

**PROGRAMMA NAZIONALE DI  
RICERCA NEL SETTORE  
DELL'AGRICOLTURA BIOLOGICA  
(Ministero delle Politiche Agricole e Forestali)**

**Progetto**

**CEREALICOLTURA BIOLOGICA:  
INTERVENTI AGROTECNICI E GENETICI  
PER IL MIGLIORAMENTO QUANTI-  
QUALITATIVO DEL FRUMENTO DURO E  
TENERO E LA VALORIZZAZIONE DEI  
PRODOTTI DERIVATI  
(BIOCER)**

**RELAZIONE PRIMO ANNO DI ATTIVITA'**

Istituto sperimentale per la cerealicoltura, Roma  
Sezione di S. Angelo Lodigiano (LO)

Consiglio nazionale per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura, C.R.A.

## **PROGRAMMA NAZIONALE DI RICERCA NEL SETTORE DELL'AGRICOLTURA BIOLOGICA (MiPAF)**

### **Progetto:**

CEREALICOLTURA BIOLOGICA: INTERVENTI AGROTECNICI E GENETICI PER IL MIGLIORAMENTO QUANTI-QUALITATIVO DEL FRUMENTO DURO E TENERO E LA VALORIZZAZIONE DEI PRODOTTI DERIVATI (BIOCER)

**Coordinatore:** Dr. Gaetano Boggini  
Istituto sperimentale per la cerealicoltura  
Sezione di S. Angelo Lodigiano (LO)  
E-mail: [boggini@iscsal.it](mailto:boggini@iscsal.it)

### **Attività di Coordinamento**

#### **Relazione attività svolta (I° anno)**

- Il 23 giugno 2004 (presso la Sede dell'Istituto di cerealicoltura, Roma) è stata tenuta la prima riunione di progetto, con la partecipazione dei coordinatori delle UU.OO.
- Il 10 novembre 2004 partecipazione alla riunione di coordinamento generale dei programmi MiPAF di ricerca in agricoltura biologica.
- Il 11 novembre 2004 (presso la Sede dell'Istituto di cerealicoltura, Roma) è stata tenuta la seconda riunione di progetto, con la partecipazione dei coordinatori delle UU.OO.
- La Sede dell'Istituto ha provveduto a stipulare le convenzioni con le UU.OO. esterne (INRAN, Roma e CNR-ISPA, Bari) e con i collaboratori esterne delle UU.OO 1 e 2 (ISPaVE, Roma), U.O. 3 (Università di Pisa e della Tuscia-Viterbo), U.O. 6 (Università La Sapienza, Roma), U.O. 7 (CORERAS, Palermo).
- E' stata redatta una relazione sintetica delle attività svolte dalle singole UU.OO. nel primo semestre del progetto e di quelle in programma per il semestre successivo.
- Il progetto è stato presentato al SANA di Bologna (10 settembre 2004) durante un Convegno organizzato dal MiPAF e dal Coordinamento generale del PNRAB.
- Realizzazione della scheda di censimenti SINAB del progetto
- E' in corso di realizzazione uno "spazio divulgativo" all'interno del sito [www.cerealicoltura.it](http://www.cerealicoltura.it) (in corso di ristrutturazione), possibilmente interattivo con i vari operatori della filiera biologica.

Durante il mese di febbraio 2005 verrà organizzato un incontro con tutti i collaboratori delle reti varietali (frumento tenero), dei rappresentanti delle ditte sementiere, dei costitutari vegetali e dei produttori biologici per la definizione dei protocolli sperimentali delle prove. In particolare si vuole definire il criterio di scelta della varietà da inserire nelle prove ed unificare le metodiche di rilievo delle avversità biotiche ed abiotiche.

Si sta valutando la possibilità di organizzare un primo Workshop di progetto per il prossimo mese di maggio, presso la sezione di S. Angelo Lodigiano dell'Istituto sperimentale di cerealicoltura. Si è in attesa degli sviluppi dell'accordo di convenzione, per la divulgazione delle attività di progetto, tra il coordinamento generale dei progetti di ricerca AB con l'AIAB.

## U.O. 1

**Titolo della ricerca:** Reti nazionali per la formulazione di liste di varietà di frumento duro e tenero consigliate in coltura biologica.

**Responsabile scientifico:** Fabrizio Quaranta;  
Istituto sperimentale per la cerealicoltura,  
Sezione di Tecniche agronomiche, Roma  
E-mail: [ceragr@flashnet.it](mailto:ceragr@flashnet.it)

### **Relazione attività svolta (I anno)**

Al crescente interesse nei riguardi delle produzioni biologiche manifestatosi in questi ultimi anni, non sempre è corrisposta una attività di ricerca adeguata. Al fine di coadiuvare le scelte tecniche di base nel settore della cerealicoltura biologica il progetto BIOCER prevede la creazione di una rete nazionale di sperimentazione per la formulazione di liste varietali di frumento duro e tenero, indicate per l'agricoltura biologica. La rete è coordinata dall'Istituto sperimentale per la cerealicoltura (ISC).

Nelle condizioni colturali non sempre facili delle aree centro-meridionali (ove si concentra la coltivazione del frumento duro) e applicando tecniche biologiche che non consentono "correzioni di rotta" con mezzi chimici di sintesi, obiettivo di primaria importanza nella scelta varietale è quello di individuare cultivar caratterizzate da:

- adattamento a condizioni di scarsa disponibilità di azoto, in particolare nelle fasi di levata e riempimento della granella;
- elevata efficienza di accumulo e rilocalizzazione della sostanza secca e dell'azoto nella granella;
- efficacia nell'azione competitiva verso le infestanti;
- elevata resistenza agli stress biotici, in particolare malattie fogliari e malattie trasmesse da seme;
- buoni standard qualitativi per l'ottenimento di prodotti di trasformazione adatti a soddisfare la domanda di specifici settori merceologici;
- assenza di contaminanti pericolosi per la salute o pregiudizievoli per la commercializzazione (micotossine).

La concessione inoltre di un premio supplementare legato alle caratteristiche qualitative delle produzioni e le stesse linee guida che caratterizzano l'agricoltura biologica tendenti a privilegiare gli aspetti legati alla qualità, suggeriscono di dedicare la dovuta attenzione alle specifiche caratteristiche delle diverse costituzioni varietali. In particolare, il mancato ricorso a concimazioni azotate di sintesi può creare le condizioni in cui la granella finisce per avere tenori proteici troppo bassi.

Nella stagione 2003-2004 sono state realizzate le attività sotto descritte.

La Sezione centrale di Tecniche agronomiche dell'ISC ha coordinato la realizzazione 16 prove di confronto tra varietà di frumento duro in coltivazione biologica ed ha curato anche l'elaborazione statistica e la discussione dei risultati. Le prove di Bicocca (CT) e di Caltagirone (CT), per l'eccessiva irregolarità dei seminati dovuta a prolungati ristagni idrici, sono state eliminate

Le località sono state raggruppate in 3 grandi areali climatici: Italia centrale versante adriatico e nord: S.Pancrazio (PR); Agugliano (AN), Pollenza (MC) e Introdacqua (AQ); Italia centrale versante tirrenico: S. Piero a Grado (PI), Papiano (PG), Alberese (GR), Tarquinia (VT) e Roma; Italia meridionale: Campobasso, Foggia, Gravina (BA), Corleto Perticara (PZ), Enna.

La Sezione di S. Angelo Lodigiano dell'ISC ha coordinato la realizzazione della rete nazionale varietale di frumento tenero. Sono state seminate 20 varietà in 18 località di prova, interessando le regioni: Piemonte (1 località), Lombardia (3), Veneto (2), Friuli(2), Emilia Romagna (2), Toscana (2), Marche (2), Abruzzo (1), Lazio (1), Puglia (1), Sicilia (1). A causa di eventi meteorologici avversi che hanno determinato una fittezza delle parcelle molto disforme nella prova del Piemonte, o permesso la

semina solo a febbraio inoltrato in Sicilia, le prove prese in considerazione sono state 16. E' stato adottato uno schema sperimentale a reticolato con 3 repliche. Le 20 varietà provate sono state: FF Genio; FPS Blasco, Colfiorito, Levis, Pandas, Sirmione, Soissons; FP Agadir, Bilancia, Bolero, Enesco, Etecho, Guadalupe, Isengrain, Postano, Tibet; FB Abbondanza, Autonomia B, Craklin, Eureka. Su tutte le prove sono stati rilevati i principali caratteri agronomici e produttivi (a cura degli Enti che hanno realizzato le prove) e qualitativi (a cura della Sezione di S. Angelo Lodigiano dell'ISC). Tutti i dati raccolti sono stati successivamente sottoposti ad analisi statistica.

La Sezione di Catania dell'ISC nell'ambito dell'attività prevista ha proceduto all'allestimento di una prova di confronto varietale di frumento duro in un'azienda sita in contrada "Bicocca" (CT), già convertita in regime biologico. Sono state testate 12 varietà, alcune delle quali di non recente costituzione, in parcelle da 10 m<sup>2</sup> con 4 replicazioni, al fine di effettuare una valutazione dei genotipi in condizioni di coltura semiarida.

A causa della impraticabilità del campo la semina è stata effettuata a fine gennaio e la coltura non è riuscita ad insediarsi in maniera soddisfacente. Sulle parcelle sono stati rilevati la fittezza e l'altezza pianta. Sulla granella raccolta sono stati determinati la resa, il peso ettolitrico, il peso dei 1000 semi, il contenuto proteico ed il contenuto in glutine.

La Sezione di Genetica applicata di Roma dell'ISC ha inviato a tutti i Collaboratori delle Prove Biologiche nazionali il materiale necessario per il riconoscimento delle diverse patologie e sono state impostate delle schede comuni al fine di uniformare le modalità di rilievo dei dati nelle varie località di prova, con l'invito a segnalare la comparsa di attacchi fungini di una certa gravità per poter effettuare sopralluoghi mirati.

L'Istituto sperimentale per la patologia vegetale (ISPaVe) di Roma, Sezione di Epidemiologia e Resistenza, ha analizzato lo stato fitosanitario delle cariossidi di 12 varietà di frumento duro, proveniente ciascuno dal lotto usato come seme di partenza. Su tali campioni è stata valutata l'incidenza percentuale della:

- 1) volpatura, riferita ad un campione di 100 cariossidi ed effettuata mediante analisi diretta visiva allo stereomicroscopio ;
- 2) presenza delle principali specie fitopatogene, riferita alle analisi condotte su un campione di 200 cariossidi effettuate con il metodo della camera umida refrigerata.

### **Risultati conseguiti:**

#### ISC Sezione di Tecniche agronomiche

In tutte le località sono state valutate 12 varietà di frumento duro: Bronte, Cappelli, Ciccio, Claudio, Colosseo, Creso, Duilio, Grazia, Iride, Rusticano, San Carlo e Simeto, tutte con sementi certificate biologiche.

Il rilevamento dei dati fenologici, morfologici, fitopatologici e produttivi è stato effettuato a cura degli Enti che hanno realizzato le prove, mentre la determinazione del contenuto proteico della granella di tutte le parcelle è stata effettuata presso la Sezione di Merceologia dei prodotti dell'ISC utilizzando l'apparecchio Infratec 1241, opportunamente calibrato con metodo Kjeldhal.

Il clima della stagione colturale 2003-2004 è stato caratterizzato da un andamento delle temperature e delle precipitazioni abbastanza omogeneo in tutti gli areali considerati, anche se in valori assoluti i parametri meteorologici hanno mostrato differenze sia tra areali che rispetto alle medie di lungo periodo.

Nei campi degli areali Sud e Sicilia alquanto contenuto è risultato il divario nella data media di spigatura (8 giorni) tra le cultivar più precoci (Bronte, Ciccio, e Duilio) e quelle più tardive (Cappelli e Creso), pur in presenza di notevoli differenze tra località nel raggiungimento di tale stadio. Per quanto riguarda l'altezza della pianta, spicca il valore particolarmente elevato di Cappelli (126 cm), la varietà

di più antica costituzione tra quelle in prova e l'unica ad avere mostrato una marcata suscettibilità all'allettamento del culmo.

Nelle località dell'Italia centrale tirrenica, più marcato è risultato il divario in fase di spigatura (11 giorni) tra la cultivar più precoce (Bronte) e le più tardive (Cappelli e Creso), mentre più contenuta, rispetto all'areale meridionale, è stata la differenza tra località nella data media di spigatura (17 giorni). Le buone o discrete precipitazioni verificatesi nel corso dell'intera fase vegetativa della pianta, hanno permesso un regolare accrescimento, come testimoniato dall'elevato valore dell'altezza delle piante (mediamente 91 cm). A tale riguardo, è da segnalare la taglia particolarmente elevata di Cappelli (133 cm) che, anche in questo areale, è risultata suscettibile nei confronti all'allettamento.

Negli areali centro-adriatici e a S.Pancrazio (PR) l'altezza media della pianta è risultata lievemente inferiore alla norma (88 cm), con cultivar che hanno fatto registrare valori inferiori (Rusticano, San Carlo e Creso) o prossimi (Iride, Simeto e Ciccio) ad 80 cm. Molto elevata è risultata ancora una volta la taglia di Cappelli (145 cm), cultivar che conferma anche in questo areale una elevata suscettibilità all'allettamento. Limitato è risultato il divario nella data media di spigatura sia tra varietà che tra località, in entrambi i casi pari a 8 giorni.

Per quanto riguarda la risposta produttiva delle varietà saggiate, Claudio, di ciclo medio, si distingue per l'ottima performance e per l'elevata stabilità di risposta, con indici di resa superiori o uguali a 100 in 13 delle 14 località di prova; inoltre, questa varietà si segnala per l'elevato peso ettolitrico ma, anche, per un contenuto proteico quasi sempre inferiore alla media campo e per una elevata percentuale di semi bianconati. Interessanti livelli produttivi e una elevata stabilità di risposta, analoga a quella di Claudio, ha mostrato la cultivar precoce Iride caratterizzata però dal valore più basso di contenuto proteico, pur in presenza di ridotte dimensioni della granella. Buoni o discreti livelli produttivi, ma con una minore stabilità di risposta rispetto alle due varietà precedenti, hanno evidenziato Colosseo, di ciclo medio-tardivo, e Rusticano, di ciclo medio-precoce, entrambe caratterizzate da buoni pesi ettolitrici ma, anche, da tenori proteici inferiori alle medie di areale; da segnalare inoltre per Colosseo una buona tolleranza nei confronti della ruggine e per Rusticano una discreta suscettibilità nei confronti della septoria e delle ruggini, in particolare, della ruggine gialla. Cappelli, varietà di antica costituzione, di taglia elevata e di ciclo tardivo, è risultata in assoluto la meno produttiva tra le cultivar in prova, con indici di resa inferiori a 100 in tutti i campi, e l'unica suscettibile all'allettamento; nei confronti di questa varietà è da sottolineare l'elevato contenuto proteico, nonostante l'alto peso unitario della granella, e la buona tolleranza nei confronti dell'oidio e della septoria. Per buoni o elevati tenori proteici in rapporto all'annata, si segnala anche San Carlo che ha evidenziato rese superiori alla media nell'areale Centro-adriatico.

I preliminari risultati sperimentali ottenuti dalla Sezione di merceologia, sui due parametri di primaria importanza nella commercializzazione del frumento (proteine, peso ettolitrico), hanno messo in evidenza una differenziazione a livello ambientale e nell'ambito degli ambienti una diversa performance varietale. Per gli ambienti più interessanti per la coltura del frumento duro, sui campioni ottenuti dalla riunificazione delle 3 parcelle si sta procedendo alla caratterizzazione qualitativa completa dei campioni, mediante macinazione e successiva analisi delle semole e delle relative paste.

#### ISC S. Angelo Lodigiano

La resa media nazionale (5.56 t/ha), della rete frumento tenero, è risultata più che accettabile. La produzione media delle prove realizzate nelle 9 località settentrionali è risultata pari a 6.01 t/ha, mentre quella delle 7 località del Centro-Sud pari a 4,98 t/ha. Le rese più elevate sono state accertate a Lonigo (Vicenza), Palazzolo dello Stella (Udine), Ravenna, Ceregnano (Rovigo), Roma, Basiliano (Udine) e Papiano (Perugia), mentre quelle più basse a Sulmona (Aquila), S. Angelo Lodigiano (Lodi), Leno (Brescia) e S. Piero a Grado (Pisa). Per S. Angelo Lodigiano e Leno le cause di tali limitate produzioni sono riconducibili a irregolari emergenze delle plantule.

Le rese medie delle tre classi qualitative considerate (Frumenti di Forza più Frumenti Panificabili Superiori – FF/FPS, Frumenti Panificabili – FP e Frumenti da Biscotto - FB) non differiscono tra loro, mentre al loro interno sono state osservate significative differenze varietali. Tra i frumenti di qualità

superiore, risultati particolarmente interessanti sono stati forniti dagli FPS Blasco e Soissons e dalla varietà FF Genio. Soissons ha fornito i migliori risultati nell'areale Nord, mentre Blasco si è distinto nell'areale Centro-Sud. Genio invece risulta abbastanza produttivo in entrambi gli areali. Relativamente alle varietà FP, quasi tutte hanno fornito risultati interessanti. In particolare Agadir ha fornito rese elevate in entrambi gli areali. Isengrain e Tibet manifestano una migliore potenzialità produttiva al Nord, al pari di Guadalupe, Positano, Enesco ed Etecho. Tibet, Guadalupe ed Etecho forniscono buone rese anche nell'areale centro-meridionale. La varietà da biscotto Craklin risulta la più produttiva della sperimentazione, oltre a manifestare una buona adattabilità ad entrambi gli areali. Buona è pure la capacità produttiva di Eureka. Inoltre le varietà Agadir, Craklin, Eureka, Guadalupe e Tibet, oltre ad essere tra le varietà più produttive sono anche dotate di buona stabilità produttiva.

Le varietà in prova hanno manifestato significative differenze per quanto riguarda l'epoca di spigatura e l'altezza della pianta. La cultivar più precoce è risultata Sirmione (33 gg da 1/4), mentre la più tardiva Levis (47 gg da 1/4); Abbondanza ed Autonomia B hanno mostrato la taglia più elevata (111 e 115 cm rispettivamente), mentre le rimanenti varietà sono risultate di taglia media, con l'eccezione di Agadir e Etecho, leggermente più alte. L'allettamento è stato osservato diffusamente a Lonigo, oltre che in altre cinque località, interessando ovunque la varietà Autonomia B, mentre solo sporadicamente le varietà Abbondanza, Craklin, Etecho e Pandas.

L'oidio si è manifestato in cinque località ma in modo particolare a Lonigo, Ravenna e S. Piero a Grado, dove le varietà più suscettibili sono risultate Abbondanza, Autonomia B, Bilancia, Blasco, Colfiorito, Craklin, Etecho, Eureka, Isengrain e Pandas. Forti attacchi di ruggine gialla sono stati invece osservati a S. Giuletta ed a Leno, mentre a Papiano e Pollenza l'attacco si è manifestato in modo molto lieve e solo su alcune varietà, al contrario di S. Piero a Grado dove forti attacchi sono stati osservati su Colfiorito, Genio e Sirmione. Particolarmente suscettibili sono pure risultate le varietà Abbondanza, Bolero ed Etecho. La ruggine bruna si è manifestata in sei località, interessando a S. Giuletta tutte le varietà in prova. In tutte le località in cui la malattia si è manifestata, particolarmente suscettibili sono risultate Abbondanza, Isengrain e Positano, mentre Autonomia B, Bolero, Craklin, Enesco, Guadalupe, Pandas, Soissons e Tibet in alcune località hanno fatto registrare infezioni di medio grado. Danni da septoriosi sono stati osservati in cinque località ed in modo particolare a S. Angelo Lodigiano, Ceregnano, Parma e Ravenna. Le varietà più suscettibili sono risultate Abbondanza, Autonomia B, Colfiorito, Etecho, Eureka, Genio, Guadalupe, Pandas e Sirmione. La fusariosi della spiga è stata rilevata solo a S. Giuletta dove ha particolarmente danneggiato Bolero, Autonomia B, Bilancia, Etecho, Eureka, Levis, Pandas, Positano e Tibet.

Relativamente agli aspetti merceologici è possibile osservare il buon peso ettolitrico rilevato in quasi tutte le località con la sola esclusione dei bassi valori osservati nelle due località in provincia di Udine e dei valori medio bassi di S. Giuletta, Lonigo e Sulmona. A S. Piero a Grado è stato invece rilevato il più basso peso dei 1000 semi. Considerando le varietà, Isengrain, Guadalupe e Positano emergono per qualità merceologica. Relativamente a questo carattere va segnalato il basso peso ettolitrico medio di Craklin, con conseguente declassamento a frumento per altri usi. Per quanto riguarda la stabilità merceologica, forte variabilità è stata osservata per Colfiorito, che, a S. Piero a Grado, ha fornito indici merceologici molto bassi, così come, seppure con valori al limite della soglia dei frumenti per altri usi (75 kg/hL), a Ravenna e Albarese. Scarsa stabilità per il peso ettolitrico mostrano pure le varietà Enesco, Bilancia e Sirmione; quest'ultima risulta pure poco stabile per il peso dei 1000 semi, così come Genio, Levis e Agadir.

#### ISC Sezione di Genetica applicata

Durante l'annata agraria appena trascorsa lo sviluppo di malattie crittogamiche è stato tuttavia limitato sia in condizioni di coltura tradizionale che in coltura biologica, grazie anche a condizioni meteorologiche non favorevoli alla loro comparsa in forma epidemica. Pertanto i dati di confronto varietale relativi a infezioni di ruggini, oidio, septoriosi/stagonosporiosi ed altre malattie sono risultati poco significativi. Qualche campione di materiale infetto è pervenuto solo da alcuni campi di prova. Tali campioni sono stati controllati in laboratorio per l'identificazione e l'isolamento dei patogeni

presenti. Sono state allestite camere umide ed effettuate osservazioni allo stereomicroscopio e al microscopio ottico. Su alcuni dei campioni analizzati è stata evidenziata la presenza di *Stagonospora nodorum*, *Alternaria*, *Cladosporium* ed *Epicoccum*.

Successivamente alcune porzioni di foglia sono state sterilizzate e poste su terreno di crescita (PDA). Le osservazioni al microscopio ottico hanno rivelato, oltre alla presenza delle specie fungine suddette, anche la presenza di *Helminthosporium sativum* e *Fusarium*. Con gli isolati di *S. nodorum* identificati sui campioni in esame sono in corso inoculazioni artificiali su plantule in serra di varietà di frumento duro e di frumento tenero.

Saggi sierologici effettuati sulle cv. Grazia e Simeto hanno permesso di rilevare la presenza di SBWMV in due delle località di prova, nelle Marche; il livello dell'infezione, tuttavia non è risultato sufficientemente elevato per comparare il grado di resistenza delle varietà in prova.

#### ISPaVe Sezione Epidemiologia e Resistenza

Complessivamente è stato riscontrato un ottimo stato sanitario delle cariossidi delle specie esaminate, pre-requisito importante per la coltivazione dei cereali con il metodo biologico, in assenza di efficaci metodi di concia delle sementi stesse.

I risultati sono riportati nella tabella che segue.

varietà	Volpatura	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Drechslera tetramera</i>	<i>Drechslera</i> Spp.
Grazia(*)	4	0,5					
Rusticano(*)	7	2	4				
Creso	5	0,5					
Claudio(*)	2	2,5	0,5				
Colosseo	3						
Ciccio	2			0,5			
Simeto(*)	2						
Bronte	3						
Cappelli(*)	2						
S. Carlo(*)	4	2	1,5		0,5	0,5	1
Duilio(*)	3						
Iride	1		0,5				

I campioni delle varietà contrassegnate con (\*) hanno evidenziato la presenza in % variabile di *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp., indice di seme vecchio o conservato in modo non idoneo.

#### **Divulgazione dei risultati:**

Nel mese di ottobre 2004 sono stati pubblicati sul n. 40 del settimanale L'Informatore Agrario i risultati del confronto fra varietà di frumento duro e tenero in coltivazione biologica in molte località delle regioni in cui sono diffusi i due cereali vernini.

Il 12 novembre 2004 ad Umbertide (PG) nell'ambito del seminario di studio "Scelta varietale e tecnica colturale del frumento, in funzione della qualità tecnologica richiesta dall'industria e dal mercato", organizzato da AIAB in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Agroambientali della Produzione Vegetale dell'Università di Perugia sono state presentate due relazioni relative alle risposte produttive e qualitative delle varietà di frumento duro e tenero in coltivazione biologica.

Il 10 dicembre 2004, a Bologna, è stato presentato ai tecnici Pro.B.E.R. (Associazione produttori biologici e biodinamici Emilia Romagna) l'attività in corso nell'ambito del progetto BIOCER ed i risultati relativi alla rete nazionale frumento tenero.

## U.O. 2

**Titolo della ricerca:** Sviluppo di genotipi dotati di caratteristiche di adattabilità, produttività, qualità e resistenza a patogeni fungini, in grado di ottimizzare l'interazione pianta-ambiente in sistemi di agricoltura biologica.

**Responsabile scientifico:** Marina Pasquini

Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura

Sezione di Genetica applicata, Roma

E-mail: [pasquini@cerealicoltura.it](mailto:pasquini@cerealicoltura.it)

### Relazione attività svolta (I anno)

Sono state saggiate dall'ISC Sezione di Genetica applicata di Roma, in serra, linee in avanzata fase di costituzione derivanti da incroci tra varietà commerciali di frumento duro e accessioni di *T. monococcum* e *T. dicoccoides* (costituite dalla Sezione), interessanti per i caratteri di rusticità in esse probabilmente derivati dalle specie affini utilizzate negli incroci originari. 21 di queste linee sono state selezionate per caratteristiche di resistenza a malattie fungine e seminate in campo (Roma), in condizioni di coltura biologica, dove verranno valutate per le loro caratteristiche agronomico/qualitative nonché per verificarne il comportamento rispetto ai patogeni più diffusi. Sono state anche effettuate selezioni in serra su progenie  $F_2$  e  $F_1BC_1$  di incroci precedentemente realizzati tra varietà e linee di frumento per il trasferimento di resistenze a diversi patogeni (*Blumeria graminis*, *Puccinia recondita*, *Puccinia striiformis*, *Stagonospora nodorum*) anche al fine di "piramidare" in uno stesso genotipo fattori di resistenza diversi verso uno stesso patogeno o resistenze a diversi patogeni. Gli incroci hanno coinvolto, ad esempio nel caso della *S. nodorum*, varietà di frumento che avevano mostrato un diverso comportamento in serra allo stadio di plantula (da moderatamente resistente a suscettibile). Per quanto riguarda l'oidio e le ruggini gli incroci sono stati realizzati tra varietà di frumento commercialmente valide ma sensibili a determinate malattie, e linee risultate resistenti alla *Blumeria graminis* (W36, W38) o linee isogeniche portatrici di geni di resistenza noti prevalentemente alla *Puccinia recondita* ma anche alla *P. striiformis*, e per alcuni dei quali sono disponibili anche i marcatori molecolari (*Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr28*, *Lr37/Yr17/Sr38*, *Lr47*, *Yr15*). Le progenie di alcune combinazioni di incrocio sono state già valutate in serra e trapiantate in campo, per le progenie di altri incroci sono tuttora in corso sia inoculazioni artificiali con isolati di diversi patogeni, che analisi PCR in laboratorio utilizzando i marcatori molecolari, laddove essi sono già disponibili.

Sono in corso anche saggi in serra con gli isolati più interessanti e/o più virulenti di oidio, ruggini e septoriosi/stagonosporiosi su genotipi messi a disposizione dalle altre U.O. afferenti alla Tematica.

Per quanto riguarda l'attività svolta dall'ISC Sezione di S. Angelo Lodigiano, nel primo anno di attività sono state valutate in due località (S. Angelo Lod. -LO- e Santa Giuletta -PV-) 6 linee e 2 varietà testimoni in prove replicate utilizzando uno schema a split-plot. Il materiale in prova è stato infatti valutato utilizzando anche due diverse tipologie di concimi azotati (Endurance 8N e Pollina 2.5N) ammessi in agricoltura biologica. Inoltre, a Santa Giuletta, è stata seminata una prova di valutazione preliminare di 12 linee potenzialmente adatte alla coltivazione in biologico e 4 varietà testimoni adottando uno schema a blocchi randomizzato. Per tutte le prove sono state seminate 3 repliche utilizzando 450 semi germinabili/m<sup>2</sup>. La parcella elementare di 10 m<sup>2</sup> aveva una lunghezza di 7.5 m ed era costituita da 8 file distanti 17 cm. La prova di S. Angelo Lod. è stata seminata il 4/11/03 in un terreno di medio impasto coltivato la stagione precedente a soia; la concimazione azotata è stata effettuata in copertura utilizzando le due tipologie di concime previste nel protocollo sperimentale per un apporto totale di 120 kg/ha di azoto; il controllo delle erbe infestanti è stato eseguito con erpice strigliatore. Le prove di Santa Giuletta sono state seminate il 16/12/03 in un terreno argilloso precedentemente coltivato a orzo; la concimazione e il controllo delle malerbe è stata identica a quella della prova di S. Angelo per la prova comune alle due località, mentre per la prova preliminare la

concimazione azotata è stata eseguita con Endurace 8N, apportando sempre 120 kg/ha di azoto. Su tutte le parcelle sono stati rilevati i principali caratteri agronomici e produttivi.

La prova di S. Angelo Lod., a causa di ristagni d'acqua verificatisi dopo la semina e nel periodo di fine levata-spigatura, ha mostrato una produzione media piuttosto bassa (2.7 t/ha) con un coefficiente di variabilità al limite dell'accettabilità (15,4%); per la prova di Santa Giuletta sono stati invece evidenziati buoni risultati produttivi associati a buone caratteristiche agronomiche per alcune linee in prova, mentre non sono state evidenziate differenze imputabili alla diversa tipologia di concime. Tra le 12 linee inserite nella prova preliminare, 7 hanno mostrato livelli produttivi superiori alla media delle varietà testimoni associati a buoni pesi ettolitrici e dei 1000 semi e con interessanti caratteristiche agronomiche.

Nell'ambito del progetto erano previsti anche screening preliminari delle micotossine DON e OcrA, sulle linee in esame, per poter proseguire con analisi quantitative più precise e complesse (mediante HPLC) solo sui campioni risultati positivi. Le analisi dei campioni, relative ai dati di presenza di DON, sono state completate, mentre sono in corso quelle relative alla presenza di OcrA. Tutte le linee hanno evidenziato valori inferiori al minimo rilevabile con questo tipo di test (pari a 3,7 ppb).

L'attività è proseguita negli ultimi mesi con l'impostazione e la semina delle nuove prove come previsto dal progetto. Inoltre sono in corso di svolgimento le analisi qualitative della granella raccolta nelle prove appena concluse.

Nell'ambito dell'attività prevista presso l'ISC Sezione di Catania si è proceduto all'allestimento di una prova di valutazione di differenti genotipi in regime biologico. Sono state valutate 8 linee stabilizzate di frumento duro in corso di selezione presso la Sezione, alcune delle quali derivanti da incroci fra varietà e popolazioni locali, a confronto con 4 ecotipi di grano duro (Martinella, Regina, Russello e Sicilia Reste Nere) ed i 3 tester Creso, Duilio e Simeto. La prova, allestita con parcelle da 10 m<sup>2</sup> e 3 ripetizioni, è stata condotta in un'azienda sita in contrada "Bicocca" (CT), già convertita in regime biologico. Sono stati eseguiti i seguenti rilievi: fittezza, altezza pianta, resa in granella, peso ettolitrico, peso dei 1000 semi, contenuto proteico e contenuto in glutine. Campioni di granella (100 g/ripetizione) sono stati spediti all'Istituto sperimentale per la patologia vegetale per le relative analisi fitopatologiche.

A dicembre 2004 è stata allestita una prova replicata con parcelle di 10 m<sup>2</sup> comprendente i genotipi già valutati al primo anno, presso un'azienda biologica in territorio di Raddusa (CT), su un suolo con precessione colturale vecchia.

In conformità con quanto previsto dal progetto l'ISC Sezione di Foggia ha condotto una prova di confronto fra 22 linee di frumento duro in avanzato stadio di selezione e 3 testimoni (Creso, Duilio e Simeto). La prova è stata realizzata su di un appezzamento certificato biologico dell'azienda della Sezione. Lo schema sperimentale adottato è stato il blocco randomizzato con tre ripetizioni. L'appezzamento in cui è stata condotta la prova è stato concimato soltanto in copertura (16.02.04) utilizzando il concime organico Bioilsa N 10 (40 unità di azoto/ha).

I caratteri rilevati sono stati: data di spigatura, altezza della pianta, n° di spighe/m<sup>2</sup>, produzione, peso ettolitrico, peso 1000 semi, contenuto proteico e contenuto in glutine. Per quanto riguarda le malattie sono stati rilevati: oidio (intensità e altezza dell'infezione) e septoria.

I risultati del primo anno hanno mostrato una variabilità significativa per i seguenti caratteri: spigatura, altezza pianta, oidio, produzione granella, peso ettolitrico, peso 1000 semi, proteine e glutine. Ciò significa che per questi caratteri è possibile operare selezione anche se i dati di un solo anno vanno verificati, per cui la prova verrà ripetuta con le stesse modalità per altri due anni.

Nel secondo anno le semine sono state effettuate il 24.12.04.

Nel corso del primo anno l'ISPaVe ha analizzato, per la presenza di specie fungine fitopatogene, campioni di cariossidi di frumento duro di 25 varietà/linee in selezione a Foggia e di 15 varietà/linee in selezione a Catania, ciascuno rappresentato da due ripetizioni di 100 semi. Le analisi sono state

effettuate mediante il metodo della camera umida refrigerata. Dalle analisi effettuate, emerge il basso grado di infezione di *Fusarium* spp. presente sulle diverse linee saggiate (max. 4% riscontrato a Foggia su FG L-884 e FG L-993). Le specie maggiormente rappresentate sono state: *Fusarium culmorum* (valore medio 0,4% a Foggia , max 3,5 % su FG L-884) e *Fusarium poae* (valore medio 0,5% a Catania, max 1,5% su Creso e CTA-1-03).

### U.O. 3

**Titolo della ricerca:** Sistemi e tecniche colturali con minimo impiego di risorse non rinnovabili in grado di fornire rese quanti-qualitative in frumento.

**Responsabile scientifico:** Maurizio Perenzin

Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura

Sezione di S. Angelo Lodigiano (LO)

E-mail: [perenzin@iscsal.it](mailto:perenzin@iscsal.it)

### **Relazione attività svolta (I anno)**

#### ***Frumento duro***

#### Dipartimento di Produzione vegetale, Università della Toscana

L'attività di ricerca condotta nel primo anno di prove è consistita nella predisposizione in campo di 36 parcelle sperimentali, ciascuna di 108 m<sup>2</sup>, come previsto da protocollo. Nell'autunno 2003 è stata effettuata la semina del frumento duro, del pisello e della veccia, colture gestite sia in regime biologico che convenzionale, con l'applicazione di due modalità di lavorazione del suolo. Tutte le tesi a confronto sono state replicate tre volte. Nel maggio 2004 sono stati effettuati i rilievi sulle biomasse della coltura di copertura di veccia che è stata sovesciata e quindi subito dopo è stato eseguito il trapianto della coltura di pomodoro. Nella gestione in regime biologico, la fertilizzazione del suolo è stata effettuata con prodotti specifici disponibili in commercio, mentre nella gestione in regime convenzionale la fertilizzazione è stata effettuata con la normale tecnica di concimazione con composti azotati chimici. Nel luglio 2004 è stata effettuata la raccolta del frumento e del pisello ed effettuati i rilievi sulla produzione e sue componenti. Sulla coltura di frumento duro è stato rilevato lo sviluppo delle erbe infestanti sin dalla fase di accostamento, mentre il monitoraggio degli input è stato effettuato su tutte le tesi a confronto.

Dopo la raccolta del frumento e del pisello, nella gestione in regime convenzionale i residui colturali sono stati asportati dal campo nell'agosto 2004 mentre in quello biologico sono stati lasciati in campo previa trinciatura.

Nel mese di agosto è stata effettuata la raccolta della coltura ortiva (pomodoro) ed i rilievi sulla produzione.

Successivamente, in autunno, sono state effettuate le lavorazioni del suolo per la preparazione del letto di semina delle colture autunno-vernine che sono state regolarmente seminate nel novembre 2004.

Merita ricordare che gli effetti attesi dai trattamenti sperimentali non possono essere che modesti in quanto è necessario che i diversi sistemi colturali arrivino a regime per poter rispondere al meglio alle diverse tecniche colturali. In particolare il sistema colturale che prevede il regime di agricoltura biologica necessita di un tempo più lungo per adattarsi agli input di natura organica e quindi, almeno in teoria, risulta al primo anno penalizzato rispetto al sistema convenzionale a bassi input. Non a caso anche nella normativa che regola l'accesso al regime di agricoltura biologica è previsto un periodo di conversione per le aziende agrarie che vogliono passare dall'agricoltura convenzionale a quella biologica. I risultati osservati nel primo anno di sperimentazione confermano queste ipotesi anche se la risposta delle colture in prova risulta differente.

Il frumento duro risulta la coltura maggiormente penalizzata dal regime di agricoltura biologica con la flessione di oltre una tonnellata di granella rispetto al frumento coltivato con il sistema convenzionale (circa 5,5 t/ha). La maggiore riduzione di resa è stata osservata con la lavorazione profonda nel sistema biologico (aratura a circa 30 cm di profondità) mentre la minima lavorazione ha fatto registrare rese paragonabili a quelle ottenute con l'aratura nel sistema convenzionale (5,5 t/ha) e di circa il 20 % superiori a quelle ottenute con l'aratura nel sistema biologico.

Il pisello, come atteso, non ha manifestato sostanziali riduzioni di resa passando dal sistema convenzionale a quello biologico e dalla lavorazione profonda a quella più superficiale. Anche in

questo caso, comunque, le rese in valore assoluto più elevate sono state osservate nel sistema colturale convenzionale (circa 3,5 t/ha).

#### Produzione del frumento duro anno 2004

Sistema	Lavorazione del suolo	Granella di frumento t/ha s.s.	Granella di pisello t/ha s.s.
Biologico	Lavorazione convenzionale	4,06	3,45
Biologico	Lavorazione minima	4,88	3,50
Convenzionale	Lavorazione convenzionale	5,54	3,92
Convenzionale	Lavorazione minima	5,45	3,66

Il pomodoro, in teoria, doveva essere la coltura nella quale più manifeste dovevano essere le differenze tra il sistema convenzionale e quello biologico per l'elevata richiesta di input sotto forma di lavorazioni del suolo, concimazioni e diserbanti. Nel primo anno di coltivazione questo è accaduto solo parzialmente. Infatti se nel sistema biologico con l'aratura del suolo la produzione delle bacche commerciali si è ridotta di 16 t/ha, nel sistema biologico con minima lavorazione la produzione di bacche è risultata la stessa rispetto al sistema convenzionale (58 t/ha). E' presumibile, anche in base all'osservazione del numero delle bacche ed al loro peso, che nel sistema biologico con minima lavorazione, l'interramento della vecchia, che ricordiamo è la coltura da sovescio che precede la coltivazione del pomodoro, è stato eseguito più in superficie e questo ha favorito la sincronizzazione del rilascio degli elementi nutritivi con le richieste in nutrienti della coltura.

#### ISC Sezione di Catania

Nell'ambito dell'attività prevista si è proceduto all'allestimento di una prova agronomica riguardante la concimazione del frumento duro con diversi concimi ammessi in regime di biologico. Sono state allestite 4 tesi (parcelle di 30 m<sup>2</sup>) con 4 ripetizioni utilizzando la varietà Simeto: una tesi di "non concimato" (testimone) e 3 tesi concimata con 3 differenti tipi di fertilizzante organico: "granosano" e "biofos" distribuiti in presemina secondo la dose consigliata in etichetta (12 kg/tesi) e "agroprodigy" somministrato in copertura alla dose di 9,6 kg/tesi. Sulle parcelle sono stati rilevati la fittezza, l'altezza pianta, la resa in granella, il peso ettolitrico, il peso dei 1000 semi, il contenuto proteico ed il contenuto in glutine.

La prova, a causa della impraticabilità del campo dovuta alle abbondanti piogge verificatesi nei mesi di dicembre e gennaio, è stata seminata tardivamente (22 gennaio). Successivamente l'emergenza delle plantule è stata condizionata dall'assenza di precipitazioni, per cui la coltura non è riuscita ad insediarsi in maniera soddisfacente.

L'analisi della varianza condotta sui dati agronomici ha fatto registrare coefficienti di variazione alti e scarsa significatività statistica.

A dicembre 2004 è stata allestita, presso un'azienda certificata biologica in territorio di Raddusa (CT), una prova agronomica di concimazione su frumento duro utilizzando la stessa varietà e le stesse tesi del primo anno, con precessione colturale vecchia.

#### ***Frumento tenero***

##### Centro Interdipartimentale di Ricerche Agro-Ambientali "E. Avanzi", Università di Pisa.

La ricerca è stata condotta nell'ambito di un sistema sperimentale, avviato nel 1999, realizzato su una superficie di circa 30 ettari che si sviluppa secondo una rotazione quinquennale (condotta sia nello spazio che nel tempo) che include: barbabietola da zucchero - frumento tenero - girasole - favino - frumento duro con bulatura del trifoglio pratense nel cereale e suo successivo sovescio prima della semina della coltura in successione. L'avvicendamento è condotto secondo il metodo biologico ai sensi del Reg.CE 2092/91 e sue successive modifiche. Le tematiche di ricerca affrontate riguardano: (i) il

confronto varietale frumento tenero; (ii) la valutazione dell'effetto di alcuni prodotti fertilizzanti ammessi in agricoltura biologica su frumento.

Il confronto varietale del frumento tenero è stato realizzato nell'ambito di un avvicendamento biologico in modo da avere sempre come precessione la barbabietola da zucchero. Per l'annata in esame, le varietà messe a confronto sono state 20 (uguali a quelle inserite nella prova nazionale coordinata dall'U.O. 1) replicate 3 volte, per un totale di 60 parcelle. Le parcelle avevano una dimensione di 10 m<sup>2</sup>, con interfila di 15 cm.

La valutazione dell'effetto dei prodotti fertilizzanti ammessi dal Reg.2092/91 sulla produzione del frumento, sui tempi di mineralizzazione delle matrici organiche e sulla qualità delle acque di lisciviazione è stata effettuata utilizzando un dispositivo sperimentale costituito da 30 lisimetri. Le tesi a confronto erano rappresentate da un testimone non trattato e da 9 differenti tipologie di concimi: urea (titolo 46), nitrato ammonico (titolo 27), cornunghia torrefatta (titolo 14), sangue secco (titolo 13), cuoio e pelli idrolizzate (titolo 11), pennone (titolo 12), borlanda secca (titolo 3), pannelli di semi oleosi (titolo 5), letame essiccato (titolo 3). Prima della semina del frumento tenero, avvenuta il 30 ottobre con la cv Bolero, è stata effettuata la concimazione distribuendo i concimi di cui sopra in quantità tali da apportare 50 kg/ha di azoto. Ogni qual volta le precipitazioni determinavano un deflusso tale da poter permettere il campionamento (minimo 300 ml) si è proceduto alla raccolta del percolato. Dopo aver registrato l'entità del volume di liquido percolato, su di esso sono state effettuate le seguenti determinazioni: pH, Conducibilità, Cloruri, Nitrati, Solfati. Il COD (Chemical Oxygen Demand), è stato analizzato dopo 40 giorni e dopo 4 mesi dalla semina. Per ogni evento significativo è stata raccolta, in apposito contenitore, anche l'acqua piovana, che è stata analizzata per gli stessi parametri del percolato. Sulla coltura del frumento è stato valutato l'investimento ed i principali parametri produttivi.

Dal confronto varietale, relativamente alla precocità di spigatura, è stato possibile distinguere tre gruppi di varietà: il primo, che ha raggiunto tale fase tra il 1/5 e il 7/5 (vale a dire a 138-140 giorni dalla semina), il secondo, in cui tale fase è stata completata tra il 11 e il 16 maggio ed, infine, un ultimo gruppo, meno numeroso, in cui la spigatura è stata osservata tra il 17 e il 18 maggio.

La maturazione ha fatto rilevare minori differenze tra le varietà tuttavia si sono avute varietà a maturazione più precoce, come Sirmione, Abbondanza, Pandas, Bilancia e Bolero, che hanno raggiunto questa fase intorno al 24-28 di giugno e, poi, la gran parte delle altre varietà, la cui maturazione si è osservata tra il 30 giugno e il 1 luglio. Passando ad analizzare le caratteristiche biometriche la maggior parte delle varietà ha mostrato una taglia intorno ai 70-80 cm (media di campo di 78 cm), anche se si sono osservate varietà con sviluppo superiore ad un metro, come Abbondanza e Autonomia B. La produzione di granella ad umidità commerciale ha fatto registrare valori oscillanti tra il massimo di 5,4 t/ha della varietà Agadir ed il minimo di 1,6 t/ha in Colfiorito.

Di elevata produttività (>4,5 t/ha) sono risultate: Agadir (5,4), Isengrain (5,14), Soissons (5,0), Eureka (4,9), Craklin (4,75), Enesco e Blasco (4,7), Bolero (4,6), Etecho (4,5). Queste varietà hanno manifestato un'equilibrato sviluppo vegetativo (del tutto in linea con i valori medi di campo) ed una spiccata tendenza a ritardare l'epoca di spigatura (in particolare per Isengrain ed Eureka) e ad accorciare, al contrario, quella di maturazione (si vedano ad esempio Agadir, Isengrain ed Eureka). Queste varietà, tuttavia, hanno presentato una certa disomogeneità nel numero di spighe, che si è attestato generalmente su valori distanti dalla media per un 10-20% in più o in meno. Le varietà con un numero medio-alto di spighe (come Agadir, Soissons, e Isengrain) hanno evidenziato valori intermedi di peso ettolitrico e di peso di 1000 semi. Si sono osservate però anche alcune eccezioni, come quella del peso ettolitrico di Blasco, che ha fatto registrare il valore massimo assoluto di 86 Kg, e di Craklin che, con 77 Kg, è risultata, al contrario, la cultivar a minor peso ettolitrico.

Per quanto riguarda la conducibilità elettrica, i valori registrati nel corso del ciclo biologico del frumento sono risultati statisticamente significativi solo nelle date di prelievo che vanno dall'11° al 32° giorno dalla concimazione, mentre ciò non si è verificato durante tutto il resto del ciclo colturale. In

generale, la conducibilità più alta si è manifestata nelle tesi concimate con pennone (562  $\mu\text{S}$ ), borlanda (563  $\mu\text{S}$ ), nitrato ammonico (539  $\mu\text{S}$ ) ed urea (518  $\mu\text{S}$ ), mentre i valori più bassi hanno riguardato cornunghia, sangue secco, cuoio, pannello e testimone (valori tutti intorno ai 450 $\mu\text{S}$ ). Il pH medio misurato ad ogni prelievo delle acque liscivate non ha mostrato risultati significativamente differenti tra le diverse tesi, dal momento che i valori erano compresi tra 7.5 e 8.2. Analogo comportamento si è osservato anche per il volume medio (1 vasca<sup>-1</sup>) dell'acqua percolata da ogni vasca, con una certa variabilità determinata dalla casualità degli eventi piovosi, che hanno rappresentato, per il frumento, la sola fonte di approvvigionamento idrico. I valori del COD determinati nelle due date di campionamento non sono risultati significativi. La concentrazione di N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> presente nelle acque è stata monitorata fino al 116° giorno dalla concimazione, in quanto oltre tale data non è stato possibile rilevarla tramite l'analisi. Nei primi 25 giorni dopo la concimazione si sono osservati valori piuttosto alti della concentrazione in azoto nitrico (>40 ppm) nel lisciviato delle vasche concimate con urea, nitrato ammonico e pennone, a differenza di tutte le altre tesi che avevano spesso valori prossimi a quelli del testimone (7 ppm). Analoga situazione è stata osservata anche ad un mese circa dalla concimazione. Dopo 46 giorni i valori di rilascio di alcune tesi (cornunghia e letame) sono risultati prossimi allo zero, mentre la tesi sangue secco è sembrata in grado di rilasciare azoto nitrico in quantità abbastanza consistenti (53.6 ppm). La situazione si è mantenuta inalterata fino a circa due mesi dalla concimazione mentre dall'81° giorno in poi i valori hanno subito una netta diminuzione e sono risultati molto prossimi allo zero.

Prendendo in considerazione il totale di azoto lisciviato durante l'intero periodo di prova, si può notare come i valori più alti siano stati quelli relativi ai due concimi minerali, che si sono distinti in modo significativo da tutti quelli organici. Tra i concimi organici, i valori più alti hanno riguardato il sangue secco ed il pennone, a livelli inferiori si sono collocati il cuoio, la borlanda, il pannello ed il letame. La quantità di azoto relativo alla tesi concimata con la cornunghia non si è differenziata dal valore del testimone.

Analizzando le quantità di N complessivamente liscivate rispetto a quella somministrata con la concimazione ad inizio ciclo, si può osservare come, già dopo 25 giorni dalla concimazione, il nitrato ammonico abbia rilasciato più della metà dell'azoto distribuito; l'urea, pur avendo una percentuale piuttosto alta di rilascio, ha fatto registrare un valore significativamente inferiore a quello del nitrato ammonico. La percentuale di azoto lisciviato dalle vasche trattate con pennone si è differenziata da tutte le altre tesi (relativamente ai concimi organici), raggiungendo il valore del 25%. Dopo circa un mese (32° giorno) le percentuali di rilascio ottenute con il nitrato ammonico e l'urea hanno quasi raggiunto il loro valore massimo, avendo i due concimi minerali già rilasciato quasi l'80% di azoto. Anche le tesi relative agli altri concimi hanno mostrato nei mesi successivi incrementi di pochi punti percentuali nei valori di azoto lisciviato. L'unico concime che è sembrato in grado di rilasciare in questa fase una quantità ancora apprezzabile di azoto è stato il sangue secco, che tra il 32° e l'81° giorno ha rilasciato una quantità di azoto pari all'11%.

Osservando le percentuali definitive, è stato possibile delineare una differente dinamica di rilascio tra i concimi minerali ed i concimi organici utilizzati, imputabile alla diversa velocità con cui l'azoto si è reso disponibile. L'urea ed il nitrato ammonico hanno raggiunto percentuali di rilascio di azoto nelle acque di lisciviazione intorno all'80%; i concimi organici, invece, possono essere distinti in tre gruppi principali: sangue secco e pennone, che hanno raggiunto una percentuale di rilascio di poco superiore al 50%, cuoio, borlanda, pannello e letame, con valori che si sono aggirati intorno al 20%, ed infine la cornunghia, che ha sempre presentato valori estremamente bassi.

L'attività è proseguita negli ultimi mesi, come previsto nel progetto, con la semina delle nuove prove sia per il confronto varietale nell'ambito delle prove della rete nazionale, che per la valutazione dell'effetto dei prodotti fertilizzanti.

#### ISC Sezione di S. Angelo Lodigiano (LO).

Nelle aziende Villa Paola di Montalbano (LO) e Vezzini Antonietta di Leno (BS) è stata realizzata una prova di concimazione utilizzando le varietà Blasco (FPS) ed Etecho (FP). Le diverse tipologie di

concimazione sono state formulate utilizzando pollina 2.5N ed un concime fogliare liquido (Ilsamin N90). I trattamenti previsti, oltre al testimone non concimato, sono stati: A) 120 kg/ha di N distribuiti con pollina in fase di accestimento; B) 0.9 kg/ha di N distribuiti con concime fogliare in fase di botticelle (come consigliato in etichetta); C) tesi A + tesi B; D) ½ dose tesi A; E) ½ dose tesi B; F) tesi D + tesi E. Il piano sperimentale adottato è stato a split-plot con 3 repliche per un totale di 42 parcelle triple (30m<sup>2</sup>). È stata utilizzata una dose di seme di 450 semi germinabili/m<sup>2</sup>. La prova di S. Angelo Lodigiano è stata seminata il 4.11.03 in un terreno di medio impasto coltivato la stagione precedente a soia; il controllo delle erbe infestanti è stato eseguito con erpice strigliatore. La prova di Leno è stata seminata il 9.12.03 in un terreno franco-sabbioso precedentemente coltivato a mais; anche in questa prova le malerbe sono state controllate tramite erpice strigliatore. Su tutte le parcelle sono stati rilevati i principali caratteri agronomici e produttivi.

Tutti i dati raccolti sono stati successivamente sottoposti all'analisi della varianza.

Nelle tabelle seguenti vengono riportati i risultati relativi al fattore concimazioni.

Prova concimazione. Montalbano (LO) 2003/04							
	Trattamenti	Produzione t/ha	Umidità granella %	Altezza pianta cm	Septoria 0-9	Peso 1000 semi gr	Peso ettolitrico kg/hl
2	POLLINA	2.35	13.1	67	6	37.8	79.1
4	POLL + FOGL	2.13	12.9	68	5	37.7	78.5
7	½ POLL + ½ FOGL	1.89	12.7	63	5	37.7	79.0
5	½ POLLINA	1.81	12.7	60	5	38.1	78.9
3	FOGLIARE	1.62	12.7	61	5	37.4	79.8
6	½ FOGLIARE	1.47	12.6	57	5	36.4	78.9
1	NON CONCIMATO	1.43	12.6	56	5	35.9	79.7
	Media	1.81	12.8	62	5	37.3	79.1
	D.M.S. (P=0.05)	0.22		5			
	C.V.	10.32	2.97	6.54		3.89	1.08

Prova concimazione. Leno (BS) 2003/04					
	Trattamenti	Produzione t/ha	Umidità granella %	Peso 1000 semi gr	Peso ettolitrico kg/hl
4	POLL + FOGL	6.17	12.8	42.6	81.3
2	POLLINA	6.07	12.8	41.4	81.1
1	NON CONCIMATO	5.91	12.9	42.0	80.9
5	½ POLLINA	5.35	12.8	41.3	80.6
6	½ FOGLIARE	5.28	12.7	41.9	81.1
7	½ POLL + ½ FOGL	5.08	12.9	41.6	80.8
3	FOGLIARE	4.98	12.9	41.9	80.9
	Media	5.55	12.8	41.8	80.9
	D.M.S. (P=0.05)				
	C.V.	13.69	1.10	2.37	0.48

Le produzioni della prova di Montalbano sono risultate molto scarse. Ciò è da imputarsi a ristagni di acqua verificatisi sia dopo la semina (determinando un'emergenza delle plantule piuttosto scarsa) che durante il periodo di fine levata-spigatura. La prova di Leno ha invece mostrato un CV per il carattere produzione al limite dell'accettabilità con differenze non statisticamente significative tra i vari trattamenti.

L'attività è proseguita negli ultimi mesi con l'impostazione e la semina delle nuove prove come previsto dal progetto. Inoltre sono in corso di svolgimento le analisi qualitative della granella prodotta.

## U.O. 4

**Titolo della ricerca:** Valutazione di tecniche a basso impatto ambientale per la difesa delle colture di frumento e il controllo delle infestanti.

**Responsabile scientifico:** Orazio Li Destri Nicosia  
Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura  
Sezione di Foggia  
E-mail: [lidestri@iscfoggia.it](mailto:lidestri@iscfoggia.it)

### **Relazione attività svolta (I° anno)**

Sono state affrontate le due problematiche previste dal Progetto: il contenimento delle fitopatie del frumento tenero ed il contenimento delle infestanti del frumento duro

#### ***Frumento tenero.***

Difesa delle colture: Sono state valutate, a cura dell'ISC Sezione di S. Angelo Lodigiano in due località (S. Angelo Lod.-LO- e Leno -BS-), tre diverse tipologie di concianti ammessi in agricoltura biologica (uno a base di rame, uno a base di microrganismi antagonisti dei funghi patogeni e un biostimolante), oltre al testimone non trattato, su tre varietà di frumento tenero (Etecho, Guadalupe e Positano). Il piano sperimentale adottato è stato a split-plot con 4 ripetizioni. La parcella elementare di 10 m<sup>2</sup> aveva una lunghezza di 7,5 m ed era costituita da 8 file distanti 17 cm. Il seme delle tre varietà è stato conciato secondo le istruzioni riportate sulle etichette dei vari prodotti e seminato alla dose di 450 semi germinabili/ m<sup>2</sup>. La concimazione azotata è stata effettuata in copertura utilizzando Endurance 8N per un apporto totale di 120 Kg/ha di azoto; il controllo delle infestanti è stato eseguito con erpice strigliatore. Su tutte le parcelle sono stati rilevati i principali caratteri agronomici e produttivi. Tutti i dati raccolti sono stati sottoposti all'analisi della varianza che non ha messo in evidenza differenze statisticamente significative per nessuno dei caratteri rilevati, con la sola eccezione della ruggine gialla. Ciò è probabilmente da imputare alle particolari condizioni meteorologiche che hanno fortemente limitato l'incidenza delle malattie del frumento.

Per quanto riguarda le analisi delle micotossine (DON) delle due prove, tutte le tesi del campo di S. Angelo Lod. (LO) hanno fatto rilevare valori inferiori al minimo discriminabile con i test rapidi utilizzati. I risultati della prova di Leno (BS) invece, pur mostrando valori rilevabili per tutte le varietà, hanno raggiunto il massimo di 55 ppb nella cv. Guadalupe (trattamento "non conciato"), valore ben lontano dai 500 ppb ammessi dalla legislazione italiana.

L'attività è proseguita con la preparazione e la semina delle nuove prove come previsto dal progetto.

#### ***Frumento duro***

Controllo delle infestanti: La sperimentazione è stata condotta in cinque località (Papiano -PG-, Piana di Barca-Alberese -GR-, Roma, Foggia e Caltagirone -CT-) in aziende a conduzione biologica. Sono state utilizzate tre varietà di frumento duro (una precoce - Duilio e una tardiva - Creso) e una antica Cappelli). Sono state poste a confronto tre tesi: semina "tradizionale" ad interfila semplice senza interventi per il controllo delle malerbe, semina "tradizionale" con passaggio di erpice strigliatore e semina a file binate o a file allargate con trasemina di una leguminosa (favino o veccia) fra le bine e successivo interrimento della leguminosa. Le prove sono state realizzate seguendo uno schema sperimentale a parcella suddivisa con tre ripetizioni ponendo nella parcella principale le modalità di semina e relativi interventi meccanici e nelle parcelle elementari i genotipi. Su ogni parcella sono stati rilevati i principali dati fenologici, i caratteri bio-agronomici e i dati produttivi sia quantitativi che qualitativi.

Una particolare attenzione è stata posta alla valutazione della presenza di malerbe in relazione alle diverse tesi sperimentali.

I risultati del primo anno di prove sono risultati influenzati dall'andamento stagionale e dalla località.

A Papiano (PG) (Università di Perugia - Dip. Sc. Agroambientali e Prod. Vegetale) il decorso stagionale ha sfavorito l'emergenza delle infestanti che pertanto sono risultate molto poco presenti, tanto da sconsigliare interventi diretti di controllo. In conseguenza di ciò non è stato effettuato l'intervento con erpice strigliatore. Sempre a causa della scarsità delle infestanti, non sono emersi effetti, su queste, dovuti all'infrasemina e successivo interrimento della leguminosa (favino). La prova ha messo in luce la bontà della strategia della consociazione fra frumento e leguminose. Questa pratica consente infatti di mettere a disposizione del frumento una certa quantità di azoto durante le fasi tardive della coltura a tutto vantaggio del contenuto in proteine della granella.

Anche a Piana di Barca-Alberese (GR) (ARSIA Grosseto) l'andamento stagionale e le rotazioni con medica effettuate nell'appezzamento, non hanno permesso lo sviluppo di infestanti. Le cospicue precipitazioni e i conseguenti dilavamenti hanno avuto come risultato uno scadimento delle produzioni sia in termini di quantità che di qualità specialmente nei confronti della varietà Cappelli penalizzata ulteriormente da forti allettamenti.

A Roma (ISC Sezione Tecniche agronomiche) sono emerse nette differenze produttive fra le varietà in prova: Duilio è risultata più produttiva di Creso mentre Cappelli ha fornito rese molto modeste associate a gravi fenomeni di allettamento. Per quanto concerne le modalità di semina e i relativi interventi meccanici la strigliatura sembra aver influito positivamente sui livelli produttivi e sulla riduzione del numero delle infestanti, ma non sulla loro biomassa totale. La semina a file binate con trasemina di favino non sembra aver avuto effetti positivi sulla presenza di infestanti e neppure sulle rese del frumento. Sono stati registrati solo lievi incrementi del tenore proteico nella granella.

A Foggia (ISC Sezione di Foggia) la prova si è svolta abbastanza regolarmente; anche se l'infestazione di malerbe è stata piuttosto contenuta sono state riscontrate differenze dovute ai trattamenti. La strigliatura ha provocato una riduzione della presenza di malerbe mediamente di circa il 64%. Anche con la tecnica dell'infrasemina della leguminose (veccia) si è ottenuta una buona riduzione dell'infestazione (circa 51%) a cui va aggiunto il netto aumento del contenuto in proteine e in glutine nella granella del frumento. Il dato risulta particolarmente interessante se si pensa che il basso contenuto in proteine e in glutine rappresenta uno dei maggiori problemi per le colture di frumento in biologico. Per quanto concerne le rese, le differenze fra le varietà in prova sono risultate molto più ridotte di quelle riscontrate nelle altre località.

A Caltagirone (CT) (Stazione Sperimentale di Granicoltura) il particolare andamento stagionale ha favorito talmente lo sviluppo delle infestanti da rendere inefficaci, oltre che difficoltose, le operazioni di controllo. La coltura del frumento è stata totalmente sopraffatta dalle malerbe tanto da invalidare la prova.

Per quanto riguarda le semine del secondo anno di prove sono state effettuate a Perugia, a Roma e a Foggia mentre a Grosseto e a Caltagirone, a causa delle persistenti precipitazioni, non sono state ancora eseguite.

## U.O. 5

**Titolo della ricerca:** Sviluppo di una filiera biologica per frumento duro e tenero a basso rischio di Contaminazione da micotossine.

**Responsabile scientifico:** Giuseppina Avantaggiato  
Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, ISPA-CNR, Bari  
E-mail: [giuseppina.avantaggiato@ispa.cnr.it](mailto:giuseppina.avantaggiato@ispa.cnr.it)

### **Relazione attività svolta: (I° anno)**

Le micotossine che con più frequenza sono ritrovate nel frumento, sia tenero che duro, sono le tossine prodotte da *Fusarium culmorum* e *F. graminearum*. In particolare queste specie producono il deossinivalenolo (DON), detto anche vomitossina, una micotossina che nei mammiferi può causare effetti neurotossici ed immunotossici ed è responsabile di sindromi emetiche ed anoressiche negli allevamenti zootecnici. La contaminazione di cereali e prodotti derivati da parte del DON è quindi un problema di rilevanza internazionale con gravi ripercussioni socio-economico-sanitarie. Linee guida che stabiliscono livelli massimi ammissibili di DON in mangimi o alimenti destinati all'uomo sono attualmente in vigore in alcuni Stati nel mondo (37 Paesi) e sono stati fissati, in maniera autonoma, da alcuni Stati Membri della Comunità Europea. Tali limiti, per una stessa matrice, sono più restrittivi in alcune nazioni rispetto ad altre con conseguente rischio di distorsione dei processi di competizione commerciale. Limiti di tolleranza per il DON nei cereali destinati al consumo umano, in vigore in alcuni Stati Europei, sono di: 0.5 µg/g in frumento (escluso il duro) e segale, 0.75 µg/g in frumento duro, in Austria; 0.5 µg/g in prodotti a base di cereali destinati al consumo diretto (esclusi i prodotti a base di frumento duro, pane, biscotti), 0.35 µg/g in prodotti a base di frumento duro, pane, biscotti e prodotti di pasticceria, in Germania. In vista di queste disparità tra gli Stati Membri, la Commissione Europea sta provvedendo ad armonizzare tali limiti allo scopo di assicurare una uniformità di mercato. Il regolamento che è in fase di discussione e che rettificcherà il regolamento CE 466/2001, entrerà in vigore il 1 luglio 2006. In particolare, per il frumento e derivati, la Commissione prevede di fissare i seguenti livelli massimi di tolleranza: 1.75 µg/g per il frumento duro non processato; 1.25 µg/g per il frumento tenero non processato; 0.75 µg/g per la farina e la pasta; 0.5 µg/g per i prodotti finiti; 0.25 µg/g per i prodotti alimentari destinati all'infanzia.

Nell'ambito del presente progetto, nella stagione 2003-2004, è stata condotta un'indagine per valutare la presenza di DON in cariossidi di frumento, sia duro che tenero, di diverse varietà provenienti da coltivazioni biologiche dislocate su tutto il territorio nazionale. In particolare, l'ISC Sezione Tecniche agronomiche (U.O.1) ha realizzato prove di confronto tra varietà di frumento duro in campi sperimentali siti in 13 località, le quali sono state raggruppate in 3 grandi areali climatici: Italia centrale versante adriatico e nord [San Pancrazio (PR), Agugliano (AN), Pollenza (MC)]; Italia centrale versante tirrenico [San Piero in Grado (PI), Papiano (PG), Alberese (GR), Tarquinia (VT), Roma]; Italia meridionale [Campobasso, Foggia, Gravina (BA), Catania, Enna]. In tutti i campi sono state valutate 12 varietà di frumento duro, tutte certificate biologiche. Presso l'ISC Sezione di Merceologia, per ciascuna varietà, campioni rappresentativi delle 4 ripetizioni sono stati mescolati in modo da preparare un unico campione omogeneo da sottoporre ad analisi delle micotossine (DON e zearalenone). Presso questa Sezione i campioni sono stati preventivamente analizzati con metodo rapido immunoenzimatico, di tipo ELISA, e successivamente inviati al nostro Istituto per l'analisi di conferma dei positivi con metodo HPLC.

Inoltre, l'ISC Sezione di S. Angelo Lodigiano ha condotto prove varietali parcellari tra varietà di frumento tenero seminate in 13 località distribuite sul territorio nazionale. In tutti i campi, sono state saggiate 20 varietà. Presso la Sezione, per ogni varietà, campioni rappresentativi delle 3 repliche sono stati mescolati per ottenere un unico campione da analizzare per il contenuto di DON mediante metodo ELISA (Ridascreen® DON della r-biopharm). Successivamente, e solo per le varietà positive a questo screening preliminare, sono state rianalizzate le singole repliche con metodo ELISA. I campioni

risultati positivi anche a questa seconda indagine sono stati inviati al nostro Istituto per l'analisi di conferma con metodo HPLC.

L'analisi del DON con tecnica HPLC prevede l'estrazione della tossina dal frumento con acqua, la purificazione e concentrazione mediante minicolonne ad immunoaffinità e la determinazione quantitativa mediante analisi HPLC a fase inversa. Ciascun campione (25 g) di frumento macinato, dopo aggiunta di 5 g di polietilenglicole 8000 (PEG 8000) e di 100 ml di acqua distillata, è stato omogeneizzato ad alta velocità per 2 minuti. Gli estratti sono stati filtrati con carta da filtro (Whatman N.1) e poi con filtro a microfibre di vetro (Whatman GF/A) e 2 ml di estratto filtrato sono stati caricati su minicolonna ad immunoaffinità DONtest™ HPLC (VICAM, Watertown, USA) ed eluiti lentamente ad un flusso di 1 goccia/secondo. Successivamente, la minicolonna è stata lavata con 5 ml di acqua distillata ad un flusso di 2 gocce/secondo e portata a secco. La tossina, trattenuta dagli anticorpi monoclonali, è stata fluita con 1.5 ml di metanolo (per HPLC) ad un flusso di una goccia/secondo. L'estratto raccolto in una provetta è stato portato a secco con flusso di azoto, e ripreso in 500 µl di fase mobile. 100 µl di questa soluzione sono stati iniettati in HPLC. L'analisi è stata eseguita mediante HPLC con rivelatore UV a serie di diodi (DAD) impostato a 220 nm (Agilent Technology Series 1100) e colonna a fase inversa Symmetry Shield C18, 150 x4,6 mm, 5 µm (Waters, Milford, MA, USA). Come fase mobile è stata usata una miscela isocratica acetonitrile-acqua (10:90, v/v) ad un flusso di 1.0 ml/min. La quantificazione della tossina è stata eseguita mediante confronto con una retta di calibrazione ottenuta con soluzioni standard di DON a diversa concentrazione. Il limite di rivelabilità del metodo è risultato pari a 0.025 µg/g (basato su un rapporto segnale-rumore 3:1). I valori dei recuperi di DON sono stati determinati mediante analisi di campioni di frumento non contaminati, fortificati con differenti quantità di DON (500 e 5000 µg/kg, 3 repliche). I risultati hanno mostrato recuperi maggiori del 75% e buona precisione (coefficienti di variazione minori del 16%). Il metodo analitico ha quindi fornito valori che rientrano, in termini di sensibilità, accuratezza e precisione, nei requisiti richiesti dal CEN, Commissione Europea di Normalizzazione, per l'adozione a livello europeo di un metodo di analisi per la determinazione del DON in campioni di frumento.

## **Risultati conseguiti**

### ***Frumento duro***

Sono stati analizzati 156 campioni parcellari di frumento duro provenienti dalle prove agronomiche allestite dall'U.O.1. Tutti i campioni risultati positivi con il test ELISA sono stati confermati con il metodo HPLC, ad eccezione di quelli per i quali è stato misurato un livello di DON pari o inferiore a 35 µg/kg. L'analisi HPLC dei campioni risultati negativi con il metodo ELISA ha evidenziato in tutti i casi l'assenza di tossina. In questo modo, come in altri studi, è stato possibile osservare che il metodo immunoenzimatico, ELISA, per l'analisi del DON può produrre falsi positivi e quasi mai falsi negativi. Il confronto tra i livelli di DON misurati con le due tecniche (ELISA-HPLC) per gli stessi campioni di frumento evidenzia una relazione di tipo lineare con un buon coefficiente di correlazione ( $r^2$ ) pari a 0.9473. Inoltre, il confronto tra questi valori, mostra come il test di screening immunoenzimatico sovrastimi il contenuto di tossina. Per la maggioranza dei campioni positivi, infatti, i livelli di DON misurati con il metodo ELISA sono risultati più alti di circa il 40% rispetto a quelli ottenuti con il metodo HPLC. Con le due tecniche, il contenuto medio di DON misurato per i 156 campioni parcellari sottoposti ad analisi è risultato essere di 0.094 µg/g con il metodo HPLC e 0.153 µg/g con il metodo ELISA.

L'analisi dei singoli campioni di frumento duro relativi alle 12 varietà coltivate in 13 località del Nord, Centro e Sud Italia, non trattate con fungicidi di copertura, evidenzia una marcata differenza nel contenuto di DON tra le zone e, all'interno di ciascun areale, tra le diverse varietà. Solo in un areale (Agugliano-AN) sono stati misurati livelli di DON preoccupanti (>0.75 µg/g); nelle restanti zone il contenuto di tossina non superava 0.20 µg/g. In particolare, per la totalità dei campioni parcellari riesaminati con metodo HPLC, il 36% (57/156) è risultato positivo al DON con un contenuto medio pari a 0.256 µg/g (media dei positivi). Il 4% dei campioni (6/156), tutti provenienti dal campo di

Agugliano, ha superato il livello di 0.750 µg/g; per nessun campione è stato registrato un contenuto di tossina pari o superiore a 1.750 µg/g (limite massimo tollerabile di DON in frumento duro non processato, in fase di applicazione dalla Commissione Europea).

Come di seguito riportato, per i 13 campi sperimentali messi a confronto, sono stati misurati valori diversi di incidenza di contaminazione percentuale (positivi/totali), contenuto medio di DON (calcolato come media dei campioni positivi) e intervallo di concentrazione, a seconda della località presa in esame:

- 100% (12/12)	0.901 µg/g DON	0.312 - 1.559 µg/g	Agugliano (AN);
- 83% (10/12)	0.104 µg/g DON	0.031 - 0.19 µg/g	S. Piero in Grado (PI);
- 83% (10/12)	0.084 µg/g DON	0.031 - 0.166 µg/g	Roma;
- 67% (8/12)	0.108 µg/g DON	0.036 - 0.174 µg/g	Papiano (PG);
- 50% (6/12)	0.070 µg/g DON	0.048 - 0.096 µg/g	Campobasso;
- 50% (6/12)	0.047 µg/g DON	0.026 - 0.080 µg/g	Catania;
- 25% (3/12)	0.077 µg/g DON	0.041 - 0.120 µg/g	Alberese (GR);
- 8% (1/12)	0.061 µg/g DON		Tarquinia (Roma);
- 8% (1/12)	0.039 µg/g DON		Foggia;
- 0%			San Pancrazio (PR), Pollenza (MC), Enna, Gravina (BA).

Inoltre, valori diversi di contaminazione da DON sono stati misurati anche per le 12 varietà di frumento saggiate. Per queste varietà i dati di incidenza di contaminazione (positivi/totali), contenuto medio di tossina (calcolato come media dei campioni positivi) e intervallo di contaminazione sono risultati essere di:

- 61% (8/13)	0.216 µg/g DON	0.060 - 1.103 µg/g	San Carlo;
- 46% (6/13)	0.329 µg/g DON	0.041 - 1.559 µg/g	Ciccio;
- 46% (6/13)	0.332 µg/g DON	0.039 - 1.405 µg/g	Simeto;
- 46% (6/13)	0.194 µg/g DON	0.031 - 0.968 µg/g	Bronte;
- 46% (6/13)	0.196 µg/g DON	0.028 - 0.665 µg/g	Iride;
- 38% (5/13)	0.328 µg/g DON	0.065 - 1.209 µg/g	Rusticano;
- 31% (4/13)	0.409 µg/g DON	0.035 - 1.379 µg/g	Duilio;
- 31% (4/13)	0.236 µg/g DON	0.048 - 0.669 µg/g	Claudio;
- 31% (4/13)	0.116 µg/g DON	0.036 - 0.312 µg/g	Grazia;
- 23% (3/13)	0.267 µg/g DON	0.026 - 0.702 µg/g	Colosseo;
- 23% (3/13)	0.164 µg/g DON	0.040 - 0.376 µg/g	Cappelli;
- 15% (2/13)	0.286 µg/g DON	0.103 - 0.468 µg/g	Creso.

Dall'indagine condotta in questo primo anno sul contenuto di DON in campioni di frumento duro di diverse varietà, prodotte mediante coltivazione biologica in campi sperimentali distribuiti sul territorio nazionale, emerge un quadro abbastanza rassicurante e in linea con i dati riportati in letteratura sul contenuto di DON in frumento duro ottenuto mediante agricoltura convenzionale. Con la sola esclusione della località di Agugliano, in tutti gli altri campi i livelli di DON sono risultati ben al di sotto dei limiti di tolleranza in vigore in alcuni Stati europei o in fase di approvazione dalla Commissione. In ultimo, per le varietà messe a confronto nei diversi areali, sembra delinearci una maggiore suscettibilità per alcune cultivar. In particolare, circa il 50% dei campioni delle varietà San Carlo, Ciccio, Simeto, Bronte ed Iride sono stati trovati contaminati da DON. Un'ulteriore indagine è tuttavia necessaria per verificarne il comportamento in altre annate agrarie.

### ***Frumento tenero***

Le analisi di conferma con metodo HPLC dei campioni di frumento tenero sono ancora in corso.

## U.O. 6

**Titolo della ricerca:** Metodi analitici avanzati in agricoltura biologica per la tracciabilità di specie agrarie e genotipi di *Triticeae* in sementi, materie prime ed alimenti finiti e per l'identificazione della loro origine geografica.

**Responsabile scientifico:** Valeria Terzi

Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura

Sezione di Fiorenzuola d'Arda

E-mail: [v.terzi@iol.it](mailto:v.terzi@iol.it)

### Relazione attività svolta (I anno)

L'attività prevista nell'ambito del progetto BIOCER riguarda essenzialmente lo sviluppo e la convalida di metodi analitici molecolari e chimico-fisici per la creazione di indici utili come strumento per la caratterizzazione e la tracciabilità delle produzioni biologiche, come ulteriore garanzia per il consumatore ed a tutela delle produzioni locali. Il programma di ricerca si prefiggeva perciò di sviluppare, e successivamente validare, metodiche analitiche di tipo quantitativo basate su PCR Real Time per assicurare la tracciabilità di specie cerealicole e contemporaneamente utilizzare la tecnologia dei marcatori molecolari per un rinnovamento del *fingerprinting* varietale a garantire la tipicità di prodotto proveniente da agricoltura biologica. L'applicazione di tali sistemi analitici consentirà di individuare in modo certo la presenza di specie e genotipi particolarmente vocati alle produzioni biologiche e di valore commerciale superiore rispetto ad altre materie prime, sfarinati e prodotti finiti. Questo consentirebbe di innalzare il livello di controllo delle eventuali frodi, suggerite da un maggiore costo delle materie prime biologiche, aumentando perciò la fiducia dei consumatori in prodotti particolari, quali quelli derivanti da agricoltura biologica.

Il piano di lavoro concretamente svolto ha perciò previsto innanzitutto lo sviluppo di sistemi analitici molecolari applicabili anche a sfarinati e prodotti finiti a destinazione alimentare umana ed animale per la tracciabilità di specie cerealicole. In lavori sviluppati in precedenza, era stato messo a punto un duplice metodo analitico per la tracciabilità del genere *Triticum* e della specie *Triticum aestivum*. Nell'ambito del progetto si è proseguito il lavoro di messa a punto di nuovi metodi per la tracciabilità di altre specie cerealicole. In particolare, si è sviluppato un sistema per la determinazione quantitativa della presenza di *Secale cereale* e *Triticosecale* attraverso real time qPCR. Questa metodica consente di seguire in tempo reale, grazie alla presenza di sonde fluorogeniche o coloranti fluorescenti del DNA, la reazione di amplificazione di una sequenza target, ottenendo come risultato finale una curva che rappresenta l'accumulo, nei diversi cicli della PCR, degli amplificati. Questo consente non solo di verificare la presenza della sequenza target, ma anche di darne una valutazione quantitativa nel campione analitico. Per sviluppare il sistema analitico segale-specifico è stato fatto uno screening di sequenze nucleotidiche presenti in banca dati e si è individuato un EST, omologo a O-metiltransferasi, sul quale sono stati disegnati primer specifici. La specificità dei primer ESTSEC è stata verificata sulle diverse specie cerealicole e su diverse cultivar di segale e triticale. La sensibilità ed efficienza del sistema sono state inoltre testate su campioni a contenuto noto e decrescente di DNA di segale: il limite di sensibilità del sistema è di 35 copie di genoma aploide di segale, mentre l'efficienza della reazione si avvicina al 100%. L'affidabilità del metodo è stata verificata attraverso confronto con le metodiche ufficiali ELISA e si è dimostrata la sua applicabilità anche a matrici complesse, quali prodotti da forno ottenuti da sfarinati misti.

L'utilità del metodo sviluppato è duplice. Infatti la determinazione del contenuto in specie cerealicole è importante per aspetti legati alla qualità del prodotto finito, ma anche alla sua sicurezza (as esempio in alimenti destinati ai celiaci deve essere assente la componente segale e critica, così come frumenti ed orzo). Inoltre, l'approccio Real-time PCR trova una sua corrente applicazione nella determinazione quantitativa della presenza di organismi geneticamente modificati in alimenti a destinazione umana e zootecnica. Tali sistemi, essendo le soglie di legge riferite ad ingrediente, necessitano di un continuo

aggiornamento di geni di riferimento, necessari per la determinazione degli ingredienti e della loro percentuale relativa. I risultati ottenuti sono stati oggetto di una pubblicazione su *Food Science and Technology (LWT)*, rivista internazionale con referee.

Per quanto riguarda l'attività di caratterizzazione di genotipi di frumenti a destinazione biologica, si sono ricevuti dalle altre UO del progetto, campioni di granella di genotipi di frumenti duri in prova e si è provveduto all'estrazione del loro DNA per le successive analisi. In particolare, si è avviato un lavoro di uso di tecniche di DNA profiling per testare l'autenticità di prodotti alimentari finiti, con particolare riguardo a paste monovarietalì. L'impiego infatti di genotipi di alto valore qualitativo per la preparazione di alimenti finiti di particolare qualità si riscontra attualmente in diversi settori, quali quello oleario e quello cerealicolo. Nell'ambito del progetto abbiamo quindi portato a termine uno studio per la messa a punto di tecniche molecolari per la tracciabilità di genotipi in paste monovarietalì. È stato perciò preparato un set di paste monovarietalì. Da questi campioni, dai corrispondenti sfarinati e dalla corrispondente granella certificata è stata fatta l'estrazione del DNA. I campioni di DNA sono stati caratterizzati attraverso marcatori molecolari AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), separati in elettroforesi capillare. I pattern ottenuti sono stati convertiti in una matrice binaria (1/0) per presenza/ assenza di specifici marcatori e a partire da questa sono state calcolate le distanze genetiche. L'output finale, ottenuto attraverso il programma statistico TREECON, è stato un dendrogramma in cui i campioni di granella, semola e pasta di ogni varietà analizzata sono strettamente riuniti in un solo cluster. È perciò possibile, con un approccio analitico di questo tipo, verificare l'autenticità di una pasta dal punto di vista del contenuto varietale. I risultati provenienti da questo studio sono stati pubblicati su "*European Food Research and Technology*", rivista internazionale con referee.

### **Divulgazione dei risultati**

Come precedentemente riportato, i risultati sono stati oggetto delle seguenti pubblicazioni, su riviste internazionali con referee:

TERZI V., INFASCELLI F., TUDISCO R., RUSSO G., STANCA A.M., FACCIOLI P. 2004. Quantitative detection of *Secale cereale* by real time PCR amplification. *Food Science and Technology (LWT)*:37:239-246.

TERZI V, MORCIA C., GIOVANARDI D., D'EGIDIO M.G., STANCA A.M., FACCIOLI P. 2004 DNA-based analysis for authenticity assessment of monovarietal pasta. *European Food Research and Technology*, 219 (4): 428-431, DOI 10.1007/s00217-004-0965-7.

E' stata inoltre pubblicata la seguente review su invito:

TERZI V., MOSCHELLA A. 2004 Tracciabilità di piante industriali: dai marcatori molecolari alle tecniche basate sul DNA profiling. *Agroindustria*, 3(2): 205-213

## U.O. 7

**Titolo della ricerca:** Sviluppo di una filiera biologica per i frumenti con produzione di bioalimenti (pasta e pane) di qualità e di elevato valore aggiunto

**Responsabile scientifico:** Ester De Stefanis

Istituto sperimentale per la cerealicoltura  
Sezione di Merceologia dei prodotti, Roma  
E-mail : [destefanis@cerealicoltura.it](mailto:destefanis@cerealicoltura.it)

### **Relazione attività svolta: (I anno)**

#### ***Frumento duro***

##### ISC Sezione di Merceologia

Relativamente al primo obiettivo della presente ricerca (Sviluppo di una filiera biologica per la produzione di pasta di qualità, inclusa la caratterizzazione chimica, tecnologica e nutrizionale dei prodotti ottenuti nelle diverse fasi produttive), l'attività ha riguardato la caratterizzazione qualitativa delle varietà di frumento duro inserite nella prova nazionale. Tra le località delle prove agronomiche su cui era stata effettuata una indagine qualitativa preliminare (dati pubblicati su L'Informatore Agrario n° 40, 2004), sono state individuate 6 località maggiormente rappresentative della durogranicoltura nazionale; per tali località, per ognuna delle 12 cv in prova sono state riunite le quattro repliche di campo a fornire un campione composito su cui effettuare tutte le analisi qualitative normalmente utilizzate per la caratterizzazione del frumento duro. In particolare sul campione riunito sono state effettuate le seguenti analisi:

- (sfarinato integrale) contenuto in proteine totali, contenuto in ceneri, test SDS
- (semola) proteine, contenuto in glutine, gluten index, test alveografico, colore
- (pasta): analisi sensoriale

I risultati ottenuti mettono in rilievo in generale un basso livello di proteine, situazione già sottolineata del resto anche in altre sperimentazioni e attribuibile alle condizioni agroclimatiche dell'annata. I valori più alti di contenuto proteico sullo sfarinato integrale (intorno al 13% s.s.) si ritrovano a Campobasso, Pollenza (MC) e Foggia, valori intermedi (11,5%) a Enna e S.Piero a Grado (PI), i valori più bassi a Tarquinia (VT) (10,5%). I valori di sostanze minerali totali non presentano differenze tra le località e sono su livelli non elevati (1,90%). Per quanto attiene alla qualità del glutine misurata sia tramite metodi diretti (gluten index), che indiretti (test SDS e prova alveografica) si rilevano in generale livelli non elevati, fermo restando la differenza tra le cultivar. Particolarmente bassi si presentano i valori del W alveografico per le diverse cultivar nel campo di Tarquinia, elevati invece a Pollenza.

Tra le cultivar, San Carlo e Simeto si distinguono per la qualità del glutine; buona la risposta di Rusticano; la cv Cappelli si presenta nelle diverse località su livelli alquanto bassi.

Relativamente al colore, espresso come indice di giallo, si rilevano in generale valori non elevati, permane comunque una differenza tra le cultivar essendo il carattere a forte componente genotipica. San Carlo, Grazia, Rusticano, Iride, Simeto si attestano in genere sui valori più elevati, rimane comunque piuttosto limitato il range di variabilità del carattere.

E' ancora in corso di valutazione la qualità delle paste.

Le analisi relative alla determinazione del grado di contaminazione da micotossine del frumento duro biologico sono state effettuate sui campioni relativi a 12 varietà provenienti da 13 diverse località rappresentative dell'area centro-meridionale del territorio italiano compresa fra l'Emilia Romagna e la Sicilia.

I campioni di granella appartenenti a singole prove parcellari (totale n. 4 prove per ogni varietà) sono stati riuniti in un campione unico sul quale è stato determinato il grado di contaminazione da deossinivalenolo (DON) e zearalenone (ZEA) utilizzando analisi immunoenzimatiche (ELISA). Sono

stati considerati positivi i campioni con una concentrazione di micotossine pari o superiore ai limiti di sensibilità dei due metodi (DON=18,5 ppb e ZEA= 50 ppb).

In relazione ai due tipi di micotossine analizzate, e sulla base dei risultati ottenuti, soltanto per il DON si può parlare di una effettiva presenza ed evidente differenza nel grado di contaminazione delle diverse località (e/o varietà) mentre non è stata rilevata una contaminazione particolarmente significativa per lo zearalenone. In relazione a quest'ultimo, infatti, il valore massimo riscontrato è stato di 70 ppb a fronte di una percentuale massima di contaminazione (n.campioni positivi/n.campioni totali) per singola località, pari al 25% (Roma).

Dai risultati ottenuti nel primo anno sono emerse indicazioni interessanti in relazione sia alla provenienza dei campioni analizzati sia in funzione delle varietà prese in esame in ogni località.

Il massimo livello di contaminazione da DON riguarda la località di Agugliano (AN) per la quale si è avuto il 100% di campioni contaminati (media=1241 ppb, valore massimo = 2194 ppb), mentre per quanto riguarda le località di S. Pancrazio (PR) e Gravina (BA) non è stato riscontrato alcun campione positivo per DON e ZEA. Inoltre, è stato riscontrato, in linea generale, un minor grado di contaminazione nei campioni provenienti dal meridione d'Italia rispetto al resto del territorio considerato e tale risultato costituisce una ulteriore conferma di quanto riportato in letteratura in merito all'argomento.

Per quanto riguarda l'entità della concentrazione di DON nelle varietà esaminate e considerando i valori medi per località, risulta evidente che le varietà "tardive" di grano duro presentano, in generale, un grado di contaminazione da DON inferiore rispetto a quelle "precoci" con il valore massimo di concentrazione (320 ppb) nella varietà Simeto ed il valore minimo (100 ppb) nella varietà Sen. Cappelli.

Nel complesso, i risultati ottenuti dalle analisi di screening ELISA sono emerse evidenti differenze in merito alle diverse località, probabilmente ricollegabili da un lato alle caratteristiche pedo-climatiche di ognuna di esse e dall'altro ad un diverso grado di suscettibilità delle singole varietà che è risultata, comunque, collegata ad una caratteristica agronomica importante come, appunto, l'epoca di fioritura.

Relativamente al secondo obiettivo della presente ricerca (Recupero di varietà autoctone e sviluppo di un modello di filiera biologica per la produzione di bioalimenti con marchio di tipicità. Elaborazione dei disciplinari di produzione e di qualità del prodotto tipico) il recupero e la valorizzazione di varietà locali può rappresentare una interessante prospettiva per la realizzazione in loco di una filiera biologica di produzione-trasformazione che dalla tipicizzazione del prodotto potrebbe ricavare anche il vantaggio del superamento delle uniformità delle tipologie sui mercati, contribuendo a tutelarne l'immagine ed accrescendo pertanto la competitività della filiera. L'obiettivo del primo anno era di testare l'adattabilità del materiale scelto alla condizione "biologico" sia dal punto di vista agronomico che per quanto riguarda le caratteristiche qualitative che influenzano le successive fasi di trasformazione.

A tale scopo è stata allestita presso l'ISC Sezione di Foggia una prova sperimentale su precedente colturale cece (appezzamento certificato biologico) con 15 varietà di frumento duro, utilizzando uno schema a blocco randomizzato con 3 ripetizioni, densità di semina con 350 semi germinabili/m<sup>2</sup> (seme non conciato), inserendo un ulteriore fattore di variabilità, la dose di fertilizzante azotato: 0 e 80 U di N/ha fornito con concime organico BIOILSA -N10 nella fase di inizio accostamento, che dovrebbe permettere di evidenziare in entrambe le condizioni le varietà in grado di fornire prodotti con caratteristiche qualitative rispondenti agli attuali standard di riferimento richiesti al prodotto convenzionale. La scelta delle varietà, sulla base degli obiettivi, è stata circoscritta alle cultivar originarie della zona di produzione considerando, in particolare, materiale attualmente non più coltivato o poco diffuso ma con potenzialità elevate per gli aspetti qualitativi e/o quantitativi della produzione e con differenti esigenze nei confronti della nutrizione azotata (Adamello, Bradano, Fortore, Gargano, Grifoni, Lesina, Messapia, Norba, Varano, Vesuvio), e, come testimoni, varietà di nota rusticità tali da fornire anche in condizioni agronomiche e ambientali non ottimali prodotti di buona qualità (Cappelli, Ofanto, Trinakria, quest'ultima anche se non autoctona è stata inserita in

quanto ampiamente adattata all'areale di coltivazione dove ha sempre fornito prodotti di elevate caratteristiche qualitative). La prova includeva, inoltre, varietà locali di recente costituzione (Sfinge, Sorriso).

Il materiale raccolto a maturazione è stato valutato sia per gli aspetti produttivi che per le caratteristiche merceologiche e qualitative dei prodotti, allo scopo di produrre indicazioni che potrebbero essere utili per mettere a punto strategie mirate allo sviluppo di cultivar adatte a fornire prodotti di qualità anche in condizioni di allevamento rispettose dell'ambiente. In particolare sono stati determinati sulla granella: peso mille semi, peso ettolitrico, ceneri, colore, contenuto in proteine e glutine e qualità del glutine determinata mediante il test di sedimentazione in SDS. La granella è stata trasformata in semola con un mulino Buhler MCK. Inoltre, relativamente alla semola così ottenuta si è proceduto alla caratterizzazione degli aspetti qualitativi (contenuto proteico, qualità del glutine mediante test alveografico) e delle proprietà funzionali delle proteine di riserva (composizione proteica: frazioni solubili ed insolubili, stato redox: SH liberi, SH totali, S-S).

Per quanto riguarda la prova agronomica, ad entrambe le dosi di azoto la quantità di granella prodotta in media è stata superiore per le varietà in prova (N0=3.70, N80=4.07 t/ha) rispetto alle testimoni (N0=3.16, N80=3.62 t/ha) che, in particolare per Cappelli, hanno presentato valori generalmente inferiori alle varietà esaminate. Come atteso, la maggiore disponibilità di fertilizzante organico ha favorito la produzione, determinando incrementi differenti sia tra i tre gruppi di varietà che nell'ambito del gruppo, Adamello è stata la varietà più favorita con un aumento pari al 25%. In assoluto Vesuvio è stata la varietà più produttiva ad entrambe le dosi di azoto (N0: 4.22, N80: 4.30 t/ha). L'effetto della concimazione azotata è stato significativo per i caratteri epoca di spigatura e altezza della pianta con un allungamento del ciclo vegetativo e della taglia. La valutazione in campo della resistenza all'oidio, evidenziando per questo aspetto una differente risposta delle varietà alla concimazione, ha mostrato che le cultivar più resistenti all'attacco dell'oidio per N0 sono state quelle di recente costituzione e per N80 la varietà Varano.

La caratterizzazione merceologica della granella ha evidenziato per tutte le varietà comprese le testimoni, ad entrambe le dosi di azoto, valori buoni di peso ettolitrico (media generale N0: 82.8, N80: 82 kg/hL), non mostrando differenze rilevanti tra le varietà in prova e quelle testimoni; Messapia e Varano ad N0 e Fortore ed Adamello ad N80 sono state le varietà con i valori più elevati per questo importante parametro legato alla trasformazione in semola (84.5, 84.1 e 83.3, 82.8 kg/hL rispettivamente). In generale il peso mille semi è risultato nella norma (media generale N0=48.5, N80=49.5 g), fatta eccezione per Adamello (52.5 g) che, in assoluto, presentava ad N0 i valori più elevati sia rispetto alle varietà in prova che ai testimoni. Ad N80 le varietà tester (Cappelli e Trinakria) e Messapia hanno raggiunto i valori più elevati (intorno a 52 g). Per entrambe queste caratteristiche merceologiche sono state evidenziate differenze tra varietà e nella risposta delle varietà al fertilizzante. I risultati relativi al contenuto proteico ed in glutine, hanno mostrato differenze tra cultivar e tra dosi di azoto organico evidenziando anche una interazione significativa varietà x fertilizzante. In generale le varietà in prova hanno mostrato ad N0 contenuti in proteine compresi tra 10.5% s.s. per Fortore e Norba e 11.5% s.s. per Lesina; una maggiore capacità di utilizzare l'azoto residuo è stata evidenziata dalle varietà testimoni, Cappelli e Trinakria (12.9% s.s.), e da Adamello, Grifoni e Messapia che presentano contenuti superiori al 12% s.s. L'apporto di fertilizzante azotato, come atteso, ha favorito in tutte le varietà l'accumulo delle proteine nella cariosside determinando in generale un incremento del 16.5% (media generale N0=11.5% s.s., N80=13.4% s.s) e in alcune tra le varietà poco diffuse valori superiori al 14 % s.s. (Adamello, Bradano e Lesina).

La qualità del glutine, valutata con il test SDS, è risultata alquanto scadente ad entrambe le dosi di azoto (media generale N0=28 mL, N80=32 mL); si sono distinte per questo carattere ad N0, Adamello (42 mL), e ad N80 Vesuvio, Bradano e Messapia (rispettivamente 42, 39, 38 mL) e la varietà testimone Cappelli (42 mL). Per quanto riguarda il colore, l'indice di giallo determinato sulla granella in generale ha mostrato valori accettabili in entrambe le tesi (media generale N0=14.4, N80=15.4) e non sostanzialmente dissimili tra le varietà in prova e quelle testimoni. Il contenuto in ceneri ad

entrambe le dosi di azoto organico è risultato medio-basso (N0:media generale=1.93% s.s., min.1.78 Norba, max 2.03 Cappelli; N80: media generale=1.98% s.s, min.1.88 Trinakria, max 2.07 Lesina).

Relativamente alla caratterizzazione delle proteine di riserva delle semole le analisi sono ancora in corso. Vengono pertanto presentati i risultati finora ottenuti sulla 1° replica di ogni varietà. Alla dose N0 sono stati evidenziati per il contenuto proteico totale valori in media non superiori al 10.5% s.s.; differivano, come già osservato nella granella, Messapia, Grifoni, Adamello e Cappelli con valori maggiori all'11% s.s. Per quanto riguarda la frazione proteica insolubile, importante fattore di qualità del frumento duro, sono stati rilevati ad N0 contenuti compresi tra 7.41% s.s di Fortore e 8.99% s.s. di Gargano e mediamente simili alle cultivar testimoni; si evidenziano per valori significativamente superiori alla media le varietà Grifoni (9.25% s.s.) e Adamello (9.85% s.s.); quest'ultima presentava anche la più alta percentuale di frazione insolubile rispetto alle proteine totali. Ad N0 la frazione solubile con un valore medio di 1.99% s.s. variava tra 1.53 (Adamello) e 2.63 (Grifoni). La maggiore disponibilità di azoto favoriva l'accumulo delle proteine totali e delle frazioni esaminate; in particolare le frazioni proteiche solubili a più basso peso molecolare mediamente incrementavano del 55% (media generale N0=1.99, N80=3.09% s.s.) a differenza delle insolubili che aumentavano del 12% (media generale N0=8.50, N80=9.52% s.s.). Il gruppo delle varietà poco diffuse o non più coltivate mostrava per la frazione proteica insolubile valori medi superiori alle cultivar testimoni (rispettivamente 9.83% s.s., 8.95% s.s.), in particolare si distinguevano le varietà Adamello (11.61% s.s) e Lesina (11.14% s.s) che evidenziavano anche il più elevato contenuto in proteina totale, rispettivamente 14.63% s.s. e 14.41% s.s.

I dati relativi alle analisi dei gruppi disolfuro e sulfidrilici che, come è stato ampiamente riconosciuto, sono fattori che contribuiscono alle caratteristiche viscoelastiche delle proteine di riserva, influenzando in particolare la "firmness" (gruppi S-S) e l'aspetto di gel dell'impasto (reazioni di interscambio tra S-S e SH), mostravano sia ad N0 che ad N80 un'ampia variabilità tra le varietà, pur non evidenziando differenze rilevanti tra le cultivar in prova e le testimoni. Ad N0 le varietà presentavano valori che per gli SH oscillavano tra 19.3 e 39.7  $\mu\text{moli/g}$  proteina e per gli S-S tra 14.5 e 42.1  $\mu\text{moli/g}$  proteina. Ad N80 tendenzialmente si osservava una diminuzione dei gruppi SH (valori compresi tra 18.1 e 33.4  $\mu\text{moli/g}$  proteina) e nella media generale un incremento dei gruppi S-S (valori compresi tra 18.9 e 41.7  $\mu\text{moli/g}$  proteina).

La valutazione sulla semola delle proprietà del glutine ad N0 evidenziava in generale un glutine di qualità mediocre (media generale W=117) e di media tenacità (media generale P/L=1.53) e per alcune cultivar, un glutine poco tenace e più estensibile (P/L <1.1). Ad N80 la qualità del glutine in media risultava migliore per le cultivar in prova (N0: W=124, N80: W=199) e quasi tutte le varietà esaminate beneficiavano del fertilizzante azotato a differenza delle cultivar testimoni per le quali o non si osservavano sostanziali modifiche o si aveva un peggioramento. La tenacità del glutine da questi primi risultati non risultava in media sostanzialmente modificata (media generale P/L=1.33) e, comunque, le varietà presentavano cambiamenti molto differenti in risposta all'apporto di azoto organico.

#### Consorzio Regionale per la Ricerca Applicata e la Sperimentazione (CORERAS) di Palermo

Per quanto riguarda il terzo obiettivo relativo alla valutazione economica dei processi produttivi e la competitività del frumento duro "biologico" rispetto alla produzione convenzionale, al fine di avviare l'indagine sul costo di produzione del grano duro biologico e dell'organizzazione dell'impresa, sono state dapprima predisposte apposite schede di rilevazione che, dopo vari perfezionamenti e sulla base di verifiche condotte in campo, hanno consentito di acquisire i dati e le informazioni necessarie all'analisi di aziende cerealicole operanti in regime di biologico.

La scheda è stata strutturata ed articolata in modo da rilevare in maniera esaustiva le principali caratteristiche organizzative e strutturali delle aziende, concernenti i caratteri generali del fondo, l'indirizzo produttivo aziendale, il tipo di impresa, l'appartenenza o meno ad imprese associative e la consistenza degli investimenti. Inoltre essa è stata impostata per approfondire anche le analisi economiche degli appezzamenti individuati a grano biologico, prevedendo l'acquisizione sia di notizie generali sia di elementi relativi all'organizzazione ed all'esercizio della coltivazione.

In questo primo anno è stato quindi individuato e rilevato un gruppo di 32 aziende che rappresenta comunque un campione significativo della realtà siciliana e che nel prosieguo della ricerca potrà essere ulteriormente ampliato.

**Le caratteristiche principali delle aziende rilevate sono riportate nella seguente tabella.**

Azienda	Nome	Comune	Superficie (ha)	Sup. grano (ha)	a % a grano
1	Andolina G.	Pratameno	14,5	6,8	47
2	Arcuri E.	Monreale	74,0	9,7	13
3	Barone S.	Scalfani Bagni	115,0	40,2	35
4	Barra M.	Marineo	110,8	20,0	18
5	Cappellino P.	Scalfani Bagni	27,6	10,0	36
6	Cascio Ingurgio F.	Corleone	121,0	7,8	6
7	Di Baudo G.	Valledolmo	35,9	13,0	36
8	Di Baudo R.	Scalfani Bagni	19,3	11,7	61
9	Di Gangi F.	Polizi Generosa	67,9	27,7	41
10	Di Miceli P.	Contessa Entellina	40,6	30,1	74
11	Di Salvo G.	Castellana Sicula	260	40	15
12	Di Salvo L.	Bolognetta	154	28	18
13	Di Salvo R.	Petralia Sottana	57	18	31
14	Di Trapani S.	Mezzojuso	45,7	4,5	10
15	Dolce Dolce V.	Scalfani Bagni	56,7	11,3	20
16	Drago G.	Castronovo di S.	21,2	10,5	49
17	Ferrara E.	Cefalà Diana	35,7	5,9	17
18	Gorgone M.	Roccapalumba	83,5	19,0	23
19	Guarino P.	Castronovo di S.	54,6	27,2	50
20	Lo Cascio C.	Cerda	4,6	1,3	28
21	Manali T.	Monreale	24,6	13,1	53
22	Matranga C.	Cerda	15,9	5,9	37
23	Matranga G.	Cerda	9,8	3,9	40
24	Mondello G.	Monreale	60,8	11	19
25	Musacchia D.	Contessa Entellina	59,5	23,7	40
26	Musacchia G.	Contessa Entellina	27,5	24,4	88
27	Panepinto A.	Caltavuturo	22,7	5,3	23
28	Pillitteri S.	Contessa Entellina	51,6	2,2	4
29	Pisa V.	Scalfani Bagni	15,7	6,1	39
30	Tirrito C.	Lercara Friddi	36,5	13,0	36
31	Vassallo G.	Contessa Entellina	73,1	23,8	33
32	Venuti F.	Roccapalumba	87,5	32,9	38
TOTALE			1884,7	507,9	27

Per quanto attiene la determinazione dei costi di produzione è stata adottata la metodologia già sperimentata in studi analoghi, che prevede l'articolazione dei costi di produzione in tre grandi

categorie in rapporto alle modalità di determinazione e precisamente: “materiali”, “lavori e servizi” e “quote e altre determinazioni”.

Detta metodologia è stata comunque prima utilizzata in alcuni casi studio al fine di saggiarne l'impostazione prescelta.

I dati relativi alle aziende rilevate sono attualmente oggetto di elaborazione e per alcune di esse si è già in possesso dei primi dati relativi al valore della produzione lorda vendibile nonché ai costi ed ai margini aziendali.

Nel corso del primo anno di attività si è altresì avviata la rilevazione di tutta la documentazione normativa di rilevanza del settore a livello comunitario, nazionale e regionale con riferimento alle evoluzioni più recenti e dei principali dati statistici a livello nazionale e regionale sulle evoluzioni delle superfici e delle produzioni del grano duro convenzionale e biologico. Specifiche indagini sono state effettuate presso gli uffici competenti dell'Assessorato Agricoltura e Foreste della Regione Siciliana (Dipartimento Interventi Strutturali – IV servizio sviluppo locale e attività agro-alimentari).

### ***Fruento tenero***

#### ISC Sezione di S. Angelo Lodigiano

La caratterizzazione qualitativa delle varietà inserite nella rete nazionale prevede, per ogni località di prova, l'effettuazione di analisi semplici (durezza delle cariossidi, contenuto proteico, volume di sedimentazione in SDS) sul prodotto delle singole parcelle ed analisi tecnologiche (macinazione, indice di Hagberg, alveografo, farinografo) sul prodotto riunito delle tre repliche.

Complessivamente sono pervenuti alla Sezione i campioni di 14 località. Rispetto a quanto programmato, da Lonigo sono stati inviati i campioni già riuniti delle tre repliche, mentre non sono pervenuti i campioni delle due località del Friuli.

Al momento della stesura di questa relazione, si sta procedendo alla macinazione dei campioni delle parcelle riunite mentre sono state completate le analisi semplici su tutto il materiale ricevuto.

Il carattere durezza delle cariossidi è risultato poco influenzato dalle condizioni ambientali come evidenziato dalla ridotta variazione tra le medie delle località. E' stata generalmente confermata la classe di durezza tipica delle cultivar: Abbondanza, Autonomia B, Bilancia, Bolero e Craklin sono risultate *soft*, Agadir, Colfiorito, Enesco, Etecho, Eureka, Genio, Guadalupe, Isengrain, Pandas, Positano, Sirmione, Soissons e Tibet sono risultate *medium*, mentre Blasco e Levis sono risultate *hard*.

Il contenuto proteico della granella è risultato, come atteso, molto variabile tra località come evidenziato dalle differenze nei valori medi che oscillano da un minimo di 8.5% a Perugia ad un massimo di 13.0% a Ravenna. Le differenze varietali sono risultate evidenti con i valori più elevati osservati in genere per Bolero, Autonomia B e Levis ed i valori più bassi per Craklin, Tibet e Guadalupe.

Il volume di sedimentazione in SDS fornisce una prima indicazione della qualità tecnologica del prodotto in quanto dipende sia dalla quantità che dalla qualità delle proteine accumulate nella granella. I valori medi sono risultati estremamente variabili tra località con i valori più bassi, inferiori a 40mL, registrati a Perugia, S. Angelo Lodigiano e Sulmona ed i valori più elevati, superiori a 50mL, registrati a Lonigo e Parma. Anche per questo carattere le differenze varietali sono risultate marcate: Pandas e Levis, salvo poche eccezioni, si sono posizionate ai vertici della classifica, mentre Craklin si è posizionata all'estremità inferiore in tutte le località.

In conclusione l'insieme dei risultati ottenuti dimostra che il grano prodotto secondo disciplinari di produzione biologica presenta in genere caratteristiche qualitative inferiori al convenzionale che sembrano prevalentemente dipendere dal ridotto accumulo di proteine nelle cariossidi. Le conoscenze di fisiologia della produzione suggeriscono che tale riduzione sia determinata dalla ridotta disponibilità di azoto assimilabile non solo nel periodo di granigione ma anche, e forse soprattutto, nel periodo vegetativo dato che circa il 50% dell'azoto normalmente presente nella granella viene precedentemente accumulato nelle parti vegetative e solo successivamente traslocato nelle cariossidi.

Nell'ambito del progetto erano previsti screening preliminari delle micotossine DON e OcrA, per poter poi proseguire con analisi quantitative più precise e complesse (mediante HPLC) solo sui campioni risultati positivi. Le analisi dei campioni di frumento tenero, relative ai dati di presenza di DON, sono state completate, mentre sono in corso quelle relative alla presenza di OcrA.

Si sono potuti analizzare, per quanto riguarda le prove nazionali biologiche, 14 campi. Le analisi sono state effettuate per mezzo di un test rapido, di tipo competitivo immunoenzimatico, che permette di ottenere una valutazione quantitativa delle tossine sufficientemente precisa. I kit utilizzati, prodotti dalla R-Biopharm AG (Darmstadt, Germany), sono rispettivamente il Ridascreen® DON (Art. No.: R5906) e il Ridascreen® Ochratoxin A (Art. No.: R1301). Base del test è la reazione antigene-anticorpo, che permette, mediante l'applicazione di un protocollo relativamente semplice e rapido, di leggere mediante fotometro (a 450 nm), la concentrazione delle tossine presenti nello sfarinato integrale.

Il grado di contaminazione rilevato è stato mediamente basso, per tutti i campi, se si fa eccezione per i campi di Ceregnano (RO), che presumibilmente ha avuto dei problemi di conservazione dopo la raccolta, e dunque non è indicativo di un reale alto grado di infestazione in campo, e di Roma, che mostra un picco di contaminazione nella varietà Eureka, che innalza in modo abbastanza anomalo il valore medio; in nessun caso però, se si considerano i valori medi dei campi, si sono oltrepassati i valori limite di 500 ppb.

Per quanto riguarda le singole varietà: i valori più elevati si sono riscontrati in Eureka, con una media di 285 ppb, dovuto ai dati rilevati nel campo di Roma, in cui si superano i 1000 ppb (quando il limite ammesso è di 500) in due replicazioni su tre. Altre varietà di cui far menzione per valori superiori a 100 ppb in almeno una replicazione sono: Colfiorito a Ceregnano (con una replicazione addirittura superiore a 630 ppb), seguito, nello stesso campo, da Bilancia, Bolero, Genio, Guadalupe, Pandas, Sirmione e Tibet, con valori però decisamente inferiori. Sempre con valori superiori a 100 ppb in almeno una replicazione, ma entro i limiti ammessi, si possono indicare anche: Sirmione a Leno (BS), Craklin, Eureka, Genio e Levis a Ravenna, Agadir, Colfiorito, Genio, e Guadalupe a S.Piero a Grado (PI) ed ancora Eureka a Papiano (PG). La maggior parte delle varietà ha tuttavia mostrato, anche nei suoi valori massimi, contaminazioni inferiori a 200 ppb (in 13 casi su 20).

L'ultimo dato interessante riguarda il numero di campi in cui le singole varietà sono risultate infestate: Genio, con 9 campi su 14, seguito da Colfiorito ed Isengrain con 8 su 14, sembrano essere quelli più suscettibili, seppur mediamente con valori non superiori ai limiti tollerati.

## U.O. 8

**Titolo della Ricerca:** Qualità organolettica di prodotti derivati da frumento duro e tenero biologico.

**Responsabile scientifico:** Fiorella Sinesio

Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Roma.

E-mail: [sinesio@inran.it](mailto:sinesio@inran.it)

### Relazione attività svolta (I° anno)

L'attività del primo anno ha riguardato la programmazione e conduzione di test preliminari su pane di frumento tenero di agricoltura biologica. In particolare, è stato messo a punto un protocollo per la panificazione, identificato il set di campioni di farine per le analisi e messa a punto la procedura di valutazione sensoriale dei prodotti con metodo descrittivo, che richiede l'utilizzo di giudici selezionati ed addestrati nelle valutazioni quali-quantitative.

Da uno screening iniziale di 15 varietà di frumento tenero, sono state selezionate per la panificazione 8 farine di diversa forza (W e P/L) e con caratteristiche diverse in termini di qualità/quantità di glutine e proprietà reologiche dei relativi impasti.

Le farine selezionate, di cui 5 derivate da agricoltura convenzionale e 3 da agricoltura biologica, presentano le seguenti caratteristiche: agricoltura convenzionale: (1) W=113; P/L=0,21; (2) W=190; P/L=0,75; (3) W=255; P/L=0,54; (4) W=350; P/L=0,60; (5) W=420; P/L=0,45; agricoltura biologica: (b1) W=180; P/L=0,60; (b2) W=290; P/L=0,50; (b3) W=380; P/L=0,50.

Sui campioni sono state avviate indagini sensoriali preliminari per istruire il panel nelle valutazioni, sviluppare il lessico dei descrittori sensoriali e valutare l'affidabilità dei risultati forniti (ripetibilità delle risposte). Il panel (12 assaggiatori) è stato istruito rispettando le linee guida degli standard europei (Norma ISO 8586 – *Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors. Part 2: Experts.*).

L'addestramento ha consentito al gruppo di: (i) acquisire familiarità con le caratteristiche di aroma/gusto e consistenza dei prodotti; (ii) generare un vocabolario di termini sensoriali e le relative definizioni; (iii) ridurre l'elenco iniziale selezionando i descrittori sensoriali adatti ai prodotti; (iv) raggiungere il consenso del gruppo circa l'intensità e l'ordine con cui ciascuna caratteristica si manifesta; (v) calibrare il panel nelle valutazioni su scala.

La fase successiva riguarderà l'analisi di campioni di pane ottenuti da farine commerciali biologiche (b1) W=180; P/L=0,60; (b2) W=290; P/L=0,50; (b3) W=380; P/L=0,50 da confrontare con pane preparato con farina di grano tenero da coltivazione convenzionale W=255; P/L=0,54.

Altra attività svolta in questa fase iniziale del programma di ricerca è stata la messa a punto del metodo per la determinazione dell'estensibilità degli impasti. Per questa determinazione è stato usato il dispositivo di Kieffer applicato ad un Texture Analyser TA-TX2i (Stable Micro System). La messa a punto ha riguardato:

- le modalità di preparazione degli impasti;
- le modalità di preparazione del campione di impasto da sottoporre al test;
- le procedure per l'individuazione e misura dei parametri (massima resistenza all'estensione, estensione massima, estensione al punto di rottura)

In particolare, le modalità di preparazione del campione di impasto hanno richiesto la standardizzazione delle fasi di formatura del provino da analizzare e quella di "riposo" dello stesso prima del test in un ambiente a 30°C di temperatura e con un'atmosfera satura di umidità.