

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA  
FACOLTA' DI AGRARIA  
CORSO DI LAUREA SPECIALISTICA IN SCIENZE E TECNOLOGIE  
AGRARIE  
Dipartimento di Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali

TESI DI LAUREA

**EFFETTI DEL DIVERSO RITMO DI  
UTILIZZAZIONE SULLA PERSISTENZA IN  
COLTURA DI 16 CULTIVAR DI *Medicago*  
*sativa* L.**

Relatore:  
Ch.mo Prof. UMBERTO ZILLOTTO  
Correlatore:  
Dott. STEFANO MACOLINO

Laureando:  
FILIPPO RIMI

ANNO ACCADEMICO 2007-2008



# INDICE

<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>RIASSUNTO</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	<b>7</b>
1.1 Erba medica: importanza economica, origine e diffusione.....	9
1.2 Caratteri botanici e biologia.....	11
1.2.1 Caratteristiche botaniche	
1.2.2 Ciclo biologico	
1.3 Esigenze climatiche e pedologiche.....	17
1.4 Tecniche di coltivazione del medicaio.....	18
1.4.1 Avvicendamento	
1.4.2 Lavorazioni preparatorie del terreno	
1.4.3 Somministrazione elementi nutritivi	
1.4.4 Semina	
1.4.5 Irrigazione	
1.4.6 Lotta alle piante infestanti	
1.5 Raccolta del prodotto e persistenza del medicaio.....	23
1.5.1 Raccolta del prodotto	
1.5.2 Persistenza del medicaio	
1.6 Pregi nutrizionali e utilizzazione del prodotto.....	26
1.7 CultiVar di erba medica.....	27
<b>2. SCOPO DELLA RICERCA</b> .....	<b>29</b>
2.1 Premessa.....	31
2.1.1 Sostanze di riserva e fluttuazioni stagionali	
2.1.2 Carboidrati negli organi di riserva e sopravvivenza invernale	
2.1.3 Riserve azotate e sopravvivenza invernale	
2.1.4 Livelli di espressione di geni attivati dal freddo	
2.1.5 Carboidrati negli organi di riserva e ricaccio primaverile	
2.1.6 Riserve azotate e potenziale di ripresa vegetativa	
2.2 Scopo della tesi.....	42
<b>3. MATERIALI E METODI</b> .....	<b>43</b>
3.1 Schema sperimentale.....	45
3.2 Caratteristiche pedologiche.....	47
3.3 Caratteristiche climatiche.....	47
3.4 CultiVar impiegate.....	50

3.5	Determinazione peso delle sementi impiegate in semina.....	52
3.6	Interventi preparatori e semina del medicaio.....	52
3.7	Gestione della prova.....	52
	3.7.1 Esecuzione dei tagli	
	3.7.2 Irrigazione	
	3.7.3 Concimazione di copertura	
3.8	Rilievi compiuti sul medicaio.....	57
3.9	Quantificazione della produzione.....	57
3.10	Rilievo delle piante infestanti.....	58
3.11	Prelievo dei campioni.....	58
3.12	Misurazione degli organi di riserva.....	59
3.13	Liofilizzazione e determinazione del peso secco.....	60
3.14	Estrazione ed analisi degli zuccheri.....	62
3.15	Analisi statistiche.....	63
<b>4.</b>	<b>RISULTATI E</b>	
	<b>DISCUSSIONI.....</b>	<b>65</b>
4.1	Peso dei semi e densità di semina.....	67
4.2	Evoluzione del numero di piante.....	68
4.3	Larghezza delle radici.....	77
4.4	Peso secco del fittone.....	81
4.5	Peso secco della corona.....	83
4.6	Presenza di malerbe.....	85
4.7	Dati produttivi.....	88
4.8	Contenuto di zuccheri solubili nel fittone.....	90
	4.8.1 Contenuto di WSC totali nel fittone	
	4.8.2 Contenuto di WSC a basso peso molecolare nel fittone	
	4.8.3 Contenuto di WSC ad alto peso molecolare nel fittone	
4.9	Contenuto di zuccheri solubili nella corona.....	92
	4.9.1 Contenuto di WSC totali nella corona	
	4.9.2 Contenuto di WSC a basso peso molecolare nella corona	
	4.9.3 Contenuto di WSC ad alto peso molecolare nella corona	
4.10	Correlazioni.....	97
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONI.....</b>	<b>103</b>
<b>6.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>107</b>

## *RINGRAZIAMENTI*

## **Abstract**

### **ALFALFA (*Medicago sativa* L.) CULTIVARS COMPARISON UNDER DIFFERENT CUTTING FREQUENCIES: EFFECTS ON PERSISTENCE**

A field trial plot was carried out for three years (2005-2007) at the experimental Farm of Padova University to study the relationship between cutting interval and plant persistence of 16 cultivars of alfalfa (*Medicago sativa* L.).

The cultivars were subjected to two cutting intervals: 1) 25 days between consecutive cuts (corresponding to pre-bloom stage harvest schedule); 2) 30 days between consecutive cuts (corresponding to first bloom stage harvest schedule).

Plant density (plants/m<sup>2</sup>) and root diameter (at three levels: 3, 8, and 15 cm of depth) were measured in spring and autumn of each year. Dry weight and Water Soluble Carboirdrate content in both taproot and crown were measured and analyzed at the last cut of 2007. Forage yield was determined at each cut. The presence of spring weeds before the beginning of cuts in 2007 was also estimated by visual rating.

Persistence, root diameter, taproot dry weight, crown dry weight, forage production, and competition against weeds decreased under shorter cutting interval.

Cultivars showed different concentration of Water Soluble Carboirdrate (total and low weight WSC). But these differences are not related to persistence.

A negative relation between plant density and root size (diameter, crown dry weight, and taproot dry weight) was also observed.

The relationship between plant density and yield (only in the case of harvest at pre-bloom stage), could be explained by the major stress due to the shorter cutting frequency.

‘Delta’ and ‘PR57N02’ showed high persistence in both cutting intervals, so these cultivars could be used for modern alfalfa employments involving frequent cutting interval.

## Riassunto

Nel presente studio è stata impostata una prova della durata di tre anni (2005-2007) presso l'azienda Sperimentale dell'Università di Padova allo scopo di studiare la relazione tra il ritmo di utilizzazione e la persistenza in coltura di 16 CultiVar di erba medica (*Medicago sativa* L.).

Le CultiVar sono state sottoposte a due frequenze di taglio: 1) 25 giorni tra un taglio e l'altro (corrispondenti allo stadio fenologico di bottone fiorale); 2) 30 giorni tra un taglio e l'altro (corrispondenti allo stadio fenologico d'inizio fioritura).

L'investimento (piante/m<sup>2</sup>) e il diametro del fittone (a tre livelli: 3, 8 e 15 cm dalla corona) sono stati misurati sei volte, in primavera e autunno di ogni anno. Il peso secco e il contenuto di zuccheri solubili (WSC) del fittone e della corona sono stati misurati all'ultimo taglio del 2007, alla fine dei tre anni di prova. È stata stimata la produzione di foraggio di ogni taglio. Inoltre è stata rilevata la presenza di malerbe primaverili prima dell'inizio dei tagli nel 2007.

I risultati ottenuti hanno mostrato che il ritmo di utilizzazione più severo riduce il numero di piante, il diametro delle radici, il peso secco degli organi di riserva, la produzione e la competizione nei confronti delle infestanti primaverili.

Le CultiVar hanno mostrato differenti concentrazioni di WSC totali e a basso peso molecolare. Ma tali differenze non sono apparse correlate con la persistenza in coltura. È stata trovata una relazione negativa tra la densità di piante e le dimensioni degli organi di riserva (diametro e peso secco del fittone, peso secco della corona), legata alla competizione intra-specifica.

La relazione tra investimento e produzione, ritrovata solamente nel caso delle piante tagliate a bottone fiorale, può essere spiegata dalle maggiori condizioni di stress cui sono sottoposte le piante tagliate più frequentemente.

'Delta' e 'PR57N02' hanno mostrato un'elevata persistenza a prescindere dal ritmo di taglio cui sono state sottoposte, pertanto tali CultiVar possono essere adottate per i più moderni impieghi dell'erba medica, i quali richiedono ritmi di taglio sempre più frequenti.



## **1. INTRODUZIONE**



## **1.1 Erba medica: importanza economica, origine e diffusione**

L'erba medica è considerata tradizionalmente la pianta foraggera per eccellenza; le sono infatti riconosciute notevoli caratteristiche positive in termini di longevità, velocità di ricaccio, produttività, qualità della produzione e l'azione miglioratrice delle caratteristiche chimiche e fisiche del terreno. Di particolare significato sono anche le diverse forme di utilizzazione cui può essere sottoposta; infatti, pur trattandosi tradizionalmente di una specie da coltura prativa, pertanto impiegata prevalentemente nella produzione di fieno, essa può essere utilizzata anche come pascolo. La produzione mostra infine una straordinaria facilità di conservazione oltre che come fieno anche come insilato o come farina disidratata. In virtù delle sue caratteristiche bioagronomiche e le sue prerogative di utilizzazione l'erba medica viene coltivata in tutti i continenti e, pur alternando periodi di espansione ad altri meno favorevoli, essa riveste ancora oggi una notevole importanza.

Si ritiene che il centro di origine più probabile dell'erba medica sia l'Asia Sud occidentale e la sua coltivazione come pianta da foraggio può essere fatta risalire ad oltre 2.000 anni fa. Plinio ne ricorda l'introduzione in Grecia dalla Media – la regione Nord-occidentale della Persia – nel 492-490 a.C. In Italia fu poi portata dalla Grecia nel periodo 200-150 a.C.; dall'Italia, durante l'impero romano si diffuse in tutto il bacino del Mediterraneo e in tutta Europa, comprese le isole Britanniche. Durante il Medio Evo l'erba medica scomparve da vari paesi europei; fino a quando non ebbe una nuova espansione a partire dalla Spagna, dove gli arabi la introdussero nell'VIII secolo; dalla Spagna fu introdotta anche nel Messico, da dove si espanse nell'America meridionale e nelle zone occidentali dell'America del nord; contemporaneamente, dagli stati dell'Europa centrale e settentrionale l'erba medica fu introdotta nella fascia orientale dell'America del nord e nell'Africa meridionale. Infine il suo arrivo in Australia e Nuova Zelanda viene fatto risalire al XVIII secolo. Nel corso di queste migrazioni l'erba medica, grazie alle sue capacità di adattamento a condizioni ambientali così varie e tanto dissimili da quelle delle sue zone di origine, si è andata differenziando, nel corso dei secoli, in “tipi” distinti, caratterizzati soprattutto da un diverso comportamento per ciò che riguarda la resistenza al freddo e la sensibilità al fotoperiodo. Tipico, da questo punto di vista, è l'esempio dei due ceppi introdotti nell'America settentrionale: *Medicago sativa*, di origine mediterranea, scarsamente resistente al freddo e

generalmente caratterizzata da notevole precocità, e *Medicago falcata*, di origine Nord-europea, molto più resistente al freddo e nettamente più tardiva.

Si stima che l'area totale coltivata a medica sia approssimativamente di 15 milioni di ettari dei quali, all'incirca 2,5 milioni in Europa, 11 milioni nell'America del Nord e nell'America del Sud. I paesi extraeuropei che presentano le maggiori superfici investite a medica sono indubbiamente gli Stati Uniti e l'Argentina. Nel continente europeo l'erba medica è più estesamente coltivata in Romania, Italia (821.000 ha), Francia (354.000 ha) e Spagna (254.000 ha). Per quanto riguarda l'Italia, la distribuzione della coltura risulta dalla **Tabella 1**, in cui si può apprezzare come poco meno della metà della superficie coltivata a medica in Italia sia concentrata in Emilia-Romagna e Lombardia. Tra le altre regioni si evidenziano anche l'Umbria, il Lazio e le Marche. Questi dati testimoniano la predilezione dell'erba medica nei riguardi dei terreni alluvionali, profondi e freschi, tipici della pianura Padana e della vallate appenniniche dell'Italia Centrale. I terreni tendenzialmente acidi sono invece sfavorevoli alla coltura dell'erba medica, ciò può essere testimoniato dalla presenza relativamente bassa della coltura in Piemonte. Pure la carenza idrica costituisce un limite all'espansione della medica, infatti nelle vaste zone collinari dell'Italia Meridionale le vengono preferite altre specie, quali la sulla (*Hedysarum coronarium* L.) e la lupinella (*Onobrychis viciifolia* Scop.) che meglio si adattano alla siccità (Parrini e Bonari, 2002).

**Tabella 1.** Coltivazione erba medica in Italia divisa per regione (Dati ISTAT 2000).

<b>Regione</b>	<b>ha</b>	<b>Regione</b>	<b>ha</b>
Emilia-Romagna	312.255	Calabria	19.421
Lombardia	82.525	Piemonte	17.613
Marche	81.479	Friuli-V. Giulia	14.580
Lazio	60.300	Sardegna	11.788
Umbria	45.350	Basilicata	8.900
Abruzzo	37.700	Puglia	4.683
Campania	36.173	Sicilia	2.720
Toscana	35.855	Liguria	950
Veneto	28.145	Trentino-A. Adige	403

Molise	20.500	Valle d'Aosta	-
--------	--------	---------------	---

## 1.2 Caratteri botanici e biologia

### 1.2.1 Caratteristiche botaniche

L'erba medica appartiene all'ordine delle *Rosales*, alla famiglia delle *Fabaceae*, alla sottofamiglia delle *Papilionatae*, alla tribù delle *Trifoliae*, al genere *Medicago*. L'erba medica coltivata può appartenere a due differenti specie botaniche o ai loro ibridi. Le due specie sono *Medicago sativa* L. e *Medicago falcata* L. (**Figura 1**), mentre i prodotti dell'ibridazione tra queste due specie vengono compresi entro la specie *Medicago media* Pers., detta anche *Medicago varia* Martyn (Moule, 1980).



**Figura 1.** Da sinistra: *Medicago sativa* L. e *Medicago falcata* L.

In particolare, *Medicago sativa* è una specie tetraploide ( $2n = 32$ ) ottenuta per autopoliploidia dal diploide *Medicago coerulea* ( $2n = 16$ ); è originaria della Persia nord-occidentale e quindi particolarmente adatta alle regioni a clima siccitoso continentale, caratterizzate da bassa umidità, alte temperature diurne e notti fredde, nonché suoli profondi. È presente a sud del  $42^\circ$  lat. Nord, sotto forma dei tipi mediterranei; questi presentano una fioritura non regolata dal fotoperiodo, di conseguenza si dimostrano precoci ma per ciò sensibili al freddo.

*Medicago falcata* è una specie nota tanto nella forma diploide ( $2n = 16$ ) quanto in quella tetraploide ( $2n = 32$ ); al contrario della *Medicago sativa* essa si è evoluta in zone fredde e con elevata umidità atmosferica. È presente tra il  $42^\circ$  ed il  $62^\circ$  lat. Nord, sotto forma

dei tipi nord-europei; questi sono longidiurni, quindi tardivi e grazie questa strategia evolutiva molto più resistenti al freddo rispetto ai tipi mediterranei.

Infine *Medicago media* è una specie nata dall'ibridazione di *Medicago sativa* e *Medicago falcata*; mostra caratteristiche intermedie a quelle dei due parentali dal punto di vista morfologico, fisiologico e agronomico. In particolare, presenta una maggior resistenza al freddo rispetto a *Medicago sativa*, per questo il suo areale di coltivazione si estende a latitudini più elevate.

L'erba medica è una pianta perenne, dotata di apparato radicale primario, fittonante, con un unico fittone molto robusto e allungato in profondità, nei tipi mediterranei, oppure ramificato e superficiale, nei tipi nord-europei. Al di sopra dell'apparato radicale è collocata la corona, che è costituita dall'insieme delle parti basali degli steli, presenti sopra il colletto radicale, al livello circa del terreno, provviste di numerose gemme. Gli steli sono eretti, ramificati, raggiungono altezze massime di 100-150 cm e possono essere cavi (tipi mediterranei) o pieni (tipi nord-europei). Le foglie sono alterne sul ramo e sono formate da tre foglioline, delle quali la mediana presenta un picciolo più lungo rispetto alle laterali; le foglioline hanno forma oblunga, hanno il margine seghettato in prossimità dell'apice e terminano con un mucrone, costituito dal prolungamento della nervatura centrale. Le stipole sono larghe alla base e rastremate all'apice (**Figura 2**).



**Figura 2.** Caratteri botanici: stelo, foglia.

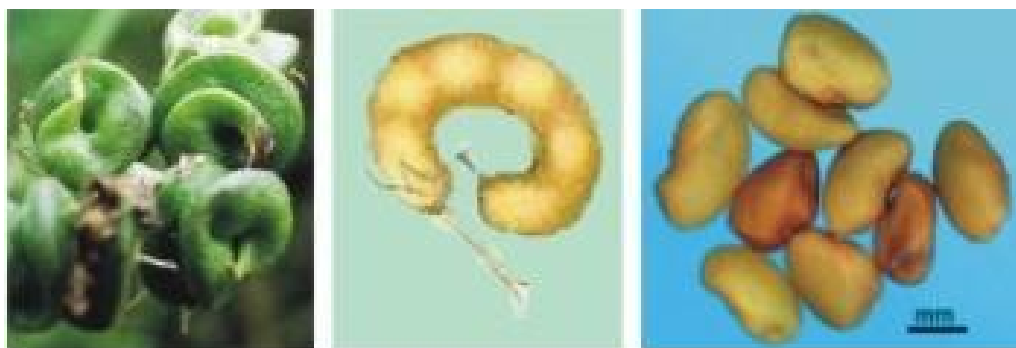
All'ascella delle foglie possono avere inizio lunghi peduncoli fiorali, che portano l'infiorescenza, nella quale i fiori sono riuniti in racemi allungati e lassi (*M. sativa*) o corti e compatti (*M. falcata*). Il fiore è quello caratteristico delle Fabaceae: calice pentamero gamosepalo, corolla zigomorfa dialipetala a 5 petali di colore violetto più o

meno intenso che può sfumare fino all'azzurro pallido (*M. sativa*) o giallo (*M. falcata*), stami diadelfi (9 + 1), pistillo formato da un ovario sottile e lungo e da uno stilo corto (**Figura 3**).



**Figura 3:** Caratteri botanici, da sinistra: fiore di *M. sativa*, infiorescenza di *M. sativa*, infiorescenza di *M. falcata*.

Il frutto è un legume avvolto a spirale per 2-4 volte (*M. sativa*) o a falce (*M. falcata*), che a maturità deisce lasciando cadere il seme; questo è di forma reniforme e presenta un tegumento di colore giallo olivastro tendente al bruno; il peso di 1000 semi varia da 1.8 a 2.2 g. l'impollinazione avviene prevalentemente per fecondazione incrociata, infatti di norma l'erba medica è autoincompatibile (Parrini e Bonari, 2002) (**Figura 4**).



**Figura 4.** Caratteri botanici, da sinistra: gruppo di legumi di *M. sativa*, frutto e semi di *M. falcata*.

### 1.2.2 Ciclo biologico

Il ciclo biologico dell'erba medica si articola in varie fasi descritte sulla base dello stadio morfologico e riproduttivo degli steli principali delle piante; gli studiosi delle colture foraggere hanno valutato a lungo il rapporto che intercorre tra la qualità del foraggio, l'appropriata gestione del medicaio, e gli stadi morfologici delle colture da loro studiate. Metcalfe nel 1973 raccolse in maniera organica la terminologia degli stadi di sviluppo delle piante foraggere utilizzata dai vari studiosi nella nomenclatura

internazionale. Sino a quel momento numerosi studi sulla gestione dei tagli nei medicaei avevano messo in relazione lo stadio di sviluppo con la qualità e quantità di foraggio prodotto, e molti di questi lavori erano stati riepilogati da Smith (1972) e Barnes e Gordon (1972). Tuttavia, per l'impiego in applicazioni scientifiche si rivelavano necessari metodi più accurati nella misurazione della crescita e lo sviluppo fenologico. Gli agronomi che lavoravano su altre colture avevano messo in evidenza l'importanza di una descrizione uniforme dei singoli stadi; d'altra parte tra le altre colture si trovavano numerosi esempi di scale fenologiche: quella di Hanway (1966) per il mais (*Zea mais* L.), la scala di Fehr *et al.* (1971) per la soia (*Glicine max* Merr.), e quella di Faix (1974) per il cotone (*Gossyium hirsutum* L.).

Le pubblicazioni sulla classificazione e identificazione dei vari stadi di sviluppo dell'erba medica mostravano una mancanza di uniformità nei termini utilizzati. Gengenbach e Miller (1972), Fick e Holthausen (1975) e Fick e Liu (1976) avevano suddiviso il ciclo biologico in: 1) stadio vegetativo, 2) germogliamento, 3) fioritura, 4) disseminazione. Queste scale risultavano di ordine molto generale e poco precise, pertanto Kalu e Fick (1981) misero a punto una scala fenologica maggiormente articolata, riportata in **Tabella 2**. La messa a punto di tale scala fenologica ebbe anche lo scopo di testare l'efficienza del sistema di suddivisione in stadi come indicatori dei livelli del contenuto di proteina grezza, digeribilità, contenuti di fibra e lignina nel foraggio di erba medica (Kalu e Fick, 1983).

**Tabella 2:** Scala fenologica di Kalu e Fick (1981).

N°	STADIO	Definizione
0	Vegetativo precoce	Lunghezza steli inferiore a 15 cm
1	Vegetativo intermedio	Lunghezza steli tra 15 e 30 cm
2	Vegetativo tardivo	Lunghezza steli maggiore di 30 cm
3	Bottoni fiorali	Bottoni fiorali visibili su uno o due nodi
4	Pre-fioritura	Bottoni fiorali presenti su tre o più nodi
5	Inizio fioritura	Un nodo con fiore aperto
6	Piena fioritura	Due o più nodi con fiori aperti
7	Inizio formazione legumi	Da uno a tre nodi con legumi verdi
8	Fine formazione legumi	Quattro o più nodi con legumi verdi



Il ciclo biologico dell'erba medica si articola in varie fasi descritte sulla base dello stadio morfologico e riproduttivo degli steli principali della copertura vegetale.

La **germinazione** dell'erba medica consiste nel trasferimento delle sostanze di riserva dai cotiledoni all'embrione, allo scopo di formare una plantula autotrofa; perché tali fenomeni si verificano sono indispensabili una sufficiente disponibilità idrica e adeguati livelli termici nel suolo. Inizialmente si accresce la radice embrionale, allo scopo di garantire un adeguato rifornimento idrico; successivamente si accresce l'asse ipocotile che assume forma arcuata e spinge i cotiledoni attraverso il terreno, fino a farli fuoriuscire e metterli così in condizione di iniziare le attività fotosintetiche. La durata della fase di germinazione può variare in dipendenza di vari fattori; ruoli rilevanti sono riconosciuti alla temperatura (*optimum* = 25° C), il livello di salinità del substrato, l'età del seme, la grossezza del seme e le condizioni di maturazione del seme.

Dopo il completamento della fase di germinazione ha inizio quella di **accrescimento e sviluppo vegetativo**: sopra i due cotiledoni si forma la prima foglia vera unifogliata e provvista di un lungo picciolo; prende avvio il fenomeno dell'**accrescimento contrattile**: l'asse ipocotile e la parte superiore della radice si contraggono in lunghezza e s'ingrossano in spessore perciò i primi 2-3 attacchi fogliari vengono trascinati sotto la superficie del suolo; intanto l'asse epicotile si allunga e soprattutto si ha la formazione di nuove foglie, tutte trifogliate dalla seconda in avanti; all'ascella delle prime foglie vere e di quelle dicotiledonari si differenziano gemme che daranno luogo a rami la cui porzione basale sarà, a loro volta, ricca in gemme; l'insieme delle porzioni basali di tali steli che, anche dopo il taglio, rimangono attaccate alla radice viene detta corona. Dalla corona, ricca di gemme e sostanze di riserva, hanno origine tutti gli steli fioriferi che costituiranno la produzione dei vari tagli nel corso della vita della pianta.

Parallelamente a quanto avviene nella parte epigea si assiste anche all'**accrescimento e sviluppo radicale**: la radice principale è di tipo primario, poiché deriva dalla radice embrionale; essa si accresce molto rapidamente e assume già poco dopo la germinazione la tipica conformazione fittonante; già alla fine del primo anno può raggiungere oltre tre metri di profondità, ciò conferisce alla pianta una notevole

resistenza alla siccità. Le ramificazioni radicali sono generalmente scarse, anche se tale caratteristica può variare in base alla CultiVar e alle caratteristiche del suolo.

La fase dello **sviluppo riproduttivo** coincide con la formazione di una protuberanza di tessuto meristemico in prossimità dell'apice vegetativo dei rami fioriferi; questi , comunque, continuano ad allungarsi e a formare nuove foglie anche dopo tale evento. Da tale protuberanza prendono origine i primordi fiorali dei singoli fiori che formano l'infiorescenza. L'inizio della fase riproduttiva è influenzato da diversi fattori, tra cui: il fotoperiodo, l'umidità atmosferica, la dotazione idrica del terreno, lo stato nutrizionale delle piante; la temperatura; tali fattori “suggeriscono” alla pianta d'impiegare i fotosintati nella via riproduttiva piuttosto che in quella vegetativa, vale a dire per formare fiori, frutti e semi piuttosto che nuovi ricacci.

Nella fase di **accumulo di sostanze di riserva** della medica sono interessati due organi di riserva: 1) corona, 2) porzione superiore del fittone (**Figura 5**).



**Figura 5.** Organi di riserva, da sinistra: corona, porzione superiore di fittoni.

Una certa quota di sostanze di riserva è contenuta anche nel resto dell'apparato radicale ma questo, almeno nella pianta adulta, esercita eminentemente funzioni di assorbimento e trasporto. Nella medica il materiale di riserva primario è costituito dai carboidrati mentre pochissimo si conosce circa le funzioni delle proteine. Solamente quote molto piccole dei prodotti della fotosintesi rimangono nelle foglie e la maggior parte di essi viene traslocata in altre parti della pianta dove può essere utilizzata per la respirazione, metabolizzata in vari costituenti cellulari o accumulata in luoghi di deposito principalmente sotto forma di amido. L'accumulo di carboidrati nelle radici è soggetto a sensibili oscillazioni stagionali ed ha andamento diverso a seconda che la coltura venga mandata a seme oppure venga sottoposta a tagli periodici. Nel primo caso, all'inizio della primavera, i carboidrati accumulati nelle radici diminuiscono fino a quando la

produzione di nuovi assimilati non uguaglia o eccede le richieste per l'accrescimento. Durante la formazione di fiori e la fioritura i carboidrati si accumulano rapidamente nelle radici fino a quando non inizia la formazione dei semi. A questo punto i carboidrati iniziano a diminuire per via del loro trasferimento verso il seme, sia per la loro utilizzazione per la formazione di nuovi steli dalle gemme della corona. Quando, invece, vengono eseguiti tagli regolari, il livello dei carboidrati nelle radici presenta un andamento fluttuante: dopo ciascun taglio si verifica una drastica riduzione dei carboidrati di riserva e, solamente quando la quantità di nuovi assimilati eccede quella utilizzata per l'accrescimento, questi riprendono ad aumentare fino al momento del taglio successivo. Perciò la rapidità e l'entità del ricaccio sono in stretta relazione con la quantità di carboidrati di riserva che la pianta è stata in grado di accumulare nelle radici prima di ciascun taglio. Allorché la coltura è tagliata troppo frequentemente, i carboidrati di riserva non vengono riportati a livelli sufficientemente elevati e le piante divengono più piccole, il numero di steli diminuisce e la produzione viene influenzata negativamente.

Riguardo agli effetti dell'ambiente sull'accumulo di carboidrati negli organi di riserva, si è visto che quando la temperatura comincia a salire, in primavera, inizia l'accrescimento e diminuiscono i carboidrati accumulati nelle radici. Inversamente, l'abbassarsi della temperatura in autunno riduce l'accrescimento e provoca un accumulo di carboidrati nelle radici, mentre l'amido si modifica in zuccheri più semplici (Parrini e Bonari, 2002).

### **1.3 Esigenze climatiche e pedologiche**

L'assorbimento massimo di **radiazione luminosa**, in campo, si verifica tra le ore 10 e le 11 del mattino. In un medicaio il LAI (Leaf Area Index) può variare da 4 a 8, anche se sono stati osservati valori di 10-11. Tuttavia è bene tenere presente che LAI superiori a 5 comportano notevoli perdite di sostanza secca dovute all'oscuramento delle foglie basali della pianta e conseguente senescenza.

Le **temperature** risultate ben sopportabili per la coltura sono comprese tra  $-10^{\circ}\text{C}$  e  $40^{\circ}\text{C}$ ; mentre come temperature ottimali per l'assimilazione di  $\text{CO}_2$  si possono indicare i  $15-25^{\circ}\text{C}$  durante il giorno e  $10-20^{\circ}\text{C}$  durante la notte.

Nei riguardi delle **precipitazioni**, generalmente, è l'eccesso di acqua piuttosto che la carenza di tale elemento che danneggia maggiormente l'intensità della fotosintesi. La fotosintesi non risente di una riduzione della quantità di acqua nel terreno fino a che questa non scende sotto il 35% dell'acqua disponibile. Rispetto alle disponibilità idriche del terreno, l'erba medica (*M. sativa*), in relazione alla sua origine da zone temperato-calde, presenta elevata adattabilità e resistenza all'aridità mentre risulta danneggiata da elevata umidità nel terreno. Pertanto: durante i periodi di siccità le piante possono entrare in dormienza per poi riprendere a vegetare non appena venga ripristinata una sufficiente dotazione idrica nel terreno; un eccesso idrico durante il periodo vegetativo porta all'asfissia dell'apparato radicale e alla morte; se l'eccesso idrico si verifica durante i mesi di stasi vegetativa non si ha alcuna conseguenza sulla pianta.

A parità di precipitazioni, lo stato idrico dipende ovviamente dalla **natura fisica del terreno**; sotto questo aspetto l'erba medica preferisce un terreno profondo e ben drenato in modo che l'apparato radicale possa penetrare negli strati inferiori senza incorrere in pericoli di ristagno idrico (Parrini e Bonari, 2002).

L'erba medica si adatta ai più svariati tipi di terreni; l'unica forte limitazione è rappresentata dall'**acidità del terreno**. Il pH ottimale è compreso tra 6,5 e 7,5 mentre valori inferiori a 6,5 ne rendono problematica la coltura (Salsano, 1991).

Nei riguardi delle **caratteristiche chimiche del terreno** l'erba medica è favorita da una buona dotazione di fosforo e potassio assimilabili. Sono altresì preferibili i terreni con buona dotazione di sostanza organica, purché non in eccesso. Nei confronti della salinità la medica è considerata una pianta mediamente sensibile (Parrini e Bonari, 2002).

## **1.4 Tecniche di coltivazione del medicaio**

### **1.4.1 Avvicendamento**

In base alla concezione tradizionale, l'erba medica viene considerata una delle colture miglioratrici per via di diversi aspetti: la durata poliennale (triennale o quadriennale) favorisce il miglioramento della struttura del terreno, l'instaurarsi di rapporti simbiotici con microrganismi azotofissatori al livello radicale migliora le caratteristiche chimiche del terreno, la notevole massa di residui vegetali che lascia nel terreno arricchisce il suo contenuto in sostanza organica, la sottoposizione a numerosi tagli annui le fa svolgere

un effetto rinettante. Per tali ragioni l'erba medica era inserita tradizionalmente nell'avvicendamento dopo un cereale autunno-vernino (coltura sfruttante) e prima di una sarchiata (coltura da rinnovo).

Tuttavia, il diffondersi di mezzi tecnici più soddisfacenti, nonché il ridotto peso dell'attività zootecnica hanno fortemente ridimensionato il ruolo dell'erba medica nella seconda metà del secolo XX. Attualmente è riconosciuto che la salvaguardia ambientale si basa, tra l'altro, nella realizzazione di un'agricoltura sostenibile, pertanto la coltura dell'erba medica risulta nuovamente considerata per via delle sue caratteristiche di coltura miglioratrice.

In merito alla specifica posizione nella rotazione, non c'è alcuna controindicazione nei riguardi della precessione; l'unica avvertenza da rispettare consiste nel verificare l'eventuale presenza nel terreno di residui di erbicidi tossici per la medica. Analogamente, ogni coltura, tra quelle più diffuse, può succedere all'erba medica; l'unica eccezione riguarda la successione dell'erba medica a se stessa. In questo caso infatti si potrebbe andare incontro a fenomeni di "stanchezza del terreno", legati all'accumulo nel terreno di secrezioni radicali della coltura precedente e organismi patogeni specifici dell'erba medica (Parrini e Bonari, 2002).

#### **1.4.2 Lavorazioni preparatorie del terreno**

Qualora il terreno fosse poco sminuzzato al momento della semina, allora i semi di erba medica troverebbero pochi punti di contatto e ciò ne potrebbe rallentare il rifornimento idrico e la germinazione. Le operazioni di preparazione del letto di semina sono volte a sgombrare il terreno dalle malerbe, aumentare la superficie di contatto tra seme e terreno, porre il seme alla profondità ottimale (0,6-1,2 cm) e favorire la penetrazione dell'acqua in modo da non determinare condizioni di ristagno idrico.

Tali operazioni possono essere eseguite in tempi e con modalità di esecuzione anche molto diversi in relazione alle condizioni pedo-climatiche in cui si opera; e soprattutto in funzione dell'epoca di semina. Infatti con la semina primaverile il coltivatore può avere a disposizione fino a sei mesi di tempo per l'esecuzione dei lavori, invece nel caso della semina autunnale gli stessi lavori devono essere ridotti di numero e concentrati in un periodo più breve (Parrini e Bonari, 2002).

Generalmente è auspicabile procedere con un'**aratura** profonda (35-45 cm), che in taluni casi può essere sostituita da una lavorazione a doppio strato, consistente da un'aratura più superficiale abbinata alla ripuntatura del terreno; l'aratura consente l'interramento dei residui della coltura precedente. A seguire si esegue l'**estirpatura**, al fine di ridurre la zollosità del terreno, correlata alla sua macroporosità, e di rimuovere le piante infestanti eventualmente emerse dopo l'aratura; l'estirpatura consente anche l'interramento dei concimi fosfatici e potassici di fondo, qualora non fosse già stata eseguita in precedenza con l'aratura. Poco prima della semina si esegue l'**erpatura** allo scopo di frantumare le zolle dello strato superficiale del terreno e parificare il letto di semina; qualora non si mostrasse sufficiente una sola erpatura si procede con più passaggi perpendicolari l'uno rispetto all'altro. Nel caso in cui si abbia esagerato con le operazioni di erpatura, prima della semina, si può tentare di ricompattare il terreno con una leggera **rullatura**; si può ricorrere alla rullatura anche in post-semina, nel caso in cui si presenti necessaria una maggior aderenza del terreno al seme, in questo caso però un successivo evento piovoso potrebbe essere controproducente, per via della possibile formazione di crosta superficiale nel terreno (Giardini, 2002).

### 1.4.3 Somministrazione elementi nutritivi

La concimazione da somministrare su un medicaio deve essere determinata, come per qualsiasi coltura, tenendo conto della dotazione del terreno, dell'entità delle asportazioni e delle condizioni climatiche. Il clima è intimamente connesso con la lunghezza del periodo di vegetazione della coltura, durante tutto il quale la richiesta di nutrienti è costante, infatti la pianta è in continuo sviluppo ed accrescimento.

Un medicaio può produrre circa 100-150 quintali fieno per Ha. Gli elementi nutritivi asportati da 100 q di fieno di erba medica sono riportati in **Tabella 3**.

**Tabella 3:** Elementi nutritivi asportati da 100 q di fieno di erba medica.

<b>N</b>	300 kg	<b>CaO</b>	300 kg
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	50 kg	<b>Mg</b>	50 kg
<b>K<sub>2</sub>O</b>	250 kg	<b>S</b>	50 kg

Per la coltura dell'erba medica è determinante la disponibilità di fosforo e potassio, ma può assumere importanza anche quella di taluni microelementi come Fe, Zn, Mn e B.

L'**azoto** è sicuramente il macroelemento meno necessario per una coltura di erba medica, per via dell'instaurarsi di rapporti simbiotici con i *Rhizobium* azotofissatori presenti nel terreno, come accade per buona parte delle fabaceae. I batteri simbiotici, con l'energia messa a disposizione dalla pianta sottoforma di sostanze ternarie, fissano l'azoto atmosferico ( $N_2$ ) come azoto ammoniacale ( $NH_4^+$ ) al livello dei noduli radicali (Taiz e Zeiger, 1998). Tali sostanze azotate vengono cedute dai batteri alla pianta in quantità sufficienti per il proprio ciclo biologico.

Per queste ragioni la concimazione azotata risulta essere quasi indifferente per la produttività dell'erba medica anche se può danneggiare la coltura perché favorisce sensibilmente lo sviluppo e la crescita di piante infestanti, soprattutto di specie nitrofile. Tuttavia in particolari casi può rivelarsi utile la somministrazione di una limitata concimazione azotata al medicaio: se si dovessero verificare condizioni climatiche estremamente sfavorevoli alla vita del rizobio dopo la semina primaverile o con condizioni sfavorevoli all'affrancamento delle piante in emergenza è opportuno distribuire 20-30 kg/Ha di N.

Il **fosforo** è un macroelemento estremamente importante per l'erba medica, per via della sua intensa attività meristemica. Dunque, nonostante il  $P_2O_5$  non venga asportato in quantità considerevoli (50-75 kg per Ha), la richiesta da parte della coltura è importante. Inoltre esso tende ad immobilizzarsi nel suolo, pertanto è necessario somministrarne molto più rispetto a quanto ne viene effettivamente assorbito dalla pianta.

La distribuzione viene eseguita in momenti diversi e con tre diverse modalità: 1) la concimazione di base si esegue con l'aratura o l'estirpatura per portare il fosforo nella disponibilità delle radici più profonde (120-200 kg/Ha di  $P_2O_5$ ); 2) la concimazione localizzata alla semina si esegue posizionando il fosforo nella prossimità del seme, in modo da renderlo subito disponibile per le giovani piante in emergenza, favorendo il loro affrancamento (30-40 kg/Ha di  $P_2O_5$ ); la concimazione in copertura viene eseguita anno dopo anno all'inizio dell'inverno, per rinnovare lo strato più superficiale di fosforo nel terreno (40-150 kg/Ha di  $P_2O_5$ ).

Il contenuto di **potassio** nell'erba medica è secondo solamente all'azoto. Esso pertanto rappresenta un macroelemento decisivo per ottenere produzioni elevate e di buona qualità. L'erba medica è una pianta provvista di numerose foglie, quindi si hanno elevati livelli di traspirazione; il coefficiente di evapotraspirazione dell'erba medica è uno dei più elevati tra quelli misurati in Italia per le colture agrarie: sono necessari fino a 1000 litri di acqua per produrre un kg di sostanza secca ( $Cet = 645-1040$ ; Giardini, 2002). Il potassio è l'elemento che regola la traspirazione, dunque funge un ruolo centrale in questa coltura.

La concimazione di base viene eseguita con l'aratura o l'estirpatura al fine di approfondire il potassio nel terreno ( $150-200 \text{ kg/Ha } K_2O$ ); la concimazione in copertura viene eseguita anno dopo anno insieme al fosforo con dosi che possano pareggiare il bilancio delle asportazioni ( $250-350 K_2O$ ).

La somministrazione di microelementi importanti per l'erba medica, se non in casi eccezionali, non costituisce motivo di preoccupazione, in quanto essi sono presenti in quantità sufficienti nel terreno o nei fertilizzanti fosfatici e potassici normalmente impiegati (Parrini e Bonari, 2002).

#### **1.4.4 Semina**

La semina dell'erba medica può essere eseguita in due diverse epoche: autunnale, in fine estate, oppure primaverile, in fine inverno. La semina autunnale viene eseguita tra la metà di agosto e la metà di settembre; essa si propone di ridurre il periodo che intercorre tra la fine del cereale autunno-vernino e l'inizio della presenza in campo del medicaio e di mettere il medicaio sin dal primo anno di entrata in produzione nelle condizioni di fornire un'elevata produttività. Bisognerebbe dare alle plantule di erba medica sufficiente tempo per svilupparsi e accumulare riserve per poter affrontare il primo inverno di vita, pertanto le lavorazioni preparatorie del terreno spesso vengono ridotte di numero e intensità al fine di non posticipare troppo la data di semina.

La semina primaverile viene eseguita tra fine febbraio e fine marzo; essa sottrae le giovani piante ai rigori invernali e consente di eseguire le lavorazioni del terreno con maggior tranquillità; di contro però viene sottratto un taglio annuale al medicaio, a



scapito della produttività globale del primo anno. Bisognerebbe non anticipare troppo l'epoca di semina, in quanto temperature ancora troppo basse possono nuocere alla vitalità dei rizobi azotofissatori.

La quantità di seme da impiegare nella semina dev'essere valutata tenendo presente le ridotte dimensioni del seme e il tipo di terreno in cui si opera. In particolare: con terreni sciolti, di medio impasto, permeabili e ben dotati di umidità si possono usare 5-15 kg/Ha; nella maggioranza dei casi, con terreni argillosi e quindi piuttosto pesanti il quantitativo può variare da 20 fino a 40 kg/Ha.

Il seme dovrebbe essere deposto ad una profondità ottimale compresa tra 6 e 12 mm. La distribuzione può essere eseguita a file o a spaglio; la distribuzione a file (inter-fila di 15-20 cm) è più regolare e consente l'esecuzione della concimazione localizzata alla semina; mentre quella a spaglio non consente sempre un buon interrimento del seme, pertanto in questo caso la dose di semina dovrebbe essere aumentata precauzionalmente del 20-30% (Parrini e Bonari, 2002).

#### **1.4.5 Irrigazione**

L'erba medica (*M. sativa*), essendo di origine mediterranea, teme più gli stress idrici legati a situazioni di eccesso che di carenza. Tuttavia è stato osservato che l'erba medica risponde bene all'irrigazione in condizioni di non sufficiente rifornimento idrico naturale. I consumi idrici unitari variano notevolmente in funzione della lunghezza del periodo vegetativo. Si ritiene che le migliori condizioni per l'accrescimento dell'erba medica si hanno allorché l'acqua nella zona radicale è compresa tra il 35% e l'85% dell'acqua disponibile; in terreni poco profondi o con scarsa capacità di trattenuta idrica il limite minimo viene aumentato al 50%.

Nei terreni profondi della pianura padana l'irrigazione non è quasi mai necessaria, per via degli apporti dalle piogge e dalle falde. Nel caso in cui fosse necessaria l'irrigazione bisogna fare attenzione ad anteporre l'evento irriguo rispetto al taglio di almeno 8 giorni. I metodi di distribuzione dell'acqua irrigua maggiormente adottati nell'irrigazione dell'erba medica del nostro paese sono lo scorrimento superficiale e l'aspersione (Parrini e Bonari, 2002).

#### **1.4.6 Lotta alle piante infestanti**

Per prevenire l'infestazione dell'erba medica nell'anno d'impianto è opportuno ricorrere, dopo l'erpicoltura, alla tecnica della "falsa semina": si fanno crescere le plantule delle specie annuali di tipo ruderali presenti nel terreno per poi eseguire una nuova erpicatura o un diserbo chimico prima della semina dell'erba medica. Inoltre, per ostacolare le malerbe nell'anno d'impianto è buona prassi far succedere il medicaio ad una coltura depauperante nei confronti dell'azoto e dosare in maniera opportuna le concimazioni fosfatiche e potassiche di base. Qualora queste tecniche fossero risultate insufficienti si può decidere d'intervenire con erbicidi in medicai di nuovo impianto in pre-semina, in pre-emergenza o in post-emergenza.

Dopo l'insediamento del medicaio, la gestione dei tagli, delle concimazioni e delle eventuali irrigazioni dovrebbe essere effettuata in maniera tale da non creare mai situazioni di stress per l'erba medica, che potrebbero favorire l'insediamento delle malerbe; comunque qualora fosse necessario, sono disponibili diversi principi attivi dicotilenicidi e graminicidi da utilizzare su impianti in produzione (Parrini e Bonari, 2002).

## **1.5 Raccolta del prodotto e persistenza del medicaio**

### **1.5.1 Raccolta del prodotto**

Nell'individuare l'epoca di taglio più adatta si devono conciliare, da un lato, le esigenze della pianta – che prima del taglio deve avere incamerato le sostanze di riserva necessarie al ricaccio dopo il taglio – e, dall'altro, quelle dell'agricoltore, che ha lo scopo di massimizzare la produzione di sostanze nutritive digeribili dal medicaio e velocizzare le operazioni di raccolta. Queste esigenze non sono perfettamente conciliabili e nel determinare il momento del taglio è quasi sempre necessario trovare una soluzione di compromesso.

Per la pianta, il momento migliore per l'esecuzione del taglio sarebbe nella fase di piena fioritura; infatti ciò permetterebbe alla pianta di accumulare più elevati quantitativi di riserve nella corona e nelle radici, a vantaggio della persistenza del medicaio. D'altro canto, il foraggio ottenuto dall'erba medica tagliata in fase di pre-fioritura ha una concentrazione più elevata di sostanze nutritive nella sostanza secca ed un più alto coefficiente di digeribilità, anche se la produzione risulta quantitativamente più bassa; tuttavia un taglio eseguito troppo precocemente non permette alla pianta di rimpiazzare

le riserve in maniera adeguata. Le più elevate produzioni di sostanze nutritive digeribili si ottengono eseguendo il taglio al 10% della fioritura. Passando dallo stadio d'inizio fioritura a quello di fine fioritura aumenta la produzione di sostanza secca ma buona parte di tale incremento è conseguenza di una maggiore ricchezza in costituenti fibrosi. La produzione di sostanze nutritive digeribili, proteine e sali minerali diminuisce dopo l'inizio della fioritura a causa della perdita di foglie basali per senescenza, allettamento o altri fattori.

Nella pianura padano-veneta, di norma, il primo taglio dell'anno viene eseguito durante la prima quindicina del mese di maggio, periodo in cui le piante di erba medica non hanno ancora cominciato a fiorire, vengono pertanto tagliate nella fase di ricaccio basale; il taglio "maggegnò" può essere costituito per oltre il 50% dalle graminacee infestanti del medicaio stesso. I tagli successivi al primo possono essere regolati in base al momento in cui la pianta raggiunge circa il 10% della fioritura. Per l'ultimo taglio della stagione, invece, accade che la temperatura non raggiunga livelli sufficienti ad indurre la differenziazione di gemme a fiore; anche in questo caso, quindi le piante vengono tagliate senza basarsi sul criterio basato sulla presenza di fiori.

L'intervallo tra un taglio ed il successivo può essere molto variabile soprattutto in funzione del clima dell'annata e della precocità della CultiVar di medica adottata, pertanto non è possibile fissare a priori il calendario dei tagli. Generalmente, l'ultimo taglio non dovrebbe essere fatto oltre il 10 ottobre e si adottano intertagli variabili da 27 a 35 giorni; da cui deriva la possibilità di ottenere cinque tagli per anno anche se, nelle annate più favorevoli per il clima oppure con le CultiVar capaci di una ripresa vegetativa più rapida, si possono eseguire fino a sei tagli.

Nei medicai condotti in maniera intensiva per la produzione di sfalci di elevata qualità, a scapito della persistenza della coltura, è possibile adottare un vero e proprio calendario dei tagli, con intervalli di 20-25 giorni, perciò complessivamente si può giungere ad effettuarne fino a 6-7 l'anno. Una tale gestione ovviamente comporta una concimazione potassica di notevole quantità ed un impiego oculato dell'irrigazione.

La produzione del primo anno dell'erba medica è mediamente di 5-7 t S.S./Ha; negli anni successivi sale a 12-15 t S.S./Ha; per poi scendere all'ultimo anno a 8-11 t S.S./Ha (Parrini e Bonari, 2002).

### 1.5.2 Persistenza del medicaio

Gli aspetti gestionali più importanti nel determinare la durata della coltura di erba medica sembrano essere la conduzione autunnale del medicaio e soprattutto l'intervallo fra un taglio e l'altro.

Al fine di perseguire una maggiore durata del medicaio, riveste notevole importanza l'epoca di esecuzione dell'ultimo taglio. Poiché la sopravvivenza della coltura all'inverno dipende dalla quantità di riserve accumulate alla fine del periodo vegetativo nel fittone e nella corona, l'ultimo taglio non dovrebbe essere eseguito troppo tardivamente, per dar modo alla pianta di ricacciare e quindi di ricostituire le riserve prima dell'avvento dei freddi invernali.

Sono stati eseguiti numerosi studi in merito all'effetto del taglio autunnale sullo stato nutrizionale dell'erba medica in inverno. Dhont *et al.* (2002) hanno dimostrato che il taglio autunnale non influenza consistentemente le concentrazioni di TNC delle radici, ma diminuisce marcatamente il contenuto complessivo di TNC, specialmente nelle piante tagliate dopo 400 GDD (*Growing Degree Days*) dal penultimo taglio. In una ricerca di Dhont *et al.* (2003) le concentrazioni di azoto sono apparse notevolmente ridotte nelle piante tagliate dopo 400 o 500 GDD dal penultimo taglio; il notevole accumulo di prolina, arginina, e istidina osservato in autunno è stato ridotto dai tagli autunnali, specialmente nelle piante tagliate a 400 o 500 GDD; le concentrazioni della proteina di 32 kDa è stata ridotta dai tagli eseguiti dopo 400 o 500 GDD dal penultimo. Haagensohn *et al.* (2003b) hanno rilevato che il taglio autunnale riduce le concentrazioni di proteine e amidi nelle radici in dicembre, ma inaspettatamente aumenta le concentrazioni di zuccheri nelle radici; da cui si potrebbe evincere una sostanziale conferma della non influenza del taglio autunnale sulle concentrazioni di TNC (Dhont *et al.*, 2002). Recentemente è stato chiarito che un taglio autunnale precoce del medicaio riduce l'accumulo radicale di specifiche riserve azotate come la prolina, arginina, istidina e VSP che sono legate positivamente alla vigoria del ricaccio primaverile ma scarsamente legate alla sopravvivenza invernale (Dhont *et al.*, 2006).

Negli ultimi cinquant'anni la durata media del medicaio si è ridotta da 5-7 anni a 2-4 anni per diverse concause. Tra queste è necessario ricordare che la meccanizzazione ha comportato una riduzione dell'impegno fisico dell'agricoltore nell'esecuzione dei vari tagli e, di conseguenza, si è verificato un incremento nel numero. Inoltre la tendenza

attuale degli allevatori sembra proprio quella di sfruttare tagli anticipati in grado di sfruttare foraggio di maggiore qualità per il bestiame, così facendo si assiste però ad una riduzione degli intertagli a 23-25 giorni.

Gli effetti degli sfalci anticipati si ripercuotono negativamente sulla sopravvivenza del medicaio; frequenti interventi spossano la coltura che tende quindi ad una progressiva riduzione della capacità di ricaccio. Al contrario, i tagli non troppo precoci se da un lato offrono foraggio di minor qualità, dall'altro determinano un minore sfruttamento della coltura che si traduce in un maggior vigore delle singole piante, senza compromettere la sopravvivenza del medicaio (Talamucci, 1970).

## **1.6 Pregi nutrizionali e utilizzazione del prodotto**

L'erba medica risponde in maniera completa alle esigenze alimentari delle vacche da latte, vi si attribuisce infatti un elevato valore nutritivo e una buona appetibilità. L'alto valore nutritivo è determinato essenzialmente dal considerevole contenuto in proteine, nonché in caroteni e xantofille; inoltre la medica presenta un modesto contenuto in carboidrati strutturali (30-35%), soprattutto se confrontato con quello presente nelle graminacee (fino al 70%). Si ricorda altresì che la medica è molto ricca in vitamine, in particolare del complesso B, e di elementi minerali, fra cui è doveroso ricordare il calcio per via del suo importante ruolo alimentare.

Le parti della pianta che presentano i maggiori valori proteici sono le foglie (25-30% della sostanza secca); mentre gli steli sono più ricchi in fibra, e con la maturità aumentano il contenuto di lignina, responsabile di una minore digeribilità del foraggio, sebbene nella medica proprio i costituenti strutturali delle cellule determinino un'azione tampone a livello ruminale, ciò che permette una corretta utilizzazione della frazione endocellulare (Andrighetto *et al.*, 1994).

Fatta eccezione per i casi non molto frequenti di utilizzazione fresca, le forme più comuni di utilizzazione del foraggio di erba medica sono rappresentate dal fieno, dall'insilato e dalla farina di medica disidratata. L'utilizzazione a fieno è indubbiamente la più diffusa nel nostro paese; durante il processo di fienagione si ha una riduzione di circa 5 punti percentuali di proteina grezza rispetto al foraggio verde; questo si giustifica con la perdita di foglie durante il processo di fienagione e il conseguente contributo percentuale degli steli alla produzione.

La conservazione del prodotto tramite insilamento o la formazione di farina di medica disidratata comporta perdite di proteina grezza inferiori rispetto alla fienagione, infatti si ottengono a partire da foraggi ancora freschi o semiappassiti, quindi si ha una minor perdita di foglie. Durante l'insilamento si verificano perdite molto limitate; tuttavia, durante la conservazione del prodotto possono intervenire modificazioni indesiderate, come la formazione di tossine. La composizione della farina di erba medica disidratata è praticamente identica a quella del foraggio verde; ciò avviene in virtù della rapidità con cui questo processo trasforma il foraggio fresco nel prodotto finale, perciò le cellule mantengono pressoché inalterate le caratteristiche qualitative del citoplasma (Parrini e Bonari, 2002).

## **1.7 CultiVar di erba medica**

In Italia le colture di erba medica sono formate in parte da ecotipi e in parte da varietà sintetiche; è difficile però stimare l'ammontare di queste due porzioni.

Buona parte di queste colture è ancora occupata da ecotipi, ossia popolazioni originatesi in particolari condizioni ambientali, sotto l'effetto della selezione sia naturale sia antropica, per questo risultano particolarmente adatte a vivere nelle condizioni pedologiche e climatiche ma anche a reagire positivamente alle modalità di gestione caratteristiche delle zone in cui sono stati selezionati. L'impiego in una determinata area dell'ecotipo originario o di un ecotipo proveniente da zone molto simili permette di ottenere medicai di maggiore durata, perché costituiti da piante adatte all'ambiente in cui vengono coltivate. Queste popolazioni locali tuttavia presentano un'elevata suscettività ai parassiti più comuni e un'accentuata variabilità individuale. Gli ecotipi non sono più presenti nel Registro Nazionale delle Varietà delle specie di piante agricole, per effetto del D.M. 3.3.1995 che dispone la cancellazione degli ecotipi dal R.N.V. a decorrere dal 2003, da quando possono essere certificate solamente colture di erba medica da seme derivate da varietà sintetiche (Parrini e Bonari, 2002).

Le varietà sintetiche sono frutto del lavoro di miglioramento eseguito dai genetisti; esse garantiscono all'agricoltore un maggior risultato dal punto di vista della quantità e della qualità di produzione; d'altra parte però comportano una riduzione della longevità del medicaio. Inoltre le varietà sintetiche sono contraddistinte da un'elevata omogeneità, di contro però richiedono di essere poste in condizioni ottimali dall'agricoltore. La

scomparsa degli ecotipi dal mercato presumibilmente comporterà che il miglioramento genetico dell'erba medica porterà alla trasformazione degli ecotipi in varietà caratterizzate da valore agronomico, distinguibilità e stabilità, condizioni necessarie e sufficienti affinché sia possibile l'iscrizione al R.N.V. (Lorenzetti, Falcinelli e Veronesi, 1994).

## **2. SCOPO DELLA RICERCA**





## 2.1 Premessa

### 2.1.1 Sostanze di riserva e fluttuazioni stagionali

L'assorbimento di nutrienti (Kim *et al.*, 1993) e la fotosintesi (Clement *et al.*, 1978; Richards, 1993) vengono notevolmente ridotti dopo l'esecuzione dei tagli. Di conseguenza, la formazione dei nuovi ricacci dipende soprattutto dalla mobilitazione delle riserve di azoto e di TNC (*Total Nonstructural Carbohydrates*) accumulati nella radice e nella corona (Davidson e Milthorpe, 1966; Chung e Trilca, 1980; Ourry *et al.*, 1988; Baur-Hoch *et al.*, 1990; Lefevre *et al.*, 1991; Volenec *et al.*, 1996).

I carboidrati di riserva sono considerati i materiali non strutturali che possono essere metabolizzati in vari tessuti vegetali e poi successivamente essere utilizzati per la respirazione, lo sviluppo e l'accrescimento. Le riserve principali delle piante erbacee sono costituite da zuccheri, fruttosani, amido e raramente emicellulosa. Cellulosa ed emicellulosa sono infatti materiali con funzione prevalentemente strutturale e non è ancora stato dimostrato che si possano convertire in sostanze meno complesse e fungere da riserva (Troughton, 1957). Numerosi carboidrati di riserva, tra cui gli zuccheri solubili e i fruttosani costituiscono il *pool* dei WSC (*Water Soluble Carbohydrates*).

Nell'erba medica il contenuto di sostanze di riserva è soggetto a sensibili oscillazioni stagionali e secondo il tipo di utilizzazione della coltura. In generale, la concentrazione dei TNC dei fittoni decresce per un certo periodo dopo il taglio e poi aumenta con la traslocazione di fotosintati prodotti dai nuovi apici vegetativi (Pearce *et al.*, 1969; Reynolds, 1971). Smith e Silva (1969) hanno calcolato che il 15% dei TNC presenti delle radici viene utilizzato per la respirazione, mentre il 66% viene destinato alla produzione di nuove radici e ricacci. Dopo la prima settimana di ricaccio, gran parte dell'incremento di peso della pianta deriva dalla corrente produzione fotosintetica. Smith e Marten (1970) hanno ritrovato il 40% dei TNC nei primi ricacci; tuttavia, al massimo il 9% dei carboidrati di riserva viene utilizzato per la formazione di nuovi tessuti strutturali, mentre il rimanente 31% intraprende altre vie metaboliche.

Skinner *et al.* (1999) hanno osservato che la diminuzione delle concentrazioni di TNC negli organi di riserva inizia dopo il taglio. In alcuni casi, tuttavia, l'effettivo contenuto di TNC delle radici e delle corone rimaneva costante per i primi 4 giorni successivi al taglio prima di cominciare a decrescere. Si è ritenuto che in questi casi, le

concentrazioni di TNC fossero calate perché le radici e le corone avevano continuato a produrre sostanza secca strutturale senza un contemporaneo accumulo di TNC; questo mutamento nella ripartizione dei nuovi assimilati tra crescita strutturale e non strutturale sarebbe stato poi seguito dalla mobilitazione delle riserve di TNC.

È noto che in regime di tagli frequenti le piante del medicaio non sono in grado di riportare la concentrazione di carboidrati contenuti negli organi di riserva a livelli sufficientemente elevati (Graber *et al.*, 1927; Bryant e Blaser, 1964; Reynolds, 1971). Inoltre si è visto che gli effetti dell'ambiente sull'accumulo di carboidrati nella porzione superiore del fittone e nella corona sono strettamente connessi con quelli sull'accrescimento della pianta; infatti quando la temperatura comincia a salire, in primavera, inizia l'accrescimento e diminuiscono i carboidrati accumulati nelle radici; inversamente, l'abbassarsi delle temperature in autunno riduce l'attività vegetativa della pianta e induce l'accumulo di carboidrati negli organi di riserva, mentre l'amido si modifica in zuccheri più semplici (Parrini e Bonari, 2002).

In aggiunta alle fluttuazioni come risposta ai tagli, all'abbassarsi delle temperature e alla ripresa delle attività vegetative è stato osservato anche che le concentrazioni di carboidrati non strutturali sono soggette ad un graduale calo durante l'inverno (Bula e Smith, 1954; Reynolds, 1971).

In uno studio dell'effetto degli apporti di CO<sub>2</sub> e N sulla mobilitazione delle riserve durante i primi 20 giorni successivi al taglio, l'erba medica è stata messa a confronto con due specie graminacee: *Pascopyrum smithii* (Rydb) A. Love e *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag ex Steud. Facendo la media tra i diversi trattamenti l'erba medica ha mostrato la maggiore mobilitazione di N (50%) mentre *B. gracilis* e *P. smithii* sono apparse simili con il 36 e il 38% di mobilitazione, rispettivamente (Skinner *et al.*, 1999).

### **2.1.2 Carboidrati negli organi di riserva e sopravvivenza invernale**

I carboidrati non strutturali del fittone possono fornire energia e sostanza secca per lo sviluppo e il mantenimento delle parti epigee e ipogee delle piante durante i periodi con fotosintesi non adeguata (Matches *et al.*, 1963). I carboidrati non strutturali possono essere utilizzati per aumentare la resistenza al freddo, fornire riserva di energia respiratoria durante l'inverno, e iniziare la ripresa vegetativa in primavera. Per tali

ragioni, l'influenza della gestione dei tagli sul livello di TNC deve essere considerata prima del periodo di dormienza invernale (Smith, 1968).

La tolleranza al freddo nell'erba medica può essere indotta con l'esposizione a basse temperature; quest'acclimatazione è il risultato di numerosi cambiamenti biochimici, ivi compreso l'accumulo di notevoli quantità di saccarosio a spese delle riserve di amido negli organi svernanti (McKenzie *et al.*, 1988). Si è pensato che il saccarosio possa aiutare le piante a sopravvivere alla severa disidratazione imposta dalla formazione di ghiaccio extracellulare stabilizzando le membrane e le proteine (Hoekstra *et al.*, 1989). Accumuli simili di saccarosio sono stati descritti durante la fase di disidratazione dei semi in maturazione (Koster e Leopold, 1988; Leprince *et al.*, 1990; Chen e Buris, 1990) e del polline (Hoekstra e van Roekel, 1988; Hoekstra *et al.*, 1989). In aggiunta al saccarosio, nei semi in maturazione si accumulano anche saccaridi contenenti galattosio (Koster e Leopold, 1988; Leprince *et al.*, 1990; Chen e Buris, 1990). I risultati di Leprince *et al.* (1990) e Blackman *et al.* (1992) indicano che questi oligosaccaridi possono giocare un ruolo chiave nella tolleranza delle cellule alla disidratazione. Ooms *et al.* (1993) hanno mostrato che il raffiniosio e lo stachiosio si accumulano solo nei semi di *Arabidopsis* tolleranti la disidratazione. L'accumulo di raffiniosio nelle alghe dopo uno shock dovuto a basse temperature (Salerno e Pontis, 1989) e di raffiniosio e stachiosio nelle gimnosperme non giustificato nella stagione fredda (Kandler e Hopf, 1982) suggeriscono che questi oligosaccaridi possano essere coinvolti nella tolleranza agli stress da freddo, probabilmente mediante un ruolo protettivo contro la disidratazione cellulare dovuta al gelo. Nelle piante superiori, è stato mostrato che i disaccaridi stabilizzano le membrane durante la disidratazione cellulare prevenendo la fase di separazione e la fusione della membrana (Hoekstra *et al.*, 1989). A prescindere dal loro ruolo nelle membrane, i disaccaridi possono anche aiutare a mantenere l'attività di enzimi chiave nello stato disidratato (Crowe *et al.*, 1990). Bruni e Leopold (1991) hanno suggerito che l'abilità dei disaccaridi di proteggere le membrane e le proteine dalla disidratazione potrebbe essere legata alla loro capacità di formare uno stato vitreo che rallenterebbe i movimenti molecolari e aiuterebbe a minimizzare le interazioni dannose tra componenti cellulari.

Castonguay *et al.* (1995) hanno studiato se le differenze di tolleranza al gelo tra le CultiVar di erba medica con diversa sopravvivenza invernale fossero legate alla capacità

delle piante di accumulare oligosaccaridi contenenti galattosio (RFO): raffiniosio e stachiosio. Con le basse temperature si è avuto un accumulo di saccarosio, raffiniosio, e stachiosio in coincidenza con una diminuzione dei livelli di amido. Questo ha confermato precedenti indicazioni di significativi incrementi delle concentrazioni di saccarosio nelle radici e corone dell'erba medica durante l'acclimatazione alle basse temperature (McKenzie *et al.*, 1988). Questi esperimenti hanno consentito per la prima volta di documentare che l'acclimatazione al freddo dell'erba medica è associata con un marcato incremento nella corona dei livelli degli oligosaccaridi RFO e che il loro accumulo differisce notevolmente tra le CultiVar di erba medica. Tali risultati sono stati confermati in studi più recenti, in cui è stata mostrata una notevole relazione tra la concentrazione di raffiniosio e stachiosio nelle radici e la sopravvivenza invernale delle piante di erba medica (Cunningham *et al.*, 2003). L'accumulo di carboidrati alle basse temperature potrebbe essere parte di meccanismi adattativi che aiutano a stabilizzare le membrane durante la disidratazione indotta dal gelo.

È stato mostrato che stachiosio e raffiniosio, non rilevabili nelle piante non acclimate, sono aumentati nelle CultiVar di erba medica resistenti al freddo, mentre non si sono accumulati altrettanto nelle CultiVar non resistenti. Questo risultato concorda con le indicazioni di Blackman *et al.* (1992) e LePrince *et al.* (1990), secondo cui la comparsa di stachiosio è un importante indicatore per l'acquisizione di tolleranza alla disidratazione nella soia e in *Brassica campestris*. Ooms *et al.* (1993), utilizzando mutanti di *Arabidopsis* insensibili all'acido abscissico, hanno dimostrato che il raffiniosio e lo stachiosio si accumulano solo nei semi tolleranti alla disidratazione. Nelle gimnosperme tolleranti al freddo, inoltre lo stachiosio si accumula in seguito a un periodo molto freddo (Kandler e Hopf, 1982). È stato dimostrato che gli RFO consentono la disponibilità di saccarosio nelle cellule disidratate prevenendone la cristallizzazione (Caffrey *et al.*, 1988). Hince (1990) ha indicato che la loro efficienza crioprotettiva potrebbe essere il risultato di complesse interazioni strutturali con gruppi lipidici.

Inoltre l'acclimatazione al freddo ha provocato notevoli accumuli di saccarosio nelle corone; è stato osservato che il saccarosio è aumentato più lentamente in autunno nelle CultiVar non resistenti all'inverno rispetto a quelle resistenti. Ciò concorda con una pubblicazione di Duke e Doehlert (1981) in cui le CultiVar di erba medica resistenti

avevano mostrato livelli maggiori di saccarosio a inizio autunno rispetto alle CultiVar non resistenti.

Più in generale, Haagenson *et al.* (2003a), in accordo con gli studi di cui si è detto, hanno dimostrato che le concentrazioni di zuccheri nelle radici di erba medica prelevate in tardo autunno sono positivamente correlate con la successiva sopravvivenza invernale della pianta.

Infine, nello studio di Castonguay *et al.* (1995), anche le concentrazioni di amido delle corone sono apparse legate alla tolleranza al freddo dell'erba medica; effettivamente, dato che non è stata riportata una notevole correlazione tra livello di amido e tolleranza al gelo, in accordo con McKenzie *et al.* (1988), è improbabile che l'amido possa avere un effetto diretto sulla tolleranza al gelo. Tuttavia è stato mostrato che temperature gelide provocano la conversione di amido in saccarosio e altri oligosaccaridi. Questi risultati spiegano precedenti osservazioni su una seconda ondata di zuccheri nelle corone di erba medica in tardo autunno (McKenzie *et al.*, 1988).

Si può concludere che i vari studi presenti in letteratura mostrano tutti una relazione positiva tra la sopravvivenza delle piante di erba medica in inverno e i contenuti autunnali entro gli organi di riserva di molecole di natura idrocarburica. Entro queste, poi, quelle più specificatamente legate all'acclimatazione al freddo sembrerebbero essere gli oligosaccaridi RFO (stachiosio e raffiniosio).

### **2.1.3 Riserve azotate e sopravvivenza invernale**

L'acclimatazione al freddo dell'erba medica è caratterizzata da significative mutazioni biochimiche, tra cui variazioni nella composizione degli zuccheri solubili, aminoacidi, proteine, ed espressione genica (McKenzie *et al.*, 1988; Castonguay *et al.*, 1997). Un consistente numero di prove indica che i contenuti endogeni di sostanze azotate che si accumulano nel fittone durante l'autunno potrebbero avere un ruolo importante nel potenziale di svernamento dell'erba medica. Per esempio, le concentrazioni di prolina libera aumentano durante l'acclimatazione autunnale e sono state correlate positivamente con la tolleranza al gelo (Paquin e Pelletier, 1981). Inoltre è stato suggerito che le VSP (*Vegetative Storage Protein*) dell'erba medica possano essere coinvolte nell'adattamento al freddo, sulla base della loro maggiore abbondanza nelle specie di *Medicago* perenni resistenti all'inverno rispetto a quelle annuali (Cunningham

e Volenec, 1996) e del loro accumulo in autunno come risposta al fotoperiodo decrescente (Noquet *et al.*, 2001). Bula *et al.* (1956) hanno trovato una correlazione positiva tra l'aumentato livello di proteina solubile in autunno e la successiva sopravvivenza invernale delle CultiVar resistenti. Hendershot e Volenec (1993) hanno riportato che le proteine e gli aminoacidi solubili in *buffer* aumentano in autunno e inizio inverno, e diminuiscono in primavera all'inizio della ripresa vegetativa; e che i genotipi non resistenti all'inverno mostrano concentrazioni di proteina e aminoacidi minori rispetto ai genotipi resistenti. Sono state identificate tre proteine VSP (32, 19 e 15 kDa) la cui concentrazione nelle radici aumenta marcatamente durante l'acclimatazione al freddo in autunno; queste proteine vengono largamente utilizzate come fonte di azoto per il ricaccio iniziale in primavera e durante il ricaccio post-taglio in estate (Hendershot e Volenec, 1993; Avice *et al.*, 1996; Barber *et al.*, 1996; Cunningham e Volenec, 1998; Noquet *et al.*, 2001). Le radici delle CultiVar resistenti all'inverno accumulano più proteina in dicembre rispetto alle radici delle piante che non sopravvivono all'inverno (Li *et al.*, 1996; Cunningham *et al.*, 1998 - 2001). Inoltre nelle radici e nelle gemme della corona delle CultiVar resistenti appaiono diversi polipeptidi indotti dal freddo durante l'acclimatazione al freddo che non sono presenti nelle radici e nelle gemme delle piante che soccomberanno al freddo invernale (Castonguay *et al.*, 1993; Cunningham *et al.*, 1998).

Dhont *et al.* (2003) hanno riportato che tre aminoacidi specifici (prolina, arginina e istidina) si sono accumulati sorprendentemente nei fittoni dell'erba medica durante l'autunno. L'istidina libera, insieme alla prolina e l'arginina, potrebbe svolgere un ruolo di osmoregolatore nella pianta come risposta agli stress (Rai, 2002). La prolina è il soluto maggiormente compatibile che si accumula nelle piante come risposta agli stress abiotici (Franco e Melo, 2000) e il suo accumulo può essere legato all'acclimatazione al freddo in diverse specie di piante, tra cui i semi di *Cichorium intybus* e *Taraxacum officinale* (Cyr *et al.*, 1990), *Arabidopsis thaliana* (Nanjo *et al.*, 1999) ed erba medica (McKenzie *et al.*, 1988). Tuttavia, il suo ruolo nell'acquisizione della tolleranza al freddo rimane poco chiaro, infatti l'aumento della tolleranza al gelo talvolta precede il suo accumulo (Paquin, 1984; Wanner e Junttila, 1999); Kim *et al.* (2004) hanno proposto un ruolo alternativo per la prolina: come detossificatore dell'azoto in eccesso nelle piante stressate dagli eccessi idrici di trifoglio bianco. Un'associazione possibile

dell'arginina con l'acquisizione della tolleranza al freddo è stata inoltre documentata in molte specie, tra cui il pino (*Pinus radiata*) (Coker, 1991), *Vaccinium myrtillus* (Lähdesmaki *et al.*, 1990), e trifoglio bianco (Svenning *et al.*, 1997). L'arginina potrebbe agire come precursore nella biosintesi di poliammine, un gruppo di ammine di basso peso molecolare che sono coinvolte nella protezione contro molti stress ambientali (Bouchereau *et al.*, 1999).

In uno studio di campo, il taglio autunnale ha condizionato una diminuzione dei livelli di proteine solubili e VSP nelle radici dell'erba medica (Dhont *et al.*, 2006). La riduzione di queste riserve azotate causata da un taglio eseguito a metà ottobre è stato dimostrato essere associato ad un'accresciuta mortalità invernale (Haagenson *et al.*, 2003b), supportando l'ipotesi che le VSP svolgono ruoli addizionali oltre al loro contributo come fonte di azoto, tra cui la difesa della pianta contro gli attacchi da patogeni e la tolleranza a temperature gelide (Avice *et al.*, 2003).

Dunque il contenuto di riserve azotate degli organi svernanti si ritiene essere associato con la capacità di sopravvivenza invernale dell'erba medica; in particolare i ricercatori concordano nell'attribuire un ruolo chiave in tal senso alle proteine VSP e ad alcuni aminoacidi specifici (prolina, arginina e istidina).

#### **2.1.4 Livelli di espressione di geni attivati dal freddo**

Le differenze genetiche di sopravvivenza invernale dell'erba medica sono state studiate per decenni, ma i meccanismi fisiologici e molecolari che controllano la resistenza all'inverno non sono stati ancora del tutto compresi. La Galattinolo sintasi (GaS) catalizza il primo evento della biosintesi di zuccheri RFO e potrebbe avere un ruolo chiave nella regolazione della partizione del carbonio tra saccarosio e RFO negli organi svernanti. In uno studio di Cunningham *et al.* (2003) le variazioni delle concentrazioni di RFO nei fittoni sono apparse correlate positivamente con l'incremento dei livelli di trascritti genici GaS; il livello di trascritti GaS nelle corone è aumentato con 8 ore di esposizione a basse temperature, inoltre l'espressione è stata fortemente incrementata con l'esposizione di questi stessi tessuti a  $-2^{\circ}\text{C}$  per due settimane; l'induzione dei trascritti GaS è avvenuta anche in campo a novembre nelle radici e corone delle CultiVar e popolazioni resistenti al freddo. Nello stesso esperimento le piante non resistenti all'inverno avevano accumulato trascritti GaS solo in dicembre, ma ciò non



aveva portato ad un accumulo sufficiente di RFO nelle radici. Ciò sottolinea l'importanza dell'opportuna espressione di GaS in autunno per dare abbastanza tempo agli RFO per accumularsi fino a livelli sufficienti per fornire resistenza al freddo.

L'induzione da parte del freddo dei geni GaS è stata osservata in altre specie vegetali. Sprenger e Keller (2000) hanno identificato due cDNA per GaS in *Ajuga reptans* L., una labiata sempreverde resistente al gelo; Liu *et al.* (1998) hanno riportato che le basse temperature innalzano i livelli di trascritti GaS mRNA nei tessuti vegetativi di *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., e questi trascritti diminuiscono con l'esposizione a temperatura ambiente; Taji *et al.* (2002) hanno riportato che l'espressione dei geni GaS in *A. thaliana* è legata a situazioni di stress: l'espressione di due dei sette geni GaS è apparsa connessa a situazioni di siccità e salinità, mentre un terzo gene GaS è apparso legato specificatamente allo stress da freddo.

Nelle corone di erba medica, Castonguay e Nadeau (1998) hanno indicato una stretta relazione dell'attività della saccarosio-fosfato sintasi e della galattinolo sintasi con i livelli di saccarosio e di RFO, rispettivamente. È stato osservato un ritardo di circa due settimane tra l'attività dei geni GaS e l'accumulo di RFO, un'osservazione che potrebbe spiegare perché elevati livelli di trascritti GaS in dicembre non comportano immediatamente elevate concentrazioni di RFO. L'elaborato meccanismo che regola l'espressione dei geni GaS, l'accumulo dei trascritti, e l'accumulo di RFO rappresenta un importante passo per i futuri apporti al miglioramento genetico per la sopravvivenza invernale dell'erba medica (Cunningham *et al.*, 2003).

I ricercatori hanno identificato nell'erba medica diversi geni di resistenza al freddo, comunemente denominati *car* (*Cold Acclimation Responsive*). Le analisi *Northern blot* hanno rivelato un'associazione positiva tra i livelli di trascrizione di questi geni e la sopravvivenza invernale dell'erba medica (Mohapatra *et al.*, 1987 - 1989; Wolfrim *et al.*, 1993). Haagenson *et al.* (2003b) hanno confermato tali studi, trovando una stretta associazione tra l'espressione dei geni *car* in ottobre e novembre all'interno dei tessuti radicali e le differenze genetiche di sopravvivenza invernale. Sebbene questi trascritti regolati in maniera differenziata siano stati identificati in autunno nelle radici di CultiVar con maggiore dormienza autunnale e sopravvivenza invernale, si conosce poco circa le funzioni dei loro prodotti proteici nelle piante.

Dunque l'accumulo differenziale di trascritti genici indotti dal freddo nelle CultiVar di erba medica di differente resistenza al gelo suggerisce una stretta relazione tra l'acquisizione di tolleranza al gelo e le variazioni di espressione genica (Mohaptra *et al.*, 1989; Monroy *et al.*, 1993; Ferrullo *et al.*, 1997). Diversi geni dell'erba medica attivabili dal freddo sono stati isolati e caratterizzati negli ultimi 10-15 anni (Castonguay *et al.*, 1997). Recentemente Dhont *et al.* (2006) hanno studiato l'effetto del taglio autunnale sull'espressione di due geni inducibili dal freddo: *msaCIA* e *msaCIG*; le osservazioni presentate in tale studio indicano che l'espressione dei geni attivabili dal freddo possa essere influenzata dal taglio autunnale, con conseguenze potenziali sul processo di acclimatazione al freddo.

Al livello molecolare, dunque, numerosi studi sono riusciti a mettere alla luce una evidente correlazione tra la presenza di determinati trascritti genici e la capacità della pianta di erba medica di sopravvivere al freddo invernale. Significativi in tal senso sono apparsi i risultati delle ricerche sui trascritti genici *GaS*, i geni *car*, *msaCIA* e *msaCIG*.

### **2.1.5 Carboidrati negli organi di riserva e ricaccio primaverile**

È stato da tempo documentato che il taglio riduce le concentrazioni di TNC nei fittoni di erba medica (Graber *et al.*, 1927) e che le basse concentrazioni di carboidrati sono associate a un ridotto ricaccio primaverile (Reynolds, 1971). L'amido, uno dei maggiori polisaccaridi non strutturali accumulati nei fittoni, subisce una forte riduzione dopo i tagli e alla ripresa vegetativa in primavera (Habben e Volenec, 1991; Kim *et al.*, 1993). Sebbene Habben e Volenec (1991) avessero stabilito una relazione positiva tra la mobilitazione di amido e il vigore iniziale del ricaccio primaverile, Boyce e Volenec (1992) successivamente hanno osservato che i genotipi di erba medica selezionati per basse concentrazioni di amido nei fittoni mostrano un ricaccio evidentemente maggiore rispetto ai genotipi selezionati per la loro capacità di mantenere una concentrazione di amido elevata. Ourry *et al.* (1994) inoltre hanno messo in evidenza che la concentrazione di amido nelle radici di erba medica è scarsamente legata al ricaccio, infatti piante aventi un basso contenuto di amido e un elevato contenuto di azoto nelle radici hanno mostrato una maggior produzione di sostanza secca nel ricaccio rispetto a piante con elevato contenuto di amido e basso contenuto di azoto.

In uno studio di Dhont *et al.* (2002), le concentrazioni di zuccheri solubili sono aumentate notevolmente durante l'autunno in accordo con McKenzie *et al.* (1988) e Li *et al.* (1996); il saccarosio e gli RFO sono stati gli zuccheri solubili più abbondanti accumulati nelle radici di erba medica acclimatata al freddo, in accordo con i rilievi eseguiti nelle corone da Castonguay *et al.* (1995). Le concentrazioni di amido durante lo svernamento si sono generalmente ridotte mentre le concentrazioni di TNC sono variate solo minimamente; la stabilità delle concentrazioni di TNC, indipendentemente dalle strategie di taglio, è stato il risultato di un bilancio tra la riduzione della concentrazione di amido e un concomitante aumento delle concentrazioni di zuccheri solubili.

Le concentrazioni radicali di TNC e amido in autunno e inverno non sono apparse correlate con il ricaccio; ciò concorda con le indicazioni di Sheaffer e Marten (1990), che hanno riportato che le concentrazioni di TNC in autunno non sono indicatori efficaci per la stima della produzione primaverile dell'erba medica; inoltre Edmisten *et al.* (1988) avevano osservato che le concentrazioni di TNC a dicembre non sono correlate alle produzioni primaverili. Non è noto se vi sia o meno una soglia di concentrazione di carboidrati nei fittoni dell'erba medica necessaria per sostenere il ricaccio, ma vi sono indicazioni sul fatto che modifiche nello stato dei carboidrati influenzano il livello iniziale di ricaccio (Morvan-Bertrand *et al.*, 1999; Skinner *et al.*, 1999). La mancanza di relazioni importanti tra le concentrazioni di carboidrati e il ricaccio primaverile non preclude l'importanza delle riserve di carboidrati per il ricaccio poiché esse forniscono un contributo come fonte di energia per sostenere l'attività metabolica durante i periodi eterotrofi, quando la respirazione supera la fotosintesi (Avice *et al.*, 1997a,b).

In contrasto con le osservazioni basate sulle concentrazioni, un taglio autunnale riduce straordinariamente i contenuti totali di amido e TNC nelle radici (Dhont *et al.*, 2002): i contenuti di TNC sono diminuiti durante l'inverno e questa riduzione ha seguito un andamento simile a quanto osservato per il peso secco delle radici; tuttavia, i contenuti minimi di carboidrati rimasti alla fine dell'inverno sono stati sufficienti a mantenere consistente il ricaccio a inizio primavera. La riduzione dei contenuti di TNC ha costituito circa il 35% della diminuzione del peso secco delle radici durante l'inverno; dunque vi sono state perdite di altri costituenti delle cellule radicali. Farrar e Jones (2000) hanno indicato che oltre alla CO<sub>2</sub>, si possono avere perdite di carbonio anche

attraverso gli essudati radicali, che includono componenti come mucillagine, acido lattico, zuccheri, aminoacidi, e altri componenti organici, come anche cellule di scarto. In primavera, i contenuti totali di TNC sono apparsi correlati positivamente con il ricaccio, indicando che il totale delle riserve di carboidrati potrebbe essere un fattore determinante per il ricaccio dell'erba medica all'uscita delle piante dalla dormienza. Questi risultati indicano chiaramente che i contenuti di carboidrati sono meglio correlati con il ricaccio rispetto alle concentrazioni dei singoli carboidrati, sottolineando l'importanza della disponibilità totale di queste riserve per la ripresa dell'attività vegetativa in primavera (Dhont *et al.*, 2002).

Dunque in letteratura viene sempre riportata un'associazione positiva tra la presenza di carboidrati negli organi di riserva in autunno e la produzione primaverile dell'erba medica nell'anno seguente; ma tale associazione è molto più stretta riguardo ai contenuti totali di carboidrati rispetto alle loro concentrazioni, pertanto i dati delle concentrazioni dovrebbero sempre essere seguiti dai pesi secchi degli organi di riserva.

### **2.1.6 Riserve azotate e potenziale di ripresa vegetativa**

Diversi studi hanno evidenziato il ruolo delle riserve azotate per la vigoria del ricaccio primaverile (Ourry *et al.*, 1994; Volenec *et al.*, 1996). Hendershot e Volenec (1992, 1993) hanno riportato che aminoacidi e proteine solubili, che si accumulano notevolmente nei fittoni di erba medica durante l'autunno e diminuiscono alla ripresa vegetativa a inizio primavera. Dopo il taglio, gli aminoacidi maggiori, acido aspartico e asparagina, e le VSP (15, 19 e 32 kDa) vengono mobilitate come fonti di azoto per il ricaccio (Cunningham e Volenec, 1996; Avice *et al.*, 1997b).

Ourry *et al.* (1994) hanno mostrato che il contenuto di azoto totale disponibile nelle corone e nei fittoni all'inizio del ricaccio è strettamente correlato al contenuto di azoto mobilitato nei nuovi tessuti dei ricacci, e alla produzione di erba medica alla fine del periodo di ricaccio; è stato poi confermato che il contenuto di azoto dei ricacci di erba medica dipende dalla disponibilità delle riserve azotate del fittone alla ripresa vegetativa (Skinner *et al.*, 1999) e che qualunque intervento che modifichi il deposito di azoto totale negli organi di riserva può influenzare la vigoria del ricaccio successivo (Avice *et al.*, 1997a).

Dhont *et al.* (2003) hanno studiato i contenuti e le concentrazioni di diversi aminoacidi nei fittoni dell'erba medica in autunno. L'asparagina, nonostante la sua abbondanza nei fittoni, ha mostrato scarsa correlazione con il ricaccio primaverile. La prolina, in virtù del suo potenziale ruolo nella tolleranza al freddo e del suo contributo al ricaccio come fonte di azoto, potrebbe essere correlata sia alla sopravvivenza invernale sia anche al ricaccio primaverile dell'erba medica. L'accumulo stagionale di arginina e la stretta relazione tra il suo contenuto nei fittoni e il ricaccio indicano che questo aminoacido può svolgere un ruolo determinante come riserva azotata durante lo svernamento dell'erba medica; la mobilitazione e traslocazione dell'arginina come composto di riserva dell'azoto era stato già evidenziato in *Cyperus rotundus* L. (Fischer *et al.*, 1995), *Pinus taeda* L. (King e Gifford, 1997), e *Glicine max* (L.) Merr. (Goldraj e Polacco, 1999). I risultati di Dhont *et al.* (2003) inoltre portano interessanti intuizioni riguardo al ruolo dell'istidina nelle piante perenni; nonostante questo aminoacido rappresenti solo il 5-6% degli aminoacidi totali, il suo ruolo come fonte di azoto di riserva potrebbe essere preso in considerazione, giacché i suoi livelli sono correlati con il ricaccio primaverile.

Li *et al.* (1996) hanno riportato un incremento del 50% della concentrazione di proteine solubili nei fittoni di erba medica tra settembre e dicembre, seguito da un decremento tra marzo e maggio. Numerose pubblicazioni hanno evidenziato l'accumulo specifico nelle radici di erba medica di tre polipeptidi di 15, 19, 32 kDa con caratteristiche tipiche di VSP (Cunningham e Volenec, 1996; Li *et al.*, 1996). La sintesi e l'accumulo di VSP sono state dimostrate essere indotte dalle basse temperature e dai giorni corti in altre specie tra cui i pioppi (Van Cleve e Apel, 1993) e il trifoglio bianco (Bouchart *et al.*, 1998; Corbel *et al.*, 1999). Noquet *et al.* (2001) hanno riportato che i giorni corti possono indurre l'accumulo di VSP nei fittoni di erba medica. Queste pubblicazioni insieme al marcato accumulo di VSP durante l'autunno e la loro scomparsa nella primavera successiva indicano che queste proteine specifiche possono essere coinvolte nella vigoria del ricaccio primaverile dell'erba medica (Dhont *et al.*, 2003).

In definitiva, le riserve azotate che si accumulano negli organi di riserva nel periodo autunnale vengono comunemente indicate come corresponsabili di una buona capacità di ricaccio primaverile dell'erba medica. Di particolare interesse in tal senso è il ruolo svolto dall'acido aspartico, l'asparagina e soprattutto le proteine VSP.

## **2.2 Scopo della tesi**

Con il presente lavoro si è cercato di vedere con due differenti regimi di taglio, entrambi severi, quali fossero le varietà di erba medica in grado di dimostrare una buona persistenza, allo scopo di individuare un modello di utilizzazione del medicaio in grado di rispondere alle moderne esigenze degli allevatori e contemporaneamente assicurare un'adeguata durata della coltura. L'attuale modalità di utilizzazione del medicaio è condizionata infatti dalla crescente esigenza di poter disporre di foraggio di qualità, ciò che può essere perseguito solamente con l'adozione di tagli frequenti.

Si è registrata l'evoluzione della densità di piante di 16 varietà di erba medica tra quelle maggiormente presenti sul mercato italiano delle sementi, sottoposte a due diversi ritmi di utilizzazione: 1) tagli a bottone florale e 2) tagli a inizio fioritura, dalla semina fino alla fine del terzo anno di vita del medicaio. La densità delle piante è stata analizzata dal punto di vista degli organi di riserva, attraverso il campionamento delle corone e della porzione superiore dei fittoni, sui quali sono stati effettuati anche dei rilievi morfologici a diverse profondità nel terreno.

Si è operata una differenziazione tra le varietà più o meno suscettibili al ritmo di taglio più frequente, cercando di trarre una ragione di tale fenomeno dal punto di vista fisiologico dopo aver studiato il contenuto di carboidrati degli organi di riserva e investigato sulle possibili correlazioni tra le dotazioni in zuccheri di fittoni e corone alla fine di tre cicli vegetativi completi e le capacità delle piante di rispondere bene ai tagli frequenti.

### **3. MATERIALI E METODI**





### 3.1 Schema sperimentale.

Per le finalità della ricerca, sono state messe a confronto 32 tesi, ottenute dalla combinazione fattoriale di 16 CultiVar e due stadi a cui eseguire il taglio.

La prova è stata impostata con uno schema sperimentale *strip-plot* a tre ripetizioni: cioè un disegno sperimentale che prevede la disposizione casuale dei due stadi entro i blocchi e delle 16 tesi entro i due ritmi di taglio.

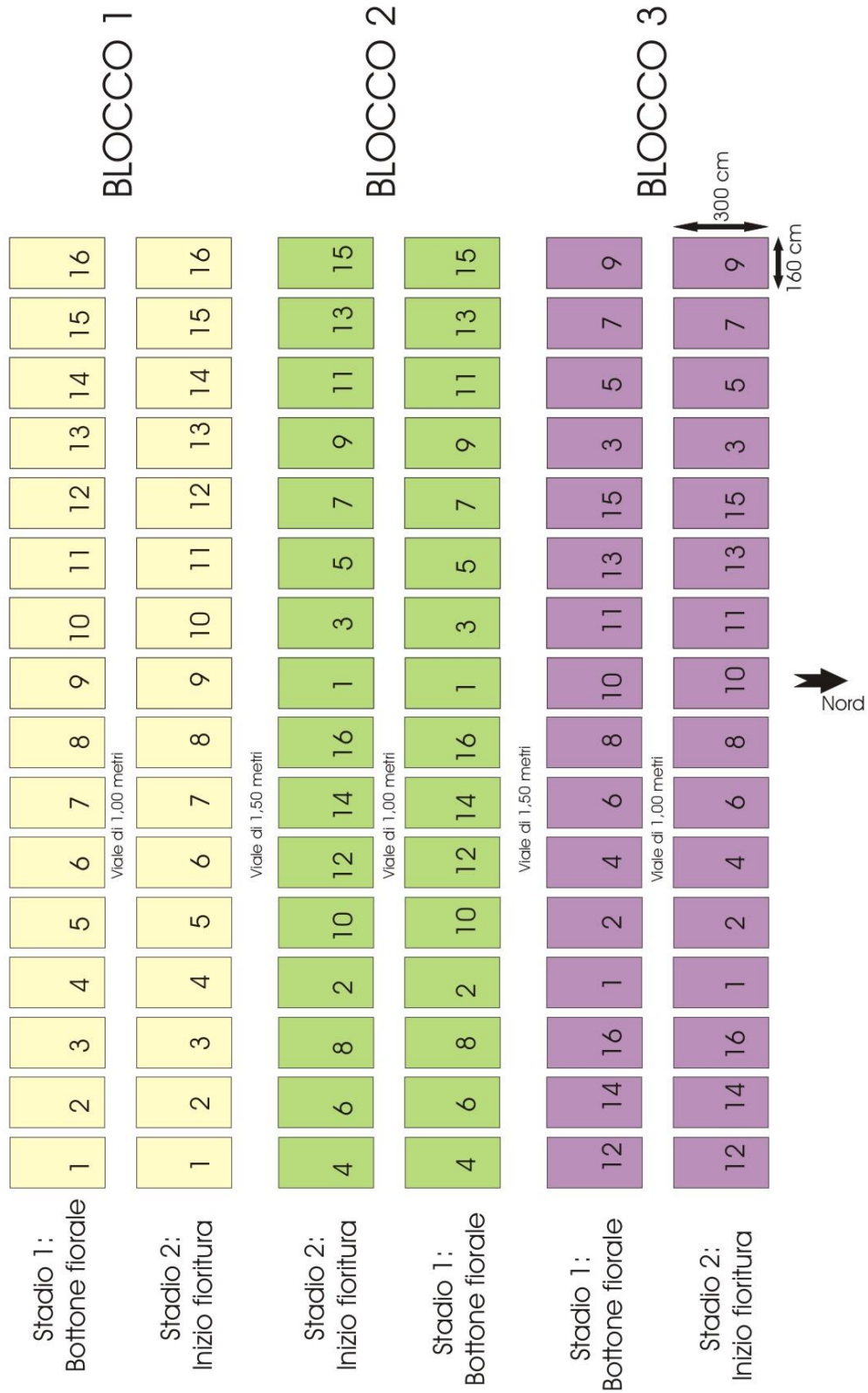
La prova prevedeva il confronto delle seguenti 16 CultiVar di erba medica, scelte tra quelle maggiormente presenti sul mercato italiano delle sementi:

1. Barlydia
2. La Torre
3. Palladiana
4. Riviera Vicentina
5. Equipe
6. PR56S82
7. Robot
8. PR57N02
9. Lodi
10. History
11. Triade
12. Centauro
13. Gigante Romea
14. Linfa
15. Garisenda
16. Delta

Le parcelle avevano dimensioni di 4.80 m<sup>2</sup> (1,60 m x 3,00 m); entro ogni parcella erano presenti 8 file di erba medica distanziate tra loro 20 cm. Tra una parcella e l'altra era stato disposto un vialetto non inerbito della larghezza di 30 cm.

Le parcelle sono state divise da viali trasversali non inerbiti aventi larghezza di 1,50 m, tra un blocco e l'altro, e 1,00 m tra uno stadio e l'altro, come illustrato nella **Figura 6**.

e pedologiche



**F i g u r a 6 :** M a p p a d e l l a p r o v a s p e r i m e n t a l e. **3. 2 C a r a t t e r i s t i c h**

La prova è stata realizzata su un campo sperimentale presso l’Azienda Agraria Sperimentale “L. Toniolo” dell’Università di Padova, con sede a Legnaro (PD), Latitudine 45°N, Longitudine 11°E.

I risultati delle analisi chimico-fisiche del terreno della prova hanno messo in evidenza un terreno di medio impasto di tipo franco-limoso, con pH leggermente alcalino, ricco di fosforo assimilabile e di potassio scambiabile. Nella **Tabella 4** sono riportati i risultati delle analisi podologiche eseguiti su tre campioni di terreno prelevati prima dell’inizio della prova.

**Tabella 4:** Risultati analisi del terreno.

Parametri	Valori su campione essiccato	Deviazione standard
sabbia	18,10	0,829156
limo	65,90	1,5
argilla	16,00	0,829156
sostanze organiche	2,2825	0,024335
pH	8,1375	0,016346
rapporto C/N	10,7575	0,081806
azoto totale	0,125	0,0025
fosforo assimilabile	38,275	4,124981
potassio scambiabile	178,125	10,82534
calcare attivo	3,1925	0,690954
calcare totale	22,0675	1,050008

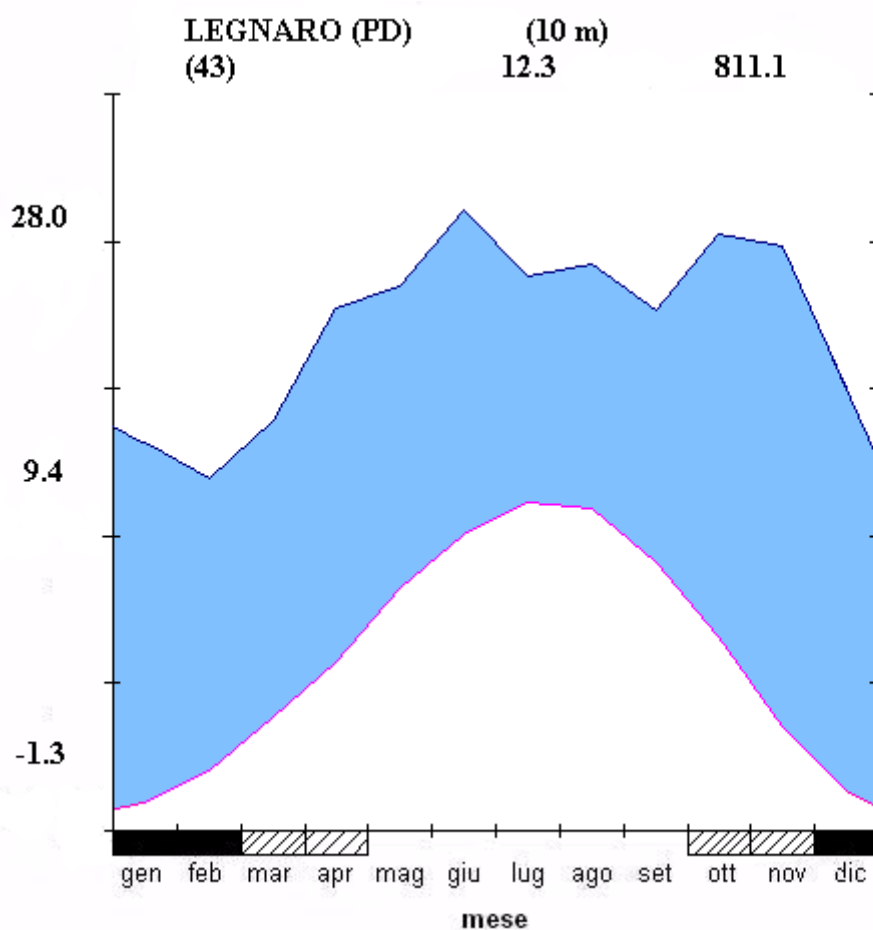
La natura limosa del substrato rende il terreno suscettibile a forti perdite per lisciviazione durante eventi piovosi e alla formazione di crosta superficiale nei periodi siccità.

### 3.3 Caratteristiche climatiche

Il clima che interessa questa zona è di tipo temperato freddo, caratterizzato da inverni miti, grazie alla vicinanza al mar Adriatico, ed estati piuttosto calde.

Nei mesi invernali si verificano frequenti nebbie dovute all’elevata umidità dell’aria e alla scarsa presenza di venti.

Il climodiagramma riportato in **Figura 7** rappresenta la media storica di 43 anni delle temperature e della piovosità rilevata nella stessa azienda, situata a 10 m sul livello del mare. La curva rossa rappresenta la temperatura media di ogni mese; i mesi di dicembre, gennaio e febbraio hanno temperatura media delle minime inferiore a 0°C: presenza di gelate; mentre a ottobre, novembre, marzo e aprile in almeno un giorno la temperatura minima è risultata inferiore a 0°C: possibilità di brinate. La media delle minime giornaliere del mese più freddo è di -1,3°C, mentre la media minima assoluta è di -5,5°C. La temperatura media annua è di 12,3°C. La temperatura media delle massime del mese più caldo è di 28°C, mentre la media massima assoluta è di 32,8°C. L'escursione termica media giornaliera è di 9,4°C. Per quanto riguarda le precipitazioni queste non hanno una distribuzione costante durante la stagione, le minime si hanno nei mesi da dicembre a marzo, le più abbondanti a giugno e ottobre. La piovosità media cumulata annua è di 811,1 mm.



**Figura 7.** Climodiagramma di Legnaro secondo Walter e Lieth (1960).

La durata della prova ha riguardato di tre anni: a partire da marzo del 2005 fino a novembre del 2007. Le temperature e le precipitazioni del suddetto periodo sono riportate in **Figura 8**.

**Figura 8.** Temperatura e piovosità a Legnaro durante il periodo della prova.

Per quanto riguarda la temperatura del primo anno di sperimentazione la temperatura media ha raggiunto il suo picco più alto, con poco meno di 24°C, nel mese di luglio 2005; mentre si pone in evidenza che a partire dal mese di dicembre 2005 la media delle temperature minime si è stabilita al di sotto degli 0°C, per risalire sopra nel mese di marzo 2006.

Nel secondo anno l'estate si è invece rivelata più calda della precedente, con un massimo registrato sempre durante il mese di luglio che si è attestato intorno ai 25°C. L'inverno del 2007 invece si è rilevato molto particolare, con temperature né medie né

minime mai scese sotto gli 0°C e un innalzamento delle stesse fino a 5°C rispetto l'anno precedente.

Nell'estate del terzo ed ultimo anno di prova vi sono state registrate temperature medie con andamento non dissimile dalle precedenti, infatti il picco più alto è stato registrato nel mese di luglio 2007, con poco meno di 24°C.

Le precipitazioni nel primo anno sono risultate particolarmente abbondanti nei mesi di agosto, ottobre e novembre 2005; una discreta quantità di precipitazione si è avuta anche nel mese di maggio 2005, mentre è risultato particolarmente siccitoso il mese di marzo 2005. Nel secondo anno si è verificata una precipitazione particolarmente abbondante nel mese di settembre 2006; ma una discreta quantità di precipitazione si è avuta anche nel mese di maggio 2006; particolarmente siccitosi sono risultati invece i mesi di giugno e ottobre 2006. Nell'ultimo anno di prova non sono mai state registrate abbondanti precipitazioni, anzi queste sono risultate essere piuttosto scarse durante tutto l'anno; gli unici picchi si sono riscontrati nei mesi di maggio e settembre 2007.

### **3.4 CultiVar impiegate**

- **1. BARLYDIA.** È Iscritta nel R.N.V. dal 1999, il costituente e responsabile della selezione conservatrice è Barenbrug Holland B.V.; il referente commerciale è la Padana Sementi. Viene indicata come varietà di media produttività e buona longevità ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).
- **2. LA TORRE.** È stata registrata nel 1994 dalla Apsovsementi, Voghera (PV). È indicata come una buona varietà sia dal punto di vista della produzione sia della persistenza ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).
- **3. PALLADIANA.** È una varietà costituita attraverso una selezione di piante derivanti dall'ecotipo Leonicena, ossia una tipica popolazione degli areali vicentini. È stata iscritta nel Registro Nazionale nel 2006 ([www.zanandreasementi.it](http://www.zanandreasementi.it)).
- **4. RIVIERA VICENTINA.** È una varietà ottenuta da selezione fenotipica pluriennale di piante incrociate liberamente, in isolamento, derivate da una popolazione dell'ecotipo Leonicena. È stata iscritta nel 1995 dall'ISTA S.p.A. e viene indicata come una varietà produttiva e persistente ([www.zanandreasementi.it](http://www.zanandreasementi.it)).
- **5. EQUIPE.** Varietà iscritta nel 1978 dall'Istituto Sperimentale di Colture Foraggere di Lodi. Il referente commerciale è la Società Italiana Sementi; viene indicata come una

varietà mediamente produttiva, di buona longevità e consigliata nella pianura occidentale della regione ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **6. PR56S82.** È una varietà distribuita dalla Pioneer Hi-Bred Italia, iscritta nel R.N.V. da marzo del 2007; probabilmente la meno diffusa tra le varietà utilizzate in questo studio.

- **7. ROBOT.** Varietà iscritta nel 1978 dall'Istituto Sperimentale di Colture Foraggere di Lodi e distribuita dalla Società Italiana Sementi; si contraddistingue per una buona produttività ed una elevata longevità ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **8. PR57N02.** Si tratta di una varietà iscritta nel R.N.V. nel 1999 dalla Pioneer Hi-Breed Usa; è definita una varietà semidormiente con produzioni elevate e buona longevità ma scarso adattamento collinare ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **9. LODI.** È stata costituita dall'Istituto Sperimentale di Colture Foraggere di Lodi; è iscritta a Registro Nazionale delle Varietà dal 1987; fornisce buone performance sia dal punto di vista della produzione che della durata, adattandosi anche a tagli frequenti ([www.continentalsemences.com](http://www.continentalsemences.com)).

- **10. HYSTORY.** Varietà registrata nel 1999 dalla Forage Genetics (U.S.A.) e distribuita dalla Limagrain Italia; si distingue per una buona longevità e una particolare intolleranza ai terreni sub-acidi ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **11. TRIADE.** È stata iscritta nel 1990 dal C.M.G.P.A. (Tombolo, Padova) ed è distribuita dalla Verneuil Italia; è caratterizzata da media produttività ed elevata longevità ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **12. CENTAURO.** È una varietà costituita in Italia, nel cui R.N.V. è stata iscritta nel 1994; il referente commerciale è la Stilagro, Pescara ([www.informatoreagrario.it](http://www.informatoreagrario.it)).

- **13. GIGANTE ROMEA.** Varietà iscritta dal 1995; costituita e distribuita da Ancarini Pasquale; si definisce come CultiVar di media produttività, buona longevità e scarso adattamento ai terreni sub-acidi ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **14. LINFA.** Varietà iscritta nel R.N.V. dal 1997; il costituutore e responsabile della selezione conservatrice è l'Abi Agripro Bioscences (Iowa, USA); si denota come una varietà mediamente produttiva, di buona persistenza e buon adattamento ai suoli sub-acidi ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **15. GARISENDA.** È una CultiVar costituita e distribuita dalla Società Italiana Sementi, iscritta nel 1976; è presentata con elevate prestazioni sia dal punto di vista della produzione sia della durata ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

- **16. DELTA.** è presente nel R.N.V. sin dal 1970, epoca in cui è stata registrata dal suo costituente e distributore, la Società Italiana Sementi; presenta buone caratteristiche di produzione e di longevità ([www.ermesagricoltura.it](http://www.ermesagricoltura.it)).

### **3.5 Determinazione peso delle sementi impiegate in semina**

Il peso delle sementi è stato considerato come peso di 1000 semi. Per far ciò si è provveduto, per ciascuna CultiVar, alla conta manuale di 3 volte 100 semi, selezionati in maniera del tutto casuale tra quelli contenuti nelle confezioni destinate alla semina.

Tali semi sono stati quindi pesati. I tre risultati ottenuti sono stati mediati, al fine di ottenere il peso medio di 100 semi per ogni varietà.

Moltiplicando tale valore per dieci abbiamo calcolato il peso di 1000 semi delle 16 CultiVar oggetto di studio.

### **3.6 Interventi preparatori e semina del medicaio**

La preparazione della superficie che doveva ospitare la prova sperimentale ha seguito le seguenti fasi:

- rimozione della vegetazione preesistente;
- aratura nel periodo d'inizio primavera: **23 marzo 2005**;
- concimazione di base: 150 unità di  $P_2O_5$  e 300 unità di  $K_2O$  interrate con l'aratura;
- erpicatura: **27 marzo 2005**;
- livellamento della superficie;
- suddivisione del terreno, mediante picchettatura angolare e stesura del filo tra i picchetti, per evidenziare le diverse tesi e viali;
- semina a file: 8 file per parcella distanziate 20 cm tra loro. La semina è stata fatta in solchi eseguiti con assolcatori manuali. Dose di semina: 14 g per parcella, pari a 29 kg/Ha. Data di semina: **29 marzo 2005**;
- leggero interrimento del seme con rastrello;



## 3.7 Gestione della prova

### 3.7.1 Esecuzione dei tagli

I tagli sono stati eseguiti in numero ed epoca variabile tra i due diversi ritmi di utilizzazione adottati nella prova durante la stagione vegetativa 2005, 2006 e 2007 ad un'altezza di 3-4 cm. La macchina utilizzata per il taglio è una motofalciatrice BCS a lame orizzontali.

Il primo taglio dell'anno è stato eseguito contemporaneamente per entrambi i ritmi di utilizzazione presi in studio nella prova: nel primo anno l'8 giugno del 2005; nel secondo anno tra il 27 aprile e il 3 maggio 2006; e nel terzo anno il 7 maggio 2007.

Per i tagli successivi si è provveduto ad una suddivisione in intervalli di tempo tra un taglio e l'altro così definiti:

- **STADIO 1:** Taglio eseguito nello stadio fenologico di *comparsa bottoni fiorali*: bottoni fiorali visibili su uno o due nodi, ma nessun fiore ancora visibile sulla pianta (scala fenologica di Kalu e Fick, 1981).
- **STADIO 2:** Taglio eseguito nello stadio fenologico di *inizio fioritura*: un nodo con fiore aperto, ma nessun legume ancora formatosi (scala fenologica di Kalu e Fick, 1981), più semplicemente definibile come 5-10% di fioritura.

Durante la prima stagione vegetativa 2005, intervenendo allo Stadio 1, sono stati effettuati quattro tagli, con un intervallo medio di 26 giorni tra il primo e il secondo taglio, 44 giorni tra il secondo e il terzo, e 30 giorni tra il terzo e l'ultimo taglio; come appare dalla **Tabella 5**.

**Tabella 5:** Calendario tagli STADIO 1 – Stagione 2005.

TESI	1°TAGLIO	2°TAGLIO	3°TAGLIO	4°TAGLIO
1	08-giu	06-lug	18-ago	15-set
2	08-giu	01-lug	18-ago	16-set
3	08-giu	08-lug	18-ago	21-set
4	08-giu	01-lug	18-ago	12-set
5	08-giu	08-lug	18-ago	21-set
6	08-giu	01-lug	18-ago	21-set

<b>7</b>	08-giu	30-giu	18-ago	14-set
<b>8</b>	08-giu	01-lug	18-ago	15-set
<b>9</b>	08-giu	06-lug	18-ago	14-set
<b>10</b>	08-giu	08-lug	18-ago	21-set
<b>11</b>	08-giu	08-lug	18-ago	21-set
<b>12</b>	08-giu	30-giu	14-ago	15-set
<b>13</b>	08-giu	06-lug	18-ago	14-set
<b>14</b>	08-giu	06-lug	14-ago	12-set
<b>15</b>	08-giu	01-lug	18-ago	15-set
<b>16</b>	08-giu	06-lug	18-ago	14-set

Nel primo anno di prova, anche intervenendo al ritmo di utilizzazione con tagli a inizio fioritura (Stadio 2) il numero di tagli eseguiti durante la stagione vegetativa è stato il medesimo dello Stadio 1.

Però i quattro tagli sono stati eseguiti ad intervalli più distanziati l'uno dall'altro: è stato disposto un itertaglio medio di 29 giorni tra il primo e il secondo taglio, 50 giorni tra il secondo e il terzo, e 32 giorni tra il terzo e il quarto taglio del 2005; così facendo il taglio autunnale è stato procrastinato alla fine del mese di settembre.

Il calendario dei tagli è riportato nella **Tabella 6**.

**Tabella 6:** Calendario tagli STADIO 2 – Stagione 2005.

<b>TESI</b>	<b>1°TAGLIO</b>	<b>2°TAGLIO</b>	<b>3°TAGLIO</b>	<b>4°TAGLIO</b>
<b>1</b>	08-giu	12-lug	30-ago	29-set
<b>2</b>	08-giu	14-lug	24-ago	28-set
<b>3</b>	08-giu	14-apr	24-ago	29-set
<b>4</b>	08-giu	12-lug	24-ago	26-set
<b>5</b>	08-giu	14-lug	30-ago	28-set
<b>6</b>	08-giu	12-lug	30-ago	29-set
<b>7</b>	08-giu	12-lug	24-ago	28-set
<b>8</b>	08-giu	12-lug	24-ago	26-set
<b>9</b>	08-giu	12-lug	24-ago	26-set
<b>10</b>	08-giu	12-lug	29-ago	28-set
<b>11</b>	08-giu	14-lug	29-ago	28-set
<b>12</b>	08-giu	12-lug	24-ago	28-set
<b>13</b>	08-giu	14-lug	30-ago	29-set
<b>14</b>	08-giu	14-lug	29-ago	28-set
<b>15</b>	08-giu	14-lug	24-ago	26-set
<b>16</b>	08-giu	14-lug	29-ago	26-set

Durante la seconda stagione vegetativa 2006, intervenendo allo Stadio 1, sono stati effettuati sette tagli, adottando intertagli medi compresi tra 22 e 31 giorni; il taglio autunnale si è protratto al 9-16 ottobre, come indicato nella **Tabella 7**.

Nel secondo anno di prova il numero di tagli eseguiti al 5-10% della fioritura (Stadio 2) è stato di sei; sono stati adottati intervalli medi tra un taglio e l'altro compresi tra 31 e 39 giorni, fatta eccezione per il periodo intercorso tra il terzo e il quarto taglio, durato mediamente 21 giorni. Il taglio autunnale si è verificato tra fine settembre e inizio ottobre. Il calendario dei tagli è riportato nella **Tabella 8**.

**Tabella 7:** Calendario tagli STADIO 1 – Stagione 2006.

TESI	1°TAGLIO	2°TAGLIO	3°TAGLIO	4°TAGLIO	5°TAGLIO	6°TAGLIO	7°TAGLIO
1	26-apr	31-mag	27-giu	19-lug	18-ago	18-set	13-ott
2	26-apr	31-mag	26-giu	19-lug	18-ago	18-set	11-ott
3	26-apr	29-mag	26-giu	18-lug	16-ago	11-set	09-ott
4	27-apr	29-mag	26-giu	18-lug	16-ago	11-set	09-ott
5	27-apr	01-giu	29-giu	21-lug	23-ago	18-set	11-ott
6	27-apr	01-giu	29-giu	20-lug	21-ago	19-set	11-ott
7	03-mag	29-mag	30-giu	21-lug	23-ago	22-set	16-ott
8	03-mag	31-mag	29-giu	20-lug	23-ago	22-set	16-ott
9	03-mag	01-giu	29-giu	19-lug	22-ago	22-set	16-ott
10	03-mag	29-mag	27-giu	18-lug	16-ago	18-set	11-ott
11	03-mag	01-giu	27-giu	19-lug	22-ago	22-set	09-ott
12	03-mag	29-mag	26-giu	18-lug	16-ago	11-set	09-ott
13	03-mag	31-mag	27-giu	21-lug	21-ago	19-set	13-ott
14	03-mag	29-mag	30-giu	21-lug	22-ago	22-set	16-ott
15	03-mag	29-mag	29-giu	20-lug	22-ago	19-set	13-ott
16	03-mag	29-mag	27-giu	21-lug	21-ago	19-set	13-ott

**Tabella 8:** Calendario tagli STADIO 2 – Stagione 2006.

TESI	1°TAGLIO	2°TAGLIO	3°TAGLIO	4°TAGLIO	5°TAGLIO	6°TAGLIO
1	26-apr	07-giu	11-lug	31-lug	04-set	04-ott
2	26-apr	07-giu	07-lug	25-lug	28-ago	28-set
3	26-apr	07-giu	07-lug	25-lug	28-ago	28-set
4	27-apr	07-giu	07-lug	25-lug	28-ago	28-set
5	27-apr	07-giu	11-lug	28-lug	31-ago	04-ott
6	27-apr	09-giu	11-lug	28-lug	31-ago	04-ott
7	03-mag	12-giu	12-lug	08-ago	08-set	06-ott

<b>8</b>	03-mag	12-giu	10-lug	07-ago	08-set	06-ott
<b>9</b>	03-mag	06-giu	12-lug	07-ago	08-set	06-ott
<b>10</b>	03-mag	09-giu	10-lug	28-lug	31-ago	04-ott
<b>11</b>	03-mag	07-giu	12-lug	28-lug	31-ago	04-ott
<b>12</b>	03-mag	07-giu	07-lug	25-lug	28-ago	28-set
<b>13</b>	03-mag	13-giu	12-lug	08-ago	08-set	06-ott
<b>14</b>	03-mag	07-giu	12-lug	31-lug	04-set	04-ott
<b>15</b>	03-mag	13-giu	12-lug	07-ago	08-set	06-ott
<b>16</b>	03-mag	12-giu	16-lug	31-lug	04-set	04-ott

Nell'ultima stagione vegetativa 2007, allo Stadio 1, sono stati effettuati sette tagli, adottando intertagli analoghi a quelli dell'anno precedente (**Tabella 9**).

**Tabella 9:** Calendario tagli STADIO 1 – Stagione 2007.

	<b>TESI 1°TAGLIO</b>	<b>2°TAGLIO</b>	<b>3°TAGLIO</b>	<b>4°TAGLIO</b>	<b>5°TAGLIO</b>	<b>6°TAGLIO</b>	<b>7°TAGLIO</b>
<b>1</b>	07-mag	29-mag	21-giu	18-lug	10-ago	03-set	03-ott
<b>2</b>	07-mag	28-mag	20-giu	16-lug	07-ago	31-ago	03-ott
<b>3</b>	07-mag	28-mag	20-giu	13-lug	03-ago	29-ago	02-ott
<b>4</b>	07-mag	28-mag	20-giu	13-lug	03-ago	29-ago	02-ott
<b>5</b>	07-mag	31-mag	25-giu	20-lug	17-ago	12-set	10-ott
<b>6</b>	07-mag	29-mag	21-giu	18-lug	10-ago	31-ago	02-ott
<b>7</b>	07-mag	28-mag	25-giu	20-lug	17-ago	03-set	03-ott
<b>8</b>	07-mag	28-mag	21-giu	20-lug	17-ago	12-set	10-ott
<b>9</b>	07-mag	28-mag	20-giu	18-lug	07-ago	31-ago	03-ott
<b>10</b>	07-mag	28-mag	25-giu	18-lug	10-ago	31-ago	02-ott
<b>11</b>	07-mag	30-mag	20-giu	16-lug	07-ago	31-ago	02-ott
<b>12</b>	07-mag	30-mag	20-giu	13-lug	03-ago	29-ago	02-ott
<b>13</b>	07-mag	29-mag	25-giu	20-lug	17-ago	12-set	10-ott
<b>14</b>	07-mag	29-mag	25-giu	20-lug	17-ago	12-set	10-ott
<b>15</b>	07-mag	30-mag	25-giu	20-lug	17-ago	12-set	10-ott
<b>16</b>	07-mag	31-mag	25-giu	18-lug	17-ago	12-set	10-ott

Durante il terzo anno di prova il numero di tagli effettuati in Stadio 2 è stato di sei; a partire dal 7 maggio fino al 24-29 settembre 2007, con intervalli medi tra un taglio e l'altro compresi tra 26 e 34 giorni. Il calendario dei tagli è riportato nella **Tabella 10**.

**Tabella 10:** Calendario tagli STADIO 2 – Stagione 2007.

<b>TESI</b>	<b>1°TAGLIO</b>	<b>2°TAGLIO</b>	<b>3°TAGLIO</b>	<b>4°TAGLIO</b>	<b>5°TAGLIO</b>	<b>6°TAGLIO</b>
<b>1</b>	07-mag	31-mag	28-giu	27-lug	22-ago	24-set
<b>2</b>	07-mag	04-giu	29-giu	26-lug	22-ago	24-set
<b>3</b>	07-mag	04-giu	29-giu	25-lug	20-ago	24-set
<b>4</b>	07-mag	04-giu	28-giu	25-lug	20-ago	24-set
<b>5</b>	07-mag	08-giu	02-lug	25-lug	24-ago	27-set
<b>6</b>	07-mag	08-giu	02-lug	27-lug	24-ago	27-set
<b>7</b>	07-mag	04-giu	02-lug	27-lug	27-ago	27-set
<b>8</b>	07-mag	08-giu	02-lug	26-lug	27-ago	29-set
<b>9</b>	07-mag	06-giu	02-lug	27-lug	27-ago	29-set
<b>10</b>	07-mag	04-giu	29-giu	26-lug	22-ago	24-set
<b>11</b>	07-mag	04-giu	29-giu	26-lug	22-ago	24-set
<b>12</b>	07-mag	04-giu	29-giu	25-lug	20-ago	24-set
<b>13</b>	07-mag	06-giu	02-lug	27-lug	27-ago	29-set
<b>14</b>	07-mag	06-giu	02-lug	27-lug	24-ago	27-set
<b>15</b>	07-mag	31-mag	02-lug	25-lug	24-ago	27-set
<b>16</b>	07-mag	06-giu	02-lug	26-lug	27-ago	29-set

### **3.7.2 Irrigazione**

Si è provveduto ad interventi irrigui di soccorso sulla coltura successivamente alla semina, al fine di favorire l'emergenza delle plantule; È stata adottata la tecnica d'irrigazione per aspersione.

### **3.7.3 Concimazione di copertura**

Annualmente sono stati distribuiti all'inizio dell'inverno 155 g per parcella di P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 300 g per parcella di K<sub>2</sub>O, corrispondenti a 150 Kg/ha di P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 300 Kg/ha di K<sub>2</sub>O.

Le date di somministrazione sono state le seguenti: 6 febbraio 2006 e 22 gennaio 2007.

## **3.8 Rilievi compiuti sul medicaio**

Per le finalità della tesi, ci si è prefissati di eseguire i seguenti rilievi sulla prova:

- Quantità di foraggio prodotta dal medicaio.
- Stima delle piante infestanti presenti nel medicaio.

- Prelievo degli organi di riserva (fittoni e corone) dal terreno in 6 diverse epoche: primavera 2005, autunno 2005, primavera 2006, autunno 2006, primavera 2007 e autunno 2007.
  - o Misurazione dell'investimento delle piante raccolte in tutti i prelievi.
  - o Misurazione del diametro di tutti i fittoni prelevati dal terreno a 3 diversi livelli di profondità: 3 cm, 8 cm e 15 cm dalla corona.
  - o Determinazione del peso secco degli organi di riserva prelevati alla fine del triennio di prova (autunno 2007).
- Determinazione della concentrazione di WSC totali degli organi di riserva prelevati alla fine del triennio di prova (autunno 2007).
- Determinazione della concentrazione di WSC a basso peso molecolare degli organi di riserva prelevati alla fine del triennio di prova (autunno 2007).

### **3.9 Quantificazione della produzione**

La produzione del medicaio è stata saggiata asportando, nelle date di taglio prestabilite, sei file centrali dalle parcelle della prova. Il foraggio verde ottenuto veniva subito pesato e successivamente si procedeva alla pesatura di 500 grammi di campione; quest'ultimo veniva poi utilizzato per la determinazione della sostanza secca del foraggio.

### **3.10 Rilievo delle piante infestanti**

Nel 2007, prima dell'inizio dei tagli è stata fatta una stima visiva delle percentuali di copertura dovuta all'erba medica e alle infestanti presenti in campo.

### **3.11 Prelievo dei campioni**

Il campionamento ha preso in esame 32 tesi ottenute dalla combinazione fattoriale di 16 CultiVar e due stadi a cui eseguire il taglio, nei tre blocchi, come descritto dallo schema sperimentale, per un totale di 96 parcelle (**Figura 9**).



**Figura 9:** Campo sperimentale, autunno 2006.

L'operazione prevede il prelievo delle piante compresa la parte ipogea, fino ad una profondità di 20-25 cm, in due file contigue della lunghezza di 30 cm; in tal modo si sono asportati complessivamente 60 cm. La parte aerea è stata preventivamente rimossa con una cesoia tosaerba portatile Gardena (ampiezza di taglio 10 cm), dopodiché le radici e la corona sono state prelevate dal terreno con la vanga (**Figura 10**).



**Figura 10:** Rimozione parte aerea e raccolta organi di riserva.

Dopo aver estratto il campione il buco creatosi nella parcella distruttiva è stato rimpiazzato con della terra, quest'operazione è stata effettuata al solo scopo di rendere più agevole il transito della falciatrice le successive operazioni di taglio.

Le epoche di prelievo sono state le seguenti:

1. 6 – 10 giugno 2005
2. 17 – 24 novembre 2005
3. 26 aprile – 4 maggio 2006
4. 27 novembre – 1 dicembre 2006

5. 24 aprile – 7 maggio 2007

6. 19 – 23 novembre 2007

Successivamente alla raccolta è stato eseguito il lavaggio con abbondante getto d'acqua per ripulire le piante dai residui terrosi (**Figura 11**).



**Figura 11:** Lavaggio con getto d'acqua dei campioni.

### **3.12 Misurazione degli organi di riserva**

Una volta terminata la pulizia del campione è stata eseguita la conta delle piante contenute in ogni parcella. Tenendo conto delle dimensioni dell'area di saggio, pari a 60 cm x 20 cm x 3 blocchi, per ogni varietà si è misurato il numero di piante presente su una superficie pari a 0,36 m<sup>2</sup>.

Successivamente le corone sono state separate dal fittone e ripulite dalle parti verdi rimaste. Per quanto riguarda l'apparato radicale si è mantenuta la porzione superiore: dalla corona di ciascuna radice fino a 15 cm di profondità; in particolare si è determinato il diametro dei fittoni, misurato a 3 diversi livelli di profondità (**Figura 12**):

1. A 3 cm dalla corona.
2. A 8 cm dalla corona.
3. A 15 cm dalla corona.





**Figura 12:** Misurazione organi di riserva, in ordine dall'alto e da sinistra: corone ripulite, porzione superiore di radice, misurazione diametro fittoni, campioni misurati.

Alla fine delle operazioni i campioni sono stati inseriti in sacchetti di nylon con il relativo cartellino, indicante la data, il tipo di prova, lo stadio di taglio, il blocco e la tesi ed è stato riposto in congelatore a  $-18^{\circ}\text{C}$  per bloccare l'eventuale degradazione degli zuccheri prima delle analisi di laboratorio.

### **3.13 Liofilizzazione e determinazione del peso secco**

La disidratazione dei campioni è stata eseguita attraverso la loro liofilizzazione. Questo processo di essiccazione consente di eliminare l'acqua dal campione senza ricorrere al riscaldamento in essiccatoi.

La liofilizzazione infatti avviene a basse temperature ( $-70^{\circ}\text{C}$ ) e in presenza di vuoto, con cicli della durata di 48 ore. È stata scelta questa tecnica, poiché il riscaldamento avrebbe portato ad una modificazione del contenuto in zuccheri.

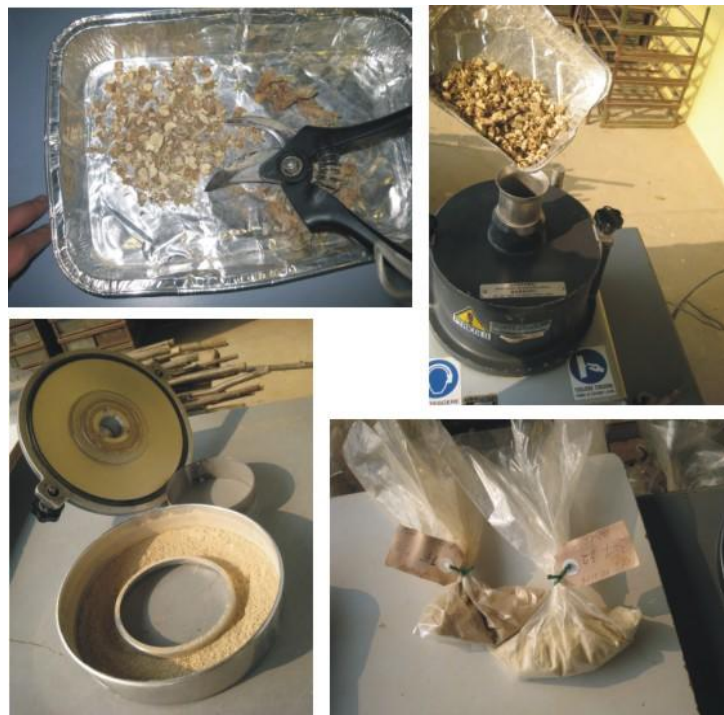
Il liofilizzatore e una serie di campioni alla fine di un ciclo di liofilizzazione sono illustrati in **Figura 13**.



**Figura 13:** Liofilizzatore *Freezemobile12* VIRTUS, campioni liofilizzati.

Una volta estratti i campioni dal liofilizzatore si pesavano, ottenendo così il peso secco di corone e fittoni. Riponendo poi il materiale in appositi sacchetti con il relativo cartellino.

Dopo la pesatura, le corone e le radici sono state tagliate in segmenti di piccole dimensioni (7-13 mm), in modo da renderne possibile la successiva macinazione. Quest'ultima operazione è stata eseguita con una macina a forza centrifuga RETSCH, utilizzando un setaccio a maglia 0,50 mm. Le fasi della macinazione sono illustrate in **Figura 14**.



**Figura 14:** Fasi della macinazione.

### **3.14 Estrazione ed analisi degli zuccheri**

Per ogni campione macinato, è stata fatta l'estrazione e la determinazione del contenuto in zuccheri.

**Estrazione:** La prima operazione consiste in una doppia pesata di 100 mg di farina del campione. Il campione pesato viene riposto in un pallone di vetro a cui vengono aggiunti 20 ml di alcool etilico puro all'80%. Il tutto viene posto su un fornello con refrigerante ad acqua, portato ad ebollizione e fatto bollire per 6 minuti. Passato il tempo si levano dal fornello i palloni, e con una delicata operazione si estrae il surnatante. Si aggiungono altri 20 ml di alcool etilico all'80% e si rimettono a bollire per altri 6 minuti. Trascorso il tempo si estrae nuovamente il surnatante e a questo punto ai campioni dispari vengono aggiunti 20 ml di H<sub>2</sub>O mentre ai campioni pari si aggiungono 20 ml di alcool etilico all'80%. Si rimette il tutto a bollire per ancora 6 minuti. A tempo trascorso, i campioni pari, con i quali si determineranno i WSC a basso peso molecolare, vengono filtrati sotto vuoto mettendo sull'imbuto della beuta del cotone e la carta da filtro D 12,5 CM (Watman 40 o 589 Shleirer e Schull). Si travasa quindi il contenuto filtrato della beuta in un cilindro graduato e si porta a volume 80 ml con H<sub>2</sub>O. Si agita e si travasa parte del filtrato in provetta, si tappa con parafilm e alla fine della giornata si mettono le provette con l'estratto in frigorifero a 4°C.

Dai campioni dispari, con i quali si determineranno invece i WSC totali, si toglie ancora una volta il surnatante, prestando sempre attenzione che il precipitato rimanga all'interno del matraccio, si aggiungono altri 20 ml di H<sub>2</sub>O e si fanno bollire per altri 6 minuti. Trascorsi i 6 minuti si procede come per i precedenti campioni pari riponendo infine il tutto in frigorifero.

Per portare a termine tale procedimento su 2 campioni per la determinazione dei WSC totali e 2 per WSC basso peso erano necessari 30 minuti.

Non appena si aveva un numero sufficiente di campioni estratti (circa 80) si procedeva alla lettura.

**Lettura:** il giorno prima è necessario preparare il reagente: 1 g di ANTRONE sciolto in acido solforico al 76%.

Per la lettura degli zuccheri si è adoperata la LINEA CARLO ERBA, strumento composto da un campionatore, da una pompa, da un circuito di vetro, da un bagno termostatico, da un colorimetro e da un registratore.

La reazione tra gli zuccheri presenti in soluzione e l'antrone deve avvenire a 90°C.

Prima di far passare nella macchina, e quindi analizzare i vari campioni, deve essere realizzata una curva di taratura dello strumento, sarà poi grazie a questa curva che si potrà determinare la percentuale di zuccheri presente.

La preparazione della curva di taratura viene fatta con soluzioni da 500-400-300-200-100-50 mg/l di FRUTTOSIO.

Lo strumento riporta su un grafico cartaceo i vari picchi relativi alle singole concentrazioni di zuccheri presenti. Grazie ai picchi della curva di taratura si determina una retta di regressione, e poiché la base del grafico rimane costante, ossia la velocità di avanzamento è costante, l'unica cosa che varia è l'altezza dei picchi; grazie a questo concetto e alla retta di regressione determinata sulla base della curva di taratura è possibile determinare il contenuto di zuccheri del campione.

Nel caso in cui il valore di WSC a basso peso risultasse superiore al corrispondente valore dei WSC totali è opportuno procedere con la rilettura oppure rifare l'estrazione.

I WSC ad alto peso molecolare vengono calcolati come differenza tra i WSC totali ed i WSC a basso peso molecolare.

### **3.15 Analisi statistiche**

I dati dell'investimento e dei diametri dei fittoni delle piante raccolte in tutti i prelievi e, per il prelievo del 19-23 novembre 2007, i dati raccolti dalle piante sopravvissute, relativi a:

- peso in sostanza secca dei fittoni a 15 cm di profondità
- peso in sostanza secca delle corone
- concentrazione di WSC totali nei fittoni
- concentrazione di WSC a basso peso molecolare nei fittoni
- concentrazione di WSC ad alto peso molecolare nei fittoni
- concentrazioni di WSC totali nelle corone
- concentrazioni di WSC a basso peso molecolare nelle corone
- concentrazioni di WSC ad alto peso molecolare nelle corone

sono stati sottoposti all'analisi della varianza. Le medie, ove necessario, sono state differenziate mediante il test della differenza minima significativa (LSD).

## **4. RISULTATI E DISCUSSIONI**



#### 4.1 Peso dei semi e densità di semina

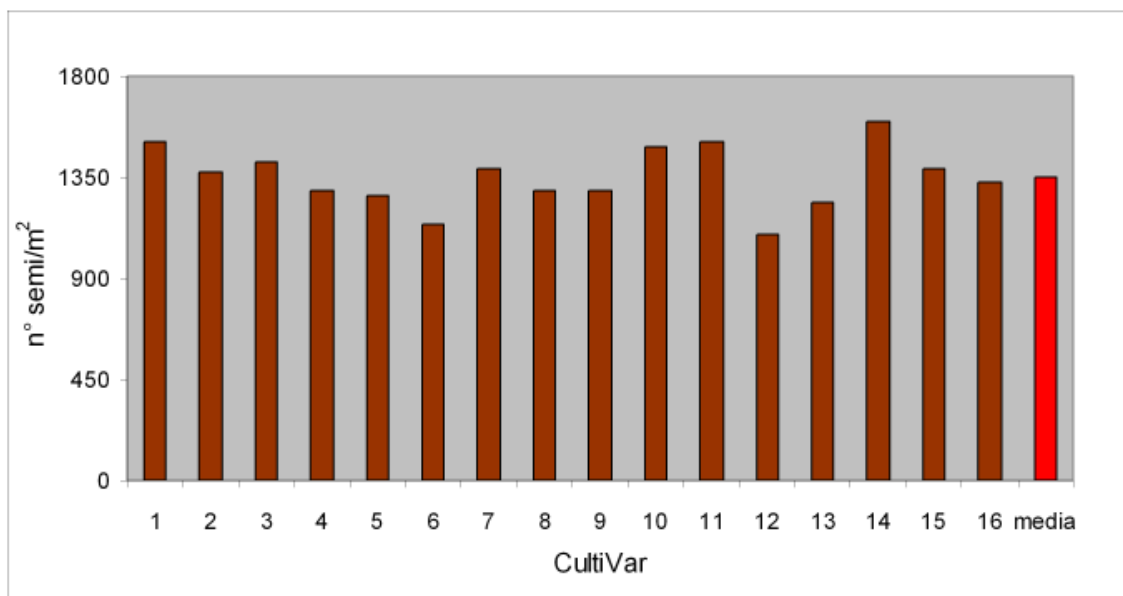
Il peso delle sementi espresso come peso di 1000 semi è variato da un valore minimo di 1,83 g, nel caso di ‘Linha’ a 2,66 g, nel caso di ‘Centauro’, con un valore medio pari a 2,18 g (Tabella 11).

**Tabella 11:** Peso delle sementi espresso come peso di 1000 semi.

<b>Tesi</b>	<b>CultiVar</b>	<b>Peso 1000semi</b>	<b>Tesi</b>	<b>CultiVar</b>	<b>Peso 1000semi</b>
1	BARLYDIA	1,93	9	LODI	2,26
2	LA TORRE	2,13	10	HISTORY	1,96
3	PALLADIANA	2,06	11	TRIADE	1,93
4	RIV. VICENTINA	2,26	12	CENTAURO	2,66
5	EQUIPE	2,30	13	GIG. ROMEA	2,36
6	PR56S82	2,56	14	LINFA	1,83
7	ROBOT	2,10	15	GARISENDA	2,10
8	PR57N02	2,26	16	DELTA	2,20
media 2,18 g					

Considerando che per tutte le tesi è stata disposta la stessa dose, al momento della semina le varietà con seme più leggero sono state deposte con una densità superiore rispetto a quelle con seme più pesante, come illustrato in **Figura 15**. La densità di semina media è stata di 1350 semi/m<sup>2</sup>.

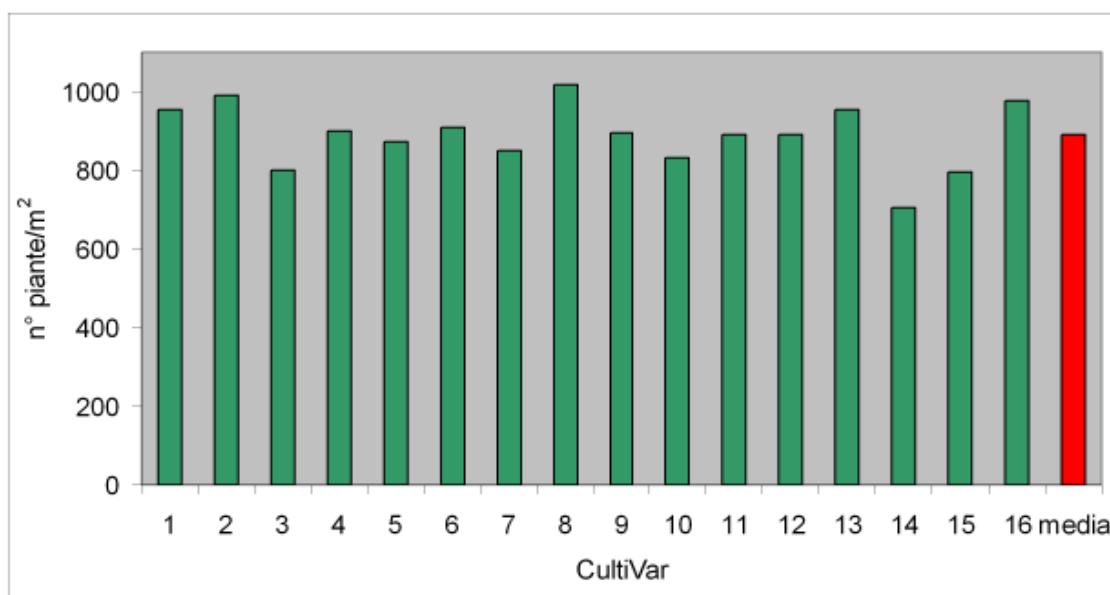




**Figura 15:** Densità di semina delle 16 CultiVar impiegate.

## 4.2 Evoluzione del numero di piante

Il primo prelievo in campo è stato effettuato nella prima decade di giugno 2005 dopo il primo taglio eseguito contemporaneamente su entrambi gli Stadi. In **Figura 16** sono mostrati i risultati di tale campionamento. Con riferimento alla densità di piante abbiamo rilevato il valore più elevato per la varietà ‘PR57N02’ (8), con 1017 piante/m<sup>2</sup>, nonostante la sua densità di semina non fosse stata al di sopra della media; mentre il valore più basso è stato trovato per la CultiVar ‘Linfà’ (14), con 703 piante/m<sup>2</sup>, che invece si era rivelata la varietà con la più alta densità di semina. Il valore medio della densità di piante al primo prelievo è stato di 889 piante/m<sup>2</sup>; si può dunque affermare che si è avuto un rapporto di circa 3:2 tra semi distribuiti e piante sopravvissute al primo taglio.



**Figura 16:** Primavera 2005. Densità di piante per unità di superficie.

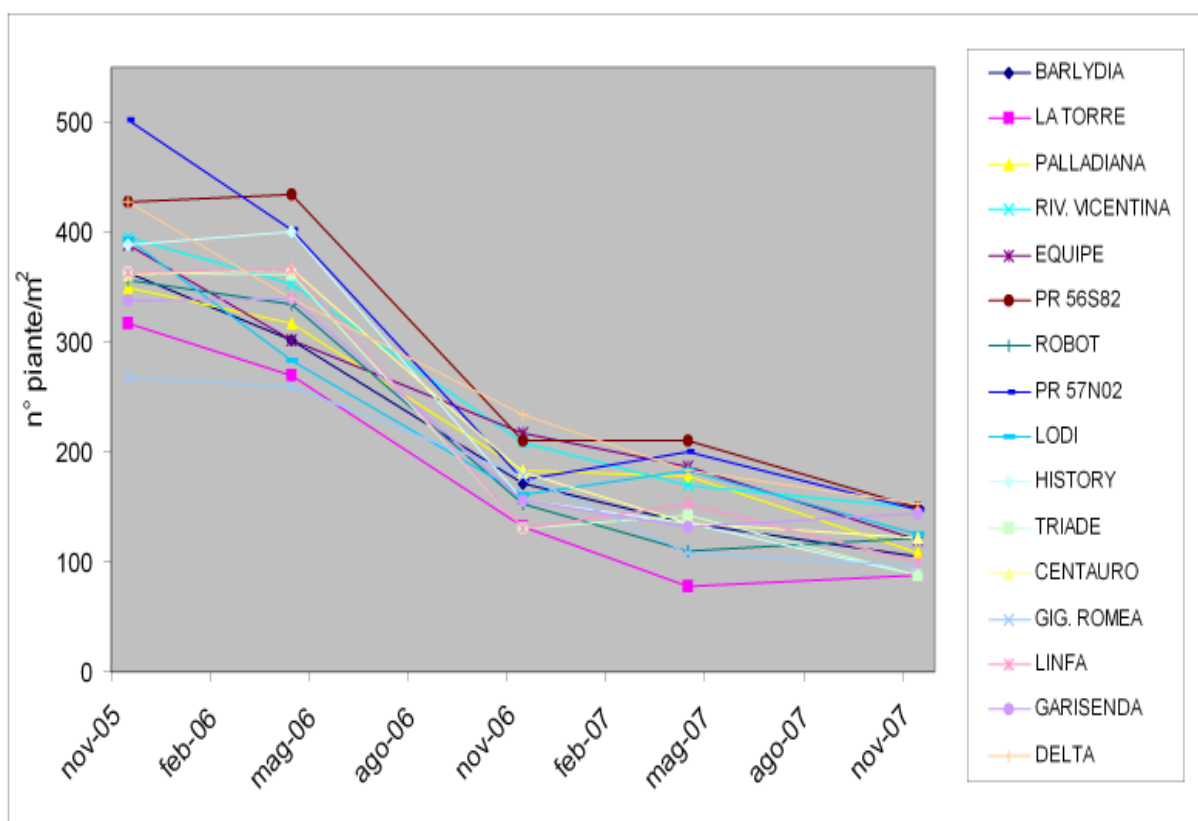
A partire dal prelievo successivo il numero di piante/m<sup>2</sup> si è notevolmente ridotto, seppur con modalità diverse a seconda dello Stadio della coltura; dopo tre cicli vegetativi completi, a partire dai valori sopra riportati, tagliando le piante a inizio fioritura (Stadio 2) si è progressivamente scesi ad una densità media di 120 piante/m<sup>2</sup>; tagliando invece le piante allo stadio di bottone fiorale (Stadio 1) si è arrivati fino a una densità media di 94 piante/m<sup>2</sup>, sebbene non tutte le varietà abbiano risentito allo stesso modo del ritmo di utilizzazione più severo.

L'epoca dei prelievi è tale da mettere in evidenza la mortalità delle piante durante i seguenti periodi: 1) estate 2005; 2) inverno 2006; 3) estate 2006; 4) inverno 2007; 5) estate 2007. Tra questi, il periodo di maggiore mortalità per le piante del medicaio è stato l'estate del 2005, in cui si è passati, in media, da 889 piante/m<sup>2</sup> a 375 piante/m<sup>2</sup> allo Stadio 2 (**Figura 17**) e 366 piante/m<sup>2</sup> allo Stadio 1 (**Figura 18**); dunque in entrambi i casi si è avuto un rapporto tra piante sopravvissute al primo taglio e piante sopraggiunte al primo inverno circa di 2,4:1, con perdite medie di 514 piante/m<sup>2</sup> (Stadio 2) e 523 piante/m<sup>2</sup> (Stadio 1), rispettivamente.

**Figura 17:** Stadio 2, estate 2005. Evoluzione numero di piante/m<sup>2</sup>.

**Figura 18:** Stadio 1, estate 2005. Evoluzione numero di piante/m<sup>2</sup>.

L'evoluzione della densità di piante per le tesi tagliate a inizio fioritura (Stadio 2), dall'autunno 2005 fino alla fine della prova è riportata in **Figura 19**.



**Figura 19:** Stadio 2. Evoluzione del numero di piante/m<sup>2</sup> tagliate a inizio fioritura.

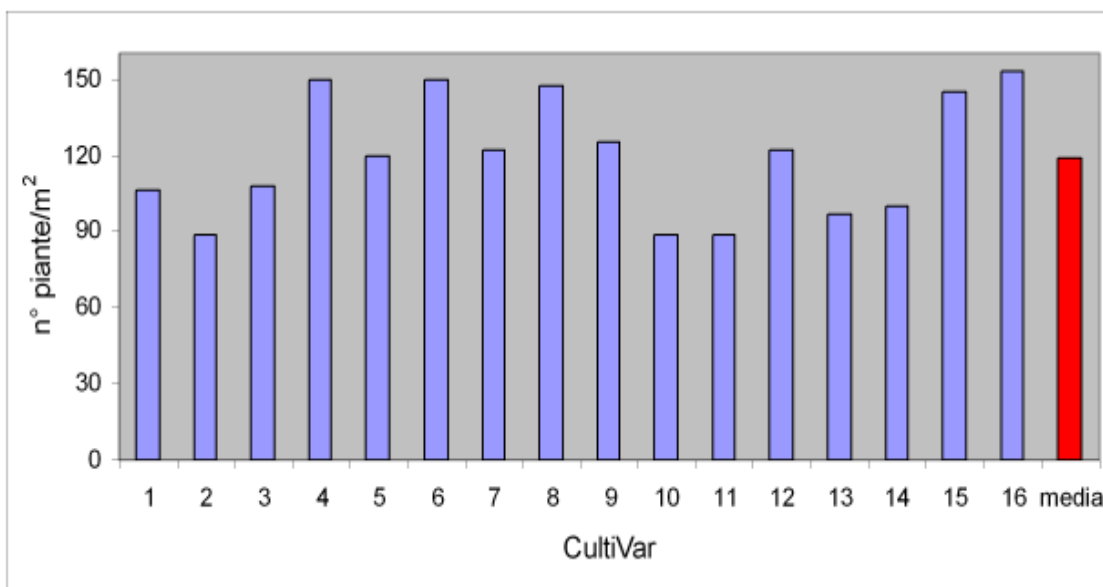
Dopo il primo inverno, per le piante sottoposte ad un regime di tagli eseguiti allo Stadio 2, le varietà che hanno mostrato le perdite più vistose sono state ‘PR57N02’ e ‘Lodi’; mentre quelle che hanno subito le minori riduzioni rispetto al prelievo dell’autunno precedente sono le seguenti: ‘PR56S82’, ‘History’, ‘Centauro’, ‘Linha’, ‘Garisenda’ e ‘Triade’, che in questo periodo hanno mostrato perdite di poche unità/m<sup>2</sup>. Nella media delle 16 CultiVar, durante l’inverno 2006 per lo Stadio 2 si è avuto un calo di 36 piante/m<sup>2</sup>.

Alla fine della seconda stagione di tagli eseguiti a inizio fioritura, le varietà che hanno mostrato i cali più vistosi di piante/m<sup>2</sup> sono le seguenti: ‘History’ ‘Triade’ e ‘Linha’; mentre quelle che hanno subito le minori riduzioni durante l’estate 2006 rispetto al prelievo della primavera precedente sono state ‘Equipe’, ‘PR57N02’, e ‘Gigante Romea’. Nella media delle 16 CultiVar, durante l’estate 2006 per lo Stadio 2 si è avuto un calo di 180 piante/m<sup>2</sup>.

Dopo la seconda stagione di tagli eseguiti allo Stadio 2, le varietà che hanno mostrato i cali più vistosi di piante/m<sup>2</sup> alla fine dell'inverno 2007 sono state 'Gigante Romea', 'Delta' e 'La Torre'; mentre quelle che hanno subito le minori riduzioni rispetto al prelievo dell'autunno precedente sono le seguenti: 'PR56S82', 'Linha', 'Palladiana', 'Triade', 'PR57N02' e 'Lodi'; queste ultime due CultiVar hanno dunque mostrato una buona sopravvivenza invernale nel secondo anno, in controtendenza rispetto al primo anno di prova, ove invece avevano manifestato un comportamento opposto. Mediamente nell'inverno 2007 le tesi tagliate allo Stadio 2 hanno mostrato un calo di 14 piante/m<sup>2</sup>.

Alla fine della terza ed ultima stagione di tagli eseguiti in Stadio 2, le varietà che hanno mostrato i cali più vistosi di piante/m<sup>2</sup> sono le seguenti: 'Palladiana' 'Equipe' e 'PR56S82'; mentre quelle che hanno subito le minori riduzioni durante l'estate 2007 rispetto al prelievo della primavera precedente sono state 'Robot', 'La Torre', e 'Garisenda'. Nella media delle 16 CultiVar, durante l'estate 2007 per lo Stadio 2 si è avuto un calo di 34 piante/m<sup>2</sup>.

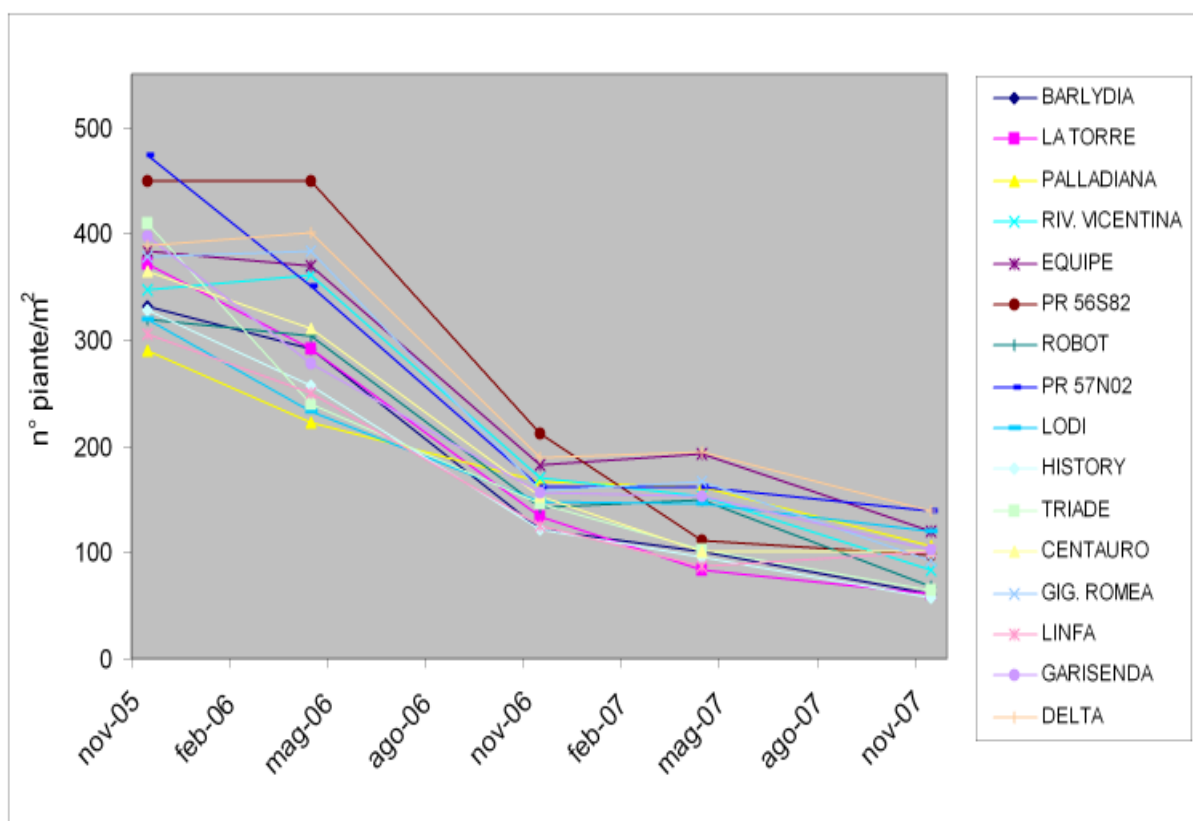
In **Figura 20** sono riportati i risultati dell'ultimo campionamento sulle piante tagliate a inizio fioritura (Stadio 2). In termini di densità di piante per unità di superficie abbiamo rilevato il valore più elevato per la varietà 'Delta'(153 piante/m<sup>2</sup>); mentre quello più basso è stato trovato per le CultiVar 'History' e 'Triade' (89 piante/m<sup>2</sup>). Il valore medio della densità di piante per unità di superficie è stato di 119 piante/m<sup>2</sup>.



**Figura 20:** Stadio 2, autunno 2007. Densità di piante per unità di superficie.

Considerando che al primo rilievo, eseguito in giugno 2005, avevamo trovato 889 piante/m<sup>2</sup>, si può calcolare, per lo Stadio 2, un rapporto di circa 7,5:1 tra le piante sopravvissute al primo taglio e quelle sopravvissute all'ultimo.

L'evoluzione del numero di piante per le tesi tagliate nello stadio di bottone fiorale (Stadio 1), dall'autunno 2005 fino alla fine della prova è mostrata in **Figura 21**.



**Figura 21:** Stadio 1. Evoluzione del numero di piante/m<sup>2</sup> tagliate a bottone fiorale.

Dal prelievo della primavera 2006 sulle piante gestite con tagli eseguiti a bottone fiorale (Stadio 1) abbiamo osservato le perdite più vistose durante il primo inverno in ‘Garisenda’, ‘PR57N02’ e soprattutto ‘Triade’; mentre le varietà che hanno subito le minori riduzioni rispetto al prelievo dell’autunno precedente sono le seguenti: ‘PR56S82’, ‘Delta’, ‘Gigante Romea’, e ‘Riviera Vicentina’, che in questo periodo hanno subito perdite piuttosto esigue. Nella media delle 16 CultiVar, durante l’inverno 2006 per lo Stadio 1 si è avuto un calo di 54 piante/m<sup>2</sup>. È da sottolineare il comportamento delle due CultiVar ‘Garisenda’ e ‘Triade’, che, allo Stadio 2 in questo stesso periodo avevano mostrato una buona capacità di sopravvivenza invernale, mentre le stesse si sono comportate in maniera opposta dopo essere state sottoposte ad un regime di tagli più severo (Stadio 1).

Alla fine della seconda stagione di tagli eseguiti a bottone fiorale (Stadio 1), le varietà che hanno mostrato il calo più vistoso sono le seguenti: ‘PR56S82’, ‘Gigante Romea’ e ‘Delta’; mentre quelle che hanno subito la minore riduzione durante l’estate 2006 rispetto al prelievo della primavera precedente sono state ‘Palladiana’ e ‘Lodi’. Nella

media delle 16 CultiVar, durante l'estate 2006 per lo Stadio 1 si è avuto un calo di 157 piante/m<sup>2</sup>. Anche in questo caso in una CultiVar si è registrato un evidente effetto d'interazione tra ritmo di taglio e mortalità delle piante, infatti la varietà 'Gigante Romea' si era distinta allo Stadio 2, nello stesso periodo, come tesi con la più bassa mortalità, invece allo Stadio 1 è risultata tra le più danneggiate.

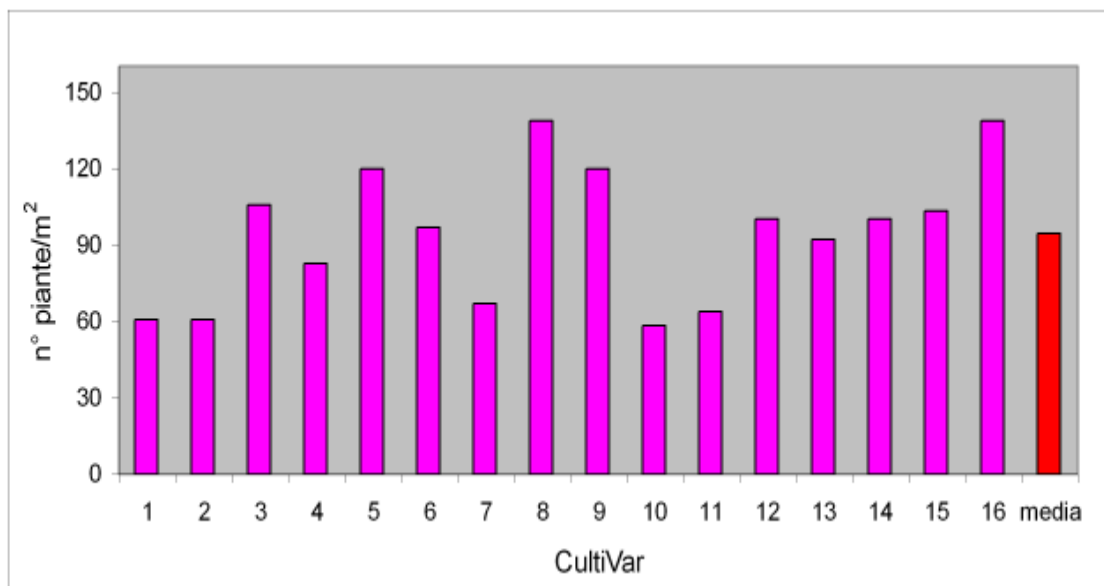
Dopo la seconda stagione di tagli eseguiti allo Stadio 1, le varietà che hanno mostrato il calo più vistoso di piante per m<sup>2</sup> alla fine dell'inverno 2007 sono state 'Centauro', 'La Torre' e soprattutto 'PR56S82'; mentre quelle che hanno subito la minore riduzione rispetto al prelievo dell'autunno precedente sono state le seguenti: 'Delta', 'Gigante Romea', 'Robot', 'Equipe' e 'PR57N02'. Nella media delle 16 CultiVar, durante l'inverno 2007 per lo Stadio 1 si è avuto un calo di 21 piante/m<sup>2</sup>. In questo stesso periodo, con la gestione dei tagli allo Stadio 2, la varietà 'PR56S82' aveva subito un decremento tra i meno rilevanti tra le 16 varietà prese in studio, dunque anche in questo caso si è osservato un effetto d'interazione tra ritmo di utilizzazione e risposta della coltura in termini d'investimento.

Alla fine della terza ed ultima stagione di tagli eseguiti allo Stadio 1, le varietà che hanno mostrato una maggior riduzione del numero di piante sono le seguenti: 'Robot' 'Equipe' e 'Gigante Romea'; mentre quelle che durante l'estate 2007 hanno mantenuto una densità elevata rispetto al prelievo della primavera precedente sono state 'PR56S82', 'Linha', e 'Centauro'. Nella media delle 16 CultiVar, durante l'estate 2007 per lo Stadio 1 si è avuto un calo di 40 piante/m<sup>2</sup>. Anche in questo caso è da sottolineare il comportamento della CultiVar 'Robot' che, in questo stesso periodo, aveva mostrato una buona capacità di sopravvivenza allo Stadio 2, ma si è comportata in maniera del tutto contraria dopo essere stata sottoposta ad un regime di tagli più severo (Stadio 1).

In **Figura 22** sono mostrati i risultati dell'ultimo campionamento sulle piante tagliate allo stadio di bottone florale (Stadio 1). In termini di densità di piante per unità di superficie abbiamo trovato il più alto valore per 'Delta' (16) e 'PR57N02' (8), con 139 piante/m<sup>2</sup>; mentre il valore più basso è stato trovato per 'History' (10), con 58 piante/m<sup>2</sup>. Il valore medio dell'investimento è stato di 94 piante/m<sup>2</sup>.



Considerando che al primo rilievo, eseguito in giugno 2005, erano state trovate 889 piante/m<sup>2</sup>, si può calcolare, per lo Stadio 1, un rapporto di circa 9,5:1 tra le piante sopravvissute al primo taglio e quelle sopravvissute all'ultimo taglio.



**Figura 22:** Stadio 1, autunno 2007. Densità di piante per unità di superficie.

A partire dai dati rilevati durante l'ultimo campionamento della prova, confrontando la risposta delle 16 Cultivar ai due Stadi, abbiamo individuato cinque differenti categorie:

- A. Varietà che alla fine del terzo anno di coltura hanno presentato un'elevata densità di piante per unità di superficie a prescindere dal ritmo di utilizzazione: 'PR57N02' e 'Delta'.
- B. Varietà sopraggiunte alla fine del terzo anno con una densità di piante per unità di superficie elevata con ritmo di utilizzazione 2 e media con ritmo di utilizzazione 1: 'Riviera Vicentina', 'PR56S82' e 'Garisenda'.
- C. Varietà sopraggiunte alla fine del terzo anno con una densità di piante per unità di superficie intermedia a prescindere dal ritmo di utilizzazione: 'Palladiana', 'Equipe', 'Lodi', 'Centauro', 'Gigante Romea' e 'Linfà'.
- D. Varietà sopraggiunte alla fine del terzo anno con una densità di piante per unità di superficie media con ritmo di utilizzazione 2 e bassa con ritmo di utilizzazione 1: 'Barlydia' e 'Robot'.

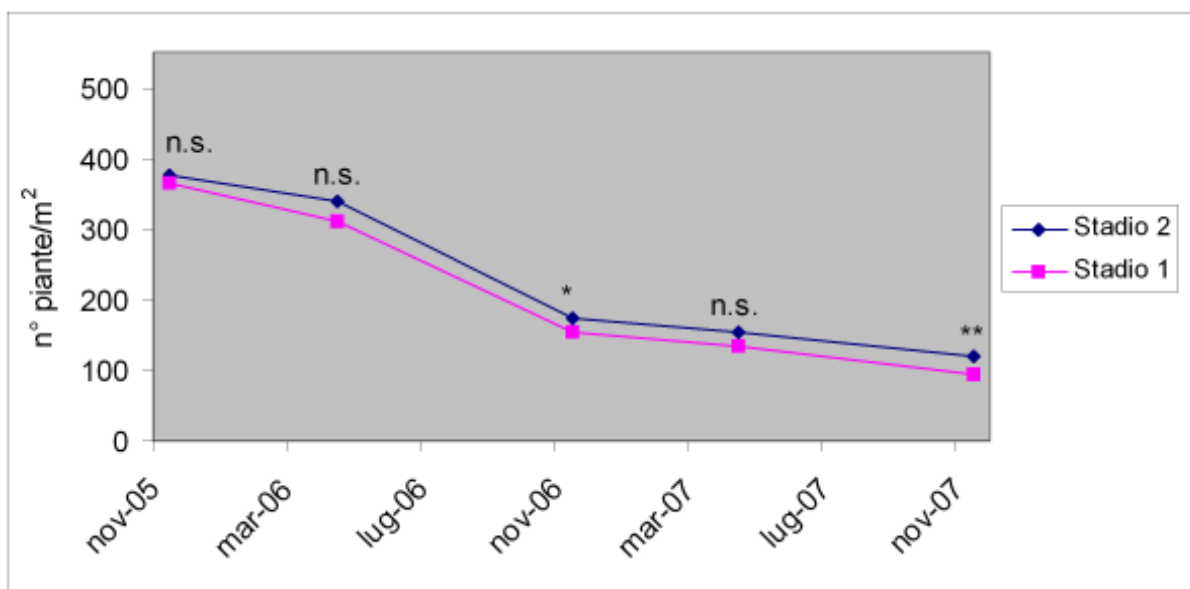
- E. Varietà sopraggiunte alla fine del terzo anno con una scarsa densità di piante per unità di superficie a prescindere dal ritmo di utilizzazione: ‘La Torre’, ‘History’ e ‘Triade’.

La differenziazione delle 16 CultiVar, in termini di numero di piante per unità di superficie sopravvissute alla fine del terzo anno, è evidenziata nella **Figura 23**.

**Figura 23:** Autunno 2007. Numero di piante per unità di superficie in corrispondenza dei due diversi ritmi di taglio. Le linee tratteggiate si riferiscono alla media.

La sopravvivenza allo Stadio 2 dal primo prelievo (giugno 2005) fino all’ultimo (novembre 2007) è stata del 13,4%; mentre allo Stadio 1 è stata del 10,6%.

La **Figura 24** riporta i valori medi delle 16 CultiVar studiate per i due ritmi di utilizzazione dall'autunno 2005 fino alla fine della prova.



**Figura 24.** Evoluzione numero di piante per unità di superficie in Stadio 2 e Stadio 1. n.s. = non significativo; \* = differenze significative al  $p \leq 0.05$ ; \*\* = differenze significative al  $p \leq 0.01$ .

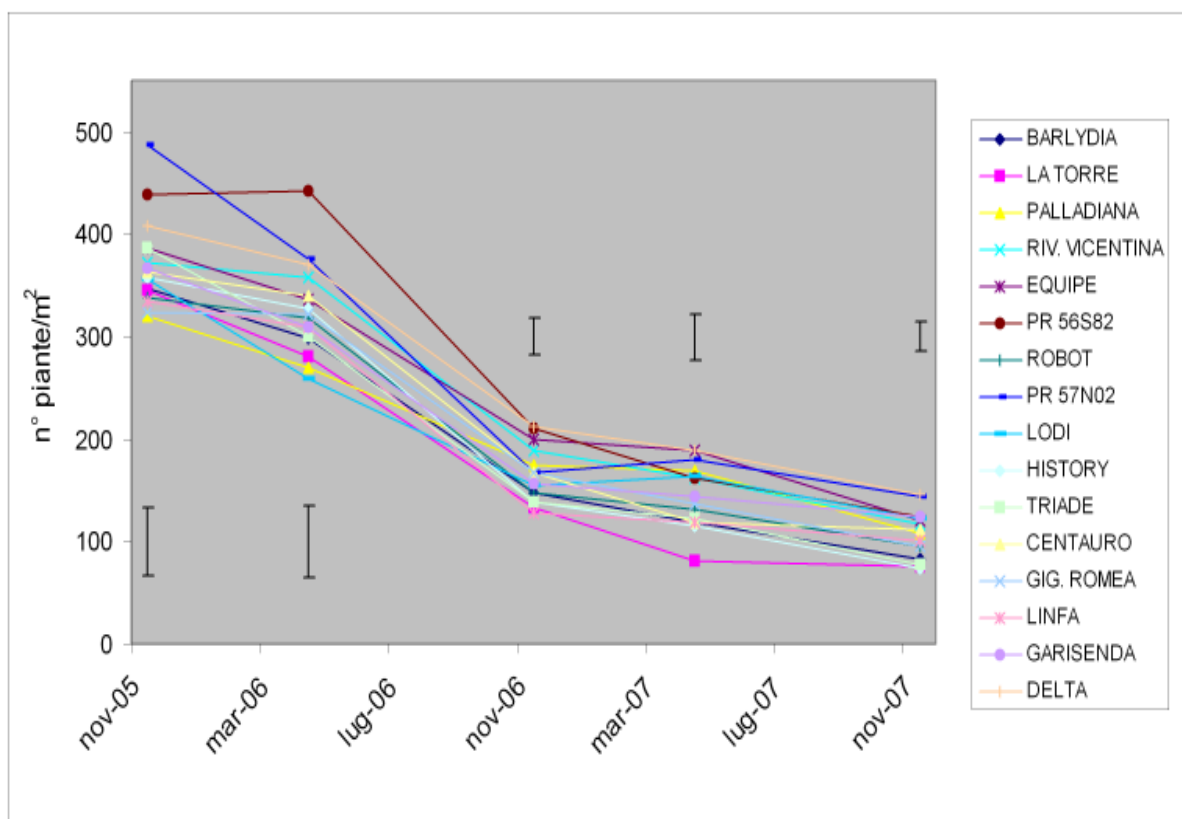
Analizzando la mortalità delle piante, per entrambi gli stadi, si può notare quanto segue:

- Durante la stagione di taglio 2005 si è verificato circa il 66% delle perdite complessive dell'intero triennio di prova.
- Durante l'inverno 2006 si è avuta una perdita esigua di piante per unità di superficie, pari circa al 5-7% sull'ammontare totale dei tre anni.
- Nella seconda stagione di taglio si è avuto un nuovo innalzamento dell'incidenza sulla mortalità complessiva, fino al 20-24%.
- Durante l'inverno 2007 si è rilevata la mortalità più bassa, con percentuali del 2-3%.
- Nell'ultima stagione di taglio (2007) l'incidenza sulla mortalità complessiva si è assestata a livelli percentuali di 4,4-5%.

La **Figura 25** mostra l'evoluzione dell'investimento (numero di piante/m<sup>2</sup>) nella media dei due Stadi; i risultati dell'analisi della varianza sono riportati nella **Tabella 12**.

**Tabella 12:** Risultati dell'analisi della varianza relativa al numero di piante per unità di superficie (effetto CultiVar).

Rilievo	Significatività	Rilievo	Significatività
Giugno 2005	n.s.	Novembre 2006	**
Novembre 2005	**	Marzo 2007	*
Marzo 2006	*	Novembre 2007	**



**Figura 25:** Evoluzione numero di piante per unità di superficie nella media dei due ritmi di taglio. Le barre verticali indicano LSD ( $p < 0.05$ ).

Nei rilievi primaverili, rispetto a quelli autunnali, si è evidenziata una maggiore variabilità d'investimento. Ciò indica una maggiore differenziazione delle CultiVar in termini di mortalità invernale.

### 4.3 Larghezza delle radici

La **Figura 26** mostra l'evoluzione del diametro dei fittoni, come media tra le 16 CultiVar, rilevato a tre diversi livelli rispetto alla corona: 3 cm, 8 cm e 15 cm.

Nella parte più superficiale del fittone, ossia a 3 cm dalla corona, abbiamo osservato una crescita progressiva del diametro da 2,0 mm fino a 8,2 mm nelle piante tagliate allo stadio di bottone florale e 8,5 mm in quelle tagliate a inizio fioritura.

Nella porzione intermedia del fittone, a 8 cm dalla corona, nello stesso periodo si è avuto un aumento da 1,1 mm fino a 6,3 mm (Stadio 1) e 6,7 mm (Stadio 2).

Infine, a 15 cm dalla corona, durante il triennio di prova abbiamo rilevato una crescita di diametro da 0,3 a 4,9 (Stadio 1) e 5,3 (Stadio 2).

**Figura 26:** Evoluzione del diametro del fittone a tre diverse profondità nel terreno allo Stadio 1 e Stadio 2.

È interessante notare che i periodi in cui la crescita diametrica della radice è stata più rapida corrispondono alle prime due stagioni vegetative: giugno-novembre 2005 e aprile-novembre 2006; mentre il periodo di maggior freno per la crescita dell'apparato ipogeo è stato il primo svernamento.

Durante il periodo aprile-novembre 2006 si può notare, a tutti i tre livelli, che il diametro dei fittoni delle piante allo Stadio 2 supera quello delle piante allo Stadio 1.

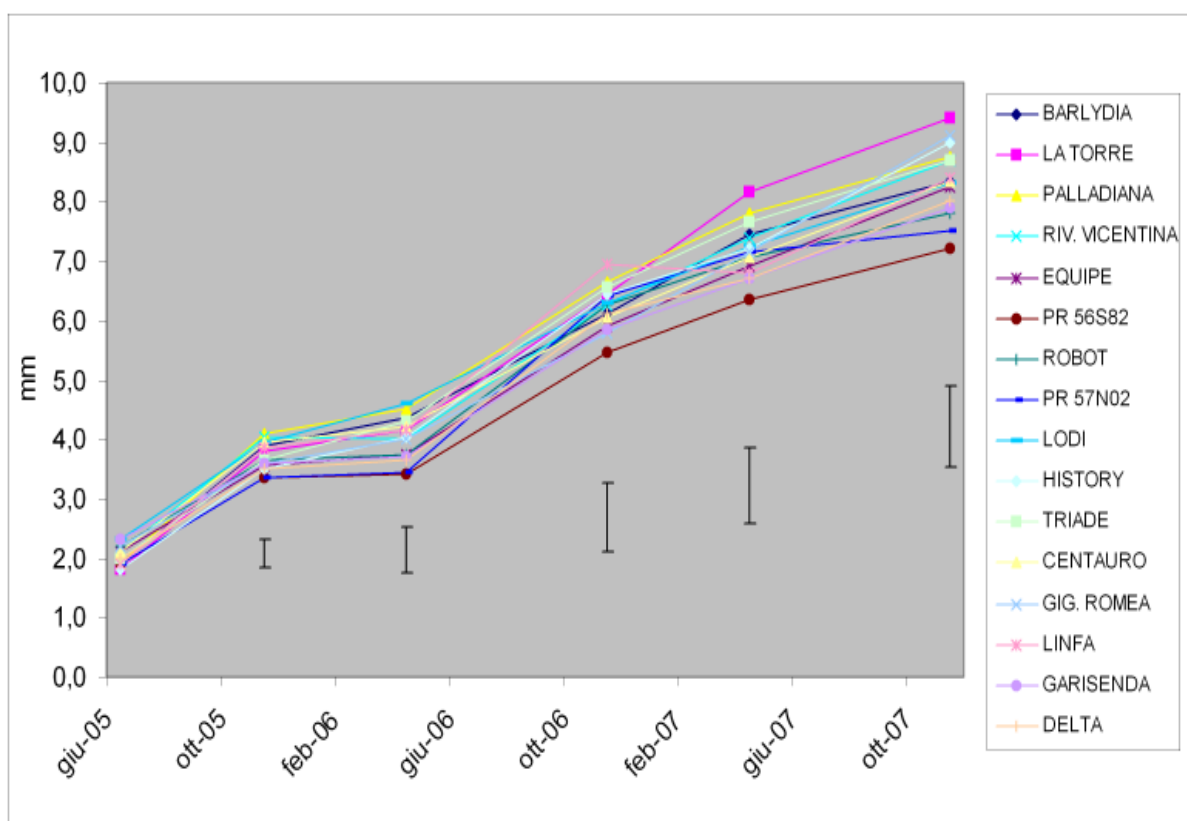
Dunque, a partire dalla seconda stagione vegetativa, lo Stadio 2 avvantaggia le piante non soltanto in termini d'investimento ma anche di dimensioni dell'apparato ipogeo.

Tuttavia, prima di tale epoca il numero relativamente elevato di piante/m<sup>2</sup> delle tesi allo Stadio 2 può giustificare le minori dimensioni radicali rispetto alle piante allo Stadio 1.

La **Figura 27** mostra l'evoluzione del diametro del fittone a 3 cm di profondità nella media dei due Stadi durante l'intero periodo di sperimentazione; i risultati dell'analisi della varianza sono riportati nella **Tabella 13**.

**Tabella 13:** Risultati dell'analisi della varianza relativa al diametro del fittone a 3 cm nella media dei due Stadi (effetto CultiVar).

Rilievo	Significatività	Rilievo	Significatività
Giugno 2005	n.s.	Novembre 2006	**
Novembre 2005	*	Marzo 2007	*
Marzo 2006	*	Novembre 2007	**

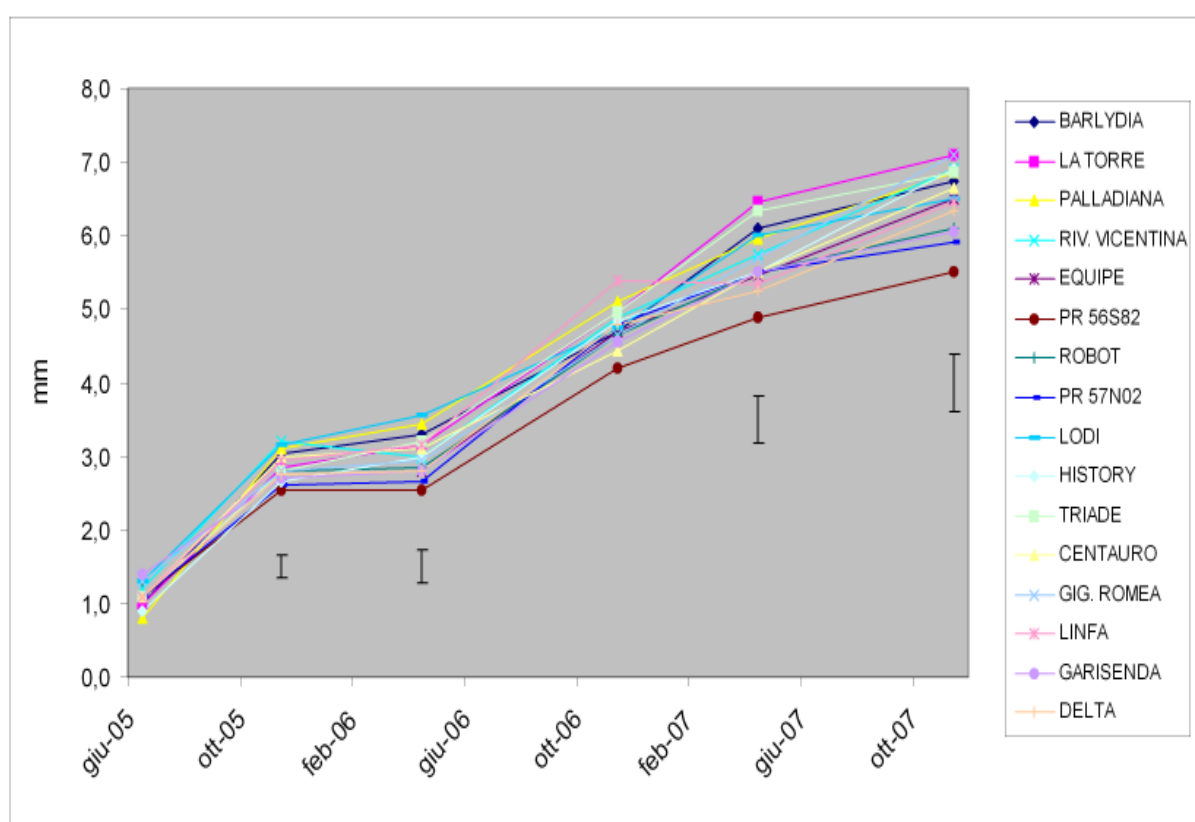


**Figura 27:** Evoluzione diametro del fittone a 3 cm di profondità nella media dei due ritmi di taglio. Le barre verticali indicano LSD ( $p < 0.05$ ).

La **Figura 28** mostra l'evoluzione del diametro del fittone a 8 cm di profondità nella media dei due Stadi durante l'intero periodo di sperimentazione; i risultati dell'analisi della varianza sono riportati nella **Tabella 14**.

**Tabella 14:** Risultati dell'analisi della varianza relativa al diametro del fittone a 8 cm nella media dei due Stadi (effetto CultiVar).

Rilievo	Significatività	Rilievo	Significatività
Giugno 2005	n.s.	Novembre 2006	n.s.
Novembre 2005	*	Marzo 2007	*
Marzo 2006	**	Novembre 2007	**

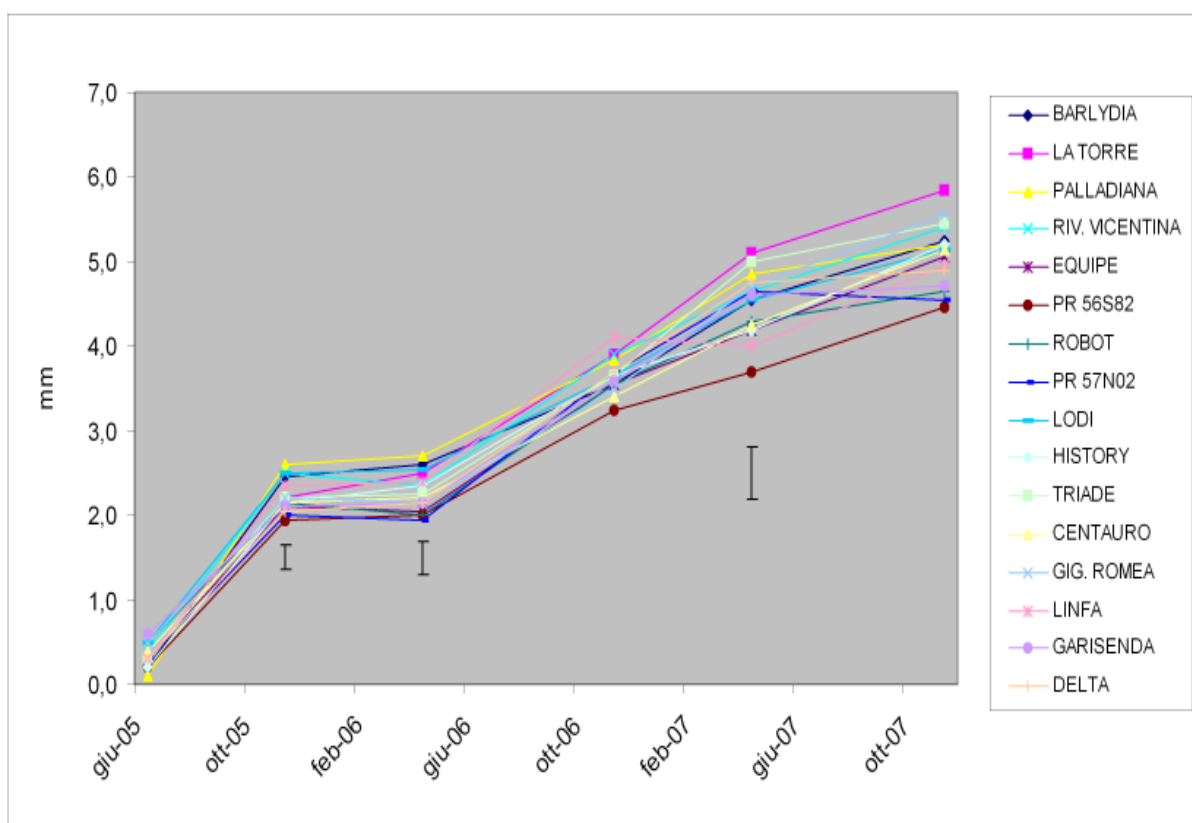


**Figura 28:** Evoluzione diametro del fittone a 8 cm di profondità nella media dei due ritmi di taglio. Le barre verticali indicano LSD ( $p < 0.05$ ).

La **Figura 29** mostra l'evoluzione del diametro del fittone a 15 cm di profondità nella media dei due Stadi durante l'intero periodo di sperimentazione; i risultati dell'analisi della varianza sono riportati nella **Tabella 15**.

**Tabella 15:** Risultati dell'analisi della varianza relativa al diametro del fittone a 15 cm nella media dei due Stadi (effetto CultiVar).

Rilievo	Significatività	Rilievo	Significatività
Giugno 2005	n.s.	Novembre 2006	n.s.
Novembre 2005	*	Marzo 2007	**
Marzo 2006	**	Novembre 2007	n.s.



**Figura 29:** Evoluzione diametro del fittone a 15 cm di profondità nella media dei due ritmi di taglio. Le barre verticali indicano LSD ( $p < 0.05$ ).

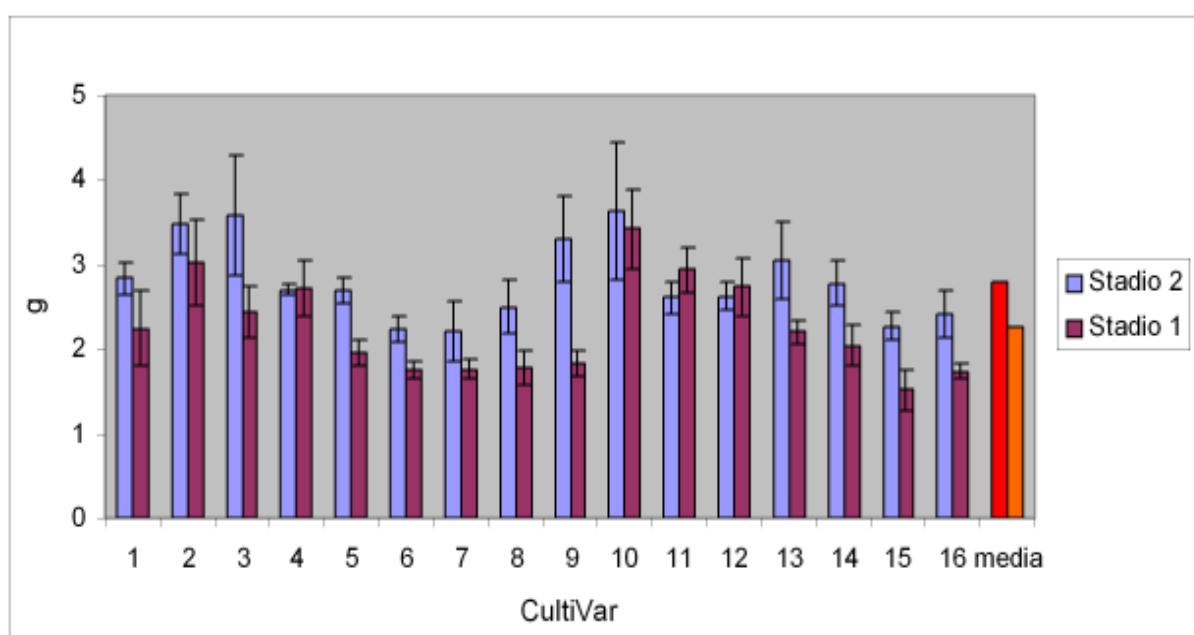
#### 4.4 Peso secco del fittone

È stato messo a confronto il peso secco dei fittoni prelevati alla fine del triennio di prova, relativi alle 16 CultiVar e ai due ritmi di utilizzazione studiati. Il risultato di tale confronto è riportato nella **Figura 30**.

Il contenuto medio di sostanza secca per fittone rilevato allo Stadio 2 è stato di 2,8 g, contro un valore medio pari a 2,25 g per lo Stadio 1. Da tale risultato emerge

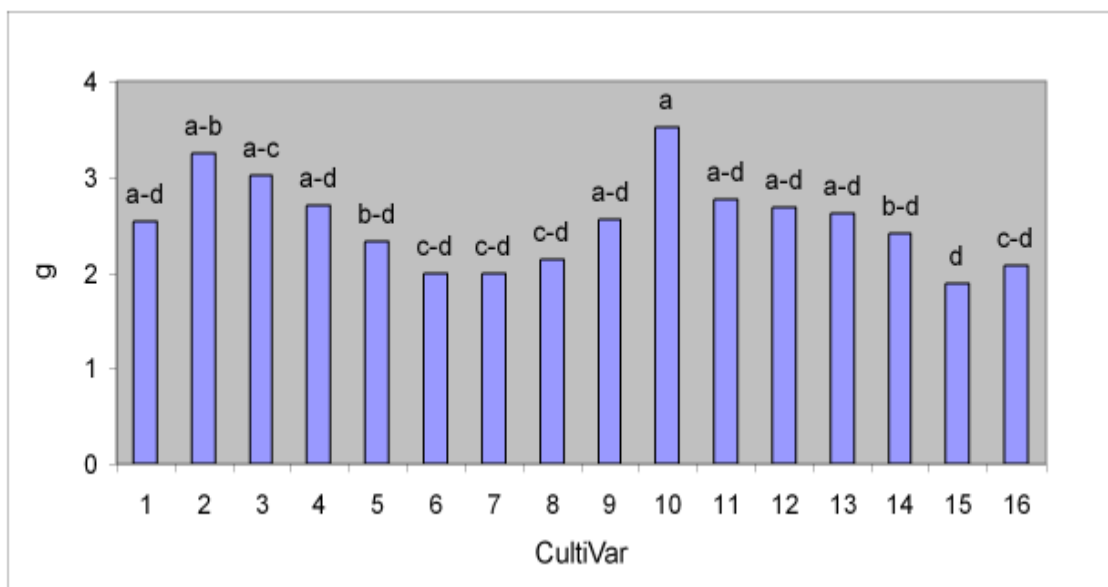


chiaramente che le piante sottoposte ad un regime di tagli meno severo (Stadio 2), oltre a sopraggiungere al terzo inverno con una densità più elevata, sono provviste di fittoni più pesanti rispetto alle piante sottoposte al regime di tagli a bottone fiorale (Stadio 1). Le CultiVar in cui si sono evidenziate maggiori differenze i due Stadi sono state: ‘Lodi’ (9), ‘Palladiana’ (3), ‘Gigante Romea’ (13), ‘Garisenda’ (15), ‘Linfa’ (14), ‘Delta’ (16), ‘Equipe’ (5) e PR57N02 (8); mentre tra quelle che hanno subito meno l’effetto d’interazione tra ritmo di taglio e peso secco del fittone si sono soprattutto le varietà ‘Riviera Vicentina’ (4), ‘History’ (10) e ‘Centauro’ (12).



**Figura 30:** Autunno 2007. Peso secco del fittone (g s.s.). Le barre verticali indicano l’Errore Standard. Effetto “Stadio” e Int. “CultiVar x Stadio” Sig. al  $p \leq 0.01$ .

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, nella media dei due stadi il valore più elevato è stato raggiunto da ‘History’ (10, raggruppamento a), con 3,52 g s.s. per fittone; si è distinte positivamente anche la CultiVar ‘La Torre’ (2, raggruppamento a-b), con un valore medio di 3,25 g s.s. per fittone.

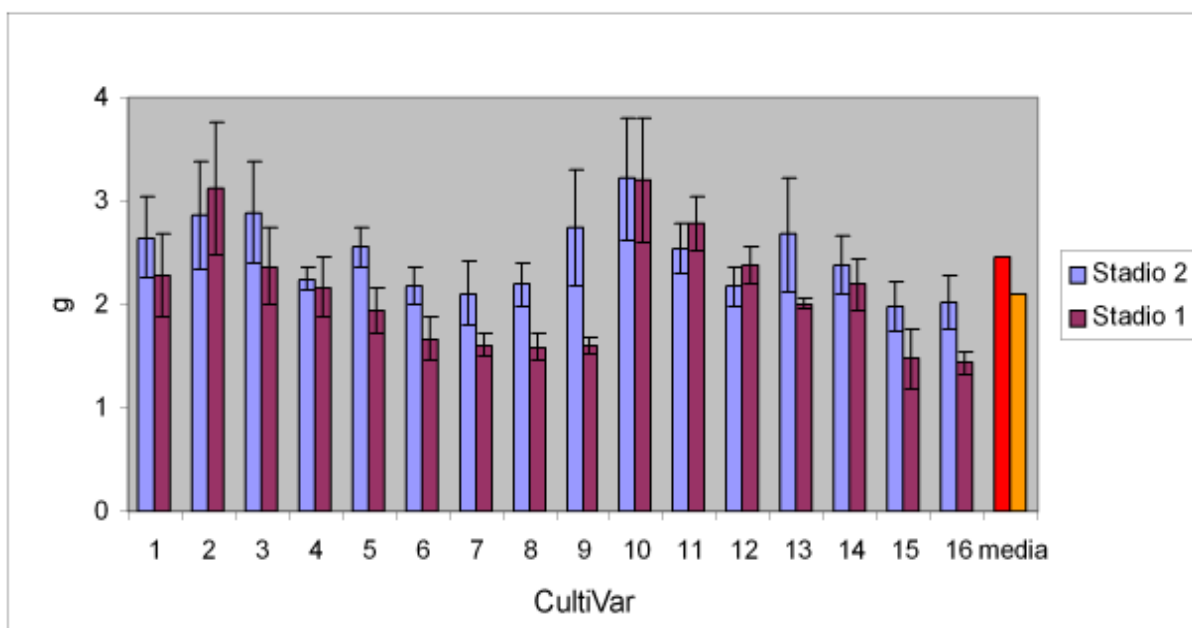


**Figura 31:** Autunno 2007. Peso secco del fittone (g s.s.) nella media dei due Stadi.

Mentre la varietà che ha mostrato il minor peso secco è stata ‘Garisenda’ (15, raggruppamento d), con un valore medio di 1,89 g s.s. per fittone. Altre varietà che si sono distinte negativamente in termini di peso secco del fittone nella media dei due stadi sono le seguenti: ‘PR56S82’ (6), ‘Robot’ (7), ‘PR57N02’ (8) e ‘Delta’ (16), raggruppamento c-d.

#### 4.5 Peso secco della corona

È stato posto a confronto anche il peso secco delle corone prelevate alla fine del triennio di prova. Il risultato di tale confronto è riportato in **Figura 32**.



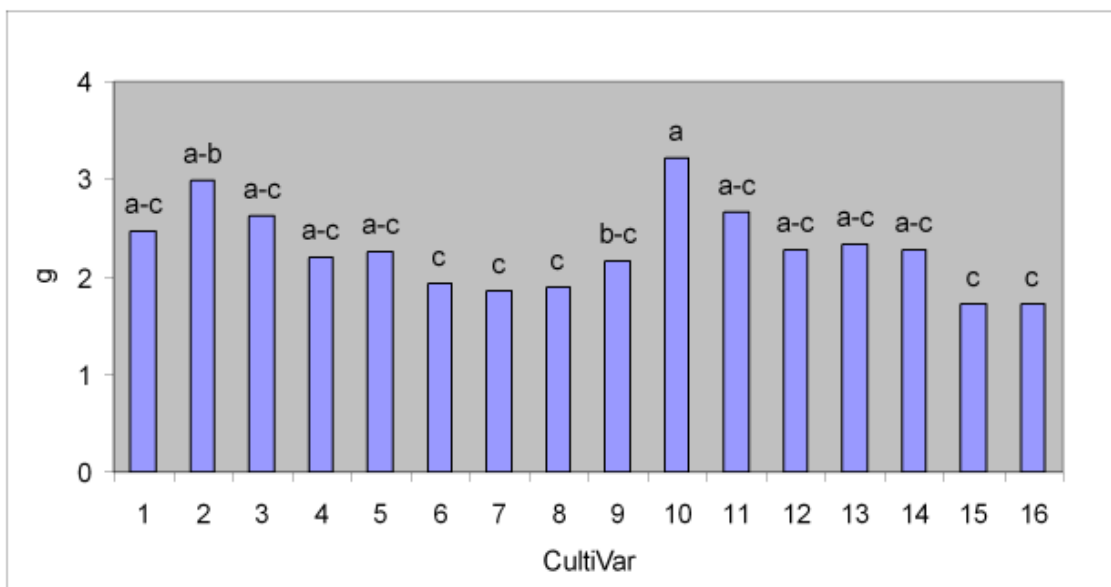
**Figura 32:** Autunno 2007. Peso secco della corona (g s.s.). Le barre verticali indicano l'Errore Standard. Effetto "Stadio" e Int. "CultiVar x Stadio" Sig. al  $p \leq 0.01$ .

Il peso medio della corona rilevato allo Stadio 2 è stato di 2,46 g, contro i 2,11 g per lo Stadio 1. Questo risultato rispecchia quanto detto in merito al peso secco dei fittoni, infatti è possibile vedere anche in questo caso che le piante sottoposte ad un regime di tagli meno severo (Stadio 2), oltre a sopraggiungere al terzo inverno con un investimento maggiore, sono provviste di corone più pesanti rispetto alle piante sottoposte al regime di tagli a bottone fiorale (Stadio 1).

Analizzando in dettaglio le singole CultiVar, i valori più elevati sono stati raggiunti da 'History' (10, raggruppamento a), con 3,21 g s.s. per corona e 'La Torre' (2, raggruppamento a-b), con un valore medio di 2,99 g s.s. per corona.

Mentre le varietà caratterizzate da corone di peso ristretto sono le seguenti: 'PR56S82' (6), 'Robot' (7), 'PR57N02' (8), Garisenda (15) e 'Delta' (16), raggruppamento c.

La **Figura 33** riporta il peso secco della corona nella media dei due Stadi.



**Figura 33:** Autunno 2007. Peso secco della corona (g s.s.) nella media dei due Stadi.

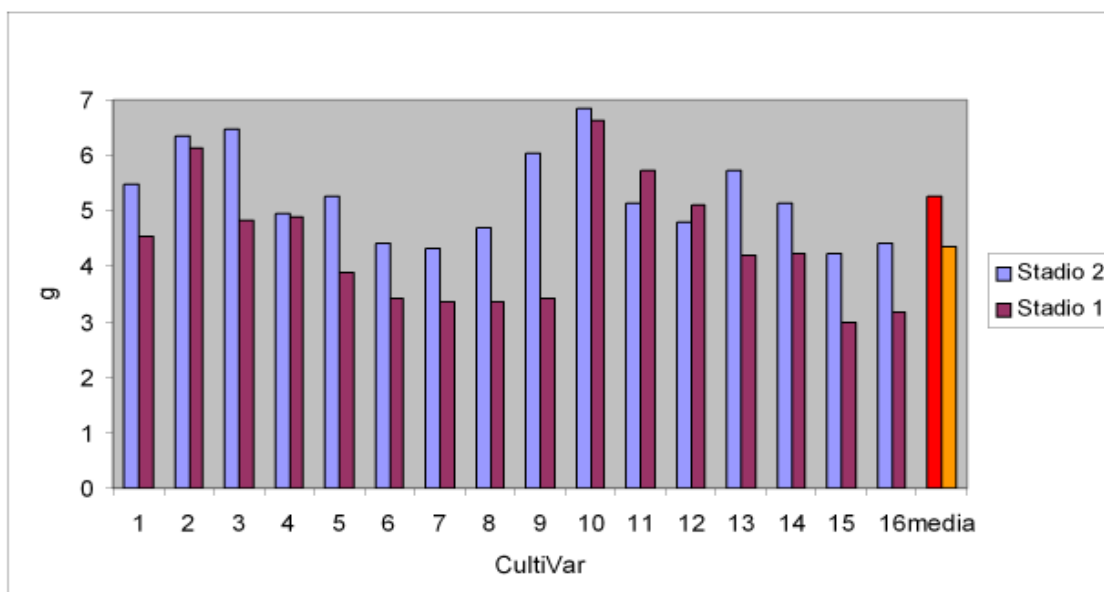
Confrontando i pesi secchi delle corone con quelli dei fittoni si evince quanto segue:

- La varietà ‘History’ si è distinta dalle altre, a entrambi gli Stadi, sia dal punto di vista del peso secco del fittone (raggruppamento a) sia anche di quello della corona (raggruppamento a).
- La varietà ‘Garisenda’ si è distinta dalle altre, a entrambi gli Stadi, sia dal punto di vista del peso secco del fittone (raggruppamento d) sia anche di quello della corona (raggruppamento c).
- Il rapporto medio *FITTONE/CORONA* per lo stadio 2 è stato di 1,138, mentre per lo stadio 1 è stato di 1,066; Tali risultati non sono dissimili tra loro, in quanto approssimabili entrambi a 1,1.

Si è calcolato il peso secco complessivo dei fittoni e delle corone, allo scopo di ottenere una visione d’insieme del peso degli organi di riserva delle 32 tesi alla fine della prova.

Il risultato del confronto ottenuto è riportato in **Figura 34**.

Il contenuto medio di sostanza secca complessivo degli organi di riserva allo Stadio 2 è stato di 5,26 g, contro un valore medio pari a 4,37 g per lo Stadio 1. Questo risultato è la conseguenza diretta di quanto accade per le radici e le corone, che mostrano un calo di peso secco connesso alla severità del ritmo di utilizzazione del medicaio.



**Figura 34:** Autunno 2007. Peso secco complessivo degli organi di riserva (g s.s.).

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, per lo Stadio 2 si sono distinte positivamente ‘History’(10), ‘La Torre’ (2) e ‘Palladiana’(3), con 6,33-6,83 g s.s. per pianta; mentre ‘Garisenda’(15), ‘Robot’(7) e ‘Delta’(16) si sono mantenute al di sotto della media, con 4,25-4,41 g s.s. per pianta.

Allo Stadio 1 la varietà che ha raggiunto il maggior peso secco è stata ‘History’ con 6,62 g s.s. per pianta, invece l’apporto radicale di ‘Garisenda’, ‘Robot’, ‘PR57N02’(8) e ‘Delta’ ha presentato valori inferiori alla media, variabili da 2,99 a 3,36 g s.s. per pianta.

Il confronto tra questi dati e la densità di piante per unità di superficie pone in evidenza quanto segue:

- Varietà come ‘History’ e ‘La Torre’, sopraggiunte al terzo anno con una scarsa densità di piante/m<sup>2</sup> (gruppo E) a prescindere dal ritmo di taglio, si sono distinte in entrambi gli stadi con elevati pesi secchi rispetto alla media.
- ‘Delta’ e ‘PR57N02’, sopraggiunte al terzo anno con un’elevata densità di piante anche in Stadio 1 (gruppo A), hanno mostrato pesi secchi bassi rispetto alla media, specialmente in Stadio 1.

## 4.6 Presenza di malerbe

Prima dell'inizio della terza stagione di tagli le stime visive delle percentuali di copertura dovuta alle infestanti presenti in campo eseguite il 21 marzo ed il 13 aprile 2007 hanno dato i risultati mostrati in **Figura 35** e **36**, rispettivamente.

**Figura 35:** 21 marzo 2007. Infestanti presenti in campo.

Nel mese di marzo 2007, allo Stadio 2 è stata stimata una copertura media d'infestanti pari a 31,35%, e di erba medica pari a 74,79%. Mentre allo Stadio 1 è stata stimata una copertura media d'infestanti pari a 46,88% e di erba medica pari a 63,02%.

Nel mese di aprile 2007, allo Stadio 2 è stata stimata una copertura media d'infestanti pari a 55,94% e di erba medica pari a 84,38%. Allo Stadio 1 invece è stata stimata una copertura media d'infestanti pari a 69,9% e di erba medica pari a 73,23%.

**Figura 36:** 13 aprile 2007. Infestanti presenti in campo.

Nelle stesse date è stata eseguita anche la stima visiva delle percentuali di copertura dovuta all'erba medica presente in campo; i risultati dei rilievi eseguiti nei mesi di marzo 2007 e aprile 2007 sono mostrati in **Figura 37 e 38**, rispettivamente.

**Figura 37:** 21 marzo 2007. Erba medica presente in campo.

**Figura 38:** 13 aprile 2007. Erba medica presente in campo.

Ciò mette alla luce un chiaro vantaggio competitivo delle tesi tagliate con un ritmo di taglio meno severo (Stadio 2) rispetto alle tesi tagliate a bottone fiorale nei confronti delle infestanti primaverili.

Analizzando le singole CultiVar nel dettaglio, nel rilievo del 21 marzo 2007 allo Stadio 2 'Delta' (16) si è distinta positivamente con una presenza di piante infestanti pari solamente al 5 %; mentre 'Garisenda' (15) si è distinta in senso opposto, con il 65 % d'infestanti sulla copertura totale del campo. Allo Stadio 1 'PR57N02' (8) ha mostrato le migliori prestazioni con il 25 % d'infestanti, mentre 'Gigante Romea' (13) ha raggiunto il 68,33 %.

Nel rilievo del 13 aprile 2007, allo Stadio 2, 'Delta' si è dimostrata ancora una volta migliore, con il 18,33 % d'infestanti; mentre i peggiori risultati sono stati ottenuti da 'Lodi' (9) e 'Robot' (7), con una copertura d'infestanti pari a 75-76,67 %. Allo Stadio 1 'PR57N02' si è confermata la più competitiva nei confronti delle piante infestanti, con il 36,67 % d'infestanti presenti in campo; mentre 'Linfa' (14) e 'Centauro' (12) si sono rivelate le più infestate (85-86,67 %).

## **4.7 Dati produttivi**

Le produzioni complessive ottenute dalle 32 tesi sono state messe a confronto, il risultato delle produzioni del 2006 è illustrato in **Figura 39**.

Nel 2006, le piante tagliate a inizio fioritura (Stadio 2) hanno prodotto mediamente 19,29 t/ha s.s., mentre le piante tagliate a bottone fiorale (Stadio 1) hanno prodotto mediamente 17,9 t/ha s.s.. Ciò indica un chiaro svantaggio in termini quantitativi per le tesi tagliate più frequentemente.

Allo Stadio 2, le CultiVar più produttive sono state 'Delta' (16) e 'Equipe' (5), che hanno superato 20 t/ha s.s.; invece si sono distinte in senso opposto 'La Torre' (2) e 'Centauro' (12), con meno di 18 t/ha s.s..

Anche allo Stadio 1 la CultiVar 'Delta' si è dimostrata tra le più produttive insieme a 'Palladiana' (3), con valori vicini a 20 t/ha s.s.; invece si sono distinte in senso opposto 'Barlydia' (1) e 'La Torre' (2), con meno di 16 t/ha s.s..



**Figura 39:** 2006. Produzione complessiva di sostanza secca.

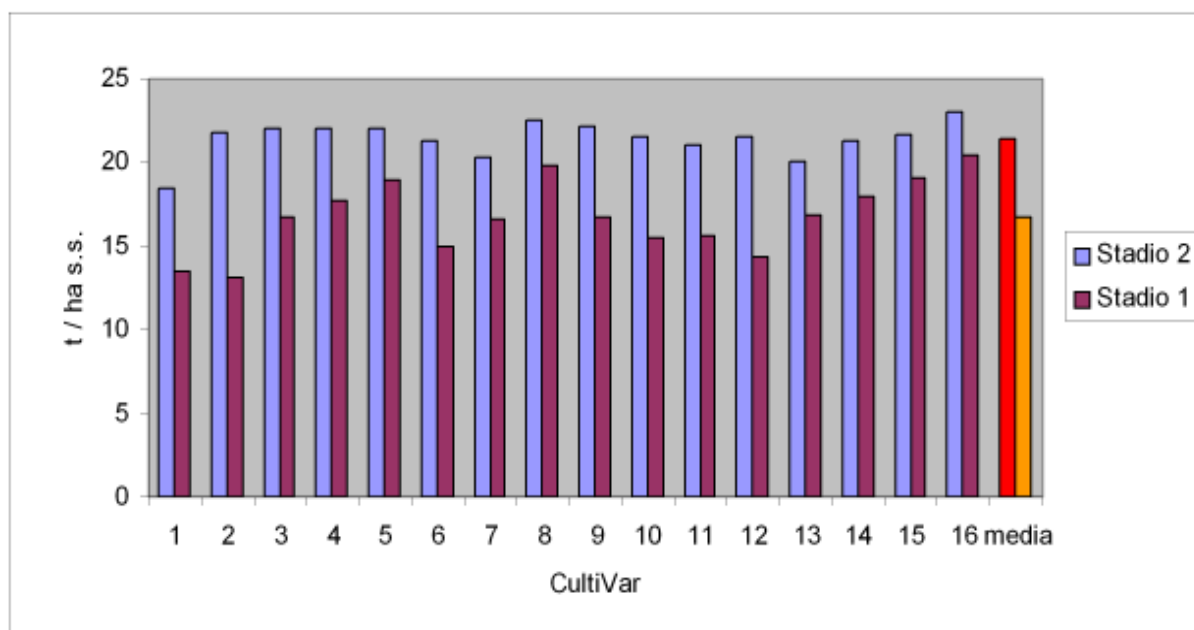
Dal confronto delle produzioni ottenute durante il 2007 abbiamo ottenuto i dati riportati in **Figura 40**.

Nel 2007, le piante tagliate allo Stadio 2 hanno prodotto mediamente 21,42 t/ha s.s., mentre le piante tagliate allo Stadio 1 hanno prodotto mediamente 16,74 t/ha s.s.. Ciò conferma lo svantaggio in termini di quantità di produzione per le tesi tagliate a bottone fiorale.

Allo Stadio 2, la CultiVar più produttiva è stata 'Delta' (16), che ha quasi raggiunto 23 t/ha s.s.; la meno produttiva invece 'Barlydia' (1), con 18,48 t/ha s.s..

Anche allo Stadio 1 la CultiVar 'Delta' si è dimostrata la più performante, con 20,44 t/ha s.s., ottimi risultati sono stati evidenziati anche da 'PR57N02' (8), con 19,79 t/ha s.s.; invece si sono distinte in senso opposto 'Barlydia' e 'La Torre' (2), con 13,15-13,53 t/ha s.s..

Le buone prestazioni produttive delle varietà 'Delta' e 'PR57N02' tagliate allo stadio di bottone fiorale, che in precedenza abbiamo individuato come uniche due CultiVar che alla fine del terzo anno di coltura presentano un'elevata densità di piante per unità di superficie a prescindere dal ritmo di utilizzazione, lasciano pensare ad una possibile relazione positiva tra l'investimento delle piante e la produttività del medicaio.



**Figura 40:** 2007. Produzione complessiva di sostanza secca.

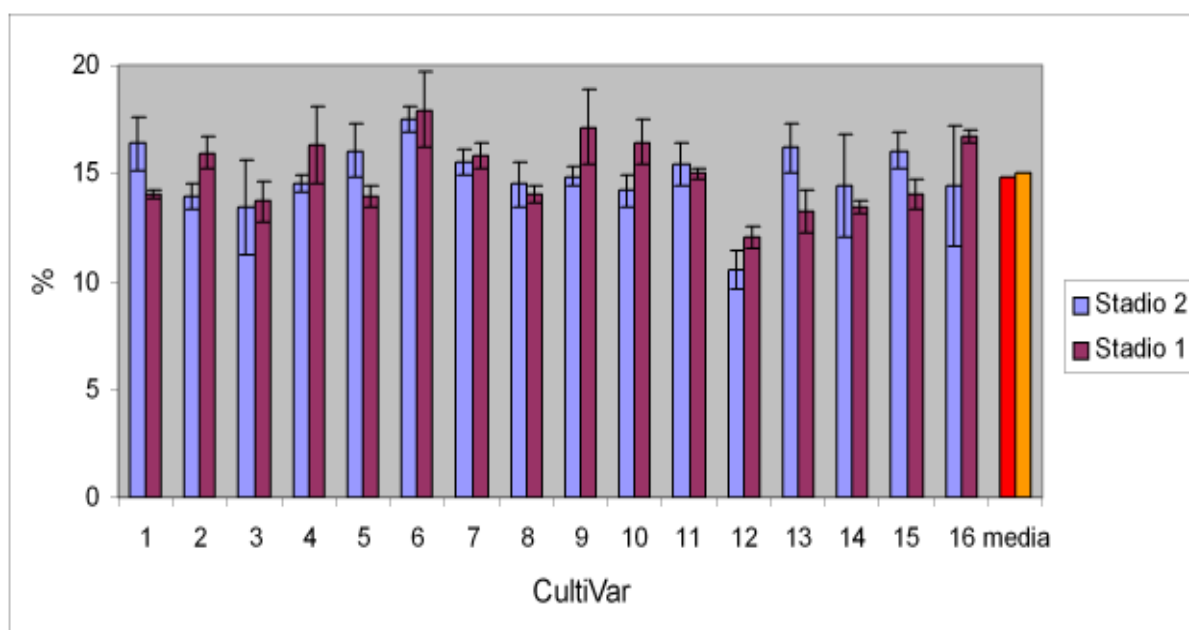
## 4.8 Contenuto di zuccheri solubili nel fittone

### 4.8.1 Contenuto di WSC totali nel fittone

Abbiamo messo a confronto il contenuto di zuccheri solubili dei fittoni prelevati alla fine del triennio di prova, da piante sopravvissute a tre stagioni di taglio (2005, 2006 e 2007) e due inverni (2006 e 2007). Il risultato di tale confronto è riportato in **Figura 41**. La concentrazione media di WSC totali nei fittoni è risultata pari a 14,87 % per lo Stadio 2 e 14,98 % per lo Stadio 1. Dunque emerge chiaramente che le piante sottoposte a un regime di tagli meno severo (Stadio 2) non mostrano livelli di WSC superiori rispetto alle piante sottoposte al regime di tagli a bottone fiorale (Stadio 1).

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, allo Stadio 2 si è distinta positivamente 'PR56S82'(6), con 17,51 % WSC totali nei fittoni; mentre 'Centauro'(12) si è mostrata ben al di sotto della media, con 10,56 % WSC totali nei fittoni.

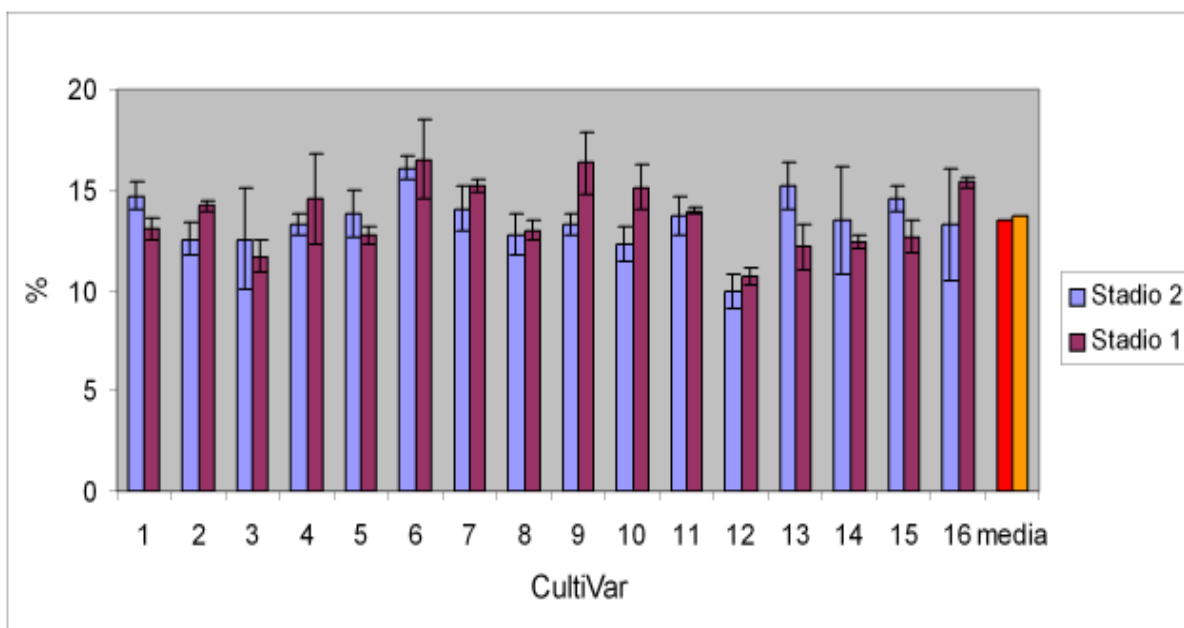
Quando tagliata allo stadio di bottone florale, la varietà che ha raggiunto la maggior concentrazione di WSC totali nei fittoni è stata ‘PR56S82’ (17,95 %), in questo caso però si sono osservati elevati risultati anche per ‘Lodi’ (9), con 17,95 % WSC totali nei fittoni, che dunque mostra un accumulo più cospicuo allo Stadio 1 rispetto che allo Stadio 2. ‘Centauro’ si è dimostrata essere la meno dotata rispetto alla media, con 12,02 % WSC totali nei fittoni; anche in questo caso il dato concorda con i risultati ottenuti in Stadio 2, ove la stessa CultiVar si era distinta negativamente.



**Figura 41:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili totali nel fittone. Le barre verticali indicano l’Errore Standard. Interazione “CultiVar x Stadio” Sig. al  $p \leq 0.01$ .

#### 4.8.2 Contenuto di WSC a basso peso molecolare nel fittone

Le CultiVar di *Medicago sativa* prese in esame si caratterizzano per una concentrazione di zuccheri totali costituita principalmente da zuccheri a basso peso molecolare, per questo le differenze tra le CultiVar in riferimento ai valori di WSC a basso peso molecolare sono risultate pressoché analoghe a quelle ottenute per i WSC totali esaminati in precedenza (**Figura 42**).



**Figura 42:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili a basso peso nel fittone. Le barre verticali indicano l'Errore Standard. Interazione "CultiVar x Stadio" Sig. al  $p \leq 0.01$ .

La concentrazione media di WSC a basso peso molecolare nel fittone è risultata pari a 13,46 % allo Stadio 2 e 13,73 % allo Stadio 1. Dunque, come per gli zuccheri totali, si può notare che le piante sottoposte ad un regime di tagli meno severo (Stadio 2) non hanno mostrato livelli di WSC a basso peso molecolare superiori rispetto a quelle tagliate più frequentemente (Stadio 1).

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, allo Stadio 2 si è distinta positivamente 'PR56S82' (6), con 16,05 % di WSC a basso peso molecolare; mentre 'Centauro' (12) si è mostrata al di sotto della media, con 9,93 %. Da notare come tali dati rispecchiano quanto accade per gli zuccheri solubili totali.

Anche allo Stadio 1 la varietà che ha raggiunto la maggior concentrazione di WSC a basso peso molecolare nel fittone è stata 'PR56S82' (16,51 %), in questo caso si sono osservate concentrazioni elevate anche per 'Lodi' (9) (16,33 %), che ha evidenziato un accumulo maggiore allo Stadio 1 rispetto che allo Stadio 2. 'Centauro' si è dimostrata la meno dotata rispetto alla media, con 10,7 %; anche in questo caso il dato concorda coi risultati ottenuti allo Stadio 2, ove la stessa CultiVar si era distinta negativamente. Da notare, ancora una volta, come tali dati rispecchiano quanto accade per gli zuccheri solubili totali.

#### 4.8.3 Contenuto di WSC ad alto peso molecolare nel fittone

Gli zuccheri ad alto peso molecolare nelle varietà di *Medicago sativa* oggetto del presente studio sono contenuti in percentuali molto basse rispetto al totale, il loro andamento è riportato in **Figura 43**.

I risultati delle analisi della varianza non hanno evidenziato differenze specifiche per l'effetto "CultiVar" e per l'interazione "CultiVar x Stadio".

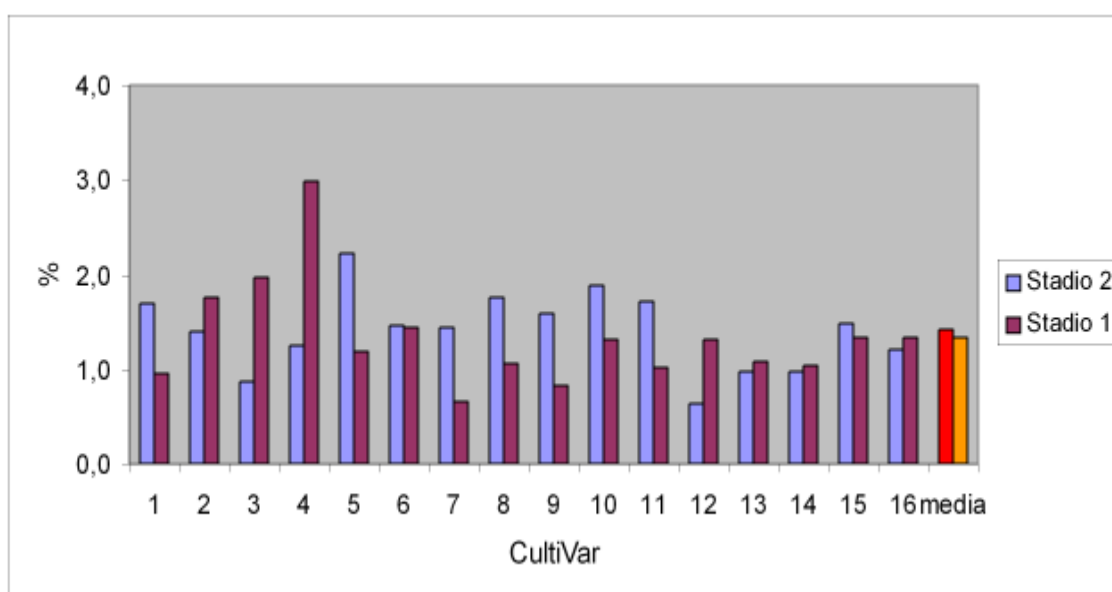
## 4.9 Contenuto di zuccheri solubili nella corona

### 4.9.1 Contenuto di WSC totali nella corona

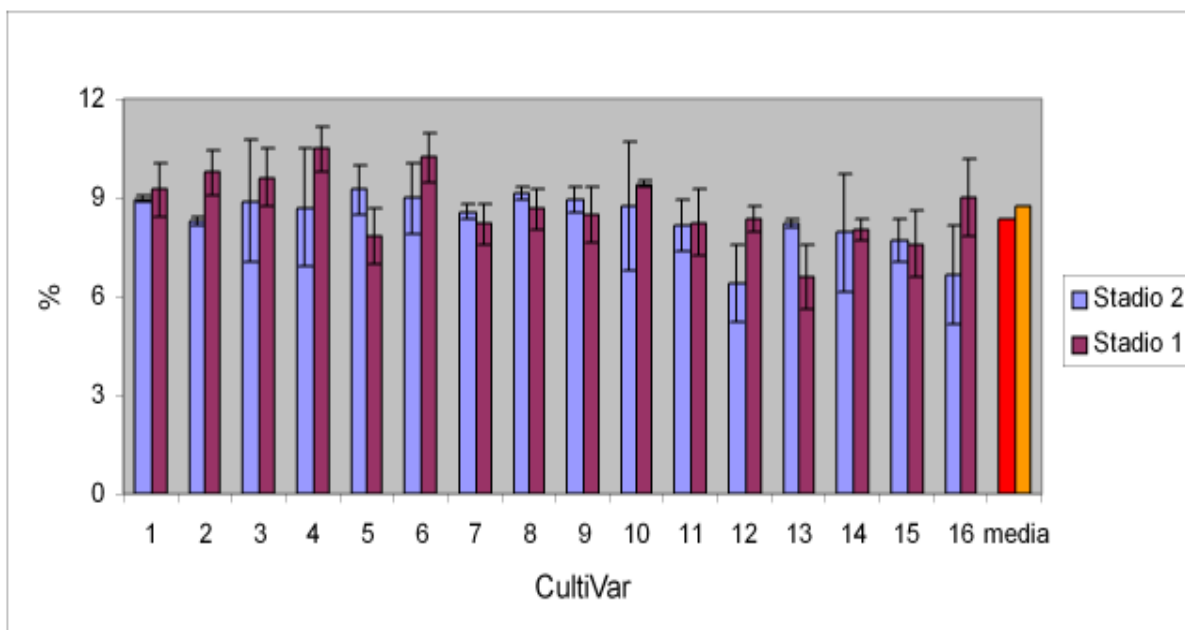
Dall'analisi della varianza eseguita sul contenuto di zuccheri solubili della corona è emerso un diverso comportamento delle 16 CultiVar a confronto in funzione dello stadio di utilizzazione (**Figura 44**).

La concentrazione media di WSC totali nella corona è risultata pari a 8,34 % allo Stadio 2 e 8,73 % allo Stadio 1. Emerge ancora una volta che le piante sottoposte ad un regime di tagli meno severo (Stadio 2) non mostrano livelli di WSC superiori rispetto alle piante sottoposte al regime di tagli più frequente (Stadio 1).

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, allo Stadio 2 si sono distinte positivamente 'Equipe'(5) e 'PR57N02' (8), con 9,16-9,25 % WSC totali nella corona; mentre 'Centauro'(12) si è mostrata al di sotto della media, con 6,41 % WSC totali nella corona.



**Figura 43:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili ad alto peso nel fittone.

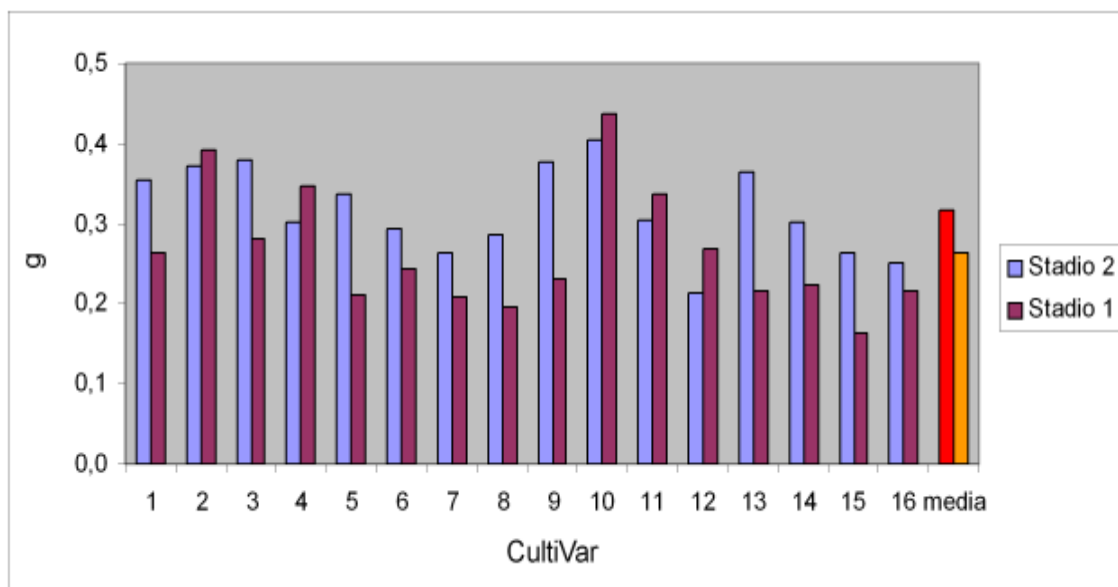


**Figura 44:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili totali nella corona. Le barre verticali indicano l'Errore Standard. Interazione "CultiVar x Stadio" Sig. al  $p \leq 0.05$ . Allo Stadio 1 le CultiVar che hanno mostrato le maggiori concentrazioni di WSC totali sono state 'Riviera Vicentina' (4) e 'PR56S82' (6), con valori compresi tra 10,22 e 10,48 %. Invece 'Gigante Romea' (13) si è dimostrata la meno dotata rispetto alla media, con 6,58 % WSC totali nella corona.

Dal confronto con i risultati ottenuti nei fittoni è interessante notare che vi sono delle divergenze tra le CultiVar in ordine agli organi di riserva (fittone o corona) utilizzati per lo stoccaggio degli zuccheri; infatti è possibile notare che 'Riviera Vicentina', 'Equipe' e 'PR57N02' si sono distinte positivamente rispetto alla media nel caso dei WSC totali nella corona, ma non altrettanto hanno fatto nel fittone, prefigurando una possibile predisposizione di queste CultiVar ad indirizzare maggiori quantità di riserve zuccherine nelle corone anziché nei fittoni.

'Gigante Romea' si è distinta negativamente in quanto a capacità di accumulare WSC totali nella corona, mostrando una possibile predisposizione di questa CultiVar a stoccare riserve zuccherine nei fittoni anziché nelle corone.

Allo scopo di ottenere una visione d'insieme di tali sostanze negli organi di riserva, alla fine del triennio di prova è stata calcolata la quantità complessiva di WSC totali del fittone e della corona, ponderata sulla base del rispettivo peso secco. Il risultato del confronto ottenuto è riportato in **Figura 45**.

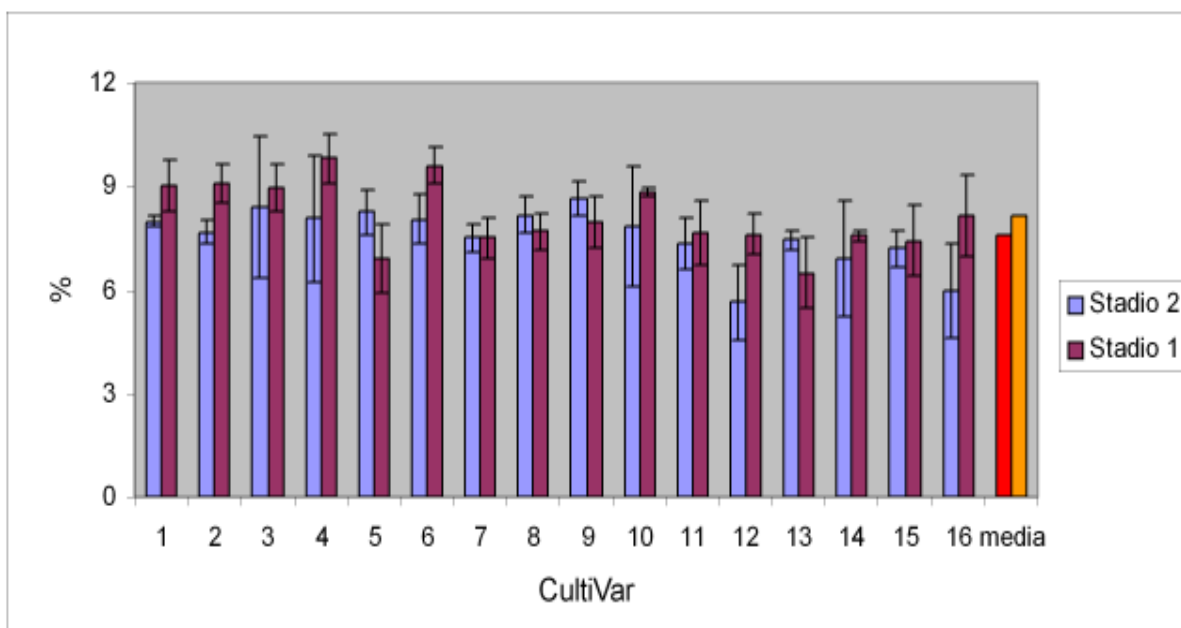


**Figura 45:** Autunno 2007. Quantità complessiva WSC totali negli organi di riserva.

La quantità media di WSC totali negli organi di riserva è risultata pari a 0,32 g allo Stadio 2 e 0,26 g allo Stadio 1. A entrambi gli Stadi si è distinta positivamente la CultiVar ‘History’ (10), che ha accumulato circa 0,4 g di WSC totali negli organi di riserva. Allo Stadio 2 si è distinta negativamente ‘Centauro’ (12), con 0,21 g di WSC totali accumulati; invece allo Stadio 1 la CultiVar meno dotata è stata ‘Garisenda’ (15), con 0,16 g di WSC totali.

#### **4.9.2 Contenuto di WSC a basso peso molecolare nella corona**

L’andamento della concentrazione di WSC a basso peso nella corona non è risultato molto differente da quello dei totali esaminati in precedenza, come si può vedere in **Figura 46**.



**Figura 46:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili a basso peso nella corona. Le barre verticali indicano l'Errore Standard. Effetto Interazione "CultiVar x Stadio" Sig. al  $p \leq 0.05$ .

Analizzando le singole CultiVar in dettaglio, allo Stadio 2 si è distinta positivamente 'Lodi'(9), con 8,64 % WSC a basso peso; invece 'Centauro'(12) si è rivelata al di sotto della media, con 5,66 % WSC a basso peso molecolare nella corona.

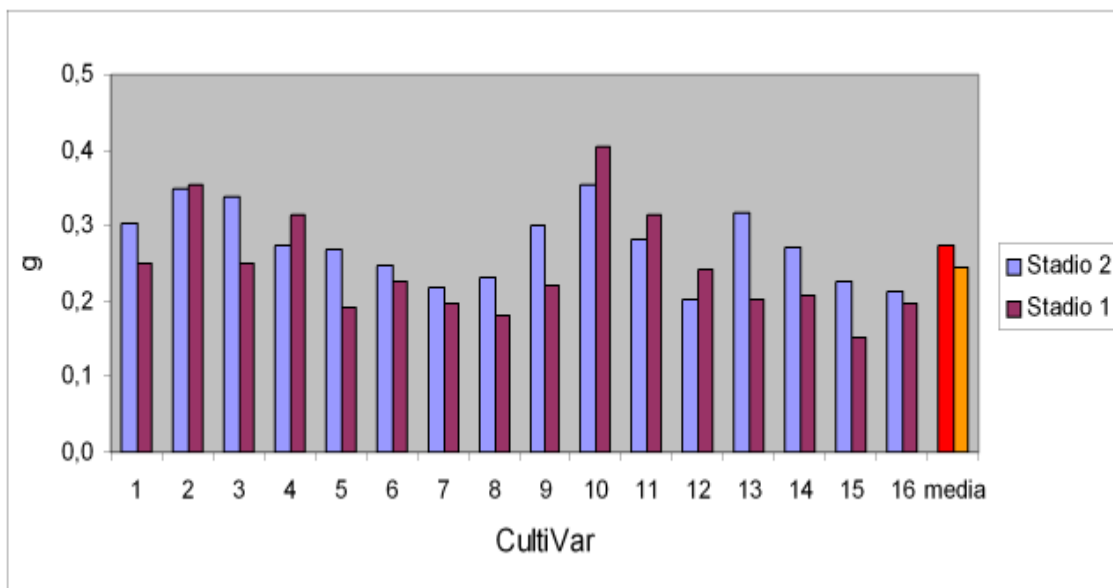
Allo Stadio 1 le CultiVar che hanno raggiunto i maggiori valori sono state 'Riviera Vicentina' (4) e 'PR56S82' (6), con 9,59-9,8 % WSC a basso peso. Invece 'Centauro' si è dimostrata la meno dotata rispetto alla media (6,49 %), in assonanza con i risultati ottenuti allo Stadio 2, ove la stessa CultiVar si era distinta negativamente.

La quantità complessiva di WSC a basso peso molecolare misurata complessivamente nel fittone e nella corona, ponderata sulla base del rispettivo peso secco, è mostrata in **Figura 47**.

La quantità media di WSC a basso peso molecolare negli organi di riserva è risultata pari a 0,27 g allo Stadio 2 e 0,24 g allo Stadio 1. In entrambi gli Stadi si è distinta positivamente la CultiVar 'History' (10), che ha accumulato 0,4 g di WSC a basso peso negli organi di riserva. Allo Stadio 2 si è distinta negativamente 'Centauro' (12), con 0,2 g; mentre allo Stadio 1 la meno dotata è stata 'Garisenda' (15), con 0,15 g WSC.

Ciò rispecchia quanto visto precedentemente nel caso del contenuto di WSC totali negli organi di riserva, in virtù del fatto che questi ultimi sono costituiti in larga misura da zuccheri solubili a basso peso molecolare.



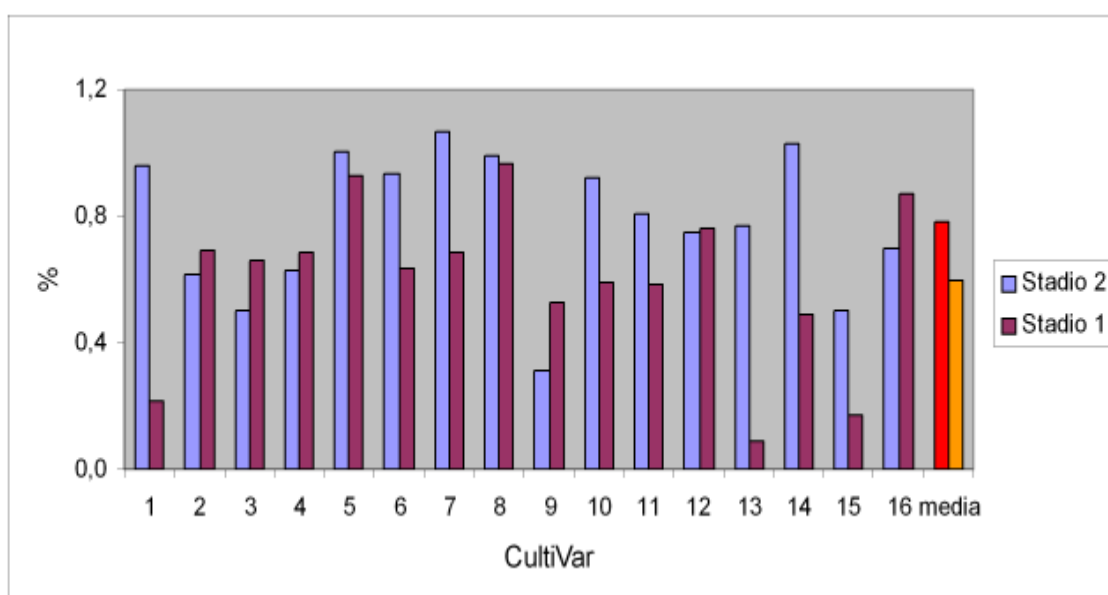


**Figura 47:** Autunno 2007. Quantità complessiva WSC a basso peso molecolare negli organi di riserva.

#### 4.9.3 Contenuto di WSC ad alto peso molecolare nella corona

Come detto in precedenza, gli zuccheri ad alto peso molecolare nelle varietà di *Medicago sativa* oggetto del presente studio sono contenuti in percentuali molto basse rispetto al totale, il loro andamento è mostrato in **Figura 48**.

L'analisi della varianza non ha evidenziato differenze significative per gli effetti "CultiVar", "Stadio" ed anche per l'interazione "CultiVar x Stadio".

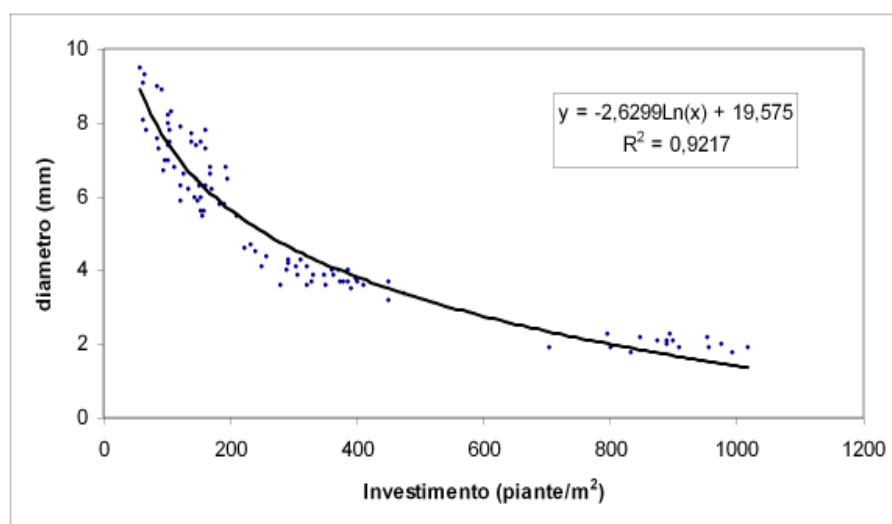


**Figura 48:** Autunno 2007. Concentrazione zuccheri solubili ad alto peso nella corona.

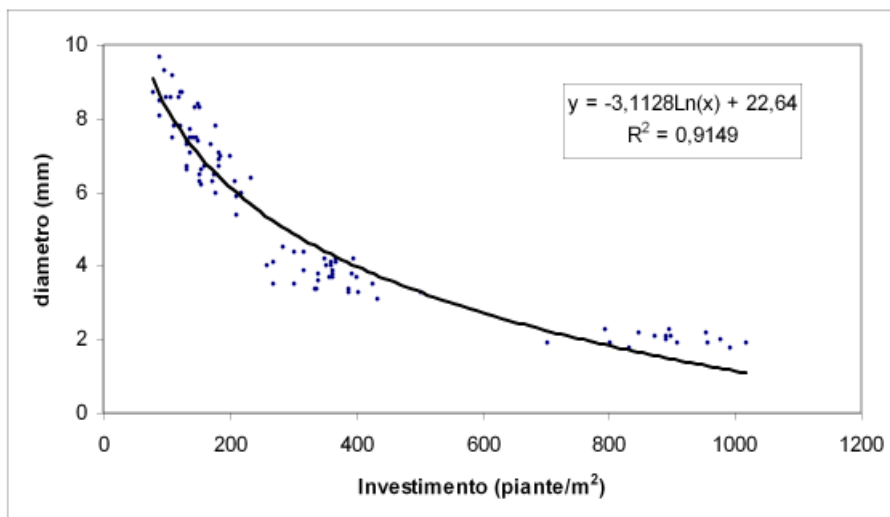
## 4.10 Correlazioni

Utilizzando i dati relativi all'investimento delle piante per unità di superficie, sono state fatte delle correlazioni tra tali risultati e i valori del diametro dei fittoni, le concentrazioni di WSC del fittone e della corona, la quantità di WSC degli organi di riserva, il peso secco degli organi di riserva, la produzione totale.

La **Figura 49** e **50** rappresentano la correlazione negativa ( $R^2 = 0,9217$  e  $R^2 = 0,9149$ , rispettivamente) tra l'investimento delle piante presenti per unità di superficie e le dimensioni del fittone.

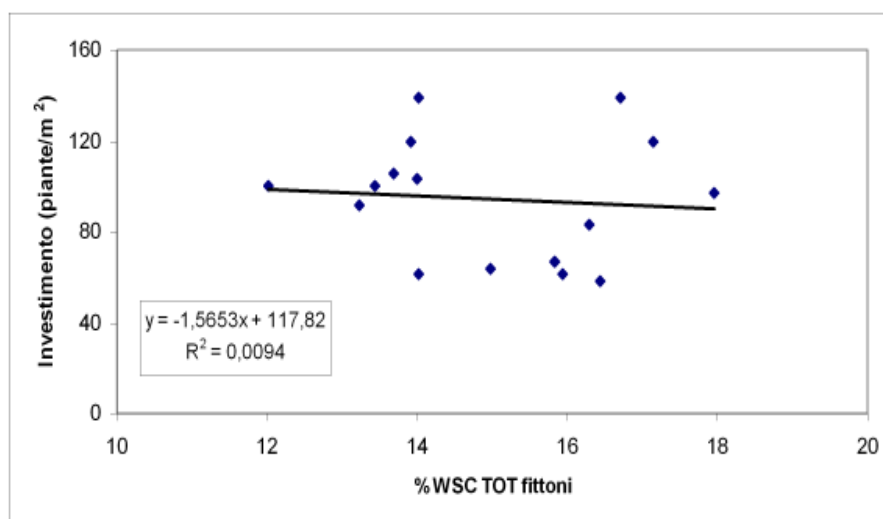


**Figura 49:** Stadio 1. Correlazione tra diametro del fittone a 3 cm e numero di piante per unità di superficie.



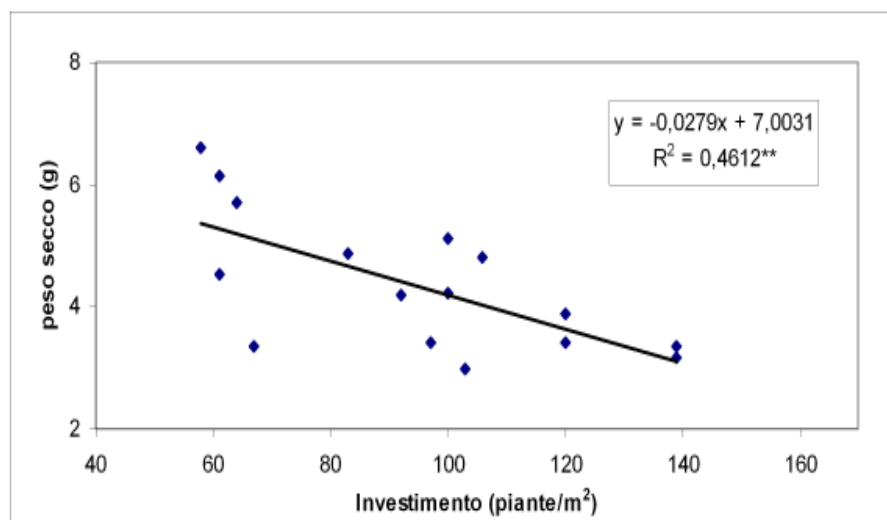
**Figura 50:** Stadio 2. Correlazione tra diametro del fittone a 3 cm e numero di piante per unità di superficie.

La **Figura 51** è indicativa della impossibilità di trovare alcuna correlazione tra la concentrazione di zuccheri degli organi di riserva e l'investimento delle piante.

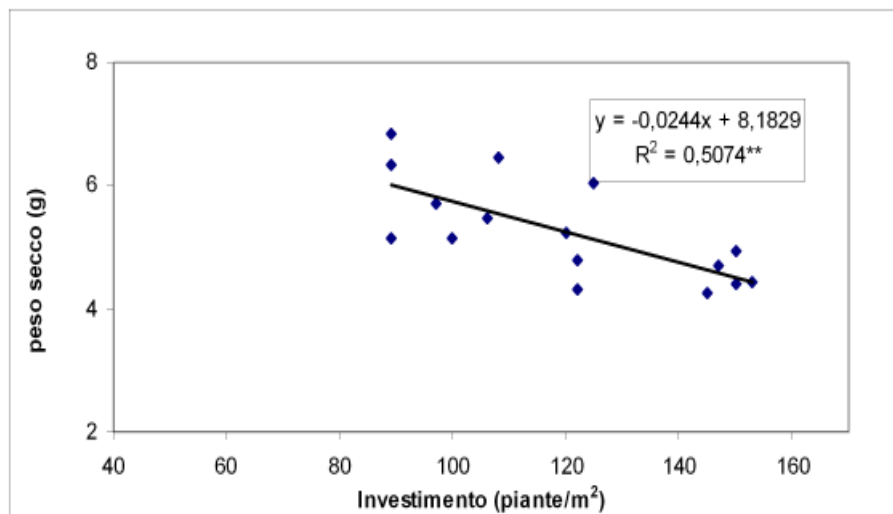


**Figura 51:** Stadio 1, autunno 2007. Correlazione tra concentrazione di WSC totali nel fittone e numero di piante per unità di superficie.

La **Figura 52** e **53** mostrano la correlazione negativa ( $R^2 = 0,4612^{**}$  e  $R^2 = 0,5074^{**}$ , rispettivamente) tra l'investimento delle piante alla fine della prova ed il peso secco complessivo dei loro organi di riserva.



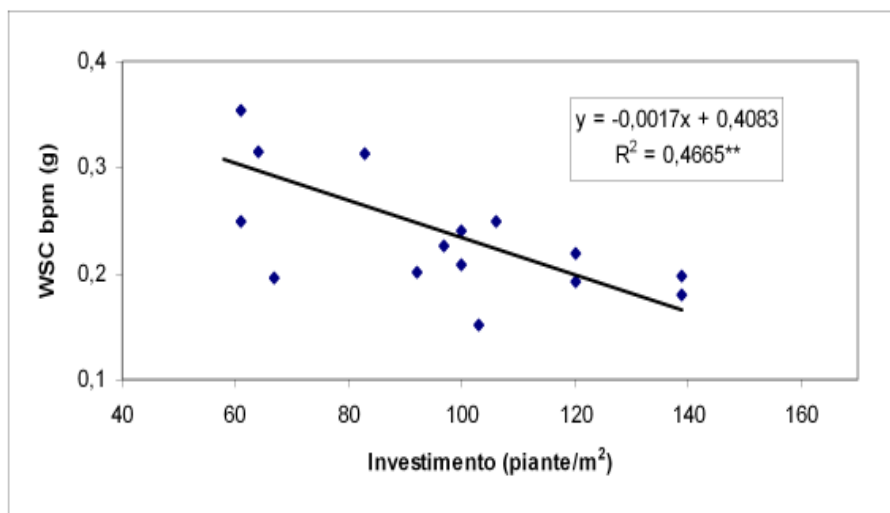
**Figura 52:** Stadio 1, autunno 2007. Correlazione tra peso secco complessivo degli organi di riserva e numero di piante per unità di superficie; \*\* = Sig. al  $p \leq 0,01$ .



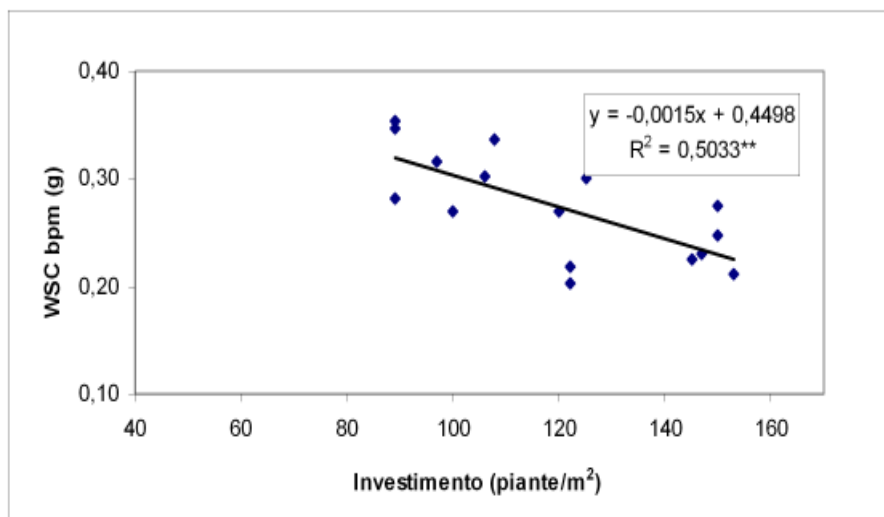
**Figura 53:** Stadio 2, autunno 2007. Correlazione tra peso secco complessivo degli organi di riserva e numero di piante per unità di superficie; \*\* = Sig. al  $p \leq 0,01$ .

La **Figura 54** e **55** mostrano la correlazione negativa ( $R^2 = 0,4665^{**}$  e  $R^2 = 0,5033^{**}$ , rispettivamente) tra l'investimento delle piante alla fine della prova e la quantità

complessiva di zuccheri a basso peso dei loro organi di riserva. Questo risultato è analogo a quello ottenuto per il peso secco (**Figura 52 e 53**). Se ne deduce che elevati contenuti di zuccheri si ritrovano nelle piante che sono sopravvissute all'interno di una cenosi caratterizzata da un'elevata competizione intra-specifica.



**Figura 54:** Stadio 1, autunno 2007. Correlazione tra quantità di WSC a basso peso molecolare negli organi di riserva e numero di piante per unità di superficie; \*\* = Sig. al  $p \leq 0,01$ .

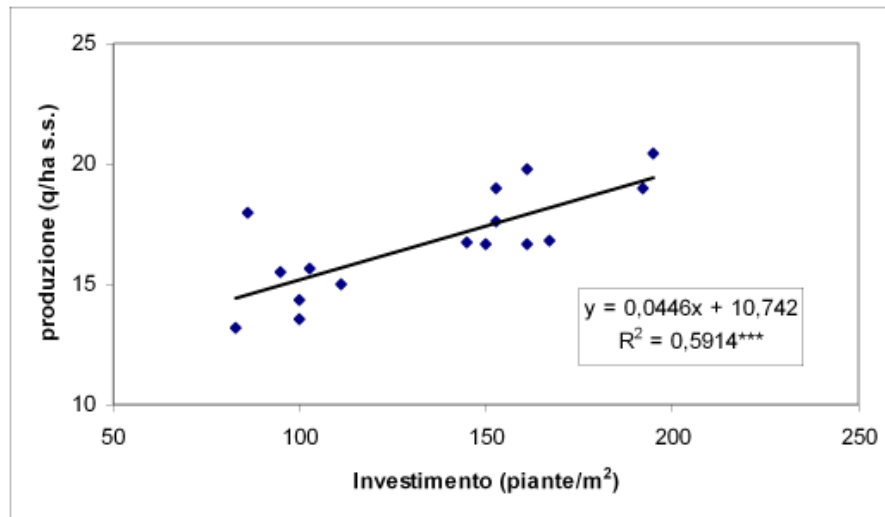


**Figura 55:** Stadio 2, autunno 2007. Correlazione tra quantità di WSC a basso peso molecolare negli organi di riserva e numero di piante per unità di superficie; \*\* = Sig. al  $p \leq 0,01$ .

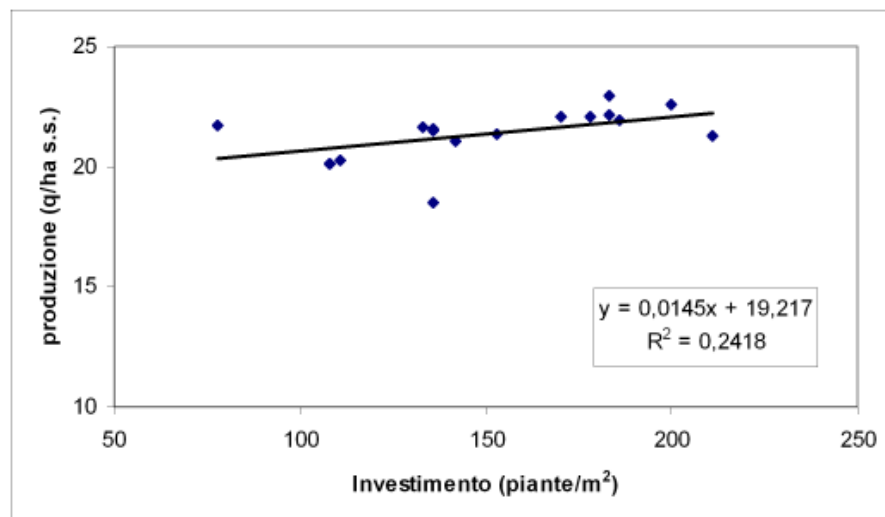
La **Figura 56** mostra la correlazione positiva tra l'investimento primaverile delle piante tagliate allo Stadio 1 e la produzione del 2007 ( $R^2 = 0,5914^{***}$ ).

D'altra parte, la **Figura 57** mostra la mancanza di correlazione tra l'investimento delle piante tagliate allo Stadio 2 e la produzione del 2007.

Questa differente risposta tra i due Stadi potrebbe essere significativa del maggiore stress cui sono sottoposte le piante tagliate a bottone fiorale, che pertanto entrano meno in competizione tra loro, in ragione del fatto che vengono tagliate ad altezze inferiori e si trovano in numero più esiguo rispetto alle piante tagliate a inizio fioritura.



**Figura 56:** Stadio 1, primavera 2007. Correlazione tra produzione complessiva s.s.del 2007 e numero di piante per unità di superficie. \*\*\* = Sig. al  $p \leq 0,001$ .



**Figura 57:** Stadio 2, primavera 2007. Correlazione tra produzione complessiva s.s.del 2007 e numero di piante per unità di superficie.



## **5. CONCLUSIONI**





## 5. Conclusioni

Con riferimento all'investimento della coltura, dai risultati ottenuti è emersa una differente risposta delle 16 CultiVar di *Medicago sativa* rispetto al regime di taglio.

'PR57N02' e 'Delta', alla fine del terzo anno di coltura, hanno dimostrato una buona persistenza a prescindere dal ritmo di utilizzazione cui sono state sottoposte; dunque le CultiVar più adatte a soddisfare la crescente esigenza di poter adottare tagli frequenti sul medicaio. 'Riviera Vicentina', 'PR56S82' e 'Garisenda', invece, hanno dimostrato una buona persistenza solamente se tagliate a inizio fioritura; denunciano dunque una sofferenza nei confronti del ritmo di taglio a bottone fiorale.

'La Torre', 'History' e 'Triade' si sono contraddistinte per la scarsa persistenza in coltura, a prescindere dal ritmo di utilizzazione. Tali CultiVar sono quindi poco adatte alle moderne modalità di utilizzazione del medicaio.

Più in generale, durante la prova è stata osservata una diversa sopravvivenza (numero di piante) sia tra le CultiVar sia anche tra gli Stadi, in quest'ultimo caso si delinea un chiaro vantaggio in favore del ritmo di taglio a inizio fioritura, rispetto a quello a bottone fiorale.

I periodi in cui si è avuta una maggiore mortalità di piante si sono avuti durante le prime due stagioni di taglio del medicaio. Durante i periodi invernali invece si sono registrate mortalità percentuali inferiori, ciò nonostante proprio in questi periodi si è avuta una maggiore differenziazione tra le CultiVar in termini di mortalità.

Osservando l'evoluzione del diametro del fittone, abbiamo notato che, a partire dalla seconda stagione vegetativa, il ritmo di taglio a inizio fioritura avvantaggia le piante non soltanto in termini d'investimento ma anche di dimensioni dell'apparato ipogeo.

La correlazione negativa tra l'investimento e il diametro del fittone pone in evidenza il maggior sviluppo ipogeo in condizioni di minor competizione intra-specifica.

Si è osservata una differenziazione del peso secco del fittone e della corona sia tra le CultiVar sia anche tra gli Stadi. La differenziazione tra CultiVar non rispecchia la sopravvivenza, tuttavia vi è una certa correlazione negativa tra l'investimento e il peso secco complessivo degli organi di riserva. Questo indica che, laddove le piante sono più rade, gli organi di riserva sono più pesanti. D'altra parte, la differenziazione tra Stadi indica che il ritmo di taglio a inizio fioritura, rispetto a quello a bottone fiorale, avvantaggia le piante dal punto di vista del peso degli organi di riserva.

Dal rilievo delle malerbe inoltre abbiamo dedotto che le piante sottoposte a un regime di tagli meno severo, rispetto alle piante tagliate a bottone fiorale, evidenziano un notevole vantaggio competitivo nei confronti delle infestanti primaverili.

Il regime di tagli più severo implica altresì una minore produzione complessiva annuale rispetto al regime a bottone fiorale. I due ritmi di utilizzazione hanno mostrato un comportamento differente in merito alla dipendenza della produzione dall'investimento. I due valori, infatti, appaiono ben correlati solo allo stadio di bottone fiorale. Questa diversa risposta potrebbe essere dovuta al maggiore stress cui sono sottoposte le piante tagliate più frequentemente (Macolino *et al.*, 2002), che pertanto entrano meno in competizione tra loro, in ragione del fatto che vengono tagliate ad altezze inferiori e sono in numero inferiore rispetto alle piante tagliate a inizio fioritura.

Le CultiVar di *Medicago sativa* prese in esame si caratterizzano per una concentrazione di zuccheri totali costituita principalmente da zuccheri a basso peso molecolare.

La concentrazione di zuccheri nel fittone e nella corona si è differenziata tra CultiVar, ma non tra Stadi. Tale differenziazione non rispecchia la sopravvivenza, ciò può essere avallato dalla mancanza di alcuna correlazione tra le concentrazioni di WSC di fittone e corona e l'investimento. D'altra parte sono state trovate correlazioni negative tra la quantità di zuccheri degli organi di riserva e l'investimento; tuttavia tali regressioni possono essere interpretate come conseguenza indiretta del fatto che, come detto in precedenza, a piante più rade corrispondono organi di riserva più pesanti.

## **6. BIBLIOGRAFIA**



## 6. Bibliografia

- Andrighetto I., G. Cozzi, P. Berzaghi e M. Cancan, 1994. Importanza del foraggio di medica nell'alimentazione delle vacche da latte. *L'Inf. Agr.* 6: 65-69.
- Avise J.C., A. Ourry, J.J. Volenec, G. Lemaire e J. Boucaud, 1996. Defoliation-induced changes in abundance and immuno-localization of vegetative storage proteins in taproots of *Medicago sativa*. *Plant Physiol. Biochem.* 34: 561-570.
- Avise J.C., G. Lemaire, A. Ourry e J. Boucaud, 1997a. Effects of the previous shoot removal frequency on subsequent shoot regrowth in two *Medicago sativa* L. cultivars. *Plant Soil.* 188: 189-198.
- Avise J.C., A. Ourry, G. Lemaire, J.J. Volenec e J. Boucaud, 1997b. Root protein and vegetative storage protein are key organic nutrients for alfalfa shoot regrowth. *Crop Sci.* 37: 1187-1193.
- Avise J.C., F. Le Dily, E. Goulas, C. Noquet, F. Meuriot, J.J. Volenec *et al.* 2003. Vegetative storage proteins in overwintering storage organs of forage legumes: roles and regulation. *Canadian Journal of Botany* 81: 1198-1212.
- Barber L.D., B.C. Joern, J.J. Volenec e S.M. Cunningham, 1996. Supplemental nitrogen effects on alfalfa regrowth and nitrogen mobilization from roots. *Crop Sci.* 36: 1217-1223.
- Bar-Houch B., F. Cachler e J. Nosberger, 1990. Effect of carbohydrate demand on the remobilization of starch in stolons and roots of white clover (*Trifolium repens* L.) after defoliation. *J. Exp. Bot.* 41: 573-578.
- Barnes R.F. e C.H. Gordon, 1972. Feeding value and on-farm feeding. C.H. Hanson (ed.) *Alfalfa science and technology.* *Agronomy* 15: 601-630. Am. Soc. of Agron., Madison, Wisconsin.
- Blackman S.B., R.L. Obendorf e A.C. Leopold, 1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of soybean seeds. *Plant Physiol.* 100: 225-230.

- Bouchart V., J.H. Macduff, A. Ourry, M.M. Svenning, A.P. Gay, J.C. Simon e J. Boucaud, 1998. Seasonal pattern of accumulation and effects of low temperatures on storage compounds in *Trifolium repens*. *Physiol. Plant* 104: 65-74.
- Bouchereau A., A. Aziz, F. Larher, J. Martin-Tanguy, 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science* 140: 103-125.
- Boyce P.J. e J.J. Volenec, 1992. Taproot carbohydrate concentrations and stress tolerance of contrasting alfalfa genotypes. *Crop Sci.* 32: 757-761.
- Bryant H.T. e R.E. Blaser, 1964. Yield and persistency of an alfalfa-orchardgrass mixture as affected by cutting treatment. *Virginia Agr. Exp. Sta. Bull.* 555.
- Bula R.J. e D. Smith, 1954. Cold resistance and chemical composition in overwintering alfalfa, red lover, and sweetclover. *Agron. J.* 46: 397-401.
- Caffrey M., V. Fonseca e A.C. Leopold, 1988. Lipid-sugar interactions: Relevance to anhydrous biology. *Plant Physiol.* 86: 754-758.
- Castonguay Y., P. Nadeau e S. Laberge, 1993. Freezing tolerance and alteration of translatable mRNAs in alfalfa (*Medicago sativa* L.) hardened at subzero temperatures. *Plant Cell Physiol.* 34: 31-38.
- Castonguay Y., P. Nadeau, P. Lechasseur e L. Chouinard, 1995. Differential accumulation of carbohydrates in alfalfa cultivars of contrasting winterhardiness. *Crop Sci.* 35: 509-516.
- Castonguay Y., P. Nadeau, S. Laberge e S.P. Vézina, 1997. Temperature and drought stress. B.D. McKersie, D.C.W. Brown eds. *Biotechnology and the improvement of forage legumes*. Wallingford: CAB International, 175-202.
- Castonguay Y. e P. Nadeau, 1998. Enzymatic control of soluble carbohydrate accumulation in cold-acclimated crowns of alfalfa. *Crop Sci.* 38: 1183-1189.
- Chen Y. e J.S. Buris, 1990. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. *Crop Sci.* 30:971-975.
- Chung H.H. e M.J. Trilca, 1980. C distribution and utilization in blue grama as affected by temperature, water potential and defoliation regimes. *Oecologia* 47: 190-195.
- Coker A., 1991. Urea foliar application effect on allocation of over-winter reserves for *Pinus radiata* seedling growth. *Canadian Journal of Forest Research* 21:947-956.

- Corbel G., C. Robin, B.E. Frankow-Lindberg, A. Ourry e A. Guckert, 1999. Regrowth of white clover after chilling: Assimilate partitioning and vegetative storage proteins. *Crop Sci.* 39: 1756-1761.
- Clement C.R., M.J. Hopper, L.H.P. Jones e E.L. Leafé, 1978. The uptake of nitrate by *Lolium perenne* from flowing nutrient solution. II. Effect of, defoliation, and relationship to CO<sub>2</sub> flux. *J. Exp. Bot.* 29: 1173-1183.
- Crowe J.H., J.F. Carpenter, L.M. Crowe e T.J. Anchordoguy, 1990. Are freezing and dehydration similar stress vectors? A comparison of modes of interaction of stabilizing solutes with biomolecules. *Cryobiology* 27: 219-231.
- Cunningham S.M., J.A. Gana, J.J. Volenec e L.R. Teuber, 2001. Winter hardiness, root physiology, and gene expression in successive fall dormancy selections from “Mesilla” and “CUF 101” alfalfa. *Crop Sci.* 41: 1091-1098.
- Cunningham S.M., P. Nadeau, Y. Castonguay, S. Laberge e J.J. Volenec, 2003. Raffinose and Stachyose accumulation, galactinol synthase expression, and winter injury of contrasting alfalfa germplasms. *Crop Sci.* 43: 562-570.
- Cunningham S.M. e J.J. Volenec, 1996. Purification and characterization of vegetative storage proteins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) taproots. *Plant Physiology* 147: 625-632.
- Cunningham S.M. e J.J. Volenec, 1998. Seasonal carbohydrate and nitrogen metabolism in roots of contrasting alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars. *J. Plant Physiol.* 153: 220-225.
- Cunningham S.M., J.J. Volenec e L.R. Teuber, 1998. Plant survival and root and bud composition of alfalfa populations selected for contrasting fall dormancy. *Crop Sci.* 38: 962-969.
- Cyr D.R., J.D. Bewley, D.E. Dumbroff, 1990. Seasonal dynamics of carbohydrate and nitrogenous components in the roots of perennial weeds. *Plant, Cell and Environment* 13: 359-365.
- Davidson J.L. e F.L. Milthorpe, 1966. The effect of defoliation on the carbon balance in *Dactylis glomerata*. *Ann. Bot. (London)* 30: 185-198.
- Dhont C., Y. Castonguay, P. Nadeau, G. Bélanger, F.P. Chalifour, 2002. Alfalfa root carbohydrates and regrowth potential in response to fall harvests. *Crop Sci* 42: 754-765.



- Dhont C., Y. Castonguay, P. Nadeau, G. Bélanger, F.P. Chalifour, 2003. Alfalfa root nitrogen reserves and regrowth potential in response to fall harvests. *Crop Sci.* 43: 181-194.
- Dhont C., Y. Castonguay, P. Nadeau, G. Bélanger, R. Drapeau, S. Laberge, J.C. Avice e F.P. Chalifour, 2006. Nitrogen reserves, spring regrowth and winter survival of field-grown alfalfa (*Medicago sativa*) defoliated in the autumn. *Annals of Botany* 97: 109-120.
- Duke S.H. e D.C. Doehlert, 1981. Root respiration, nodulation, and enzyme activities in alfalfa during cold acclimation. *Crop Sci.* 21: 489-494.
- Edminster K.L., D.D. Wolf e M. Lentner, 1988. Fall harvest management of alfalfa. I. Date of fall harvest and length of growth period prior to fall harvest. *Agron. J.* 80: 688-693.
- Faix J.J., 1974. The effect of temperature and daylength on the quality and morphological components of three legumes. Ph.D. Thesis Cornell Univ. Univ. Microfilms. Ann Arbor, Mich. (Diss. Abstr. 35:2021-B).
- Fehr W.R., C.E. Caviness, D.T. Burmood e J.S. Pennington, 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merr. *Crop Sci.* 11: 929-931.
- Ferrar J.F. e D.L. Jones, 2000. The control of carbon acquisition by roots. *New Phytol.* 147: 43-53.
- Ferrullo J.M., L.P. Vézina, J. Rail, S. Laberge, P. Nadeau e Y. Castonguay, 1997. Differential accumulation of two glycine-rich proteins during cold-acclimation alfalfa. *Plant Molecular Biology* 33: 625-633.
- Fick G.W. e R.S. Holthausen, 1975. Significance of parts other than blades and stems in leaf-stem separations of alfalfa herbage. *Crop Sci.* 15: 259-262.
- Fick G.W. e B.W.Y. Liu, 1976. Alfalfa weevil effects on root reserves, development rate, and canopy structure of alfalfa. *Agron. J.* 68: 595-599.
- Fischer A., R. Brouquisse e P. Raymond, 1995. Organic nitrogen reserves and their mobilization during sprouting of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) tubers. *J. Exp. Bot.* 46: 1803-1808
- Franco O.L. e F.R. Melo, 2000. Osmoprotectants – a plant strategy in response to osmotic stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 47: 137-144.

- Gengenbach B.G. e D.A. Miller, 1972. Variation and heritability of protein concentration in various alfalfa plant parts. *Crop Sci.* 12:767-769.
- Giardini L., 2002. *Agronomia generale ambientale e aziendale – Quinta edizione*; Patron editore, Bologna, 2002: 44-49, 192-194.
- Goldraij A. e J.C. Polacco, 1999. Arginase is inoperative in developing soybean embryos. *Plant Physiol.* 119: 297-303.
- Graber L.F., N.T. Nelson, W.A. Luekel e W.B. Albert, 1927. Organic food reserves in relation to the growth of alfalfa and other perennial herbaceous plants. *Wisconsin Agr. Exp. Sta. Bull.* 80.
- Haagenson D.M., S.M. Cunningham, B.C. Joern e J.J. Volenec, 2003a. Autumn Defoliation effects on alfalfa winter survival, root physiology, and gene expression. *Crop Sci.* 43: 1340-1348.
- Haagenson D.M., S.M. Cunningham e J.J. Volenec, 2003b. Root physiology of less fall dormant, winter hardy alfalfa selections. *Crop Sci.* 43: 1441-1447.
- Habben J.E. e J.J. Volenec, 1991. Amylolytic activity in taproots of diploid and tetraploid *Medicago sativa* L. *Ann. Bot. (London)* 68: 393-400.
- Hanway J.J., 1966. How a corn plant develops. Special Rep. No. 48. Iowa State University Cooperative Extension Ser., Ames, Iowa.
- Hendershot K.L. e J.J. Volenec, 1992. Taproot nitrogen accumulation and use in overwintering alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J. Plant Physiol.* 141: 68-74.
- Hendershot K.L. e J.J. Volenec, 1993. Nitrogen pools in taproots of *Medicago sativa* L. after defoliation. *J. Plant Physiol.* 141: 129-135.
- Hinca D.H., 1990. Differential effects of galactose containing saccharides on mechanical freeze-thaw damage to isolated thylakoid membranes. *Cryo. Lett.* 11: 437-444.
- Hoekstra F.A., L.M. Crowe e J.H. Crowe, 1989. Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. *Plant Cell Environ.* 12: 83-91.
- Hoekstra F.A. e T. van Roekel, 1988. Desiccation tolerance of *Papaver dubium* L. pollen during its development in the anther. *Plant Physiol.* 88:626-632.
- Kalu B.A. e G.W. Fick, 1981. Quantifying morphological development of alfalfa for studies of herbage quality. *Crop Sci.* 21: 267-271

- Kalu B.A. e G.W. Fick, 1983. Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. *Crop Sci.* 23: 1167-1172
- Kim T.H., J. Bigot, A. Ourry e J. Boucaud, 1993. Amino acid content in xylem sap of regrowing alfalfa (*Medicago sativa* L.): Relations with N uptake, N<sub>2</sub> fixation and N remobilization. *Plant soil* 149: 167-174.
- Kim T.H., Lee B.R., Jung W.J., Kim K.Y., Avice J.C., Ourry A., 2004. *De novo* protein synthesis in relation to ammonia and proline accumulation in water stressed white clover. *Functional Plant Biology* 31: 847-855.
- King J.E. e D.J. Gifford, 1997. Amino acid utilization in seeds of loblolly pine during germination and early seedling growth. *Plant Physiol.* 113: 1125-1135.
- Koster K.L e A.C Leopold, 1988. Sugars and desiccation tolerance. *Plant Physiol.* 88: 829-832.
- Lähdesmäki P., T. Pakonen, E. Saari, K. Laine, L. Tasanen, P. Havas, 1990. Changes in total nitrogen, protein, amino acids and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in tissues of bilberry, *Vaccinium myrtillus*, during the growing season. *Holarctic Ecology* 13: 31-38.
- Laprince O., R. Bronchart e R. Deltour, 1990. Changes in starch and soluble sugars in relation to the acquisition of desiccation tolerance during maturation of *Brassica campestris* seed. *Plant Cell Environ.* 13: 539-546.
- Lefevre J., J. Bigot e J. Boucaud, 1991. Origin of foliar nitrogen and changes in free amino-acid composition and content of leaves, stubble, and roots of perennial ryegrass during regrowth after defoliation. *J. Exp. Bot.* 42: 89-95.
- Li R., J.J. Volenec, B.C. Joern e S.M. Cunningham, 1996. Seasonal changes in non-structural carbohydrates, protein, and macronutrients in roots of alfalfa, red clover, sweetclover, and birdsfoot trefoil. *Crop Sci.* 36: 617-623.
- Liu J.J., D.C. Krenz, A.F. Galvez e B.O. de Lumen, 1998. Galactinol synthase (GS): increased enzyme activity and levels of mRNA due to cold and desiccation. *Plant Sci.* 134: 11-20.
- Lorenzetti F., M. Falcinelli e F. Veronesi, 1994. Iscrizione al registro varietale, selezione conservatrice e alcuni aspetti genetici della produzione delle sementi. Miglioramento genetico delle piante agrarie – Prima edizione. Edagricole, Bologna: 293-316.

- Macolino S., Scotton M. e Ziliotto U., 2002. Response of four Lucerne cultivars to two cutting frequencies. Book of proceedings of VII Congress of the European Society of Agronomy, Cordoba 15-18 July, 205-206.
- Mathches A.G., G.O. Mott e R.J. Bula, 1963. The development of carbohydrate reserves in alfalfa seedlings under various levels of shading and potassium fertilization. *Agron. J.* 55: 185-188.
- McKenzie J.S., R. Paquin e S.H. Duke, 1988. Cold and heat tolerance. 259-302. A.A. Hanson *et al.* (ed.) Alfalfa and alfalfa improvement. Agron. Monogr. 29. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Metcalf D.S., 1973. The botany of grasses and legumes: 80-87. M.E. Health, D.S. Metcalfe, e R.E. Barnes (ed.) Forages. The science of grassland agriculture. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Mohaptra S.S., R.J. Poole e R.S. Dhindsa, 1987. Changes in protein patterns and translatable messenger RNA populations during cold acclimation of alfalfa. *Plant Physiol.* 84: 1172-1176.
- Mohaptra S.S., L. Wolfrain, R.J. Poole e R.S. Dhindsa, 1989. Molecular cloning and relationship to freezing tolerance of cold-acclimation specific genes of alfalfa. *Plant Physiol.* 89: 375-380.
- Monroy A.F., Y. Castonguay, S. Laberge, F. Sarhan, L.P. Vézina e R.S. Dhindsa, 1993. A new cold-induced alfalfa gene is associated with enhanced hardening at subzero temperature. *Plant Physiol.* 102: 873-879.
- Moule C., 1980. La Maison Roustique: 203-209, 83-84. C. Moule (ed.) Forrages. Parigi, Francia.
- Movran-Bertrand A., J. Boucaud e M. P. Prud'homme, 1999. Influence of initial levels of carbohydrates, fructans, nitrogen, and soluble proteins on regrowth of *Lolium perenne* L. cv. Bravo following defoliation. *J. Exp. Bot.* 50: 1817-1826.
- Noquet C., J.C. Avice, A. Ourry, J.J. Volenec, S.M. Cunningham, J. Boucaud, 2001. Effects of environmental factors and endogenous signals on N uptake, N partitioning and taproot vegetative storage protein accumulation in *Medicago sativa*. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 279-287.
- Ooms J.J.J., K.M. Léon-Kloosterziel, D. Bartels, M. Koornneef e C.M. Karssen, 1993. Acquisition of desiccation tolerance and longevity in seeds of *Arabidopsis*

- thaliana*. A comparative study using abscisic acid-insensitive *abi3* mutants. *Plant Physiol.* 102: 1185-1191.
- Ourry A., J. Boucoud e J. Salette, 1988. Nitrogen mobilization from strubble and roots during regrowth of defoliated perennial ryegrass. *J. Exp. Bot.* 39: 803-809.
- Ourry A., T.H. Kim e J. Boucaud, 1994. Nitrogen reserve mobilization during regrowth of *Medicago sativa* L. (Relationships between availability and regrowth yield). *Plant Physiol.* 105: 831-837.
- Paquin R., 1984. Influence of the environment on cold hardening and winter survival of forage and cereal species with consideration of proline as metabolic marker of hardening. Margaris NS, Arianoustou-Faraggitaki M., Oechel W.C., eds. *Being alive on land*. Boston, MA. Kluwer Academic Publishers Group, 137-154.
- Paquin R. e G. Pelletier, 1981. Acclimatation naturelle de la lucerne (*Medicago media* Pers.) au froid I. Variations de la teneur en proline libre des feuilles et des collets. *Physiologie Végétale* 19: 103-117.
- Parrini P., E. Bonari, 2002. Erba medica (*Medicago sativa* L.). *Coltivazioni erbacee – Foraggiere e Tappeti Erbosi*, R. Baldoni e L. Giardini; Patron editore, Bologna, 2002: 83-118.
- Pearce R.B., G. Fissel e G.E. Carlson, 1969. Carbon uptake and distribution before and after defoliation of alfalfa. *Crop Sci.* 9: 756-759.
- Rai V.K., 2002. Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biologia Plantarum* 45: 481-487.
- Reynolds J.H., 1971. Carbohydrate trends in alfalfa (*Medicago sativa* L.) roots under several forage harvest schedules. *Crop Sci.* 11: 103-106.
- Richards J.H., 1993. Physiology of plants recovering from defoliation. 85-94. M.J. Baker (ed.) *Proceedings XVII International Grassland Congress*, Palmerston North, New Zealand. 8-21 Feb. 1993. SIR Publishing, Wellington, New Zealand.
- Salsano G., 1991. L'erba medica in Sardegna una coltura da riscoprire. *L'inf. Agr.* 48: 33-36.
- Sheaffer C.C. e G.C. Marten, 1990. Alfalfa cutting frequency and date of fall cutting. *J. Prod. Agric.* 3: 486-491.

- Skinner R.H., J.A. Morgan, J. D. Hanson, 1999. Carbon and nitrogen reserve remobilisation following defoliation: nitrogen and elevated CO<sub>2</sub> effects. *Crop Sci.* 39: 1749-1756.
- Smith D., 1968. The establishment and management of alfalfa. *Wisconsin Agric. Exp. Stn. Bull.* 542.
- Smith D., 1972. Cutting schedules and maintaining pure stando. C.H. Hanson (ed.) *Alfalfa science and technology.* *Agronomy* 15: 481-496. Am. Soc. of Agron., Madison, Wisconsin.
- Smith D. e J.P. Silva, 1969. Use of carbohydrate and nitrogen root reserves in the regrowth of alfalfa from greenhouse experiments under light and dark conditions. *Crop Sci.* 9: 464-467.
- Smith L.H. e G.C. Marten, 1970. Foliar regrowth of alfalfa utilizing <sup>14</sup>C-labeled carbohydrates stored in roots. *Crop Sci.* 10: 146-150.
- Sprenger N. e F. Keller, 2000. Allocation of raffinose family oligosaccharides to transport and storage pools in *Ajuga reptans*: The roles of two distinct galactinol synthases. *Plant J.* 21: 249-258.
- Svenning M.M., M.K. Røsnes, O. Juntilla, 1997. Frost tolerance and biochemical changes during hardening and dehardening in contrasting white clover populations. *Physiologia Plantarum* 101: 31-37.
- Talamucci P., 1970. Andamento delle riserve radicali e durata dei medicaî sottoposti a diverse frequenze di taglio. *Riv. Di Agr.* 4: 46-56.
- Taiz L. ed E. Zeiger, 1998. Fissazione biologica dell'azoto. *Fisiologia Vegetale – Seconda Edizione*, L. Taiz ed E. Zeiger; Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova, 2002: 394-401.
- Taji T., C. Ohsumi, S. Iuchi, M. Seki, M. Kasuga, M. Kobayashi, K. Yamaguchi-Shinozaki e K. Shinozaki, 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 29: 417-426.
- Troughton, A. (1957), The underground organs of herbage grasses, Commonwealth Bur. Of Pastures and Field Crops, Harley Berkshire, England. *Bull.* 44.

- Van Cleve B. e K. Apel, 1993. Induction by nitrogen and low temperature of storage-protein synthesis in poplar trees exposed to long days. *Planta* 189: 157-160.
- Volenc J.J., A. Ourry e B.C. Joern, 1996. A role for nitrogen reserves in forage regrowth and stress tolerance. *Physiol. Plant.* 97: 185-193.
- Wanner L.A. e O. Junttila, 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 120: 391-399.
- Wolfrim L.A., R. Langis, H. Tyson e R.S. Dhindsa, 1993. cDNA sequenze, expression, and transcript stability of a cold acclimation-specific gene, *cas18*, of alfalfa (*Medicago falcata*) cells. *Plant Physiol.* 101: 1275-1282.





## ***RINGRAZIAMENTI***



## Ringraziamenti

Ringrazio il Prof. Umberto Ziliotto per il continuo apporto dato al mio lavoro, per la sana voglia di conoscenza che trasmette, per la disponibilità al dialogo e per le doti umane che lo contraddistinguono.

Il Prof. Stefano Macolino per le preziose elaborazioni statistiche, per l'aiuto finale a dir poco indispensabile e per la raccolta di campioni in primavera sotto il diluvio.

La Dr.ssa Marisa Cossu per i thè mattutini bevuti in compagnia e per tutti i dati cartacei che ha recuperato, consentendo l'avanzamento del presente lavoro.

Vittorio Ferrari per il suo aiuto fondamentale durante l'esecuzione delle analisi di laboratorio, per la sua disponibilità, simpatia e professionalità.

Fernando Bortoletto e tutto il personale dell'Azienda Agraria Sperimentale Toniolo, per l'aiuto dispensato durante la raccolta dei campioni in campo.

Fausto, perché chi trova un Amico trova un tesoro; Marco, per le così tante cose fatte in così poco tempo; *Cutrina*, per la pazienza nei miei confronti mostrata in questi anni; Antonella, perché quando mi sono svegliato c'era lei; Angelo, perché mi ricorda valori importanti; *Mikelini*, perché è una sorta di fratello minore; Giuseppe Assenza, perché "Mai dire mai a Rocco"; la *Nova Karalis*, per la fascia da capitano all'ultima di campionato; *Chiaretta*, perché è super tenera; *Carmelina*, perché quando sono triste penso a lei e mi consolo; Daniela, perché è stato un periodo bellissimo anche per me; Doriana, per il nostro grande amore mai sbocciato; Moratti, perché finalmente ha cacciato Mancini; Vince, perché ogni volta che scompare arrivano casi umani in appartamento; *Pupone*, perché prima o poi verrà a trovarmi in Sicilia; Carlo, per i S. Valentino trascorsi insieme; Giuliana, per le lavatrici; *Krešo*, perché fortunatamente ci vediamo poco; Jerry, Thomas, Joe & Mike, perché a Las Vegas è stata una meraviglia.

Mamma e Papà, perché ci siete sempre, cambiano le circostanze in cui mi muovo, la gente che frequento, la musica che ascolto, il modo in cui guardo un quadro o un film, il mio approccio con la vita stessa... cambiano le mie aspettative e i miei desideri più profondi ma vi voglio sempre un mondo di bene.

Infine devo ringraziare la persona a cui devo il fatto di continuare a far bene quello che faccio... tutto ciò che compio con la parte sinistra del mio corpo non potrebbe

avvenire se non fosse per merito di una grande persona, il Dott. Giacomo Pavesi, neurochirurgo del Policlinico di Padova... **GRAZIE.**