CONVENZIONE

"INCREMENTO DELLA COMPETITIVITA' DEL SISTEMA TERRITORIALE
TUSCIA VITERBESE E MIGLIORAMENTO DELLE PERFORMANCE DELLE
IMPRESE SUI MERCATI"

Settore Strategico: "Innovazione e trasferimento tecnologico alle PMI"





RELAZIONE FINALE DI PROGETTO

"Definizione dei principali fattori esogeni stimolanti la radicazione per talea del Castagno Europeo (Castanea sativa Mill.); messa a punto di un protocollo idoneo alla propagazione per talea su base vivaistica delle principali cultivar del comprensorio castanicolo Viterbese "

ORGANIGRAMMA DELLA STRUTTURA OPERATIVA

Unità Operativa DIPROVE:

Nominativo: Dipartimento di Produzione Vegetale (DIPROVE)

Assetto giuridico: Ente pubblico

Ente di appartenenza: Università degli Studi della Tuscia

Via/Piazza: Via San Camillo de' Lellis s.n.c.

Cap: 01100 Città: Viterbo

Provincia: Viterbo VT

Telefono: 0761 357535 Telefax: 0761 357731

Posta elettronica: rugini@unitus.it

s dpv@unitus.it

Il Dipartimento di Produzione Vegetale (DIPROV), con le sezioni di Agroecosistemi ed Ortofloroarboricoltura, fa parte della Facoltà di Agraria dell'Università degli studi della Tuscia - Viterbo. La sezione di Ortoforoarboricoltura svolge attività didattica nel settore delle Coltivazioni Arboree e dell'Ortofloricoltura finalizzata alla preparazione di diplomati e laureati e di dottori di ricerca. Il Dipartimento è sede amministrativa del Dottorato di ricerca in Ortoflorofrutticoltura, indirizzato in particolare allo studio dei fattori di qualità delle produzioni vegetali.

Per il settore arboreo il Dipartimento ha indirizzato la propria attività di ricerca principalmente alla caratterizzazione delle risorse genetiche dei fruttiferi, agli studi dei rapporti tra fattori ecofisiologici ed agronomici e agli aspetti quali-quantitativi della produzione, con particolare riferimento alle specie di interesse regionale

Il Dipartimento ha in atto numerose collaborazioni con istituzioni accademiche e di ricerca italiane e straniere, con la Comunità europea, con Ministeri, Enti Locali ed Enti di Sviluppo Agricolo.

Strutture e attrezzature disponibili ed utilizzabili nello svolgimento delle attività proposte

Il Dipartimento dispone delle seguenti strutture utilizzabili nello svolgimento delle attività previste: laboratorio completo per micropropagazione e camere di crescita, serre tunnel e serre automatizzate e non per la propagazione, l'ambientamento e l'allevamento di piante, campi sperimentali (collezioni

di germoplasma di melo, pero, vite, nocciolo, fruttiferi minori, comprendente accessioni provenienti dalle province di Viterbo, Rieti, Latina).

Responsabile scientifico della U.O.:

Prof. Eddo Rugini - Prof. Ordinario DIPROVE

Tel: 0761-357535 Fax: 0761-357531 e-mail: rugini@unitus.it

Partecipanti:

Prof. Rosario Muleo _Prof. Associato DIPROVE

Tel: 0761-357532 e-mail: muleo@unitus.it

Dr. Valerio Cristofori – Assegnista DIPROVE

Tel: 0761-357534 e-mail: <u>valerio75@unitus.it</u>

Tecnici - Sig. Cammilli Corrado

Tel: 0761-357534 e-mail: cammilli@unitus.it

Personale a contratto - Dr. Simone Ferramondo

1. Stato dell'arte ed attuali conoscenze

Il castagno da frutto (Castanea sativa Mill.) è una delle specie legnose coltivate nel comprensorio territoriale della Tuscia Viterbese, di importante rilevanza dal punto di vista storico, socioeconomico e paesaggistico. Attualmente lo sviluppo della castanicoltura locale è basata sull'impiego dell'innesto come unico sistema di propagazione, spesso eseguito in loco a carico di semensali spontanei o derivati da semina di castagne. L'innesto è anche la pratica principalmente contemplata per l'esecuzione del cambio varietale, per il recupero e infittimento di castagneti abbandonati, e per la riconversione di cedui castanili in castagneti da frutto. Solo negli ultimi anni inoltre è iniziata la propagazione a livello vivaistico anche di questa specie per soddisfare la richiesta di materiale di piantagione soprattutto per la costituzione di impianti specializzati. I principali problemi del vivaismo castanicolo nazionale, e nello specifico, di comprensorio, riguardano l'eterogeneità genetica del materiale di propagazione, dovuta principalmente alla assenza di portainnesti clonali e di piante madri di cultivar produttive "controllate", all'incertezza sanitaria, connessa in particolare con la forte soggezione che giovani piantine innestate presentano riguardo ad attacchi di cancro corticale al punto d'innesto, e alla non infrequente crisi di trapianto di giovani piantine derivanti da vivaio (Ferrini, & Pisani, 1993; Garcea., 2005). La scelta del tipo di innesto è funzione di una serie di condizioni, tra cui l'ambiente, l'età del portinnesto, fattori tecnicoeconomici, soggezione ad attacchi di Cryphonectria parasitica.

A differenza dell'innesto, la propagazione per autoradicazione non ha trovato finora in Italia applicazione pratica nel vivaismo castanicolo, nonostante esista un'ampia serie di conoscenze scientifiche sui processi della rizogenesi anche per questa specie. Nel castagno, così come in altre specie, la rizogenesi avventizia dipende da fattori morfo-anatomici e biochimici che interferiscono tra loro e con fattori ambientali (Ferrini *et al.*, 1993). Anche in questa specie, il potere rizogeno appare anzitutto associato con equilibri ormonici, sistemi enzimatici e con vari metabolici (Bhattachayra, 1988; Fabbri *et al.*, 1992). Un possibile meccanismo di azione ormonale è ipotizzato in correlazione con gli enzimi; infatti è noto che diminuendo l'IAA-ossidasi, viene favorita la proliferazione di cellule meristemoidi ed incrementato il trasporto basipeto di antiossidanti coinvolti positivamente nella manifestazione del potere rizogeno dei tessuti (Mato e Vieitez, 1986). Altresì, nelle talee sono state riscontrate sostanze fenoliche inibitrici della rizogenesi (Vieitez *et al.*, 1967). La capacità rizogenetica sarebbe inoltre regolata nelle talee da inibitori idrosolubili (Gesto *et al.*, 1977), ipotesi avvalorata dal fatto che, come nella vite e nell'olivo, il lavaggio delle talee favorisce la rizogenesi (Calabrese, 1964; Bartolini *et al.*, 1977). Anche la frigoconservazione di talee

prelevate in periodo invernale contribuisce positivamente sulla rizogenesi (Iannì, 1992). Il potere rizogeno inoltre varia durante il ciclo ontogenetico. È' infatti presente nella fase "giovanile" ed assente in quella "adulta", nella quale sono accertate sostanze inibitrici della rizogenesi (Garcia *et al.*, 1981) che interferiscono con l'azione promotrice delle auxine (Vieitez & Ballester, 1988). È stato osservato inoltre che l'estratto di piante in fase "giovanile", inibisce l'IAA-ossidasi, mentre quello di piante "adulte" agisce in senso opposto (Mato *et al.*, 1985). Anche il potere rizogeno di germogli epicormici è connesso con la giovanilità, poiché essi provengono da gemme latenti formatesi nella fase giovanile (Rinallo, 1980). In definitiva la giovanilità è associata alla maggiore quantità di promotori della rizogenesi ed alla mancanza di inibitori delle auxine; con la fase adulta diminuiscono i promotori ed aumentano nel contempo gli inibitori della rizogenesi fino alla scomparsa del potere rizogeno (Vasquez & Gesto, 1982).

Heinger e Lawrenz (1993) hanno osservato che trattamenti ormonali a base polverulenta con l'1% di IBA e 100% di umidità relativa consentono elevata attività rizogena in talee semilegnose raccolte in fine estate. Anche lo stato nutritivo delle piante madri da cui prelevare le talee è un elemento di rilevante importanza. Infatti, è stato dimostrato che talee caratterizzate da una buona dotazione di carboidrati radicano meglio, grazie all'effetto positivo ed alle funzioni plastiche ed energetiche svolte da tali composti nella moltiplicazione cellulare e nello sviluppo dei primordi radicali (Gardiman *et al.*, 1993). Infatti, in talee trattate con auxine, l'amido diminuisce più rapidamente durante la rizogenesi rispetto a talee non trattate in cui non si formano radici (Vasquez *et al.*, 1980; Garcia *et al.*, 1980).

Rinallo *et al.*, (1982) hanno osservato che il potere rizogeno è più elevato dal germogliamento alla fioritura, fenomeno che potrebbe essere connesso a caratteristiche iso-anatomiche, poichè nella prima fase di sviluppo dei germogli esiste un solo anello sclerenchimatico interno discontinuo, mentre alla fine della stagione sono presenti fino a cinque anelli più o meno continui (Biricolti *et al.* 1992). Sembra tuttavia che le barriere sclerentimatiche ostacolino, ma non impediscano la rizogenesi (Vieitez *et al.*, 1980).

Anche per il castagno, come in altre specie (Maynard & Bassuk, 1988) l'eziolamento ha evidenziato effetti positivi sulla radicazione in quanto capace di modificare alcune caratteristiche isto-anatomiche associate con la rizogenesi, riducendo gli anelli sclerenchimatici e favorendo la formazione di raggi xilematici multiseriati, in corrispondenza dei quali si originano in genere le iniziali radicali (Rinallo *et al.*, 1987). Tale tecnica inoltre, influirebbe positivamente sulla presenza di cofattori, sulle interazioni tra luce, acidi fenolici ed enzimi ed aumenterebbe la sensibilità dei tessuti all'azione delle auxine. Recentemente inoltre, risultati interessanti con buone prospettive di applicazioni pratiche sono stati ottenuti con la tecnica del fog-mist e con inoculi di *Agrobacterium rhizogenens* associati a trattamenti ormonici ed eziolamento (Rinallo & Mariotti, 1993).

Un elemento cruciale per il successo applicativo di tale tecnica di propagazione è legato alla accuratezza nella scelta delle piante madri. È accertato infatti che attualmente i vivai locali non dispongono di piante madri controllate di castagno, per l'ottenimento di materiale di propagazione di qualità. Sarebbe in tal senso quindi opportuno associare un lavoro di selezione clonale sia a carico delle cultivar di principale impiego in coltura sia degli eventuali portinnesti, riducendo fortemente l'eterogeneità del franco (Chapa *et al.*, 1990).

Un altro problema che merita particolare menzione è legato alla crisi post-trapianto ed allo stentato attecchimento delle piante derivanti da vivaio che può compromettere il buon esito delle piantagioni. A tal riguardo, potrebbe essere opportuno inserire nella fase di studio la definizione di substrati ottimali, da impiegare durante le prime fasi dell'allevamento in vaso degli astoni (Giannini, 1982).

In definitiva, il vivaismo castanicolo della Tuscia Viterbese, in fase di sviluppo ed evoluzione, merita l'attenzione della comunità scientifica locale, per definire opportunamente le modalità organizzative e promuovere nel contempo il trasferimento di tecnologie collaudate ed efficienti, volte all'ottenimento di materiale di propagazione di qualità anche per il castagno da frutto.

2. Obiettivi del progetto

Gli obiettivi che il progetto si prefigge sono:

- definizione dei principali fattori esogeni stimolanti la radicazione per talea del castagno da frutto;
- messa a punto di un protocollo idoneo alla propagazione per talea su base vivaistica delle principali cultivar di castagno da frutto del comprensorio castanicolo Viterbese
- definizione di substrati idonei da impiegare durante le fasi di post-trapianto delle giovani piantine
- divulgazione dei risultati ottenuti attraverso pubblicazioni su riviste di interesse nazionale ed internazionale e/o in occasione di congressi e seminari

Sul piano territoriale, le aree di indagine verranno individuate nelle principali zone castanicole della provincia viterbese connesse con le recenti proposte in itinere di acquisizione di marchi DOP relativi alla "Castagna DOP di Valleranno" ed alla "Castagna DOP dei Monti Cimini", concentrando in particolare l'attenzione su *ecotipi* di tipologie "Castagna" e "Marrone".

3. Articolazione e cronogramma dei lavori

Azione 1 (individuazione dei campi sperimentali)

Durante il periodo invernale dell'anno 2006, sono state effettuate delle indagini di territorio finalizzate ad individuare idonei castagneti nel comprensorio castanicolo provinciale, per l'implementazione delle prove di seguito descritte.

In particolare sono stati individuati dei castagneti ritenuti idonei per la presenza di piante di castagno da frutto all'inizio della fase adulta (eta' media 8-10 anni), localizzati nei pressi della caldera del Lago di Vico, quale area di coltivazione della "Castagna DOP dei Monti Cimini", ed in un'area compresa tra i limiti amministrativi dei Comuni di Canepina e Vallerano, tipica per la coltivazione della "Castagna DOP di Vallerano".

In tali castagneti sono state allestite le tesi sperimentali per la raccolta del materiale di propagazione: in particolare, sono state individuate 8 piante per cultivar ritenute omogenee per eta' e portamento, raggruppate in due diverse replicazioni randomizzate, ciascuna costituita quindi da 4 piante.

Azione 2 (definizione delle prove di radicazione)

Sulla base di indagini bibliografiche, nonchè di esperienze pregresse maturate a carico di altre specie legnose quali actinida, olivo e nocciolo (Calabrese, 1964; Bartolini *et al.*, 1977; Iannì, 1992, Rugini *et al.*, 1990), sono stati messi a punto i protocolli per l'esecuzione delle prove di radicazione di talee di castagno.

In particolare, sono state scelte 4 differenti tipologie di trattamento con promotori della radicazione a base acido indolbuttirrico (IBA), e 1,4-diaminobutano (PUTRESCINA). La serie dei trattamenti prevedeva impiego rispettivamente di 1000 ppm di IBA, 2000 ppm di IBA, 1000 ppm di IBA + 1600 ppm di PUTRESCINA, 2000 ppm di IBA + 1600 ppm di PUTRESCINA. Le tesi così trattate sono state quindi poste a confronto con controlli non trattati.

Sono state inoltre applicate alcune tecniche di forzatura e condizionamento del materiale di propagazione attraverso frigoconservazione, eziolamento, incisione della porzione basale delle talee, nebulizzazione ed ombreggiamento.

Relativamente alla scelta del materiale di propagazione utilizzato per l'esecuzione delle sperimentazioni, è stato impiegato materiale di differente età, e raccolto in differenti epoche dell'anno. In particolare, è stato impiegato materiale derivante da rami dell'anno lignificati ed in riposo vegetativo per l'ottenimento di talee legnose da sottoporre a frigoconservazione, mentre durante il periodo primaverile-estivo, quando le piante madri erano caratterizzate da attività vegeto-produttiva, è stato raccolto ed impiegato materiale derivante da rami dell'anno, di consistenza erbacea, e derivante da rami di un anno, di consistenza legnosa, per l'ottenimento di talee rispettivamente erbacee e semilegnose. Inoltre, in data 16 maggio 2007, germogli dell'anno di consistenza erbacea e caratterizzati da un buon sviluppo diametrale, sono stati sottoposti ad eziolamento per una durata di circa 130 giorni.

Azione 3 (progressione delle prove di radicazione)

1ª prova: la prima prova di taleaggio invernale, a carico di *ecotipi* della sola tipologia "Marrone", è stata eseguita impiegando porzioni apicali di rami dell'anno lignificati, prelevati dalle piante madri in metà novembre (Fig. 1), e sottoposti preventivamente a frigoconservazione ad una temperatura costante di +4°C, per una durata di 70 giorni. La porzione basale del materiale di propagazione è stata protetta con mastice per evitarne la disidratazione (Fig. 2), e così preparata è stata posta in cella frigorifera.



Figura 1: veduta di "pianta madre" utilizzata per la raccolta del materiale di propagazione

Figura 2: materiale di propagazione pronto per frigoconservazione preliminare alle prove di radicazione



La prova di radicazione è stata allestita in bancali all'interno della serra, è stata eseguita in data 25 gennaio utilizzando le talee frigoconservate per l'esecuzione dei trattamenti precedentemente descritti. In particolare, le varie tesi sono state realizzate in più replicazioni secondo uno schema randomizzato che prevedeva l'allestimento di due repliche costituite da tre talee ciascuna per ognuna delle tesi programmate, e per ognuna delle piante madri individuate. Complessivamente quindi, sono state effettuate 16 replicazioni per tesi per un totale di 48 talee messe a dimora per ciascun tipo di trattamento. L'esecuzione dei trattamenti a base di IBA è stata effettuata per via polverulenta con ausilio di talco, mentre il trattamento con putrescina è stato effettuato preventivamente per via liquida attraverso immersione in soluzione della porzione basale delle talee opportunamente sagomata, per 20 minuti.

Le stesse, così trattate, sono state poste in perlite all'interno di bancali riscaldati (Fig. 3), ed ombreggiati con teli scuri. Il riscaldamento basale delle talee prevedeva temperature di +22°C. Inoltre, le talee in bancale sono state sottoposte a periodica bagnatura con acqua nebulizzata per limitare il fenomeno della disidratazione. In data 20 marzo, è stato effettuato un preliminare saggio di radicazione, e il materiale testato presentava oltre ad un parziale germogliamento, la comparsa di callo di cicatrizzazione (Fig. 4), ed in alcuni casi la presenza di abbozzi radicali. Un improvviso e tardivo attacco fungino ha compromesso l'evoluzione della prova danneggiando irreversibilmente il materiale da testare. Per tale motivo è prevista la ripetizione di tale ciclo di radicazione, da estendere anche ad ecotipi di "Castagna", ed avendo l'accortezza di effettuare periodici trattamenti

fungicidi per ovviare a problemi di proliferazione fungina.

Figura 3: esempio di bancale di radicazione con talee legnose dopo circa 40 giorni dal trattamento ormonale



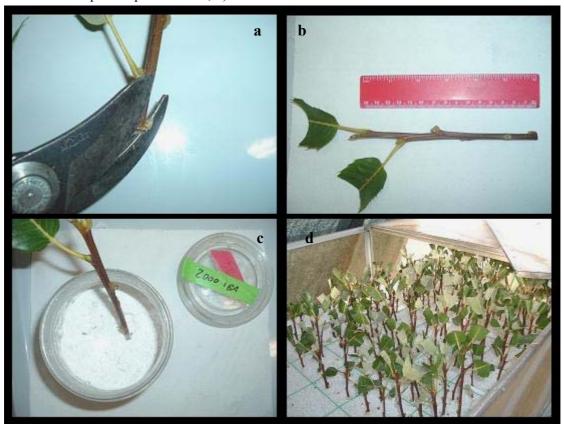
Figura 4: evidente presenza di callo cicatriziale in porzione basale di talea di castagno dopo circa 60 giorni dal trattamento



2ª prova: la seconda prova di taleaggio, che ha riguardato *ecotipi* di entrambe le tipologie di castagno da frutto oggetto della sperimentazione, è stata effettuata in data 16 maggio 2007 impiegando porzioni apicali di rami dell'anno di consistenza erbacea, nonché porzioni mediane di

rami di un anno lignificati. Da entrambe le tipologie di materiale prelevato, ed adottando lo schema a blocchi randomizzati precedentemente descritto, sono state quindi preparate le talee semilegnose (Fig. 5) e trattate secondo i protocolli dei trattamenti rizogeni sopra descritti. Le talee così trattate sono state mantenute in bancale di radicazione per circa due mesi e sottoposte a periodica nebulizzazione. A 60 giorni dalla messa a dimora è stato effettuato il saggio di radicazione per valutare l'eventuale emissione di radici avventizie. Entrambe le tipologie di talee semilegnose hanno evidenziato una pressochè nulla attitudine alla radicazione in tutti i protocolli di trattamento applicati, evidenziando inoltre una scarsa attitudine alla formazione di callo cicatriziale. Dai risultati ottenuti è possibile concludere che tale epoca di raccolta del materiale di propagazione non avvantaggia lo sviluppo di radici avventizie, probabilmente a causa dell'azione degli ormoni florigeni che in tale epoca sono traslocati nei vari tessuti degli organi della pianta, e capaci di inibire l'attitudine rizogena e/o inibire la formazione degli abbozzi radicali, come dimostrato nel caso di altre specie legnose (Bartolini *et al.*, 1977).

Figura 5: successione delle fasi adottate per la preparazione delle talee: a) e b) forgiatura delle talee; c) trattamento ormonale per via polverulenta; d) messa a dimora in bancale di radicazione



Sempre nel mese di maggio 2007, è stato eseguito l'eziolamento a carico di germogli dell'anno di consistenza erbacea (Fig. 6), quale pratica di forzatura del materiale di propagazione, da utilizzare

per le prove di radicazione di fine estate.





3ª prova: la terza prova di radicazione è stata effettuata in data 24 agosto 2007 a carico di talee derivanti da porzioni di rami dell'anno in fase di lignificazione. In fine settembre, a circa un mese dalla messa a dimora in bancale, si è verificato un discreto germogliamento delle gemme neoformate. Inoltre, in alcune talee saggiate è risultata evidente la formazione di callo di cicatrizzazione (Fig. 7). Il saggio finale, per valutare l'attitudine rizogena delle talee, nonché l'effetto di tale epoca di raccolta del materiale di propagazione, verrà effettuato in fine ottobre, a circa due mesi dalla messa a dimora. Sarranno inoltre effettuati periodici controlli per valutare l'evoluzione della prova in corso.

Figura 7: germogliamento delle gemme neoformate a circa un mese dalla messa a dimora delle talee.



4ª prova: la quarta prova di radicazione è stata effettuata in data 27 settembre 2007, ed ha riguardato sia materiale di propagazione derivante da germogli dell'anno lignificati, sia germogli precedentemente sottoposti ad eziolameto (Fig. 8). Le replicazioni e le tipologie di trattamento con fitoregolatori sono state analoghe a quelle applicate alle prove precedenti, e il test ha riguardato entrambe le tipologie di cultivar oggetto di indagine. Il saggio di radicazione verrà effettuato in fine novembre, a circa due mesi dalla messa a dimora delle talee.

Figura 8: effetto della pratica di eziolamento eseguita a carico di germogli dell'anno di consistenza erbacea.



5ª prova: in virtù dei buoni risultati iniziali ottenuti a carico della prova di taleaggio invernale con ausilio di materiale sottoposto a vernalizzazione forzata attraverso la tecnica della frigoconservazione, e vista l'omessa prova a carico degli *ecotipi* di "Castagna", verrà eseguito un secondo ciclo di radicazione con raccolta di materiale di propagazione in novembre 2007, e successiva conservazione in cella frigorifera alla temperatura di +4°C, per entrambe le cultivar oggetto di studio, avendo l'accortezza di intervenire periodicamente con ausilio di sali di rame e/o appropriati fungicidi atti a contrastare il fenomeno di proliferazione fungina che ha compromesso l'esito della precedente prova.

Conclusioni

Sulla base dei risultati parziali fin qui ottenuti è evidente che gli ecotipi di "Castagna" e Marrone"

presenti nel territorio viterbese non presentano attitudine alla emissione di radici avventizie, come invece osservato nel caso di alcuni ibridi euro-giapponesi (Vieitez et al., 1988). Tuttavia, la tipologia dei trattamenti effettuati e l'effetto dei vari fattori di influenza applicati, quali la nebulizzazione, il riscaldamento basale, la frigoconservazione, l'eziolamento e l'ombreggiamento, se opportunamente combinati tra loro possono divenire elemento di stimolo alla neoformazione di abbozi radicali, come osservato nella prima prova, con ausilio di talee semilegnose raccolte a novembre e sottoposte a vernalizzazione forzata. Al contrario, invece, il mese di maggio non rappresenta una epoca idonea per la raccolta di materiale da destinare a radicazione per talea vista la pressochè nulla attitudine rizogena riscontrata, probabilmente a causa della presenza diffusa di ormoni florigeni nei vari organi della pianta. In corso di valutazioni sono infine le prove condotte a carico di materiale raccolto in fine agosto e di materiale precedentemente sottoposto alla pratica dell'eziolamento. Sarà inoltre effettuato un secondo ciclo di radicazione in periodo invernale con ausilio di talee legnose vernalizzate, da estendere anche agli ecotipi di "Castagna".

Per l'eventuale materiale di propagazione caratterizzato dall'emissione di radici avventizie, saranno inoltre testate le migliori tecniche di acclimatizzazione ed impiegati differenti tipologie di substrato per definire le migliori condizioni di trapianto delle giovani talee.

Bibliografia consultata:

- Bartolini, G., Briccoli-Bati, C., Cimato, A., De Agazio, M., Napoleone, I., e Toponi, M., 1977. Ricerche sulla immersione in acqua delle talee: II nota. Riv. Ortoflorofrutt. It., 61:39-49.
- Bhattacharya, N.C., 1988. Enzyme activities during adventitious rooting. In "Adventitious root formation in cuttings; (T.D. Davis, B.E. Haissing, N. Sankhla Eds.); Advances in Plant Sciences Series Vol. 2, T.D., Dudley, Ph. D., Generale Editor:pp. 88-101.
- Biricolti, S., Fabbri, F., Ferrini, F., e Pisani, P.L., 1992. Anatomical investigations on chestnut adventitious rooting. Int. Chestnut Conf., Morgantown, West Virginia, July 11-15 1992 (in press).
- Calabrese, F., 1964. Effetti della bagnatura nella radicazione delle talee di vite. Riv. Ortoflorofrutt. Ital., 58:160-165.
- Chapa, J., Chazerans, P., and Coulie, J., 1990. Multiplication vegetative du châtaignier. Arb. Fruit., 431:41-48.
- Fabbri, A., Ferrini, F., Masia, A., e Pisani, P.L., 1992. Enzyme Activity durino adventitious rooting of stoolbed propagated chestnut. Int. Chesnut Conf., Morgantown, West Virginia, July 11-15 1992 (in press).

- Garcea A., 2005. Principali tecniche di propagazione e forme d'allevamento del castagno. Atti VII Convegno nazionale del Castagno. Montella (AV), 20-22 ottobre; pp. 41-45.
- Garcia, M.T., Ballester, A., and Vieitez, E., 1981. Study on the isolated growth substances in juvenile cuttings of *Castanea Sativa* Mill., in relation with the rooting capacity. Anal. Edaf. Agrobiol., 40:1235-1241.
- Gardiman M., Masia A., Ponchia G., 1993. Some biochemical aspects of adventitious rooting of stooling propagated chestnut (*Castanea sativa* Mill.). Processing of the international congress on Chestnut. Spoleto, October 20-23.
- Giannini, R., 1982. La coltura del castagno da frutto. Atti Conv. "Prospettive per l'agricoltura collinare fiorentina". C.C.I.A.A., Firenze: 153-160.
- Iannì G., 1992. Effetto di alcune sostanze sulla rizogenesi di Castanea sativa Mill.. Atti Conv. Naz. Castanicoltura da Frutto: 105-111.
- Maynard, B.K., Bassuk, N.L., 1988. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In "Adventitious root formation in cuttings"; (T.D. Davis, B.E. Haissing, N. Sankhla Eds.); Advances in Plant Sciences Series Vol. 2, T.D., Dudley, Ph. D., Generale Editor:pp. 29-46.
- Mato, M.C., Vazquez, A., and Gesto, M.D.V., 1985. Treatment of bean cuttings by chestnut extracts during rooting modifies their IAA-oxidase activity. Physiol. Plant., 65:63-66.
- Mato, M.C., and Vieitez, A.M., 1986. Changes in auxin protectors and IAA oxidases during the rooting of chestnut in vitro. Physiol. Plant., 66:491-494.
- Rinallo, C., 1980. Esperienze di radicazione del castagno per talea e per margotta. Ann. Acc. Ital. Sci. For., Vol. XXIX:3-16.
- Rinallo, C., Gellini, R., e Grassoni, P., 1982. Prove di radicazione e di sopravvivenza di talee. Ann. Acc. Ital. Sci. For., Vol. XXXI:211-221.
- Rinallo, C., Gellini, R., e Fabbri, A., 1987. Studies on rhizogenesis in Castanea Sativa Mill. cuttings. Adv. Hort. Sci., 1:27-33.
- Rinallo, C., Mariotti, D., 1993. Rooting of Castanea Sativa Mill. Shoots: Effect of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes. Jou. Hort. Sci., 68 (3):399-406.
- Rugini E., Politi V., Bignami C., 1990. Effect of polyamine treatments on rooting cutting of three olive cultivars. Acta Horticulturae, 286.
- Vazquez, A., and Gesto, M.D.V., 1982. Juvenility and endogenous rooting substances in *Castanea Sativa* Mill. Biol. Plant., 24 (1):48-52.
- Vieitez, E., Seoane, E., Gesto, M.D.V, Vazquez, A., Mendez, A., Carnicer, A., and Areses, M.l., 1967. Growth substances isolated from woody cuttings of *Castanea Sativa* Mill. Phytochemistry, 6:913-920.

Vieitez, J., and Ballester, A., 1988. Endogenous rooting inhibitors in mature chestnut cuttings. Acta Horticulturae, 227:167-169.