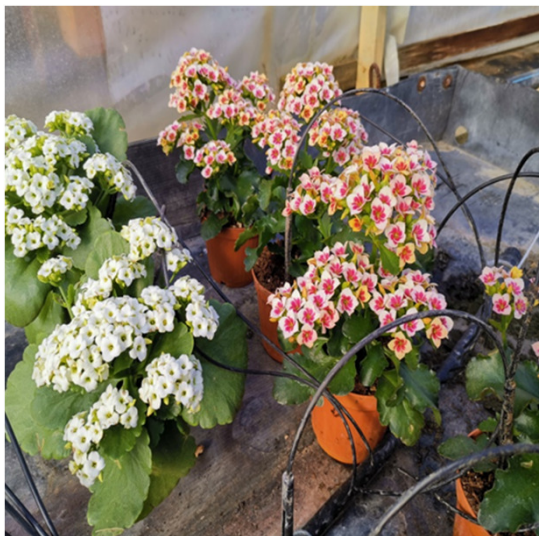
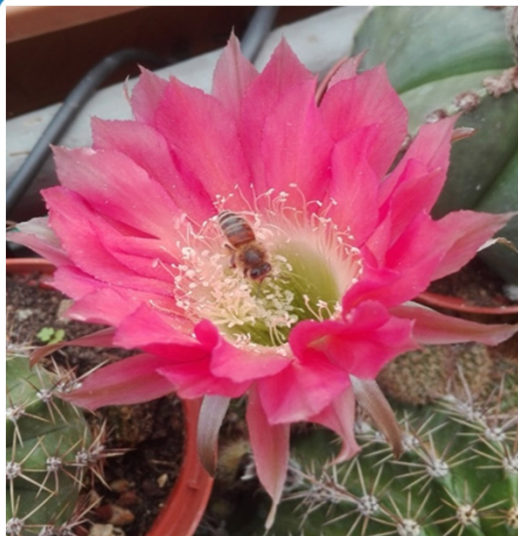




MICRORGANISMI EFFETTIVI PER L'AGRICOLTURA E L'AMBIENTE

Dr. Domenico Prisa

*CREA Centro di Ricerca per l'Orticoltura e il florovivaismo sede di
Pescia*

Il concetto di sostenibilità

La definizione più diffusa è quella fornita nel **1987 dalla Commissione Indipendente sull'Ambiente e lo Sviluppo** (World Commission on Environment and Development), presieduta da Gro Harlem Brundtland, secondo la quale:
“L’umanità ha la possibilità di rendere sostenibile lo sviluppo, cioè di far sì che esso soddisfi i bisogni dell’attuale generazione senza compromettere la capacità delle generazioni future di rispondere ai loro”

Le generazioni future hanno gli stessi diritti di quelle attuali



Cosa causa **L'USO INCONTROLLATO DI PESTICIDI?**

- **Persistenza** nel suolo e nelle acque con danni diretti e permanenti agli ecosistemi acquatici (pesci, anfibi ecc.)
- **Bioaccumulo** in tessuti animali (es. *Dreissena Polymorpha*)
- Insorgenza di **Resistenze** e necessità quindi di prodotti sempre più potenti
- **Tossicità** a largo spettro in grado di distruggere indistintamente molte specie di insetti anche utili (bombi, farfalle, api) come avviene ad esempio nel caso della moria di api da neonicotinoidi (usati per la concia delle sementi del mais o per la flavescenza della vite).
- Problemi per l'**Impollinazione** delle piante e per i prodotti legati alle api

1 Pochi principi attivi registrati sulle piante

- Non è quindi più possibile alternare i principi attivi
- Aumentano i rischi dell'insorgere di fenomeni di resistenza (capacità di una popolazione di sopravvivere al trattamento con un prodotto chimico che è stato letale per le generazioni precedenti)

2 Molti principi attivi chimici hanno perso la loro efficacia

3 I nuovi principi attivi chimici non sono ancora ben sperimentati (nuove cultivar)

- aumento del rischio di fitotossicità (azione dannosa del fitofarmaco sulla pianta, solventi, coadiuvanti rappresentano dal 30 al 98% del prodotto commerciale)

4 Tutela e sicurezza della salute dell'operatore

5 Riduzione dell'inquinamento ambientale

Applicando tecniche di tipo ecosostenibile non si verificano più fenomeni di fitotossicità e resistenza

I biostimolanti

La review di Yakhin et al. (2017) evidenzia che i biostimolanti si legano al concetto di stimolanti biogenici coniato negli anni '30 del XX secolo dal medico russo Filatov, il quale propose la teoria secondo cui i materiali biologici derivati da vari organismi, piante incluse, esposti a condizioni sfavorevoli ma non letali influirebbero sui processi metabolici ed energetici di essere umani, animali e piante

Il nuovo regolamento europeo sui fertilizzanti (Reg. (EU) 2019/1009), per quanto attiene nello specifico i biostimolanti delle piante, definisce gli aspetti relativi alla tipologia (sostanze/microrganismi), la funzione, il campo di applicazione e ribadisce che tali effetti sono indipendenti dal contenuto di nutrienti

Definizione di biostimolante: per du Jardin (2015) è «**qualsiasi sostanza o microrganismo applicato alle piante allo scopo di migliorare l'efficienza nutrizionale, la tolleranza agli stress abiotici e/o gli aspetti della qualità del raccolto, indipendentemente dal suo contenuto di nutrienti**»



Meccanismi d'azione

I meccanismi d'azione della maggior parte dei biostimolanti rimangono in gran parte sconosciuti.

Problema dovuto principalmente alla natura eterogenea delle materie prime utilizzate per la produzione e alle complesse miscele di componenti contenute nei prodotti biostimolanti, che rendono quasi impossibile identificare esattamente gli effettivi responsabili dell'attività biologica e determinarne quindi la modalità di azione

Definire i «meccanismi d'azione» dei biostimolanti in termini di impatto generale sulla produttività delle piante, attraverso l'aumento dei processi quali la fotosintesi, la modulazione della risposta ormonale, l'assorbimento di nutrienti e acqua e l'attivazione dei geni responsabili della resistenza agli stress abiotici



Biostimolanti per la mitigazione degli stress biotici e abiotici

Negli ultimi anni molte colture hanno subito sostanziali perdite a causa dell'esposizione a condizioni ambientali instabili e sfavorevoli con conseguenti risvolti negativi sulla produzione di cibo e sulla sicurezza alimentare globale.

I cambiamenti climatici influenzano, l'insorgenza e l'impatto sia delle patologie vegetali, sia degli insetti nocivi

Attualmente gli stress abiotici comportano, a livello mondiale perdite per la produttività agricola pari al 50% (Kumar e Verna, 2018)



Biostimolanti microbici (CMC7)

- ☐ Funghi micorrizici
- ☐ *Azotobacter spp.*
- ☐ *Azospirillum spp.*
- ☐ *Rhizobium spp.*

Biostimolanti non microbici

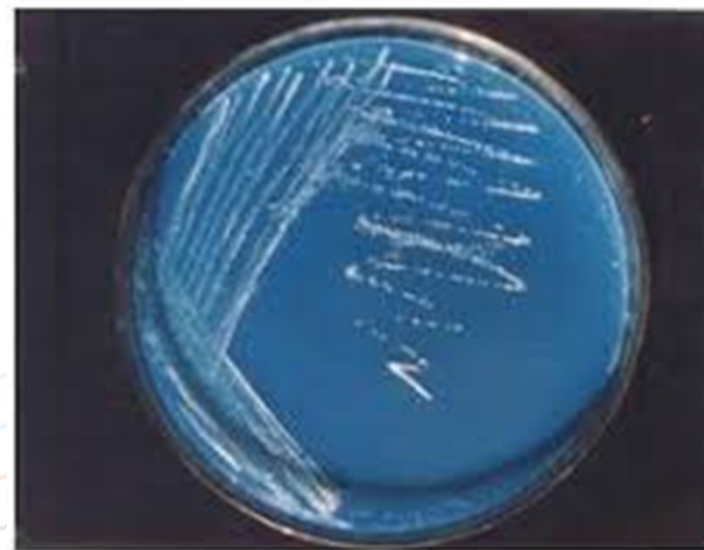
Biostimolanti organici

- ☐ Sostanze umiche
- ☐ Idrolizzati proteici
- ☐ Estratti di alghe e di piante

Biostimolanti inorganici

- ☐ Silicio

Azospirillum



Limiti dei contaminanti nei biostimolanti

	mg/kg sostanza secca
Cadmio (Cd)	1,5
Cromo esavalente (Cr VI)	2
Piombo (Pb)	120
Mercurio (Hg)	1
Nickel (Ni)	50
Arsenico inorganico (As)	40
Rame (Cu)	600
Zinco (Zn)	1500

Fosfonati non devono superare lo 0,5 % in peso

Limiti dei patogeni in un biostimolante microbico

Microrganismi/loro tossine, metaboliti	Piani di campionamento		Limiti
	n	c	
<i>Salmonella</i> spp	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Escherichia coli</i>	5	0	Assente in 1g o 1 ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Assente in 25g o 25 ml
<i>Vibrio</i> spp	5	0	Assente in 25g o 25 ml
<i>Shigella</i> spp	5	0	Assente in 25g o 25 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	Assente in 25g o 25 ml
<i>Enterococcaceae</i>	5	2	10 UFC in 1g o 1 ml
Conteggio anaerobico in piastra a meno che il biostimolante microbico delle piante sia un batterio aerobico	5	2	10 ⁵ UFC in 1g o 1ml
Conteggio dei lieviti e delle muffe a meno che il biostimolante microbico delle piante sia un fungo	5	2	1000 UFC in 1g o 1ml

n= numero di unità che costituiscono il campione

c= numero di unità campionarie i cui valori sono superiori al limite definito.

Limite dei patogeni in un biostimolante non microbico

Microrganismi da sottoporre a prova	Piani di campionamento			Limite
	n	c	m	
<i>Salmonella</i> spp	5	0	0	Assente in 25g o 25 ml
<i>Escherichia coli</i>	5	5	0	1000 UFC in 1g o 1ml
<i>Enterococcaceae</i>	5	5	0	1000 UFC in 1g o 1ml

n = numero di campioni da sottoporre a prova,

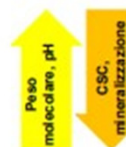
c = numero di campioni il cui numero di batteri, espresso in UFC, è compreso tra m e M,

m = valore soglia per il numero di batteri, espresso in UFC, che è considerato soddisfacente,

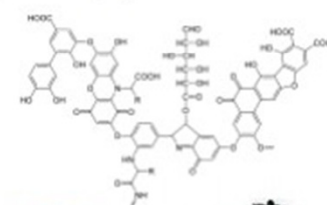
M = valore massimo del numero di batteri, espresso in UFC.

BIOSTIMOLANTI UE

Sostanze umiche



- **Umine** (non solubili in acqua)
- **Acidi umici** (solubili in acqua a pH alcalino e precipitano a pH 1-2)
- **Acidi fulvici** (solubili in acqua a tutti i pH)



FULVIC ACID



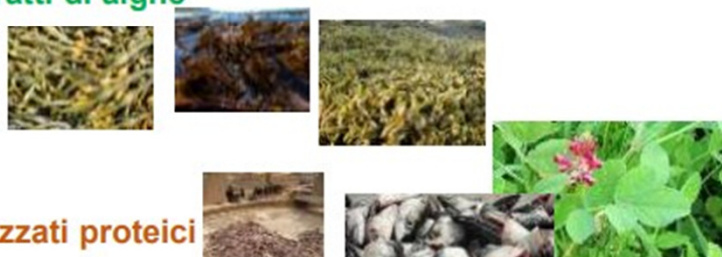
HUMIC ACID

Materie prime

Sostanze umiche



Estratti di alghe



Idrolizzati proteici



Estratti di alghe

Carboidrati

alginati/acido uronico

- laminarina
- fucoidano
- mannitolo

Elementi minerali

Amino acidi

Fenoli

Fitormoni



Fitormoni	Concentrazione (ug/L)
Auxine	7,4
Citochinine	0,32
ABA	0,02
GA's	0,55
Poliammine	4000
Brassinosteroidi	1,1



Idrolizzati proteici



Amminoacidi liberi e peptidi

Carboidrati

Elementi minerali

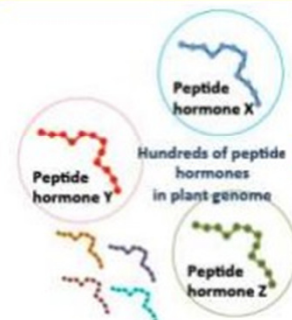
Altre molecole (triacontanolo, poliammine)

Fitormoni (origine vegetale)

Parametro	Idrolizzato proteico da collagene per idrolisi chimica	Idrolizzato proteico da leguminose per idrolisi enzimatica
Contenuto di azoto	++	+
Amminoacidi liberi	++	+
Grado di racemizzazione	+++	+
Peptidi	+	++

Peptidi ad attività ormonale

- 2-50 amminoacidi
- sequenza amminoacidica specifica
- attività biologica a bassissime concentrazioni (nM)



- Proliferazione ed espansione cellulare
- Riproduzione
- Risposta agli stress
- Differenziazione dei vasi
- Sviluppo degli stomi



La doppia faccia degli idrolizzati proteici

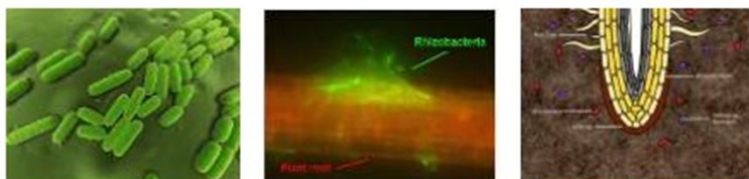


Batteri della rizosfera

Batteri che formano colonizzano l'apparato radicale e le ife dei funghi micorrizici ('*mycorrhiza helper bacteria*').

I rizobatteri includono numerose specie appartenenti ai generi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Pantoea*, ecc.

I rizobatteri sono propagati in bioreattori su substrato liquido sterile.



Mycorrhiza helper bacteria

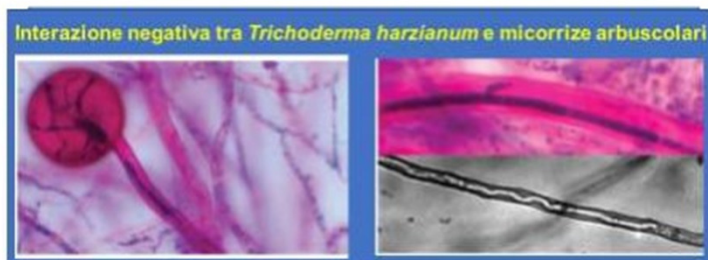
- Stimolano la germinazione delle spore, la colonizzazione radicale e la crescita del micelio
- Incrementano l'efficienza della micorriza nell'assorbimento dei nutrienti
- Producono sostanze fitostimolanti
- Esercitano un'azione antagonista verso molti patogeni vegetali



Trichoderma spp.

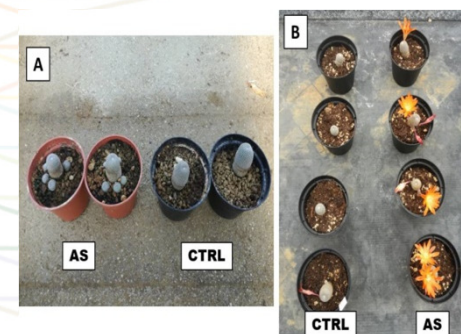
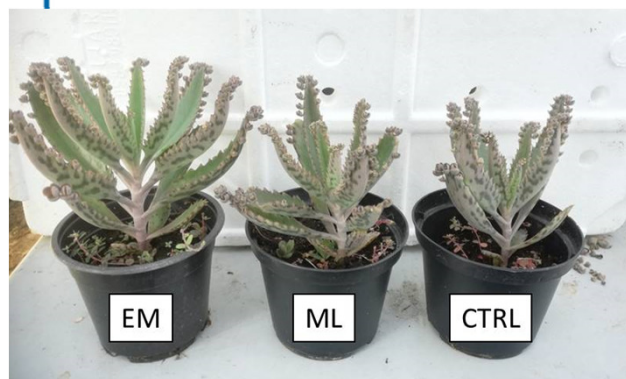
Fungo saprofita molto diffuso in natura capace di stimolare la crescita e migliorare la resistenza della pianta a stress biotici attraverso un'azione diretta e indiretta verso i patogeni vegetali.

Il *Trichoderma* si propaga in bioreattori su substrato sterile in forma liquida o solida.



Perché i biostimolanti sulle piante?

- **Maggior efficienza nell'uso di acqua e concimi**
- **Riduzione fitofarmaci**
- **Maggior resistenza a stress biotici e abiotici (idrici, termici, salini, funghi, insetti)**
- **Incremento della velocità di crescita e della qualità del prodotto anche di specie provenienti da altri ambienti**



Biostimolanti e nutrizione vegetale

Sostanze umiche

- Azione complessante sui nutrienti (Elevata capacità di scambio cationico)
- Riduzione dell'attività di ioni potenzialmente fitotossici
- Tamponamento del pH della soluzione circolante

Disponibilità dei nutrienti nel suolo



Sostanze

Microrganismi benefici

- Aumento della superficie radicale
- Stimolazione degli enzimi radicali (Ferrico-chelato reductasi)
- Attivazione dei geni che codificano per i trasportatori dei nutrienti

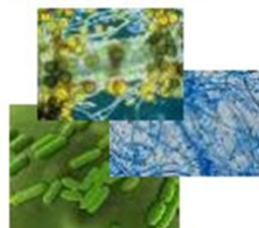
Assorbimento dei nutrienti



Microrganismi benefici

- Incremento del volume di suolo accessibile dall'apparato radicale
- Aumento della biodisponibilità dei nutrienti (fissazione azoto, solubilizzazione nutrienti)

Disponibilità dei nutrienti nel suolo



Sostanze

Microrganismi benefici

- Attivazione dei geni che codificano per gli enzimi coinvolti nell'assimilazione dei nutrienti inorganici

Assimilazione dei nutrienti



Biostimolanti e stress

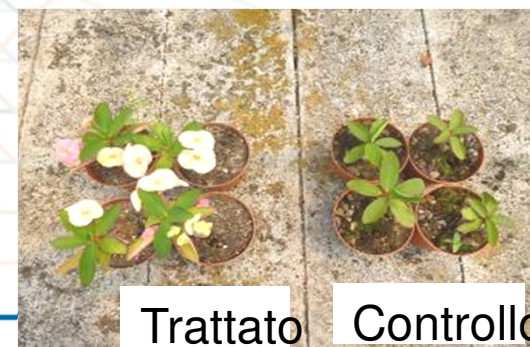
- Siccità
- Salinità
- Alcalinità
- Stress nutrizionali
- Temperature estreme



- Incremento della crescita radicale e del rapporto radici/parte aerea
- Miglioramento dello stato nutrizionale della pianta
- Aumento della stabilità delle membrane cellulari
- Accumulo di osmoliti
- Attivazione dei sistemi di detossificazione
- Incremento della biosintesi di alcuni fitormoni

Cosa possono migliorare i biostimolanti nella coltivazione delle piante?

- Miglioramento dello stato nutrizionale delle piante
- Miglioramento della fase di ambientamento e adattamento alla coltivazione in vaso
- Modificazione dell'anatomia e morfologia radicale con aumento della resistenza dei tessuti vegetali
- Stimolazione della microflora naturale antagonista ai patogeni:
 - ☐ Induzione di resistenza
 - ☐ Competizione per i nutrienti
 - ☐ Competizione per i siti d'infezione
- Incremento dell'attività fotosintetica e miglior utilizzo dell'acqua
- Incremento dello sviluppo vegetativo, del colore e del numero di fioriture, della germinazione dei semi e della radicazione delle talee



Trattato

Controllo

EM Technology

EM® acronimo coniato dal dr. Teruo Higa, consistente nelle iniziali delle lettere derivate da Effective Microorganisms

Microrganismi che coesistono fra loro generando effetti benefici in molteplici campi d'utilizzo, in maniera totalmente naturale

EM® sviluppato nel 1982 e riconosciuto efficace in diversi campi come bonifica ambientale, compostaggio rifiuti organici, riduzione dell'odore nell'allevamento del bestiame, trattamento di acqua inquinata e applicazioni in agricoltura.

Appartengono a questa tecnologia, batteri dell'acido lattico, lieviti, batteri della fotosintesi che vivono in simbiosi

Applicata in diversi paesi del mondo (160) tra cui: Giappone, Tailandia, Viet-nam, India, America del Nord, Brasile, Haiti, Sudan, Egitto, Australia e Nuova Zelanda, Ucraina, Cina etc.

Preparazione/attivazione EM (Ema)

Ingredienti:

- 10% EM-1
- 5% melassa di canna da zucchero
- 2.5% malto d'orzo + 2.5% farina di ceci
- 1% sale rosa dell'Himalaya
- 79% acqua



Acqua di buona qualità e lavorare in condizioni il più possibile asettiche
Utilizzare un fermentatore (vino-birra) con resistenza/serpentina per acquario

Fermentatore con acqua a 35°C inserire melassa, malto, farina di ceci e sale
Aggiungere EM-1 e mescolare

Fermentazione per 10 giorni a 30°C, degassificando almeno 2-3 volte
pH 3 – 3.2 (non è indicativo di riuscita della moltiplicazione)

Conservare in frigo a 4°C fino a 3 mesi

La riproduzione dei microrganismi per un non esperto può essere ripetuta (conservando una parte dell'attivato fino 2 volte), per lo sbilanciamento dei gruppi microbici

Bokashi fertilizzante (solido)

Si ottiene il Bokashi dal compostaggio di materiali organici utilizzando i microrganismi EM (Ema)

Preparazione in apposito bidoncino Per compostaggio:

- Ogni 10 Kg di materiale umido od organico spruzzare Ema in diluizione 1:10 sulla Superficie e ricoprire con 2 cm di organico (ripetere operazione fino a riempimento del bidone).
- Il materiale deve essere lasciato compostare per almeno 30-40 giorni, dalla parte inferiore recuperare una volta a settimana il liquido (da utilizzare all'1% in acqua come fertilizzante per le piante)

Il bokashi ottenuto può essere sparso sul terreno 1Kg ogni metro quadro oppure addizionato al substrato delle piante al 10% (aspettare una settimana prima di mettere a dimora le piante per far stabilizzare il materiale)

Effetto dei Microrganismi EM sulle piante

EM on the growth of horticultural crops

Item	Effect
Seed germination	increased
Vigour	increased
Leaf photosynthesis	increased
Early fruiting	increased
Plant height	increased
Number of fruits	increased

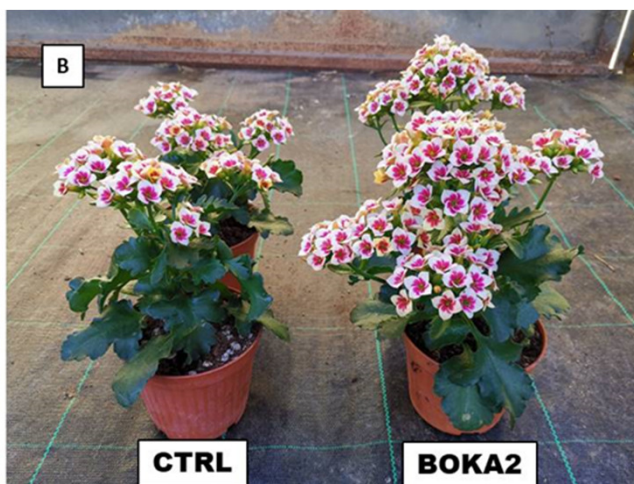
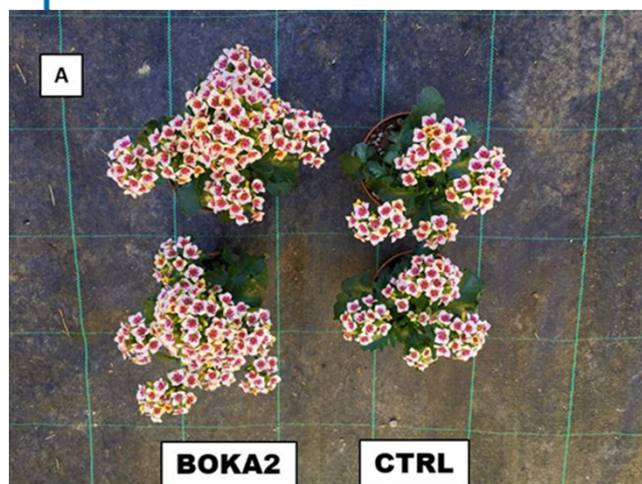
EM on the chemical content

Item	Effect
Vitamin C in fruits	increased
Saccharide in fruits	increased
Protein in fruits	increased
Amino acid in fruits	increased
N in leaves	increased

Incremento significativo dei parametri di crescita e del contenuto minerale delle piante

Riduzione significativa di alcune malattie come *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea*, *Uncinula necator*, *Pythium spp.*

Applicazioni di compost arricchito di microrganismi su piante succulente

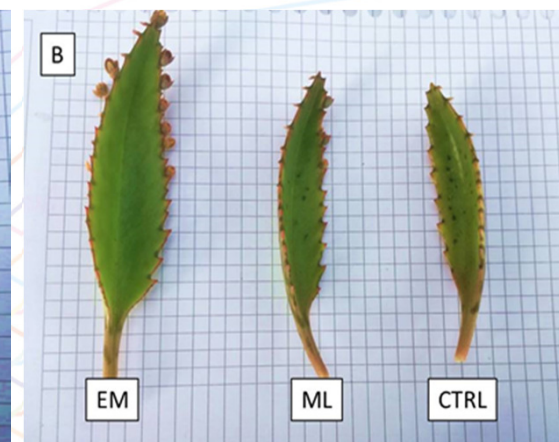
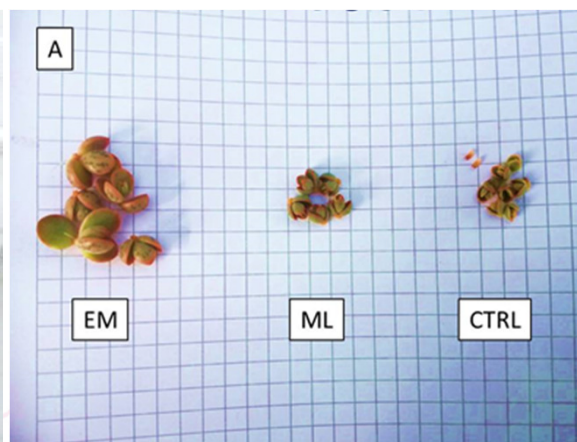
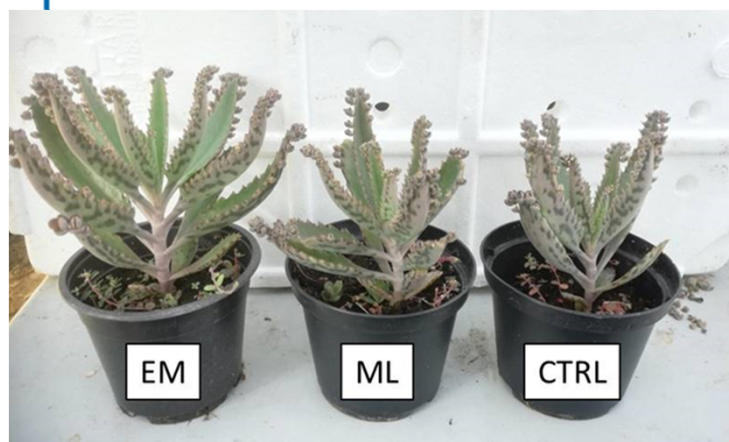


Groups	Plants height (cm)	Leaves number (n°)	Vegetative weight (g)	Roots weight (g)	Inflorescences number (n°)	Inflorescences biomass (g)	Flowers number (n°)	Flowering time (days)
CTRL	31,72 c	25,40 c	57,30 c	44,76 d	6,40 c	11,74 b	74,80 d	32,80 c
BOKA1	33,23 b	31,60 b	66,82 b	46,86 c	9,00 b	14,96 a	81,60 c	39,00 b
BOKA2	34,82 a	35,20 a	76,08 a	53,94 b	11,20 a	15,82 a	89,00 b	45,20 a
BOKA3	34,84 a	37,00 a	76,90 a	56,26 a	11,00 a	15,82 a	89,80 b	45,60 a
BOKA4	35,52 a	35,20 a	76,94 a	56,54 a	10,80 a	15,95 a	93,60 a	46,40 a
ANOVA	***	***	***	***	***	***	***	***

D. Prisa, 2020. EM-Bokashi
 Addition to the Growing Media for
 the Quality Improvement of
Kalanchoe Blossfeldiana.
 International Journal of
 Multidisciplinary Sciences and
 Advanced Technology (IJMSAT).
 1(2), 54-59

Applicazioni di rizobatteri per la germinazione e lo sviluppo radicale di *Kalanchoe*

D. Prisa, 2019. Effective microorganisms for germination and root growth in *Kalanchoe daigremontiana*. World Journal of Advanced Research and Reviews, 2019, 03(03), 047–053.



Groups	Height plant (cm)	Leaves number (n°)	Veg. weight (g)	Root weight (g)	Number new shoots (n°)	Weight new shoots (g)	Leaf area (cm ² pt ⁻¹)
CTRL	15,80 b	11,58 c	61,48 c	38,47 b	70,08 c	0,57 c	194,56 b
ML	15,98 b	13,42 b	76,50 b	41,24 b	87,42 b	0,76 b	197,11 b
EM	17,62 a	17,42 a	96,34 a	54,78 a	110,58 a	1,17 a	250,33 a
ANOVA	***	***	***	***	***	***	***

Groups	Seed germination (%)	Average germination time (days)
CTRL	87,33	16,00 b
ML	88,10	15,00 b
EM	94,60	10,00 a
ANOVA		***

Applicazioni di zeolititi e rizobatteri per la biostimolazione di succulente

D. Prisa, 2019. Effect of chabazitic-zeolites and effective microorganisms on growth and chemical composition of Aloe barbadensis Miller and Aloe arborescens Miller. International Journal of Agricultural Research, Sustainability, and Food Sufficiency (IJARSFS) Vol. 6(01) 13 March, 2019, Pp. 315-321



Treatment	Number of leaves per plant (n°)	Number of plantlets per plant (n°)	Fresh leaf weight (g)	Fresh gel weight (g)	Fresh weight of roots (g)
CTRL	21.92 c	2.86 c	402.55 c	220.22 c	452.26 c
T1	23.50 b	3.41 b	438.15 b	277.44 b	491.81 b
T2	25.52 a	4.47 a	514.30 a	308.22 a	564.43 a

Treatment	Number of leaves per plant (n°)	Number of plantlets per plant (n°)	Fresh leaf weight (g)	Fresh gel weight (g)	Fresh weight of roots (g)
CTRL	23.37 c	3.42 c	468.06 c	247.67 c	502.55 b
T1	24.18 b	3.95 b	499.89 b	293.38 b	591.81 a
T2	26.46 a	5.11 a	575.55 a	369.12 a	626.40 a



Opuntia ficus-indica

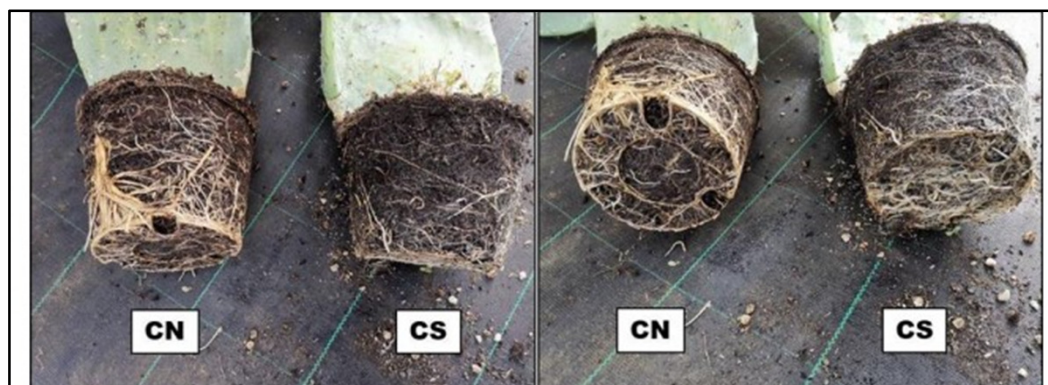
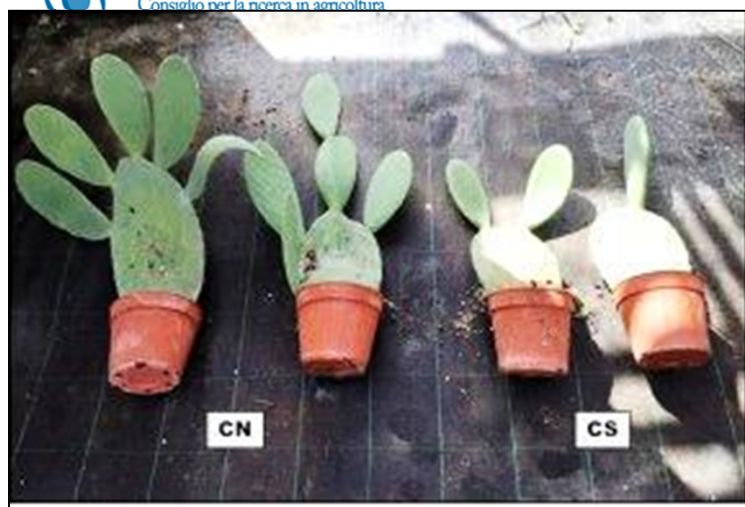


Figure 3 Effect of natural zeolite (CN) and sterilized zeolite (CS) on the roots growth of *Opuntia ficus-indica* cv 'Muscaredda'

Opuntia cultivar	Groups	Plant height (cm/plant)	Vegetative weight (kg/plant)	Roots weight (Kg/plant)	Pads number (n°/plant)
Sulfarina	CT	67,60 ^c	0,80 ^c	0,48 ^c	2,20 ^c
	CN	79,18 ^a	1,59 ^a	0,75 ^a	5,40 ^a
	CS	72,76 ^b	0,96 ^b	0,65 ^b	3,40 ^b
	ANOVA	***	***	***	***
Sanguigna	CT	66,50 ^c	0,74 ^c	0,50 ^c	3,20 ^c
	CN	76,46 ^a	1,20 ^a	0,74 ^a	5,40 ^a
	CS	70,94 ^b	0,82 ^b	0,65 ^b	4,00 ^b
	ANOVA	***	***	***	***
Muscaredda	CT	76,62 ^c	1,26 ^c	0,62 ^c	3,40 ^c
	CN	85,64 ^a	2,02 ^a	0,95 ^a	5,60 ^a
	CS	81,46 ^b	1,72 ^b	0,80 ^b	4,20 ^b
	ANOVA	***	***	***	***

one-way ANOVA; n.s. – non significant; ***,*** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$). Legend: (CT) control; (CN) natural zeolite ;(CS) sterilized zeolite

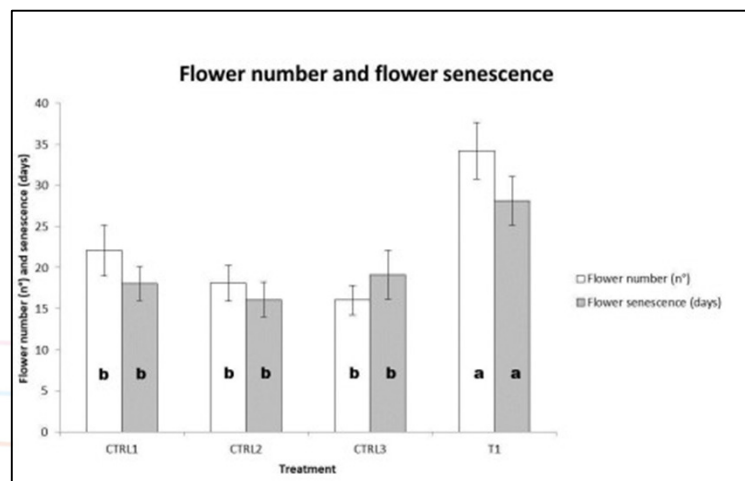
Opuntia cultivar	Groups	Fruit number (n°/plant)	Fruit length (cm/fruit)	Fruit weight (g/fruit)	Peel weight (g/fruit)	Pulp weight (g/fruit)	Seed weight (g/fruit)
Sulfarina	CT	4,20 ^b	6,29 ^c	123,32 ^c	46,30 ^c	72,84 ^c	3,40 ^b
	CN	7,00 ^a	9,56 ^a	135,02 ^a	52,46 ^a	78,70 ^a	3,90 ^a
	CS	4,80 ^b	7,42 ^b	129,70 ^b	48,44 ^b	75,22 ^b	3,92 ^a
	ANOVA	***	***	***	***	***	*
Sanguigna	CT	5,21 ^c	10,78 ^b	132,78 ^b	58,36 ^c	68,00 ^c	3,20 ^b
	CN	7,20 ^a	12,82 ^a	137,72 ^a	62,98 ^a	73,96 ^a	3,80 ^{ab}
	CS	6,20 ^b	10,96 ^b	134,59 ^b	59,30 ^b	71,20 ^b	4,20 ^a
	ANOVA	***	***	***	***	***	*
Muscaredda	CT	5,00 ^c	7,58 ^c	121,86 ^b	53,20 ^c	61,78 ^c	3,40 ^b
	CN	7,20 ^a	8,78 ^a	128,24 ^a	58,80 ^a	69,06 ^a	4,20 ^a
	CS	6,20 ^b	7,87 ^b	125,68 ^a	54,86 ^b	63,18 ^b	3,40 ^b
	ANOVA	***	***	***	***	***	*

one-way ANOVA; n.s. – non significant; ***,*** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$). Legend: (CT) control; (CN) natural zeolite ;(CS) sterilized zeolite

D. Prisa (2020). Comparison between sterilized zeolite and natural zeolite in the Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica* L. Mill.) growing. GSC Advanced Research and Reviews, 2020, 04(03), 007-014

Echinopsis

Fig.4 – Bees and bumblebees on Echinopsis flowers sprayed with EM microorganisms



Treatment	Plantlet diameter at 3.1.2017 (cm)	Plantlet diameter at 4.1.2018 (cm)	Thornes number (n°)	Root fresh weight (g)
CTRL	2.40 ± 0.20 a	5.21 ± 1.03 b	118.12 ± 3.44 b	3.44 ± 0.76 b
T	2.33 ± 0.31 a	9.40 ± 1.35 a	196.17 ± 2.66 a	7.65 ± 1.28 a

Each value reported in the graph is the mean of three replicates ± standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test (P = 0.05).

Table 2 - Effect of zeolites and Effective microorganisms on the growth of Echinopsis hybrids "Arabesque"

Treatment	Plantlet diameter at 3.1.2017 (cm)	Plantlet diameter at 4.1.2018 (cm)	Thornes number (n°)	Root fresh weight (g)
CTRL	3.60 ± 0.45 a	10.22 ± 0.56 b	124.44 ± 1.87 b	6.55 ± 1.26 b
T	3.52 ± 0.37 a	14.18 ± 0.90 a	147.33 ± 3.06 a	12.32 ± 2.04 a

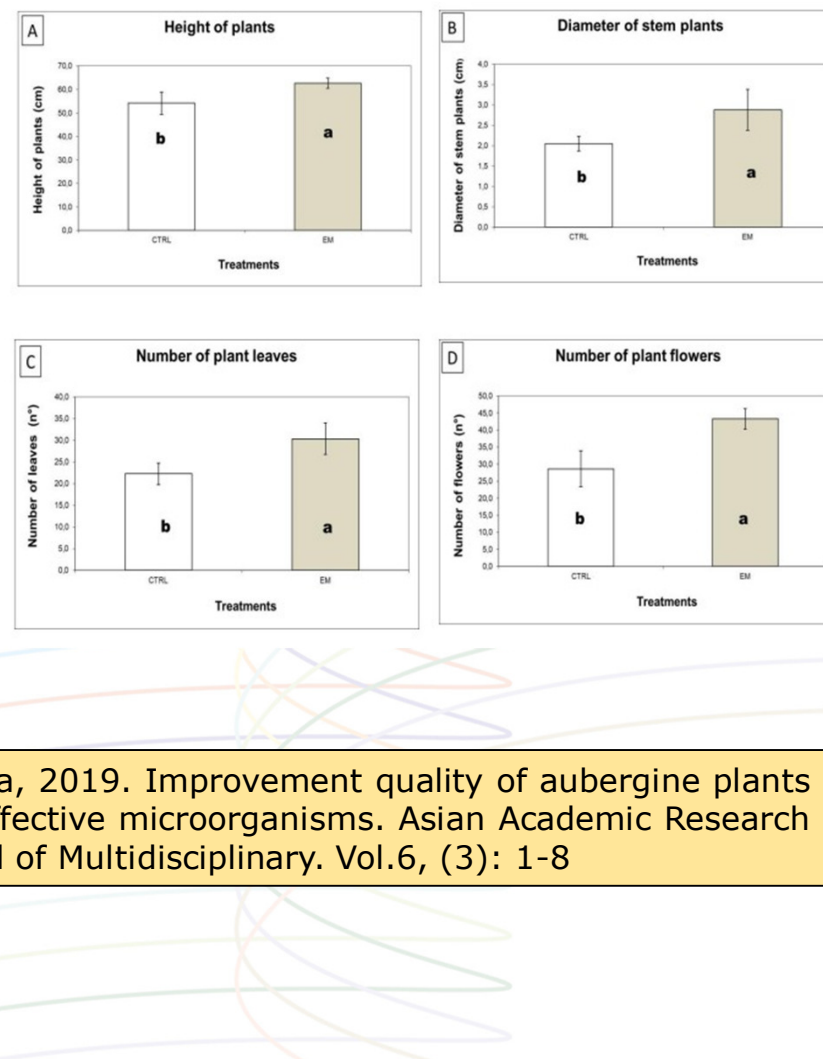
Each value reported in the graph is the mean of three replicates ± standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test (P = 0.05).

D. Prisa, 2019. Effective Microorganisms And Chabazitic-Zeolites For The Improvement Quality Of Echinopsis Hybrids. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary. Vol.6, (2): 23-34

Melanzana



Fig.2 - Effect of treatments on the size of berries (a) and flowers (b). (treatment with Em on the left, control on the right)



D. Prisa, 2019. Improvement quality of aubergine plants with effective microorganisms. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary. Vol.6, (3): 1-8

Table

Table 1 - Effect of the addition of NaCl on the growth of *Euphorbia milii* plants

Treatment	Plant height (cm)	Leaves number (n°)	Flowers number (n°)	Total fresh plant weight (g)
CTRL	10.22 ± 1.22 c	14.02 ± 1.66 c	8.11 ± 0.72 c	18.60 ± 0.45 c
T1	16.13 ± 1.00 b	18.22 ± 1.04 b	20.14 ± 0.94 b	24.33 ± 0.68 b
T2	23.50 ± 0.96 a	24.06 ± 0.56 a	31.08 ± 0.48 a	32.55 ± 0.67 a

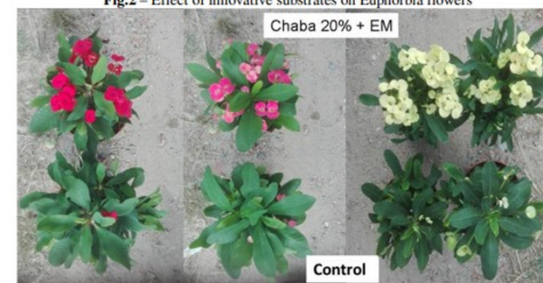
Each value reported in the graph is the mean of three replicates ± standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test (P = 0.05).

Table 2 - Effect of the addition of NaCl on the growth of *Crassula ovata* plants

Treatment	Plant height (cm)	Leaves number (n°)	Total fresh plant weight (g)
CTRL	8.13 ± 0.46 c	16.13 ± 1.11 c	29.44 ± 0.63 c
T1	13.21 ± 0.56 b	22.33 ± 1.42 b	35.31 ± 0.76 b
T2	19.53 ± 0.32 a	28.05 ± 0.98 a	41.50 ± 0.54 a

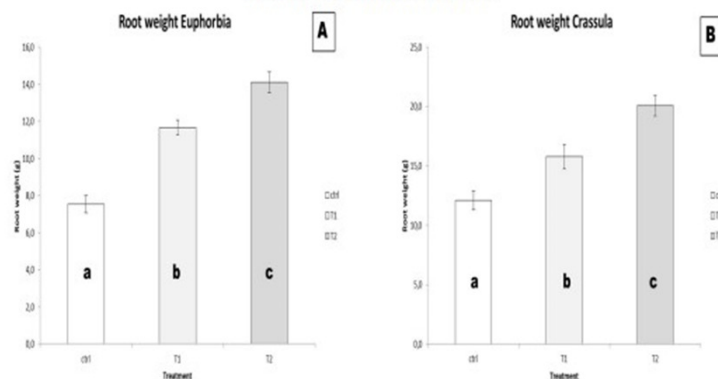
Each value reported in the graph is the mean of three replicates ± standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test (P = 0.05).

Fig.2 - Effect of innovative substrates on *Euphorbia* flowers



Figures

Fig. 1 - Differences in the growth of the roots system of *Euphorbia*(a) and *Crassula* (b) depending on the different substrate and the addition of NaCl



D. Prisa, 2019. Rhizobacteria and zeolites for overcoming saline stress in the cultivation of succulent plants. The International Journal of Engineering and Science (IJES), Volume 8, Issue 5 Series I, Pages 38-41

Cipolla

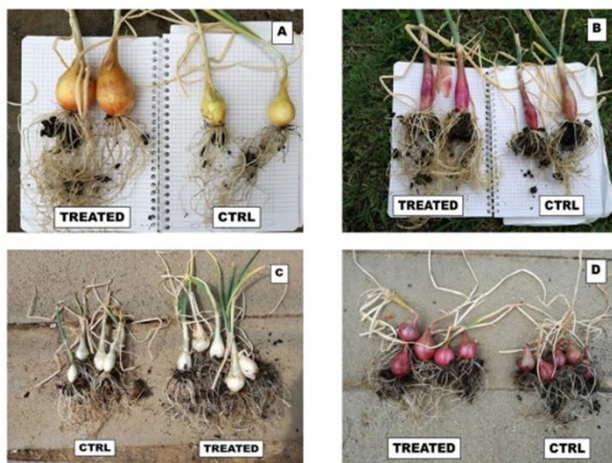


Figure 5 Comparison of onions treated with Effective microorganisms and control, cvs "Dorata di Bologna" (A), "Lunga di Firenze" (B), "Bianca Musona" (C), "Rossa di Tropea" (D).

D. Prisa, 2019. Effective microorganisms for the cultivation and qualitative improvement of onion (*Allium cepa* L.). World Journal of Advanced Research and Reviews, 2019, 02(03), 001-007.

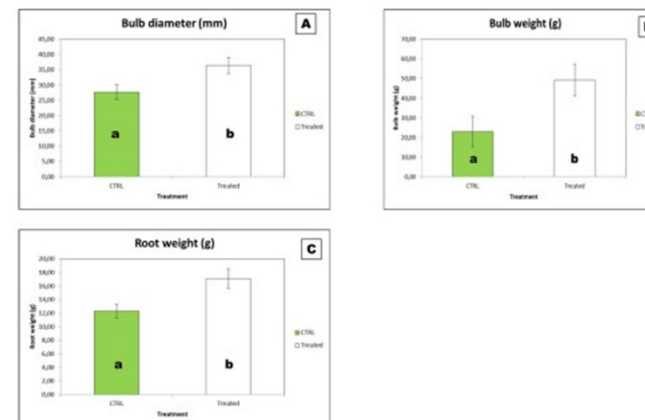


Figure 1 Effect of Effective Microorganisms (EM) on the growth of onion cv "Dorata di Bologna". Each value reported in the graph is the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test ($P = 0.05$).

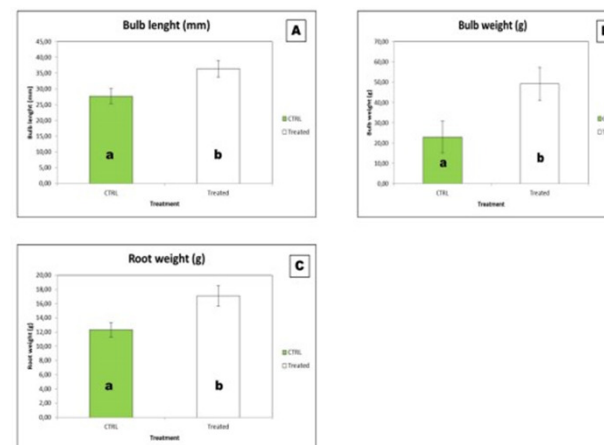


Figure 2 Effect of Effective Microorganisms (EM) on the growth of onion cv "Lunga di Firenze". Each value reported in the graph is the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. Statistical analysis performed through one-way ANOVA. Different letters for the same parameter indicate significant differences according to LSD test ($P = 0.05$).

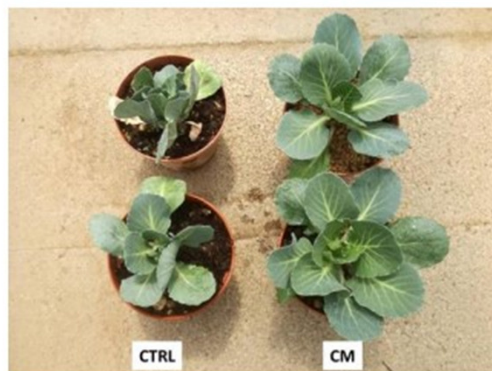


Figure 2 Effect of chabazitic-zeolites with added micro-organisms on the vegetative growth of cabbage.
Legend: (CTRL) group without chabazite; (CM) chabazite enriched with micro-organisms.



Figure 3 Effect of chabazitic-zeolites with added micro-organisms on the roots growth of cabbage.
Legend: (CTRL) group without chabazite; (CM) chabazite enriched with micro-organisms.

Table 1 Evaluation of the effect of zeolites on cabbage growth

Groups	Leaves number (n°)	Vegetative weight (g)	Root weight (g)	Stem diameter (mm)
CTRL	24,25 c	62,47 c	33,26 c	10,28 c
CN	34,67 b	71,69 b	44,21 b	12,37 b
CM	41,58 a	91,48 a	49,99 a	14,90 a
ANOVA	***	***	***	***

One-way ANOVA; n.s. - non significant; **** - significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$).

Legend: group without chabazite (CTRL); group with natural chabazite (CN); group with chabazite enriched with micro-organisms (CM).

Table 2 Evaluation of the effect of zeolites on the physiological characteristics of cabbage

Groups	Chlorophyll content (spad index)	Pn ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
CTRL	13,38 c	11,78 b
CN	14,25 b	12,32 b
CM	15,48 a	13,97 a
ANOVA	***	***

One-way ANOVA; n.s. - non significant; **** - significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$).

Legend: Leaf net photosynthesis rate (Pn), chlorophyll (SPAD index) content, group without chabazite (CTRL); group with natural chabazite (CN); group with chabazite enriched with micro-organisms (CM).

Table 3 Evaluation of the effect of zeolites in the germination of cabbage.

Groups	Seed germination (%)	Average germination time (days)
CTRL	82	13,33 a
CN	89	10,25 b
CM	93	8,83 c
ANOVA	-	***

One-way ANOVA; n.s. - non significant; **** - significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$).

Legend: group without chabazite (CTRL); group with natural chabazite (CN); group with chabazite enriched with micro-organisms (CM).

D. Prisa, 2019. Effect of natural zeolites and zeolites added with microorganisms for the growth of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata L.). World Journal of Advanced Research and Reviews, 04(01), 006-012.

Ranuncolo



Figure 2 Effect of zeolites containing Plant Growth Promoting Rhizobacteria on plant height of *Ranunculus asiaticus*.
Legend: (CTRL) control; (CM) chabazite enriched with PGPR

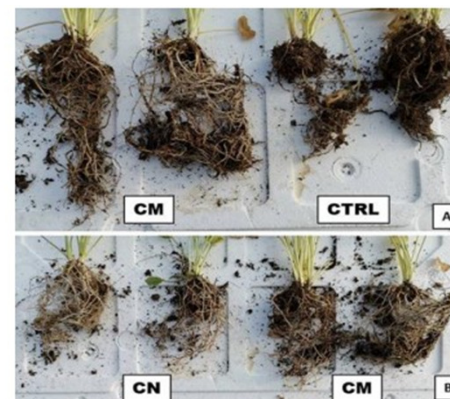


Figure 3 Effect of zeolites containing Plant Growth Promoting Rhizobacteria on roots growth of *Ranunculus asiaticus*. CM vs CTRL (A) and CN vs CM (B). Legend: (CTRL) control; (CM) chabazite enriched with PGPR; (CN) natural chabazite

D. Prisa, 2020. Optimised fertilisation with zeolites containing Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in *Ranunculus asiaticus*. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 10(01), 096–102

Table 1 Evaluation of zeolites containing Plant Growth Promoting Rhizobacteria on growth and flowering improvement on plants of *Ranunculus asiaticus*

Groups	Plants height (cm)	Leaves number (n°)	Vegetative weight (g)	Roots weight (g)	Flowers number (n°)	Flowers diameter (cm)
CTRL	17,52 ^d	30,20 ^c	42,58 ^c	32,24 ^d	16,20 ^c	2,42 ^c
CN	25,66 ^b	38,40 ^b	45,66 ^b	38,64 ^b	30,20 ^a	3,40 ^b
CN2	23,01 ^c	35,40 ^b	43,41 ^{bc}	35,76 ^c	21,80 ^b	3,02 ^b
CM	30,36 ^a	42,80 ^a	48,26 ^a	42,90 ^a	31,40 ^a	4,08 ^a
CM2	27,17 ^b	37,60 ^b	45,54 ^b	39,50 ^b	30,40 ^a	3,42 ^b
ANOVA	***	***	***	***	***	***

One-way ANOVA; n.s. – non significant; *, **, *** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$)

Table 1 - evaluation of Effective microorganisms on the agronomic characters of *Myrtillocactus geometrizans*

Groups	Plant height (cm)	Plant circumference (cm)	Vegetative weight (g)	Roots weight (g)	Flowers number (n°)	Fruit production (g)	Thorns number (n°)	Thorns lenght (cm)
CTRL100	32,56 c	7,68 b	46,30 b	30,26 b	16,70 c	90,50 b	33,20 b	2,26 a
CTRL50	26,94 d	6,70 c	38,76 c	27,70 c	13,40 d	88,02 c	27,60 c	1,44 c
EM100	38,58 a	9,30 a	50,52 a	33,84 a	21,41 a	96,60 a	37,00 a	2,44 a
EM50	36,34 b	7,82 b	44,78 b	28,06 c	18,80 b	90,08 b	32,80 b	1,91 b
ANOVA	***	***	***	***	***	***	***	***

One-way ANOVA; n.s. – non significant; ***,*** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$). Legend: (CTRL100): control with 100% water and fertilization; (CTRL50): control with 50% water and fertilization; (EM100): Effective microorganisms with 100% water and fertilization; (EM50): Effective microorganisms with 50% water and fertilization

Table 2 - content of betalains, total phenols and flavonoids and ascorbic acid in plants of *Myrtillocactus geometrizans*

Groups	Betalains Total (mg/Kg)	Ascorbic acid (mg/Kg)	Fenols total (mg EAG/kg)	Flavonoids Total (mg Eq/kg)
CTRL100	138,68 b	299,58 b	7998,30 a	7477,10 b
CTRL50	134,68 c	289,46 c	7906,26 b	7423,50 c
EM100	143,21 a	304,32 a	8029,26 a	7529,14 a
EM50	135,86 c	298,48 b	7996,54 a	7437,80 c
ANOVA	***	***	***	***

One-way ANOVA; n.s. – non significant; ***,*** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD) multiple-range test ($P = 0.05$).

Legend: (CTRL100): control with 100% water and fertilization; (CTRL50): control with 50% water and fertilization; (EM100): Effective microorganisms with 100% water and fertilization; (EM50): Effective microorganisms with 50% water and fertilization

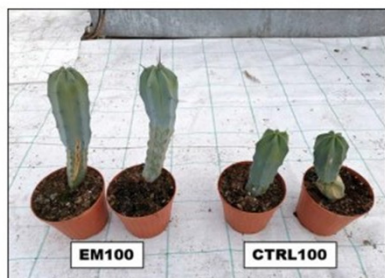


Figure 2 - Comparison between *Effective microorganisms* (EM100) and control with 100% water and fertilization (CTRL100) on growth of *Myrtillocactus geometrizans*

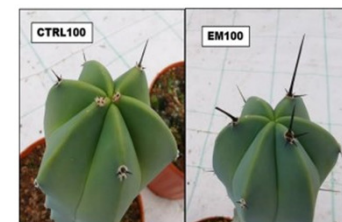


Figure 4 - Effect of *Effective microorganisms* with 100% water and fertilization (EM100) on length of plant thorns of *Myrtillocactus geometrizans*

D.Prisa (2021). *Myrtillocactus geometrizans* fruit plant stimulated with Effective microorganisms. Open Access Research Journal of Biology and Pharmacy, 2021, 01(01), 025-032



Figure 3 - Effect of *Effective microorganisms* with 50% water and fertilization (EM100) on roots growth of *Myrtillocactus geometrizans*

Bulbose

Table 1 - Evaluation of PGPR on agronomic characters and pathogen protection on Narcissus

Groups	Plant height (cm)	Vegetative weight (g)	Roots weight (g)	Bulb weight (g)	Bulb diameter (cm)	Flowers duration (days)	Plants affected by <i>Botrytis cinerea</i> (n°)
CTRL	32,10 c	25,37 b	21,53 c	13,77 c	4,20 b	5,22 c	2,80 a
EM	35,78 a	30,51 a	25,11 a	17,12 a	5,60 a	8,00 a	0,00 b
BAC1	34,04 b	25,95 b	24,64 ab	14,99 b	4,40 b	6,20 b	0,41 b
BAC2	35,00 ab	26,07 b	24,03 b	14,84 b	4,40 b	5,41 c	0,23 b
ANOVA	***	***	***	***	**	***	***

One-way ANOVA; n.s. – non significant; ***, ***, *** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD)

multiple-range test ($P = 0.05$). Legend: (CTRL): control; (EM): Effective microorganisms; (BAC1): TNC Bactorr^{sl3}; (BAC2): Tarantula powder Advanced nutrients

Table 3 - Evaluation of PGPR on agronomic characters and pathogen protection on Tulip

Groups	Plant height (cm)	Vegetative weight (g)	Roots weight (g)	Bulb weight (g)	Bulb diameter (cm)	Flowers duration (days)	Plants affected by <i>Botrytis cinerea</i> (n°)
CTRL	25,94 c	31,13 c	27,62 b	32,93 c	5,66 b	6,83 c	2,00 a
EM	28,78 a	36,58 a	33,02 a	38,25 a	7,21 a	10,81 a	0,20 b
BAC1	27,31 b	32,10 c	32,51 a	35,71 b	5,83 b	7,62 c	0,42 b
BAC2	26,52 c	33,96 b	31,82 a	35,27 b	6,04 b	8,64 b	0,44 b
ANOVA	***	***	***	***	***	***	***

One-way ANOVA; n.s. – non significant; ***, ***, *** – significant at $P \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; different letters for the same element indicate significant differences according to Tukey's (HSD)

multiple-range test ($P = 0.05$). Legend: (CTRL): control; (EM): Effective microorganisms; (BAC1): TNC Bactorr^{sl3}; (BAC2): Tarantula powder Advanced nutrients



Figure 2 - Comparison between Effective microorganisms (EM) and control on vegetative and roots growth of Narcissus



Figure 4 - Comparison between Effective microorganisms (EM) and beneficial microorganisms (BAC1) on vegetative and roots growth of Freesia

D.Prisa, A. Benati (2021). Improving the quality of ornamental bulbous with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). EPRA International Journal of Multidisciplinary Research (IJMR), 7(5): 255-263

Olivo, vite, geranio, impatiens

SCIENZA & TECNICA

➔ FIGURA 2 - *Euphorbia* in serra di coltivazione, trattata con microrganismi EM.

➔ FIGURA 3 - *Impatiens* in substrato con chabasite, granulometria 3-6 mm (sinistra) confrontato con trattamento testimone (destra).



➔ FIGURA 4 - *Geranio* in substrato trattato con microrganismi EM (destra) e substrato di controllo (sinistra).

➔ FIGURA 5 - *Melanzana* in substrato con chabasite, granulometria 3-6 mm (sinistra) confrontato con trattamento testimone (destra).



Fig.1 - Panoramica delle piante di vite in coltivazione



TABELLA 2 - Effetto del trattamento tradizionale e alternativo, sulla produzione delle piante e sullo sviluppo di malattie in vite

TRATTAMENTO	PRODUZIONE TOTALE (T/H)	NUMERO GRAPPOLI X PIANTA	PESO TOTALE A GRAPPOLO (G)	PIANTE COLPITE DA MALATTIA (%)
Controllo convenzionale	13.04 b	18.01 b	67.80 b	21
Trattamento con EMa + chabasite micronizzata 6Kg/ha	17.13 a	25.12 a	88.90 a	14

*ALLE DIVERSE LETTERE, NELLA STESSA COLONNA, CORRISPONDONO VALORI STATISTICAMENTE DIFFERENTI (ANOVA, $P < 0.05$).

D. Prisa, Maggio-Giugno 2016. Metodi sostenibili e informatica per un'autentica rivoluzione verde. Il floricultore 53-58

Protocollo biologico in *Aloe vera*

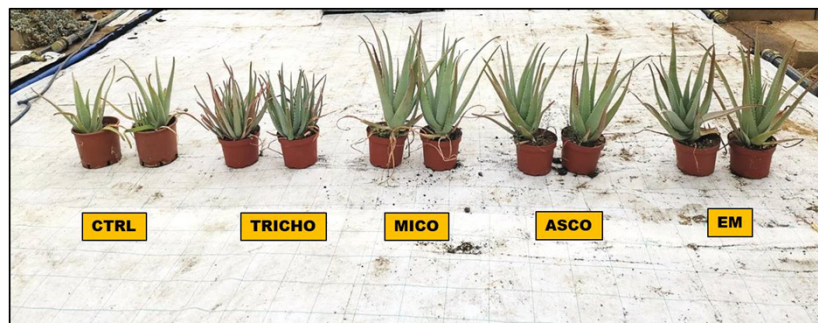


Table 1 - evaluation of biostimulant treatments on the agronomic characters of *Aloe vera*

Groups	Number of leaves per plant (n°)	Number of plantlets per plant (g)	Fresh leaf weight (g)	Fresh weight of roots (g)	Fresh gel Weight (g)	Inflorescences number (n°)
CTRL	23,00 d	3,20 c	393,23 c	361,11 d	129,37 e	0,40 b
EM	36,00 a	7,20 a	462,79 a	405,67 a	154,93 a	1,40 a
TRICHO	26,00 c	4,00 c	397,95 c	376,71 c	135,95 d	0,80 ab
MICO	26,00 c	5,60 b	415,26 b	393,18 b	139,62 c	0,80 ab
ASCO	29,00 b	5,60 b	423,24 b	390,75 b	143,60 b	0,80 ab
ANOVA	***	***	***	***	***	ns



Table 3 - Chemical properties of *Aloe vera* gel

Groups	Gel pH	Soluble Solids (%)	Sugars (mg/L)	Fibre (%)
CTRL	4,2	0,73 b	1347,56 d	0,073 c
EM	3,9	0,83 a	1404,89 a	0,080 a
TRICHO	4,1	0,72 b	1395,54 b	0,076 bc
MICO	3,9	0,72 b	1394,43 bc	0,074 bc
ASCO	4,2	0,74 b	1389,02 c	0,077 ab
ANOVA	-	***	***	**



Table 4 - Influence of biostimulants on sugars, proline and aloin on plants of *Aloe vera*

Groups	Fructose (mg (g DW) ⁻¹)	Glucose (mg (g DW) ⁻¹)	Proline (mg (g DW) ⁻¹)	Aloin (mg (g DW) ⁻¹)
CTRL	77,69 d	30,70 d	0,57 d	149,19 c
EM	89,81 a	36,88 a	0,82 a	161,00 a
TRICHO	71,11 e	30,47 d	0,62 c	148,71 c
MICO	85,51 b	32,73 c	0,74 b	157,33 b
ASCO	80,54 c	33,23 b	0,64 c	157,37 b
ANOVA	***	***	***	***



Fattori biotici e abiotici che provocano uno stress al sistema immunitario dell'ape

Numerosi studi dimostrano che una comunità microbica equilibrata nel tratto Intestinale è di estrema utilità per un buono stato di salute dell'ape

Prove scientifiche di MOHR e TEBBE (2006) e FOSTER *et al.* (2007) hanno dimostrato un indebolimento e una moria delle api in seguito ad uno sbilanciamento dei microrganismi dell'ambiente intestinale

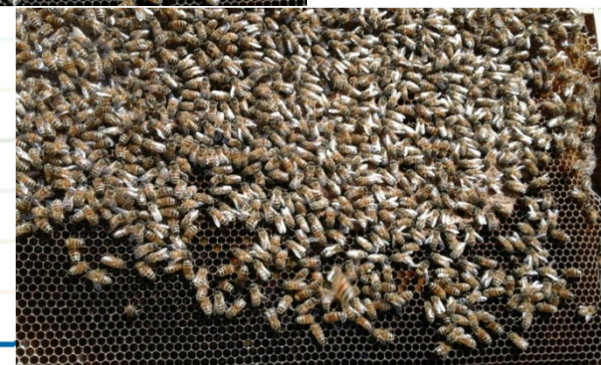
I batteri acetici e lattici sembrano quelli presenti in percentuale maggiore nell'ambiente intestinale dell'ape

L'impiego di microrganismi benefici come gli EM può rappresentare una promettente alternativa a basso impatto ambientale

I batteri presenti negli EM possono contenere le popolazioni di patogeni producendo sostanze che inibiscono il loro sviluppo e abbassando il pH. Larve alimentate con ceppi di batteri lattici hanno confermato poi la possibilità di proteggere l'ape in fase adulta da numerose malattie (FORSGREN *et al.*, 2010)



**Effetto dello sciroppo
energetico con EM
(protocollo Domenico
Prisa Apinsieme di
Ottobre 2016) e gel di
inula e neem**



Le api dopo due anni di protocollo dove non è mai stata riscontrata nessuna perdita delle famiglie trattate.



Dr. Domenico Prisa

Doctor of Philosophy - PhD, Crop Science Production (S.Anna-School of advances studies)

Master of Science (MSc), Plant and Microbial Biotechnology (Pisa University)

Member of the IUCN Species Survival Commission (SSC), Cactus and Succulent Plant Specialist Group

Ricercatore / researcher

CREA Centro di ricerca Orticoltura e Florovivaismo / CREA Research Centre for Vegetable and Ornamental Crops

Via dei Fiori 8 - 51012 Pescia (PT) - ITALY

tel.: +39.0572.451033 fax: +39.0572.453309

cel: 3391062935

e-mail lavoro: domenico.prisa@crea.gov.it

Linkedin: domenico prisa

Skype: domenico.prisa2

Tel 339 1062935