

PROGETTO 3S-ECONURSERY MISURA 16.2

Il vivaismo olivico è caratterizzato da due distinte fasi:

- la propagazione delle piante, che avviene esclusivamente attraverso la propagazione vegetativa (innesto e talea);
- allevamento in contenitore su substrato artificiale.

Il Progetto 3S-Econursery ha analizzato le necessità dei vivaisti olivicoli del comprensorio pesciatino (aziende CORIPRO di Pescia) e indirizzato le attività sperimentali sia nella fase di propagazione, cercando di utilizzare moderne tecnologie in grado di incrementare la radicazione in cultivar a difficile radicazione; sia nella fase di allevamento utilizzando nuove matrici per la formazione di substrati torba-free.

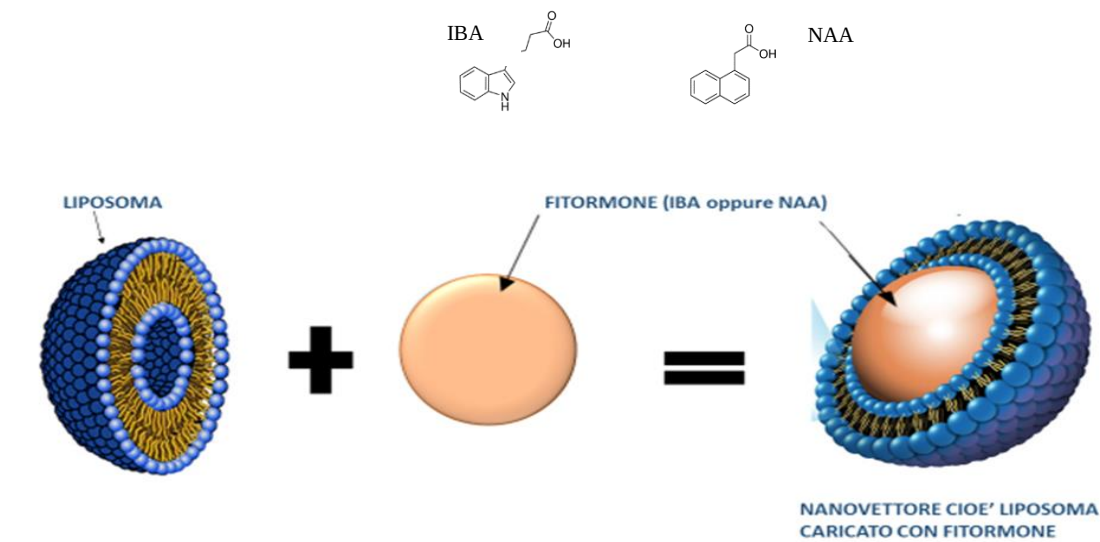
Attività realizzate e risultati (distinti per fase/azione)

Fase 2. Azione 2.3 “Preparazione e caratterizzazione delle microemulsions / solid lipid nanoparticles”.

Le nanotecnologie sono tutte quelle tecnologia utilizzare per progettare nuove strutture, materiali e sistemi sulla scala nanometrica (tra uno e 100 nm). Le nanoparticelle sono utilizzate in diversi campi; in agricoltura un database on line (<http://www.nanotechnology.org/inventories>) elenca circa 160 applicazioni delle nanotecnologie nell'agroalimentare, tra cui la formulazione di agro-farmaci. Questi sistemi consentono di inserire elevate quantità di “sostanze utili” in un piccolo volume, determinare un loro rilascio graduale che può essere modulato nel tempo. I nanovettori lipidici (liposomi) rappresentano i candidati migliori per la somministrazione di molecole. I liposomi sono vescicole formate da uno o più doppi strati fosfolipidici di composizione simile alle membrane biologiche. Per la loro elevata biocompatibilità e capacità di intrappolare sia molecole idrofiliche, nel core acquoso, che lipofile, nel doppio strato fosfolipidico, sono ampiamente studiati per il delivery di composti a basso peso molecolare e proteici. Possono favorire l'assorbimento del composto di cui sono caricati fondendosi con le membrane cellulari, oppure essere incorporati per endocitosi, a seconda della composizione o delle loro caratteristiche chimico-fisiche.

In collaborazione con il Dipartimento di Chimica 'Ugo Schiff' dell'Università di Firenze (Dot.ssa Ristori) sono stati progettati, nanosistemi a base lipidica per la somministrazione di fito-ormoni da utilizzare nell'attività vivaistica olivicola. I liposomi sono stati preparati utilizzando la sansa attraverso 2 sistemi di preparazione: campioni contenenti solo lipidi derivati dalla sansa; campioni contenenti lipidi di sansa più lipidi naturali purificati (DOPE e DOPC), che possono migliorare il rilascio dei fito-ormoni aggiunti. I fito-ormoni impiegati sono l'acido-indolo-3-butirrico (IBA) e l'acido α -naftilacetico (NAA). Le formulazioni ottenute sono state caratterizzate presso il Dipartimento di Chimica 'Ugo Schiff' dell'Università di Firenze (Dott. Ristori) Le indagine chimico-fisica dei sistemi ottenuti ha confermato che la procedura messa a punto permette di ottenere sistemi veicolanti di dimensioni nanometriche. Questa caratterizzazione è stata effettuata sia con tecniche di laboratorio standard, quali ad esempio Dynamic Light Scattering (DLS) e potenziale Zeta(ZP), che con strumentazione avanzata (SAXS, SANS) disponibile presso Large Scale Facilities europee. Queste ultime misure forniscono non soltanto la dimensione media e la distribuzione delle dimensioni, come il DLS o la carica superficiale degli aggregati, come lo ZP, ma danno informazioni strutturali più dettagliate. In particolare è stato possibile stabilire che i sistemi ottenuti da sola sansa contengono aggregati poco strutturati internamente, mentre l'aggiunta di lipidi helper quali DOPC e DOPE (anche in piccole proporzioni come 10% w/w), conferisce una struttura meglio definita. Nel caso di DOPC le strutture favorite sono liposomi monolamellari che tendono a diventare oligolamellari in seguito al caricamento con fito-ormoni, mentre il lipide DOPE, che ha un parametro di forma molecolare meno compatibile con i bistrati, tende a impartire al sistema la struttura di una fase esagonale.

Schema rappresentativo della preparazione di nanosistemi

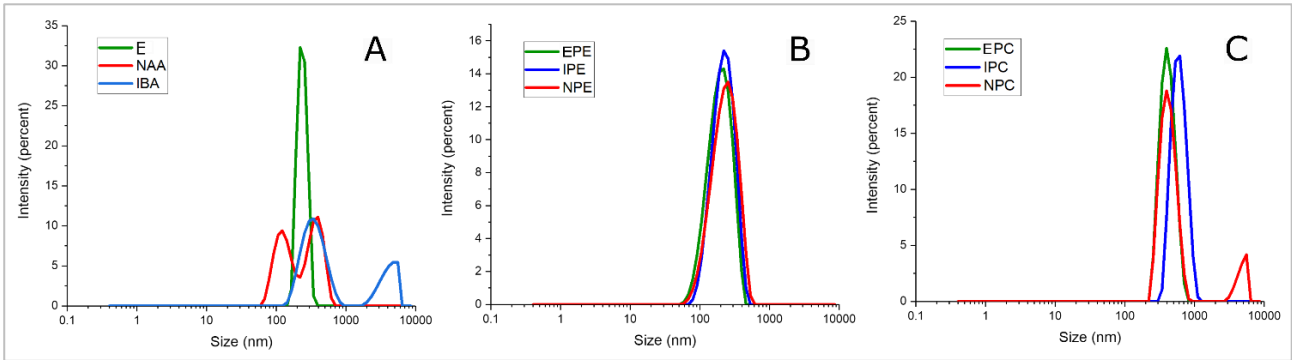


Caratterizzazione dei liposomi attivati

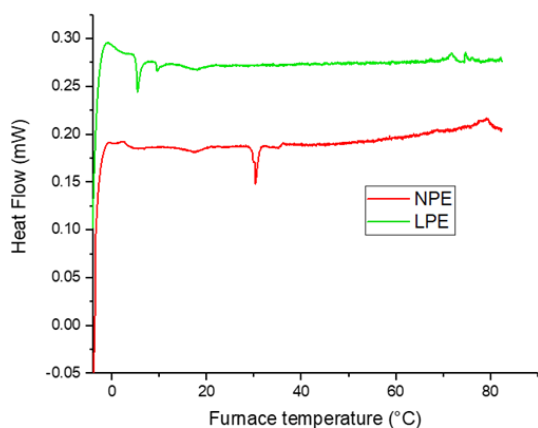
Zeta potential values for the three series of samples.

Only pomace series	ZP (mV)	PE series	ZP (mV)	PC series	ZP (mV)
E	-19.4	EPE	-22.4	EPC	-17.6
IBA	-16.3	IPE	-23.5	IPC	-13.4
NAA	-16.5	NPE	-23	NPC	-13.6

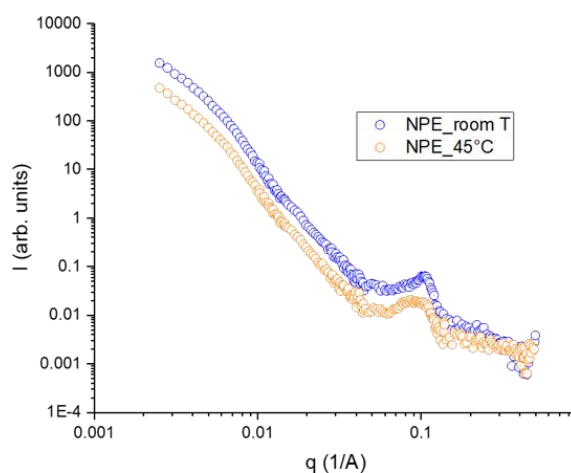
Size distributions



Calorimetria Differenziale a Scansione (DSC)



Scattering di Neutroni a Basso Angolo (SANS)

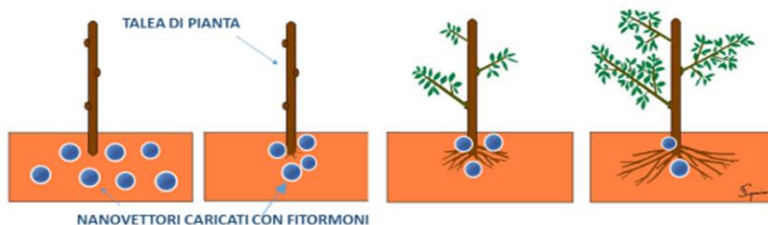


Applicazione dei liposomi *in vivo*

I nanovettori ottenuti sono stati utilizzati nella radicazione *in vivo* di 2 cultivar di olivo Leccino, a facile radicazione, Leccio del Corno, a difficile radicazione. I trattamenti con liposomi attivati con ormone (IBA e NAA) sono stati condotti *in vivo* nei vivai del CORIPRO (Vivaio Pietro Pacini) di Pescia, in vitro presso l'IVALSA-CNR.



Preparazione delle talee e trattamento



La sperimentazione *in vivo* è stata condotta in tre periodi: Gennaio 2018, Aprile 2018 e Agosto 2018 utilizzando 2 concentrazioni di ormone IBA e NAA (50 ppm e 200 ppm). Il controllo è stata la procedura standard utilizzata nei vivai olivicoli (IBA 4000 ppm per 3-4 sec)

La radicazione è stata osservata nella cultivar Leccino nei periodi di trattamento e si è registrata una significativa influenza del liposomi attivati nella percentuale di radicazione, nel numero di radici e nella loro lunghezza.

Effetto dei nanovettori attivati nella cultivar Leccino

Trattamento	Radicazione %	Radici numero (n)	Radici lunghezza (cm)
Gennaio 2018			
Standard	10		0.6-0.8
Liposomi IBA (50 ppm)	20		0.4-0.5
Aprile 2018			
Standard	10		
Liposomi IBA (200 ppm)	20	25	1.8-2.2
Liposomi NAA (200 ppm)	10	18	1.5- 1.7

Radicazione in vivo cv Leccino

Liposomi IBA (200 ppm)



Liposomi IBA+DOPE (200 ppm)

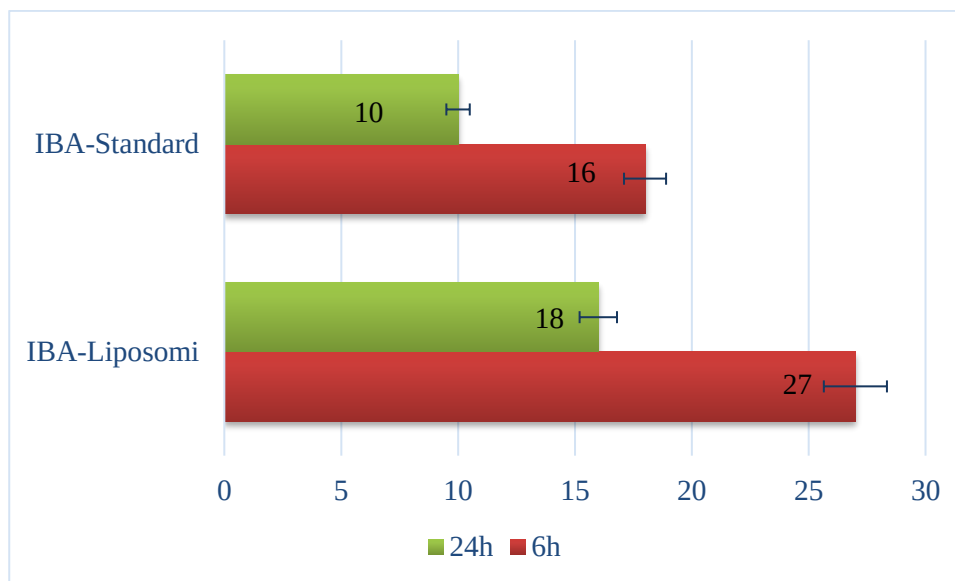
Applicazione dei liposomi *in vitro*

La sperimentazione *in vitro* è stata condotta sulla cultivar Canino, immergendo le microtalee nei nanovettori attivati con IBA per 6 e 24 ore. La procedura standard di radicazione *in vitro* è stata utilizzata come controllo (IBA-Standard).



Preparazione delle microtalee (Foto Carla Benelli)

Effetto dei nanovettori attivati nella cultivar Canino



Radicazione *in vitro*



IBA- Liposomi

IBA-Standard

Foto Carla Benelli

Sebbene i risultati siano preliminari è stato osservato sia *in vivo* sia *in vitro* una favorevole influenza dei liposomi attivati con IBA e NAA sul processo di radicazione delle talee di olivo.

L'uso di liposomi aggiunti di fito-ormoni ha reso più agevole la somministrazione e l'assimilazione dei principi attivi, aumentando il delivery della sostanza stessa e incrementandone sia la disponibilità che il tempo di rilascio, con conseguente riduzione della quantità stessa di ormone utilizzato. La scelta delle sanse ha un valore economico notevole perché si tratta di materiale a basso costo, compatibile con le piante da trattare e che di per sé presenta problemi di smaltimento.

I liposomi preparati sono stati caricati con alcuni monoterpeni e utilizzati in altre fasi del progetto.

Le nuove formulazioni, una volta standardizzate le procedure di produzione, hanno una significativa potenzialità per la somministrazione di molecole diverse (ormoni, fertilizzanti, farmaci, ecc.) in un contesto di un'agricoltura sostenibile

Fase 2. Azione 2.1 2.2 Formulazione di substrati di crescita

La sperimentazione condotta nell'azione 2.1 ha verificato la possibilità di utilizzare l'ammendante compostato verde e misto come substrato nel vivaismo olivicolo in sostituzione totale o parziale della torba.

Le attività sperimentali sono state condotte su 3 cultivar di olivo (Frantoio, Leccino e Maurino) presso le aziende del **CORIPRO** (Azienda Pietro Pacini, Azienda Molendi Luca e Azienda Giacomelli Sergio) di Pescia.

Sono stati utilizzati 2 ammendanti compostati verdi, S1 e S2, e un ammendante compostato misto, S3. S1 e S2 sono stati preparati dalla ditta "Società Agricola 58 di Orsini Marco & C di Collesalveti (LI) ed erano rispettivamente una miscela di torba e parti verdi (50%:50%) (S1) e 100% scarti verdi (S2). Le materie prime sono ottenute dai vivai di Pistoia e successivamente compostate per circa 16-18 mesi.

La terza matrice, proveniente dalla ditta Azienda Acea Ambiente, Monterotondo M.mo (GR), era costituito da scarti verdi e fanghi (rapporto 2:1) compostati per un periodo di 120-150 gg.

Sono state utilizzate 2 concentrazioni per ciascun ammendante in sostituzione della torba, 25% e 50% e confrontate con il substrato normalmente utilizzato nel vivaismo olivicolo, costituito in parti uguali di torba e pomice (50%:50%).

Protocollo della prova sustrati

Trattamenti a confronto

- Standard = torba:pomice 50:50
- S1 = ACV:torba:pomice 25:25:50
- S1= ACV:torba:pomice 50:0:50
- S2 = ACV:torba:pomice 25:25:50
- S2 = ACV:torba:pomice 50:0:50
- S3 = ACM:torba:pomice 25:25:50
- S3 = ACM:torba:pomice 50:0:50

Cultivar utilizzate

- Maurino
- Leccino
- Frantoio

Rilievi:

- Caratteristiche chimiche e fisiche dei substrati ad inizio e fine prova.
- Parametri di crescita delle piante (peso fresco, peso secco, numero di foglie, altezza pianta).

Fasi di allevamento in vivaio



Parametri di crescita delle cultivar Frantoio e Maurino allevate su differenti substrati

	Frantoio			Maurino		
	Lunghezza asse principale (cm)	N secondari (n)	Lunghezza assi secondari (cm)	Lunghezza asse principale (cm)	N secondari (n)	Lunghezza assi secondari (cm)
S2 (25%)	104.8	9	110.6	69.2	7	64.4
S2 (50%)	103.2	9	131.5	66.2	2	37.6
S3 (25%)	96.08	9	96.8	63.7	5	50.6
S3 (50%)	88.8	8	90.3	64.1	5	46.4
Controllo	91.4	5	102.4	62.6	3	48.2

Piante di olivo in vivaio



Apparati radicali di piante di olivo



I substrati S1 e S2 (ACV) hanno presentato una bassa salinità e idonee caratteristiche chimico-fisiche sufficienti per favorire la crescita delle piante di olivo

Il substrato S3 ha fatto registrare un imbrunimento dell'apice delle foglie più vecchie, causato probabilmente dalla salinità, problema risolto in seguito alla normale irrigazione.

Le determinazioni relative ai parametri vegetativi non hanno messo in evidenza variazioni di crescita fra le piante allevate nei differenti substrati rispetto al controllo. Solo il compost 3 ha fatto registrare un imbrunimento dell'apice delle foglie più vecchie, causato probabilmente dalla salinità, problema risolto in seguito alla normale irrigazione.

Le piante prodotte hanno mantenuto un performance soddisfacente, indicando che le miscele utilizzate (ammendante compostato verde e/o ammendante compostato verde e misto) posso sostituire la torba nei substrati per le piante di olivo con un risparmio dei costi di produzione e la possibilità di commercializzare piante "peat-free".

Indicazioni e opportunità per le aziende vivaistiche olivicole

Il Progetto 3S-Econursery ha analizzato le principali criticità del vivaismo olivicolo cercando di dare risposte di innovazione e miglioramento del sistema. I risultati ottenuti, in particolare, nelle azioni 2.1 e 2.2 hanno messo in evidenza l'idoneità degli ammendanti compostati verdi e/o misti nella preparazione di substrati di crescita. L'introduzione di questa tipologia di matrice può modificare la produzione dei vivai olivicoli favorendo l'introduzione di tecnologie capaci di ridurre i costi di produzione e realizzare sistemi produttivi maggiormente eco-compatibili utilizzando substrati peat-free.