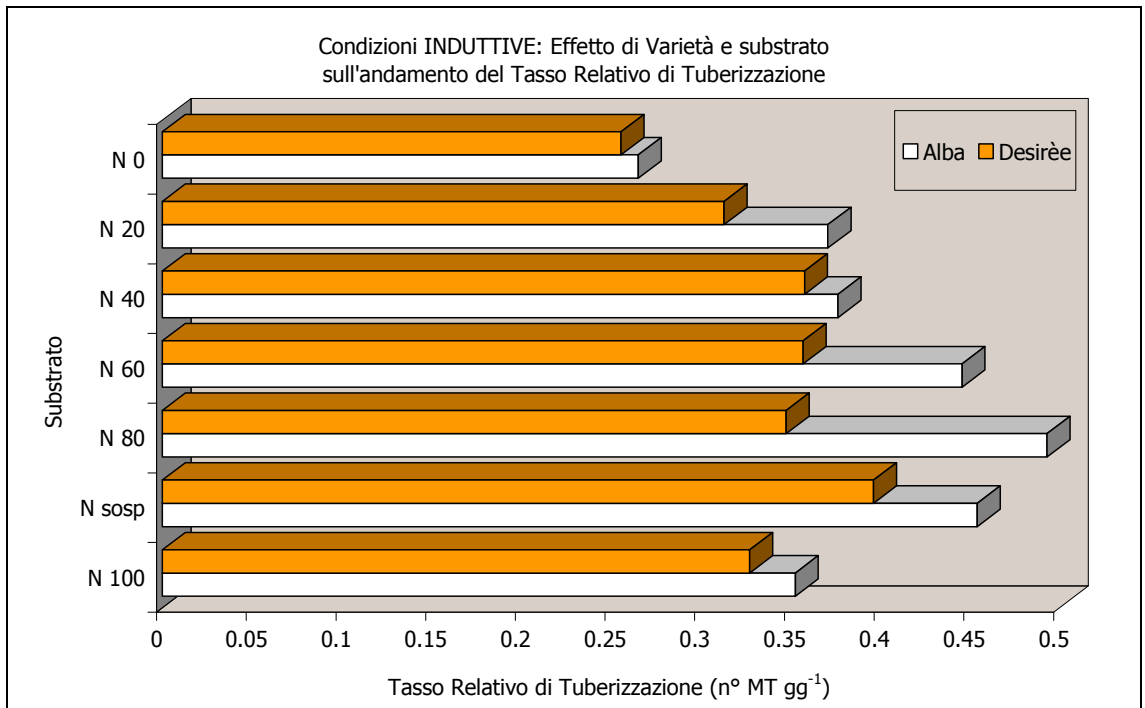
I giorni trascorsi tra l'inizio della coltura e la comparsa del primo microtubero sono espressi, in funzione del trattamento, nel grafico n° 7.1.7 da cui si può evidenziare che il trattamento in cui mediamente si manifesta prima il fenomeno della tuberizzazione è "N40" in cui a 33.75 giorni dall'impianto si formano i primi tuberi, il trattamento più "lento" appare invece essere "N100" in cui si formano i primi tuberi a 36.21 giorni dall'impianto.

Se si procede ad osservare l'effetto delle varietà (Graf. n° 7.1.8) si può apprezzare la maggiore precocità di Alba nei confronti di Desirée in tutti i trattamenti ad esclusione di quelli a bassa dotazione di azoto quali "N0" ed "N20". Alba forma il primo tubero a 32.57 giorni nel trattamento "N60" ed a 33 giorni nel trattamento "N80".

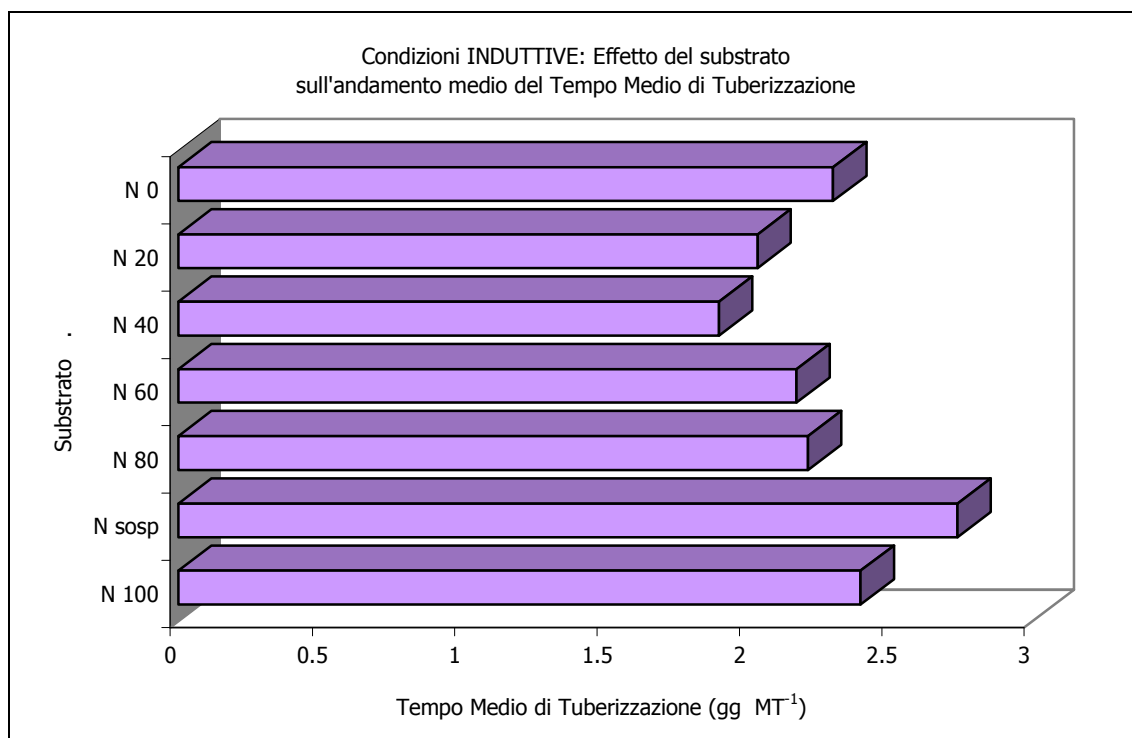
**Grafico 7.1.1**



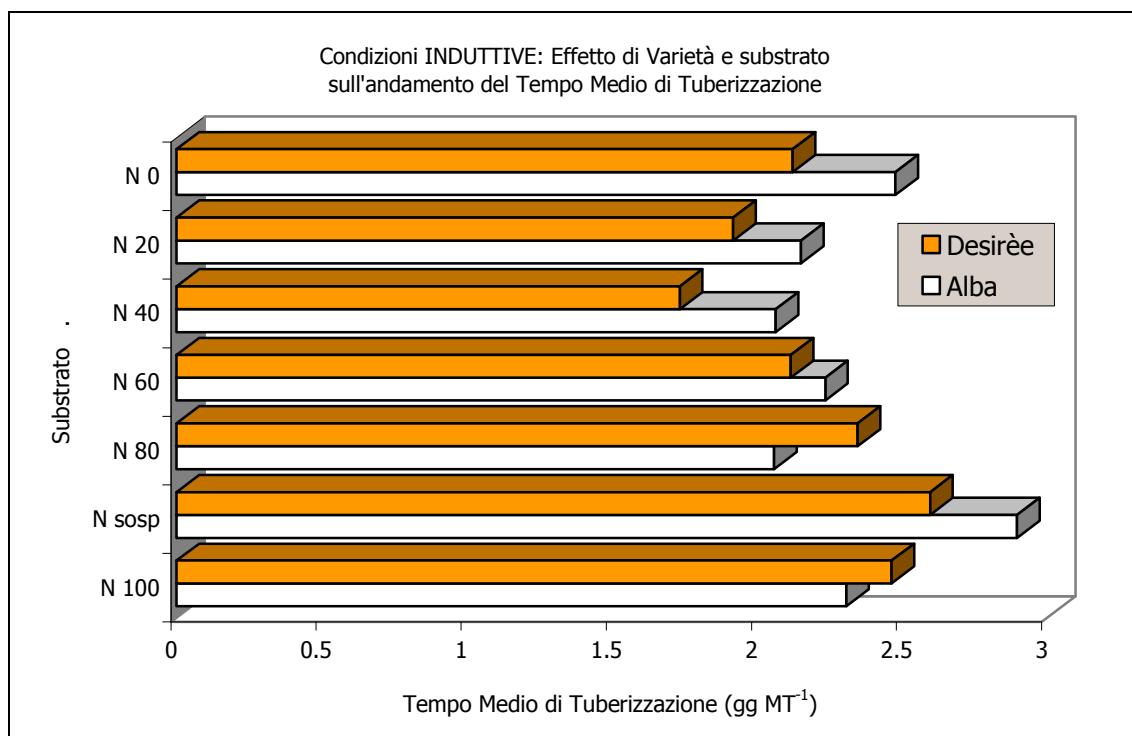
**Grafico 7.1.2**



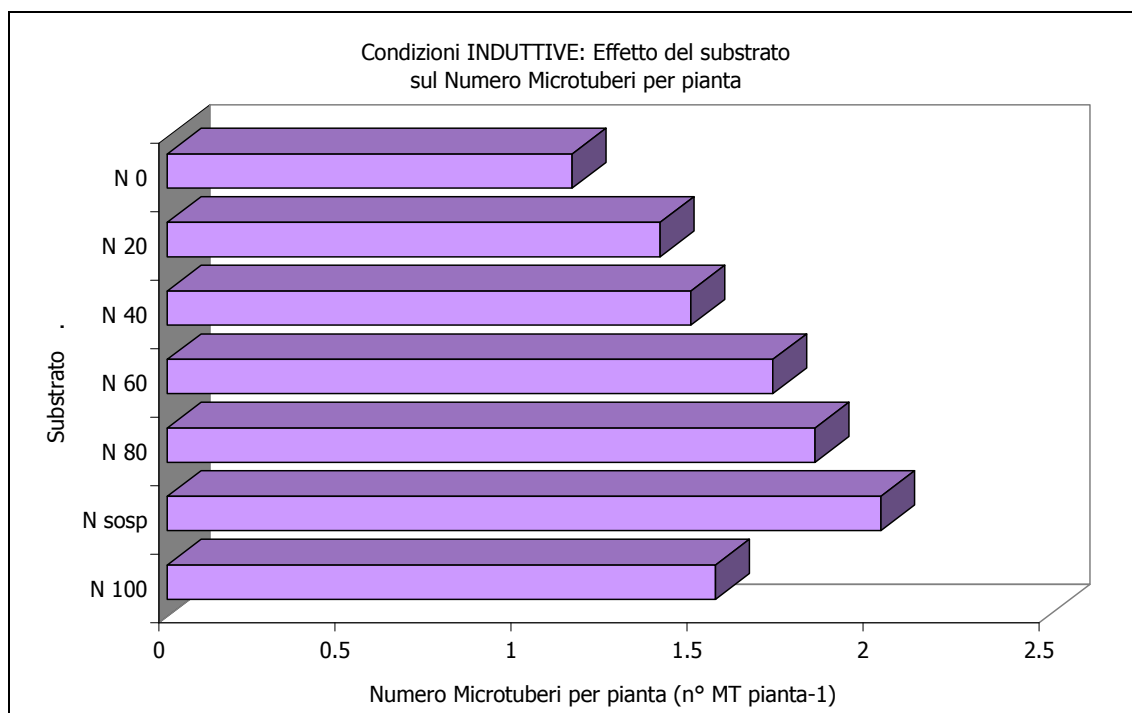
**Grafico 7.1.3**



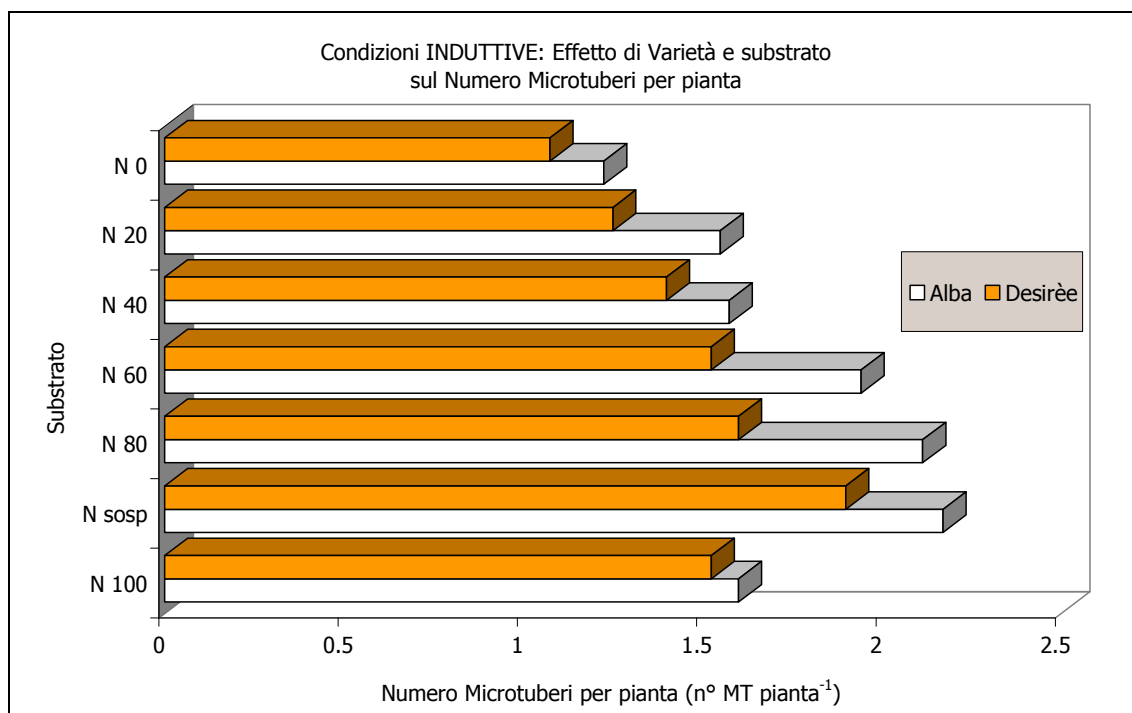
**Grafico 7.1.4**



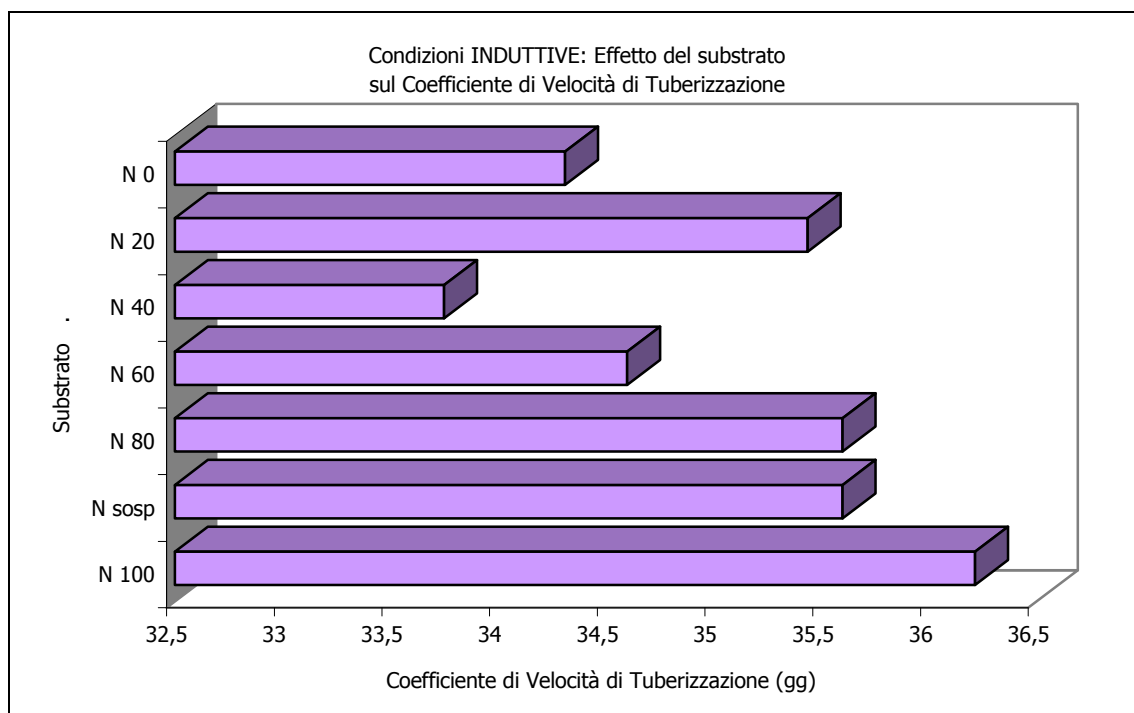
**Grafico7.1.5**



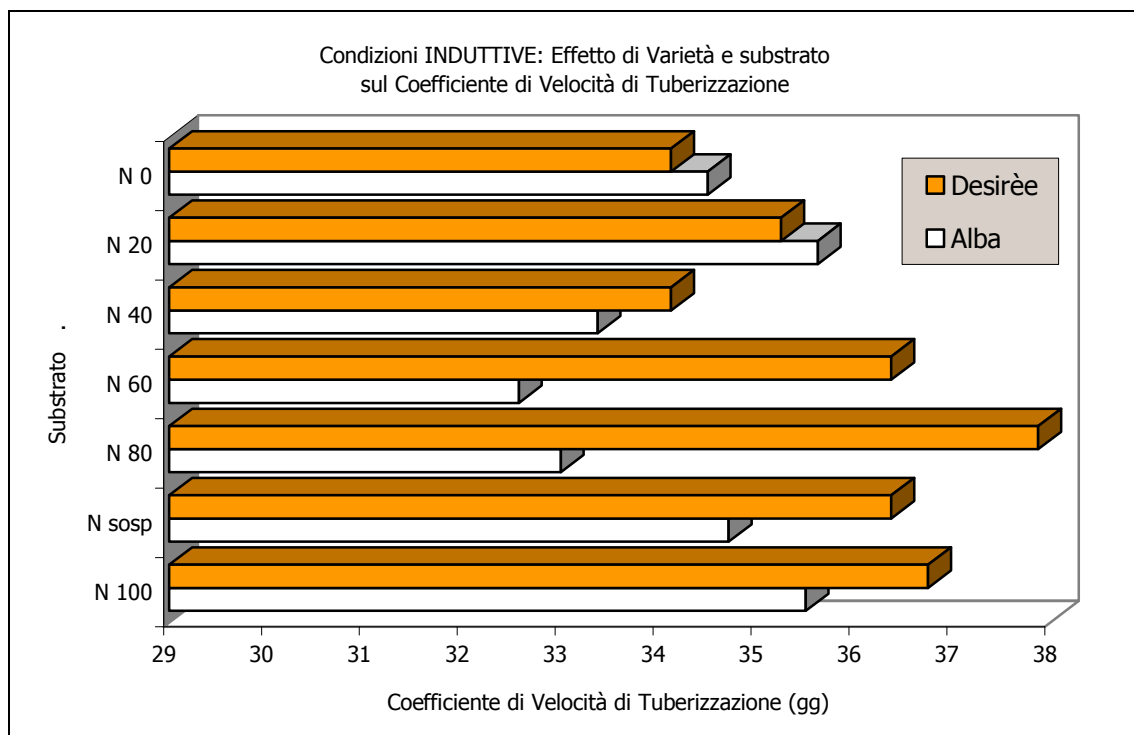
**Grafico 7.1.6**



**Grafico 7.1.7**



**Grafico 7.1.8**



## 7.2 RISULTATI ANDAMENTO DELLA TUBERIZZAZIONE

L'andamento della formazione dei tuberi nel corso della prova è visualizzato sia come effetto medio delle due varietà (Graf. n° 7.2.1), sia suddiviso per varietà (Graf. n° 7.2.3 e 7.2.4); in essi sono riportati il numero medio di tuberi presenti in ciascuna magenta per ciascuna osservazione.

Dall'analisi del grafico n° 7.2.1 si possono trarre alcune considerazioni comuni alle due varietà quali:

- a) l'inizio della tuberizzazione non si verifica mai prima del 30° giorno di coltura, dopo di che avviene in maniera pressoché parallela tra le due varietà;
- b) Alba appare sempre più produttiva di Désirée, se si esclude un breve periodo intorno al 36° giorno.
- c) successivamente le due varietà differenziano significativamente le produzioni a vantaggio di Alba che difatti al 46° giorno ha prodotto 6.34 MT magenta<sup>-1</sup> contro i 5.75 MT magenta<sup>-1</sup> di Désirée;
- d) dal 57° giorno di coltura in poi la produzione è pressoché stabile con gli 8.55 MT magenta<sup>-1</sup> di Alba ed i 7.28 MT magenta<sup>-1</sup> di Désirée..

Analizzando il grafico n° 7.2.2 possiamo invece studiare l'effetto del substrato sull'andamento medio della tuberizzazione nelle due varietà, anche in questa situazione esistono caratteri comuni agli andamenti delle due varietà, difatti:

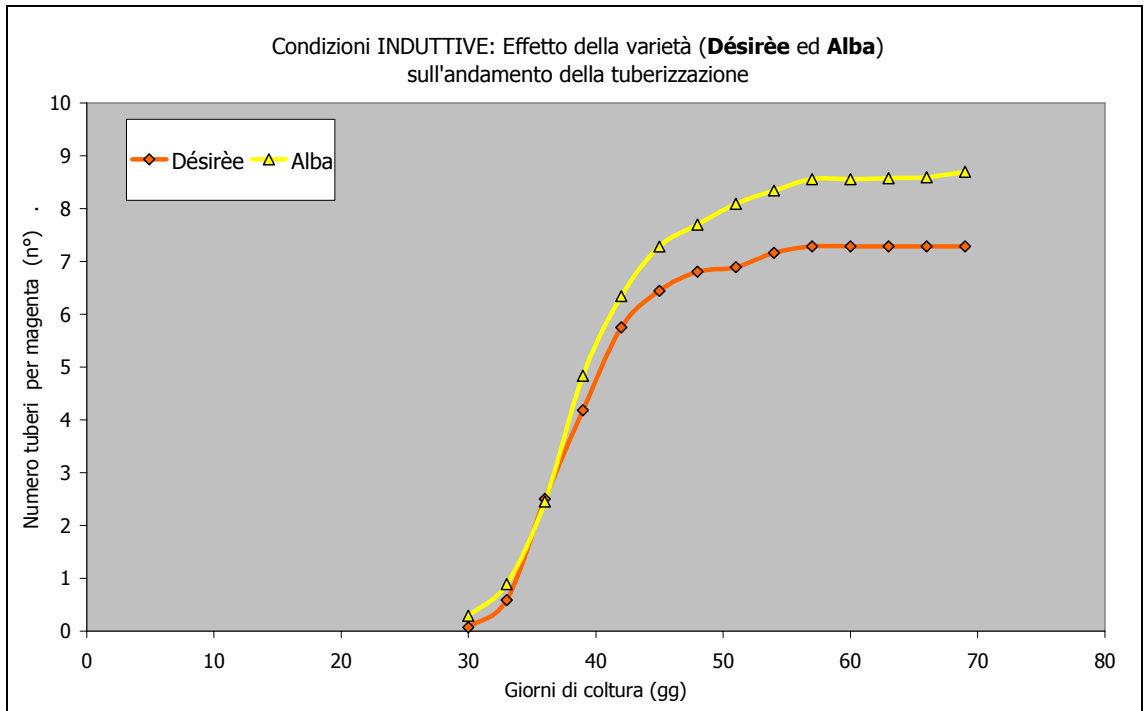
- a) il substrato "N0" rappresenta sempre il terreno meno produttivo, difatti al 42° giorno di coltura produce 4.00 MT magenta<sup>-1</sup> contro i 5.56 MT magenta<sup>-1</sup> di "N100" ed "N20";
- b) il substrato "N sosp", non mostra essere molto produttivo nelle fasi precoci di coltura, difatti sino al 42° giorno di coltura, osservazione in cui esso raggiunge la stessa produzione (6.72 MT magenta<sup>-1</sup>) del substrato risultato più produttivo in fase precoce ovvero "N40", risulta essere il terreno meno produttivo di tutti. Da questa data di osservazione in poi sarà sempre il più produttivo fino a raggiungere una produzione finale di 10.17 MT magenta<sup>-1</sup>;
- c) I substrati "N40", "N20" ed "N60" possono essere individuati come i più produttivi in fase precoce con una produzione al 36° giorno rispettivamente di 4.00 MT magenta<sup>-1</sup>, 3.50 MT magenta<sup>-1</sup> e 2.80 MT magenta<sup>-1</sup>;
- d) Nell'ambito dei substrati "N20", "N40", "N60" ed "N80" esiste un gradiente di produzione di MT proporzionale al contenuto in azoto del substrato stesso; ciò è particolarmente evidente nella fase medio-finale di coltura,
- e) Il substrato "N100" appare avere sempre, fasi precoci e finali, un andamento produttivo che si pone esattamente a metà tra gli altri substrati.

I grafici n° 7.2.5 e 7.2.6 illustrano invece gli andamenti della tuberizzazione dei differenti substrati nelle due varietà; sostanzialmente l'andamento di ciascuna varietà riflette l'andamento medio già evidenziato dal grafico n° 10 se si eccettua il fatto che il trattamento "N80" in Alba risulta il più produttivo nelle fasi finali.

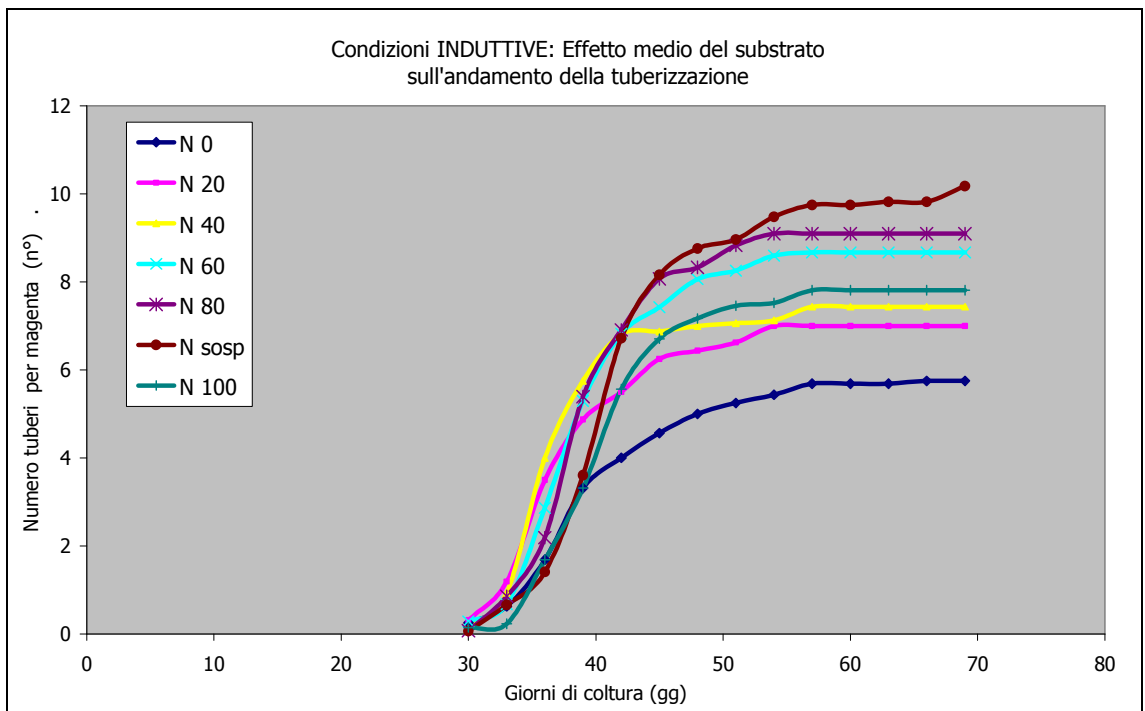
Piuttosto i trattamenti e le due varietà si differenziano in fase iniziale di tuberizzazione (Graf. n. 7.2.7 e n. 7.2.8); infatti, a fronte di una comune precocità dei trattamenti meno ricchi in azoto ("N20", "N40" ed "N60"), in Alba si rileva una forte tuberizzazione precoce del trattamento "N80" il quale al 36° giorno produce 4.00 MT magenta<sup>-1</sup> contro i 2.87 MT magenta<sup>-1</sup> degli altri trattamenti; per contro in Desirèe il substrato "N80" alla stessa data risulta il meno produttivo in assoluto con 0.37 MT magenta<sup>-1</sup>.



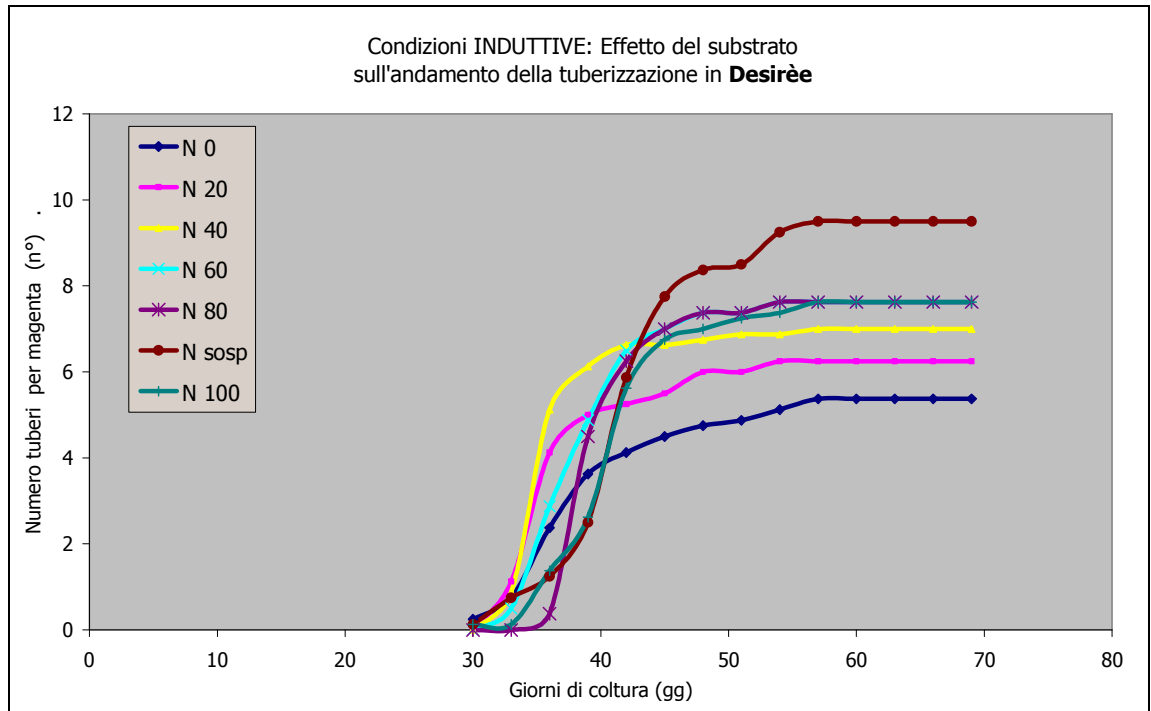
**Grafico 7.2.1**



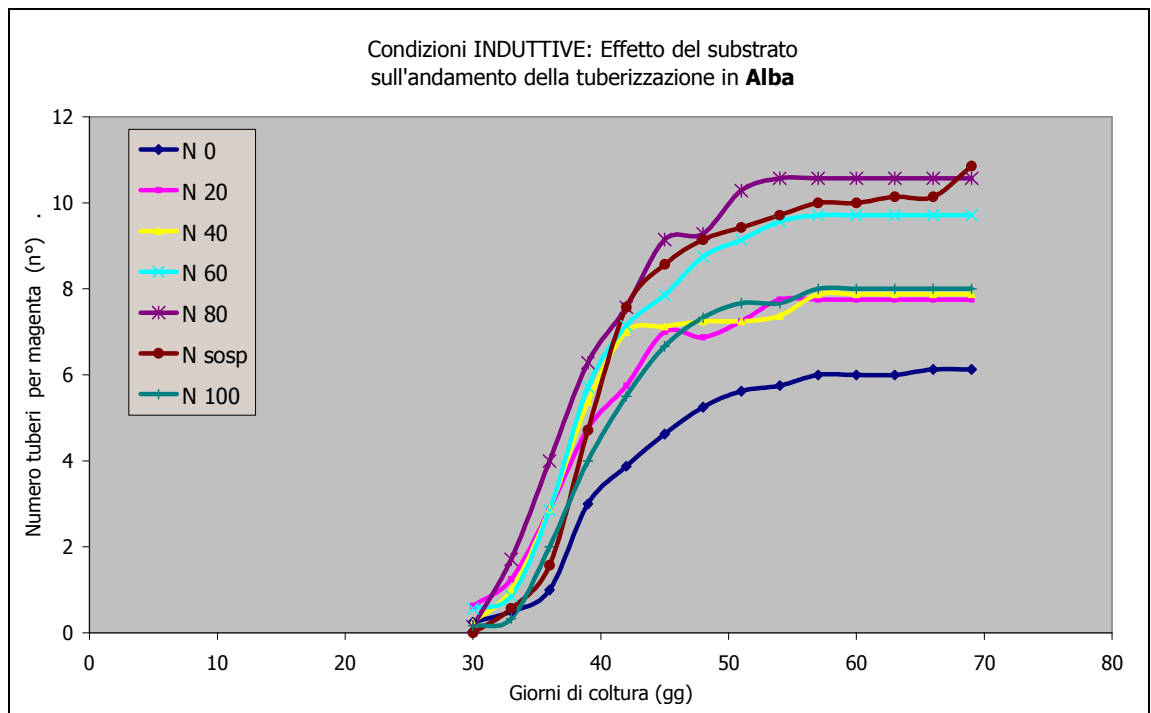
**Grafico 7.2.2**



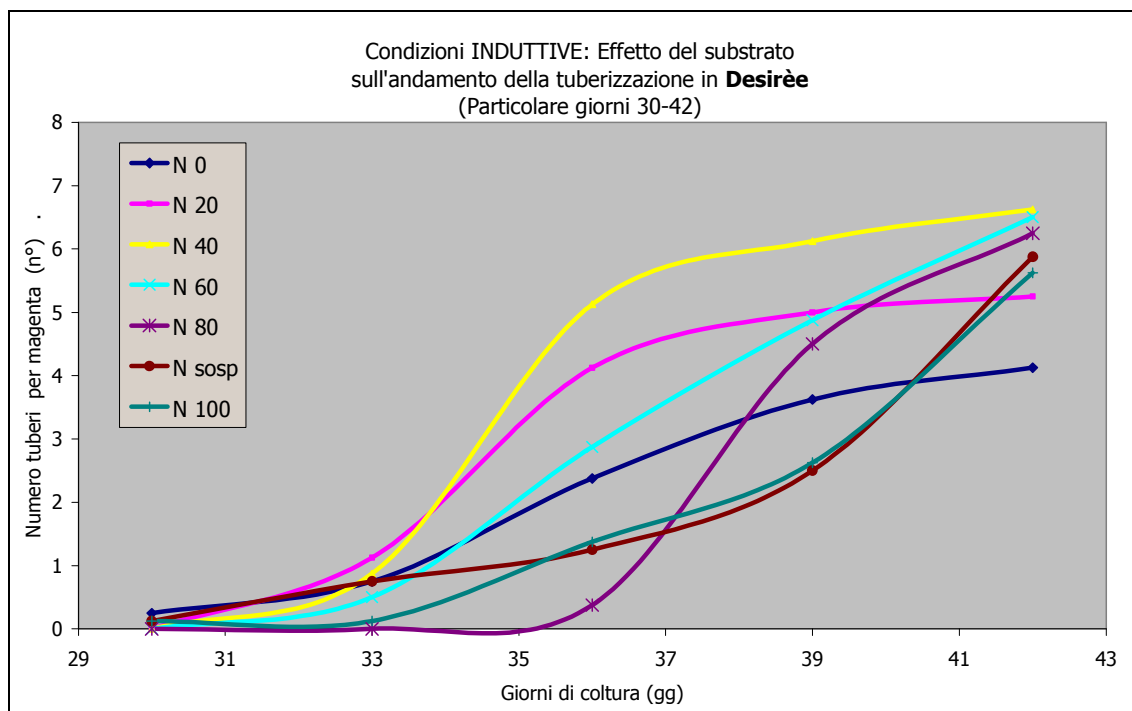
**Grafico 7.2.3**



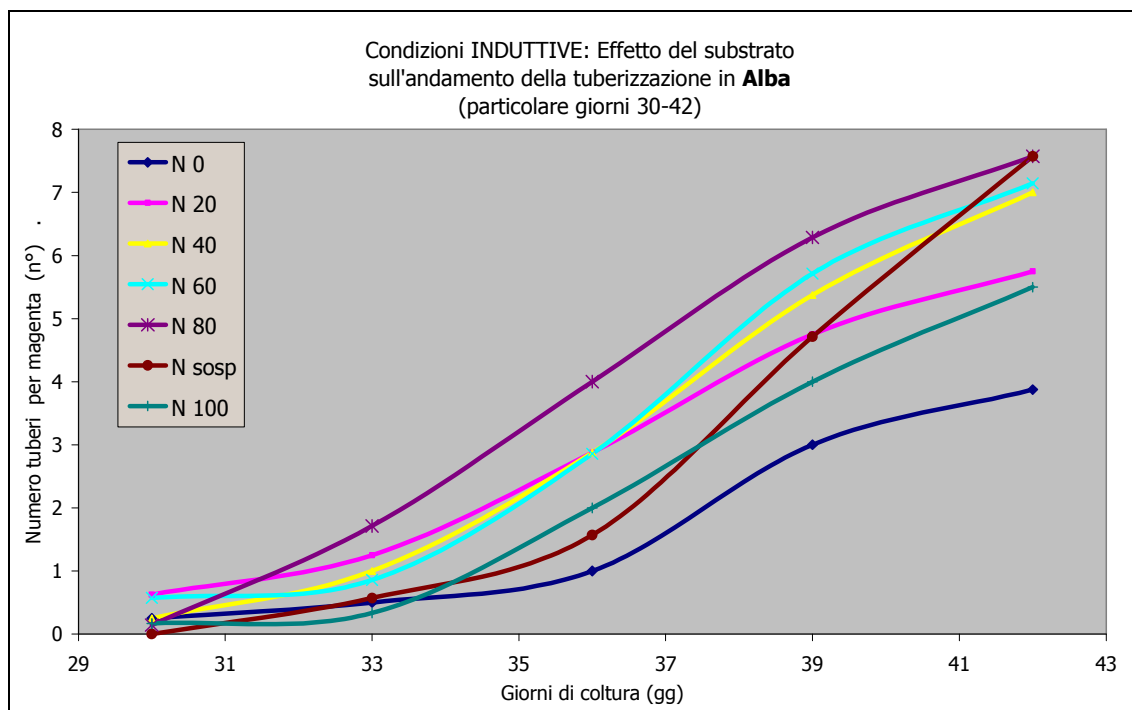
**Grafico 7.2.4**



**Grafico 7.2.59**



**Grafico 7.2.6**



### 7.3 RISULTATI CAMPIONAMENTI DISTRUTTIVI

Tabella 7.3.1 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del I campionamento distruttivo (30 giorni dall'inizio della coltura)

	G:L	PFP	PFR	NT	PSP	PSR	PFT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	-	-
Varietà (V)	1	**	**	-	**	**	-	-	-	-	-	-	-
Substrato (S)	6	*	*	-	*	n.s.	-	-	-	-	-	-	-
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	**	*	-	**	-	-	-	-	-	-	-	-
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-
$0\% \Rightarrow sosp$	1	n.s.	n.s.	-	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-
V x S	6	n.s.	n.s.	-	*	n.s.	-	-	-	-	-	-	-
errore	92			-			-	-	-	-	-	-	-

**Tabella 7.3.2 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del II campionamento distruttivo (60 giorni dall'inizio della coltura)**

	G:L	PF <sub>P</sub>	PF <sub>R</sub>	NT	PSP	PSR	PF <sub>T</sub> <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PT <sub>T</sub>	PM <sub>T</sub>	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	**	*	n.s.	**	**	n.s.	**	n.s.	**	n.s.	**	n.s.
Substrato (S)	6	**	*	*	n.s.	**	**	**	**	**	**	*	**
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	**	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	*	*	*	n.s.	n.s.	n.s.
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
$0\% \Rightarrow sosp$	1	**	**	**	n.s.	**	**	**	**	**	**	**	**
V x S	6	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
errore	92												

**Tabella 7.3.3 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del III campionamento distruttivo (80 giorni dall'inizio della coltura)**

	G:L	PFP	PFR	NT	PSP	PSR	PFT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	**	*	**	**	**	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	*
Substrato (S)	6	**	n.s.	**	**	*	**	**	**	**	**	**	*
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	*	n.s.	n.s.
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	**	n.s.	**	**	n.s.	n.s.
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	**	*	n.s.	*
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.
$0\% \Rightarrow sosp$	1	n.s.	n.s.	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**
V x S	6	n.s.	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
errore	92												

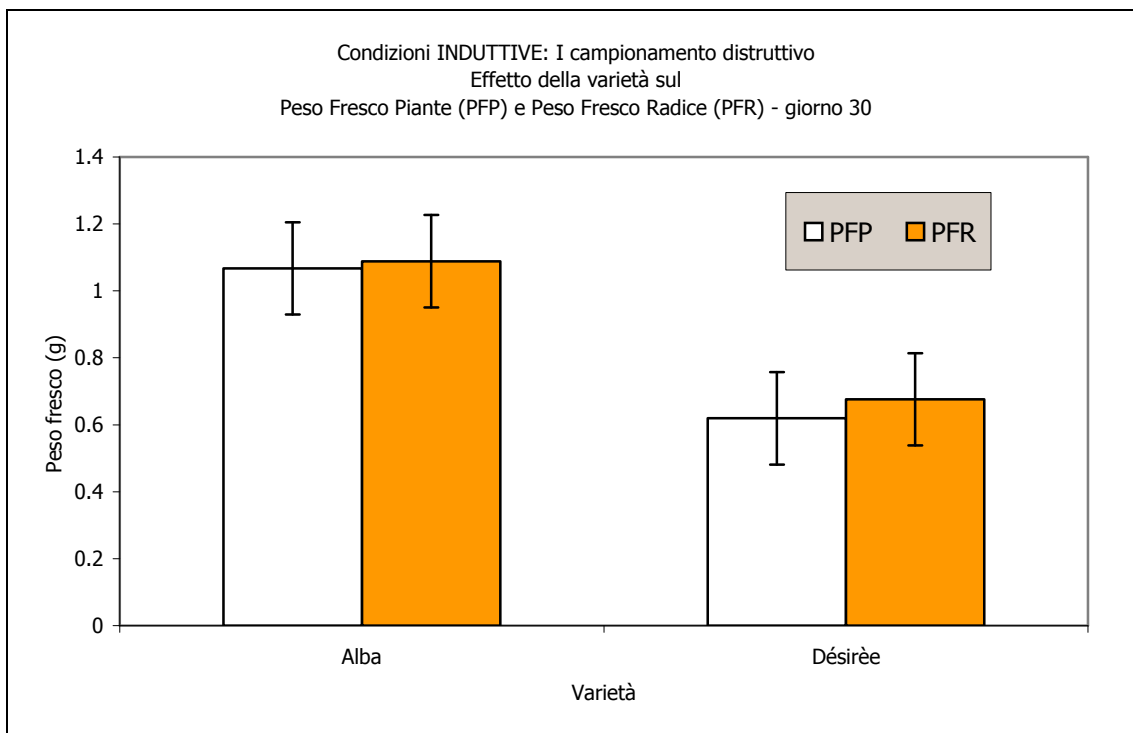
### 7.3.1 I CAMPIONAMENTO (30 giorni)

Al primo campionamento sono assenti le variabili legate ai rilievi sui microtuberi, non ancora formati, almeno nelle magenta campionate. Il fattore varietà risulta sempre altamente significativo per tutte le variabili, nel dettaglio in particolare Alba mostra sempre valori marcatamente maggiori di Désirée (Graf. n° 7.3.1.1).

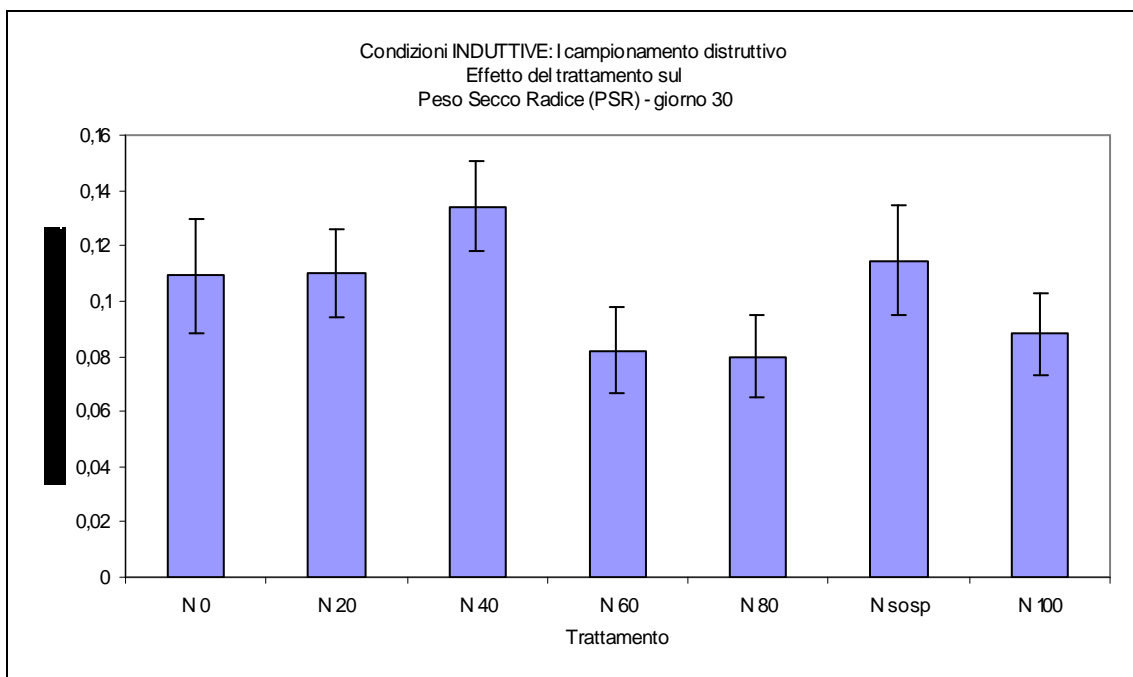
I trattamenti come effetto medio risultano significativi ( $P \leq 0.05$ ) solo per il parametro PSP (Graf. n° 7.3.1.2) in cui si può osservare che nel trattamento N sosp il peso secco della parte aerea mostra valori insolitamente alti rispetto ai pesi freschi.

Dall'analisi dei contrasti si nota che il contrasto tra i substrati (N20 + N40) e (N60 + N80) mostra sempre significatività e questo soprattutto (Graf. n° 7.3.1.3) perché N40 registra i valori maggiori ed N60 i più bassi.

**Grafico 7.3.1.1**

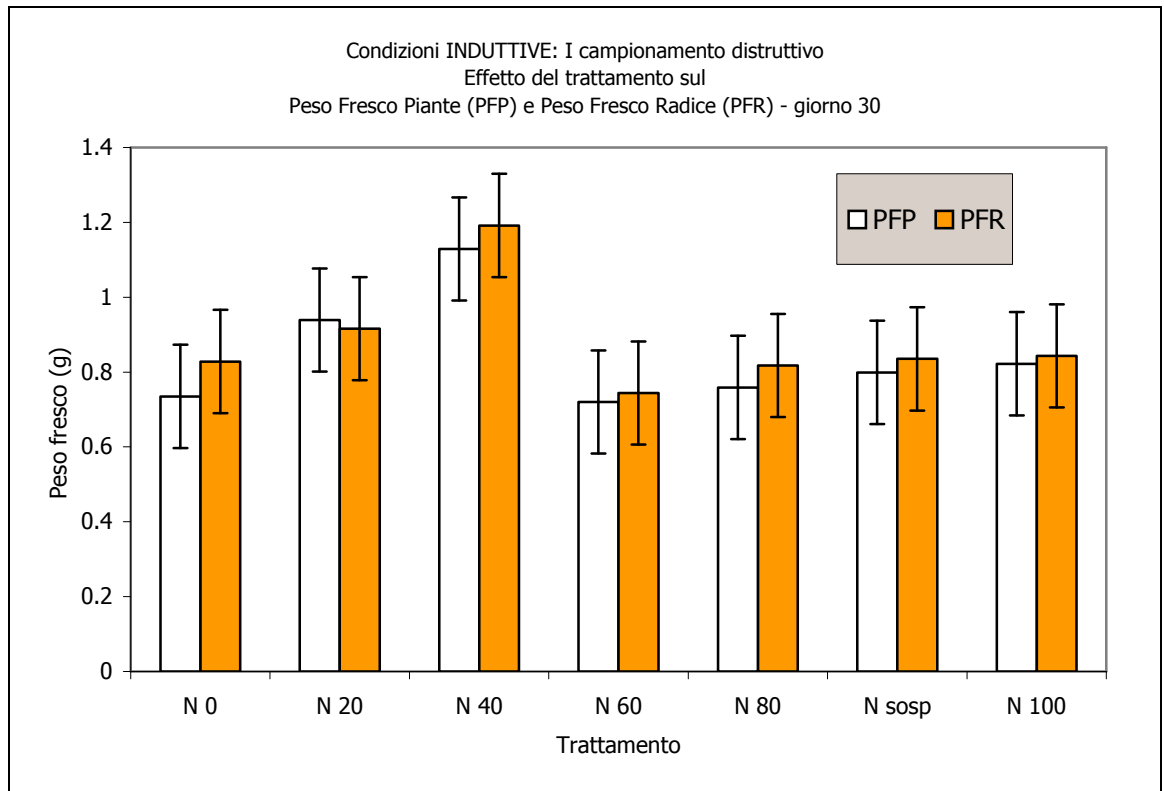


**Grafico 7.3.1.2**





**Grafico 7.3.1.3**



### 7.3.2. II CAMPIONAMENTO (60 GIORNI)

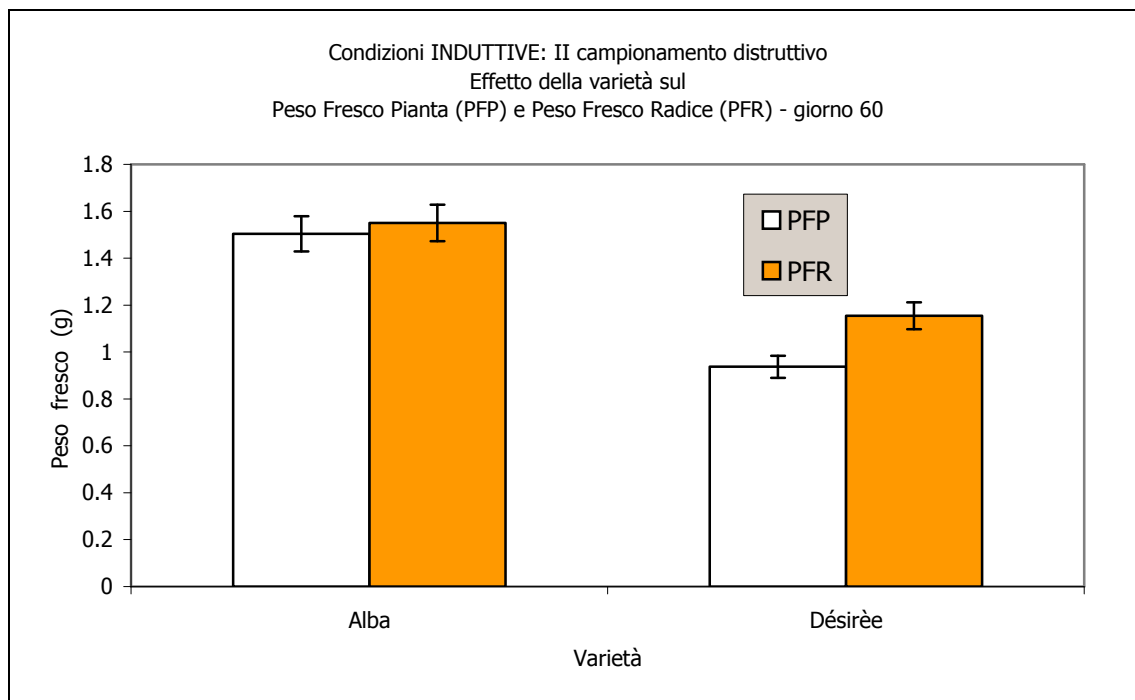
Dal secondo campionamento iniziano a comparire i microtuberi e, conseguentemente, i rilievi su di essi.

L'effetto della fonte di variazione varietà continua ad essere marcato soprattutto sui parametri legati alla morfologia della pianta e della radice come PFP, PFR, PSP e PSR, (tabella n°7.3.2); in particolare (Graf. n° 7.3.2.1) anche al 60° giorno Alba continua a mostrare valori dei parametri morfologici (1.50 g PFP e 1.55 g PFR) superiori a quelli di Désirée (0.93 g PFP e 1.15 g PFR). La maggior parte dei parametri legati alla morfologia dei microtuberi non è significativamente influenzato dalla varietà, ad esclusione del diametro trasversale medio (DTM) ed anche in questo caso Alba mostra valori (0.56 cm) maggiori di Désirée (0.49 cm).

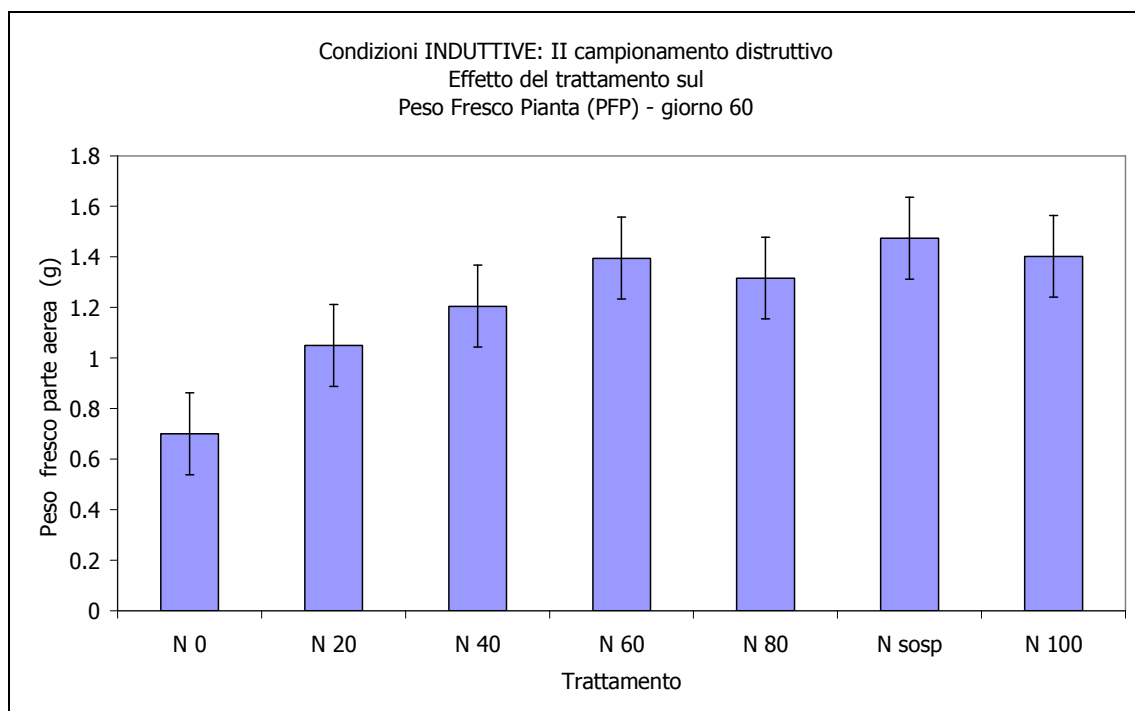
I trattamenti hanno invece sempre effetti statisticamente significativi sia sui parametri legati alla morfologia delle vitropiante, sia quelli legati alla morfologia dei tuberi (Tabella n° 7.3.2), unico parametro a differire in questo è rappresentato dal peso secco della pianta (PSP). Tale significatività, come è ben evidenziato dai contrasti ortogonali, appare principalmente imputabile alle forti differenze esistenti tra il trattamento “N0”, quello che mostra sempre i valori più bassi, ed “N sosp” che ha sempre i valori più alti (Graff. n° 7.3.2.2, 7.3.2.3 e 7.3.2.4). Per gli altri trattamenti si osserva un andamento dei valori dei parametri proporzionale al contenuto in azoto del substrato.

Nell'ambito del contrasto ortogonale (N20 +N40) e (N60 +N80) si trovano principalmente significatività per i parametri morfologici dei microtuberi.

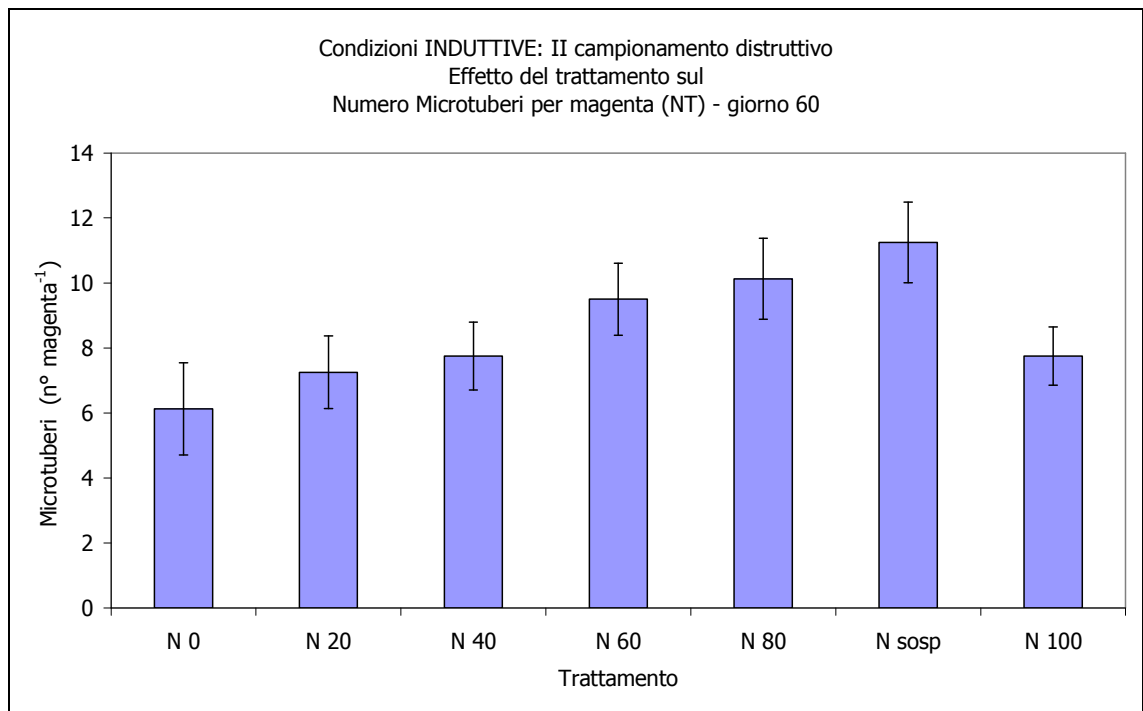
**Grafico 7.3.2.1**



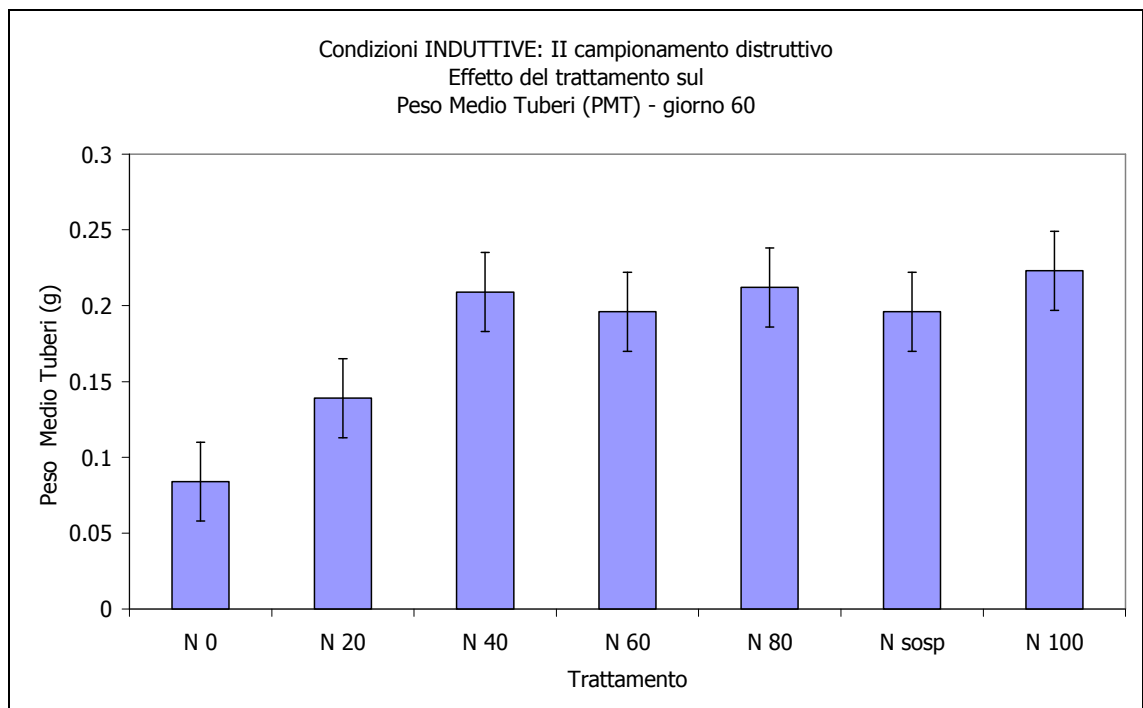
**Grafico 7.3.2.2**



**Grafico 7.3.2.3**



**Grafico 7.3.2.4**



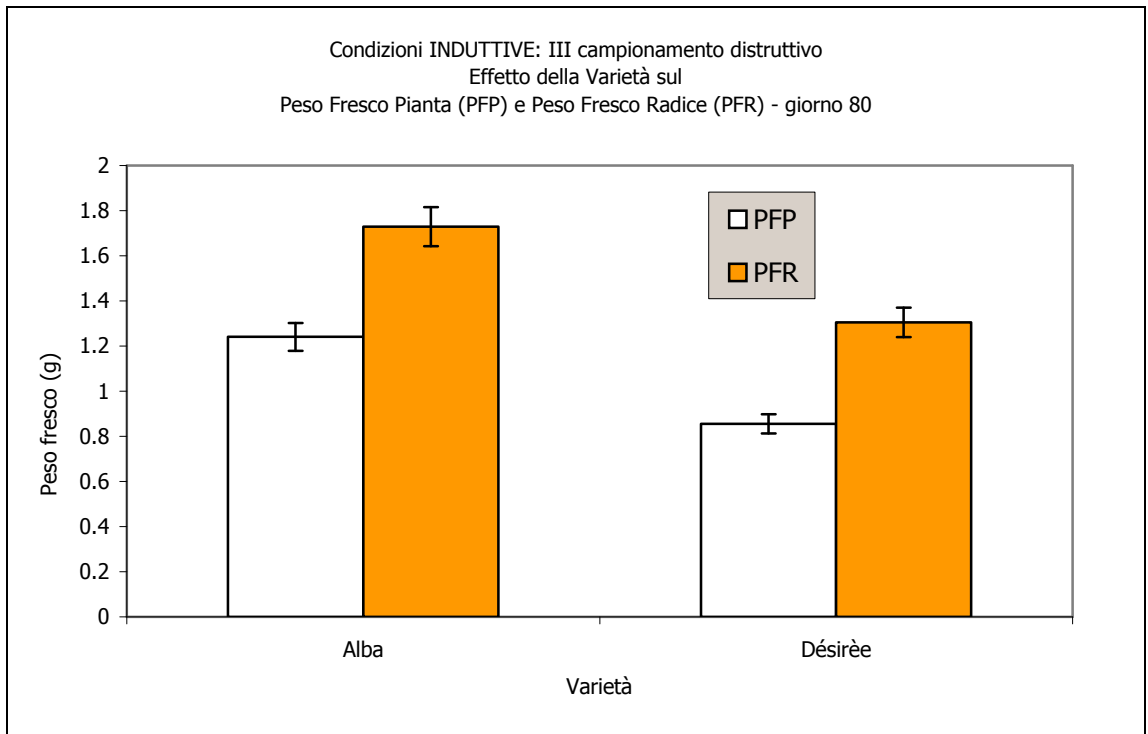
### 7.3.3. III CAMPIONAMENTO (80 GIORNI)

Fin da una prima osservazione della tabella n° 7.3.3 delle significatività dei parametri rilevate nell'ambito del III campionamento; possiamo evincere che l'importanza dei trattamenti è notevolmente aumentate; praticamente tutti i parametri, tranne il PFR, risultano infatti significativamente influenzati dalla concentrazione di azoto nel substrato. Statisticamente si tratta sempre di significatività elevate ( $P \leq 0.01$ ) tranne nel caso del PSR ( $P \leq 0.05$ )

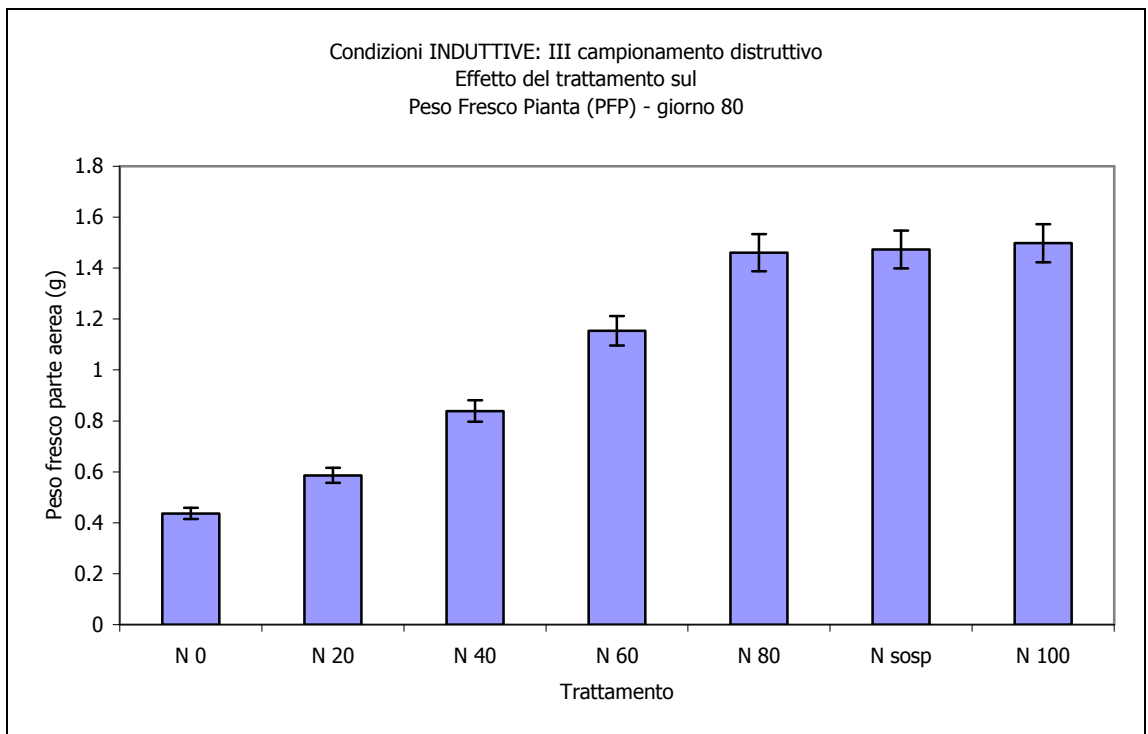
Anche l'effetto delle varietà risulta sovente significativo sui parametri oggetto di studio, soprattutto in riferimento ai parametri morfologici sulle piante (Graf. n° 7.3.3.1); Alba continua a mostrare valori più elevati di Désirée ma, contrariamente ai campionamenti precedenti il peso della parte aerea è inferiore a quello della parte radicale, segno evidente che la senescenza delle parti verdi è in stato avanzato. Anche i parametri produttivi come il numero tuberi (NT) ed il peso medio dei tuberi (PTI) risultano significativi (Grafici n° 7.3.3.4 e n° 7.3.3.5).

Sebbene in scala ridotta il Peso Fresco della Pianta (Graf. n° 7.3.3.2) mostra lo stesso andamento dei campionamenti precedenti nei vari trattamenti, soprattutto si evince un andamento proporzionale al contenuto di azoto nel substrato.

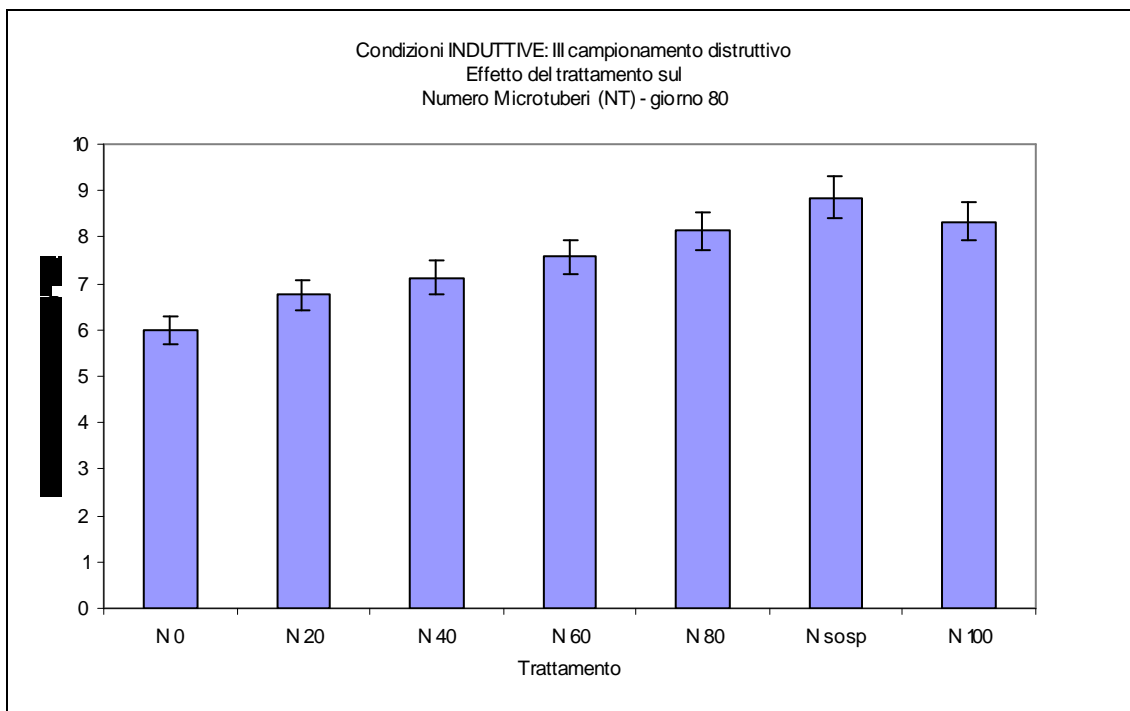
**Grafico 7.3.3.1**



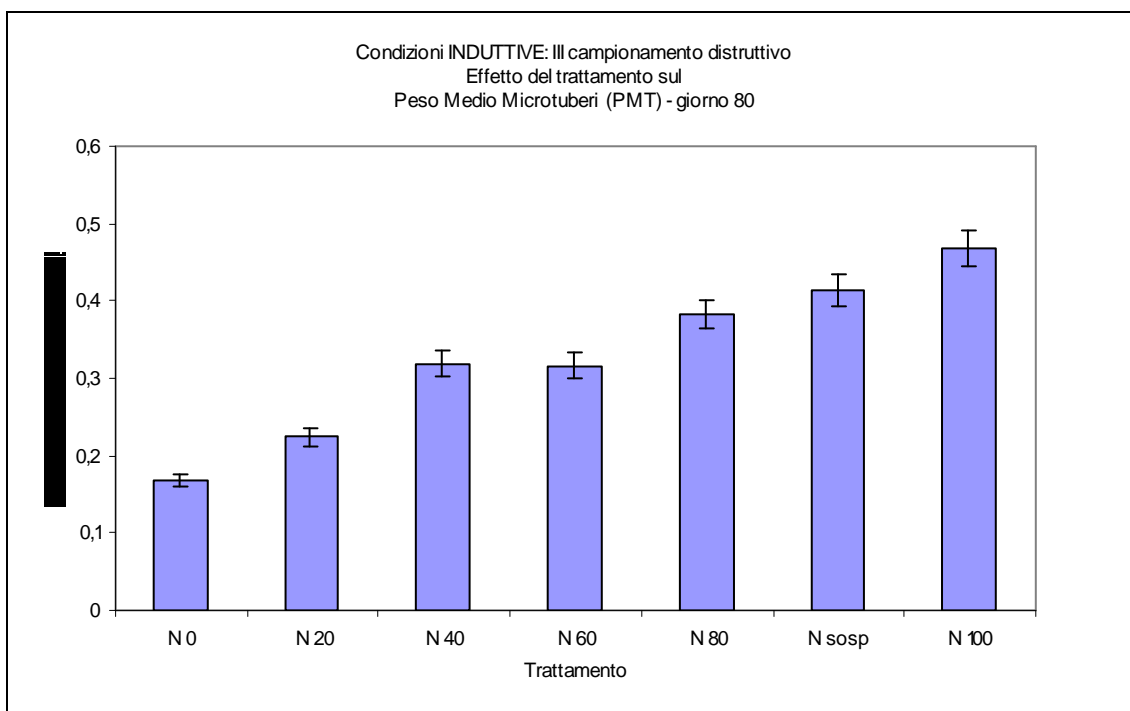
**Grafico 7.3.3.2**



**Grafico 7.3.3.3**



**Grafico 7.3.3.4**



## 7.4 CONTENUTO DI AZOTO E CARBONIO ELEMENTARE

I risultati dell'analisi statistica dei dati relativi al contenuto elementare di Azoto e Carbonio ed il relativo calcolo del rapporto C/N vengono qui di seguito riportati suddivisi per campionamento.

**Tabella 7.4.1: Analisi statistica – Contenuto percentuale di Azoto e Carbonio e rapporto C/N nelle varie parti di pianta nei tre campionamenti distruttivi**

I campionamento (30 giorni)												
	pianta			Tubero			radice			totale		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Varietà (V)	ns	*	ns	-	-	-	Ns	**	ns	ns	**	ns
Substrato (S)	ns	ns	**	-	-	-	**	ns	**	ns	ns	**
VxS	ns	ns	ns	-	-	-	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
II campionamento (60 giorni)												
	Pianta			Tubero			radice			totale		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Varietà (V)	**	**	**	**	ns	*	*	ns	*	*	ns	ns
Substrato (S)	**	**	**	**	ns	**	**	ns	**	**	ns	**
VxS	*	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
III campionamento (80 giorni)												
	pianta			tubero			radice			totale		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Varietà (V)	ns	**	**	*	ns	*	ns	ns	ns	**	ns	**
Substrato (S)	**	ns	**	**	ns	**	**	ns	**	**	ns	**
VxS	*	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	**	ns	ns	*

Le deduzioni logiche che è possibile estrapolare sono a diversi livelli:

- La varietà ha poca significatività nei primi momenti (Tab. n° 7.4.1) ma ne assume molta nel pieno sviluppo della coltura il II campionamento a 60 giorni infatti mostra che il contenuto percentuale di N e C in parte aerea, radice e tuberi è fortemente influenzato dalla varietà.
- Il trattamento appare fortemente significativo nel II e III campionamento.



**Tabella 7.4.2 : Contenuto percentuale di N, C e C/N nelle due varietà durante la coltura in vitro**

AZOTO (%)				
Varietà	Campionamento	pianta	radice	tubero
Alba	30	4,99	3,19	0,00
	60	3,55	2,28	2,10
	80	1,89	1,45	1,57
Désirée	30	5,16	2,99	0,00
	60	4,25	1,94	2,61
	80	2,26	1,68	1,96

CARBONIO (%)				
Varietà	Campionamento	pianta	radice	tubero
Alba	30	43,35	43,95	0,00
	60	43,83	42,97	43,42
	80	44,75	43,01	44,36
Désirée	30	40,94	41,30	0,00
	60	42,54	42,63	44,72
	80	42,03	44,43	44,13

C/N				
Varietà	Campionamento	pianta	radice	tubero
Alba	30	9,55	15,69	0,00
	60	16,48	22,52	22,66
	80	27,41	33,35	31,05
Désirée	30	8,63	16,45	0,00
	60	11,86	26,38	19,94
	80	20,41	28,88	24,86

Esaminando l'effetto delle varietà si può osservare (Tab. n° 7.4.2) che il contenuto percentuale di AZOTO diminuisce in entrambe le varietà con l'avanzamento dello sviluppo della coltura e questo avviene per tutte le parti di pianta analizzate compresi i tuberi se si esclude il I campionamento in cui i tuberi non erano ancora formati.

Invece per quanto riguarda il contenuto percentuale di CARBONIO la tendenza è all'opposto, in quanto dal I al III campionamento si osserva un incremento del tenore in Carbonio sia della parte aerea che di quella radicale, l'unico caso inverso a questo andamento si registra nella parte aerea di Désirée tra il I ed il II campionamento (43.35 % C a 30 giorni contro i 43.85 % C a 60 giorni). Nei tuberi invece, nei due campionamenti in cui erano presenti, il tenore in Carbonio non differisce né tra i campionamenti né tra le varietà.

Il rapporto CARBONIO/AZOTO segue lo stesso andamento già descritto per il carbonio, ciò è dovuto soprattutto al forte tenore di carbonio rispetto all'azoto. I valori differenziano in maniera distinta i tre campionamenti e quindi tre differenti momenti di sviluppo della pianta, mentre le due varietà non sono molto differenziate.

Il contenuto percentuale di Azoto e Carbonio pur essendo un buon indicatore non riesce però a rappresentare l'economia dell'utilizzo dell'elemento azoto e trarne i relativi bilanci di

efficienza d'uso, quindi è stato necessario calcolare il contenuto reale di N e C moltiplicando il contenuto percentuale per il peso secco delle varie parti di pianta, si è così potuto ottenere la “quantità” di N e C immobilizzata (Tabella n° 7.4.3) nelle piante e nei tuberi.

L'andamento del contenuto “reale” di Azoto è diversa rispetto al contenuto percentuale, in quanto sensibile alle dimensioni delle piante, radici e tuberi; infatti varia in maniera sensibile con il passare dei campionamenti sia nella parte aerea, che nelle radici e nei tuberi.

**Tabella 7.4.3 : Contenuto di N, C e C/N nelle due varietà durante la coltura in vitro**

<b>AZOTO (mg)</b>				
<b>Varietà</b>	<b>Campionamento</b>	<b>pianta</b>	<b>radice</b>	<b>Tubero</b>
Alba	30	62,41	33,59	0,00
	60	70,91	37,29	377,84
	80	35,53	26,50	466,83
Désirée	30	35,46	19,47	0,00
	60	74,09	23,00	337,38
	80	27,45	22,47	431,41
<b>CARBONIO (mg)</b>				
<b>Varietà</b>	<b>Campionamento</b>	<b>pianta</b>	<b>radice</b>	<b>Tubero</b>
Alba	30	587,68	473,58	0,00
	60	888,52	724,38	7286,68
	80	798,82	789,07	12373,49
Désirée	30	289,63	278,61	0,00
	60	659,63	527,45	5817,07
	80	502,61	606,94	9352,61

L'andamento del contenuto “reale” di Carbonio risulta simile a quello percentuale ma molto amplificato soprattutto per quanto riguarda radici e tuberi, che sono dei depositi naturali di amido e carboidrati.

**Tabella 7.4.5: Contenuto percentuale di N, C e rapporto C/N nei diversi substrati nelle parti di pianta.**

Trattamento	N % pianta			N % radici			N % tuberi		
	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg
N 0	3,13	2,02	1,47	1,74	1,24	1,34	0,00	1,40	1,15
N 20	5,12	2,15	1,64	3,07	1,36	1,19	0,00	1,73	1,50
N 40	5,17	2,71	1,64	3,17	1,45	1,41	0,00	1,87	1,91
N 60	6,33	4,31	2,09	3,77	1,85	1,58	0,00	2,52	1,89
N 80	6,11	5,42	2,48	4,01	2,76	1,97	0,00	3,15	1,98
N sosp	3,51	4,82	2,55	1,60	2,72	1,62	0,00	2,91	2,10
N 100	6,16	5,86	3,17	4,28	3,41	2,11	0,00	2,90	2,11
Trattamento	C % pianta			C % radici			C % tuberi		
	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg
N 0	41,21	42,82	43,20	43,46	43,82	43,58	0,00	44,68	42,09
N 20	44,17	43,21	43,65	44,88	41,93	44,63	0,00	43,24	43,28
N 40	42,09	43,68	44,78	40,27	40,70	43,37	0,00	42,71	45,47
N 60	42,99	41,26	42,47	41,19	43,05	43,90	0,00	43,54	44,08
N 80	40,88	43,86	41,90	42,23	43,11	44,29	0,00	44,59	45,00
N sosp	42,79	44,77	42,12	42,87	43,65	45,03	0,00	45,62	45,37
N 100	40,91	42,72	44,63	43,48	43,34	41,35	0,00	44,12	44,66
Trattamento	C/N pianta			C/N radici			C/N tuberi		
	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg
N 0	13,57	24,74	33,37	25,53	37,52	35,78	0,00	33,14	40,08
N 20	9,03	21,28	27,66	14,71	32,85	38,48	0,00	25,60	29,79
N 40	8,40	17,38	27,98	12,80	29,17	33,29	0,00	24,00	25,53
N 60	6,81	9,92	20,83	11,30	24,24	29,64	0,00	18,75	24,61
N 80	6,76	8,58	17,50	10,61	16,38	23,08	0,00	14,67	25,20
N sosp	12,40	9,77	18,13	27,28	17,46	29,82	0,00	16,41	23,81
N 100	6,68	7,53	15,78	10,26	13,50	22,89	0,00	16,52	21,99

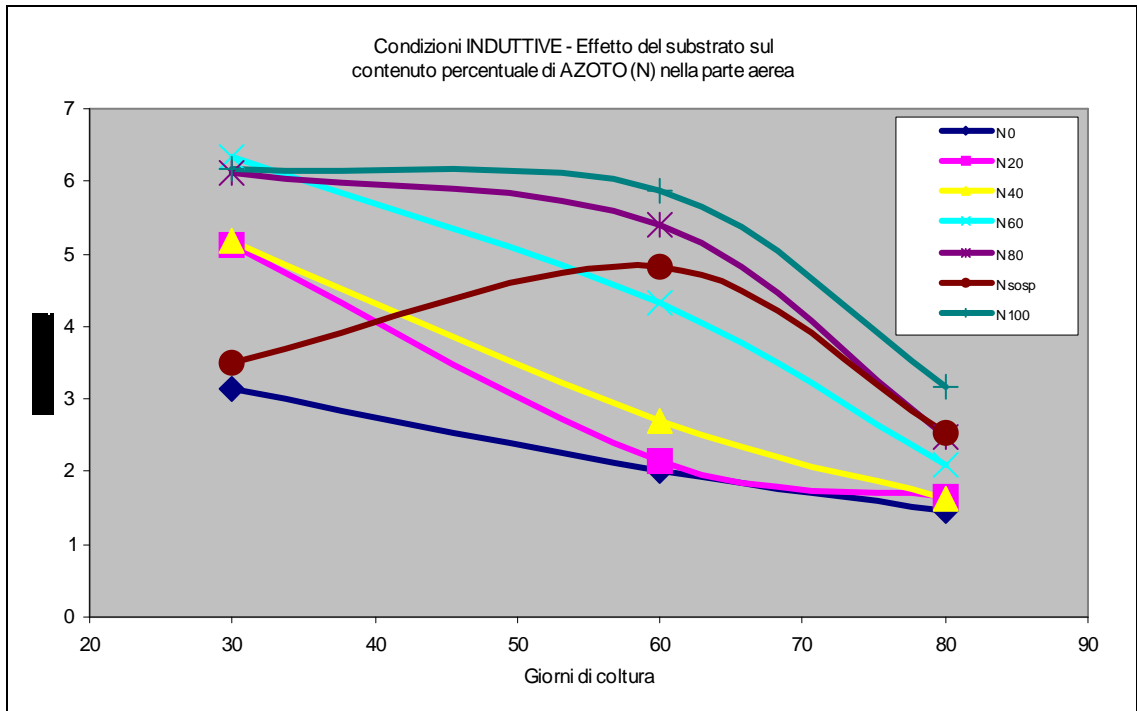
I trattamenti azotati hanno una forte influenza (Tabella n° 7.4.5) sul contenuto percentuale di Azoto in parte aerea, radici e tuberi; infatti si osserva una diretta corrispondenza tra il tenore in azoto del substrato e la percentuale di azoto nei tessuti vegetali, difatti passando dal terreno “N 0” ad “N 100” si può notare in tutti i campionamenti un incremento del contenuto percentuale di N; mentre il substrato “N sosp” si pone in una posizione intermedia.

Soprattutto la parte aerea appare essere uno specchio veritiero del tipo di substrato adottato. Un’interessante osservazione può anche essere fatta sulla costante diminuzione del contenuto percentuale di N nel corso dei tre campionamenti (Grafici n° 7.4.1 ,n° 7.4.2, n\* 7.4.3), la motivazione risiede nell’incremento dei volumi e pesi delle parti di pianta considerate, incremento che porta ad una minore concentrazione dell’elemento Azoto.

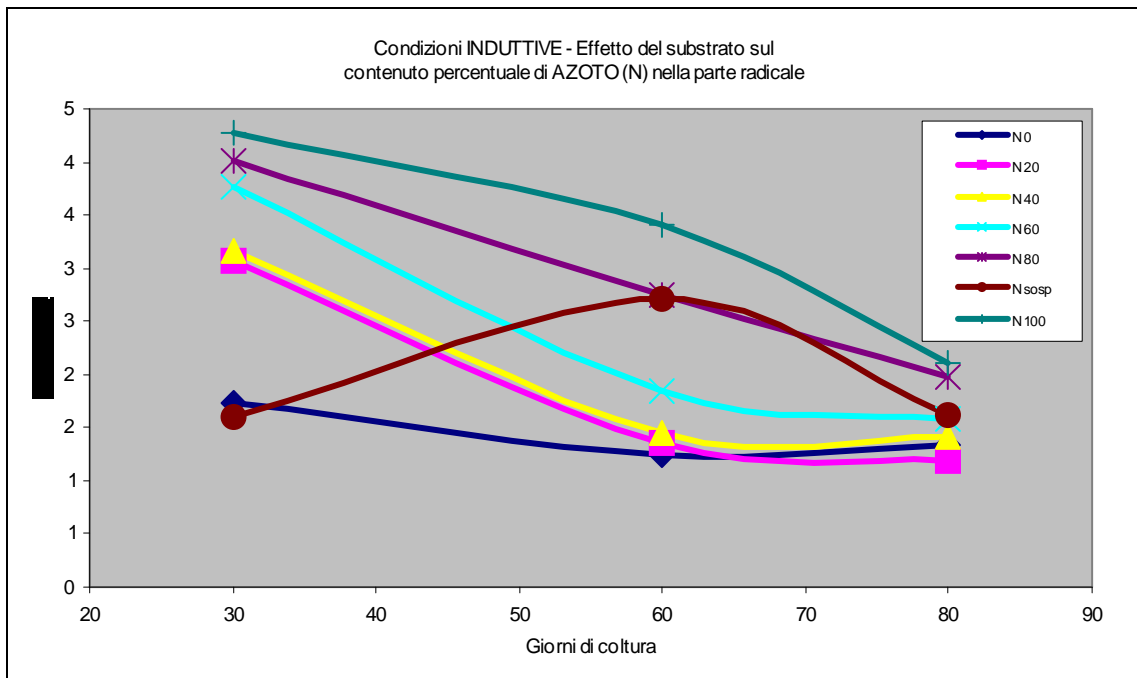
Ben più complesso e indecifrabile appare invece l’andamento del contenuto percentuale di Carbonio in parte aerea e radicale (tabella n° 7.4.5) , mentre si osserva una forte uguaglianza tra tutti i trattamenti per quanto concerne il contenuto percentuale di Carbonio nei tuberi, i valori risultano infatti tutti prossimi a 44 %.

Il rapporto Carbonio/Azoto rilevato nella parte aerea, nelle radici e nei tuberi (tabella n° 7.4.5 e grafici n° 7.4.4, n° 7.4.5, n° 7.4.6) appare seguire il contenuto di azoto nel substrato e si comporta quindi con modalità simili alla percentuale di Azoto ma, ovviamente con valori invertiti; infatti i valori più elevati di C/N si riscontrano nel terreno con meno azoto (“N 0”) mentre i valori più bassi si riscontrano nel terreno più ricco di azoto (“N 100”).

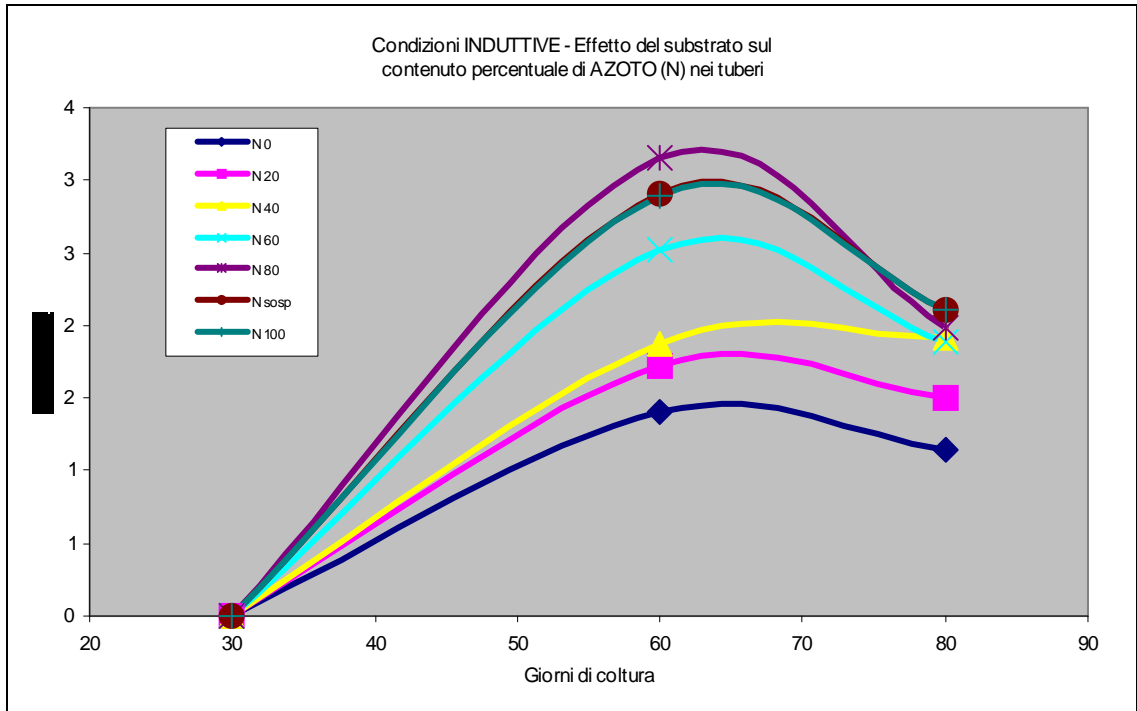
**Grafico 7.4.1**



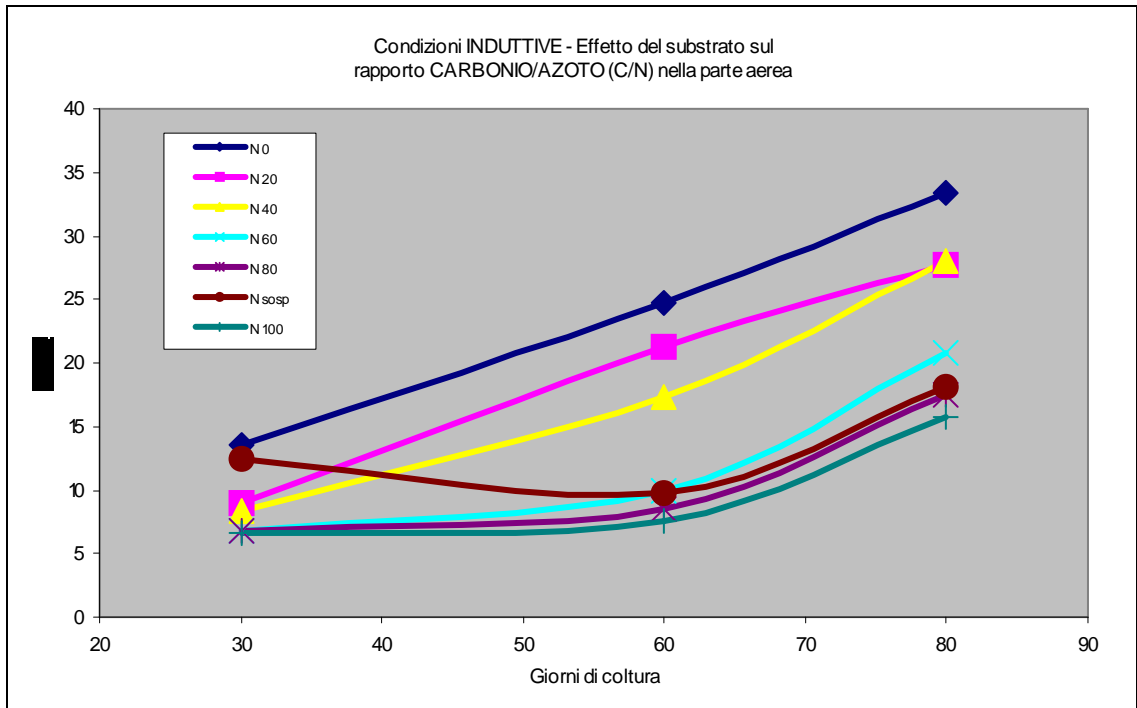
**Grafico 7.4.2**



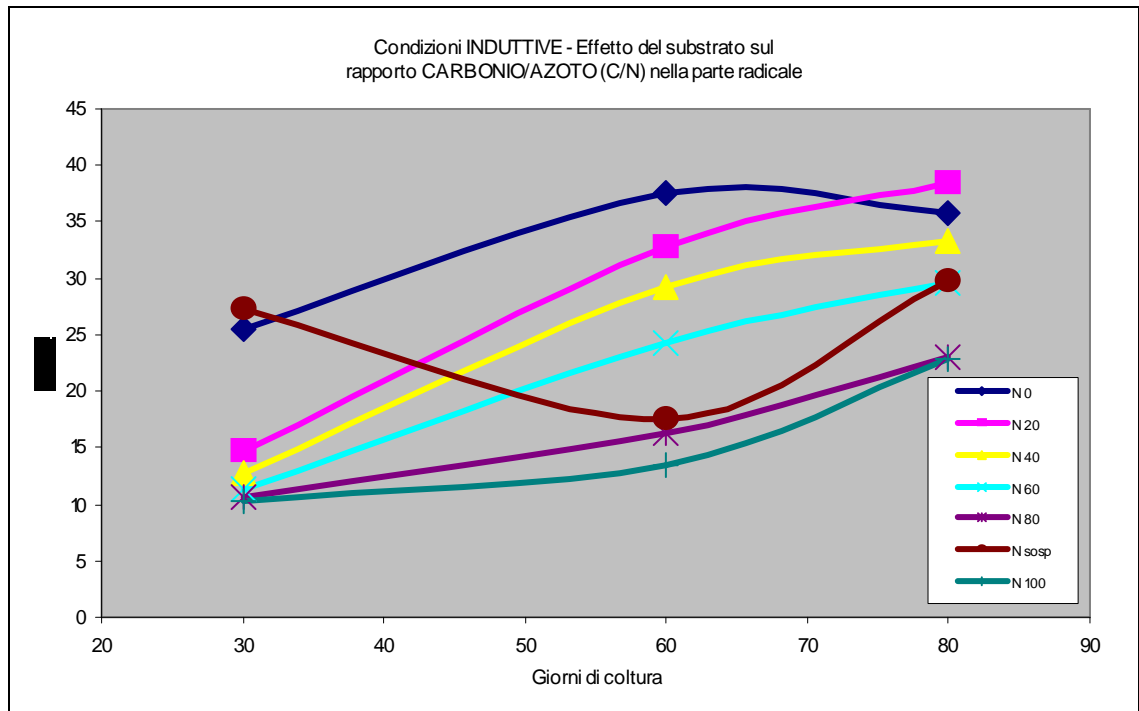
**Grafico 7.4.3**



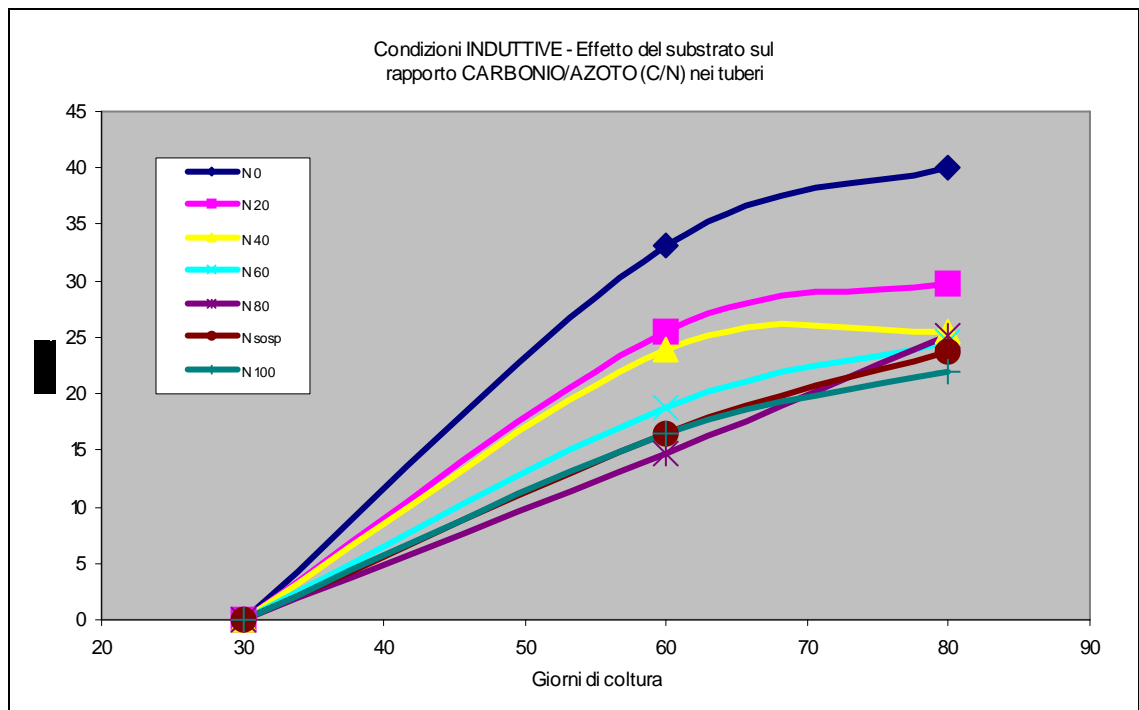
**Grafico 7.4.4**



**Grafico 7.4.5**



**Grafico 7.4.6**



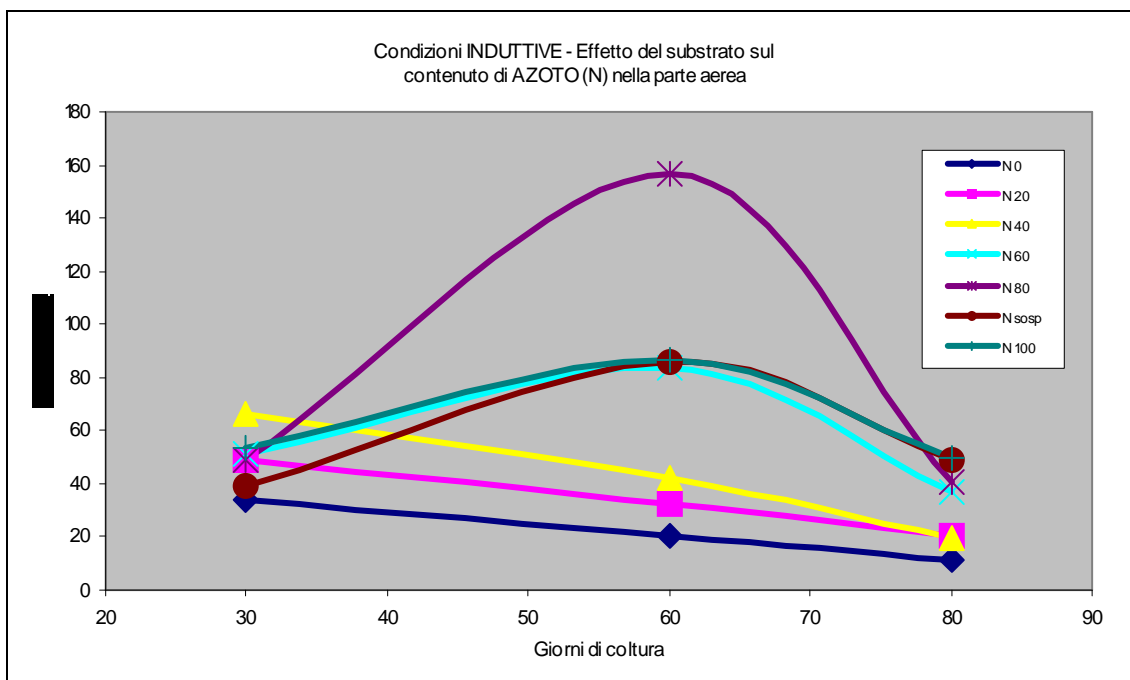
**Tabella 7.4.6: Contenuto di N, C e rapporto C/N nei diversi substrati nelle parti di pianta.**

Trattamento	Contenuto N pianta			Contenuto N radici			Contenuto N tuberi		
	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg
N 0	34,23	20,19	10,99	15,96	10,96	12,81	0,00	71,06	121,15
N 20	48,73	32,19	20,33	27,75	20,60	18,28	0,00	162,07	214,58
N 40	66,38	42,21	19,39	36,55	28,13	22,46	0,00	282,38	424,97
N 60	51,25	83,27	36,54	28,86	28,37	24,24	0,00	393,95	421,70
N 80	49,15	156,75	40,34	28,68	36,08	31,66	0,00	529,09	593,20
N sosp	39,24	86,07	48,98	15,07	42,94	32,57	0,00	600,21	737,04
N 100	53,55	86,82	49,87	32,84	43,95	31,85	0,00	464,54	744,57
Trattamento	Contenuto C pianta			Contenuto C radici			Contenuto C tuberi		
	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg	30 gg	60 gg	80 gg
N 0	448,80	523,21	343,32	397,93	397,76	451,13	0,00	2302,32	4520,61
N 20	496,59	692,56	580,30	422,14	646,99	715,89	0,00	4156,39	6420,26
N 40	571,70	765,54	541,49	468,40	805,93	695,72	0,00	6711,43	10273,68
N 60	355,41	710,37	745,64	307,24	664,95	683,74	0,00	7192,63	10071,55
N 80	330,73	1188,13	736,03	303,03	589,09	703,59	0,00	7950,11	13942,39
N sosp	498,16	859,44	845,68	396,02	712,32	923,72	0,00	9844,60	15930,15
N 100	369,17	679,26	738,98	337,91	564,38	677,28	0,00	7705,67	16189,70



Analogamente alle percentuali anche l'andamento del contenuto "reale" di Azoto in parte aerea, radici e tuberi (Grafici n° 7.4.7, 7.4.8 e 7.4.9) segue il tenore di azoto del substrato; uniche eccezioni sono rappresentate dall'elevato contenuto di N nella parte aerea nel secondo campionamento di "N 80" (grafico n° 7.4.7) e l'elevato contenuto di N nei tuberi del trattamento "N sosp" anch'esso nel secondo campionamento a 60 giorni.

**Grafico 7.4.7**



**Grafico 7.4.8**

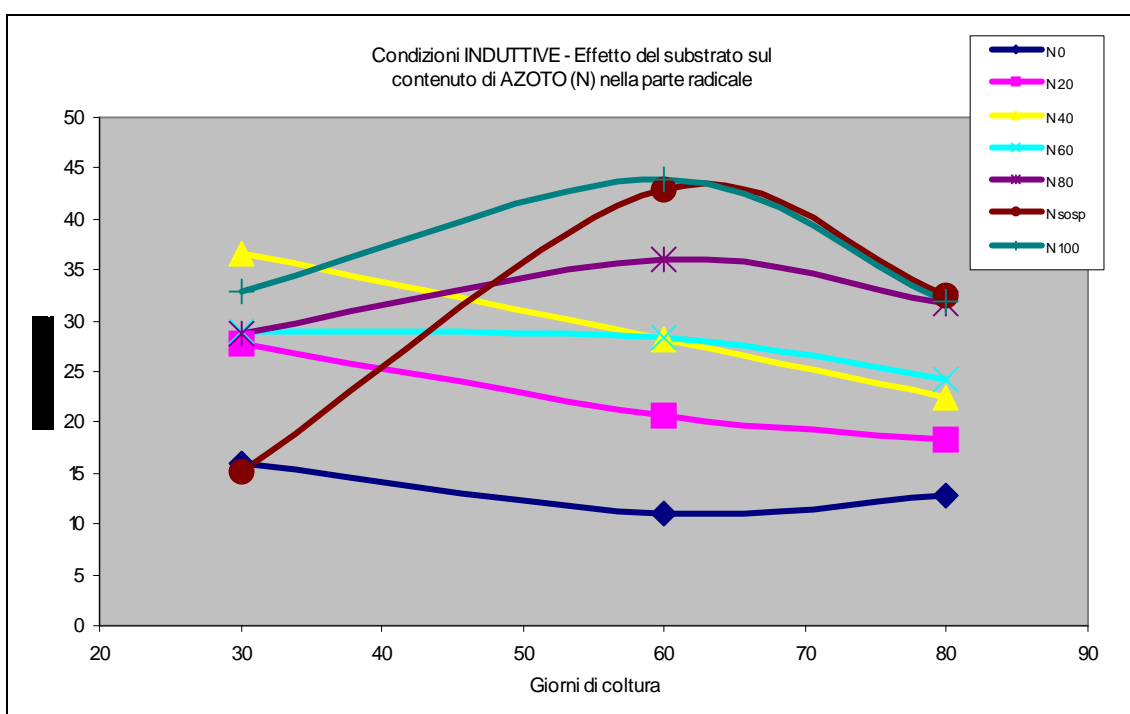
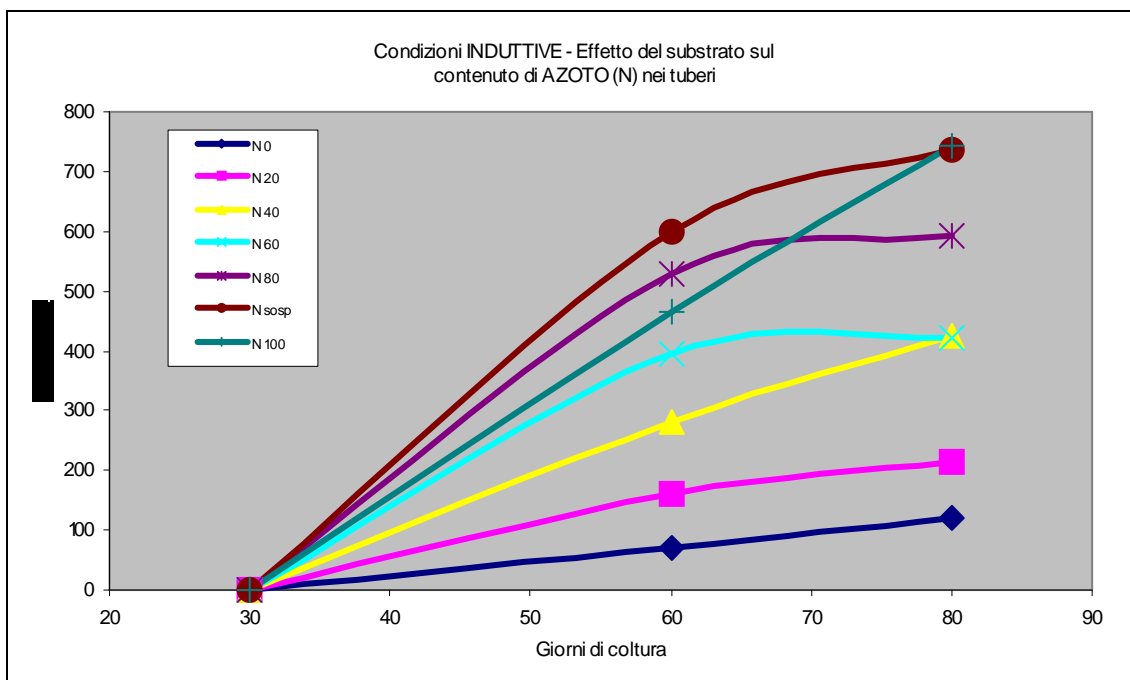


Grafico 7.4.9



## 7.5 CORRELAZIONI

Tabella 9: Matrice delle correlazioni (Pearson Correlation Analysis)

	PFP	PFR	NT	PSP	PSR	PT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM	N%	C%	C/N	[N]	[C]
PFP																	
PFR	+																
NT	n.s.	n.s.															
PSP	+	+	n.s.														
PSR	-	n.s.	n.s.	n.s.													
PT <sub>1</sub>	+	+	n.s.	n.s.													
DT <sub>1</sub>	+	+	n.s.	n.s.	+	+											
DL <sub>1</sub>	+	+	n.s.	n.s.	n.s.	+	+										
PTT	+	+	+	n.s.	n.s.	+	+	+									
PMT	+	+	n.s.	n.s.	+	+	+	+	+								
DTM	+	+	n.s.	n.s.	-	+	+	+	+	+							
DLM	+	+	n.s.	n.s.	-	+	+	+	+	+	+						
N%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.					
C%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	n.s.	+	n.s.	n.s.	-	+	+	+				
C/N	n.s.	n.s.	-	n.s.	+	-	-	-	-	n.s.	n.s.	-	-	-			
[N]	+	n.s.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	n.s.	+	n.s.		
[C]	+	n.s.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	n.s.	+	+	+	

## 8. RISULTATI II PROVA -CONDIZIONI NON - INDUTTIVE

### 8.1 RISULTATI CAMPIONAMENTI IN VIVO

I risultati dell'analisi della varianza effettuata sui campionamenti in vivo della II prova in condizioni NON - INDUTTIVE sono riportate in tabella n° 8.1

**Tabella 8.1 - Condizioni NON INDUTTIVE: Risultati analisi statistica**

F.V.	G.d.L.	TRT	TMT	N°TUB
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	6	**	**	n.s.
V x S	6	n.s.	n.s.	**
errore	98			

Le considerazioni generali che si possono trarre subito riguardano certamente la scarsa significatività dell'effetto varietà, che non appare influenzare mai i tre parametri presi in esame. Invece il substrato gioca un ruolo più importante su alcuni parametri.

#### TASSO RELATIVO DI TUBERIZZAZIONE (TRT)

Il TRT, ovvero la frazione di microtubero che si forma nell'unità di tempo, appare essere significativamente influenzato dal substrato utilizzato (Grafico n° 8.1.1) in particolare i bassi contenuto in azoto del substrato assieme alla sospensione azotata fanno registrare valori ridotti di TRT, (N0: 0.21 MT gg<sup>-1</sup>, N20 0.27 MT gg<sup>-1</sup> ed N40: 0.26 MT gg<sup>-1</sup> e N sosp: 0.25 MT gg<sup>-1</sup>), mentre i valori più elevati si riscontrano nei terreni più ricchi di azoto, ovvero N60, N80 ed N100.

#### TEMPO MEDIO DI TUBERIZZAZIONE (TMT)

Contrariamente al TMT rilevato in condizioni induttive, nel caso della tuberizzazione a fotoperiodo lungo si osservano tempi molto elevati di tuberizzazione, così da produrre valori medi per la formazione dei singoli tuberi molto elevati. Lo si può osservare molto chiaramente nel grafico n° 8.1.2 dove si passa dai 20 giorni per produrre mediamente un microtubero nel substrato N0 ai circa 40 giorni di N60 ed N100; in generale si può

affermare che ad alti tenori di Azoto nel substrato corrispondono elevati tempi medi di formazione di un microtubero.

L'elevato valore di TMT del substrato N60 sembra dovuto in maggior parte alla varietà Alba (Grafico n° 8.1.3) in cui si osserva un TMT pari a 51 gg MT<sup>-1</sup> contro i 32 gg MT<sup>-1</sup> di Desirée.

#### NUMERO MICROTUBERI PER PIANTA ALLA t-esima OSSERVAZIONE (NT)

Il numero di microtuberi prodotti durante lo sviluppo della coltura sarà discusso in seguito, qui viene riportata l'analisi del numero tuberi rilevato all'ultima osservazione prima della raccolta.

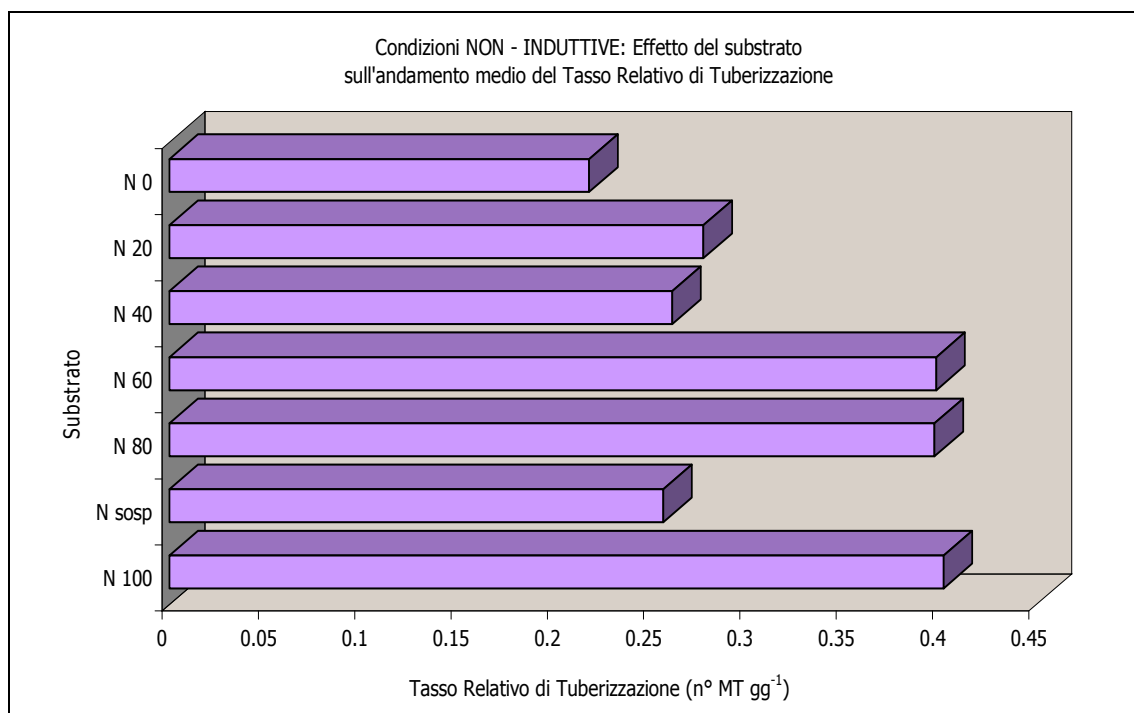
Il parametro non appare significativo per quanto concerne il fattore substrato ma solo per l'interazione tra varietà e substrato (grafico n°8.1.4); tale interazione sembra principalmente imputabile all'inversione di tendenza che si osserva tra le due varietà nel passaggio da i substrati a minor tenore di azoto: N0, N20, N40 ed N60, in cui Desirée fa rilevare sempre un NT maggiore di Alba, a quelli con più azoto: N80, N100 ed N sosp in cui è invece Alba a produrre un numero tuberi maggiore.

#### VELOCITA' DI TUBERIZZAZIONE (VT)

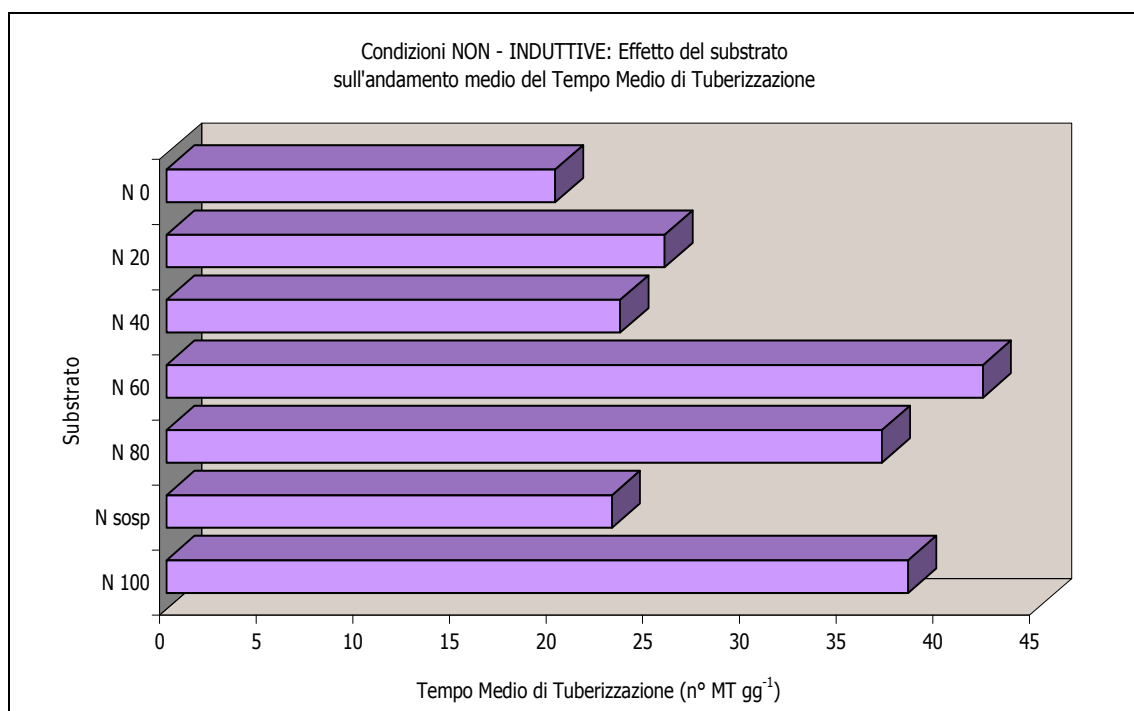
Per quanto concerne i giorni necessari a formare il primo tubero (VT) i substrati N20 ed N40 risultano in assoluto quelli che comportano il CVT più elevato (Grafico n°8.1.5) arrivando a mostrare valori rispettivamente di 119.41 gg e 119.13 gg; con valori inferiori, ma comunque superiori a 100 giorni, si ritrovano N60 ed N80. I substrati con il CVT minore sono invece i due opposti: N0 (89.17 gg) ed N100 (84.63).

Mediamente è la varietà Desirée ad impiegare più tempo per produrre il primo tubero (Grafico n° 8.1.6)

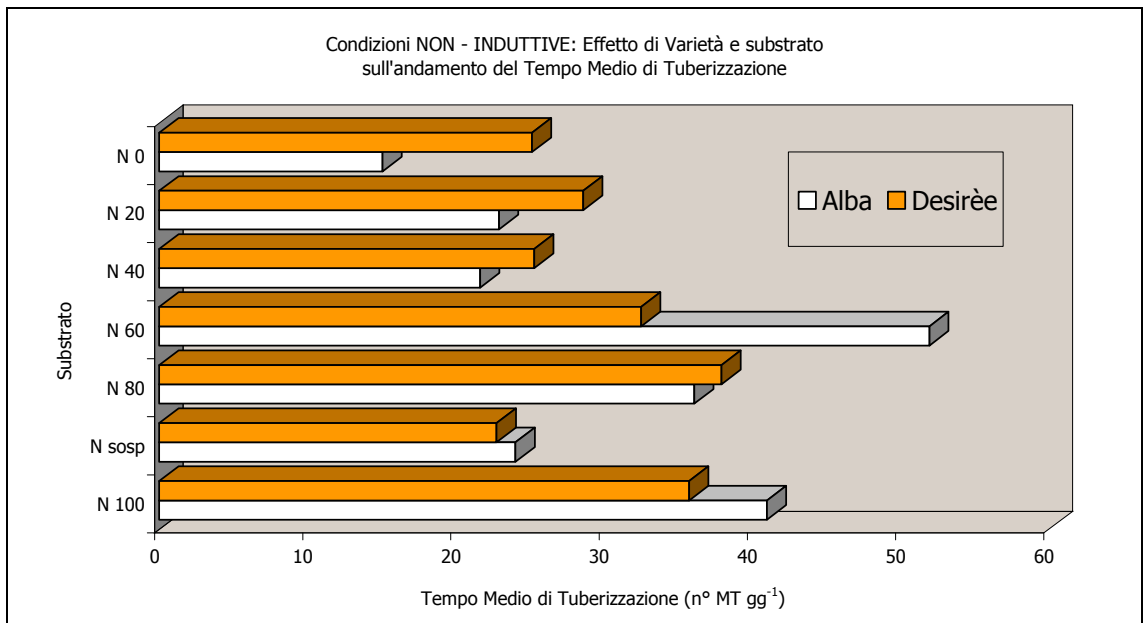
**Grafico 8.1.1**



**Grafico 8.1.2**



**Grafico 8.1.3**



**Grafico 8.1.4**

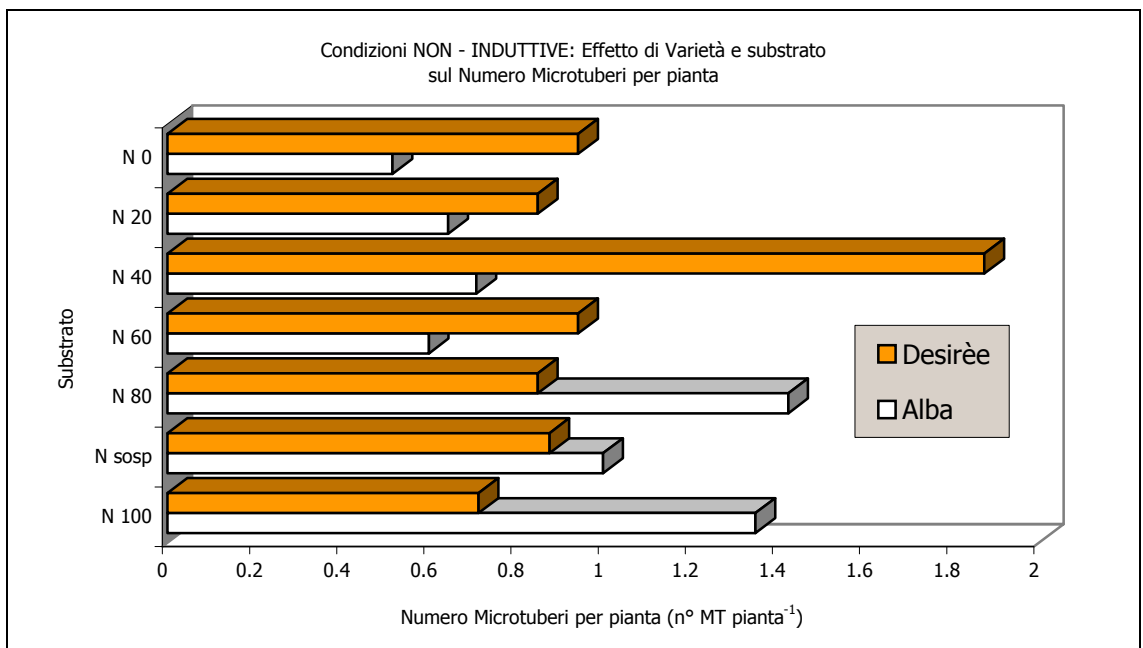


Grafico 8.1.5

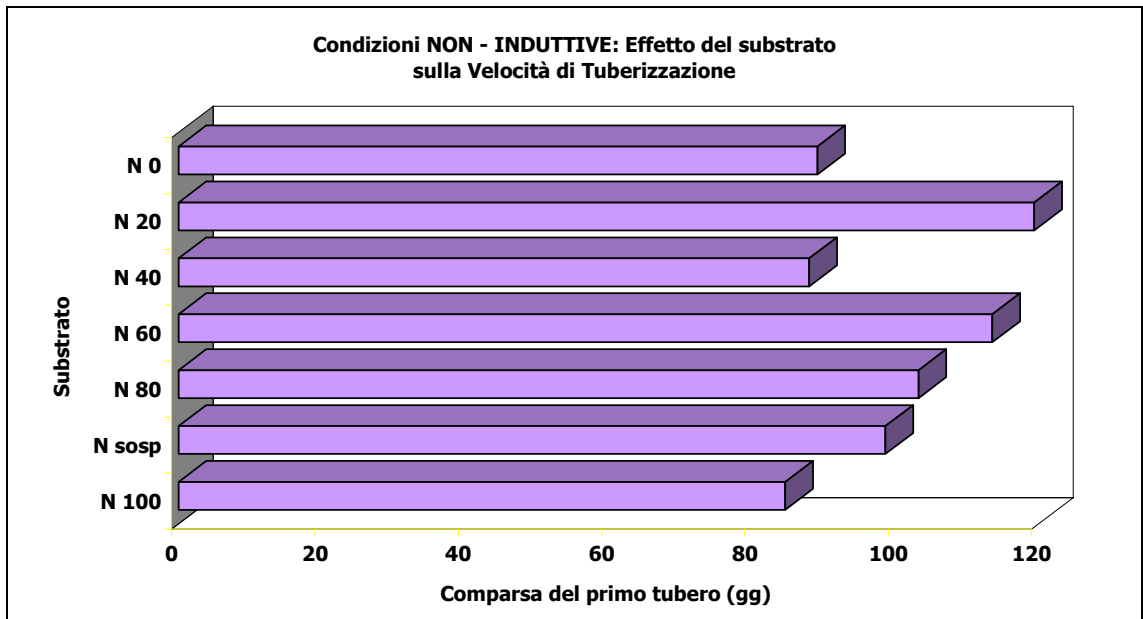
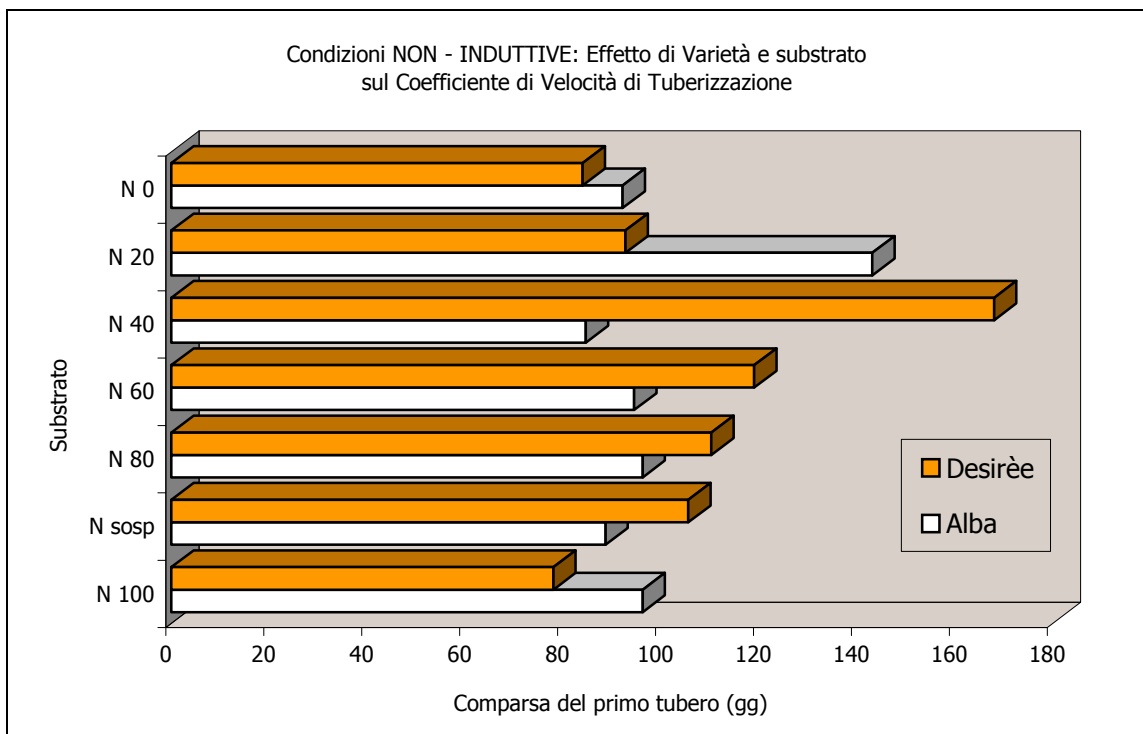


Grafico 8.1.6





## 8.2. ANDAMENTO DELLA TUBERIZZAZIONE

La tuberizzazione ha inizio molto tardivamente in entrambe le varietà (Grafico n° 8.1.6) ovvero all'incirca al 77° giorno di coltura; la produttività non sembra differisce tra le due varietà né in termini numerici, né in termini di tipologia di andamento, difatti alle ultime osservazioni quando il gap produttivo tra Alba e Désirée è maggiore si osservano differenze inferiori all'unità.

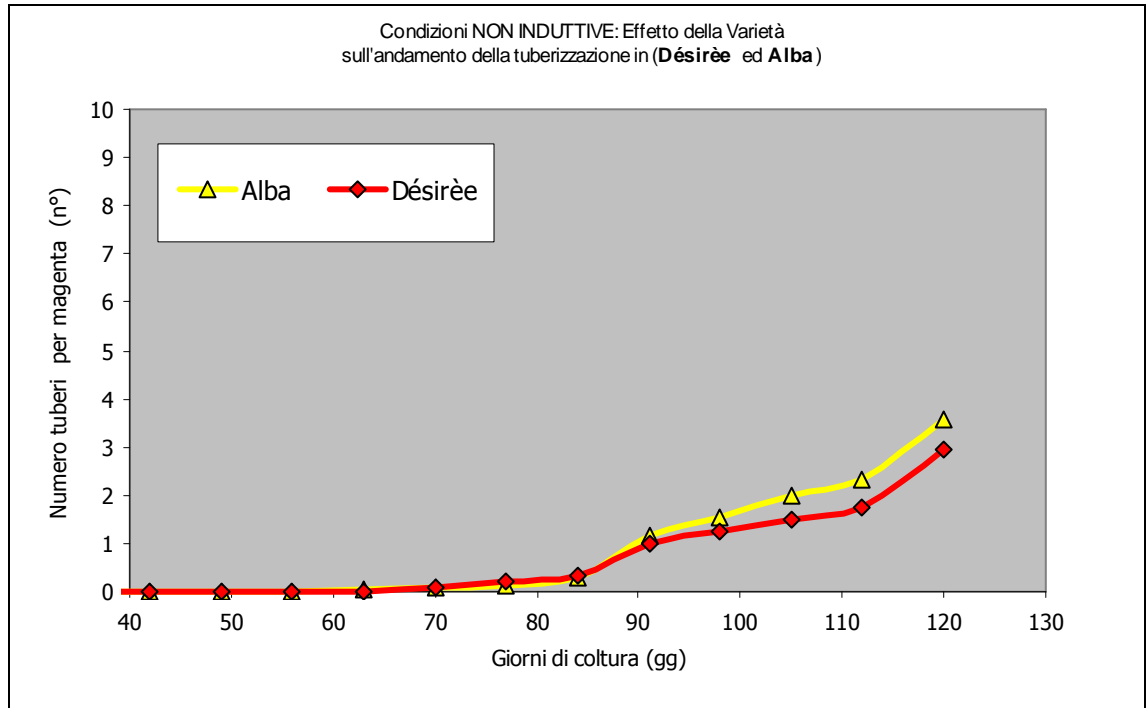
L'effetto medio dei substrati, visualizzabile nel grafico n°8.2.2 mette in evidenza che non esiste un gradiente di tuberizzazione proporzionale al contenuto di N nel terreno, ma si possono comunque trarre alcune importanti conclusioni:

- a) il substrato "N0" in fase iniziale, tra il 70° ed il 90° giorno, ha la tuberizzazione più intensa di tutti gli altri substrati, passando da 0.3 MT magenta<sup>-1</sup> a 1.01 MT magenta<sup>-1</sup>; al 90° giorno ha però praticamente espresso gran parte della sua capacità di tuberizzare e al 120° giorno risulterà uno dei substrati che ha prodotto nella media, cioè 3.0 MT magenta<sup>-1</sup>;
- b) N40 si differenzia da tutti gli altri terreni, escluso N0, dopo l'84° giorno, infatti all'osservazione corrispondente al 90° giorno ha prodotto quanto N0 cioè 2.04 MT magenta<sup>-1</sup>. Dopo tale data risulterà sempre il substrato più produttivo e con la produzione sempre in crescita fino alla data di raccolta al 120° giorno (5.12 MT magenta<sup>-1</sup>), la supposizione è che non avesse ancora espresso tutta la capacità di formare tuberi;
- c) N60 mostra essere il substrato sempre meno produttivo e fino al 112° ha un andamento analogo a quello di N100 (al 112° giorno entrambi hanno prodotto 1.04 MT magenta<sup>-1</sup>); negli ultimi 7 giorni di coltura mostra un incremento nella tuberizzazione fino ad un massimo di 1.77 MT magenta<sup>-1</sup>, mentre N100 arriva fino a 3.00 MT magenta<sup>-1</sup>;
- d) N80, N sosp ed N100 hanno sostanzialmente un andamento simile per tutta la durata della prova con produzioni di MT molto simili;
- e) N20 ha un andamento analogo ad N0 ma con valori decisamente inferiori.

Analizzando l'andamento della tuberizzazione dei vari substrati per ciascuna varietà si può osservare che nella varietà Alba (Grafico n° 8.2.3) si riscontrano gli stessi andamenti visti nelle medie dei 7 substrati; piuttosto in Désirée (Grafico n° 8.2.4) si osservano alcune differenze: innanzitutto si accentua molto la scarsa produttività del substrato N60 che al 110° giorno non ha ancora prodotto alcun tubero; il trattamento N80 risulta, in fase finale di coltura, il più produttivo con 5.00 MT magenta<sup>-1</sup>; gli altri trattamenti hanno andamenti simili a quelli mostrati nelle medie tranne per il fatto che N40 risulta meno produttivo.

Gli andamenti in fase precoce di tuberizzazione delle due varietà, registrati nell'intervallo 63-91 giorni di coltura (grafici n° 8.2.5 e 8.2.6) non fanno altro che confermare gli andamenti generali.

**Grafico 8.2.1**



**Grafico 8.2.2**

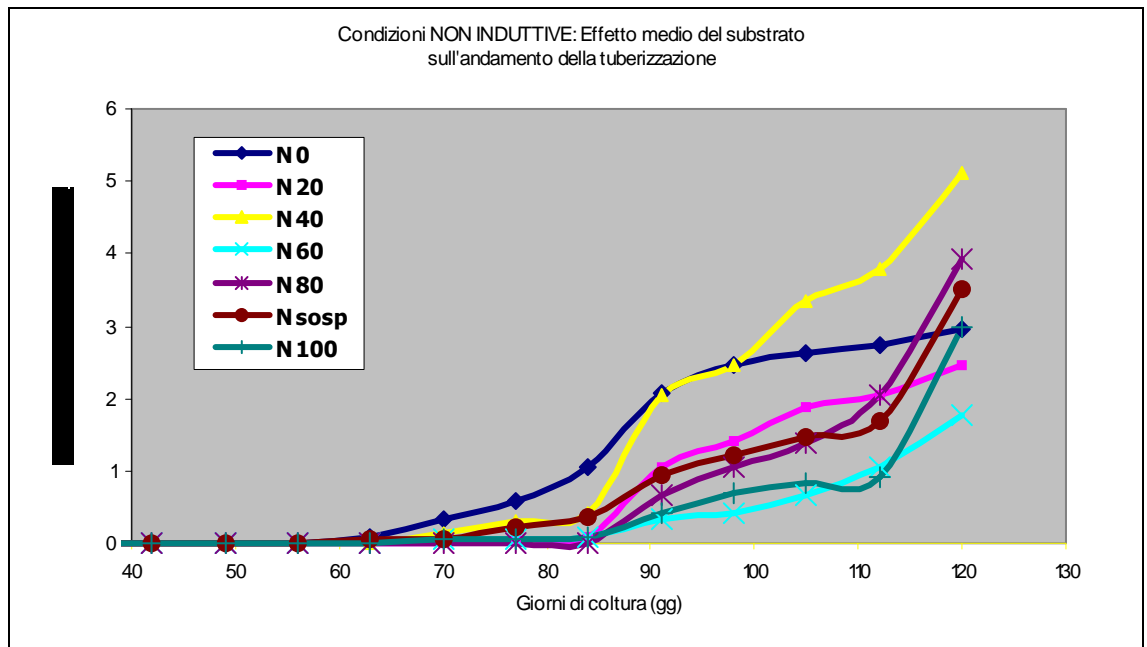


Grafico 8.2.3

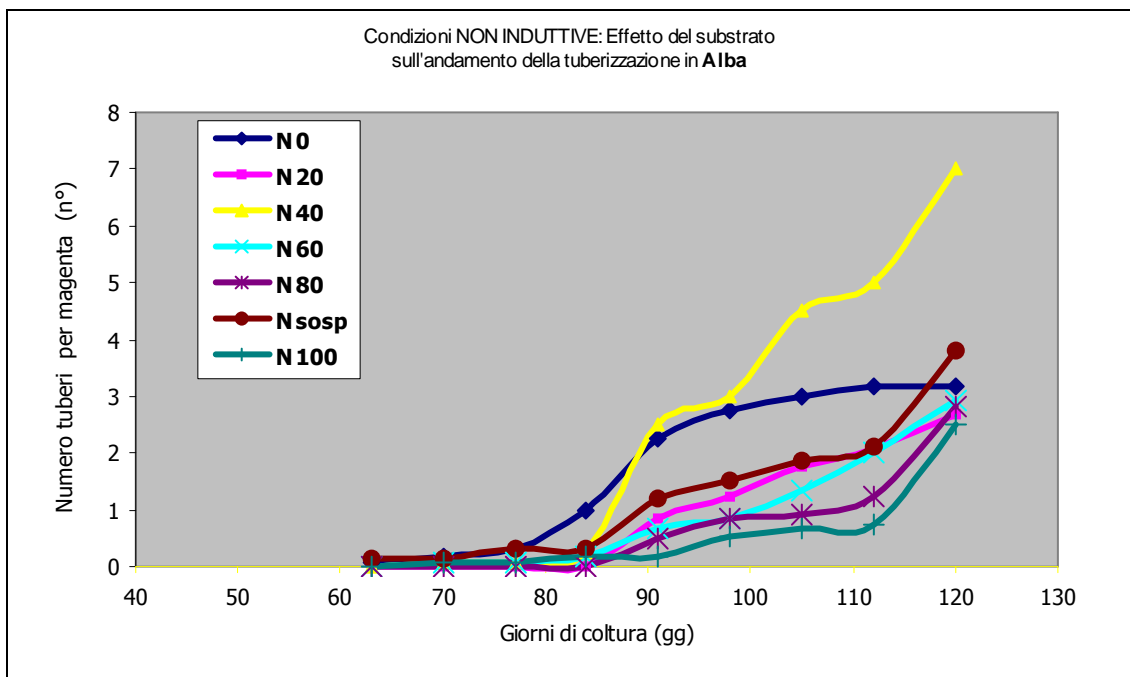


Grafico 8.2.4

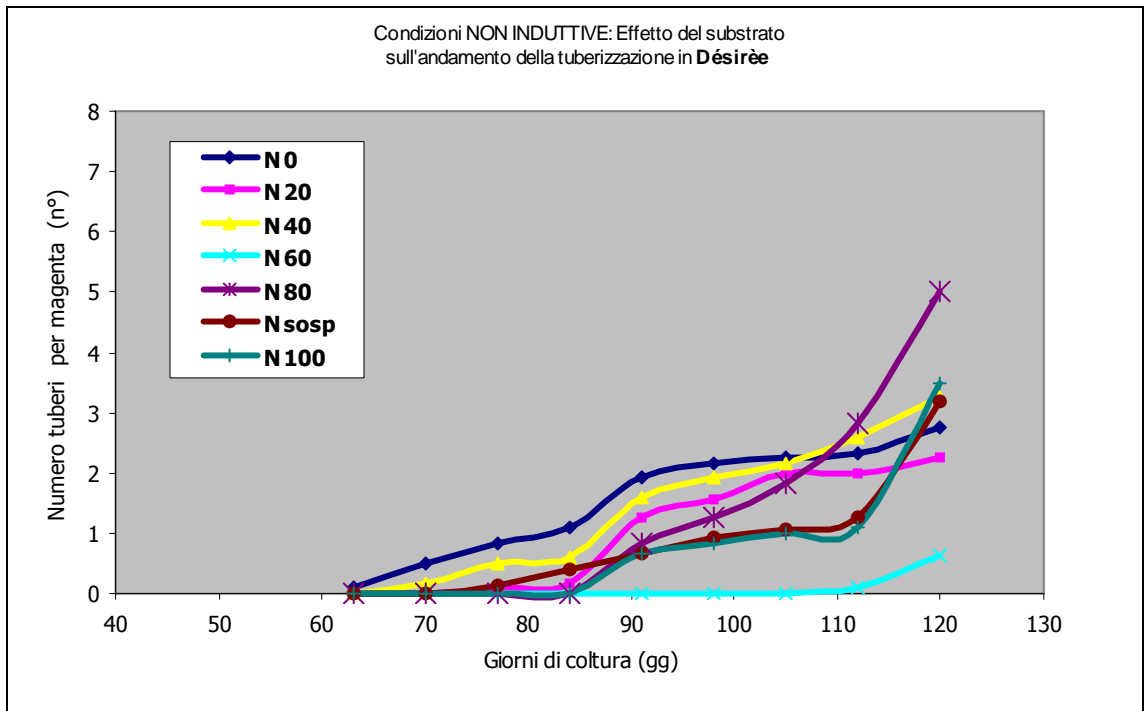
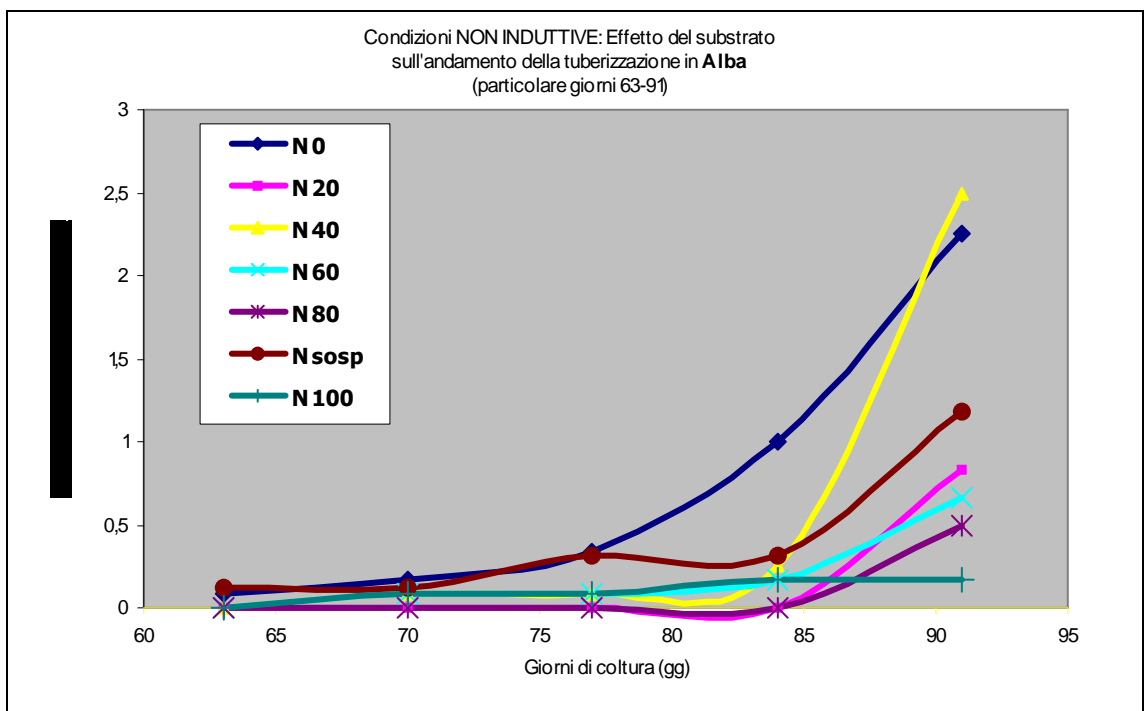
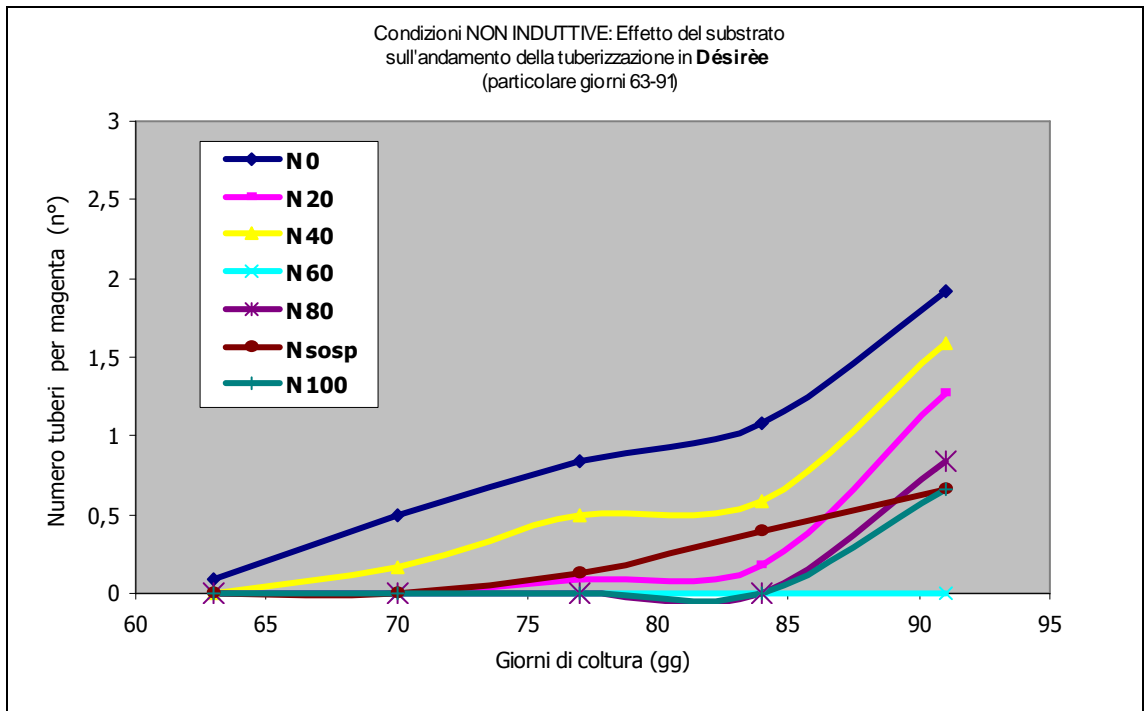


Grafico 8.2.5



**Grafico 8.2.6**



### 8.3. - RISULTATI CAMPIONAMENTI DISTRUTTIVI

Tabella 8.3.1 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del I campionamento distruttivo (80 giorni dall'inizio della coltura)

	G:L	PF <sub>P</sub>	PF <sub>R</sub>	NT	PSP	PSR	PFT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	6	**	**	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	**	**	n.s.	n.s.	**	-	-	-	-	-	-	-
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	**	**	n.s.	n.s.	**	-	-	-	-	-	-	-
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	**	*	n.s.	n.s.	**	-	-	-	-	-	-	-
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	**	**	n.s.	n.s.	**	-	-	-	-	-	-	-
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	-	-
$0\% \Rightarrow sosp$	1	**	**	n.s.	n.s.	**	-	-	-	-	-	-	-
V x S	6	**	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
errore	31			-			-	-	-	-	-	-	-

**Tabella 8.3.2 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del II campionamento distruttivo (100 giorni dall'inizio della coltura)**

	G:L	PF <sub>P</sub>	PF <sub>R</sub>	NT	PSP	PSR	PFT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	6	**	**	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	**	**	-	**	**	-	-	-	-	-	-	-
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	**	**	-	**	**	-	-	-	-	-	-	-
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	**	**	-	**	**	-	-	-	-	-	-	-
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	**	**	-	n.s.	*	-	-	-	-	-	-	-
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	n.s.	**	-	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	-	-
$0\% \Rightarrow sosp$	1	**	**	-	**	**	-	-	-	-	-	-	-
V x S	6	**	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
errore	31												



**Tabella 8.3.3 - Analisi della varianza e contrasti ortogonali del III campionamento distruttivo (120 giorni dall'inizio della coltura)**

	G:L	PF <sub>P</sub>	PF <sub>R</sub>	NT	PSP	PSR	PFT <sub>1</sub>	DT <sub>1</sub>	DL <sub>1</sub>	PTT	PMT	DTM	DLM
Blocco	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Varietà (V)	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
Substrato (S)	6	**	**	**	**	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**
$100\% N \Rightarrow \mu$	1	**	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	n.s.
$(0\% N + sospN) \Rightarrow \mu$	1	**	**	n.s.	**	**	**	-	-	-	-	-	*
$(60\% N + 80\% N) \Rightarrow (20\% N + 40\% N)$	1	**	*	n.s.	**	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	n.s.
$40\% N \Rightarrow 20\% N$	1	*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	n.s.
$60\% N \Rightarrow 80\% N$	1	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	n.s.
$0\% \Rightarrow sosp$	1	**	**	**	**	*	n.s.	-	-	-	-	-	n.s.
V x S	6	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Errore	31												

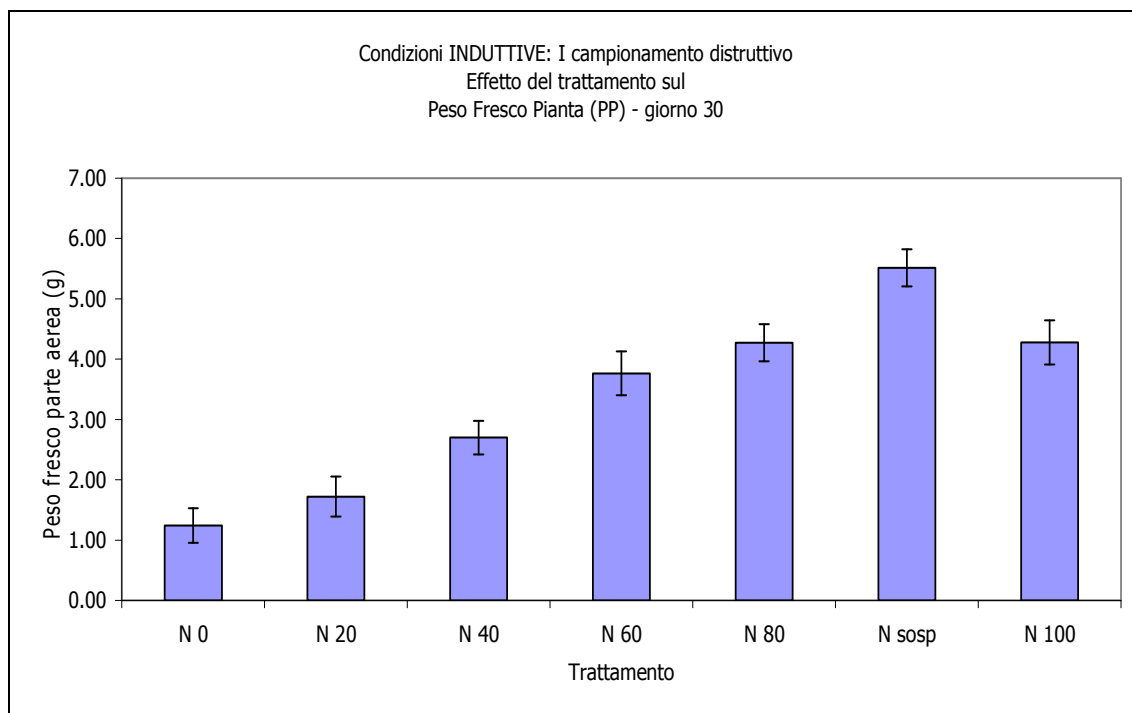
### **8.3.1. I CAMPIONAMENTO (80 GIORNI)**

I parametri relativi alla produzione di tuberi non sono mai statisticamente significativi (Tabella n° 8.3.1), peraltro i valori relativi sono ancora molto bassi.

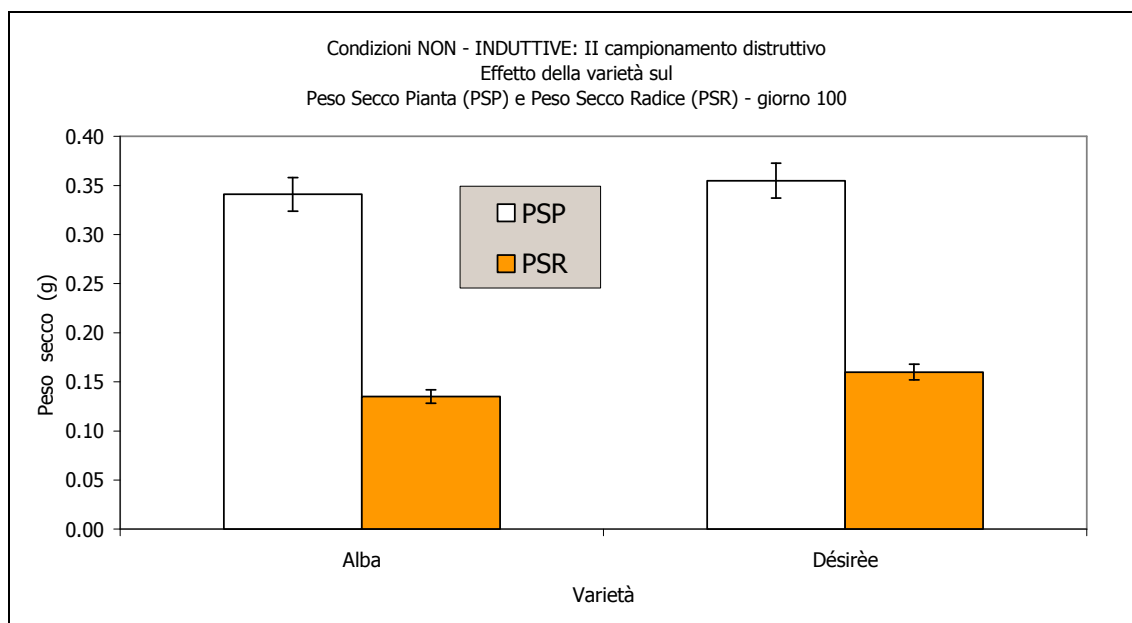
Per quel che concerne i pesi, siano essi freschi o secchi, di parte aerea e parte radicale, appaiono risentire già molto del livello di azoto nel terreno. Lo si può osservare in particolar modo dal PFP (Grafico n° 8.3.1.1) dove peraltro risultano significativi anche tutti i contrasti ortogonali, se si escludono i terreni a dosaggio intermedio. Le vitropiantine allevate su substrato con sospensione azotata risultano quelle con il maggior peso fresco; se però si osserva il grafico dell'interazione (Grafico n°8.3.1.2) di questa variabile tra substrato e varietà si può osservare che in realtà la varietà Alba sul substrato N100 è quella che ha raggiunto i valori più elevati.

Lo stesso andamento può essere osservato anche sul PSP (grafico n°8.3.1.3) e sul PSR (grafico n° 8.3.1.4) a dimostrazione che, perlomeno in questa fase della coltura, la bassa dotazione di azoto nel substrato comporta una limitazione della crescita; mentre le dosi più elevate, unitamente alla sospensione limitata nel tempo della disponibilità di azoto favoriscono lo sviluppo.

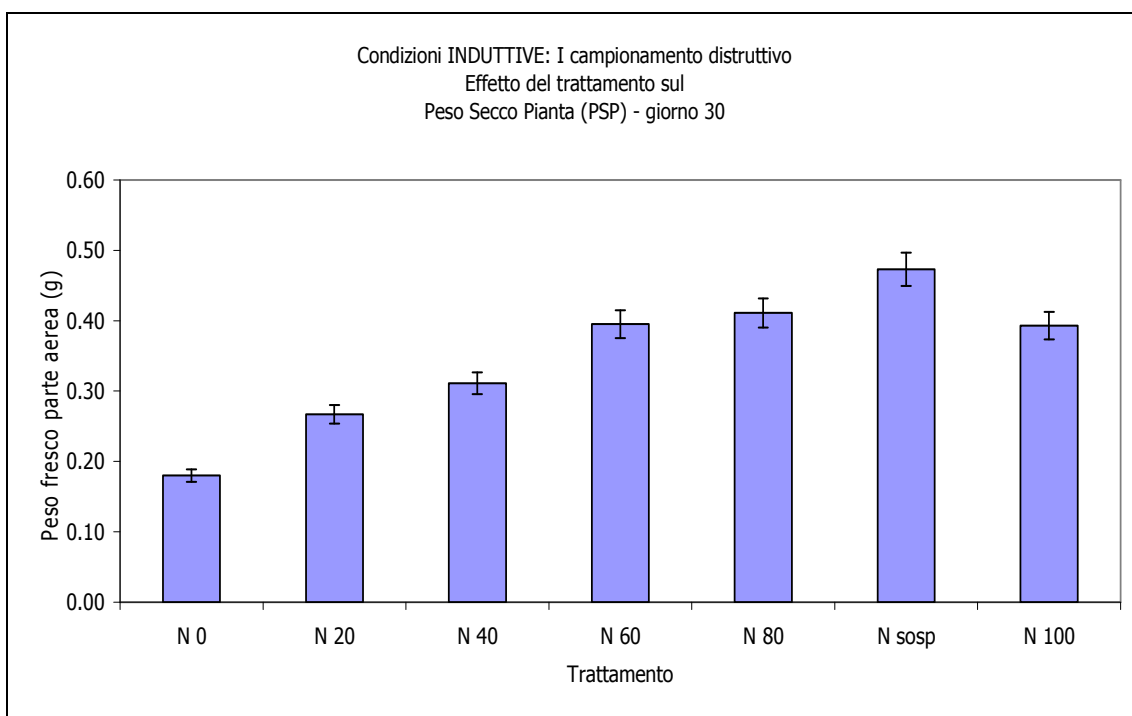
**Grafico 8.3.1.1**



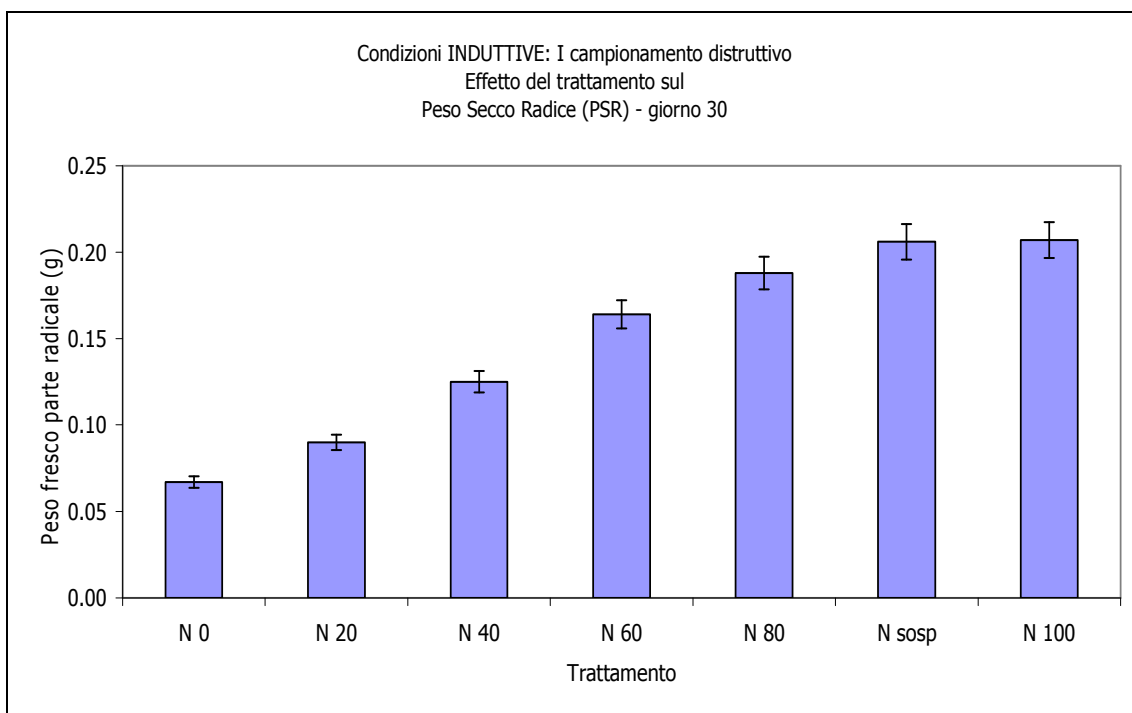
**Grafico 8.3.1.2**



**Grafico 8.3.1.3**



**Grafico 8.3.1.4**

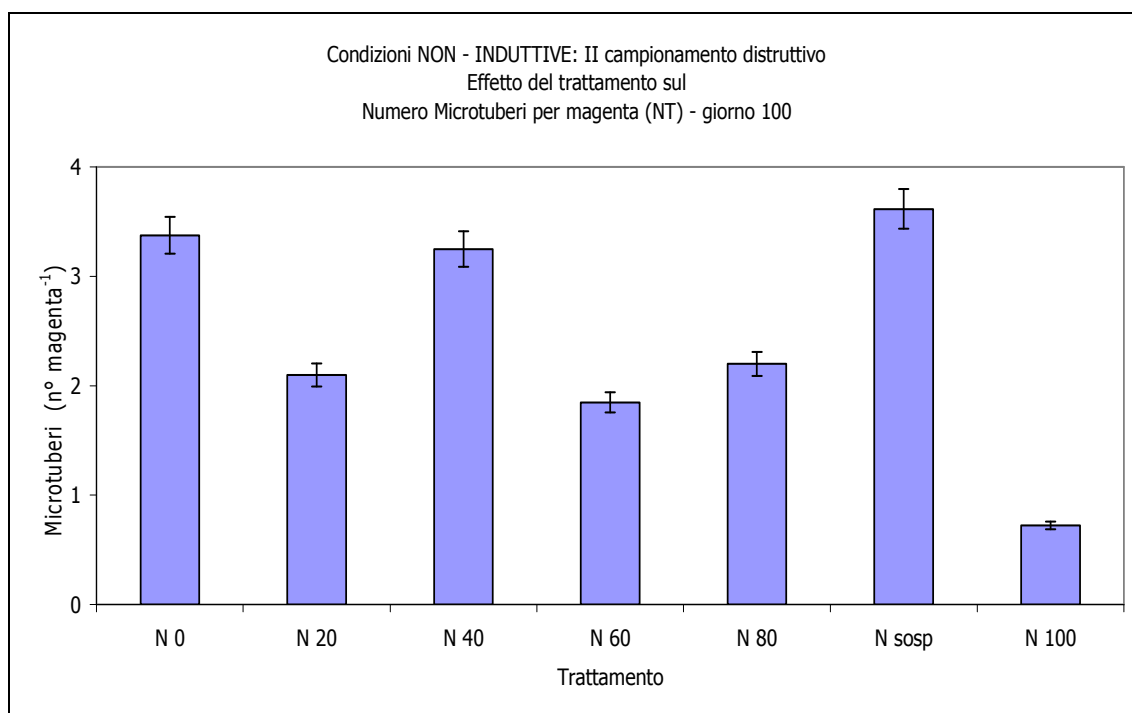


### 8.3.2. II CAMPIONAMENTO (100 GIORNI)

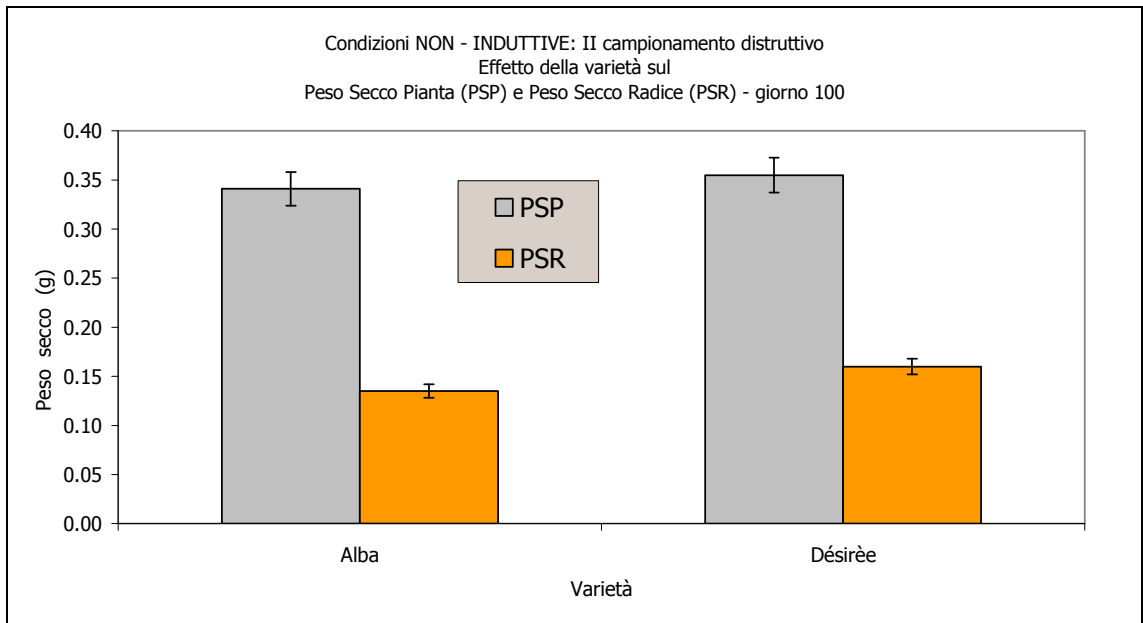
Anche al 100° giorno di coltura la significatività dei parametri relativi ai microtuberi non è mai presente; tuttavia riportiamo il grafico relativo al numero di microtuberi prodotti (grafico n° 8.3.2.1) che ci consente di osservare che il trattamento N100, a questa data di campionamento, ha prodotto molto meno degli altri trattamenti.

Per gli altri parametri, in riferimento alle significatività, non ci sono differenze con il campionamento precedente (Tabella n° 8.3.2). I pesi freschi e secchi di parte aerea e radicale mostrano peraltro lo stesso andamento del precedente campionamento ( a 80 giorni) ma con valori, ovviamente, leggermente maggiori; lo si può osservare sia nell'effetto varietale (Grafico n° 8.3.2.2) in cui Alba continua ad avere pesi marcatamente superiori a Desirée; sia nell'effetto del substrato (Grafico n° 8.3.2.3).

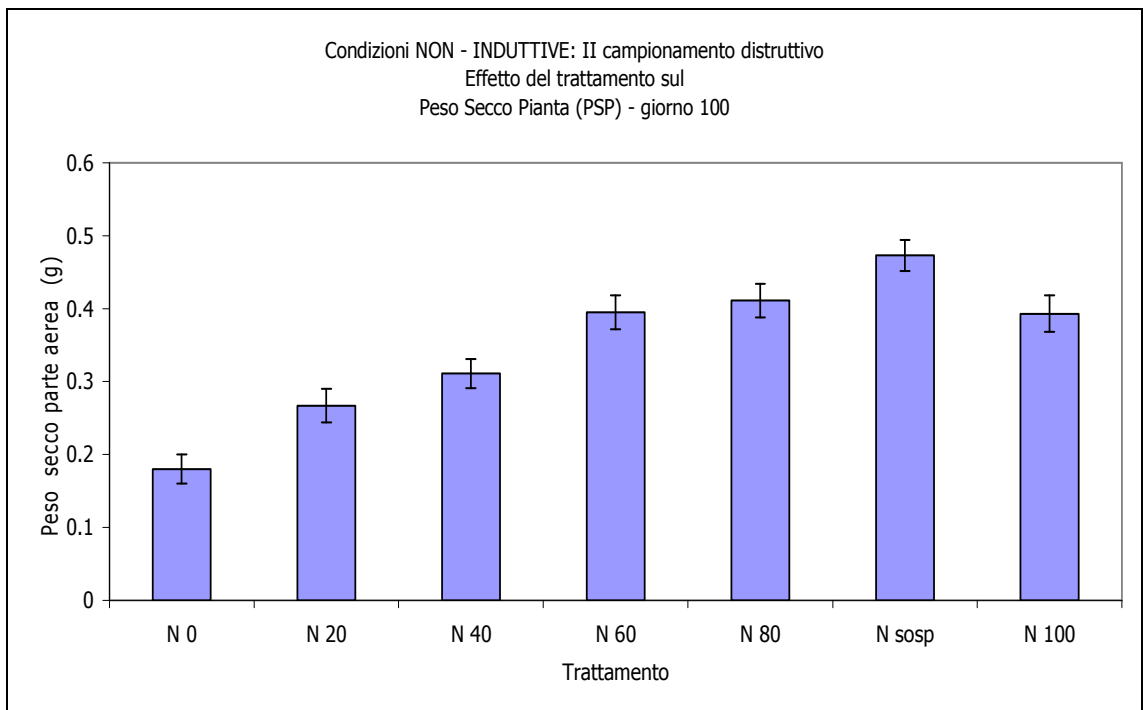
**Grafico 8.3.2.1**



**Grafico 8.3.2.2**



**Grafico 8.3.2.3**



### 8.3.3. III CAMPIONAMENTO (120 GIORNI)

Nel terzo, ed ultimo, campionamento (Tabella n° 8.3.3) si osservano le prime significatività dei parametri relativi ai microtuberi.

Il NT appare sotto significativamente influenzato dall'effetto del substrato (Grafico n° 8.3.3.1), in particolare appare numericamente significativa la produzione di N40 ed N80; non sembra esistere un parallelismo tra la dose di azoto presente nel terreno di coltura e il numero di microtuberi per magenta campionati. Il trattamento N sosp, assieme ad N0 mostra invece una produzione inferiore rispetto a tutti gli altri livelli.

L'altro parametro relativo ai microtuberi in cui appare significativo l'effetto del substrato è il diametro longitudinale (grafico n° 8.3.3.2) e si può osservare che N sosp pur avendo prodotto poco, ha formato MT piuttosto grandi.

I pesi secchi di parte aerea e radicale (Grafico n° 8.3.3.3) mostrano invece un andamento parallelo alla dose di azoto nel substrato nel terreno; esattamente lo stesso comportamento già osservato nei campionamenti precedenti.

**Grafico 8.3.3.1**

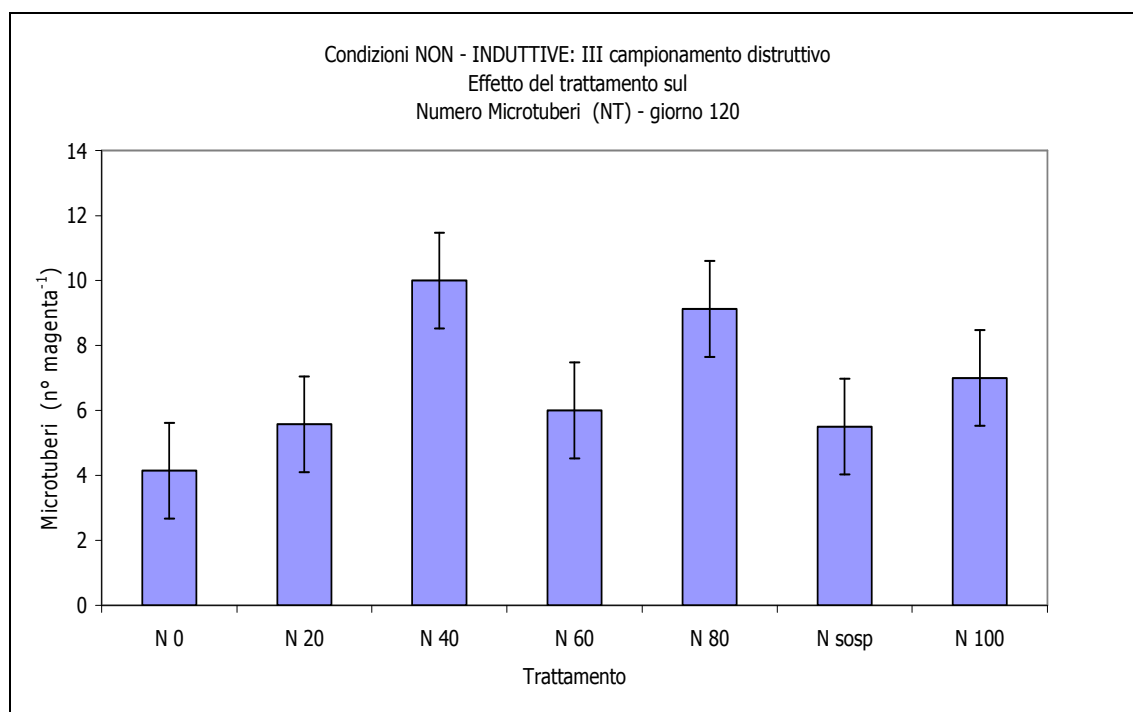


Grafico 8.3.3.2

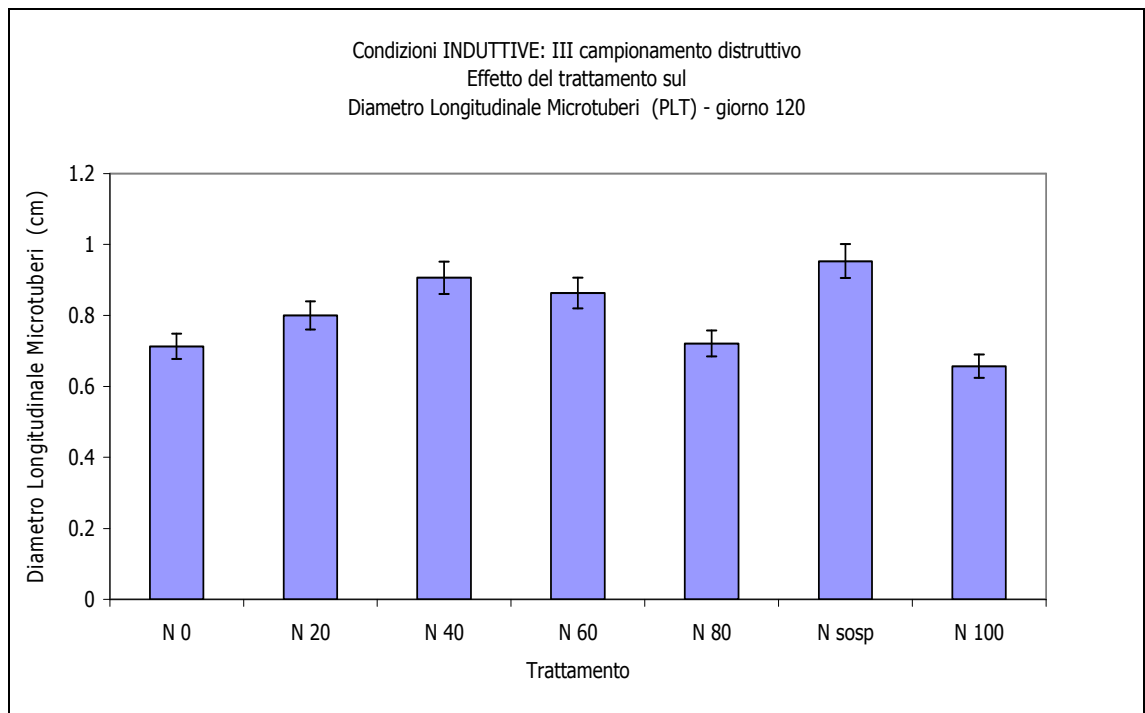
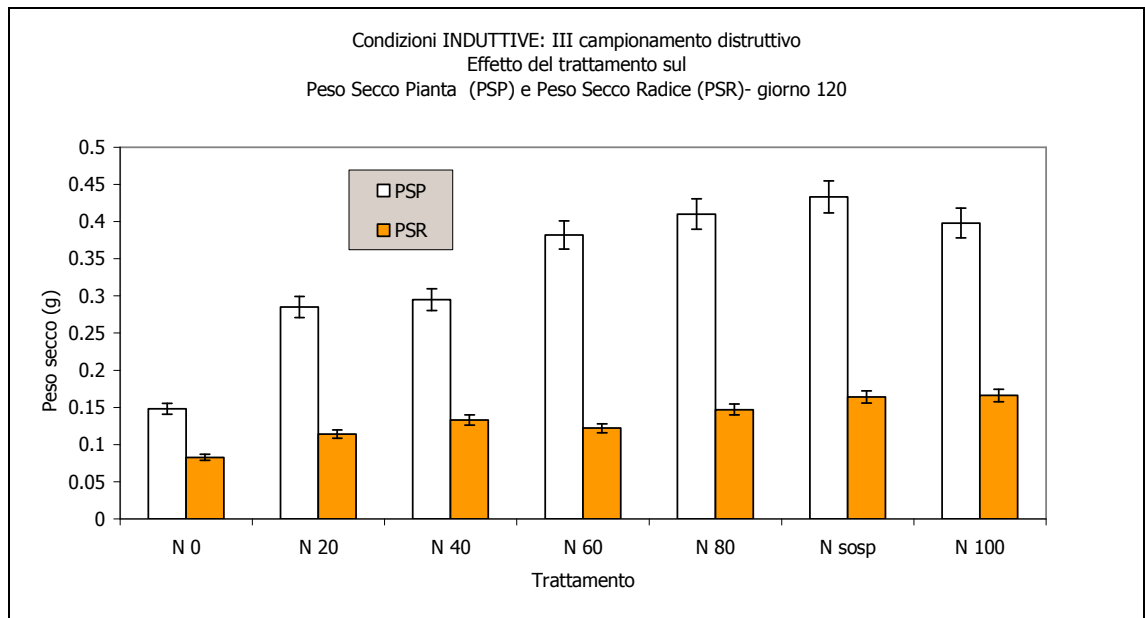


Grafico 8.3.3.3





## 8.4 CONTENUTO DI AZOTO E CARBONIO ELEMENTARE

Le analisi relative al contenuto elementare di Azoto e Carbonio, in questa seconda prova, sono state riservate ad una sola varietà, sia per contenere le spese della ricerca, sia per potersi meglio concentrare su un numero maggiore di campionamenti; la varietà analizzata è stata Alba, la scelta è stata effettuata in base alle performance della I prova.

I risultati dell'analisi statistica (Tabella 8.4.1) dei dati relativi al contenuto elementare di Azoto e Carbonio ed il relativo calcolo del rapporto C/N vengono qui di seguito riportati suddivisi per gli ultimi tre campionamenti, sono omessi i primi tre campionamenti perché mai statisticamente significativi. I dati relativi ad essi saranno comunque mostrati in seguito perché importanti per illustrare gli andamenti del tenore di Azoto e Carbonio nel corso dell'intera prova.

**Tabella 8.4.1: Analisi statistica – Contenuto percentuale di Azoto e Carbonio e rapporto C/N nelle varie parti di pianta nei tre campionamenti distruttivi**

Campionamento (80 giorni)									
	pianta			Tubero			radice		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Blocco	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	**	n.s.	**	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	**

Campionamento (100 giorni)									
	Pianta			Tubero			Radice		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Blocco	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	**	n.s.	**	*	**	**	n.s.	n.s.	**

Campionamento (120 giorni)									
	Pianta			Tubero			Radice		
	N	C	C/N	N	C	C/N	N	C	C/N
Blocco	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Substrato (S)	**	n.s.	**	*	n.s.	**	**	n.s.	**

**Tabella 8.4.2 : Contenuto percentuale di N, C e C/N in Alba durante la coltura in vitro**

<b>AZOTO (%)</b>				
<b>Varietà</b>	<b>Campionamento (gg)</b>	<b>pianta</b>	<b>radice</b>	<b>tubero</b>
Alba	20	6.66	2.62	0.00
	30	5.28	2.10	0.00
	50	3.47	1.27	0.00
	80	3.22	2.16	1.32
	100	2.84	2.03	1.95
	120	2.64	2.15	2.44
<b>CARBONIO (%)</b>				
<b>Varietà</b>	<b>Campionamento (gg)</b>	<b>pianta</b>	<b>radice</b>	<b>Tubero</b>
Alba	20	40.88	18.47	0.00
	30	41.36	20.57	0.00
	50	41.36	21.54	0.00
	80	40.75	43.65	19.57
	100	42.53	43.00	29.06
	120	42.69	43.29	36.69
<b>C/N</b>				
<b>Varietà</b>	<b>Campionamento (gg)</b>	<b>pianta</b>	<b>radice</b>	<b>Tubero</b>
Alba	20	6.57	3.52	0.00
	30	9.13	5.83	0.00
	50	15.45	9.27	0.00
	80	14.45	22.08	9.59
	100	16.66	22.33	13.07
	120	18.77	21.01	15.74

**Tabella 8.4.3: Contenuto percentuale di N, C e rapporto C/N nei diversi substrati nelle parti di pianta.**

Trattamento	N % pianta			N % radici			N % tuberi		
	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg
N 0	1.53	1.96	1.37	1.47	1.15	1.04	1.03	0.89	0.87
N 20	2.64	2.49	1.38	0.96	1.10	0.94	0.38	1.31	0.84
N 40	3.12	3.11	2.13	1.11	1.22	1.27	1.34	1.52	1.42
N 60	3.64	2.36	2.81	1.51	1.55	1.35	0.00	0.65	0.45
N 80	3.65	2.58	3.31	1.70	1.51	1.58	0.89	2.28	1.99
N sosp	3.37	2.67	3.11	1.55	1.38	1.45	0.62	1.97	1.98
N 100	4.30	3.08	4.36	1.77	1.59	1.64	1.90	2.15	2.48
Trattamento	C % pianta			C % radici			C % tuberi		
	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg
N 0	40.79	41.91	39.31	30.00	28.83	25.40	23.66	24.43	24.55
N 20	38.89	43.47	38.62	27.78	29.47	25.73	10.22	25.84	22.38
N 40	39.21	43.56	39.47	28.81	29.35	28.32	17.32	25.31	27.09
N 60	40.43	42.64	44.26	27.64	28.92	25.89	0.00	7.03	8.78
N 80	40.98	42.16	44.97	29.96	28.39	29.50	13.86	25.05	28.95
N sosp	42.05	43.55	41.56	29.95	28.38	26.54	6.06	20.84	21.40
N 100	42.75	43.41	45.94	29.54	27.31	28.59	20.21	7.10	26.98
Trattamento	C/N pianta			C/N radici			C/N tuberi		
	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg	80 gg	100 gg	120 gg
N 0	26.69	23.39	29.19	17.45	18.02	15.90	16.49	19.37	17.45
N 20	15.50	18.25	28.15	19.47	18.28	16.54	9.18	13.31	16.13
N 40	12.85	15.32	19.90	17.72	16.16	14.98	6.57	11.42	12.88
N 60	11.39	18.77	15.86	12.41	12.85	11.96	0.00	1.79	3.87
N 80	11.74	19.05	13.88	11.84	12.55	12.59	5.54	7.32	10.03
N sosp	12.78	20.09	13.63	12.86	14.21	10.98	1.63	5.37	5.62
N 100	10.19	17.39	10.67	11.27	12.15	11.66	5.36	2.42	7.36

## CONTENUTO PERCENTUALE DI AZOTO E CARBONIO NELLA PARTE AEREA

In fase iniziale della coltura, ovvero a 20 giorni dall'inizio della prova, la quantità percentuale di azoto (grafico n° 8.4.1) presente nella parte aerea della coltura appare molto elevata; ciò è sicuramente dovuto al fatto che lo sviluppo della pianta è ancora molto ridotto e i tessuti analizzati sono praticamente rappresentati dalla talea stessa.

In fase più avanzata di sviluppo il tenore diminuisce progressivamente ma si inizia ad osservare una differenziazione tra i vari tipi di substrato, in particolare si notano bassi contenuti percentuali nelle piante allevate sui terreni meno ricchi di N, come N0, N20 N40; questo gruppo si differenzia sia da Nsosp che dai terreni più ricchi in azoto (N60, N80 ed N100).

Questo tipo di differenziazione prosegue e si amplifica fino all'120° giorno di coltura ma fa registrare una diminuzione, anche se persiste la significatività dell'effetto (tabella n° 8.4.1) , al 100° giorno.

L'effetto del substrato non appare invece significativo per il parametro contenuto percentuale di Carbonio nella parte aerea (tabella n° 8.4.1); l'andamento nel corso della coltura è crescente, se si esclude il primo campionamento.

Il rapporto C/N nella parte aerea appare invece significativamente influenzato dal tenore in azoto del substrato (Tabella n°8.4.1), l'andamento che mostra nei sette trattamenti nel corso dei campionamenti è mediamente crescente (grafico n° 8.4.2) e la differenziazione tra i livelli di azoto è speculare rispetto a quella osservata per il contenuto percentuale di azoto con i valori più elevati di N0, N20 ed N40 e tutti gli altri con livelli inferiori.

## CONTENUTO PERCENTUALE DI AZOTO E CARBONIO NELLA PARTE RADICALE

L'analisi statistica di questi parametri (tabella n° 8.4.1) ne ha messo in evidenza una scarsa significatività, ad esclusione del contenuto percentuale di N nella pianta alla raccolta e del rapporto C/N che invece è significativo per tutti e tre i campionamenti finali.

Il tenore in N della parte radicale (tabella n° 8.4.2 e grafico n° 8.4.3) segue comunque anch'esso un andamento simile a quello dell'azoto nella parte aerea con un chiaro gradiente proporzionale al tenore in N del substrato; un'altra analogia con la parte aerea è rappresentata anche dall'andamento del rapporto C/N nelle radici (grafico n° 8.4.4), che difatti mostra valori elevati con i substrati a basso tenore di N (N0, N20 ed N40) e valori bassi per tutti gli altri, compresa la sospensione.

Grafico 8.4.1

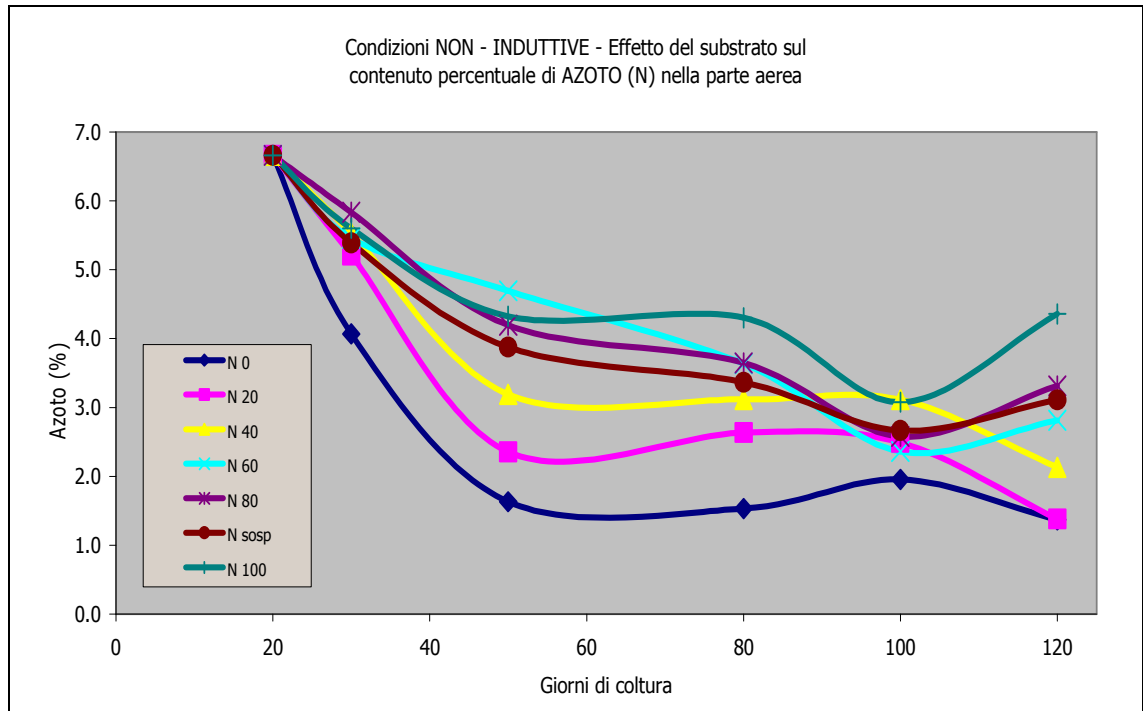
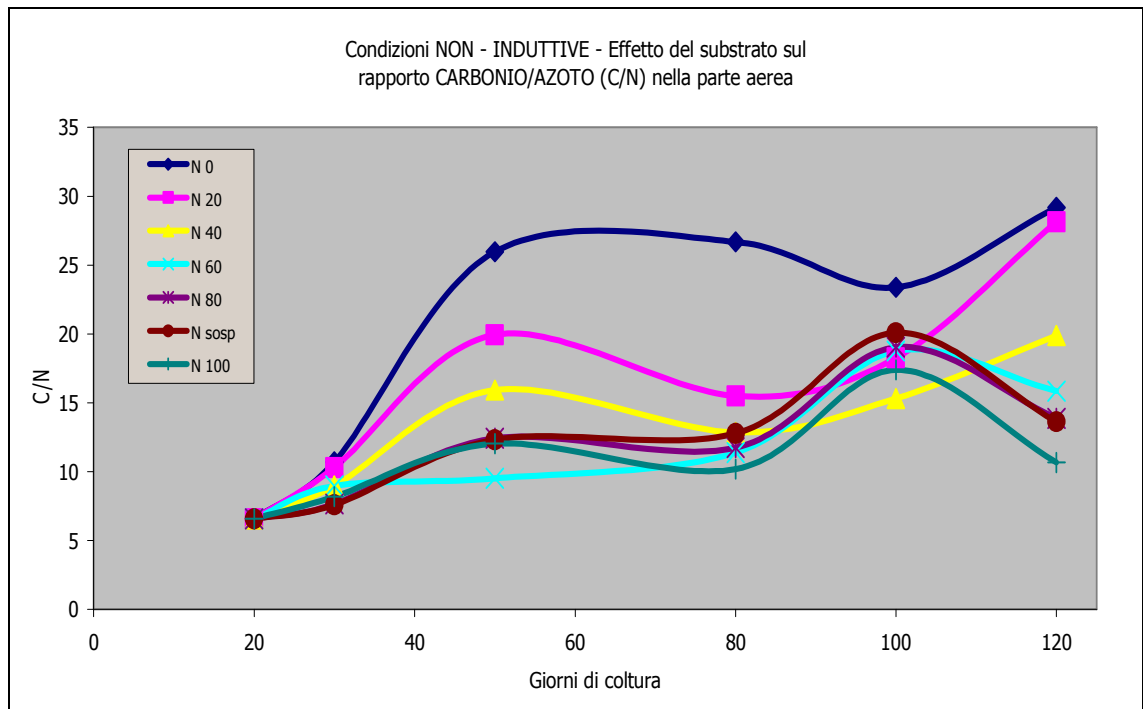
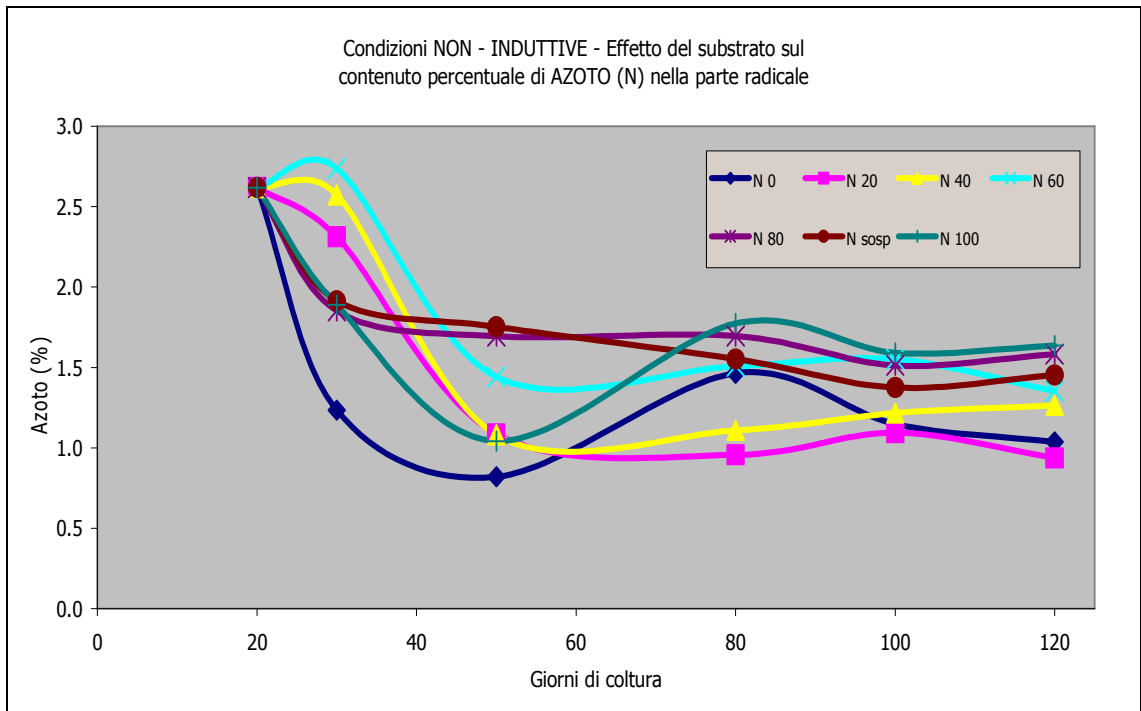


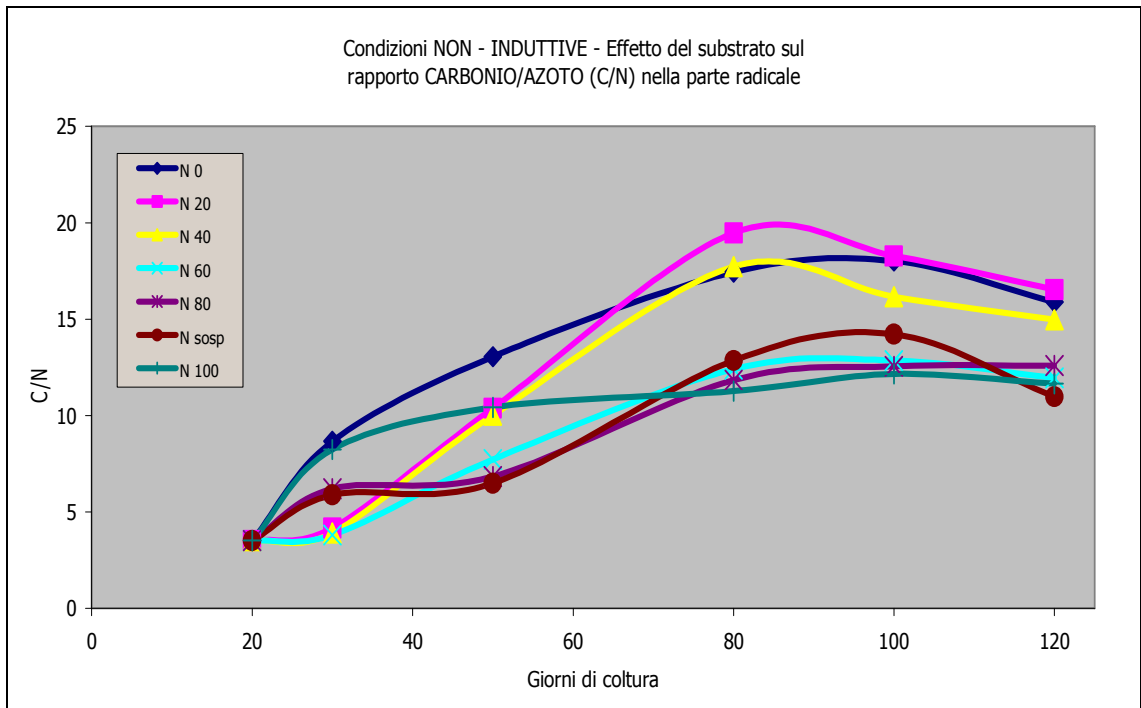
Grafico 8.4.2



**Grafico 8.4.3**



**Grafico 8.4.4**



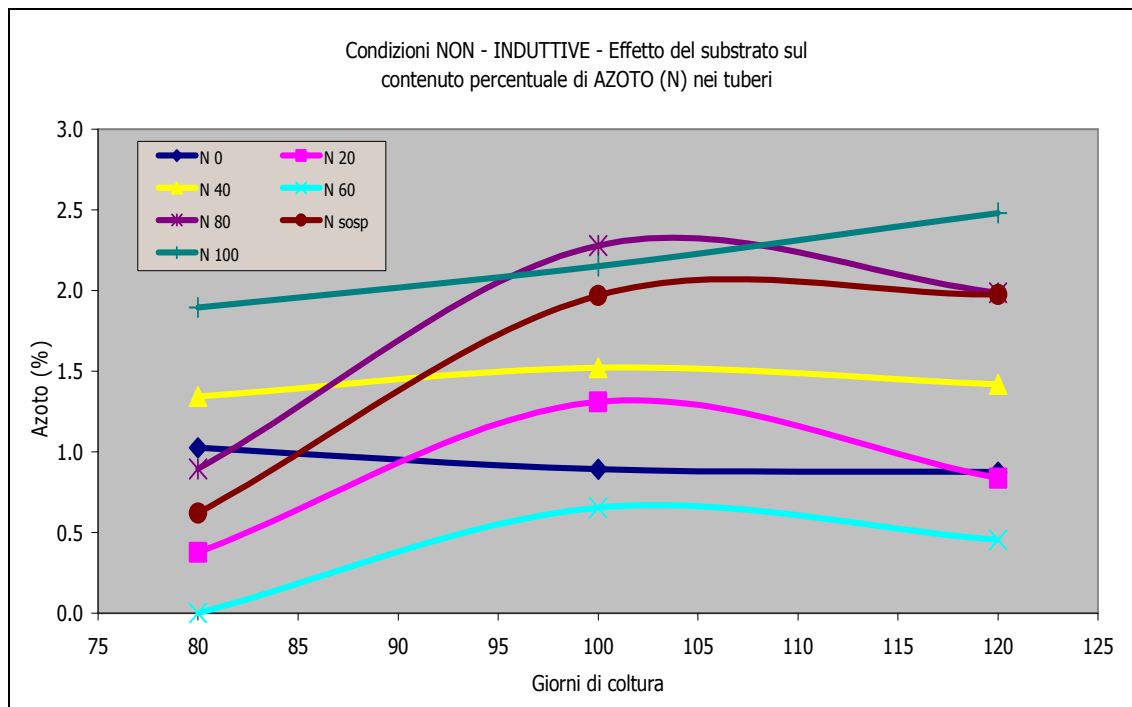
## CONTENUTO PERCENTUALE DI AZOTO E CARBONIO NEI TUBERI

Le analisi sui tuberi hanno inizio solo all'80° giorno perché è il primo campionamento in cui compaiono; anche in questo caso la significatività è limitata al contenuto percentuale di Azoto ed al rapporto C/N (tabella n° 8.4.1) mentre non appare mai significativo il contenuto in Carbonio.

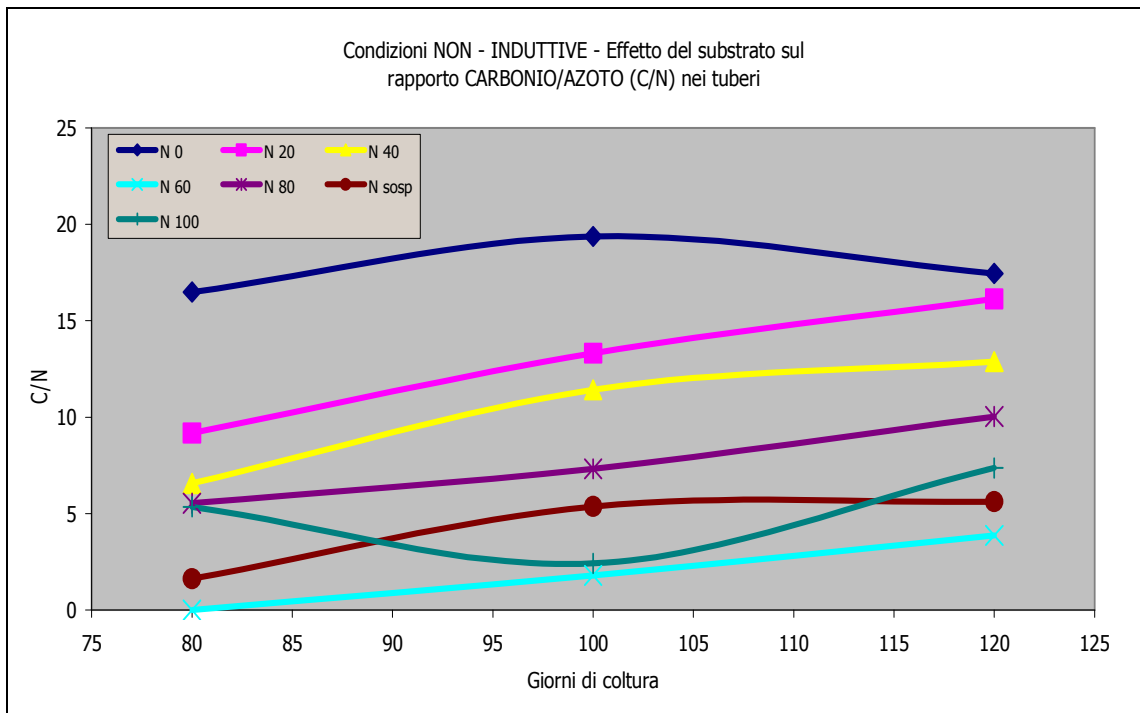
Per quanto concerne il contenuto percentuale di azoto nei tuberi (grafico n° 8.4.5) ancora una volta, anche se con minore intensità, si dimostra influenzato significativamente dal tipo di substrato; il gradiente mostra i valori elevati ancora una volta per N100 ed N80 e, insolitamente, anche per N sosp. Gli altri terreni, quelli cioè a basso tenore di azoto, non comportano accumuli elevati di N nelle piante.

Anche il comportamento del parametro rapporto C/N nei tuberi (grafico n° 8.4.6) è sotto il controllo del substrato e mostra il medesimo comportamento osservato per i rapporti C/N di pianta e radice e cioè: valori elevati di C/N nei substrati ad elevato contenuto di azoto (N0, N20 ed N40) e bassi valori di C/N nei substrati a basso azoto (N60, N80, N100) e nella sospensione.

**Grafico 8.4.5**



**Grafico 8.4.6**





## 8.5 CORRELAZIONI

Tabella 8.5.1: Matrice delle correlazioni (Pearson Correlation Analysis)

	NT	PSP	PSR	PTT	N%P	C%P	C/NP	N%R	C%R	C/NR	N%T	C%T
NT												
PSP	+											
PSR	+	+										
PTT	+	+	+									
N%P	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.								
C%P	n.s.	n.s.	n.s.	+	n.s.							
C/NP	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	+	n.s.						
N%R	-	n.s.	-	-	-	n.s.	-					
C%R	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.				
C/NR	+	n.s.	+	n.s.	-	n.s.	+	-	n.s.			
N%T	+	n.s.	+	+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
C%T	+	n.s.	+	+	-	n.s.	+	-	n.s.	+	n.s.	

## **9. RISULTATI III PROVA-VERIFICA DELLA TUBERIZZAZIONE**

### **PROVA DI CONTROLLO DELL'INFLUENZA DEL SUBSTRATO SULLA TUBERIZZAZIONE**

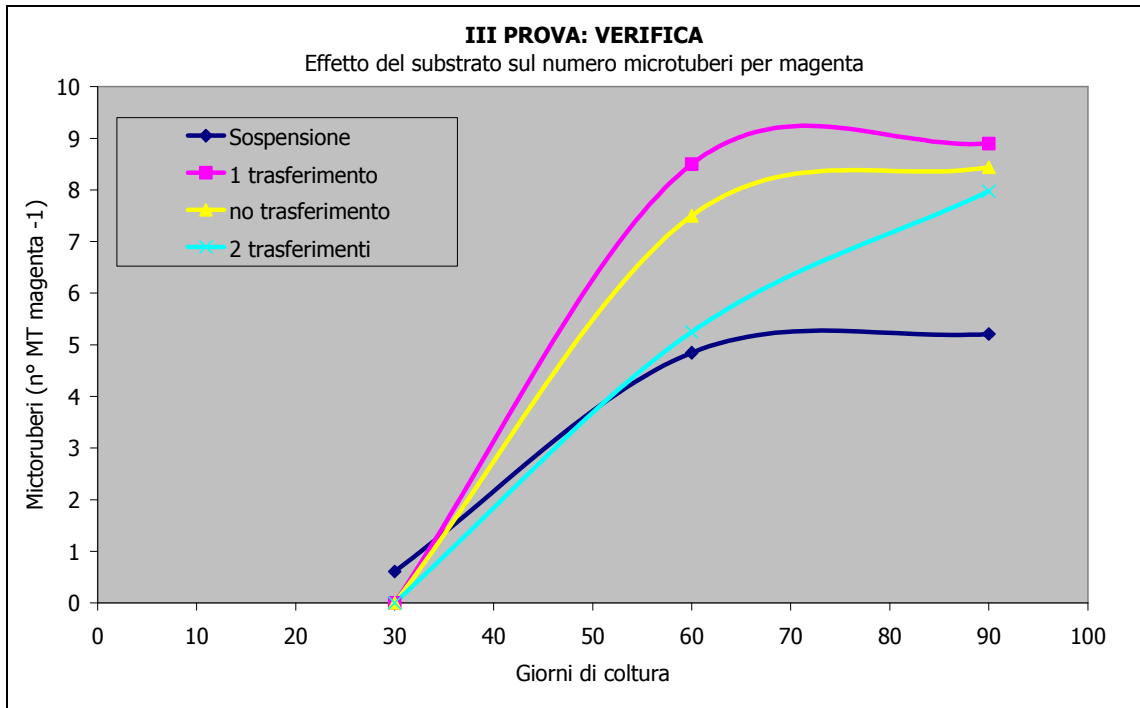
#### **9.1 RISULTATI CAMPIONAMENTI DISTRUTTIVI**

La valutazione dei parametri produttivi in questa prova assume una fondamentale importanza per analizzare se i trasferimenti da un substrato all'altro comportano o meno una anche minima induzione della tuberizzazione; tutto ciò allo scopo di non inficiare le valutazioni effettuate nelle due prove precedenti.

Il parametro più interessante risulta il numero microtuberi per magenta, nel grafico n° 9.1.1 sono riportati gli effetti medi del numero di trasferimenti sulla produttività.

Al primo campionamento, effettuato al 30° giorno di coltura, non si osservano ancora microtuberi formati e non esiste differenziazione tra i trattamenti. Nel campionamento successivo si osservano le prime differenze: il trattamento più produttivo (8.50 MT Magenta<sup>-1</sup>) appare essere quello in cui si è effettuato un solo trasferimento (da MS di propagazione a MS di tuberizzazione), seguito dal trattamento senza trasferimento ovvero sempre su MS di tuberizzazione (7.50 MT Magenta<sup>-1</sup>). Meno produttivi dei primi due e tra di loro simili, mostrano invece essere i trattamenti con due trasferimenti e la sospensione azotata (anch'essa prevedeva due trasferimenti) con circa 5 MT Magenta<sup>-1</sup>. Al terzo campionamento infine si osserva che il trattamento che ha prodotto più microtuberi è quello con due trasferimenti che difatti produce 8.90 MT Magenta<sup>-1</sup>, ma non si osservano differenze con il trattamento con un solo trasferimento 8.44 MT Magenta<sup>-1</sup>. Anche il trattamento senza trasferimento mostra una produttività simile ai primi due 7.98 MT Magenta<sup>-1</sup> al terzo campionamento. Questo a dimostrare che l'effetto induttivo dei trasferimenti non sembra esistere. Quando invece all'effetto stressante dei due trasferimenti si somma anche lo stress dell'assenza di azoto nel substrato, come nel trattamento "sospensione", la tuberizzazione risulta depressa con soli 5.21 MT Magenta<sup>-1</sup>.

Grafico 9.1.1



## 10 CONCLUSIONI

### 10.1 EFFETTO INDUTTIVO DELL'AZOTO

Dal confronto tra la prova in condizioni di fotoperiodo corto (INDUTTIVA) e quella in fotoperiodo lungo (NON INDUTTIVA) si evidenzia innanzitutto una fortissima differenza nei tempi delle tuberizzazione, le condizioni di fotoperiodo lungo non inducono la tuberizzazione prima del 70° giorno di coltura contro i 36 del fotoperiodo corto. Inoltre l'andamento della tuberizzazione in condizioni induttive mostra che l'incremento nella neo formazione dei microtuberi si estrinseca in circa 10 giorni data dopo la quale le curve di tuberizzazione diminuiscono di pendenza raggiungendo la stabilità (plateaux) di produzione. Nel fotoperiodo lungo invece si osserva inizialmente un andamento non crescente delle curve e solo in fase finale (al 110° giorno di coltura) un improvviso aumento delle pendenze, la tuberizzazione entra quindi nella fase di massimo incremento a causa di uno stimolo che, per deduzione, non può che essere dato dalla presenza dell'azoto nel substrato. Ad ulteriore dimostrazione si può osservare che la completa assenza di azoto nel terreno di coltura, ovvero il trattamento N0, non mostra il medesimo cambio di pendenza al 110° giorno che caratterizza gli altri trattamenti.

Nel dettaglio, in fotoperiodo lungo, si osserva un comportamento particolare del trattamento N40 (corrispondente al 40% della dose di azoto del Murashige and Skoog: esso sviluppa infatti le sue potenzialità produttive precocemente rispetto a tutti gli altri trattamenti, la curva che lo rappresenta nel grafico della tuberizzazione si distingue per pendenza.

Purtroppo la prova è stata interrotta, per esaurimento del materiale dovuto ai campionamenti distruttivi, al 120° giorno di coltura quando le potenzialità produttive delle due varietà erano ancora inesprese.

Un ulteriore approfondimento dell'indagine può essere fatto dall'analisi dei parametri legati alla tuberizzazione; il Tempo Medio di Tuberizzazione (TMT) nelle condizioni di fotoperiodo corto mostra valori oscillanti tra i 2 -2.5 giorni medi per formare un microtubero, tale valore registrato in condizioni non induttive si aggira mediamente intorno ai 30-40 giorni per microtubero; anche il giorno della comparsa del primo microtubero è un buon indicatore passando dai 35 giorni medi osservati in fotoperiodo corto ai circa 100 giorni del fotoperiodo lungo.

Possiamo quindi concludere che in condizioni di fotoperiodo corto l'effetto induttivo dell'azoto anche se presente risulta comunque meno importante dell'effetto del fotoperiodo; mentre nelle condizioni di fotoperiodo lungo, in assenza totale dell'induzione dovuta al fotoperiodo, si osserva un effetto induttivo in fase tardiva dovuto alla presenza di

azoto nel substrato; tale effetto risulta particolarmente forte con il substrato contenente la dose corrispondente al 40% dell'azoto totale (N40).

## 10.2 VALORI SOGLIA DELL'AZOTO

L'indagine svolta sui differenti livelli di azoto nel substrato testati nel corso della prova ci ha portato a sviluppare alcune interessanti osservazioni e conclusioni:

Su tutti è risultato particolarmente interessante il livello N40, contenente una dose di azoto pari al 40% del contenuto totale del Murashige an Skoog standard e quantificabile in 336 mg di N elementare per litro di substrato. Le osservazioni ed i rilievi svolti ci hanno consentito di rilevare unicamente per questo substrato una analogia di comportamento nelle diverse condizioni di fotoperiodo. Facciamo riferimento soprattutto alla sua estrema precocità, caratteristica che si estrinseca in maniera eclatante quando si trova in condizioni di fotoperiodo corto (TMT 1.89 gg MT<sup>-1</sup>) (VT 33.75 gg) e in misura minore, ma sempre significativa, in fotoperiodo lungo (TMT 20 gg MT<sup>-1</sup>) (VT 84 gg).

Oltre alla precocità anche la produttività è una caratteristica di N40 che si mantiene in entrambe le prove: media in fotoperiodo corto con 1.48 MT per pianta ma particolarmente alta in fotoperiodo lungo con 1.20 MT per pianta (la media generale è 0.92 MT per pianta). Le due particolarità del comportamento di N40 ci portano alla conclusione che esso rappresenta sicuramente un livello soglia per quanto concerne la quantità di azoto nel substrato di coltura, si tratta sia di un livello precocizzante che produttivo. Soprattutto in condizioni NON INDUTTIVE di fotoperiodo sembra svolgere una forte funzione di induttore della tuberizzazione e supplire così alla carenza di stimolo dovuta al fotoperiodo lungo.

Una interessante considerazione può inoltre essere fatta sul confronto tra il trattamento di sospensione azotata "N sosp" e N100, i due trattamenti hanno entrambi la dose intera di N e differiscono solo per i dieci giorni di sospensione della disponibilità di azoto nel substrato di N sosp: la sospensione azotata manifesta sempre una produttività maggiore dell'omologo N100 e tale situazione si estrinseca in maggiormente in fotoperiodo corto, quindi possiamo affermare che sicuramente la sospensione di disponibilità di azoto svolge un lieve effetto induttivo di stimolo della tuberizzazione.

### 10.3 EFFETTO INDUTTIVO DEI TRAPIANTI

La prova di verifica, anche se necessita di ulteriori approfondimenti, ci permette di formulare delle conclusioni mirate soprattutto alla conferma delle assunzioni fatte nel corso delle prime due prove. Infatti nel corso di svolgimento delle prove di tuberizzazione ci siamo posti la questione se lo stress da trapianto delle vitropiantine da un terreno all'altro avesse o meno un effetto stimolante od induttivo sulla tuberizzazione.

I primi risultati sulla produttività di Desirèe nella prova di verifica ci hanno portato alla conclusione che i trapianti non inducono la tuberizzazione delle vitropiantine infatti non si sono osservate variazioni nella tuberizzazione nei trattamenti con zero, uno o due trasferimenti.

Si evince però anche che lo stress da trapianto e la sospensione della disponibilità di azoto hanno un effetto additivo che deprime la tuberizzazione.

#### 10.4 DIFFERENZE VARIETALI

Le capacità di tuberizzazione precoce di Alba e medio-tardiva di Desirée sono componenti generalmente caratteristiche tipicizzanti e costanti delle due varietà in natura; l'introduzione in vitro comporta talora delle modifiche di tali caratteri.

Nel nostro caso le differenze varietali di precocità appaiono livellate, ma comunque con una leggera precocità di Alba, nelle condizioni di fotoperiodo corto e non esistenti nel fotoperiodo lungo, possiamo quindi concludere che l'effetto induttivo varietale, cioè di tipo genetico, non è molto marcato in vitrocoltura e comunque è inferiore all'effetto induttivo o non induttivo del fotoperiodo.



## 10.5 CONTENUTO DI AZOTO, CARBONIO E RAPPORTO C/N

Per quanto concerne le analisi del contenuto percentuale elementare di Azoto, Carbonio e rapporto C/N esse ci permettono di formulare alcune asserzioni al riguardo.

Il contenuto percentuale di Azoto nella parte aerea delle vitropiantine appare essere un ottimo indicatore della disponibilità di azoto nel substrato, è infatti una costante in tutte le prove (induttive o meno) osservare un gradiente della percentuale di N nella parte aerea corrispondente al gradiente di Azoto nel substrato. La corrispondenza si osserva anche se si considera il contenuto totale di Azoto (non percentuale) ma in misura inferiore.

La conclusione è che tale parametro riveste perfettamente il ruolo di indicatore dello stato nutrizionale della coltura, presumibilmente anche in pieno campo.

Inoltre il trend del tenore percentuale di Azoto nella parte aerea ha un andamento decrescente nel corso di sviluppo della coltura soprattutto dopo l'inizio della tuberizzazione, questo in entrambe le situazioni di fotoperiodo, a dimostrazione del fatto che è comunque un parametro legato al fenomeno dell'induzione, potrebbe quindi essere utilizzato come indicatore anche dello stato fisiologico della coltura.

Un discorso analogo può essere fatto per il rapporto C/N esso infatti mostra un andamento inverso rispetto al contenuto di N, ciò è dovuto ovviamente alla natura matematica del rapporto tra il Carbonio e l'Azoto (il C ha normalmente 10-15 volte le dimensioni dell'azoto), con dei sostanziali cambiamenti in corrispondenza dei fenomeni di tuberizzazione.

Quindi anche il rapporto C/N, soprattutto quello relativo alla parte radicale, potrebbe assumere la funzione di indicatore dell'induzione.

## 10.6 IMPLICAZIONI PRATICHE

Naturalmente lo studio in vitro del fenomeno della tuberizzazione e le indagini volte alla conoscenza del ruolo che l'azoto svolge nei processi produttivi ha lo scopo principale di trasferirne le conoscenze acquisite al pieno campo, possiamo quindi in base alle nostre esperienze affermare che il trasferimento al vivo delle esperienze svolte in vitro è auspicabile per:

1. individuare se esiste anche in pieno campo un livello soglia di Azoto nel terreno con le stesse caratteristiche esibite in vitro dal livello N40, con funzioni quindi induttive e produttive;
2. sfruttare l'effetto induttivo dell'azoto nelle situazioni di pieno campo soprattutto negli ambienti tropicali a fotoperiodo lungo in cui l'induzione fotoperiodica è poco marcata o assente;
3. utilizzare gli indicatori della tuberizzazione o dello stato nutrizionale della pianta individuati nel corso della prova come il contenuto di Azoto nella parte aerea e il rapporto C/N nella parte radicale per effettuare le "fertilizzazioni guidate";
4. implementare in vivo l'uso di livelli di azoto medio-bassi, paragonabili all'N40, per ridurre le quantità di fertilizzanti azotati somministrate.

Dalla somma delle considerazioni appena fatte ci riserviamo quindi di stimolare il trasferimento al pieno campo delle esperienze da noi fatte in vitro soprattutto per seguire il trend che oramai si è ben affermato in agricoltura che tende alla riduzione degli input chimici e verso un'agricoltura di precisione.

## 11 BIBLIOGRAFIA

- Adinolfi A. (1998) "Patata: problemi ed aspetti della produzione e certificazione dei tuberi seme in Sila" SEMENTI ELETTE.
- Andrenelli L., (1996). La tuberizzazione in vitro della patata (*Solanum tuberosum* L.) e verifica della stabilità genetica delle progenie. Tesi di dottorato di ricerca .
- Andrenelli L., Benedettelli S., Palchetti E., Bertocci F., Vecchio V., 1999. Effect of nitrogen nutrition on in vitro tuberization of potato in both inductive and noninductive conditions. Abstract 14th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. EAPR Sorrento – Italy, 2 – 7 May.
- Anonimo, (2000). Europa: equilibri in movimento. Terra e Vita, Speciale Patata, suppl.to 44: 34-37.
- Augustin J., Mc Dile R. C., Painter G. L., 1977. Influence of fertilizer, irrigation and storage treatments on nitrate N content of Potato tubers. American Potato Journal, 54 (4): 125-136.
- Barker W.G., Page O.T. "The induction of scab lesions on aseptic potato tubers cultured in vitro" SCIENCE (119): 286-287.
- Ben Kheder M., Ewing E.E. (1985) "Growth analyses of eleven potato cultivars grown in the greenhouse under long photoperiods with and without heat stress" AM. POTATO J. (62): 537-554.
- Beukema H. P., Van Der Zaag D. E. 1979. Potato improvement: some factors and facts. International Agricultural Centre, Wageningen, The Netherlands.
- Biadene G., (1996). Storia della patata in Italia.
- Bradstreet RB, 1965. The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen. Academic Press, London.
- Brian L.R. (1992) "Effect of two plant growth regulators on the yield and quality of russett burbank potatoes" POTATO RES (35): 227-233.
- Bryan J., Espinoza N., Lizarraga R., Siguenas C., Buitron F., Dodds J.H., (1992). Tissue culture: micropropagation, conservation and export of potato germoplasm. CIP Research Guide 1.
- Casarini B. (1994) "Otto anni di progresso" SUPPLEMENTO ALL'INFORMATORE AGRARIO (49): 5-6.
- Catchpole A.H., Hillman J., (1969). Effects of ethylene on the tuber initiation in *Solanum tuberosum* L.. Nature London , 223, 1387.
- Chandra R., Randhawa G.J., Chaudhari D.R., Upadhyya M.D. (1992) "Efficacy of triazoles for in vitro microtuber production in potato" POTATO RES (35): 339-341.

- Chapman H.W., 1958. Tuberization in potato plant. *Physiol. Plant.* 11: 215-224.
- Cheng T., Zhang Y., (1990). Influence of light intensity, daylength, CCC and BAP on in vitro tuberization. *Bejung (China, people's republic of)* : 144-147.
- Cremašchi D., 1983. Azoto alla coltura di patata: produzione e caratteristiche biometriche dei tuberi. *Terra e Sole*, 492: 474-477.
- Dalla Costa L., Delle Vedove G., Giovanardi R., 1999. Estimate of plant N status in 2 potato cultivars using portable Chlorophyll Meter. *Proceeding 14° EAPR Meeting*: 466-467.
- Dalla Costa L., Giovanardi R., 1999. Estimate of plant N status in 2 potato cultivars using portable Chlorophyll meter. *Proc. 14° EAPR Meeting*, 466-467.
- Debrabata S., Prakash S. N., 1998. Effect of nitrogen nutrition on cytokinin induced potato microtuber production in vitro. *Potato Research* 419: 211 – 217.
- Denuit J.P., Goffaux M.J., Maes N., Hallaux B., Olivier M., Destain J.P., Herman J.L., Goffart J.P. & Frankinet M., 2001. Proposal of new strategies of nitrogen fertilization on cereals and potato crops in Belgium. 11th Nitrogen Workshop” INRA Reims (F) 9-12 settembre: 399-400.
- Dodds J.H., Trovar P., Chandra R., Estrella D. (1988) “Improved methods for in vitro tuber induction and use of in vitro tubers in seed program” KUNMING (CHINA, PEOPLE’S REPUBLIC OF) pp. 157-158.
- Eppendorfer W.H., Eggum B.O., 1994. Effects of sulphur, nitrogen, phosphorus, potassium, and water stress on dietary fibre fractions, starch, amino acids and on the biological value of potato protein. *Plant Foods Hum Nutr* Jun, 45 (4): 299-313.
- Estrada R., Trovar P., Dodds J.H., (1986). Induction of in vitro tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (7): 3-10.
- Ewing E. E. & Struik P. C., 1992. Tuber formation in potato: Induction, initiation, and growth. *Printed from Horticultural reviews*, vol. 14: 89-198.
- Ewing E. E., (1981). Heat stress and the tuberization stimulus. *Am. Potato J.* 58: 31-49.
- Ferraro S.G. e Vecchio V., 1990. Composizione, caratteristiche organolettiche e valore nutritivo della patata. Relazione presentata al Convegno Nazionale. “Valore della dieta Mediterranea Qualità delle produzioni. Educazione alimentare nelle scuole”. Rovito (CS) 29-31 Ottobre.
- Forti E., Mandolino G., Ranalli P. (1990) “In vitro tuber induction: influence of the variety and of medium” PROCEEDINGS OF XXIII INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, FLORENCE, 27TH AUGUST – 1ST SEPTEMBER, ITALY, ABSTRACT N° 3136.

- Frusciante L., (1997). Progetto MIPAF: Miglioramento genetico della patata.
- Garner N., Blake J., 1989. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances. *Annu. Bot.* 63: 663-674.
- Gawronska H., Dwelle R.B., Pavek J.J. (1985) "The influence of high and low light levels on assimilate partitioning patterns in potato plants".
- Gianquinto G. & Bona S., 2000. Plant nitrogen status. In: Management of nitrogen and water in potato production. Editors: A.J. Haverkort, D.K.L. Mackerron. Wageningen Pers The Netherlands: 35-54.
- Giordano I., Grassi G., Pentangelo A. (1994) "Un laboratorio di micropropagazione della patata in campania" SUPPLEMENTO ALL'INFORMATORE AGRARIO
- Gopal J., Minocha J.L., Sidhu J.S. (1997) "Comparative performance of potato crops raised from microtubers induced in the dark versus microtubers induced in light" *POTATO RES* (40): 407-412.
- Gregory L. E., (1956). Some factors for tuberization in the potato. *Annu. Bot.* 43:281-288.
- Gregory L.E. (1965) "Physiology of tuberization in plants (tubers and tuberous roots" W. RUHLAND, ED., PART 1, pp 1328-1354. SPRINGER-VERLAG, BERLIN AND NEW YORK.
- Guarda G. 1993. Valorizzazione della patata veneta. ED. ESAV- Agenzia per l'innovazione tecnologica. Padova.
- Guidoni A., (2000). La patata: dalle Ande alle Alpi
- Harvey B. M. R., Crothesrs S.H., Watson S., Lee H. C., (1992). Heat inhibition of tuber development in potato (*Solanum tuberosum* L.): effects on microtuber formation in vitro. *Potato Research* 35: 183-190
- Haverkort A.J., Van De Wart M., Marinus J. (1991) "Field performance of microtubers as propagation material" *POTATO RESEARCH* (34): 353-364.
- Hussey G. & Stacey N. J., (1981). In vitro propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annals of Botany* 48:787-796.
- Ifenkwe O.P., Allen E. J 1983. Nitrogen and potassium uptake by higt-yielding potato crops. *The Journal of Agricultural Science*, 101, 103-112.
- Ivory J.A., Whitw R. P. Sanderson J. B., 1986. Effect of applied fertilizer on Kennebec potato top dessiccation and yield with Diquat. *American Potato Journal*, 66 (10): 545-552.
- Jackson S. D., Heyer A., Dietze J., Prat S., 1996. Phytochrome B mediates the photoperiodic control of tuber formation in potato. *The Plant Journal* 9(2), 159-166.

- KODA Y., OKAZAWA Y.(1988) "Detection of potato tuber-inducing activity in potato leaves and old tubers" *PLANT CELL PHYSIOL.* (29): 969-974.
- Krauss A. & Marschner H., 1982. Influence of nitrogen nutrition, daylength and temperature on contents of gibberellic and abscisic acid and on tuberization in potato plants. *Potato Research* 25: 13-21.
- Krauss A. (1978a) "Endogenous regulation mechanisms in tuberization of potato plants in relation to environmental conditions" *EAPR ABSTRACT CONF. POP.* (7): 47-48.
- Krauss A. (1978b) "Tuberization and abscisic acid content in *Solanum Tuberosum* as affected by nitrogen nutrition" *POTATO RES.* (21): 183-193.
- Krauss A., Marschner H. (1982) "Influence of nitrogen nutrition, day length and temperature on contents of gibberellic acid and on tuberization in potato plants" *POTATO RES.* (25): 13-21.
- Laureti D. 1981. Effetti della concimazione azotata sulla patata. *Rivista di Agronomia*, 15 (3/4), 166-172.
- Lawrence C. H., Barker W. G., (1963). A study of tuberization in the *Solanum tuberosum*. *American Potato Journal* 40: 349-356.
- Le SMALL CAP, C.L. "Practical aspect of in vitro micro propagation of commonly grown potatoes (*Solanum Tuberosum* L.)" *REVUE SWISSE D'AGRICOLTURE* 1991.
- Lemaire G (Ed.), 1997. *Diagnosis of the nitrogen status in crops*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997. 239 pp.
- Lovatti L., (2000). Italian potato production & consumption trends. 4th Congress Europa, Potato Industry, Roma.
- Lovatti L., (2000). Quali cultivar per rispondere meglio al mercato. *Terra e Vita, Speciale Patata*, suppl.to 26: 38-40.
- Lovatti L., 2000. La qualità culinaria delle patate novelle. *Il Gazzettino della patata* 2: 12-15.
- Lunati U., (2000). La risposta italiana. *Terra e Vita, Speciale Patata*, suppl.to 26: 65.
- Lunati U., 2000. Nelle produzioni DOP e IGP la patata non esiste. *Il Gazzettino della Patata* 5: 22-23.
- Maes N., Hallaux B., Herman J.L. and Destain J.P., 2000. Research on diagnostic tools of nitrogen status of winter wheat. In *Crop development for the cool and wet regions of Europe (Cost 814)*, Proceedings of the final conference, Pordenone: 437-442.
- Magdhoff F., Lanyon L., Liebhardt B., 1997. *Advances in Agronomy*, 60: 2-27.
- Mares D.J., Marschner H. (1980) "Assimilate conversion in potato tubers in relation to starch deposition and cell growth" *BER. DTSCH. BOT. GES.* (93): 299-313.

- Marinus J., (1990). Tuberization of four potato cultivars under various day lengths and light intensities. 11TH Triennial Conference of the European Association for Potato Research: 107-108.
- Mauk C. S., Langille A. R., (1978). Physiology of tuberization in *Solanum tuberosum*: cis-zeatin riboside in the potato plant-its identification and changes in endogenous levels as influenced by temperature and photoperiod. *Plant Physiology* 62: 438-442.
- Menzel C. M., (1983). Tuberization in potato (*Solanum tuberosum* cultivar Sebago) at high temperatures: Gibberellin content and transport from buds. *Annals of Botany* 52: 697-702.
- Meynard J.M., Aubry C., Justes E., Le Bail M., 1997. In "Diagnosis of the nitrogen status in crops". Lemaire ed SpringerBerlin: 147-162.
- Meynard J.M., Cerf M., Guichard L., Jeuffroy M.H., Makowski D., 2001. Nitrogen, decision support and environmental management. 11th Nitrogen Workshop" INRA Reims (F) 9-12 settembre: 389-390.
- Midmore D.J. (1984) "Potato (*Solanum Spp*) in the hot tropics. 1. Soil temperature effects on emergence, plant development and yield" *FIELD CROPS RES* (6): 255-272.
- Midmore D.J., Mendoza H.A. (1984) "Improving adaptation of the potato (*Solanum Spp*) to hoto climates – some physiological consideration" *PROC 6th SYMP. INT. SOC. TROPICAL ROOT CROPS* 457-464.
- Mingo-Castel A.M., Negm F.B., Smith O.E. (1974) "Effects of carbon dioxide and ethylene on tuberization of isolated potato stolons cultured in vitro" *PLANT CELL PHYSIOL* (53): 798-801.
- Mingo-Castel A.M., Smith O.E., Kumamoto J. (1976a) "Studies on the carbon dioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured in vitro" *PLANT PHYSIOL.* (57): 480-485.
- Mingo-Castel A.M., Young R.E., Smith O.E. (1976B) "Kinetin-induced tuberization of potato in vitro: on the mode of action of kinetin" *PLANT CELL PHYSIOL.* (17): 557-570.
- Moorby J. (1970). The production, storage and translocation of carbohydrates in developing potato plants. *Ann. Bot.* (34):297-308.
- Murashige T. & Skoog F., (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Neeteson J.J., 1989. Assessment of fertilizer nitrogen requirement of potatoes and sugar beet PhD Thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

- Nitisch A., Varis E 1991. Nitrate estimates the nitrate test for precise N-fertilization during plant growth and, after harvest, for quality testing potato tubers. *Potato Research*, 34, 95-105.
- Obata-Sasamoto H., Suzuki H., (1979). Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators during tuberization of isolated potato stolon cultured in vitro. *Z. Pflanzphysiologie* 97: 1253-1255.
- Okazawa Y., 1960. Studies on the relation between the tuber formation of potato plant and its natural gibberellin content. *Proceedings of Crop Science Society of Japan* 29: 121-124.
- Olivier M., Goffart J.P. & Frankinet M., 2001. Two methods of quick assessment of potato crop nitrogen status: working frame and thresholds values leading to N-fertilizer supplement during growing season. 11th Nitrogen Workshop INRA Reims (F) 9-12 settembre: 503-504.
- Olivier M., Goffart J.P., Sinnaeve G. & Dardenne P., 1999. Evaluation of invasive and non-invasive methods to assess the nitrogen status of the potato crop in the course of the season. *Abstracts of EAPR Triennial Conference, Sorrento, Italy*: 134-135.
- Palmer C.E., Barker W.G. (1973) "Influence of ethylene and kinetin on tuberization and enzyme activity in *Solanum Tuberosum* L. stolons cultured in vitro" *ANN. BOT. (LONDON) [N.S.]* (37): 85-93.
- Palmer C.E., Smith O.E. (1969) "Cytokinins and tuber initiation in the potato *Solanum Tuberosum* L." *NATURE* (221): 279-280.
- Palmer C.E., Smith O.E. (1970) "Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum Tuberosum* L. cultured in vitro" *PLANT CELL PHYSIOL.* (11): 303-314.
- Pelacho A.M., Mingo-Castel A.M. (1991) "Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro" *PLANT PHYSIOL.* (97): 1253-1255.
- Peterson R.L., Barker W.G. (1979) "Early tuber development from explanted stolon nodes of *solanum tuberosum* var. Kennebec" *BOT. GAZ. (CHICAGO)* 140 (4): 398-406.
- Peterson R.L., Barker W.G., Howarth M.J., (1985). Development and structure of tubers. In *Potato Physiology* (Li, P.H., ed.). New York: Academic Press, 123-152.
- Ranalli P., Baschieri T., Vender C., Guarda G., Bizarri M., Govoni F., Bai P., Tassoni F., Ruaro G., Del Re P., Borghi L., Casarini B. (1994) "Ottimizzazione dell'uso di vitropianta, vitrotuberi e minituberi nella produzione di tubero seme pre-base" *SUPPLEMENTO ALL'INFORMATORE AGRARIO* (49): 15-20.
- Reynold P.M., Ewing E.E. (1989b) "Effects of high air and soil temperature stress on growth and tuberization in *solanum tuberosum*" *ANNU. BOT.* (64): 241-247.



- Rodrigues M.A., Coutinho J. And Martins F., 2001. Nitrogen management in the potato crop: characterization of nitrogen nutritional status indices. 11th Nitrogen Workshop” INRA Reims (F) 9-12 settembre: 517-518.
- Rossel G., Bertoldi F. G., Tizio R., (1987). In vitro mass tuberization as contribution to potato micropropagation . Potato Research, 30: 111-116.
- Rozbicki J. & Samborski S., 2001. 11th Nitrogen Workshop” INRA Reims (F) 9-12 settembre: 519-520.
- Sattelmacher B., Marschner H., 1979. Tuberization on potato plants as affected by application of nitrogen to the roots and leaves. Potato Research 22: 49-57.
- Sladky Z. & Bartosava L., 1990. “In vitro induction of axillary potato microtubers and improvement of their quality”. Abstract CIP – ISU Database AN35812; BiologiaPlantarum (Czechoslovakia) 32 (3): 181 – 188
- Snyder R. G., Ewing E. E., 1989. Interactive effects of temperature, photoperiod, and cultivar on tuberization of potato cuttings. Horticultural Science 24: 336-338.
- Stallnecht G. F., Farnsworth S., (1979). The effect of nitrogen of the coumarin-induced tuberization of potato axillary shoots of *Solanum tuberosum* cultured in vitro. Hortscience, 24: 336-338.
- Stallnecht G. F., Farnsworth S., (1982). General characteristics of coumarin induced tuberization of axillary shoots of *Solanum tuberosum* cultured in vitro. American Potato Journal, 59: 17-32.
- Struik P. C., Kerckhoffs L. H. J., 1991. Temperature effects on the development of shoots, stolons, tubers and roots in *Solanum tuberosum* L. cv. Bintje. Potato Res. 32:203-210.
- Struik P.C., Geertsema J., Custers C.H.M.G. (1989b) “Effects of shoot, root and stolon temperature on the development of the potato (*Solanum tuberosum*) plant. II. Development of stolons” POTATO RES. (32): 143-150.
- Struik P.C., Geertsema J., Custers C.H.M.G. (1989c) “Effects of shoot, root and stolon temperature on the development of the potato (*Solanum Tuberosum*) plant. III. Development of tubers” POTATO RES (32): 151-158.
- Struik P.C., Kerckhoffs (1991) “Temperature effects on the development of shoot, stolons, tubers and roots in *Solanum Tuberosum*” GEN. RES. EDUC.: CURRENT TRENDS AND THE NEXT FIFTY YEARS (IN PRESS).
- Thieme R., Pett B. (1982) “Production of tubers in vitro and their use in the establishment of a potato store” ARCH. ZUECHTUNGSFORSCH (12): 257-262.
- Tizio R. Biain M.M. (1973) “Are cytokinins the specific factors for tuber formation in the potato plants?” PHYTON (31): 3-13.

- Trucchi P., Falciai M., Ghinassi G., Papini R., Palchetti E. 2000, Influence of different levels of irrigation and nitrogen supply on potato (*Solanum tuberosum* L.) in a semi-arid environment. Accepted work for the 51ST IEC Meeting on Irrigation and Drainage (ICID), Workshop on Control of adverse impact of fertilizers and agrochemicals, Cape Town, South Africa, 25-26 Oct. 2000,
- Vecchio V., Benedettelli S., Andrenelli Luisa, Palchetti E. and Espen L., 2000. Inductive and noninductive conditions on in vitro tuberisation and dormancy in potato (*Solanum tuberosum* subspecies *tuberosum* and subspecies *andigena*). *Potato Research*. 43: 115-123.
- Vecchio V., Benedettelli S., Casini P., Andrenelli L., (1997). Tecniche non convenzionali per la produzione di tubero seme di patata (*Solanum tuberosum* L.). *Rivista di Agronomia*, 31, suppl.to 3: 3-13.
- Vecchio V., Benedettelli S., Pagano M. T., 1996. Effect of the interruption of nitrogen nutrition on potato vitro tuberisation (*Solanum tuberosum* L.). *Proceedings of 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research*. Veldhoven. 638 – 639.
- Vecchio V., Casini P., Ferraro S. G., Caligiuri M., (1991). Impiego di microtuberi di patata nel sistema di produzione del tubero seme. *L'Informatore Agrario* , 39: 35-40.
- Vecchio V., Ferraro S. G., (1990). Composizione, caratteristiche organolettiche e valore nutritivo della patata. Relazione presentata al convegno nazionale “Valore della dieta mediterranea. Qualità delle produzioni. Educazione alimentare nella scuola.” Cosenza, Ottobre 1990.
- Vecchio V., Marzi V., Dalla Costa L., Tedone L., Palchetti E., Andrenelli L., Lovatti L., 2002. Valutazioni sulla produzione di tuberi-seme di patata per colture fuori stagione. *L'Informatore Agrario*, 8: 11-115.
- Vecchio V., Palchetti E., Papini R., Trucchi P. Nitrogen management in irrigated potato crop: physiological and nutritional diagnostics tools. 11th Nitrogen Workshop 9-12 September 2001 Pag. 507, Reims, France.
- Vreughdenhil D., Struik P. C., 1989. An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum* 75: 525-531.
- Wang P. J., Hu C. Y., (1980). Regeneration of virus-free plants thorough in vitro culture. *Adv. Biochem Eng.*, 18: 61-69.
- Wang P.J., Hu C. Y. (1982) “In vitro mass tuberization and virus-free seed potato production in Taiwan” *AM. POTATO J.* (59): 33-39.

- Wang P.J., Li C. (1990) "The influence of light intensity on in vitro tuberization of potato (Solanum Tuberosum L.)" C.I.P. REGION VIII, WORKING PAPER, 90-12.
- Wattimena G.A. (1983) "Micropropagation as an alternative technology for potato production in indonesia" PH. D. DISSERTATION, UNIVERSITY OF WISCONSIN, MADISON.
- Wheeler R.M., Steffen K.L., Tibbitts T.W., Palta P. (1986) "Utilization of potatoes for life support in space, II. The effects of temperature under 24h and 12h photoperiods" AM. POTATO J. (63):639-647.
- Williams CMJ & Maier NA, 1990. Journal of Plant Nutrition 13: 985-993.