

BIOTECNOLOGIE AGRARIE
BASATE SUI CONSORZI MICROBICI
PRIME OSSERVAZIONI AGRONOMICHE E QUALITATIVE

MEMORIA DELL'ACCADEMICO ORDINARIO

GIORGIO MASOERO* e di GIUSTO GIOVANNETTI

presentata all'Adunanza del 20 luglio 2011

RIASSUNTO

L'impiego di funghi endomicorrizanti e del consorzio microbico brevettato Micosat F (MF) è stato verificato su alcune delle principali colture agrarie, nella duplice prospettiva di risultato quantitativo e di qualità finale espressa negli organi epigei. L'aumento produttivo è stato mediamente pari a : +19 % nel mais trinciato, +12 % nelle spighe con brattee; +6,4 % nella granella; +13 % nel frumento; +11 % nel pomodoro (+ 6 % nella massa del frutto); +11 % nel cetriolo; la differenza nello sviluppo delle piante di ulivo +8÷+20 %; nulla nel melone. L'esame rapido ai raggi UV-Vis-NIR da 350 a 2500 nm delle foglie, delle parti florali e dei frutti, associato all'analisi rapida con un Naso Elettronico (NE) per un totale di oltre 1400 analisi, ha dimostrato che le colture sottoposte al trattamento microbico si differenziano dai testimoni, entro ciascun campo, con coefficienti R² da 0,40 a 0,70, ma con oscillazioni fra le diverse specie e prove. Il mais da foraggio e da granella, le coltivazioni di erbe aromatiche, la camelia, il melo (fiori e foglie), il melone, il cocomero, la loiessa, l'avena e il trifoglio reagiscono fortemente al trattamento microbico. Il pomodoro è specie mediamente rispondente, mentre in una prima prova la medica e la vecchia sono apparse poco rispondenti al NE. In alcuni studi l'anticipazione fornita dalle analisi rapide con NIR e NE è stata pienamente confermata da analisi chimiche approfondite. Nel caso del moderno frumento 'Blasco' trattato con MF, un risultato sorprendente, bene anticipato dal NE, è emerso da una prova di panificazione valutata mediante analisi sensoriale che ha giudicato il pane prodotto con la farina di 'Blasco' trattato, buono come il pane sfornato con l'antica cultivar 'Sieve', assimilabile ad 'Inallettabile' e 'Gentil Rosso', ma affatto superiore al 'Blasco' testimone e al pane comune.

SUMMARY: *Agronomical and qualitative preliminary results of microbial consortiums*

The use of arbuscular endomycorrhizal fungi (AM) and of the patented microbial consortium Micosat F (MF) was observed on some major crops on a double perspective, to measure the quantitative response and in terms of final quality, expressed in the epigeal parts. The quantitative response on average was : +19 % in cut up; +12 % in spikes with bracts and +6,4 % in grains of the maize; +13 % in wheat grain; +11 % in total yield of tomato, due to +6 % of the fruit mass; +11 % in cucumber; +8 to +20 % in the development of the olive trees; null in melon a normal mycotrophic species. The rapid scan by UV-Vis-NIR rays from 350 to 2500 nm of the leaves, flower and fruit parts, associated to a rapid examination by an Electronic Nose (EN), for a total of more than 1400 analyses revealed that the cultures

*E-mail: giorgio_masoero@alice.it

submitted to the microbial treatments appeared different from the control samples, with R^2 values from 0.40 to 0.70 but with oscillations between the different species and run-test. The maize for forage and grains, the aromatic plants, the camellia, the apple (flowers and leaves), the melon, the water melon, the ryegrass *Lolium*, the oat and the clover are strongly responsive to microbial treatment. The tomato was medium respondent while the alfalfa and the vetch were lowly respondent, in a first EN test. In some cases the results of the rapid methods were fairly corroborated by fine chemical analyses. In a special case the modern wheat 'Blasco' treated by MF gave a surprising result, well predicted by the EN, in a bread-making test: the trained panel appreciated the bread from the treated 'Blasco' flour as being very similar and good as the bread obtained from the 'Sieve', an ancient wheat, which appeared quite similar to the 'Inallettibile' and 'Gentil Rosso' ancient wheats, most appreciated compared to the 'Blasco' control and to the ordinary bread.

RÉSUMÉ: *Premiers résultats agronomiques et qualitatifs de l'emploi de consortiums microbiens*

L'emploi de mycètes endomycorhizants (AM) et du consortium microbien breveté Micosat F (MF) a été suivi sur quelques unes des cultures principales dans une double perspective : mesurer la réponse en termes de quantité et de qualité finales exprimées dans les parties aériennes. La réponse quantitative en moyenne a été: +19 % pour le maïs haché, +12 % pour les épis avec bractées et +6,4 %, pour les graines du maïs; +13 % pour le blé; +11 % comme production totale de tomates, en raison du +6 % pour la masse du fruit; 11 % chez le concombre; de +8 à +20 % comme développement des oliviers; nul chez le melon, espèce normalement mycotrophique. L'examen rapide aux rayons UV-Vis-NIR de 350 à 2500 nm des feuilles, des parties florales et des fruits, en association avec un Nez Electronique (NE), sur un total de plus que 1400 analyses rapides, a démontré que les cultures soumises au traitement microbien paraissent se différencier des échantillons témoins par un coefficient R^2 de 0,40 à 0,70 avec des oscillations entre les différentes espèces et essais. Le maïs, les espèces aromatiques, le camélia, le pommier (fleurs et feuilles), le melon, la pastèque, le ray-grass (*Lolium*), l'avoine et le trèfle répondent fortement aux traitements. La tomate paraît une espèce moyennement répondante tandis que la luzerne et la vesce répondent très peu, du moins au premier test par NE. Dans certaines études, l'anticipation fournie par l'analyse rapide par NIR et par NE a été entièrement confirmée par les études chimiques complètes. Dans le cas du blé moderne 'Blasco' traité par le MF un résultat surprenant, bien anticipé par le NE, a émergé de l'analyse sensorielle qui a considéré le pain fait avec de la farine de 'Blasco' traité aussi bon que le pain cuit au four de l'ancienne 'Sieve', équivalent aussi à 'Inallettibile' et 'Gentil Rosso', et très apprécié par rapport au 'Blasco' témoin et au pain ordinaire.

1 - PREMESSA

Alla fine dell'Ottocento (1897) la Bayer, che allora si chiamava Fabenfabriken Vorm, Friederic Bayer & Co di Eberfeld, iscrisse al Registro Tedesco dei fertilizzanti, col nome commerciale ALINIT, un prodotto nuovo, a base di *Bacillus subtilis*, che permetteva di aumentare la produzione del grano fino al 40 % (Kilian *et al.*, 2000). La prima rivoluzione colturale fu determinata dall'uso dei concimi azotati ottenuti con la tecnologia di sintesi dell'ammoniaca, brevettata nel 1909 da Haber e Bosch; secondo Standage (2009) la concimazione azotata ha salvato la vita di almeno 4 miliardi di persone. La seconda rivoluzione colturale fu basata sul miglioramento genetico dei cereali, iniziato in Italia negli anni '20, che fu denominata "verde" da William Gaud (1968); essa ha consentito di incrementare le produzioni mondiali con ritmo superiore a quello demografico e valse il Premio Nobel per la Pace 1970 a Norman Borlaug, genetista americano, primo ibridatore di frumento nel

Messico, che divenne divulgatore della nuova metodica in tutto il mondo (Hesser, 2006).

Trascorso un secolo dall'esordio di ALINIT, negli USA il *Bacillus subtilis* venne usato come conciante del seme con registrazione per sette colture ed applicato a più di 2 milioni di ha. In Germania, FZB24® *Bacillus subtilis* è stato utilizzato commercialmente dal 1999, principalmente per la concia della patata; sperimentazioni agronomiche hanno rilevato incrementi produttivi del 6,5 e 8,7 % a seguito di trattamento radicale e fogliare (Kilian *et al.*, 2000). Questo è stato l'avvio di una nuova rivoluzione colturale basata sulle biotecnologie microbiche applicate alla rizosfera e in prospettiva applicabili alla fillosfera: è appena l'esordio della *Blue revolution*, che valorizzerà inimmaginabili risorse dell'agricoltura mondiale.

Ad oggi sono già disponibili osservazioni agronomiche e qualitative realizzate in Italia su alcune colture erbacee, a seguito di applicazioni di Micorrize e di Consorzi microbici più elaborati.

2 - IL MICOSAT F (MF)

L'agricoltura biologica considera l'intero ecosistema agricolo, sfrutta la naturale fertilità del suolo favorendola con interventi limitati, promuove la biodiversità dell'ambiente in cui opera ed esclude l'utilizzo di prodotti di sintesi (salvo quelli specificatamente ammessi dal regolamento) e di organismi geneticamente modificati. L'attuale evoluzione della PAC verso un c.d. *greening*, per quanto ancora disarticolato e fortemente burocratico esso sia, intende chiaramente valorizzare questa filosofia che mira ad un diverso modo di coltivare le piante e allevare gli animali. In quest'ottica opera, da un trentennio ormai, la CCS Aosta S.r.l., piccola azienda situata in Comune di Quart, alle porte di Aosta. La CCS Aosta è un'impresa agricola e biotecnologica privata iscritta all'Anagrafe Nazionale Delle Ricerche (art. 63 e 64 del D.P.R. 11 Luglio 1980, 383) con il numero: N° 53949 UFF. L'azienda produce microrganismi per l'agricoltura e per le bonifiche ambientali da inquinamenti diffusi, attraverso l'impiego di micorrize e batteri della rizosfera. La gamma di prodotti così realizzata prende il nome di "Micosat F" (MF). Per poter iscrivere tale prodotto alla categoria "fertilizzanti", CCS Aosta ha fatto aprire la finestra "inoculo di funghi micorrizici" all'interno della categoria fertilizzanti. Inoltre gli inoculi micorrizici vengono classificati come fertilizzanti utilizzabili in agricoltura biologica.

Nel 2008 la CCS Aosta S.r.l ha ricevuto la Menzione Speciale per la Migliore Cooperazione Internazionale, Premio Impresa Ambiente promosso dal Ministero Ambiente e Tutela del Territorio, dal Ministero delle Attività Produttive e dall'Union Camere e Camera di Commercio di Roma per il progetto "Mycor" di cooperazione internazionale che prevedeva l'utilizzo dei consorzi microbiologici sulle tre più importanti colture della Regione di Lougà (Senegal).

Nel 2010 la CCS Aosta ha ricevuto il premio "Innovazione dell'Anno"

nella Categoria “Nutrizione delle Piante” per la linea di prodotti Micosat F®. Tale premio è stato conseguito a seguito di una ricerca di mercato su una pre-selezione di prodotti innovativi, condotta da “Agri2000” su 1.200 imprese agricole tra settembre e ottobre 2010, con successiva selezione dei vincitori finali da parte di un Comitato Tecnico.

Il prodotto brevettato come MF è una combinazione di microrganismi micorrizanti del genere *Glomus*, di batteri c.d. *helper* appartenenti ai generi *Pseudomonas* e *Bacillus*, di Attinomiceti del genere *Streptomyces* e di funghi saprofiti del genere *Trichoderma*. La somministrazione del prodotto avviene per via radicale, nelle piante erbacee per concia del seme o mediante microgranulatore, nelle arboree per inzaffardatura in vivaio oppure anche, nelle piante adulte, per contaminazione di radici trattate meccanicamente.

3 - MATERIALI E METODI

Nel corso di una pluriennale collaborazione fra la CCS Aosta e il Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA) di Zootechnia, sedi di Torino e di Caramagna Piemonte (Az. Il Merlino), si sono acquisite conoscenze sul mais, relative sia alla pratica agronomica sia alle caratteristiche qualitative, sinteticamente rilevate con due metodi rapidi: il NIRS a fibre ottiche e portatile (LabSpec.PRO, ASD) e il Naso Elettronico (NE, PEN2, Airsense). In alcuni casi la determinazione rapida di biovariabilità fra gruppo testimone (T) e gruppo trattato con MF è stata sottoposta a verifica mediante analisi chimiche convenzionali. Nel presente lavoro il termine “micorrizzato” verrà usato impropriamente, in quanto non è stato dimostrato da *test* radicali a sensibilità e specificità note, che una simbiosi con i *Glomus* disseminati sia effettivamente avvenuta.

È soprattutto grazie a questi risultati che la collaborazione fra CCS Aosta e il CRA è proseguita nel Progetto nazionale “AMICO” teso alla valutazione agronomica e zootecnica delle colture principalmente destinate all'alimentazione di animali da carne e da latte. In questa revisione delle conoscenze agronomiche, grazie ai contributi scientifici di vari Enti di Ricerca ed Università, è possibile aprire una finestra sul panorama del miglioramento quantitativo, con proiezioni sulle modificazioni qualitative ed aromatiche, delle derrate ottenute da alcune coltivazioni agricole trattate con i microrganismi.

4 - RISULTATI QUANTITATIVI

4.1 - Mais pianta intera e spiga con brattee

I rilievi sono stati effettuati in campo, in quattro repliche di cinque metri ognuna, determinando la massa della parte epigea delle piante recise al colletto e delle spighe verdi rivestite di brattee. In due anni sono stati eseguiti 18 confronti MF verso T (tab. 1). La produzione (pianta intera) è stata mediamente pari a $24,0 \pm 5,3$ kg per T verso $28,5 \pm 7,4$ kg per MF (+19 %, $P < 0,03$).

Tab. 1 - Risultati quantitativi sul mais: massa della pianta intera e delle spighe vestite di brattee (T = testimone; MF = Micosat F).

	Piante intere (kg·5m ⁻¹) (n°=11 cfr.)				Spighe vestite (kg·5m ⁻¹) (n°=18 cfr.)			
	T	MF	Prob	$\frac{\Delta}{MF \cdot T^{-1}}$ (%)	T	MF	Prob	$\frac{\Delta}{MF \cdot T^{-1}}$ (%)
Media	23,98	28,50	0,03	+ 19	9,54	10,73	0,05	+12
± ds	5,35	7,39		19	1,53	2,0		18
cv (%)	22 %	26 %			16 %	21 %		

La produzione in spighe con brattee è stata mediamente pari a $9,5 \pm 1,5$ kg per T ed a $10,7 \pm 2,2$ kg per MF, con aumento relativo del 12 % ($P < 0,05$). Riguardo alla sostanza secca, in una prova condotta nel 2008 al Merlino con due trincee gemelle, l'insilato del mais T risultò maggiormente umido rispetto al trattato (68,6 vs 60,5 %).

4.2 - Mais granella (14 % di umidità)

L'incremento apportato dalla concimazione microbica sulla granella raccolta in 24 parcelloni di 1600 m² (tab. 2) è stato in media del 6,4 % ($P < 0,0005$), con deviazione standard elevata ($\pm 3,0$ %), dunque con un coefficiente di variabilità (CV) del 47 % (Marocco, 2011).

Il CV delle pesate di granella oscilla intorno al 12 % ed è dunque nettamente inferiore al 30 % delle piante intere e al 20 % delle spighe verdi. Una prova di ridotta concimazione (Marocco, 2010) ha confrontato sette tesi (tab. 3). L'efficienza di utilizzo dell'azoto (EA), espressa in kg di mais (kgMais) per kg di azoto (kgN) impiegato, evidenzia che la tesi MF ha incrementato dell'8,5 % la produzione (tab. 3), con una EA di 77 di poco inferiore a quella di 85 ottenuta dall'impiego di azoto-ritardato.

Tab. 2 - Produzione (t·ha⁻¹) di granella di mais nel testimone (T) e nel trattato con concimazione microbica (M) in prove realizzate dal Podere Pignatelli nel 2009-2010. Probabilità secondo il test di Friedman.

n°=12 cfr.	T	MF	$\frac{\Delta}{MF \cdot T^{-1}}$ (%)
Media	13,8	14,7	+6,4
± DS	1,8	1,8	3,0
Cv	13 %	12 %	47
Prob <		0,0005	

Tab. 3 - Produzione di granella di mais (Prod: t ha⁻¹ al 14 % umidità) e di efficienza azotata (EA = kgMais • kgN⁻¹) nella prova di concimazione con e senza uso del MF.

Tesi	Tipo	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Prod (t•ha ⁻¹)	Δ Prod Tipo • T ⁻¹	EA	Δ EA Tipo • T ⁻¹
1	T- Testimone	200	50	100	14,40	0,0 %	72	0 %
2	N- ridotto	170	50	100	13,54	-6,0 %	80	+8 %
3	N-Organico	200	50	100	14,17	-1,6 %	71	-1 %
4	N-Ritardo	174	35	70	14,76	2,5 %	85	+13 %
5	K-zero	205	78	0	12,85	-10,8 %	63	-9 %
6	MF-Micosat F	203	56	112	15,62	8,5 %	77	+5 %
7	N-Ritardo	178	56	112	13,72	-4,7 %	77	+5 %

4.3 - Frumento

Su di un prato stabile dissodato del parco di Racconigi, Migliorini *et al.* (2011) hanno impostato una prova di coltivazione biologica a blocchi randomizzati (tre ripetizioni) nella quale alcune antiche cultivar di frumento sono state poste a confronto con la moderna cultivar 'Blasco', quest'ultima con e senza trattamento con MF. I risultati medi delle nove parcelle di 'Blasco' (tab. 4) evidenziano che nella tesi trattata (MF) il numero di piante per parcella è inferiore dell'11 % (P<0,03) e le piante hanno raggiunto un'altezza minore del 2 % (P<0,1); riscontri positivi sono emersi per l'indice di accestimento, incrementato del 17 % (P<0,003), per la massa finale, aumentata del 15 % (P<0,003) di cui un +13 % per la granella (P<0,02).

Tab. 4 - Risultati della prova di coltivazione di frumento 'Blasco' con e senza uso di MF, dati parcellari (0,25 m²), N = 9 cfr, probabilità secondo il test di Friedman.

Rilievo	T		MF		Prob	Δ MF • T ⁻¹
	Media	ds	Media	± DS		(%)
Altezza (m)	0,717	3,2	0,701	2,3	0,1	-2
Piante (n°)	19,0	6,.	17,0	6,5	0,03	-10,5
Culmi (n°)	109,3	27,3	113,0	31,0	0,16	3
Indice di accestimento	6,1	1,7	7,1	2,3	0,0027	17,1
Massa totale (t ha ⁻¹)	12,3	3,3	14,1	2,9	0,0027	15,2
Produzione (t ha ⁻¹)	5,6	1,6	6,3	1,4	0,02	13,0

4.4 - Pomodoro

Uno studio decennale di rotazione orticola biologica con uso di Micosat F (Campanelli *et al.*, 2009) ha evidenziato un incremento della sostanza organica nel terreno passata da 1,11 % a 1,50 % con un incremento di carbonio organico di 2,27 g per kg di terreno. Nella rotazione convenzionale si è invece

verificata una leggera diminuzione della sostanza organica passata da 1,21 % a 1,16 %. I dati raccolti hanno messo in luce un incremento nella produzione intorno al 10 % con MF. In uno studio più articolato sulla cultivar ibrida (F₁) 'Faino' (Syngenta) si è riscontrato che il trattamento con MF o con le sole *Arbuscular Mycorrhizae* (AM) del genere *Glomus* non ha interagito con i livelli irrigui V0, V50 e V100, mentre le due tesi micorrizzate artificialmente non si sono differenziate tra loro e sono risultate significativamente più produttive verso T (tab. 5), con incrementi medi di 7,8 t ha⁻¹, per la massa totale del raccolto (+11 %) e di 5,9 g per bacca (+6 %).

Tab. 5 - Risultati di prove di coltivazione di pomodoro con e senza uso di MF o uso di sole AM (Arbuscular Mycorrhizae).

Gruppi	Pomodoro al trapianto			Metà ciclo			Fine ciclo		
	Massa secca radici (g)	Superficie foglie (cm ²)	Massa secca epigea (g)	Altezza (m)	Biomassa secca epigea (g • m ²)	LAI (m ² m ⁻²)	Produzione totale (t • ha ⁻¹)	Produzione grappoli per pianta (n°)	Massa media (g)
T - Testimone	67,8	20,1	144,9	0,588	292,6	2,9	74,3	18,9	84,5
MF	121,6	43,8	301,5	0,622	334,7	3,4	82,5	20,2	90,4
AM	124	42,2	301,9	0,647	326,2	3,3	81,7	20,3	88,5
(MF&AM) • T ⁻¹	81 %	114 %	108 %	8 %	13 %	16 %	11 %	7 %	6 %

È interessante rilevare la dinamica del differenziale di crescita: in vivaio le piante trattate hanno espresso una fortissima precocità, testimoniata dal raddoppio della biomassa al trapianto rispetto al testimone; la differenza si è poi ridotta intorno al 13 % a metà ciclo. Sulle bacche peraltro non sono state rilevate differenze per le caratteristiche commerciali: solidi solubili (°Brix), sostanza secca e consistenza.

4.5 - Cetriolo

Colla *et al.* (2009) hanno sperimentato l'effetto di un inoculo commerciale contenente spore di *Glomus intraradices* su cetriolo (cultivar 'Ekron') coltivato su sabbia, in ambiente alcalinizzato (pH 7,8) o normale (pH 6,0). I risultati produttivi hanno evidenziato un incremento dell'11 % nelle piante trattate a causa dell'incremento nella massa media dei frutti. Nessuna differenza, statisticamente significativa, è stata riscontrata nel contenuto di sostanza secca, pH ed acidità titolabile dei frutti.

4.6 - Ulivo

L'influenza positiva delle micorrize è stata dimostrata sperimentalmente sia su talee di ulivo in radicazione (Di Marco *et al.*, 2002), che durante la loro crescita in vivaio (Citernesi *et al.*, 1998). Briccoli Bati e Godino (2002) hanno condotto esperimenti su giovani piante impiegando substrato sterilizzato in autoclave. L'inseminazione di 25 spore di micorrize del genere *Gigaspora sp.*

ha promosso un forte lussureggiamento dei germogli e del sistema radicale. In seguito gli AA hanno ripetuto l'esperimento includendo una tesi di terreno non sterilizzato; al rilievo realizzato dopo 23 mesi il peso secco delle radici delle piantine inoculate con *Glomus viscosus* su terreno sterile è risultato in media del 30 % superiore rispetto al terreno naturale, e di dieci volte rispetto al terreno sterilizzato e non inoculato.

In un'ulteriore prova su cinque cultivar (Tataranni *et al.*, 2009) il testimone è stato posto a confronto con il gruppo trattato con Micosat F e con due gruppi inoculati con soli AM (*Glomus intraradices* e *Glomus spp.*). Al termine di 18 mesi tutte le tesi inoculate hanno mostrato accrescimenti dall'8 al 20 % maggiori rispetto al testimone; il *Glomus intraradices* ha fornito i migliori risultati.

4.7 - Melone

Secondo Campanelli e coll. (2009) le prove di inoculo del terreno con MF, su melone, non hanno dato risultati produttivi significativi in quanto tale pianta è normalmente micotrofica.

5 - RISULTATI QUALITATIVI

L'elaborazione chemometrica dello spettro elettromagnetico fra 350 e 2500 nm o dei tracciati NE consente di calcolare un coefficiente discriminante R^2 (calcolato in validazione incrociata con metodo MPLS, software WinISI) fra i testimoni (T) e i trattati (MF).

Tale coefficiente va da zero a uno e può assumere due significati statistici distinti, a seconda che si intenda stabilire la significatività di differenze fra le medie dei due gruppi, oppure s'intenda stimare con precisione i singoli campioni. Un valore di R^2 intorno a 0,5 indica una differenza consistente fra le medie dei due gruppi a confronto, con una limitata sovrapposizione dei singoli campioni; va osservato che questo indice, essendo quadratico, non indica polarità della differenza (un gruppo non è migliore dell'altro) esso rappresenta solo la differenza globale; spetterà alle analisi tradizionali dare un senso concreto alle differenze; dunque il metodo rapido fornisce soltanto indicazioni preliminari.

Quando si confrontino più di due gruppi si procede alla costruzione della matrice delle distanze fra i gruppi, la cui diagonale è zero (ogni gruppo ha distanza zero da sé stesso) e da questa matrice può essere calcolato un dendrogramma (*cluster*) che esprime le relazioni reciproche fra le medie dei gruppi, in uno spazio bidimensionale.

5.1 - Frumento

Con riferimento alla prova precedentemente citata (tab. 4), i valori dei rilievi fogliari con NIR in campo risultano essere strettamente correlati alla massa totale della parcella (R^2 0,80; fig. 1).

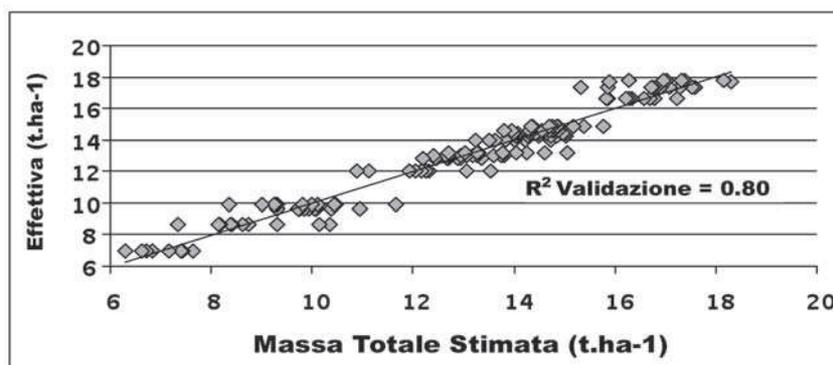


Fig. 1 - Stima della massa della pianta alla mietitura a partire da NIR fogliare in campo.

In due prove il metodo rapido NIR è stato applicato a tre diverse parti della pianta (tab. 6). L'effetto MF verso T è nettamente manifesto nel fusto, con differenze rispettivamente pari a 0,70 e 0,63. Nelle radici la differenza è apparsa ugualmente elevata (0,81 e 0,46). L'analisi NIR delle spighe vestite ha indicato differenze meno consistenti.

Tab. 6 - Risultati del confronto fra MF e T (R^2) in base allo spettro NIR di varie parti della pianta di frumento alla mietitura: (n = numero di letture eseguite).

Parte esaminata dal NIR	Prova 1		Prova 2	
	n°	R^2	n°	R^2
Fusti	17	0,63	15	0,70
Spighe vestite	20	0,24	18	0,17
Radici	20	0,46	20	0,81

La prova di panificazione con antiche cultivar di frumento poste a confronto con 'Blasco' testimone e con una farina media di riferimento ha evidenziato (fig. 2) che la farina di 'Blasco', cultivar recente e più produttiva, quando viene trattata con MF ha un comportamento analogo alle cultivar antiche, malgrado la maggiore produzione.

I dati ottenuti con l'impiego del NE (a sinistra) evidenziano una netta separazione in tre gruppi: uno, molto distanziato, per il 'Blasco' testimone e la farina di riferimento (come atteso); uno per 'Gentil Rosso' e 'Inallettabile'; un terzo gruppo per 'Blasco' micorrizzato e 'Sieve'. Le distanze sono assai elevate e consentono una caratterizzazione dei singoli campioni. Secondo l'analisi sensoriale (fig. 2 a destra) esistono tre gruppi principali: si conferma così la somiglianza fra il 'Blasco' non micorrizzato e la farina di riferimento. Il 'Gentil Rosso' si avvicina all' 'Inallettabile'. Il 'Blasco Micorrizzato' si approssima al 'Sieve' ed entrambi sono nettamente separati dalle altre 4 tesi. In questo caso, grazie alla valutazione sensoriale, è possibile dichiarare non soltanto la diversità fra i gruppi ma anche la superiorità qualitativa del 'Blasco' MF verso T.

5.2 - Mais

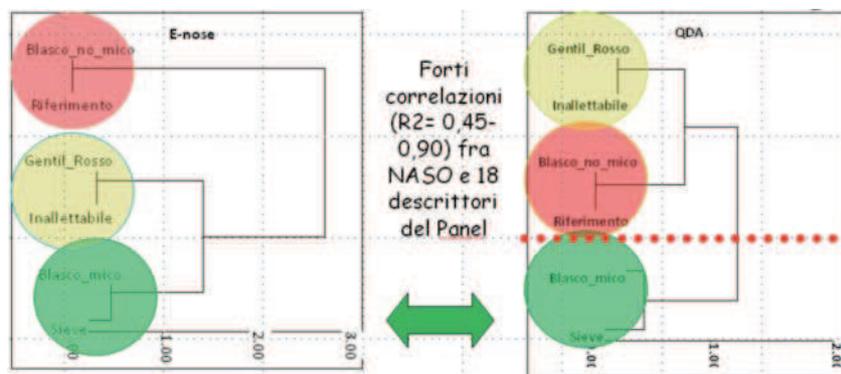


Fig. 2 - Dendrogramma medio dei 6 gruppi di pane in base all'esame del NE e all'analisi sensoriale.

In seguito alle prove di campo già riferite (tab. 1) si sono indagati 850 campioni ricavati da varie parti della pianta. Il NIR della brattea ha dimostrato la maggiore differenza R^2 (0,63) seguita dal NIR della spiga verde (0,50) e della farina (0,32) (tab. 7). Il NE ha differenziato MF e T con valore R^2 pari a 0,53. Tutti questi valori sono indicatori di sostanziali differenze fra le piante trattate e testimoni, per composti sia primari sia secondari (Bartolini, 2008).

Tab. 7 - Risultati del confronto fra MF e T (R^2) in vari tessuti di mais.

	NIR Brattea	NIR Spiga	NIR Farina	NE Farina	Tot/media
Scansioni (n°)	301	283	120	146	850
R^2	0,63	0,50	0,32	0,53	0,49

5.3 - Pomodoro

In collaborazione con tre produttori e con il CRA-ORA di Monsanpolo (Campanelli *et al.*, 2009) sono stati esaminati, tramite NIR e NE, 209 campioni di bacche, foglie e radici derivanti da piante di pomodoro trattate con MF e T ottenuti da quattro prove (tab. 8). Il metodo NIR mostra variabilità nella discriminazione con reazioni al trattamento mediamente inferiori sulle bacche (da 0,02 a 0,44) che sulle radici (0,18 e 0,31) e sulle foglie (0,18-0,48). I composti secondari sembrano invece esprimersi meglio con il NE (0,35 nella Prova 1 ed ancora 0,32-0,35 in altre 2 Prove) ma soprattutto nelle foglie (0,67). Anche l'effetto di tre livelli irrigui applicati al pomodoro è stato evidenziato dal NIR sulle bacche (0,57) e sulle radici (0,48).

Tab. 8 - Risultati del confronto fra MF e T (R^2) in vari organi di pomodoro.

Organi	Prove	NIR	NE
Bacche	1	0,17	0,35
	2	0,02	0,33
	3	0,48	
	4		0,32
Foglie	1	0,42	0,67
	2	0,18	
	3	0,44	
Radici	1	0,18	
	2	0,31	

In una prova precedente (Migliori *et al.*, 2008) il CRA aveva studiato gli effetti sulla qualità alimentare e nutraceutica di pomodorino tipo 'Cherry' della concimazione piena (100: N=140 kg ha⁻¹; P₂O₅=100 kg ha⁻¹; K₂O=200 kg ha⁻¹) o dimezzata (50: 50 %) o nulla (0) e del trattamento microbico (MF) con relativi gruppi T. La composizione aromatica, con 43 composti identificati, è stata fortemente influenzata dal fattore MF. Infatti senza concimazione (fig. 3) la tesi 0-T è risultata totalmente differente dalle altre 5, mentre il gruppo 0-MF non è distante dalle altre tesi concimate al 50 o al 100 %.

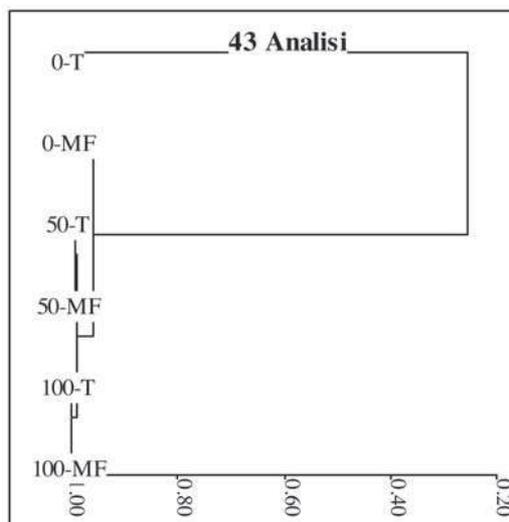


Fig. 3 - Dendrogramma medio di 43 composti chimici analizzati in 6 tesi in colture di pomodoro, con livelli diversi di concimazione (100; 50; 0 %) micorrizati (MF) o Testimoni (T).

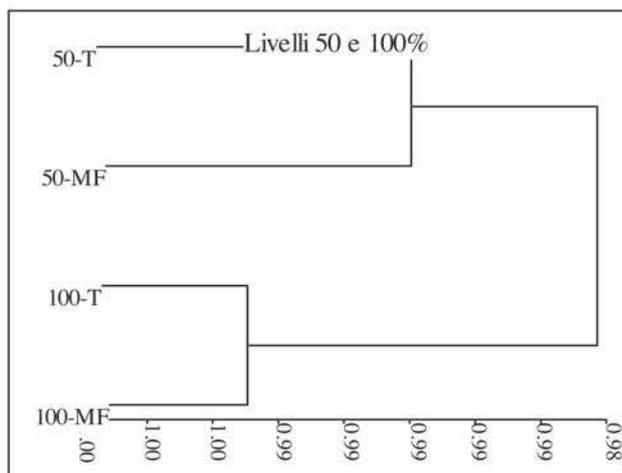


Fig. 4 - Dendrogramma medio di 43 composti chimici analizzati in 4 tesi in colture di pomodoro, con livelli diversi di concimazione (100%; 50%) micorrizzati (MF) o Testimoni (T).

Escluso il gruppo zero il fattore MF si è evidenziato in modo sensibile maggiormente nel livello 50% che nel 100% (fig. 4). È ovvio che questa elaborazione globale non indica la polarità delle differenze; peraltro il contenuto zuccherino (glucosio e fruttosio), di Licopene (*trans* e *cis*) e il pH non hanno manifestato variazioni, dunque la differenza proviene da 38 caratteristiche secondarie.

Giovannetti *et al.* (2011) hanno affrontato alcuni aspetti salutistici della micorrizzazione con *G. intraradices* in pomodori 'Money maker' coltivati in vaso; sono emersi significativi incrementi dell'attività antiossidante (Licopene +19%), estrogenico/anti-estrogenica e in assenza di genotossicità nelle piante Micorrizzate. Variazioni positive e significative sono state rilevate nel contenuto di alcuni minerali (Ca, K, Zn) e soprattutto del P che aumenta del 60%, mentre la biomassa era accresciuta del 19%.

5.4 - Basilico

Una prova condotta con l'Università del Piemonte Orientale (Copetta *et al.*, 2006) ha confrontato i metodi rapidi NIR e NE con la Gascromatografia di Massa per i 18 composti organici volatili (VOC, *Volatile Organic Compounds*) presenti nel Basilico dolce (*Ocimum basilicum* L., 'Genovese'), micorrizzato con tre specie di *Glomus*. I valori medi delle tre matrici di distanza sono risultati 0,59; 0,40 e 0,38 rispettivamente per NIR, NE e analisi chimica. L'elaborazione mediante *Cluster Hierarchical Analysis* fa coincidere le immagini di NE e Gas-Massa con i gruppi T e G.m molto separati da Gi.ma e Gi.r (fig. 5). Il risultato dell'analisi NIR appare ben discriminante, eliminando i falsi negativi e separando così i testimoni dai trattati. Ogni specie ha una propria impronta olfattiva che corrisponde a strutture e composizioni fogliari differenti.

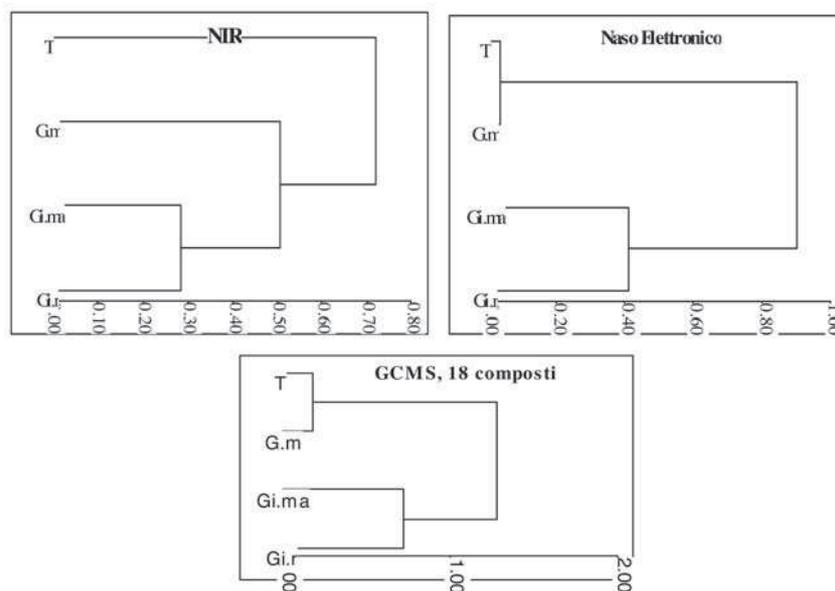


Fig. 5 - Dendrogramma medio di 4 gruppi: Testimone (T), Glomus mosseae (G.m), Gigaspora margarita (Gi.ma), Gigaspora rosea (Gi.r) in base allo spettro NIR delle foglie, all'aromagramma del NE e alla determinazione con GCMS di 18 composti aromatici.

5.5 - Salvia e rosmarino

In un impianto di Rosmarino e Salvia nella Tenuta Cannona sono state esaminate le foglie sia in campo, con il NIR portatile, sia in vaso di vetro, il quale è servito anche per l'analisi con il NE (tab. 9).

Tab. 9 - Risultati del confronto MF e T in foglie di Rosmarino e Salvia.

Specie	Confronto	NIR		NE
		n°	R ²	R ²
Rosmarino	In campo	36	0,60	.
	In vaso	20	0,70	0,39
Salvia	In campo	35	0,59	.
	In vaso	20	0,56	0,79
Confronto	Rosm. (T) vs. Salvia (MF)	26	0,95	0,81

Il rosmarino trattato ha manifestato forti differenze in base allo spettro NIR (0,60-0,70), meno al NE (0,39). La salvia micorrizzata invece si differenzia meglio al NE (0,79) che al NIR (0,56-0,59).

5.6 - Camelia

Si sono esaminate con NIR e NE 10 foglie di camelie derivanti da piante

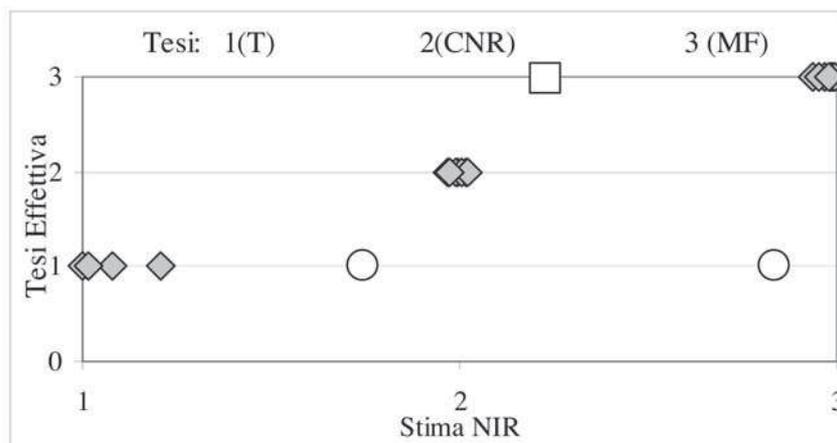
allevate su terreno diversamente trattato: 1- Testimone, 2-Consortio Microbico-CNR (Orto Botanico), 3-MF. In base alle distanze NIR (tab. 10) il gruppo 3 si è separato maggiormente dagli altri due, i quali sono comunque risultati differenti tra loro essendo pari ad 1 la sensibilità (nessun falso negativo) e a 0,8 la specificità (fig. 6), per la presenza di testimoni, falsi positivi, che sono ritenuti infetti, ma potrebbero anche essere campioni micorrizati naturalmente.

Al NE il gruppo MF si è distinto per una maggiore intensità dei segnali rilevati sia in aria (atmosfera ossidante) sia in elio (atmosfera neutra).

Tab. 10 - Differenze all'analisi NIR delle Camelie.

Discriminazione	1 vs. 2	1 vs. 3	2 vs. 3
Specificità	0,8	0,9	1
Sensibilità	1	1	0,91

Fig. 6 - Discriminazione dei campioni dei tre gruppi di Camelie: 1 (T), 2(CNR), 3 (MF) con il NIR (O campione falso positivo; □ campione non classificato correttamente).



5.7 - Melo

In una piantagione di melo era stata osservata una forte differenza nei voli delle api fra piante MF (numerose) e T (scarse). I petali dei fiori esaminati al NE sono apparsi molto differenti ($R^2 = 0,65$) ma anche le foglie esaminate con NIR sono risultate differenti in pari misura (0,68).

5.8 - Foraggiere

Il trattamento con Micosat F (MF) per 5 specie foraggiere ha modificato il profilo aromatico in 3 colture (Loietto, Avena, Trifoglio) e non l'ha modificato in Medica e Veccia.

5.9 - Melone e Cocomero

Campioni di frutta, foglie e radici di 14 meloni e di 8 cocomeri, sono stati esaminati (tab. 11). Il NIR ha sempre indicato elevate differenze fra MF e T tranne nella polpa, dove invece il trattamento è stato riconosciuto soltanto con il NE.

Tab. 11 - Risultati del differenziamento MF verso T su Meloni e Cocomeri.

Specie	Strumento	Organo	R ²	Osservazioni
Melone	NIR	Foglia	0,76	Differenza molto elevata
	NIR	Buccia	0,66	Differenza elevata
	NIR	Polpa	0,00	Nessuna differenza
	NE	Polpa	0,56	Differenza elevata
Cocomero	NIR	Foglia	0,75	Differenza molto elevata
	NIR	Frutto esterno	0,72	Differenza molto elevata
	NIR	Frutto interno	0,72	Differenza molto elevata

6. CONCLUSIONI

Considerando in primo luogo gli aspetti quantitativi, secondo Gurian-Sherman, *Senior Scientist* della *Union of Concerned Scientists* (UCS), l'incremento nella produzione, ottenuto finora con il miglioramento genetico per via transgenica, è in realtà modesto. Questo risultato è imputabile al fatto che le rese potenziali, ottenibili in condizioni ottimali (*intrinsic yield*) non trovano riscontro con i risultati di pieno campo (*operational yield*), in particolare nessuna cultivar transgenica *Bt* disponibile negli USA si è rivelata in grado di aumentare l'*intrinsic yield* più del 3-4 %.

In confronto, il miglioramento quantitativo ottenuto dall'uso dei composti microbici micorrizanti appare superiore, in quanto il Micosat F ha determinato modificazioni importanti e di indubbio valore economico sulle colture; in particolare per il trinciato di mais, ove ha prodotto in media un aumento +19 % rispetto ai testimoni, il mais da granella (+9 %), il pomodoro (+10 %), il cetriolo (+11 %). Per altre colture (frumento, olivo, melone), i risultati non sono probanti.

L'aroma delle piante, caratteristica fondamentale per il richiamo degli insetti, misurato dal NE è risultato largamente modificato dal trattamento microbico, con maggiore presenza di api sui fiori di melo e con minore attacco della mosca sulle olive. Nel basilico tali differenze aromatiche riscontrate al NE e al NIR sono state poi correlate a differenze dei composti chimici volatili specifici delle foglie. I dati ottenuti dalle analisi con il NE e la valutazione sensoriale effettuata da un gruppo di esperti hanno evidenziato che: la cultivar 'Blasco' di recente costituzione, sottoposta al trattamento con Micosat F ha fornito pane con caratteristiche fisico-sensoriali del tutto paragonabili a quelle del pane ottenuto con tre antiche cultivar e significativamente migliore di quello ottenuto dal testimone ('Blasco') non trattato e da una comune farina da pane. Un significativo esempio di incremento qualitativo ottenuto con l'intervento della concimazione microbica con funghi micorrizanti.

Questi risultati sono ancora limitati e lacunosi per un riscontro economico a breve e media durata: stando ai prezzi del mais di febbraio 2011 (210 € t⁻¹), il costo del trattamento (120 € ha⁻¹) si ripaga con un aumento nella produzione di 0,6 t ha⁻¹. L'argomento non può che presentare interessi molteplici da valutare in ulteriori studi applicativi, e anche di base, inseriti in un contesto agro-zootecnico moderno, di massa e dinamico, che si proietti lungo le non lineari direttrici del *greening*.

BIBLIOGRAFIA

- BARTOLINI R. - 2008 - Con le micorrize aumentano gli aromi. *Informatore Zootecnico*, 4, 42-44.
- BRICCOLI BATI C., GODINO G. - 2002 - Influenza delle micorrize sull'accrescimento in vivaio di piante di olivo. *Italus Hortus*, 9, 3, 20-21.
- CAMPANELLI G., FERRARI V., BERTONE A., LETEO F., MANCINELLI G., LO SCALZO R., DI CESARE L.F., SGOLASTRA F., RAMILLI F., BURGIO G. - 2009 - Agro-ecosistemi a confronto: biologico e convenzionale. *Convegno nazionale "Orticoltura di qualità per un mercato in evoluzione"*. Foggia, I, 30 aprile 2009. Abstract #7, 10-11.
<http://orticoltura.altervista.org/pdf/abstracts.pdf>
- CITERNESI A.S., VITAGLIANO C., GIOVANNETTI M. - 1998 - Plant growth and root systems morphology of *Olea europaea* L. rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas. *J.Hort. Sci Biotech.*, 73, 647-654.
- COLLA G., PANTANELLA E., CARDARELLI M., REA E., SALERNO A., TEMPERINI O., LUCCIOLI E. - 2009 - Influenza della micorrizzazione e del pH della soluzione sulla crescita, produttività e caratteristiche qualitative del cetriolo. *Convegno nazionale "Orticoltura di qualità per un mercato in evoluzione"*. Foggia, I, 30 aprile 2009. Abstract #27, 19. <http://orticoltura.altervista.org/pdf/abstracts.pdf>
- COPETTA A., LINGUA G., BERTA G., BARDI L., MASOERO G. - 2006 - Three arbuscular mycorrhizal fungi differently affect growth, distribution of glandular trichomes and essential oil composition, appreciated by NIR Spectroscopy and Electronic Nose, in *Ocimum basilicum* var. *Genovese*. *Acta Hort.*, 723, 151-156.

COPETTA A., LINGUA G., BARDI L., MASOERO G., BERTA G. - 2007 - Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and essential oil composition in *Ocimum basilicum* var. *Genovese*. *Caryologia*, 60, 1-2, 106-110.

DI MARCO L., POLICARPO M., CORSO A., TORTA L. - 2002 - Indagini preliminari sull'inoculazione artificiale di talee di olivo con funghi VAM. *Convegno Intern. Olivicoltura. Atti VI Giornate scientifiche SOI*. Spoleto, I, 22-25 Aprile: 117-122.

GAUD W. - 1968 - Revolution: Accomplishments and Apprehensions. International Development Shorehan Hotel Washington, DC, USA, March 8, 1968.
<http://www.rockefellerfoundation.org/uploads/files/61b323f1-454b-406d-87e9-231b2ecd5ee6.pdf>

GIOVANNETTI M., AVIO L., BARALE R., CECCARELLI N., CRISTOFANI R., IEZZI A., MIGNOLLI F., PICCIARELLI P., PINTO B., REALI D., SBRANA C., SCARPATO R. - 2011 - Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. *British Journal of Nutrition*, 107, in c.d.s.

GURIAN-SHERMAN D. - 2009 - Failure to yield. Evaluating the performance of genetically engineered crops. http://www.ucsus.org/assets/documents/food_and_agriculture/failure-to-yeild.pdf

HESSER L. - 2006 - *The Man Who Fed the World: Nobel Peace Prize Laureate Norman Borlaug and His Battle to End World Hunger*. Ed. Durban House Publishing, Dallas, TX, USA, ISBN: 1-930754-90-6

KILIAN M., STEINER U., KREBS B., JUNGE H., SCHMIEDEKNECHT G., HAIN R. - 2000 - FZB24® *Bacillus subtilis* - mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 53, 2, 72-93. http://www.abitep.de/content/pdf/kilian_2000.pdf

MAROCCO S. - 2010 -
http://www.poderepignatelli.it/public/pubblicazione_dati_podere_2011.pdf

MAROCCO S. - 2011 -
http://www.poderepignatelli.it/public/pubblicazione_dati_podere_2010.pdf

MIGLIORI C., VISCARDI D., DI CESARE L. F., CAMPANELLI G., FERRARI V., QUINTO G., MENNONE C. - 2008 - Pomodoro cherry: effetti di concimazione e micorrizzazione. *Culture Protette*, 37, 4, 79-84.

MIGLIORINI P., CASELLA G., MOSCHINI V., VIVOLI R., BENDETTI S. - 2011 - Confronto tra vecchie e nuove varietà di frumento tenero (*Triticum aestivum* spp.) per la produzione di pane biologico di qualità: risultati agronomici. In: *L'agricoltura biologica in risposta alle sfide del futuro: il sostegno della ricerca e dell'innovazione*. Catania, I, 7-8 Novembre 2011, ENEA. Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, Roma, I, pp.110, ISBN: 978-88-8286-250-3

STANDAGE T. - 2009 - *Una storia commestibile dell'umanità*. Codice ed., Torino, I, pp. 201.

TATARANNI G., SANTILLI E., BRICCOLI BATTI C., DICHIO B. - 2009 - Influenza della simbiosi micorrizica sulla risposta vegetativa di cinque cultivar di *Olea europaea* L. <http://www.olviva.it/files/P14b.pdf>

TORRI L., MIGLIORINI P. - 2011 - Valutazione della qualità di pane prodotto da varietà antiche di frumento tenero. In: S. Porretta Atti (ed.) *10° Congr. It. Scienza e Tecnologia degli Alimenti* Milano, 9-10 maggio 2011. Chirriotti Editori, Pinerolo, TO, I, in c.d.s.