



Reg. (UE) n. 1305/2013

Programma di Sviluppo Rurale 2014/2020 della Regione Toscana

Codice PIF 35/2017

Sottomisura 16.2

Progetto FIL.CO.T. - Filiera Corilicola Toscana

Coordinatore: Loacker Tenute Corte Migliorina Soc. Agr. Resp. Limitata

Responsabile scientifico Progetto FIL.CO.T.

Dr. Maurizio Furlan (MFurlan@loacker.com)

RELAZIONE TECNICO-SCIENTIFICA CONCLUSIVA

Spesa totale ammessa € 170.000,00

di cui

€ 90.000,00 (DAFNE-Università della Tuscia), € 80.000,00 (Loacker Tenute Corte Migliorina)

Tasso di contribuzione (90%)

Contributo totale ammesso € 153.000,00

di cui

€ 81.000,00 (DAFNE-Università della Tuscia), € 72.000,00 (Loacker Tenute Corte Migliorina)



RELAZIONE CONCLUSIVA SOTTOMISURA 16.2

Progetto FIL.CO.T. - Filiera Corilicola Toscana

Periodo di riferimento: dal 22/09/2020 al 03/05/2023

1. Partenariato progetto FIL.CO. T.: ruoli e attività svolte dagli attuatori della sottomisura 16.2.

Attuatore 1: Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.

L'attuatore 1 ha svolto le funzioni di Coordinatore di Progetto e di Unità Operativa (Codice partecipante: A.1.1; A1.2).

Responsabile Legale dell'Attuatore 1 (Unità Operativa 1): Dr. Maurizio Furlan.

Responsabile Scientifico dell'Attuatore 1 (Unità Operativa 1): Dr. Maurizio Furlan.

Partecipanti all'Unità Operativa dell'Attuatore 1: Sig. Marco Perugini; Sig. Michele Mureddu.

Attuatore 2: Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) - Università della Tuscia.

L'attuatore 2 ha svolto funzioni di Unità Operativa (Codice Partecipante: A2.1).

Responsabile Legale dell'Attuatore 2 (Unità Operativa 2): Prof. Danilo Monarca (Direttore DAFNE).

Responsabile Scientifico dell'Attuatore 2 (Unità Operativa 2): Prof. Valerio Cristofori (Professore Associato afferente DAFNE).

Partecipanti all'Unità Operativa dell'Attuatore 2: Prof. Simone Priori (Professore Associato afferente DAFNE); Laboratorio di Tecnologie Alimentari del Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici Agroalimentari e Forestali (DIBAF) - Università degli Studi della Tuscia (Responsabile di laboratorio Prof. Andrea Bellincontro, Professore Associato afferente DIBAF); Dr. Edoardo Pagani (Assegnista di ricerca: durata contratto 12 mesi); Dr. Aniello Luca Pica (Assegnista



Regione Toscana



di ricerca: durata contratto 6 mesi); Dr. Agr. Maurizio Domenichini (incarico di lavoro autonomo professionale per svolgimento *“Attività seminariali teorico-pratiche e workshop su tutte le tematiche della filiera corilicola presso la regione Toscana e supporto tecnico nella rendicontazione finale di progetto”*).

2. Innovazioni messe a punto e trasferite dal progetto, metodologie seguite e tempistica, prodotti e risultati conseguiti.

La presente sezione di relazione conclusiva Progetto FIL.CO.T., descrive nel dettaglio le attività svolte ed i principali risultati ottenuti nelle 7 Azioni di Progetto programmate.

Azione 1 - Valutazione della vocazionalità/adattabilità varietale.

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) – Università della Tuscia

La valutazione della vocazionalità ambientale per la coltivazione del nocciolo nel territorio toscano oggetto di nuova introduzione dei noccioli, si espleta attraverso lo studio delle caratteristiche pedoclimatiche dell'area, da affiancare a periodiche osservazioni fenologiche e agronomiche delle cultivar introdotte nell'ambiente.

L'Azione descrive dunque le attività condotte in tal senso, tramite puntiformi valutazioni delle caratteristiche climatiche di zona, svolte grazie alla presenza di stazioni agrometeorologiche presenti nell'azienda sperimentale, attività di "soil mapping" con impiego di sensori ad induzione elettromagnetica, monitoraggio fenologico e agronomico delle varie cultivar presenti in azienda già in fase di avvio del Progetto e di alcune delle nuove cultivar costituite presso l'Oregon State University (USA) e introdotte nell'azienda sperimentale in seno al Progetto.

Prima di descrivere i risultati ottenuti a seguito delle attività di fenotipizzazione varietale in campo, viene di seguito descritta l'attività di "soil mapping" condotta tramite impiego di sensore prossimale ad induzione elettromagnetica, per la realizzazione di una accurata cartografia pedologica del campo collezione, da associare successivamente al comportamento fenologico e agronomico delle cultivar di nocciolo in collezione.

Attività di soil mapping del campo collezione di cultivar di nocciolo.

L'area interessata dalla presenza delle cultivar americane di nocciolo europeo (*Corylus avellana*) è stata oggetto di una accurata cartografia pedologica, al fine di comprendere al meglio le performance agronomiche delle varietà nell'ambiente considerato.

Il protocollo sperimentale per l'esecuzione dei rilievi e le caratteristiche tecniche del sensore ad induzione elettromagnetica utilizzato, verranno descritte successivamente (Azioni 3 e 4) per le attività sperimentali sviluppate in toto tramite ausilio di tale tecnologia da agricoltura 4.0.

Il campo varietale è stato dunque rilevato tramite sensore di rilevamento prossimale ad induzione elettromagnetica (EMI, Mini Explorer della GF-instruments, Repubblica Ceca) per la cartografia della conducibilità elettrica apparente (ECa). Questo sensore consente di misurare la conducibilità elettrica del terreno in tre distinti intervalli di profondità (0-50, 0-100 e 0-150 cm), senza alcun bisogno di contatto tra terreno e strumento. Il sensore, trasportabile a mano, o trainabile tramite veicolo ATV o trattore, è corredato di GPS e data-logger collegati tramite tecnologia Bluetooth.

In questo studio, il sensore è stato trasportato in modo manuale, seguendo un percorso sia orizzontale che verticale degli interfilari (figura 1.1).



Figura 1.1. Trasporto del sensore Mini-Explorer GF-instruments (a sinistra), e mappa della conducibilità elettrica dei suoli con percorso effettuato (a destra).

I dati puntuali registrati dal sensore sono stati poi spazializzati tramite analisi geostatistica, così da ottenere delle carte raster (risoluzione 1m x 1m) dell'intero appezzamento.

In seguito all'elaborazione dei dati è stata riscontrata un'ampia fascia con ECa generalmente inferiore a 20 ms/m, dovuta principalmente alla composizione sabbiosa del terreno soprattutto nei

primi due orizzonti di suolo a 50 e 100 cm. Nel quarto nord-est dell'appezzamento è stata invece riscontrata una fascia ad elevata ECa (50-60 mS/m). (figura 1.2).

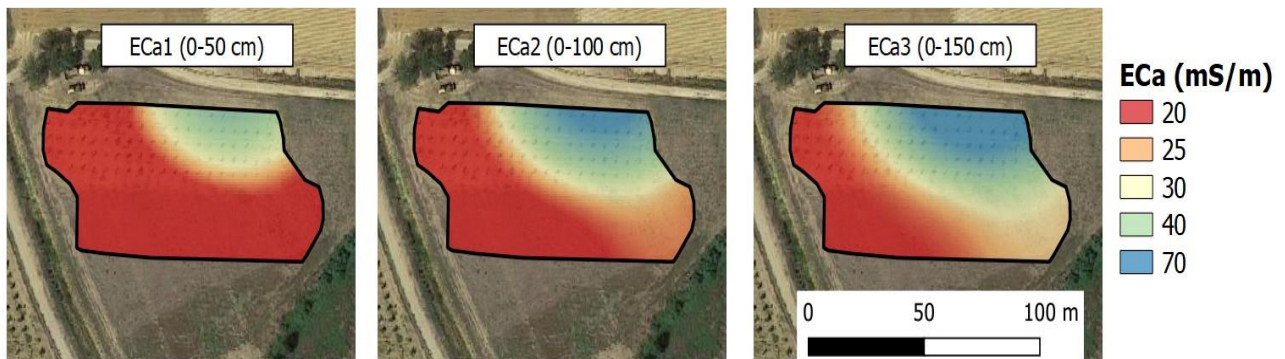


Figura 1.2. Cartografia di alto dettaglio a tre differenti profondità (sinistra: 0-50 cm; centro: 0-100 cm; destra: 0-150 cm) ottenuta tramite impiego del sensore Mini-Explorer.

Per comprendere la causa di questa variazione di ECa sono state effettuate 3 trivellate manuali di suolo, fino alla profondità di circa 1 metro, nelle zone maggiormente diversificate per la ECa. Come si può vedere dalla figura 1.4, l'area a minor ECa (circa 20 mS/m) era caratterizzata da una tessitura franco-sabbiosa (argilla tra 15 e 20%), mentre l'area con ECa intermedia (circa 30 mS/m) nel quarto sud-est del campo, presentava un'argilla leggermente superiore (argilla tra 25 e 30%, tessitura franca, franco-argillosa in profondità). Nel quarto nord-est, caratterizzato da un'elevata ECa (50-60 mS/m), in profondità la percentuale d'argilla saliva fino a circa il 35%, ma soprattutto era presente acqua libera, in forma di falda sospesa, a circa 70-80 cm di profondità. Per questa ragione, il quarto nord-est del campo, con ECa più elevata, può essere considerato potenzialmente più fertile e ricco di acqua disponibile, rispetto al resto dell'appezzamento.

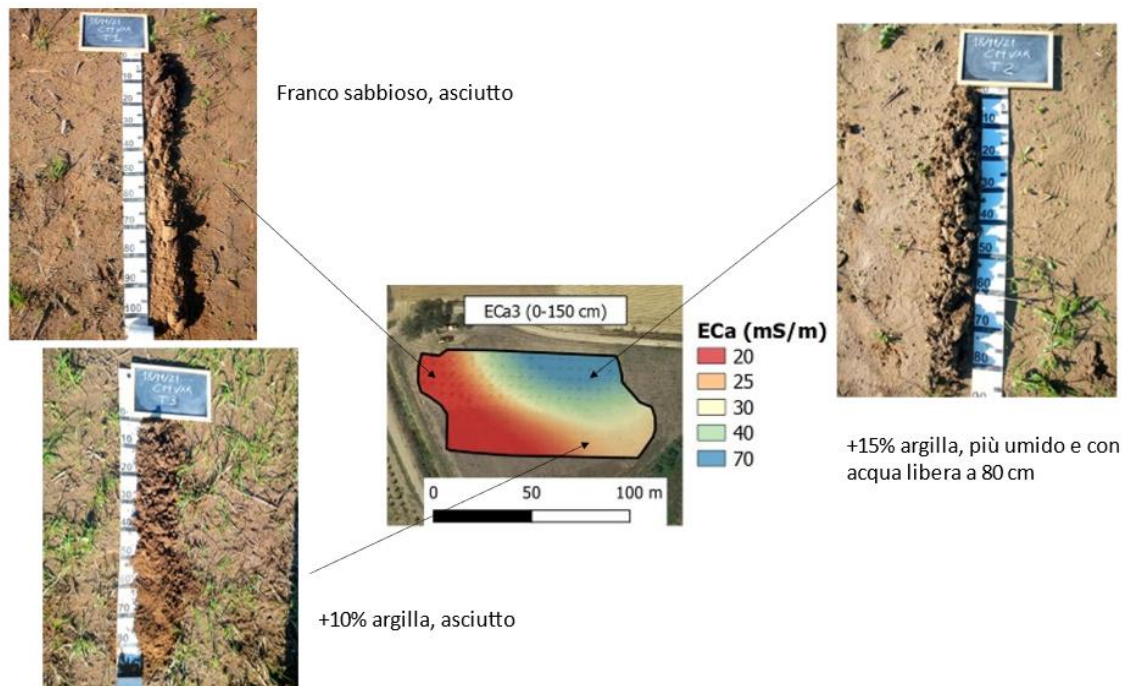


Figura 2.3. Descrizione qualitativa dei suoli a seguito delle trivellate di suolo condotte nel campo varietale, sulla base delle indicazioni derivanti dalle mappe di conducibilità elettrica elaborate a differenti profondità.

Analisi climatica dell'area oggetto di studio.

Al fine di comprendere meglio l'adattamento delle varietà all'interno del campo sperimentale in figura 1.4 è rappresentato l'andamento termo-pluviometrico della stagione 2021 ottenuto dalla elaborazione dei parametri climatici giornalieri acquisiti dalla stazione meteorologica installata nell'azienda Corte Migliorina. Il 2021 è stato un anno caratterizzato da scarse precipitazioni con solo 445 mm di pioggia cumulata. I mesi di marzo, giugno, luglio e agosto erano caratterizzati da una quantità di pioggia mensile compresa tra 2 e 6 mm, mentre nel mese di settembre non si è verificato alcun evento meteorico. Novembre è stato il mese caratterizzato da maggiori precipitazioni (190 mm circa). I mesi di marzo e aprile sono stati caratterizzati da significativi ritorni di freddo, con temperature minime che hanno raggiunto -2 e -4 °C rispettivamente, compromettendo la conseguente fruttificazione stagionale. Al contrario le alte temperature estive e la totale assenza di piogge hanno richiesto l'impiego di consistenti volumi di irrigazione durante i mesi di giugno, luglio e agosto.

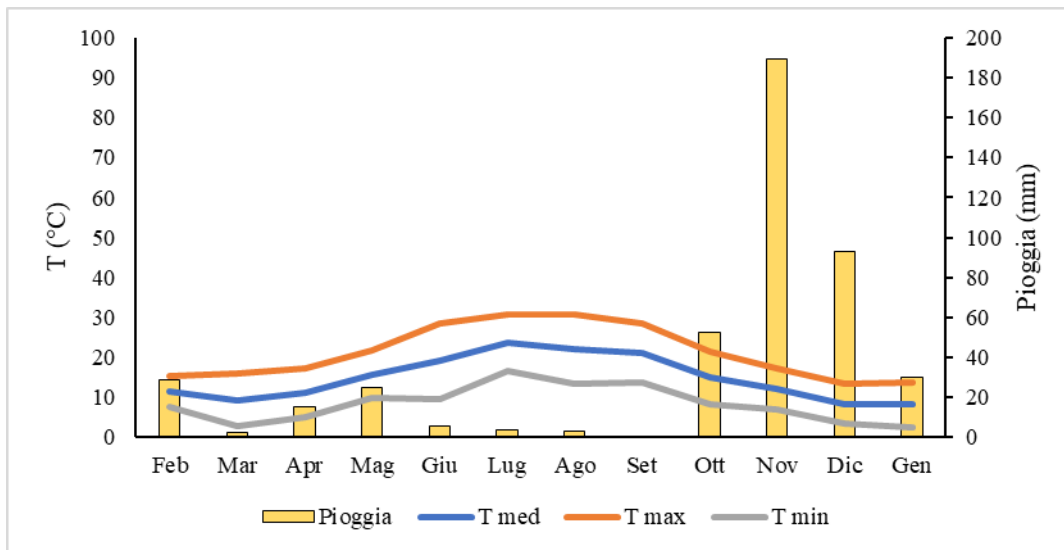


Figura 1.5. Grafico termo-pluviometrico di Bagnouls-Gaussen; media delle temperature mensili (massima, media e minima) e piovosità mensile registrate nell'anno 2021 presso la stazione agrometeorologica dell'azienda Corte Migliorina.

Anche nell'anno 2022 (figura 1.6) le precipitazioni estive sono state modeste, facendo registrare una maggiore consistenza durante la fine del mese di agosto e nella prima settimana di settembre, in concomitanza con l'inizio della raccolta a terra delle nocciole. Anche nel 2022 la criticità climatica più evidente è risultata essere le elevate temperature estive nelle ore diurne, spesso superiori ai 35 °C, inducendo periodi di stress da foto-respirazione nelle piante, e conseguente temporaneo rallentamento della crescita vegetativa.

Da una analisi più approfondita dei "raw data" acquistati tramite stazione agrometeorologica, un possibile "alert" climatico di zona potrebbe essere rappresentato, in condizioni di inverni eccessivamente miti, dal mancato soddisfacimento in freddo dei meristemi delle gemme (chilling requirement), determinando elevata frequenza di sterilità dei fiori e cascola anticipata degli amenti e delle gemme per persistenza meristemica di acido abscissico in forma attiva, non completamente disattivato dalle basse temperature (esposizione dei meristemi a temperature inferiori a +7 °C).

Inoltre, il manifestarsi di venti di scirocco, registrati con moderata frequenza tramite anemometro installato nella stazione agrometeorologica, lascia supporre a possibili manifestazioni di stress fisiopatologico indotto dalla natura salmastra di tale tipologia di vento, accentuata dalla vicinanza del litorale ai corileti di Corte Migliorina.

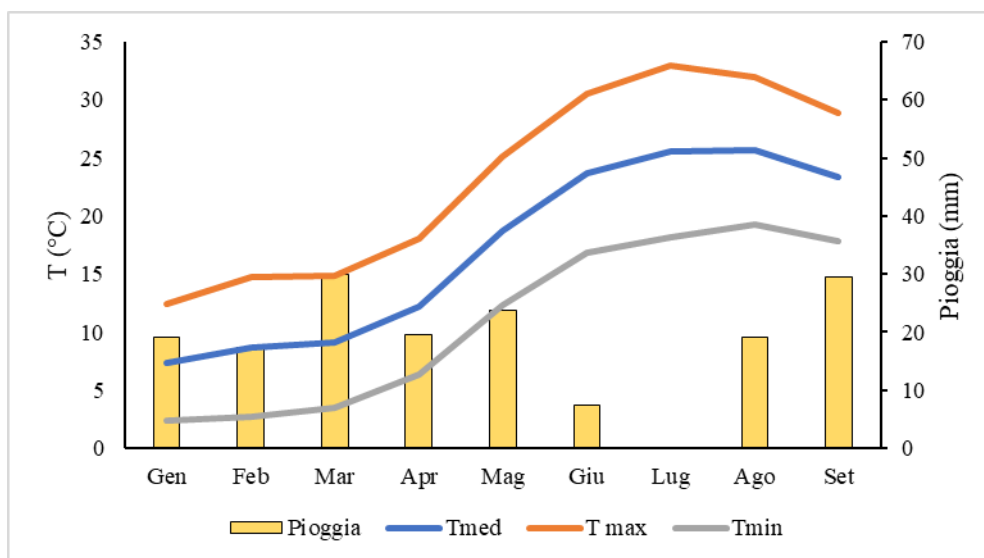


Figura 1.6. Grafico termo-pluviometrico di Bagnouls-Gaussen; media delle temperature mensili (massima, media e minima) e piovosità mensile registrate nell'anno 2022 presso la stazione agrometeorologica dell'azienda Corte Migliorina.

Osservazioni fenologiche, agronomiche ed ecofisiologiche a carico delle cultivar di nocciolo presenti in Corte Migliorina.

Le osservazioni fenologiche, finalizzate a determinare l'adattabilità varietale alle caratteristiche pedo-climatiche del nuovo areale di introduzione del nocciolo, sono state avviate a partire dalla stagione vegeto-produttiva 2021.

L'elaborazione delle acquisizioni di campo, consentono di determinare, almeno su base biennale, i calendari fenologici di ripresa vegetativa, fase riproduttiva (ove presente) e fase di riposo invernale delle cultivar presenti in azienda.

Per uniformare i rilievi di campo, i due Attuatori hanno concordato uno schema di codici fenologici da utilizzare durante tutta la fase di sperimentazione, oltre che per le future annate agrarie. I codici fenologici sono descritti in figura 1.6.

Le osservazioni fenologiche, correlate con le acquisizioni dei parametri climatici e con le mappe del suolo elaborate, contribuiscono a fornire robustezza interpretativa per identificare le cultivar più idonee ad una loro introduzione nel nuovo ambiente di coltivazione.

Un aspetto di particolare interesse relativo all'Azione 1 è rappresentato dalla recente introduzione in Italia di cultivar di nocciolo costituite presso l'Oregon State University di Corvallis (USA), e poste a dimora in azienda Corte Migliorina a seguito di accordi formali sottoscritti dall'Attuatore 1 con

l'Istituto costituente (Oregon State University), in quanto alcune delle novità varietali introdotte sono attualmente protette da brevetto.

L'introduzione dagli USA di tale materiale genetico certificato, a partire da espianti vegetali *in vitro* esenti da fitopatie e importati da un vivaio certificato con sede in Olanda, che ne predispone la moltiplicazione e ambientamento, si identifica quale esclusiva procedura europea, e dunque anche italiana, da seguire. Ciò a causa delle limitazioni di importazione di materiale di propagazione del nocciolo dal Nord America, dove il germoplasma di *Corylus spp.* è diffusamente colpito dalla malattia fungina causata dall'ascomicete *Anisogramma anomala*, non presente in ambiente europeo.

GR	gemma rigonfia	
RG	rottura gemma	
RV	ripresa vegetativa	
FD	2 Foglioline distese	
FDA	Foglioline distese avanzate (4 foglioline)	
IA	inizio allungamento germogli	
A	allungamento germogli	
AE	allungamento germogli evidente	
ICG	inizio comparsa glomeruli	
CG	comparsa glomeruli	
CGA	comparsa glomeruli avanzata	
CGAA	glomeruli in crescita	
NA	Nocciole in crescita nei glomeruli (inizio ICN)	
NAA	Nocciole in crescita avanzata	guscio elastico
FAC	fine acceriscimento nucule	guscio legnoso
SIC	seme inizio crescita	
SC	seme in crescita	
SFC	seme in fine crescita	
IGCN	inizio guscio colore nocciola	
GCN	guscio colore nocciola (metà)	
GCNA	guscio colore nocciola avanzato	
NQM	nocciola quasi matura	
NM	nocciola matura	

CFN	caduta foglie non ancora iniziata
ICF	inizio caduta foglie
CF	caduta foglie in corso
CFA	caduta foglie avanzata
CFC	fine caduta foglie
RIPV	riposo vegetativo

ICAA	inizio comparsa amenti accennata
ICA	inizio comparsa amenti
CA	comparsa amenti
CAA	comparsa amenti avanzata
AMA	amenti in allungamento
AMAA	amenti in allungamento avanzato

Figura 1.6. Codici fenologici della fase vegetativa e riproduttiva del nocciolo europeo, utilizzati per lo studio fenologico delle cultivar di nocciolo presenti presso l'azienda sperimentale Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr..

Durante le stagioni vegeto produttive 2021 e 2022, a partire dal mese di marzo in concomitanza con la ripresa dell'attività vegetativa del nocciolo, è iniziato lo studio fenologico delle cultivar tramite osservazioni in campo e rilievi fotografici eseguiti con cadenza settimanale dal personale dei 2 Attuatori, al fine di realizzare calendari fenologici per singola cultivar.

Le tabelle 1.1 e 1.2 descrivono gli stadi fenologici di ripresa vegetativa delle cultivar italiane ed europee presenti nel campo collezione, adiacenti alla collezione di cultivar importate dagli USA.

La ripresa vegetativa delle cultivar, quale importante parametro fenologico per valutare la suscettibilità varietale agli eventuali ritorni di freddo primaverili nell'area di studio, è stata determinata a partire dallo stadio di gemma rigonfia, rottura gemma e la comparsa delle prime foglioline. Essendo le piante ancora nella fase giovanile, e quindi non ancora produttive, il calendario fenologico si è concentrato per entrambe le stagioni vegeto-produttive nei mesi di marzo e di aprile, coincidente dunque con la fase di allungamento dei germogli.

Tonda Gentile delle Langhe (TGDL) è risultata la cultivar più precoce per rottura delle gemme, con le prime foglioline visibili già in inizio marzo. Nello stesso periodo le cultivar Riccia di Talanico, Giusi e Nostrale erano in fase di "rottura gemma". Alla fine del mese di marzo, nel 2022 le cultivar Chiara e TGDL presentavano lo stadio di prime foglioline distese, anticipando di poco le cultivar siciliane Santa Maria del Gesù, Armerina, Nostrale e la cultivar campana Tonda di Giffoni. Nell'ultimo rilievo, condotto alla fine di aprile 2022 la maggior parte delle accessioni in campo si trovava in fase di "germoglio in allungamento evidente", mentre le cultivar Mortarella, Tonda Piacentina, Krohos e Tonda Gentile Romana (TGR) risultavano essere lievemente più tardive nella manifestazione degli stadi fenologici di ripresa vegetativa.

Le osservazioni fenologiche condotte su base biennale, pur denotando una significativa plasticità varietale, hanno evidenziato in linea generale una anticipazione di eventi fenologici di circa una settimana nel 2021, rispetto alle fenofasi registrate nell'anno seguente, probabilmente a causa di un più rapido soddisfacimento del caldo verificatosi in fine inverno 2021. Questa anticipazione della ripresa vegetativa ha di fatto esposto alcune delle cultivar più precoci a danni da gelata, verificatisi nell'area di studio a causa dei ritorni di freddo registrati in inizio aprile 2021, con temperature notturne sotto lo zero.

Tabella 1.1. Rilievi fenologici eseguiti presso il campo varietale della Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., per la composizione del calendario fenologico delle cultivar italiane e straniere presenti in azienda (si riportano le fasi di ripresa vegetativa su base quindicinale: anno 2021).

Cultivar	Date dei rilievi fenologici			
	01/03/2021	15/03/2021	29/03/2021	12/04/2021
Armerina	GR	RV	FD	IA-A
Aveluhara	GR	RV	FD	A
Bianca	GR	RG	FD	IA-A
Camponica	GR-RG	RG-FD	FDA	A-AE
Chiara	GR-RG	FD	FDA	AE
Giusi	RG	RG-FD	FDA	A
Krohos	GR	RG	FD	IA
Mortarella	GR	RG	FD	IA
Napoletaneda	GR	RG	FD	IA-A
Nocchione	GR-RG	RV	FD	A-AE
Nociara	GR	RG-RV	FD	FDA-IA
Nostrale	RG	FD	FDA	AE
Riccia di Talanico	RG	RV	FD	A
S. Maria del Gesù	GR	RG	FDA	AE
Sconosciuto	RG	RV	FD	A
Tonda di Giffoni	GR	RG-FD	FDA	A-AE
Tonda Gentile delle Langhe (TGDL)	GR-RG	FD	FDA	AE
Tonda Gentile Romana (TGR)	GR	RG	FD	FDA-IA
Tonda Piacentina	GR	RG	FD	IA



Tabella 1.2. Rilievi fenologici eseguiti presso il campo varietale della Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., per la composizione del calendario fenologico delle cultivar italiane e straniere presenti in azienda (si riportano le fasi di ripresa vegetativa su base quindicinale: anno 2022).

Cultivar	Date dei rilievi fenologici			
	07/03/2022	21/03/2022	04/04/2022	18/04/2022
Armerina	GR-RG	RV-FD	FDA	AE
Aveluhara	GR	RV	FD	A
Bianca	GR	GR-RG	FD	A
Camponica	GR-RG	RG	FD	A
Chiara	GR	FD	FDA	AE
Giusi	RG	RG	FD	A
Krohos	GR	GR-RG	RV-FD	IA
Mortarella	GR	GR-RG	RV-FD	IA
Napoletaneda	GR-RG	RG	FD	A
Nocchione	GR-RG	RV	FD	AE
Nociara	GR	RG-RV	FD	A
Nostrale	RG	RV-FD	FDA	AE
Riccia di Talanico	RG	RV	FD	A
S. Maria del Gesù	GR-RG	RV-FD	FDA	AE
Sconosciuto	RG	RV	FD	A
Tonda di Giffoni	GR-RG	RV-FD	FDA	AE
Tonda Gentile delle Langhe (TGDL)	RG-RV	FD	FDA	AE
Tonda Gentile Romana (TGR)	GR	GR-RG	RV-FD	IA
Tonda Piacentina	GR	GR-RG	RV-FD	IA

Le tabelle 1.3 e 1.4 descrivono le fenofasi di ripresa vegetativa del germoplasma importato dagli USA, osservati durante le stagioni vegeto-produttive 2021-22. Le figure 1.7 e 1.8 riportano invece esemplari rappresentativi dei filari delle varietà USA importate, piantumate in azienda secondo la modalità del "campo collezione" in fine novembre 2020, determinando di fatto l'avvio delle attività sperimentali.

Tabella 1.3. Rilievi fenologici eseguiti presso il campo varietale della Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., per la composizione del calendario fenologico delle cultivar importate dal programma di miglioramento genetico del nocciolo condotto presso l'Oregon State University di Corvallis (si riportano le fasi di ripresa vegetativa su base quindicinale: anno 2021).

Cultivar	Date dei rilievi fenologici			
	01/03/2021	15/03/2021	29/03/2021	12/04/2021
Dorris	GR	RG	FD	IA
Eta	RG	RV-FD	FDA	AE
Felix	GR	RG	FD	FDA-IA
Jefferson	GR	RG	FD	FDA-IA
Mc.Donald	GR	RG	FDA	A
Theta	GR	GR	RG	FDA
Tonda Pacifica	RG-FD	FDA	IA	A
Wepster	GR	RG	FD	IA
Yamhill	RG	RV	FD	IA
York	GR	RG	FD	FDA-A

Tabella 1.4. Rilievi fenologici eseguiti presso il campo varietale della Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., per la composizione del calendario fenologico delle cultivar importate dal programma di miglioramento genetico del nocciolo condotto presso l'Oregon State University di Corvallis (si riportano le fasi di ripresa vegetativa su base quindicinale: anno 2022).

Cultivar	Date dei rilievi fenologici			
	07/03/2022	21/03/2022	04/04/2022	18/04/2022
Dorris	GR	RG	FD	IA
Eta	RV	FD	FDA	AE
Felix	GR-RG	RG	FD	IA
Jefferson	GR-RG	FD	FDA	AE
Mc.Donald	GR/RG	RV-FD	FDA	A
Theta	GR	GR	FD	A
Tonda Pacifica	RG-FD	FDA	IA	AE
Wepster	GR-RG	GR-RG	FD	IA
Yamhill	RG-RV	RV	RV-FD	IA
York	GR-RG	FD	FDA	AE



Figura 1.7. Piante "capofila" delle cultivar Wepster (alto a sinistra), Jefferson (alto al centro), Yamhill (alto a destra), Tonda Pacifica (basso a sinistra), Dorris (basso al centro), Mc Donald (basso a destra), recentemente costituite presso il programma di Miglioramento Genetico del nocciolo dell'Oregon State University di Corvallis (Oregon - USA), a dimora presso l'azienda sperimentale Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., da novembre 2020.



Figura 1.8. Piante "capofila" degli impollinatori York (alto a sinistra), Theta (alto a destra), Felix (basso a sinistra), Eta (basso a destra), recentemente costituiti presso il programma di Miglioramento Genetico del nocciolo dell'Oregon State University di Corvallis (Oregon - USA), a dimora presso l'azienda sperimentale Locker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., da novembre 2020.

Le tabelle 1.3 e 1.4 descrivono le fasi fenologiche di ripresa vegetativa delle cultivar americane osservate nel 2021 e 2022, rispettivamente. Da una analisi generale delle acquisizioni si evince come il 2021 ha influenzato anche la ripresa vegetativa delle accessioni americane di nuova introduzione, che è risultata anticipata di circa una settimana rispetto alle prime manifestazioni di ripresa vegetativa del 2022.

In particolare, cultivar Tonda Pacifica è risultata essere la più precoce in termini di ripresa vegetativa, mentre Dorris e Theta sono risultate le più tardive (rottura gemme tra la seconda e terza decade di marzo).

Durante i rilievi di fine marzo 2022 le varietà Eta, Jefferson e York evidenziavano la fase di prime foglioline distese, mentre nello stesso anno la cultivar Tonda Pacifica evidenziava i prime fasi di allungamento dei germogli, piuttosto marcato già in inizio aprile. La cultivar Yamhill, pur evidenziando una ripresa vegetativa, coincidente con la rottura delle gemme, piuttosto precoce, evidenziava ritmi di crescita del germoglio piuttosto

blandi nella prima fase, attestandosi allo stadio di inizio allungamento dei germogli in prossimità della seconda decade di aprile.

In fine luglio 2021, sono stati condotti inoltre dei rilievi biometrici a carico delle piante presenti nella collezione. In particolare, è stata determinata la sezione del fusto a 20 cm dal suolo, per una prima valutazione della vigoria delle piante, accompagnata dalla misurazione dell'altezza dell'asse centrale, in piante allevate a monocaule (tabella 1.5).

La varietà Wepster è risultata essere la più vigorosa, con valori medi di sezione del tronco di 33,6 cm². York, Felix e Jefferson presentavano valori compresi tra 22 e 28 cm², mentre la cultivar meno vigorosa è risultata essere Mc Donald con valori medi di circa 6 cm².

La varietà che presentava altezze superiori al momento dei rilievi era Theta, caratterizzata da un asse principale di circa 85 cm, mentre Eta, Wepster, Jefferson e Felix, che presentavano valori compresi tra 83 e 80 cm. La varietà meno vigorosa per questo tratto biometrico è risultata essere Yamhill (valori medi di 72 cm), confermando la limitata vigoria che contraddistingue questa cultivar, caratterizzata da portamento aperto e poco assurgente, che di fatto le conferisce elevata efficienza produttiva.

Tabella 1.5. Elenco delle cultivar americane costituite presso l'Oregon State University e importate in ambiente toscano. Rilievi biometrici condotti nel mese di luglio 2021.

Cultivar	Tipologia varietale	Sezione tronco a 20 cm	
		da terra (cm ²)	Altezza astone (cm)
Dorris	Cv principale	11,06 ± 6,10	75,33 ± 6,43
Eta	Impollinatore	11,55 ± 9,12	82,67 ± 9,86
Felix	Impollinatore	22,66 ± 1,23	80,33 ± 7,23
Jefferson	Cv principale	22,56 ± 13,61	81,33 ± 4,16
Mc Donald	Cv principale	6,32 ± 1,29	67,66 ± 5,50
Theta	Impollinatore	24,41 ± 3,51	85,33 ± 6,02
Tonda Pacifica	Cv principale	12,95 ± 5,32	77,66 ± 6,42
Wepster	Cv principale	33,58 ± 8,37	82,00 ± 4,35
Yamhill	Cv principale	15,79 ± 10,87	72,00 ± 6,92
York	Impollinatore	27,96 ± 21,72	78,33 ± 6,50

Nel mese di dicembre 2021 sono state ripetute le osservazioni biometriche relative all'altezza delle piante in campo, affiancate da osservazioni qualitative riguardanti l'entrata in riposo vegetativo delle piante, determinato dalla caduta delle foglie, e l'eventuale presenza di infiorescenze maschili (amenti) quale tratto indicativo dell'entrata in fase di maturità riproduttiva delle piante (tabella 1.6). Dai rilievi condotti è emerso come la cultivar Dorris è risultata la più precoce nell'entrata in riposo vegetativo, mentre a fine 2021 nessuna delle accessioni presenti in collezione manifestava la presenza di fiori maschili.

Tabella 1.6. Rilievi biometrici condotti nel mese di dicembre 2021, a carico delle accessioni americane introdotte in ambiente toscano.

Cultivar	Altezza (cm)	Presenza foglie	Presenza amenti
Dorris	79,25 ± 6,00	No	No
Eta	85,07 ± 4,16	Si	No
Felix	84,13 ± 6,21	Si	No
Jefferson	87,03 ± 6,56	Si	No
Mc Donald	71,66 ± 5,00	Si	No
Theta	89,13 ± 7,10	Si	No
Tonda Pacifica	79,96 ± 7,52	Si	No
Wepster	87,30 ± 3,35	Si	No
Yamhill	77,10 ± 6,23	Si	No
York	82,22 ± 7,15	Si	No

Analisi dei parametri ecofisiologici: contenuto di clorofilla, flavonoli, antocianine e determinazione dell'indice di bilancio azotato.

I rilievi ecofisiologici sono stato condotti a carico di foglie mature rappresentative della "canopy" della pianta e hanno riguardato il contenuto di clorofilla, di flavonoli, antocianine e indice di bilancio azotato (NBI). Questi parametri ecofisiologici della foglia sono stati misurati con l'ausilio del fogliarimento da campo DUALEX PLUS® (FORCE-A, Orsay, Francia) (figura 1.9). Lo strumento da campo è costituito da una pinza ed un sensore in grado di rilevare i valori in maniera

non distruttiva. Tutti i dati (tranne il parametro NBI, che rilascia un indice di incidenza della dotazione azotata della foglia) restituiscono un valore in $\mu\text{g cm}^{-1}$.

Per la standardizzazione delle acquisizioni in campo, i rilievi sono stati condotti a carico delle prime due foglie espanse per tutte le piante, prestando particolare attenzione ad utilizzare foglie con la stessa età fisiologica e ben esposte alla luce solare, tenendo inoltre conto dei quattro punti cardinali in termini di selezione delle foglie da testare, al fine di mediare l'effetto esposizione. La stima dell'azoto nella pianta, espressa attraverso un numero adimensionale (NBI) computato dallo strumento secondo il rapporto tra clorofille e flavonoli, è basata sull'evidenza che, in caso di deficienza di azoto, le piante modificano il loro metabolismo incrementando la produzione di flavonoli, legati al metabolismo secondario della pianta, e a spese delle clorofille, legate invece al metabolismo primario.

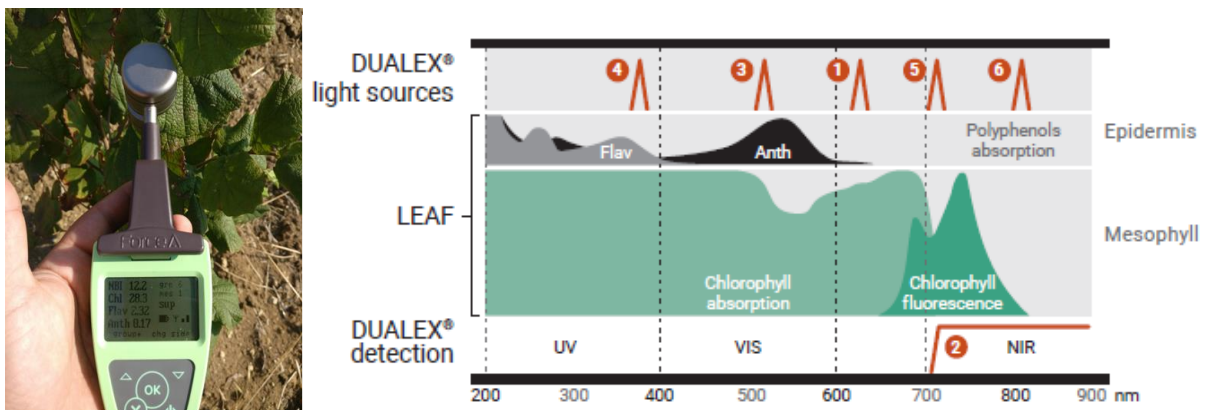


Figura 1.9. Dualex Scientific™ - DUALEX PLUS ®. A sinistra: esempio di rilievi di campo del contenuto di clorofilla, flavonoli, antocianine e NBI su foglie di nocciolo. A destra: descrizione del principio di funzionamento dello strumento. Il DUALEX® misura il contenuto di clorofilla delle foglie grazie a un rapporto di trasmittanza a due diverse lunghezze d'onda: una nel rosso lontano (5) assorbita dalla clorofilla e una nell'infrarosso vicino (6) come riferimento. La fluorescenza della clorofilla nel vicino infrarosso è misurata sotto una prima luce di riferimento di eccitazione non assorbita dai polifenoli (1). Essa viene confrontata con una seconda luce di campionamento specifica assorbita dai polifenoli: verde per gli antociani (3), UV per i flavonoli (4). Solo una frazione di questa luce raggiunge la clorofilla nel mesofillo e può generare la sua fluorescenza nel vicino infrarosso (2). Questo principio di misurazione è chiamato "effetto di screening dei polifenoli sulla fluorescenza della clorofilla".

La determinazione del contenuto di clorofilla e altri pigmenti nelle foglie, contribuisce dunque a determinare lo stato ecofisiologico della pianta. In particolare, l'indice del bilancio azotato nelle foglie mature consente una valutazione precoce e non distruttiva circa lo stato di nutrizione azotata della pianta, quale strumento attendibile per eventuali correzioni nei piani di fertilizzazione della

coltura. Flavonoli e antocianine, raggruppati nel gruppo dei flavonoidi, sono prodotti a base di carbonio del metabolismo secondario della pianta e sono accumulati negli strati più esterni delle foglie. Questi agiscono come potenti fotoprotettori e antiossidanti. La loro sintesi è controllata da diversi fattori, come ad esempio le carenze nutrizionali, in particolare zolfo e fosforo, ed è influenzata da parametri ambientali tra cui temperatura ed elevata intensità di radiazione. Come spiegato dall'ipotesi del bilancio di differenziazione della crescita il contenuto di flavonoidi aumenta con una bassa disponibilità di N ed è generalmente inversamente correlato al contenuto di clorofilla. Le misurazioni non distruttive effettuate nella stagione vegeto-produttiva 2021 con l'utilizzo del fogliarimetro, hanno consentito di determinare il contenuto di clorofilla totale (Chl), antocianine (Anth), flavonoidi (Flav) e l'indice di stato azotato (NBI) delle singole varietà.

Nelle figure 1.10, 1.11, 1.12 e 1.13 sono riportati in forma grafica i valori medi di clorofilla totale (Chl), NBI, flavonoli (Flav), antocianine (Anth), sottoposti a preliminare analisi della varianza, delle cultivar italiane e straniere presenti in collezione. I valori di Chl più elevati sono stati osservati nelle cultivar Armerina, Bianca, Chiara e Mortarella, e compresi tra $33 \mu\text{g cm}^{-1}$ e $32 \mu\text{g cm}^{-1}$. I valori più bassi sono stati osservati in TGR e TGDL (rispettivamente $18 \mu\text{g cm}^{-1}$ e $19 \mu\text{g cm}^{-1}$).

I valori medi più elevati di indice di bilancio azotato sono stati osservati nella varietà Bianca (NBI = 18), mentre valori leggermente inferiori sono stati osservati nelle varietà Krohos e Mortarella (NBI = 17). Come per la Chl anche in questo caso i valori più bassi di NBI sono stati osservati nella cultivar TGR (NBI = 8,6).

Il contenuto di flavonoli nelle foglie era compreso tra $2,15 \mu\text{g cm}^{-1}$ (cv Avelehuara) e $1,71 \mu\text{g cm}^{-1}$ (cv Krohos). Valori elevati di flavonoli sono stati osservati anche in Napoletaneda e Nostrale con un valore medio di NBI di $2,10 \mu\text{g cm}^{-1}$ per entrambe le cultivar. I valori di antocianine sono risultati invece molto eterogenei e compresi tra $0,21 \mu\text{g cm}^{-1}$ osservato in TGR e $0,05 \mu\text{g cm}^{-1}$ osservato in Bianca.

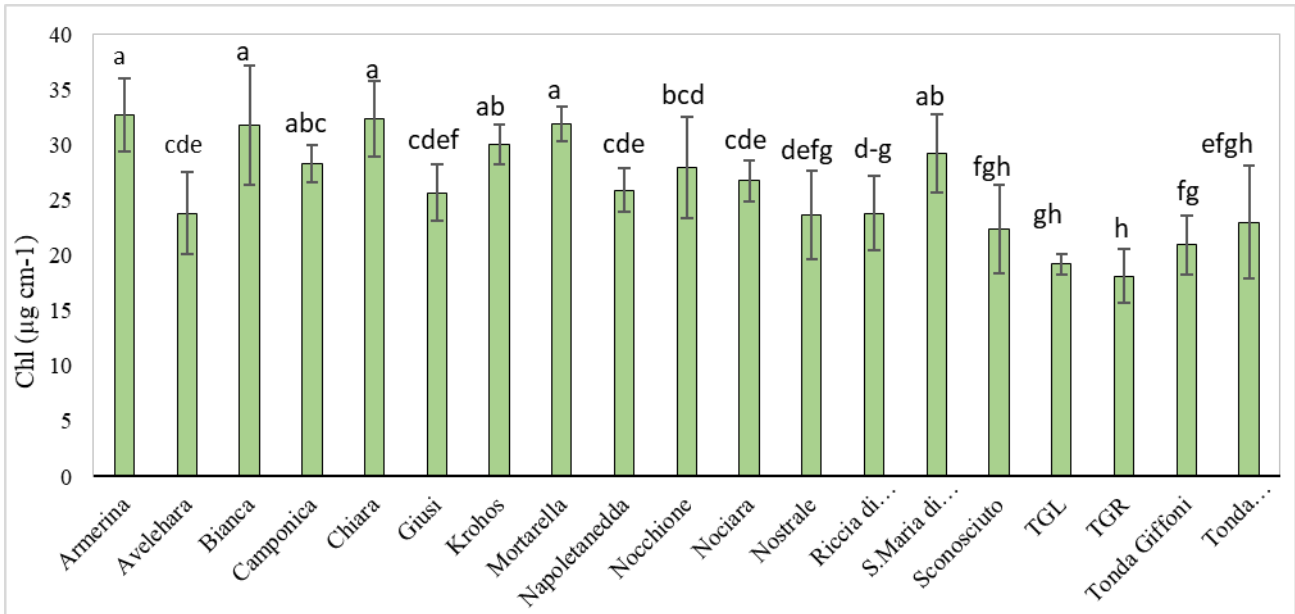


Figura 1.10. Contenuto di clorofilla (Chl) nelle foglie delle cultivar di origine italiana e straniera in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

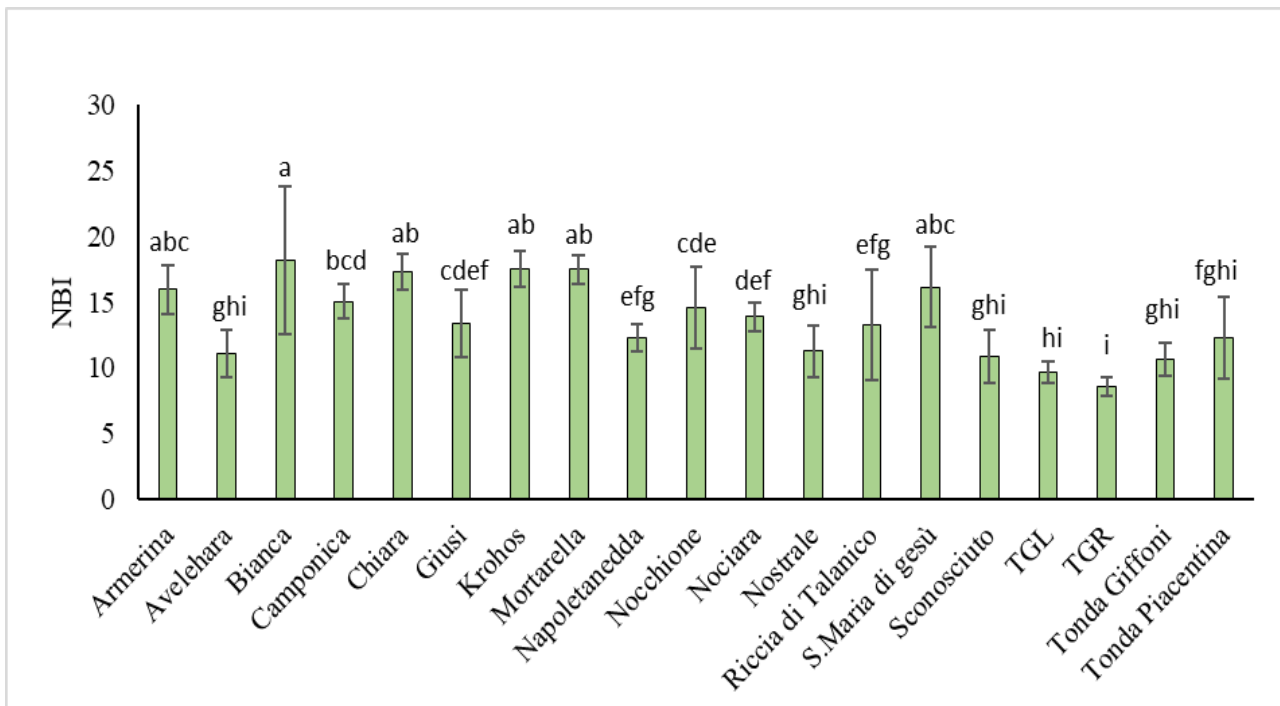


Figura 1.11. Indice NBI delle foglie delle cultivar di origine italiana e straniera in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

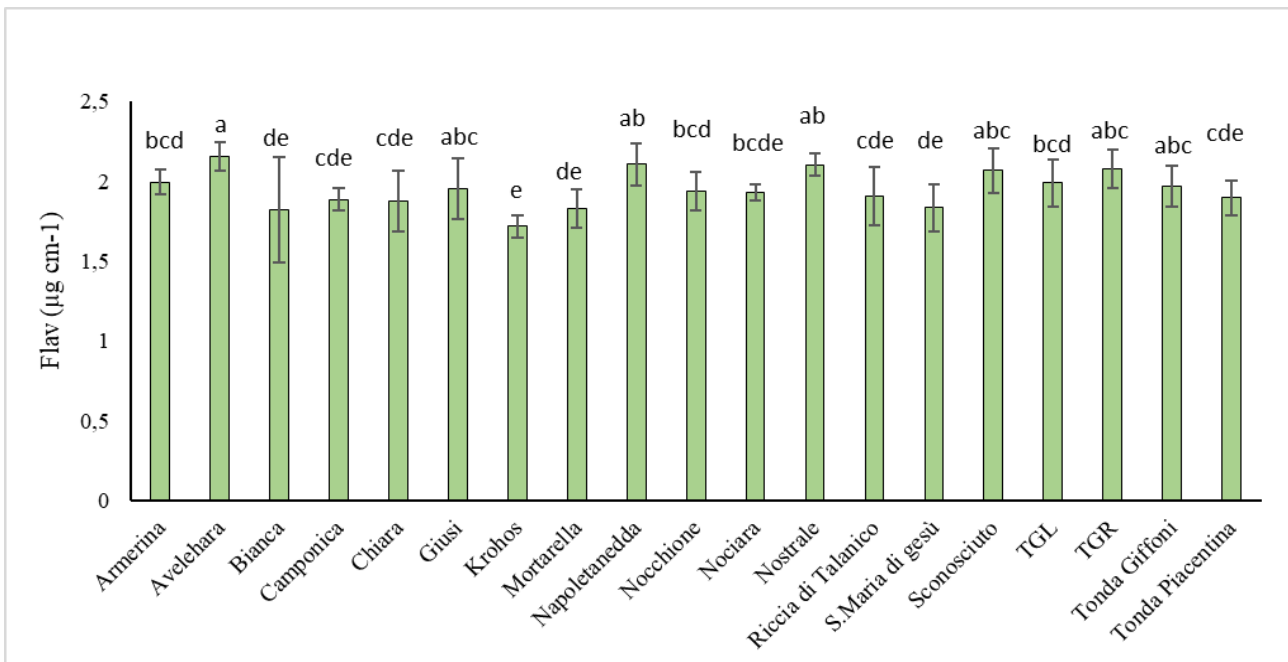


Figura 1.12. Contenuto di flavonoli (Flav) nelle foglie delle cultivar di origine italiana e straniera in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

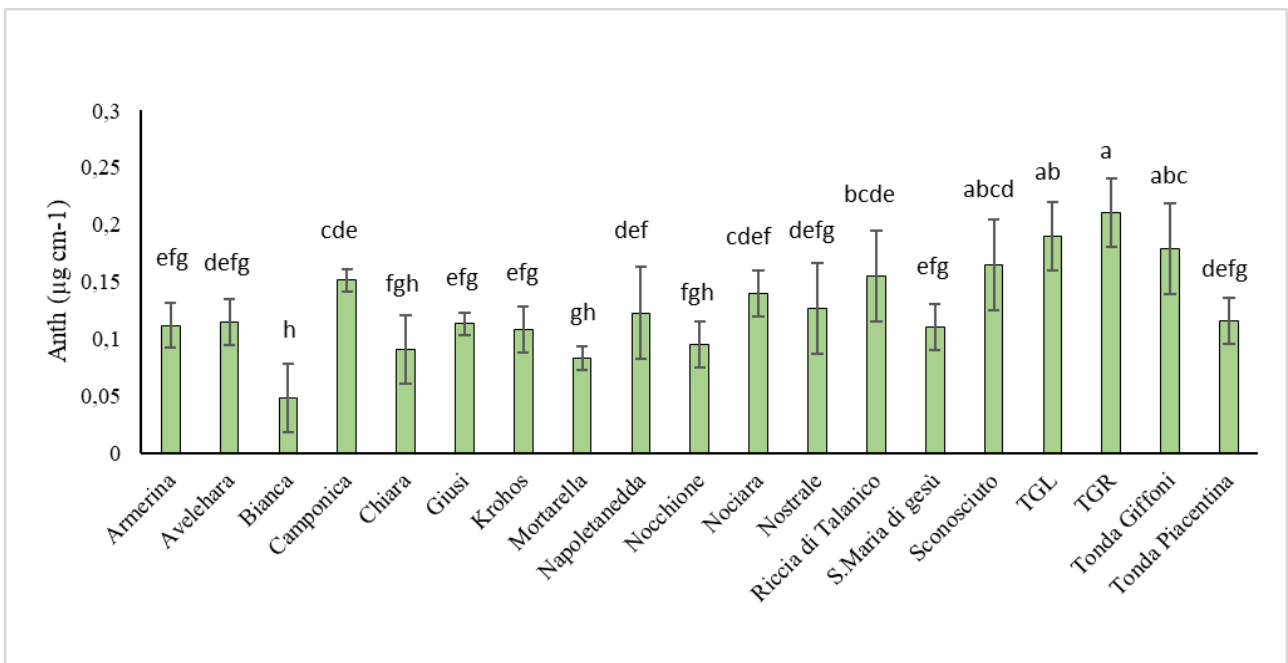


Figura 1.13. Contenuto di antocianine (Anth) nelle foglie delle cultivar di origine italiana e straniera in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).



Analogamente, nelle figure 1.14, 1.15, 1.16 e 1.17 sono riportati in forma grafica i valori medi di clorofilla totale (Chl), NBI, flavonoli (Flav), antocianine (Anth) riferiti ai rilievi effettuate a carico delle cultivar di origine americana. In generale i valori di Chl e NBI analizzati risultavano essere inferiori se confrontati con le cultivar di origine italiana. Anche in questo caso per ognuno dei parametri analizzati sono emerse differenze significative tra le cultivar. Il contenuto di clorofilla risultava più elevato nelle foglie di Eta e Dorris con valori di $21,15 \mu\text{g cm}^{-1}$ e $21,12 \mu\text{g cm}^{-1}$ rispettivamente, mentre i valori medi inferiori sono stati acquisiti York ($12,07 \mu\text{g cm}^{-1}$). Come rilevato per la Chl, anche l'indice di bilancio azotato è risultato essere più elevato nella varietà Eta con 11,83, mentre in York è risultato di entità inferiore e pari a 5,92.

Relativamente al contenuto di flavonoidi, i valori medi erano compresi tra $2,15 \mu\text{g cm}^{-1}$ determinato in Jefferson e $1,80 \mu\text{g cm}^{-1}$ in Eta. In quest'ultima cultivar sono stati osservati anche i valori più bassi di antocianine ($0,08 \mu\text{g cm}^{-1}$), mentre i valori più elevati per quest'ultimo parametro ecofisiologico sono stati osservati in York e Felix con valori di $0,27 \mu\text{g cm}^{-1}$ e $0,24 \mu\text{g cm}^{-1}$.

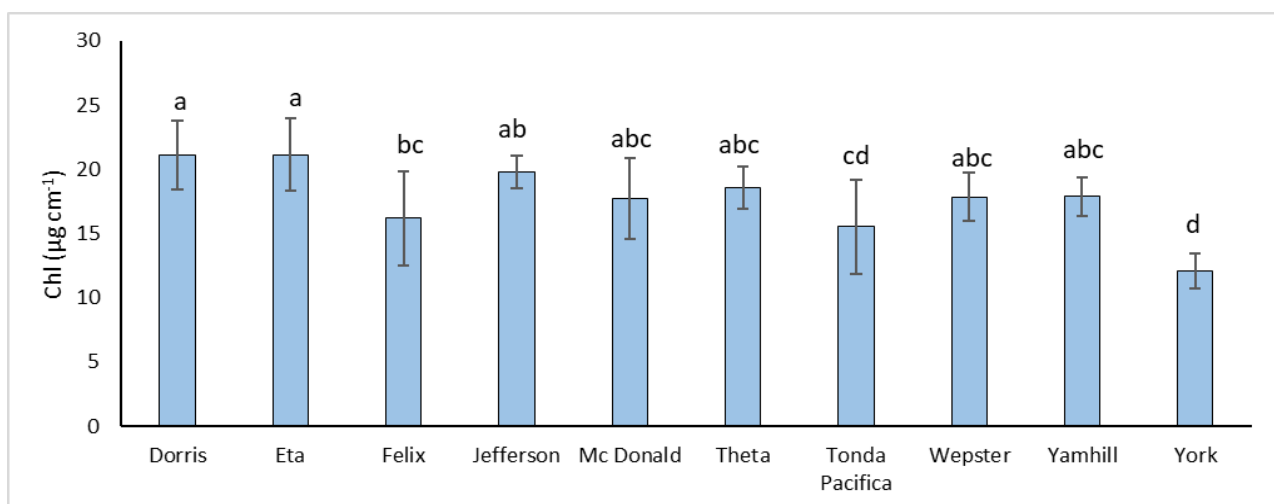


Figura 1.14. Contenuto di clorofilla (Chl) nelle foglie delle cultivar di origine americana in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

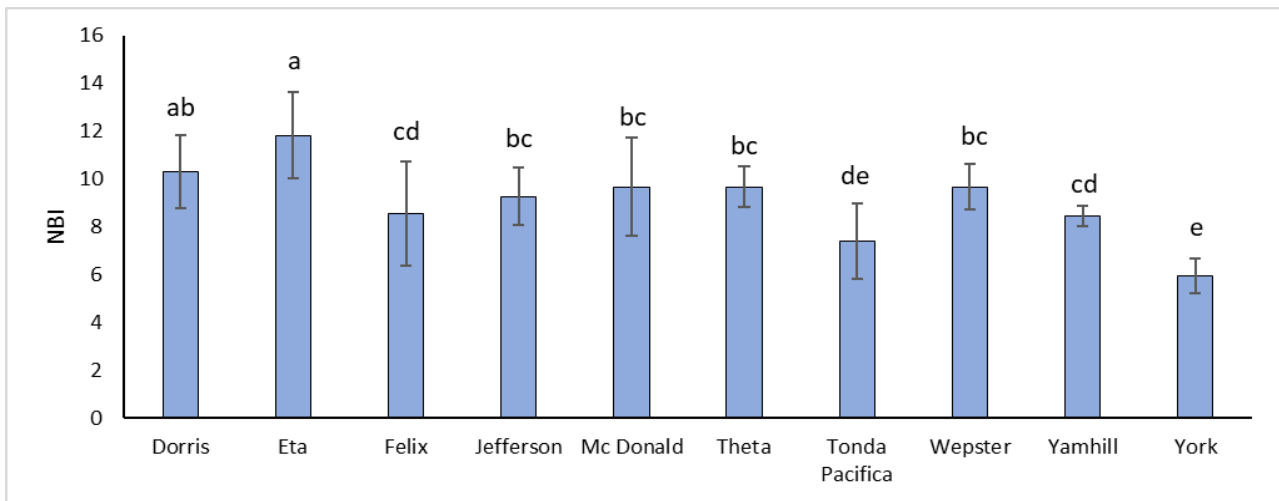


Figura 1.15. Indice NBI delle foglie delle cultivar di origine americana in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

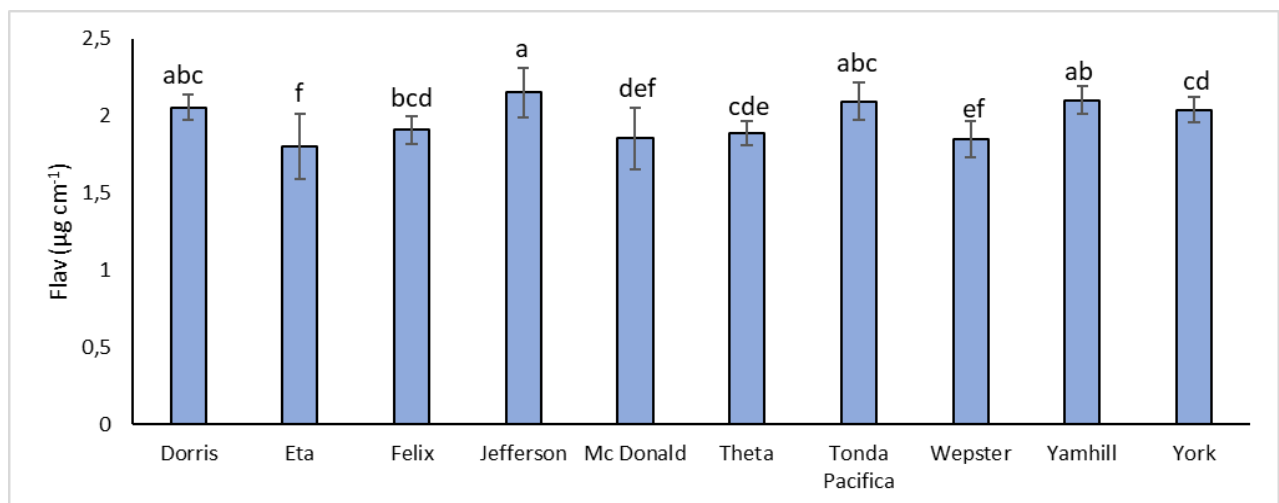


Figura 1.16. Contenuto di flavonoli (Flav) nelle foglie delle cultivar di origine americana in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

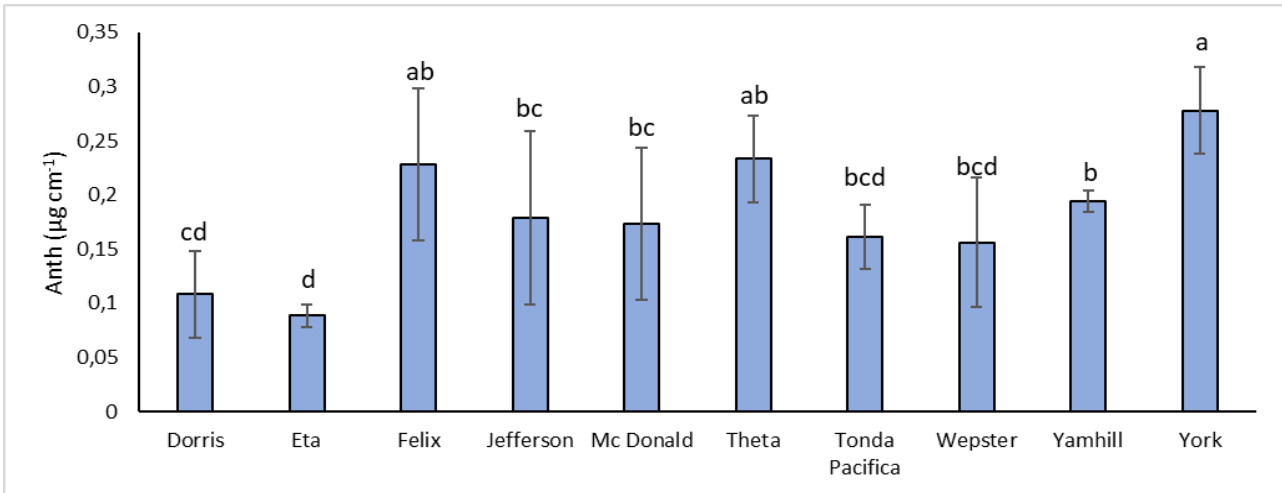


Figura 1.17. Contenuto di antocianine (Anth) nelle foglie delle cultivar di origine americana in collezione presso Corte Migliorina. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

Determinazione della fluorescenza della clorofilla con impiego in campo del fluorimetro: valutazioni dello stato di benessere fisiologico delle piante.

Durante il processo fotosintetico, parte dell'energia luminosa (radiazione solare) che colpisce i complessi antenna non raggiunge i centri di reazione dei fotosistemi (PS), ma viene dissipata sotto forma di calore. Un'altra parte di energia, pur raggiungendo i centri di reazione, viene riemessa sotto forma di fluorescenza, e rappresenta solo una piccola parte dell'energia che colpisce le strutture fotosintetiche (3-5%). Un aumento di questi valori indica una riduzione dell'efficienza delle strutture fotosintetiche. L'emissione della fluorescenza deriva sempre da una perdita di energia allo stato inferiore di eccitazione della clorofilla, e per questo viene emessa nella lunghezza d'onda del rosso. La fluorescenza, inoltre, viene emessa quasi esclusivamente da molecole di Chl_a situate nel PSII.

L'analisi della fluorescenza della clorofilla consente di ottenere informazioni sull'efficienza degli apparati fotosintetici, permettendo di valutare lo stato fisiologico dei campioni esaminati. La misurazione della fluorescenza si basa sull'applicazione di due diverse modalità di analisi: 1) attiva; 2) passiva. Si definisce attiva la fluorescenza indotta dall'esposizione del campione fotosintetico a luce artificiale, di intensità e composizione note, precedentemente adattato al buio. Si definisce

passiva invece la fluorescenza emessa spontaneamente da un campione fotosintetico nelle condizioni reali di illuminazione (es. indagini di remote sensing).

La misurazione della fluorescenza attiva viene effettuata tramite tecniche non distruttive e veloci. L'analisi delle risposte fornite da tali misurazioni permette di ottenere informazioni riguardo le reazioni della fase luminosa e le loro interazioni con le reazioni enzimatiche del ciclo di Calvin-Benson o fase oscura (detto così perché consiste di reazioni enzimatiche non dipendenti dalla luce), durante il quale avviene la fissazione di anidride carbonica (CO₂) e la sintesi degli zuccheri mediante reazioni di ossidoriduzione che implicano l'uso dell'ATP e NADPH prodotti durante la fase luminosa. Le informazioni ottenute sono legate a tutti i vari step della fase luminosa e per questo tale tecnica di analisi viene impiegata nella fisiologia dello stress.

Fluorescenza attiva (indotta). L'analisi della fluorescenza di campioni fotosintetici adattati al buio e successivamente sottoposti a induzione luminosa, è caratterizzata da un andamento tipico, denominato effetto Kautsky. In una prima fase si osserva un forte incremento della fluorescenza fino al raggiungimento di un picco che coincide con la completa riduzione del pool dei plastochinoni e la chiusura di tutti i centri di reazione, seguita poi da una fase progressiva decrescente, in cui prendono parte le reazioni necessarie alla produzione di ATP e NADPH, fino al raggiungimento di una fase stabile, la quale esprime l'equilibrio tra l'assorbimento dell'energia luminosa e l'organizzazione del carbonio. In un campione adattato al buio, tutti i centri di reazione sono aperti o più comunemente ossidati (figura 1.18).

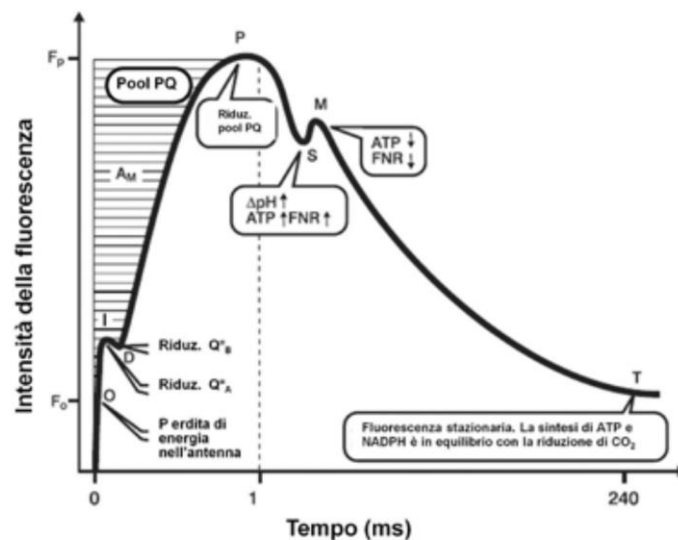


Figura 1.18. Curva di induzione di fluorescenza della clorofilla, le varie fasi sono delimitate dalle lettere O, J, I, P.

Punto O - Primo punto rilevabile della fluorescenza indotta, ne determina la fluorescenza iniziale (F_0), principalmente associata alle perdite di energia del complesso antenna del PSII. L'aumento dell'emissione di fluorescenza, fino al raggiungimento del punto P (picco massimo, F_p) dipende dal buon funzionamento dei donatori e accettori di elettroni della catena di trasporto. F_0 è caratterizzato da valori di bassa intensità della fluorescenza in condizioni normali. Nel caso in cui i valori di F_0 risultassero elevati, questi verrebbero associati ad una perdita di efficienza del complesso antenna nel trasferimento di energia tra i pigmenti che lo compongono, indicando possibili danni strutturali. Al contrario, bassi valori di F_0 sono indice di buona funzionalità del PSII.

Punto J - Il trasferimento dell'elettrone dal centro di reazione al primo accettore (PQ_A) provoca un aumento dell'intensità di emissione della fluorescenza. In questa fase, caratterizzata dal trasferimento dell'elettrone sul primo accettore, induce una riduzione del PQ_A e la chiusura del centro di reazione.

Punto I - Passando dal punto J al punto I, si osserva una piccola riduzione dell'intensità di emissione della fluorescenza, dovuto alla cessione dell'elettrone da parte di PQ_A (con una sua parziale nuova ossidazione) in favore del secondo accettore PQ_B .

Punto P - Viene raggiunto il picco di intensità massima di emissione della fluorescenza, il quale corrisponde ad una completa chiusura di tutti i centri di reazione. In questo caso l'attività fotochimica è caratterizzata da un rendimento minimo.

Punto S - Il rapido trasferimento di energia (elettroni) da PSII a PSI fa sì che l'intensità di emissione della fluorescenza si riduce nettamente.

Punto M - L'esaurirsi della ferredossina e il conseguente rallentamento nella produzione di NADPH favoriscono un leggero aumento dell'intensità della fluorescenza.

Punto T - La rigenerazione della ferredossina e l'aumento della produzione di ATP, implicano un nuovo declino della fluorescenza fino al raggiungimento di un livello stabile/stazionario. Il tempo necessario per raggiungere questo livello dipende molto dallo stato fisiologico in cui versa la pianta. A questo punto corrisponde un equilibrio tra le reazioni fotochimiche della fase luminosa, la produzione di energia (ATP e NADPH) e l'utilizzo di tali prodotti nella organizzazione del carbonio nella fase oscura.

Principali parametri della fluorescenza

F_0 - Indica le perdite di energia che si riscontrano durante il trasferimento della stessa tra il complesso antenna e il centro di reazione del PSII. In questa situazione il PQ_A è completamente

ossidato e i centri di reazione totalmente aperti. È bene sottolineare che in questa fase non si hanno perdite di energia sottoforma di calore, quindi in assenza del NON PHOTOCHEMICAL QUENCHING (NPQ - perdita di energia sottoforma di calore). La perdita di energia è in funzione sia dell'intensità luminosa (intensità della radiazione solare che colpisce il corpo fotosintetico), sia dell'efficienza nel trasferimento di energia dal complesso antenna al centro di reazione. Come anticipato in precedenza, F_0 si misura in condizioni normali a bassi valori di intensità. Al contrario se i valori F_0 fossero elevati, potrebbero essere presenti dei danni a livello strutturale nel PSII, con perdita di efficienza nel trasferimento di energia.

F_M - Corrisponde al punto P della curva di intensità della fluorescenza indotta. Viene raggiunto nel momento in cui tutti i plastochinoni sono ridotti e i centri di reazione completamente chiusi. F_0 e F_M essendo dipendenti anche dal contenuto di clorofilla, possono essere utilizzati come parametri per la stima indiretta del suo contenuto. Valori ridotti di F_M possono essere un indice di stress dovuto probabilmente ad una perdita nella capacità di riduzione degli accettori del PSII.

Il rapporto (F_M/F_0) tra F_M e F_0 (valori normali oscillano tra 4 e 5) è un importante parametro utilizzato in fisiologia per intercettare potenziali fattori di stress.

T_{FM} - Tempo che intercorre tra F_0 e F_M . La durata dipende dalla quantità di plastochinone che deve essere ridotto. Fattori di stress possono incrementare il suo valore, provocato dal rallentamento del trasporto degli elettroni.

F_V - Valore ottenuto dalla differenza tra F_M e F_0 . Viene influenzato dalla massima efficienza del PSII. Valori ridotti sono associati ad una ridotta efficienza del PSII e ad una perdita di energia sottoforma di calore.

F_V/F_M - Indica la massima efficienza per la fotochimica primaria del PSII. È il parametro maggiormente utilizzato come indicatore affidabile dell'attività fotochimica dell'apparato fotosintetico. Questo valore varia tra 0 e 1, con un optimum di 0,83. Una riduzione di tale valore (provocato dall'azione di un qualsiasi stress) fornisce una chiara informazione sulla riduzione dell'efficienza del centro di reazione del PSII. Una sua riduzione è ulteriormente associata a perdite di energia da parte del complesso antenna sottoforma di calore (fenomeno della fotoinibizione).

Valori ridotti di tale parametro sono associati anche al meccanismo di down-regulation, necessario a ridurre l'intensità del flusso di elettroni nella catena di trasporto in funzione di una limitata richiesta di elettroni da parte del ciclo di Calvin-Benson (C-B). Ad esempio, quando l'assimilazione di carbonio è ridotta (favorita ad esempio dalla chiusura stomatica) un flusso elevato di elettroni non

può essere utilizzato in toto dal metabolismo. In queste condizioni il potenziale riducente in eccesso porta alla produzione di elettroni liberi, potenzialmente dannosi favorendo la produzione di ROS.

La pianta reagisce alla fotoinibizione tramite meccanismi di fotoprotezione, associati all'aumento di NPQ o di riparazione della proteina D1.

La fotoprotezione è tuttavia inibita dall'azione dei ROS, per questo l'energia in eccesso viene dissipata da appositi composti biochimici e attraverso il ciclo delle xantofille.

F_T - Indica il punto in cui l'intensità di emissione della fluorescenza diventa stabile, il quale corrisponde al raggiungimento dell'equilibrio tra produzioni di energia da parte delle reazioni fotochimiche (produzione di ATP e NADPH) e il suo impiego nelle reazioni enzimatiche della fase oscura. Qualsiasi fattore di stress che provoca un disturbo nello svolgimento delle reazioni fotosintetiche, ritarda il raggiungimento di tale valore.

Adattamento al buio dei campioni fotosintetici

L'obiettivo dell'adattamento al buio dei campioni fotosintetici è quello di ottenere la completa ossidazione del plastochinone e rendere tutti i centri reazione aperti. Tale operazione si rende necessaria per poter misurare le prestazioni fotosintetiche potenziali (massima efficienza della resa quantica). Durante il periodo di adattamento al buio avvengono i seguenti processi fisiologici:

- pochi minuti sono sufficienti sia per l'ossidazione del pool di plastochinoni sia per il cluster del manganese nell'OEC;
- in un intervallo compreso tra i 12 e i 18 minuti avviene la disattivazione della rubisco;
- il ciclo delle xantofille, così come altri processi di fotoprotezione vengono disattivati (4-6 minuti di buio);
- dai 20 ai 30 minuti sono sufficienti per rimuovere gli effetti della fotoinibizione provocata da elevata intensità della radiazione solare.

L'energia luminosa assorbita dalle molecole di clorofilla delle foglie può intraprendere tre strade differenti: 1) utilizzata come energia fotochimica nel processo di fotosintesi, 2) dissipata sotto forma di calore quando in eccesso, 3) riemessa come fluorescenza. Questi tre processi sono in competizione tra loro, all'aumento di uno corrispondono le diminuzioni degli altri. Per questo, dalla misura della fluorescenza è possibile ottenere informazioni riguardo i cambiamenti nell'efficienza fotochimica e nella dissipazione dell'energia sotto forma di calore. Lo spettro della fluorescenza è differente da quello della luce assorbita, avendo un picco di emissione della fluorescenza maggiore

rispetto a quello della luce assorbita. La resa della fluorescenza può essere quantificata misurando il rapporto tra la lunghezza d'onda della luce assorbita e quella della fluorescenza riemessa.

L'aumento della fluorescenza in campioni adattati al buio è da imputare alla riduzione degli accettori di elettroni del PSII, principalmente il PQ_B. La riduzione degli accettori e la chiusura dei centri di reazione (anche solo una parte) provocano una riduzione dell'efficienza fotochimica e di conseguenza un aumento dell'emissione della fluorescenza. Una volta raggiunto il picco dell'intensità di emissione della fluorescenza, inizia una seconda fase caratterizzata dalla riduzione di emissione di fluorescenza fino al raggiungimento di una fase stazionaria. Questo fenomeno della riduzione è chiamato Fluorescence Quenching. La riduzione della fluorescenza può essere attribuita a due fenomeni differenti: 1) aumento della velocità con cui gli elettroni vengono trasferiti dal PSII al PSI, e questo è dovuto all'attivazione degli enzimi coinvolti nel metabolismo del carbonio e all'apertura degli stomi (Quenching fotochimico); 2) incremento dell'efficienza con la quale l'energia viene convertita in calore e dissipata (Quenching non fotochimico).

Fotoinibizione

Le specie arboree da frutto della zona temperata mostrano valori di radiazione saturante intorno al 50% della massima intensità luminosa. Ciò significa che durante la stagione vegetativa, le piante generalmente sono sottoposte ad intensità luminose eccessive, che possono provare danni reversibili e irreversibili. Nonostante le foglie dispongano di meccanismi per ridurre la quantità di radiazione luminosa intercettata (movimenti circadiani della lamina, allineamento dei cloroplasti nel citoplasma, ecc.), questi non sono sufficienti a ridurre totalmente la quantità di luce intercettata dalle foglie. Nel momento in cui, gli apparati fotosintetici non sono quindi in grado di utilizzare e/o dissipare la totalità dell'energia luminosa che li colpisce, questi si troveranno in una situazione di fotoinibizione, determinata da un eccesso di elettroni eccitati nel PSII, che non potranno essere trasportati e utilizzati completamente nel processo fotosintetico (riduzione NADPH e produzione ATP). La presenza di un surplus di elettroni inutilizzabili determina la produzione di specie reattive all'ossigeno (ROS), le quali facilmente possono arrecare danni ai cloroplasti, riducendo così la potenzialità fotosintetica della foglia.

Per contrastare in parte questi fenomeni, le foglie hanno sviluppato molteplici meccanismi di fotoprotezione, tra cui: fotorespirazione, dissipazione non fotochimica (NPQ), trasporto ciclico di elettroni attorno al PSI, ecc. Nonostante l'attivazione di questi meccanismi di difesa, spesso questi non sono sufficienti a contrastare l'eccesso di radiazione luminosa, provocando quindi dei danni al

centro di reazione del PSII, nello specifico, concentrandosi sulla proteina D1, la quale viene denaturata. All'interno dei cloroplasti, sono presenti ulteriori meccanismi in grado di rigenerare in tempi estremamente ridotti la proteina, consumando però il carbonio organico derivante dall'attività fotosintetica. È stato stimato, che nei giorni in cui viene raggiunta la maggior intensità della radiazione solare (per più ore), la pianta in media consuma dal 7 al 15% di carbonio organico prodotto dalla fotosintesi, il quale non sarà quindi utilizzabile per la produzione di sostanza secca (biomassa vegetale).

Influenza dei fattori ambientali sulla fotosintesi

I fattori ambientali che maggiormente influenzano il processo fotosintetico sono rispettivamente: intensità luminosa, temperatura e umidità dell'aria, concentrazione di CO₂, disponibilità idrica del suolo e concentrazione di azoto nel terreno.

Con il termine fotosintesi netta si indica la quantità di CO₂ assimilata al netto delle perdite per respirazione mitocondriale e per fotorespirazione. La crescita del tasso fotosintetico presenta inizialmente una correlazione lineare con l'aumento dell'intensità della radiazione solare, fino ad un punto definito tasso massimo di assimilazione, in cui viene raggiunta la soglia di saturazione luminosa, oltre la quale l'energia in eccesso non è più utilizzata nel processo fotosintetico. Con il termine punto di compensazione luminosa si indica quella fase in cui la CO₂ assimilata tramite fotosintesi è pari a quella persa per respirazione.

La temperatura ottimale per il processo fotosintetico è di solito compresa tra i 22 e i 28 °C. Temperature inferiori ai 10 °C riducono l'attività fotosintetica inibendo l'attività enzimatica, mentre temperature superiori ai 35 °C stimolano il processo di respirazione, riducendo così la fotosintesi netta. Livelli iniziali e intermedi di stress idrico influenzano negativamente l'attività fotosintetica principalmente per la riduzione della conduttanza stomatica e quindi una diminuzione nella CO₂ assimilata. Condizioni di stress idrici prolungati (livelli più intensi) implicano una maggiore incidenza della fotoinibizione, con una minore capacità di recupero del danno. Fattori che favoriscono la fotoinibizione sono alte temperature ed elevata intensità della radiazione solare.

Conduttanza stomatica

Generalmente gli stomi restano chiusi durante le ore notturne per poi gradualmente aprirsi all'aumentare della radiazione solare. L'apertura stomatica è influenzata da diversi fattori, tra cui umidità dell'aria, contenuto idrico del suolo, temperatura, radiazione solare e differenza della



concentrazione di CO₂ in atmosfera e quella all'interno della foglia. Ad esempio, in condizioni di elevata concentrazione di CO₂ in atmosfera, gli stomi tendono a chiudersi.

In condizioni di buona disponibilità idrica del suolo, durante il giorno il tasso di traspirazione tende ad eccedere l'assorbimento dell'acqua da parte delle radici. Di conseguenza, i tessuti dell'albero cedono acqua per alimentare il flusso di traspirazione, mentre nel pomeriggio i tessuti iniziano a recuperare il contenuto idrico in quanto l'assorbimento idrico prevale sulla traspirazione e tale inversione di tendenza continua durante le ore notturne.

La traspirazione aumenta all'aumentare del grado di apertura stomatica, mentre la fotosintesi rimane stabile oltre un certo grado di apertura automatica.

Fluorescenza della clorofilla di tipo a e stress idrico

Stress idrici di intensità compresa tra lieve e moderata non hanno un effetto diretto sui singoli processi metabolici della fotosintesi. Questi però provocano una riduzione dell'attività fotosintetica determinata principalmente dalla chiusura parziale o totale degli stomi e di conseguenza una diminuzione dell'assimilazione di CO₂. Per tutte le specie vegetali appartenenti alla categoria C3, viene indicato un valore limite di RWC pari al 70%, al di sotto del quale è possibile osservare effetti sulla fisiologia della pianta non provocati da chiusure stomatiche. Ciò è possibile grazie all'analisi della fluorescenza della clorofilla a e dei suoi parametri. Il parametro maggiormente utilizzato per valutare la presenza di potenziali stress (tra cui quello idrico) è sicuramente la *resa quantica massima della fotochimica del PSII* (Fv/Fm). La variazione di questo parametro non è correlata ai cambiamenti che avvengono a livello stomatico e tantomeno a tutti gli effetti provocati da stress idrici di bassa/media intensità. In presenza di stress idrico lieve/moderato i valori di Fv/Fm non subiscono variazioni rimanendo stabili. Una variazione è invece osservabile quando l'intensità dello stress è prolungata.

Determinazione dello stato di benessere fisiologico della pianta tramite impiego di fluorimetro da campo.

Durante il mese di luglio del biennio di sperimentazione sono state condotte le misurazioni riguardanti la valutazione del benessere fisiologico delle cultivar italiane, straniere, e di importazione americana presenti nel campo collezione, tramite impiego del fluorimetro (flourpen).

Foglie rappresentative dello stato fisiologico delle piante sono state opportunamente campionate e poste ad ambientamento al buio prima della misurazione, per ottenere un dato il più accurato e

fisiologicamente risponde possibile, analizzando, dopo ambientamento al buio, i valori di Ft, Qy e il rapporto tra Fv/Fm, come riportate nelle figure 1.19, 1.20 e 1.21 per le cultivar italiane e straniere, e nelle figure 1.22, 1.23 e 1.24 per le cultivar americane.

I valori di Ft, determinando il punto di equilibrio tra le reazioni fotochimiche e il loro impiego nelle reazioni enzimatiche della fase oscura, può evidenziare eventuali stress esterni allo svolgimento di tale funzione, per cui più basso è il valore, più la pianta risulta stressata. I valori medi di Ft più elevati si sono stati riscontrati nelle cultivar Bianca e Santa Maria di Gesù, mentre i valori minori sono emerse per le cultivar Mortarella e Tonda Piacentina.

Anche per quanto riguarda le cultivar di origine americana sono emerse differenze significative in questo parametro, con valori maggiori nelle cultivar Wepster e Jefferson, e valori medi più bassi in Theta.

Il parametro Qy può essere definito come rapporto tra i fotoni emessi e i fotoni assorbiti dalla foglia. In questo modo è possibile verificare la linea di base dell'assorbanza utilizzata. Se i valori di Qy calcolati mostrano una tendenza, ad esempio a diminuire verso le lunghezze d'onda di eccitazione più basse, è probabile che la linea di base dell'assorbanza non sia perfetta, e di conseguenza la pianta si trova in fase di stress. In base a questo parametro non sono emerse differenze significative in entrambi i campi collezione.

Il rapporto Fv/Fm è considerato il parametro maggiormente utilizzato come indicatore dell'attività fotochimica dell'apparato fotosintetico; la pianta presenta un optimum fotosintetico intorno allo 0,83, mentre valori più bassi indicano una minor efficienza, provocata dall'azione di stress. Nelle collezioni presenti in Corte Migliorina, i valori medi più bassi di questo rapporto sono stati riscontrati per le cultivar Aveluhara (0,50), Tonda Piacentina (0,54) e Giusi (0,60), e in Tonda Pacifica (0,54), Yamhil (0,58) e Dorris (0,60) tra le cultivar di importazione USA. I valori più elevati, probabilmente dovuti ad un'ottimizzata attività fotosintetica che lascia supporre ad un migliore adattamento della varietà al nuovo ambiente di coltivazioni, sono stati registrati nelle cultivar Tonda di Giffoni (0,82), Krohos (0,74) e parzialmente in Jefferson (0,69).

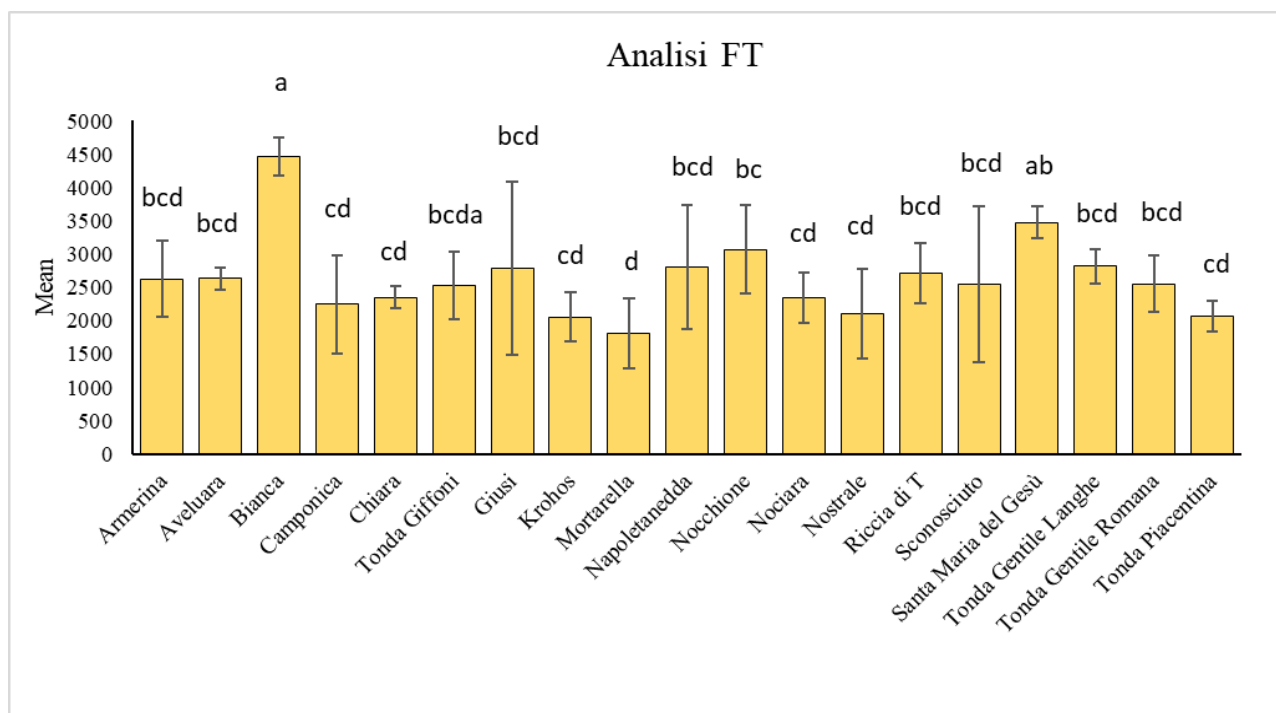


Tabella 1.19. Analisi del parametro FT tramite impiego in campo del fluorimetro a carico delle cultivar di nocciolo italiane e straniere presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

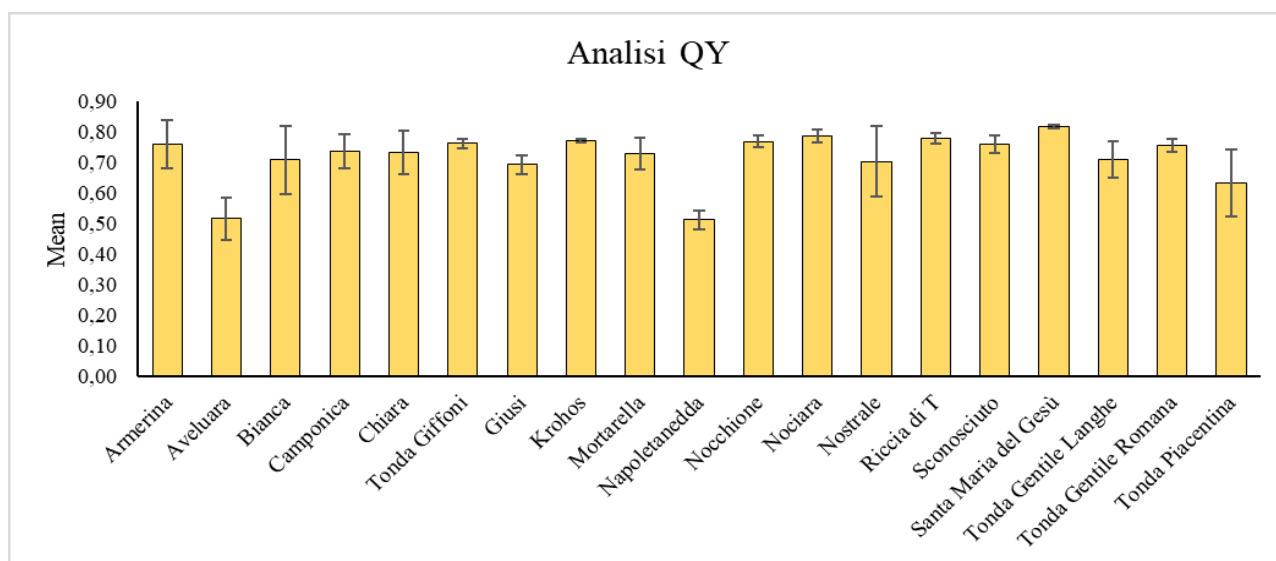


Tabella 1.20. Analisi del parametro QY tramite impiego in campo del fluorimetro a carico delle cultivar di nocciolo italiane e straniere presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

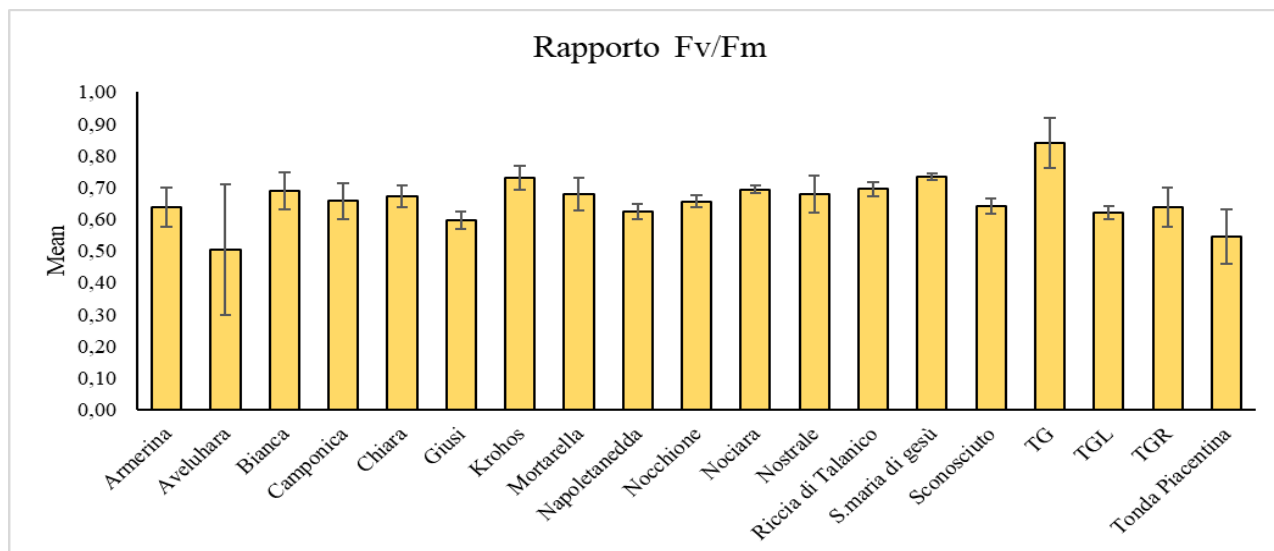


Tabella 1.21. Analisi del rapporto Fv/Fm tramite impiego in campo del fluorimetro a carico delle cultivar di nocciolo italiane e straniere presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

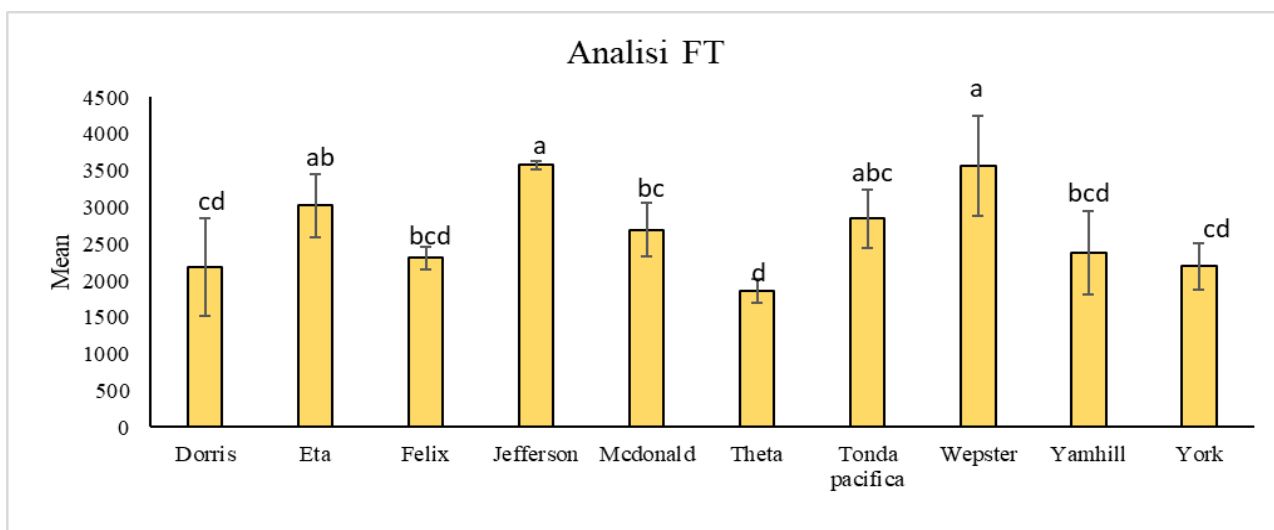


Tabella 1.22. Analisi del parametro FT tramite impiego in campo del fluorimetro a carico delle cultivar di nocciolo importate dagli USA e presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

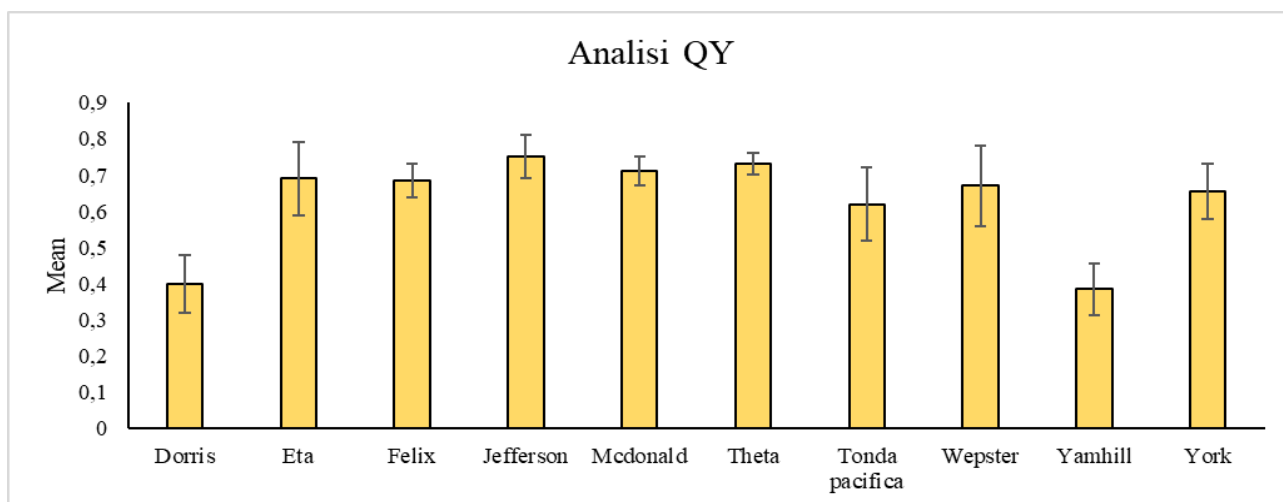


Tabella 1.23. Analisi del parametro QY tramite impiego in campo del fluorimetro a carico delle cultivar di nocciolo importate dagli USA e presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

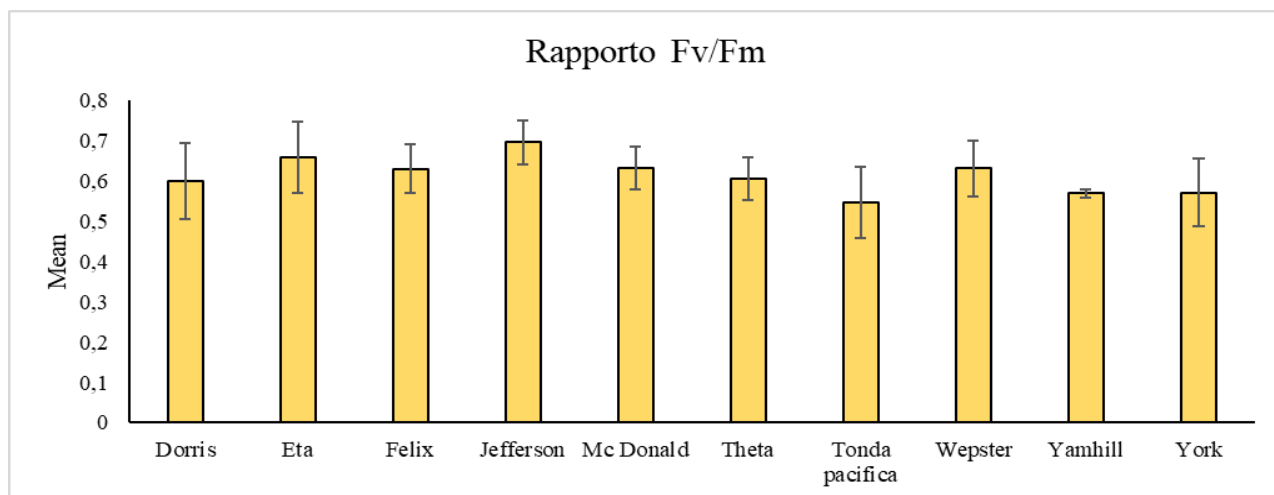


Tabella 1.24. Analisi del rapporto Fv/Fm tramite impiego in campo del fluorimetro carico delle cultivar di nocciolo importate dagli USA e presenti in Corte Migliorina. Rilievi condotti nel mese di luglio. I dati sono riportati come media \pm deviazione standard. Le lettere diverse sulle colonne indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test di Fisher).

Azione 2 - Valutazione della suscettibilità alle principali fitopatie.

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) – Università della Tuscia

L'azienda Tenuta Corte Migliorina è stata pioniera nella coltivazione del nocciolo in un areale caratterizzato da un'agricoltura strettamente cerealicola nelle zone più pianeggianti e da un forte sviluppo zootecnico e viticolo nelle zone più collinari.

L'assenza di una tradizione corilicola influisce significativamente sulle avversità biotiche alla quale è soggetta la coltura; per tale motivo le piante di nocciolo allevate in azienda sono state oggetto di un'attenta osservazione della suscettibilità fitopatologica delle cultivar alle principali fitopatie, affiancata da analisi di laboratorio, affidate ai laboratori di patologia vegetale del Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) dell'Università della Tuscia, nei casi in cui la fitopatia non era identificabile tramite osservazione in campo dei sintomi.

A seguito della gelata verificatasi i primi di Aprile 2021 e del susseguirsi di mesi primaverili-estivi spesso caratterizzati da prolungata siccità, gli impianti di nocciolo hanno manifestato progressivamente un “deficit di resilienza” alle diverse avversità biotiche, analogamente a quanto verificatosi nelle aree corilicole storiche del centro Italia (corilicoltura della Tuscia viterbese), condizionando alcune manifestazioni fitopatologiche “*in planta*”, incluse le relative osservazioni in campo.

Le attività di monitoraggio della suscettibilità fitopatologica delle cultivar presenti nell'azienda sperimentale sono state avviate a partire dalla stagione vegeto-produttiva 2021, concentrandosi principalmente sulla presenza di crittogame (malattie fungine) e fitofagi del nocciolo (insetti dannosi).

Incidenza delle crittogame in campo.

Durante il periodo di sperimentazione in campo è stata rilevata la presenza di “Mal dello stacco”, micosi vascolare causata da infezioni di *Cytospora corylicola*, con manifestazioni di suscettibilità a diversa intensità in base alla cultivar testata, e con forte pressione fitopatologica in particolare negli

apezzamenti coltivati con piante innestate su semenzali non polloniferi di nocciolo turco (*Corylus colurna* L.), come evidenziato in figura 2.1.



Figura 2.1. Esempio di pianta innestata su *Corylus colurna* con evidenti manifestazioni di infezione da “Mal dello stacco”. Imbrunimento del punto di innesto (a sinistra) e presenza di conidi fungini sulla corteccia (a destra).

L'andamento climatico del periodo considerato, caratterizzato dal susseguirsi di estati siccitose che rendono la fitopatìa più recrudescente, ha probabilmente favorito la diffusione della crittogama.

Nella stagione vegeto-produttiva 2022 su un appezzamento di 2 ha, coltivato a Tonda Gentile Romana con forma di allevamento a cespuglio, è stata riscontrata una modesta alterazione delle nocciole riconducibile a lievi infezioni di *Fusarium spp.*, agente causale della “Necrosi grigia” del nocciolo.

Nel corso delle stagioni vegeto-produttive 2021 e 2022 è emersa la presenza di “Mal bianco”, causato da *Phyllactinia corylicola*. Tale crittogama, particolarmente evidente nei corileti in fine stagione estiva, si è manifestata con intensità simile a quella osservata nello stesso periodo in ambiente viterbese. Attualmente tale crittogama è considerata una fitopatìa secondaria nel nocciolo. Ciò nonostante, nella primavera del 2022, su un appezzamento di circa 8 ettari si è verificata una

forte infezione di “Mal bianco”, motivo per il quale tale crittogama necessita di un monitoraggio accurato anche nelle prossime annate agrarie.

Inoltre, le accurate osservazioni in campo, svolte con costante periodicità dal personale dell’Attuatore 1, hanno consentito di rilevare che le infezioni erano causate anche da attacchi di *Erusiche corylacearum*, altra crittogama che induce “Mal bianco” con specificità su nocciolo, osservata per la prima volta alcuni anni fa in ambiente turco. Nello specifico, le piante colpite manifestavano inizialmente foglie con presenza di micelio fungino biancastro di forma concentrica su entrambe le pagine delle lamine fogliari (figura 2.2), che in seguito assumevano una colorazione brunastra accompagnata da evidente bollosità e deformazione del lembo.

Tra le infezioni fungine rilevate in campo e confermate tramite analisi di laboratorio sono emerse sporadiche infezioni da *Phomopsis sp.* e *Diaporthe sp.*, agenti causali di cancreti rameali, e sporadica presenza di *Diplodia seriata* e *Epicoccum nigrum*. Questo ultimo gruppo di crittogame identificate, a seguito della confermata sporadicità su base biennale, non destano preoccupazione quale potenziale limitazione allo sviluppo della filiera corilicola di comprensorio.



Figura 2.2. Manifestazioni di “mal bianco” causate da *Erusiche corylacearum* su pagina inferiore di foglia di nocciolo, osservata in periodo primaverile della stagione vegeto-produttiva 2022.

Incidenza delle infezioni da fitofagi e acari dannosi.

Durante le osservazioni fitopatologiche svolte nel periodo sperimentale di riferimento, è emersa la presenza diffusa di infezioni da eriofide galligeno del nocciolo (*Phytoptus avellanae*), analogamente a quanto ordinariamente rinvenibile in impianti adulti del comprensorio viterbese (figura 2.3). L'acaro galligeno non rappresenta comunque una criticità in quanto è considerato genericamente una problematica fitopatologica secondaria, con la sola eccezione per le cultivar Tonda di Giffoni e Tonda Gentile delle Langhe, presenti in azienda, e particolarmente suscettibili alle infezioni da eriofide. Le attività di monitoraggio per questo acaro sono state dunque più frequenti per le due cultivar citate, e nei casi di attacchi consistenti sono stati effettuati trattamenti primaverili a base di zolfo (due interventi nella stagione vegeto-produttiva 2021).



Figura 2.3. Galla del nocciolo causata da *Phytoptus avellanae* (a destra), e fascetta adesiva trasparente per la cattura inizio primaverile degli adulti durante la migrazione. Stagione vegeto-produttiva 2022.

Le attività più consistenti di monitoraggio dell'entomofauna dannosa hanno riguardato la presenza in campo delle cimici, quale principale criticità di comparto, visto che le punture di questi fitofagi causano il cimiciato delle nocciole. Le attività di monitoraggio, condotte in periodo primaverile-estivo (giugno, luglio e agosto) sono state eseguite tramite la tecnica del "frappinge", che consiste nello scuotimento di branche di nocciolo in piante rappresentative del corileto, nelle prime ore del

mattino quando gli insetti sono ancora in “tanatosi”. A seguito dello scuotimento, le cimici, fingendosi morte, cascolano a terra e possono essere raccolte/contate grazie ad un telo bianco preliminarmente disteso. Gli individui di cimice più rappresentati in campo erano le autoctone *Nezara viridula* e *Palomena prasina*, mentre poco rappresentata era la specie *Rhaphigaster nebulosa* e assente il *Gonocerus acuteangulatus*, che tra le specie autoctone sopra citate è la sola capace di espletare il suo intero ciclo biologico su nocciolo.

Molto presente è risultata invece la cimice asiatica *Halyomorfa halys*, con particolare abbondanza di neanidi (stadi giovanili) nel mese di settembre, durante l’ultima fase di raccolta delle nocciole.

I risultati dei campionamenti condotti nelle stagioni vegeto-produttive 2021-22 sono riassunti nella tabella 2.1, dove si evince la maggiore incidenza di adulti nel secondo anno di osservazioni, da correlare alla crescente fase di produttività degli impianti, che di fatto, per abbondanza di frutti, attraggono maggiormente le popolazioni di cimici.

La bassa presenza di cimici riscontrata nella stagione 2021, oltre che da una minore incidenza di frutti in pianta, può essere anche stata indotta dal verificarsi in data 08.04.2021 di una forte gelata con temperature anomale, che nell’area sperimentale sono scese sotto i -5 °C per l’intera notte. Tale fenomeno può avere contribuito all’abbattimento degli individui svernanti contribuendo dunque a contrarne le popolazioni iniziali.

Tabella 2.1. Numero di cimici raccolte in campo tramite la tecnica del frappinge nelle stagioni vegeto-produttive 2021-22.

Anno di campionamento	Data di campionamento	Piante monitorate	Numero individui
2021	28 giugno	12	0
	05 luglio	10	0
	12 luglio	6	3
2022	13 giugno	10	0
	23 giugno	12	7
	01 luglio	15	8
	20 luglio	8	16
	10 agosto	11	32

Incidenza di fisiopatie.

Nella stagione vegeto-produttiva 2021, durante fase di differenziazione delle infiorescenze maschili (amenti), nelle zone più colpite dalla gelata primaverile, si è verificata la malformazione morfologica degli amenti (figura 2.4 sx). Campioni di amenti malformati sono stati raccolti e sottoposti in laboratorio a piastramento per individuare eventuali agenti causali malattia. Dalle analisi non è stato emerso alcun agente biotico. Si suppone dunque che tale manifestazione morfologica sia stata indotta dalla condizione di forte stress ambientale a seguito dell'abbassamento termico.

Inoltre, nella stessa stagione su un'area, di circa 5.000 mq coltivata con cultivar di Camponica, è emersa una lieve incidenza di "Brown Stain" (meglio nota come "macchia bruna delle nocciole") riconosciuta in letteratura come sindrome del nocciolo (figura 2.4 dx). Tale manifestazione fisiopatica, comunque confinata su una cultivar notoriamente suscettibile come Camponica, non ha confermato incidenze significative nella stagione vegeto-produttiva 2022.



Figura 2.4. Malformazione degli amenti (a sinistra), e manifestazione di "Brown Stain" su frutto di Camponica (a destra). Sono evidenti sulla porzione superiore del guscio della nocciola i tipici essudati brunastri emessi a seguito della manifestazione fisiopatica.

Infine, un aspetto generale che merita menzione si riferisce ai differenti valori di rapporto Fv/Fm, acquisiti tramite impiego in campo del fluorimetro *PAR-FluorPen FP 110-LM/D*, quale parametro

di maggiore affidabilità per il monitoraggio dell'attività fotochimica dell'apparato fotosintetico. In tal senso, la pianta presenta di solito un optimum fotosintetico intorno a valori di F_v/F_m di circa 0,8, mentre valori più bassi indicano una minor efficienza fotosintetica, provocata da manifestazioni di stress fisiologici o fitopatologici. Le piante stressate dalle incidenze fitopatologiche presentavano di norma valori di rapporto F_v/F_m inferiori, a parità di cultivar osservate.

Azione 3 - Resilienza del corileto e interventi per via fogliare.

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) - Università della Tuscia

Nella primavera 2021 sono stati selezionati i nocciolati sperimentali presso l'Azienda Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr. (Comune di Orbetello - frazione Fonteblanda, provincia Grosseto) per avviare le sperimentazioni relative alla messa a punto di protocolli di nutrizione fogliare del nocciolo a partire da impianti giovani ancora improduttivi, al fine di favorire una più precoce entrata in produzione delle giovani piante e ridurre significativamente l'apporto di fertilizzanti minerali somministrati a terra, attenuando i fenomeni di deriva dei nutrienti.

Di seguito si riportano le coordinate geografiche del centro aziendale, del corileto sperimentale coltivato con impiego della cv Tonda di Giffoni, e del corileto sperimentale coltivato con impiego della cv Tonda Gentile Romana.

Coordinate del centro aziendale (WGS84):

42°34'33" N – 11°12'34" E altitudine 15 m s.l.m.

Coordinate impianto sperimentale su cv Tonda di Giffoni (WGS84):

42°34'47" N – 11°12'16" E altitudine 32 m s.l.m.

Coordinate impianto sperimentale su cv Tonda Gentile Romana (WGS84):

42°34'18" N – 11°12'10" E altitudine 10 m s.l.m.

In azienda sono state dunque condotte due prove sperimentali distinte (trial 1 e trial 2), descritte di seguito.

Trial n.1

Cultivar: Tonda di Giffoni (piante alla quarta foglia in campo nel 2021)

Tre tesi sperimentali a confronto:

- Tesi A: piante sottoposte a nutrizione fogliare totale (4 interventi);
- Tesi B: piante sottoposte a fertilizzazione tradizionale a terra + nutrizione fogliare integrativa (2 interventi);
- Controllo: piante sottoposte a fertilizzazione tradizionale a terra per giovani impianti.

Trial n.2

Cultivar: Tonda Gentile Romana (piante alla quarta foglia in campo nel 2021)

Due tesi sperimentali a confronto:

- Tesi A: piante sottoposte a nutrizione fogliare totale (4 interventi);
- Tesi B (Controllo): piante sottoposte a fertilizzazione tradizionale a terra per giovani impianti.

Le sperimentazioni sono state avviate nella primavera 2021 e condotte per un biennio. In generale, l'azienda era caratterizzata, in fase di avviamento sperimentale, da impianti giovani ancora improduttivi, costituiti utilizzando un ampio assortimento varietale strutturato in appezzamenti omogenei. Le prove di nutrizione fogliare sono state implementate a carico delle cultivar Tonda di Giffoni e Tonda Gentile Romana (sinonimo Tonda Romana), diffusamente impiegate nei vari distretti corilicoli italiani ed internazionali.

Gli impianti delle due cultivar (figura 3.1), alla quarta foglia in campo in inizio sperimentazione (stagione vegeto-produttiva 2021), presentavano dimensioni rispettivamente di 3 ha per la Tonda di Giffoni e 1 ha per la Tonda Romana. In entrambi i casi il sesto d'impianto dei corileti era di 4,5 m x 4,0 m (555 piante/ha), e le piante erano allevate ad alberello monocaule.

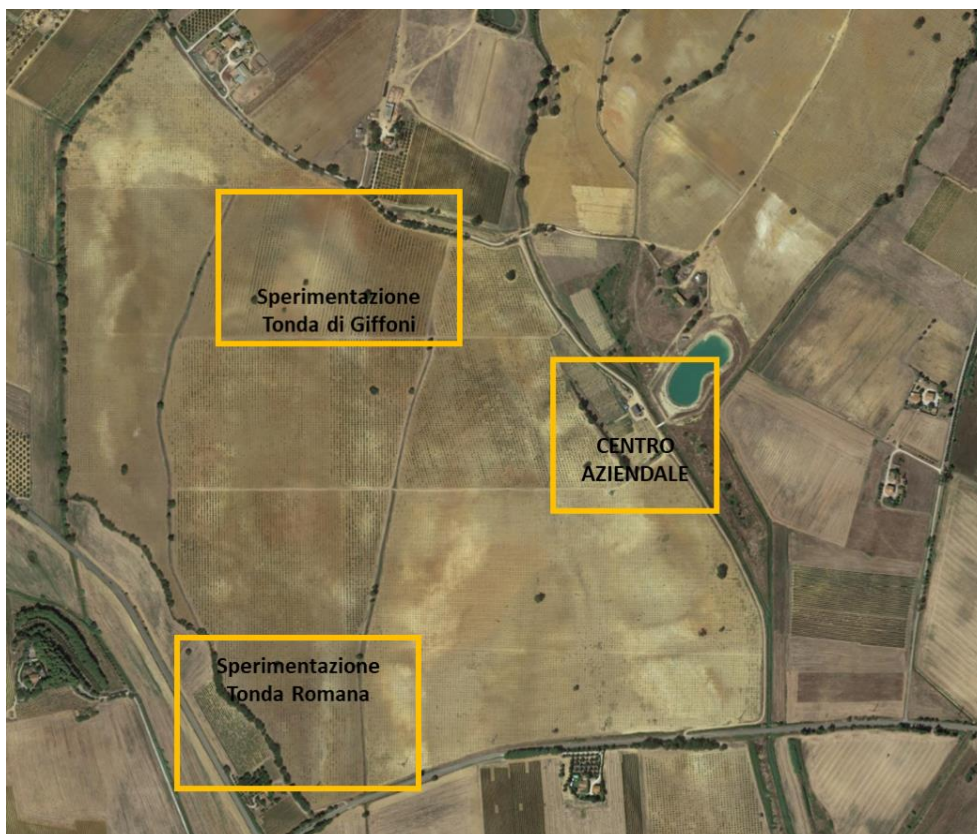


Figura 3.1. Veduta di insieme delle porzioni aziendali selezionate per l'implementazione delle prove di nutrizione fogliare su noccioli giovani (foto aerea anno di impianto).

Tabella 3.1. Fertilizzazione a terra applicata al "Controllo" delle cv Tonda di Giffoni (trial 1) e Tonda Romana (trial 2). Il programma di fertilizzazione a terra del "Controllo" viene applicato nel biennio sperimentale. La tabella riporta la tipologia di fertilizzante granulare, le quantità applicate, l'epoca di intervento. La somministrazione di urea al primo anno è stata effettuata a spaglio sull'intero appezzamento; la somministrazione di fertilizzante ternario nel secondo anno di sperimentazione è stata effettuata localizzando il prodotto nella prossimità delle piante.

INTERVENTO	ANNO INTERVENTO	FERTILIZZANTE UTILIZZATO	QUANTITÀ F.C. SOMMINISTRATO	EPOCA DI INTERVENTO
1	2021	UREA (N - 46)	100 kg/ha	Fine marzo
1	2022	FERTILIZZANTE TERNARIO (15-9-15)	100 kg/ha	Fine marzo

Il primo trial (impianto di Tonda di Giffoni) è stato suddiviso in tre parcelle, ciascuna da circa un ettaro di superficie. La parcella "Controllo" è stata gestita con modalità di fertilizzazione

tradizionale secondo le indicazioni applicative previste per giovani corileti in produttività crescente, come descritto nello schema di tabella 3.1, a confronto con due parcelle contigue di analoga superficie e analoghe caratteristiche di impianto, identificate come Tesi A e B. La Tesi A è stata gestita tramite applicazioni di nutrizione fogliare totale (tabella 3.2), secondo un modello messo a punto durante precedenti sperimentazioni condotte su impianti adulti (Cristofori et al., 2018; Cristofori et al., 2020). La Tesi B è stata gestita invece tramite interventi di fertilizzazione tradizionale a terra e applicazioni integrative per via fogliare, secondo lo schema di tabella 3.3.

Il secondo trial (impianto di Tonda Romana) è stato suddiviso in due parcelle, ciascuna di circa 5.000 m² di superficie. Nel corileto sperimentale così suddiviso sono state poste a confronto due tesi sperimentali: un controllo denominato Tesi B, gestito con modalità di fertilizzazione tradizionale analogamente allo schema del primo trial (tabella 3.1), a confronto con una Tesi A gestita tramite applicazioni di nutrizione fogliare totale, secondo lo schema di tabella 3.2. In entrambe le prove gli interventi di fertilizzazione e nutrizione fogliare sono stati applicati durante il biennio di sperimentazione, e la somministrazione dei nutrienti per via fogliare è stata eseguita con impiego di atomizzatore. I volumi di acqua di irrorazione erano di circa 400 litri per ettaro (figura 3.2).

Tabella 3.2. Calendario di intervento di nutrizione fogliare totale applicato alla Tesi A delle cultivar Tonda di Giffoni (trial 1) e Tonda Gentile Romana (trial 2). Il programma di nutrizione fogliare è stato applicato nel biennio sperimentale 2021-2022. La tabella riporta la tipologia di fertilizzante fogliare, quantità applicate, epoca di intervento.

INTERVENTO	NPK	QUANTITÀ F.C. SOMMINISTRATO	EPOCA DI INTERVENTO
1	Kappa - M (21-12-18)	5,0 kg/ha	Metà maggio
2	Fructol NF (5-8-15)	2,5 kg/ha	Inizio giugno
3	Fructol NF (5-8-15)	2,5 kg/ha	Inizio luglio
4	Fructol NF (5-8-15)	3,0 kg/ha	Inizio agosto

Tabella 3.3. Calendario di intervento di fertilizzazione a terra e nutrizione fogliare integrativa applicato alla Tesi B della cultivar Tonda di Giffoni (trial 1). Il programma di fertilizzazione e di nutrizione fogliare integrativa viene applicato nel biennio sperimentale 2021-2022. La tabella riporta la tipologia di fertilizzante granulare, fertilizzante fogliare, quantità applicate, epoca in intervento.

INTERVENTO	NPK	QUANTITÀ F.C. SOMMINISTRATO	EPOCA DI INTERVENTO
1	Fertilizzante granulare NPK (15-9-15)	100 kg/ha	Fine marzo
2	Kappa - M (21-12-18)	5,0 kg/ha	Metà maggio
3	Fructol NF (5-8-15)	2,5 kg/ha	Inizio giugno

Il principio della nutrizione fogliare fonda le proprie basi nella accertata condizione eco-fisiologica che gli elementi sono assorbiti, digeriti ed utilizzati dalla pianta per via fogliare e non vengono dispersi nell'ambiente. L'efficacia degli interventi di nutrizione fogliare è stata valutata tramite rilievi e campionamenti a carico delle componenti vegetative e parametri ecofisiologici di piante rappresentative delle varie tesi a confronto, scelte secondo uno schema randomizzato per garantire massima rappresentatività, ed evitando gli effetti bordo. Per ogni tesi costituita sono state dunque selezionate 12 piante, adottate in particolare per l'esecuzione dei rilievi non distruttivi e dei campionamenti fogliari (figure 3.3 e 3.4). Le piante selezionate sono state oggetto di analisi minerale delle foglie (diagnostica fogliare), di valutazione delle componenti della produzione nelle stagioni vegeto-produttive 2021-2022 (qualora presente, considerata la giovane età delle piante), e di osservazioni fenologiche per accertare l'eventuale influenza dei formulati di nutrizione fogliare somministrati sull'induzione a fiore delle gemme e sull'entrata in dormienza delle piante.

Le osservazioni ed i rilievi di seguito descritti sono stati condotti nel biennio 2021-22, con la sola eccezione delle analisi fogliari, condotte nella sola stagione vegeto-produttiva 2022, in quanto la stagione vegeto-produttiva precedente, parzialmente compromessa da ritorni di freddo verificatisi in inizio aprile 2021, non è stata considerata rappresentativa per la messa a punto di protocolli di diagnostica fogliare sito-cultivar specifici, da computarsi tra i principali risultati attesi per questa Azione sperimentale.



Figura 3.2. Esempio di interventi di somministrazione dei nutrienti per via fogliare con impiego di atomizzatore.



Figura 3.3. Piante di cultivar Tonda di Giffoni, selezionate per l'esecuzione delle misurazioni biometriche e per le analisi fogliari, condotte durante il biennio di indagine (Tesi A = sinistra; Tesi B = centro; Tesi C/Controllo = destra).



Figura 3.4. Piante di cultivar Tonda Gentile Romana, selezionate per l'esecuzione delle misurazioni biometriche e per le analisi fogliari, condotte durante il triennio di indagine (Tesi A = sinistra; Tesi B/Controllo = destra).

I suoli degli impianti di nocciolo selezionati per l'implementazione delle prove sono stati preliminarmente campionati ed analizzati in laboratorio per studiarne le caratteristiche fisico-chimiche antecedentemente all'avvio delle prove di nutrizione fogliare. I suoli, secondo quanto descritto in apposite schede di valutazione quanti-qualitativa compilate (schede non riportate), sono risultati discretamente omogenei, e caratterizzati nel complesso da tessitura franco-argillosa, reazione neutra o sub-alcalina, caratterizzati da un contenuto di sostanza organica medio-basso, e da elevata capacità di scambio cationico.

I rilievi biometrici ed ecofisiologici condotti in campo e le attività di diagnostica fogliare, effettuate a carico di entrambe le cultivar studiate, sono stati condotti tramite misurazione delle dimensioni delle foglie adulte e del loro relativo contenuto di sostanza secca, clorofilla, flavonoli, antociani e misura dell'indice di bilancio azotato (NBI). È stato inoltre determinato il contenuto di macro e micronutrienti presenti nelle foglie campionate in due periodi diversi della stagione vegetativo-produttiva (giugno e luglio) avendo cura di campionare le stesse foglie oggetto di determinazione dei parametri ecofisiologici sopra descritti.

I singoli rilievi e campionamenti sono stati organizzati in due repliche per ogni tesi sperimentale, ciascuna costituita da sei piante, per un totale di dodici piante per tesi sperimentale.

I rilievi biometrici, quantitativi ed ecofisiologici hanno riguardato:

- la misurazione della superficie fogliare (20 foglie per pianta selezionata) con impiego di "Image J", un software di elaborazione digitale delle immagini in grado di quantificare l'area e le statistiche del valore dei pixel in selezioni definite dall'utente;
- la determinazione del contenuto di sostanza secca, su campioni prelevati in giugno e luglio (20 foglie adulte per tesi sperimentale). La determinazione del peso secco delle foglie e del contenuto percentuale di acqua è stata effettuata tramite essiccazione dei campioni in stufa ventilata per un periodo di 48 ore a +80°C, fino a raggiungimento del peso costante. Il contenuto idrico è stato calcolato tramite la seguente formula:

$$WC = (FW-DW) / FW * 100$$

WC (water content) = percentuale di acqua nella foglia (%);

FW (fresh weight) = peso fresco della foglia (g);

DW (dry weight) = peso secco della foglia (g);

- il contenuto di clorofilla, flavonoli, antocianine e calcolo dell'indice NBI (nitrogen balance index). Questi parametri ecofisiologici della foglia sono stati misurati con l'ausilio dell'analizzatore fogliare DUALEX PLUS ® (FORCE-A, Orsay, Francia) (figura 3.5sx), precedentemente descritto nell'Azione 1. Tale strumento portatile è costituito da una pinza ed un sensore in grado di rilevare i valori in maniera non distruttiva. Tutti i dati restituiscono un valore in $\mu\text{g cm}^{-1}$, tranne il parametro NBI, che rilascia un indice numerico adimensionale di incidenza della dotazione azotata della foglia;
- determinazione dei parametri di fluorescenza della clorofilla tramite impiego di FluorPen portatile (figura 3.5dx) precedentemente descritto nell'Azione 1. Tale apparecchiatura da campo e/o laboratorio consente di determinare efficacemente l'attività fotosintetica, il rilevamento degli stress, test di presenza di erbicidi e lo screening di mutanti.



Figura 3.5. Esempio di “pinzata” in campo con impiego di analizzatore fogliare Dualex Plus nelle piante oggetto nutrizione fogliare sperimentale (sx = a sinistra), e dispositivo PAR-FluorPen FP 110-LM/D utilizzato durante i rilievi ecofisiologici di campo (dx = a destra).

Particolarmente significativa è stata la determinazione del contenuto di macro e micronutrienti presenti nelle foglie campionate, che oltre a determinare lo stato nutrizionale delle piante per effetto dei trattamenti fogliari testati, ha consentito di sviluppare schede di diagnostica fogliare per il nocciolo dalla sua fase improduttiva fino alla fase di produttività crescente.

I campioni fogliari sono stati sminuzzati in laboratorio ed essiccati a +37°C per 72 ore. Una aliquota di campione fogliare così trattato (tal quale essiccato) e polverizzato, è stato sottoposto ad analisi con impiego di analizzatore elementare Flash EA1112 (Thermo Electron Corporation Usa), per la determinazione del contenuto di azoto (N) e carbonio (C).

Per ciascun campione sono stati pesati circa 10 mg di biomassa che poi sono stati posti in capsule di alluminio inserite nell’auto-campionatore dell’analizzatore elementare. Lo strumento prevede una combustione rapida e completa del campione all’interno del forno a circa +950°C, i gas della combustione vengono fatti passare in corrente d’elio ad un secondo forno a circa +850°C per completare l’ossidazione. Successivamente la miscela gassosa viene separata per gascromatografia ed i gas vengono rilevati da un detector. Lo strumento permette così di determinare il carbonio e l’azoto dalle biomasse vegetali. Per determinare la concentrazione di C ed N è stata utilizzata una retta di calibrazione.

Una seconda aliquota di campione fogliare pari a 250 mg di materiale essiccato è stato inserito in tubi di tetrafluorometossi e posti in microonde. In ogni tubo sono stati aggiunti al campione 2 ml di perossido di idrogeno (H₂O₂) al 30% (m/m), 0,5ml di HCl al 37% e 7,5 ml di una soluzione di

HNO₃. In una sola fase, i campioni sono stati portati da una temperatura iniziale di +25°C a +180°C in 37 minuti. Successivamente la temperatura è stata mantenuta costante (+180°C) per 15 minuti. Dopo essere stati raffreddati i campioni sono stati diluiti fino ad un volume finale di 25 ml di acqua Milli-Q. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti tre volte.

La digestione acida dei campioni è stata eseguita con l'utilizzo di un forno a microonde da laboratorio commerciale ad alta pressione (Mars più CEM, Italia) che opera a una potenza di 1800 W attrezzato per 10 tubi di tetrafluorometossi. Gli elementi determinati sono stati i seguenti: zinco (Zn = 213.857 nm); ferro (Fe = 259.939 nm); fosforo (P = 213.620 nm); boro (B = 249.677 nm); manganese (Mn = 257.610 nm); calcio (Ca = 317.933 nm); potassio (K = 766.490 nm); magnesio (Mg = 279.077 nm); rame (Cu = 324.752 nm). È stato utilizzato uno spettrometro a emissione ottica accoppiato induttivamente al plasma (ICP OES) con configurazione assiale (Optima 8000DV, Perkin Elmer) e nebulizzatori a ultrasuoni (U5000AT + CETAC). Per ogni elemento è stata scelta la frequenza con l'interferenza più bassa, un segnale analitico e un rapporto di fondo elevati.

Nel mese di Giugno delle stagioni vegeto-produttive di sperimentazione, le piante selezionate nelle varie parcelle sperimentali sottoposte a differenti trattamenti di nutrizione fogliare sono state osservate per gli aspetti di vigoria (componente vegetativa), tramite determinazione della sezione del tronco a 20 cm da terra, e per gli aspetti riproduttivi tramite conta degli involucri e relative nocchie, per valutare l'effetto degli interventi di nutrizione fogliare sia sulla crescita della pianta sia sulla precocità di entrata in produzione della stessa.

Caratteristiche biometriche e fisiologiche delle foglie

Le caratteristiche biometriche delle foglie, insieme alla determinazione dei parametri ecofisiologici e dell'indice di azoto, possono essere considerate un buon riferimento di valutazione dello stato nutrizionale di una pianta.

Nei mesi di giugno e luglio sono stati prelevati campioni rappresentativi di foglie inserite in posizione mediana della chioma delle piante selezionate nelle varie tesi sperimentali, e sottoposte a determinazioni biometriche e ed ecofisiologiche.

Le caratteristiche biometriche (superficie fogliare) e il contenuto di sostanza secca delle foglie di Tonda di Giffoni e Tonda Gentile Romana sono riportate rispettivamente nelle tabelle 3.4 e 3.5. L'analisi dei dati ha evidenziato come in Tonda di Giffoni non risultavano differenze significative per tali parametri tra le tesi sottoposte a nutrizione fogliare e concimazione a terra.

Il protocollo di trattamenti fogliari non ha influenzato il contenuto di sostanza secca nelle foglie, attestatosi su valori di circa il 45% s.s.. La superficie fogliare è risultata invece lievemente influenzata, con valori superiori nelle piante sottoposte a interventi fogliari. Con riferimento alle epoche di campionamento, le foglie del mese di giugno risultavano caratterizzate da una superficie media superiore rispetto a quella delle foglie campionate nel mese di luglio.

Anche in Tonda Gentile Romana non sono emerse differenze significative nel contenuto medio di sostanza secca nelle foglie in riferimento al tipo di trattamento di nutrizione e dell'epoca di prelievo dei campioni fogliari (tabella 3.5).

Tabella 3.4. Valori medi di biennio relativi al contenuto di sostanza secca (%) e alla superficie fogliare (cm²) della cv Tonda di Giffoni.

Cultivar	Tesi	Epoca campionamento	Sostanza secca (%)	Superficie fogliare (cm ²)
TG	4 interventi fogliari (A)	Fine giugno	44,71	62,28
		Fine luglio	45,11	67,31
	2 interventi fogliari + intervento a terra (B)	Fine giugno	45,01	66,50
		Fine luglio	44,99	65,80
	Controllo (C)	Fine giugno	45,14	64,74
		Fine luglio	44,07	57,28

Tabella 3.5. Valori medi di biennio relativi al contenuto di sostanza secca (%) e alla superficie fogliare (cm²) della cv Tonda Gentile Romana.

Cultivar	Tesi	Epoca campionamento	Sostanza secca (%)	Superficie fogliare (cm ²)
TGR	4 interventi fogliari (A)	Fine giugno	46,18	50,16
		Fine luglio	45,76	49,11
	Controllo (B)	Fine giugno	46,32	52,48
		Fine luglio	47,22	42,86

Contenuto di clorofille, flavonoli, carotenoidi e determinazione dell'indice NBI nelle foglie

La determinazione del contenuto di clorofilla e altri pigmenti nelle foglie, contribuisce a determinare lo stato ecofisiologico della pianta. In particolare, l'indice di bilancio azotato nelle foglie mature consente una valutazione precoce e non distruttiva circa lo stato di nutrizione azotata della pianta, quale parametro attendibile per eventuali correzioni nei piani di fertilizzazione della coltura. In tabella 3.6 e 3.7 sono riportati oltre all'indice NBI, i contenuti di clorofilla totale (Chl), flavonoli (Flav) e antociani (Anth), espressi in $\mu\text{g cm}^{-2}$, presenti nelle foglie di Tonda di Giffoni (TG) e Tonda Gentile Romana (TGR), rispettivamente. Le foglie analizzate corrispondevano alle stesse prelevate durante i campionamenti effettuati nei mesi di giugno e luglio, sia per la determinazione della superficie fogliare, sia per la determinazione dei contenuti di nutrienti.

Differenze nel contenuto di clorofilla sono risultate significative in Tonda di Giffoni sia per il fattore "trattamento" sia per la "data di campionamento", mentre l'interazione dei due fattori non è risultata significativa. I valori più elevati sono stati riscontrati nelle foglie della Tesi A (oltre $35 \mu\text{g cm}^{-2}$), mentre la Tesi B evidenziava valori sensibilmente inferiori ($33,7 \mu\text{g cm}^{-2}$). Il contenuto di flavonoli è risultato significativamente maggiore nelle foglie della Tesi A, con valori medi superiori a $2 \mu\text{g cm}^{-2}$. In generale valori lievemente più elevati sono stati osservati nel mese di luglio. Anche per gli antociani sono emerse differenze significative legate al trattamento di nutrizione fogliare, con valori più elevati nella la Tesi B, e più in generale nelle foglie campionate nel mese di luglio. L'indice NBI è risultato significativamente influenzato dall'effetto del trattamento, senza influenze

significative legate all'epoca di campionamento fogliare. Valori medi più elevati sono stati rilevati nelle foglie della Tesi A e nel Controllo.

Nella prova condotta su cv Tonda Gentile Romana sono emerse differenze significative a carico del contenuto fogliare di clorofilla per effetto dei parametri considerati (trattamento e data di campionamento). Nel complesso, i contenuti di clorofilla risultavano simili per entrambe le tesi nelle foglie campionate a luglio. Contenuti inferiori sono emersi invece in giugno, in particolare a carico delle foglie campionate nelle piante controllo (Tesi B). Complessivamente le piante della Tesi A hanno evidenziato contenuti medi di clorofilla superiori rispetto al controllo, attestandosi su valori prossimi a $31 \mu\text{g cm}^{-2}$.

Diversamente dalla clorofilla non sono emerse differenze significative nel contenuto di flavonoli e antociani. A differenza di quanto osservato per Tonda di Giffoni, in Tonda Gentile Romana l'indice di bilancio azotato non è stato influenzato significativamente dal fattore trattamento, mentre è risultato significativamente differente rispetto all'epoca di campionamento, risultando più elevato nel mese di luglio rispetto a giugno.

Tabella 3.6. Valori medi di biennio di contenuto di clorofilla totale (Chl), flavonoli (Flav) e antocianine (Anth), espressi in $\mu\text{g cm}^{-2}$, e indice di bilancio azotato (NBI) rilevati nelle foglie della cv Tonda di Giffoni.

Cultivar	Tesi	Epoca campionamento	Chl	Flav	Anth	NBI
TG	4 interventi fogliari (A)	Fine giugno	35,87	2,12	0,05	17,06
		Fine luglio	36,00	2,06	0,07	17,71
	2 interventi fogliari + intervento a terra (B)	Fine giugno	29,78	1,97	0,08	15,42
		Fine luglio	31,86	2,17	0,09	14,76
	Controllo (C)	Fine giugno	33,89	1,84	0,06	18,78
		Fine luglio	36,64	2,15	0,06	17,09

Tabella 3.7. Valori medi di biennio di contenuto di clorofilla totale (Chl), flavonoli (Flav) e antocianine (Anth), espressi in $\mu\text{g cm}^{-2}$, e indice di bilancio azotato (NBI) rilevati nelle foglie della cv Tonda Gentile Romana.

Cultivar	Tesi	Epoca campionamento	Chl	Flav	Anth	NBI
TGR	4 interventi fogliari (A)	Fine giugno	26,02	2,11	0,11	12,41
		Fine luglio	30,34	2,25	0,10	13,47
	Controllo (B)	Fine giugno	30,34	2,25	0,10	13,47
		Fine luglio	28,62	2,29	0,12	12,51

Determinazione della fluorescenza della clorofilla nelle piante sottoposte a differenti trattamenti di nutrizione.

Il fluorimetro PAM portatile FluorPen FP 110, alimentato a batteria, è uno strumento che consente di misurare in modo rapido e preciso i parametri di fluorescenza della clorofilla in laboratorio, in serra o sul campo. Può essere utilizzato efficacemente per lo studio dell'attività fotosintetica, il rilevamento di stress, il test degli erbicidi o lo screening di genotipi mutanti.

Durante i mesi estivi delle stagioni vegeto-produttive 2021-22, sono state condotte delle campagne di raccolta dati per monitorare le eventuali condizioni di stress fisiologico delle piante potenzialmente indotte dalle applicazioni di nutrizione fogliare.

Durante la stagione vegeto-produttiva 2021 sono state effettuate delle misurazioni di calibrazione strumentale, mentre nel secondo anno di sperimentazione sono state eseguite le effettive misurazioni di campo, con particolare accuratezza durante il mese di luglio, in quanto considerato uno dei periodi più critici per la coltura.

Alcune foglie selezionate per pianta sono state sottoposte ad ambientamento "*in planta*" al per 15 minuti prima delle misurazioni per poi misurare rispettivamente i valori di Ft, Qy e il rapporto tra Fv/Fm. Il parametro Ft, indicando il punto di equilibrio tra le reazioni fotochimiche e il loro impiego nelle reazioni enzimatiche della fase oscura della fotosintesi, indica eventuali stress esterni allo svolgimento di tale funzione; quindi, maggiore è il valore determinato, più la pianta risulta

sotto stress. I valori superiori per questo parametro sono stati riscontrati nei controlli concimati a terra per entrambe le cultivar (figure 3.6 e 3.7).

Il parametro Q_y esprime il rapporto tra i fotoni emessi e i fotoni assorbiti dalla foglia. In questo modo è possibile verificare la linea di base dell'assorbanza utilizzata. Se il valore di Q_y calcolato tende a diminuire verso le lunghezze d'onda di eccitazione più basse, è probabile che la linea di base dell'assorbanza non sia perfetta, indicando la condizione di stress per la pianta. Dalle misurazioni condotte nel mese di luglio 2022 tale parametro non ha evidenziato differenze sostanziali tra i diversi trattamenti di nutrizione, in entrambe le cultivar.

Il rapporto F_v/F_m è il parametro di maggiore validità in qualità di indicatore dell'attività fotochimica dell'apparato fotosintetico; in particolare la pianta presenta un optimum fotosintetico intorno allo 0,8, mentre valori più bassi indicano una minor efficienza fotosintetica, provocata da manifestazioni di stress fisiologici o fitopatologici. In questo caso sono state osservate delle differenze significative nella cultivar Tonda di Giffoni, dove la Tesi C di controllo non trattato per via fogliare, evidenziava valori significativamente più bassi (0,64) rispetto a quelli delle Tesi A e B. La cultivar Tonda Gentile Romana non presentava invece differenze significative per il parametro considerato, con valori medi di poco superiori allo 0,6 per entrambe le Tesi.

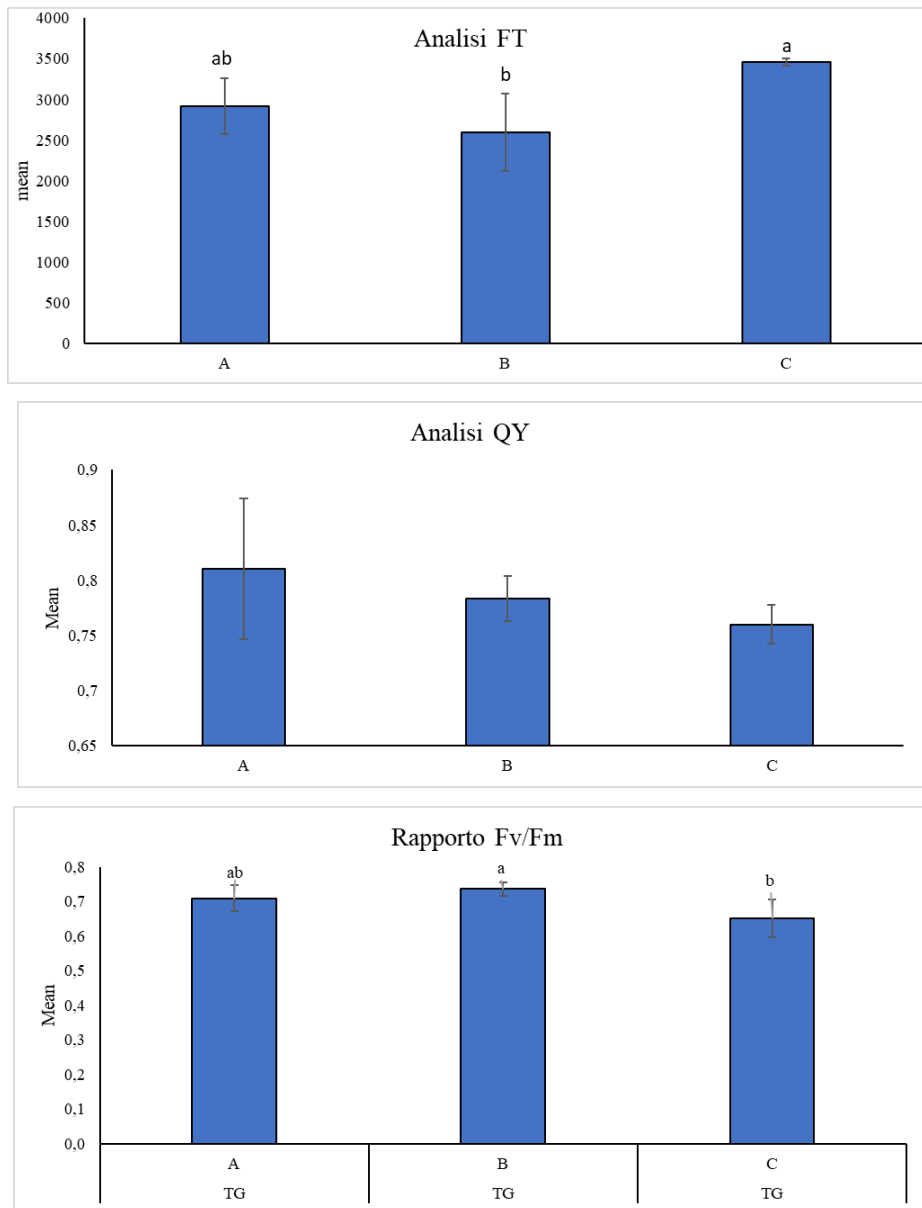


Figura 3.6. Valori medi di Ft, Qy e rapporto Fv/Fm determinati con impiego di Flourpen durante il mese di luglio 2022, su piante rappresentative delle Tesi di nutrizione applicate sulla cultivar Tonda di Giffoni (valori di Ft grafico in alto; Qy grafico di centro; Fy/Fm grafico in basso).

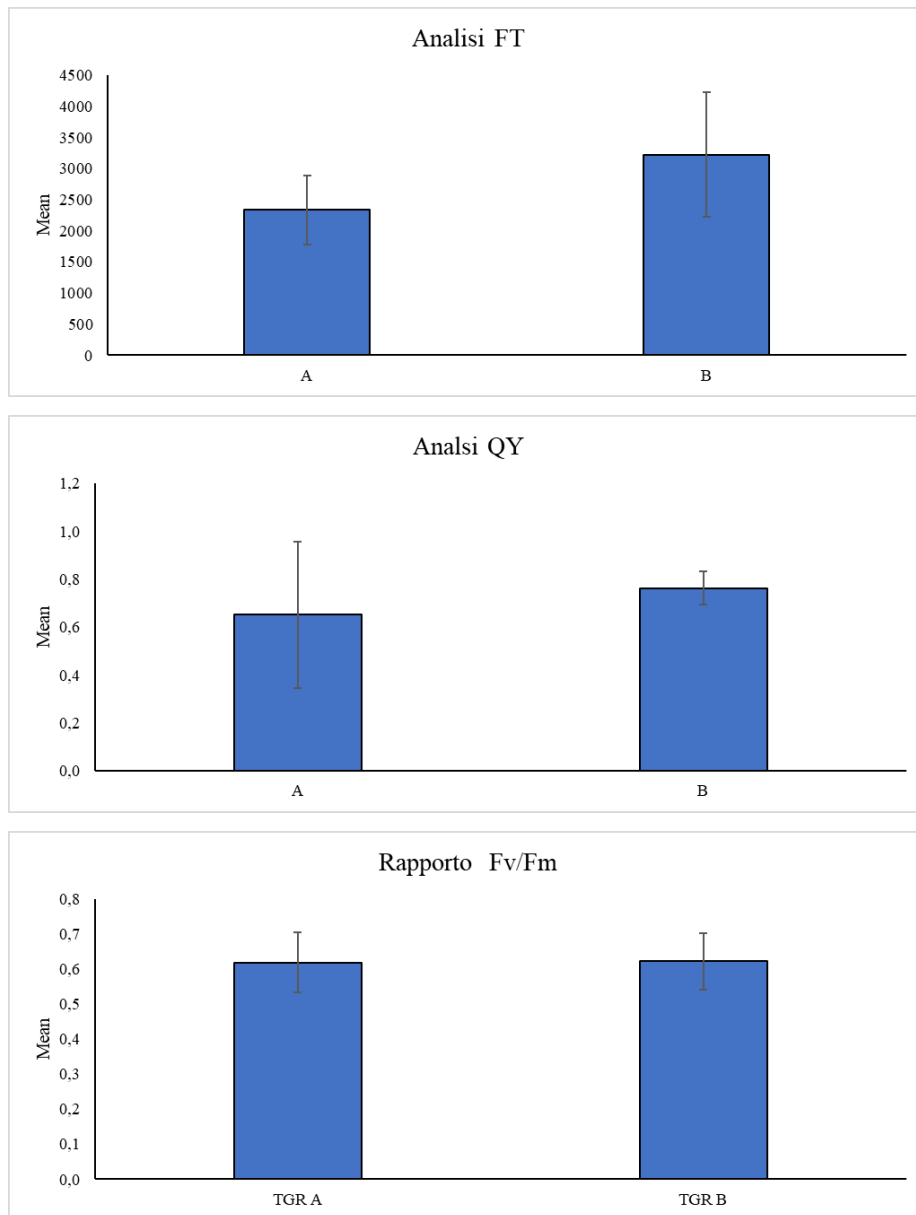


Figura 3.7. Valori medi di Ft, Qy e rapporto Fv/Fm determinati con impiego di Flourpen durante il mese di luglio 2022, su piante rappresentative delle Tesi di nutrizione applicate sulla cultivar Tonda Gentile Romana (valori di Ft grafico in alto; Qy grafico di centro; Fy/Fm grafico in basso).

Analisi del contenuto di nutrienti nelle foglie e diagnostica fogliare.

L'analisi dei tessuti vegetali, in particolare la diagnostica fogliare, è fondamentale per la valutazione delle condizioni nutrizionali della coltura. Tramite la diagnostica fogliare è possibile individuare rapidamente le carenze o gli eccessi nutrizionali e intervenire in modo mirato. I risultati vanno poi confrontati con i valori di riferimento specifici per la coltura e disponibili in letteratura.

I contenuti minerali determinati durante i campionamenti fogliari e le relative analisi condotte per la cultivar Tonda di Giffoni sono riportati nelle tabelle 3.8a e 3.8b, mentre le tabelle 3.9a e 3.9b riportano i valori medi rilevati per la cultivar Tonda Romana.

Tabella 3.8a. Concentrazione di azoto, carbonio, fosforo, potassio, calcio e magnesio, espressi come percentuale sulla sostanza secca, contenuti nelle foglie campionate della cv Tonda di Giffoni durante la stagione vegeto-produttiva 2022.

Tesi	Trattamento	Epoca campionamento	N (% s.s.)	C (% s.s.)	P (% s.s.)	K (% s.s.)	Ca (% s.s.)	Mg (% s.s.)
TG	A	24 giugno 2022	2,53	44,88	0,06	0,65	0,83	0,13
		28 luglio 2022	2,55	45,48	0,06	0,13	1,31	0,13
	B	24 giugno 2022	2,06	41,74	0,06	0,52	0,82	0,15
		28 luglio 2022	2,90	45,49	0,05	0,14	1,32	0,15
	C	24 giugno 2022	2,43	47,54	0,06	0,43	0,87	0,15
		28 luglio 2022	3,28	45,79	0,06	0,13	1,23	0,12

Tabella 3.8b. Concentrazione di ferro, manganese, boro, rame e zinco espressi come ppm (mg/kg s.s.) sulla sostanza secca, contenuti nelle foglie campionate della cv Tonda di Giffoni durante la stagione vegeto-produttiva 2022.

Tesi	Trattamento	Campionamento	Fe (ppm s.s.)	Mn (ppm s.s.)	B (ppm s.s.)	Cu (ppm s.s.)	Zn (ppm s.s.)
TG	A	24 giugno 2022	419,70	88,52	53,62	9,95	11,64
		28 luglio 2022	169,63	105,69	62,86	9,08	13,21
	B	24 giugno 2022	502,09	169,13	44,98	9,82	6,50
		28 luglio 2022	227,02	181,13	49,72	8,59	8,31
	C	24 giugno 2022	554,63	128,48	55,76	8,67	6,87
		28 luglio 2022	208,50	146,55	69,29	7,55	22,58

Tabella 3.9a. Concentrazione di azoto, carbonio, fosforo, potassio, calcio e magnesio, espressi come percentuale sulla sostanza secca, contenuti nelle foglie campionate della cv Tonda Gentile Romana durante la stagione vegeto-produttiva 2022.

Tesi	Trattamento	Epoca campionamento	N (% s.s.)	C (% s.s.)	P (% s.s.)	K (% s.s.)	Ca (% s.s.)	Mg (% s.s.)
TGR	A	24 giugno 2022	1,98	44,39	0,06	0,66	0,68	0,15
		28 luglio 2022	3,52	45,16	0,06	0,16	1,61	0,14
	B	24 giugno 2022	2,47	44,75	0,05	0,44	0,83	0,15
		28 luglio 2022	3,10	45,52	0,05	0,12	1,13	0,13

Tabella 3.9b. Concentrazione di ferro, manganese, boro, rame e zinco espressi come ppm (mg/kg s.s.) sulla sostanza secca, contenuti nelle foglie campionate della cv Tonda Gentile Romana durante la stagione vegeto-produttiva 2022.

Tesi	Trattamento	Epoca campionamento	Fe (ppm s.s.)	Mn (ppm s.s.)	B (ppm s.s.)	Cu (ppm s.s.)	Zn (ppm s.s.)
TGR	A	24 giugno 2022	383,16	82,10	40,58	9,46	11,49
		28 luglio 2022	316,69	95,99	53,13	7,56	15,94
	B	24 giugno 2022	413,23	65,19	40,92	8,16	10,84
		28 luglio 2022	248,97	61,94	35,73	6,20	12,17

I valori relativi alle analisi fogliari sono stati sottoposti ad analisi della varianza al fine di valutare la significatività delle differenze analitiche riscontrate sulla base dell'effetto trattamento, dell'epoca di campionamento, e loro interazione.

L'analisi della varianza applicata al contenuto di nutrienti nelle foglie della cultivar Tonda di Giffoni ha evidenziato differenze significative per il solo fattore “data di campionamento” in particolare per il contenuto di azoto, fosforo e potassio. I contenuti medi di azoto più elevati sono stati riscontrati nel mese di luglio. Al contrario, i contenuti medi maggiori di fosforo e potassio sono stati osservati in giugno. Per il calcio i valori rilevati variavano tra 1 e 1,5% s.s., mentre il magnesio nelle foglie è risultato piuttosto variabile e compreso tra 0,1 e 2% s.s. nelle varie tesi sperimentali.

Alcune differenze significative sono state osservate anche per il contenuto di microelementi indagati. Per alcuni elementi come ferro e manganese il range di valori rilevati è risultato piuttosto ampio, ed in linea con quanto proposto in bibliografia. Ampia variabilità è stata registrata in particolare per il contenuto di ferro, risultato tra l'altro significativamente influenzato dai fattori “data di campionamento” e interazione con il “trattamento x data di campionamento”.

Differenze legate all'effetto del “trattamento” sono emerse per il contenuto di manganese, con contenuti superiori rilevati nelle foglie della Tesi B. Nelle piante della Tesi A il valore medio osservato è risultato inferiore rispetto a quello rilevato nelle foglie del controllo. Anche per il contenuto di zinco sono emerse differenze significative legate al tipo di trattamento. In particolare, valori maggiori di contenuto del microelemento sono stati rilevati nelle foglie delle piante

sottoposte a esclusiva fertilizzazione minerale a terra. L'analisi statistica non ha infine evidenziato differenze significative per i microelementi boro e rame.

Anche per la cultivar Tonda Gentile Romana l'analisi della varianza applicata al contenuto di nutrienti nelle foglie, ha evidenziato differenze significative per il solo fattore “data di campionamento”. In particolare, i contenuti medi di azoto più elevati sono stati riscontrati nel mese di luglio, con valori di circa il 3% s.s., significativamente più elevati rispetto al contenuto rilevato durante i campionamenti di giugno. Anche il carbonio e il calcio sono risultati maggiormente rappresentati nel mese di luglio. Al contrario, i contenuti di magnesio sono risultati maggiori nelle foglie campionate in giugno rispetto a quelle campionate in luglio. Potassio e fosforo, diversamente dai nutrienti sopra descritti, non evidenziavano alcuna significatività statistica all'analisi della varianza.

Analogamente a quanto osservato in Tonda di Giffoni, anche per la cultivar Tonda Gentile Romana sono emerse differenze significative a carico del contenuto di microelementi indagati, ed in particolare manganese e zinco sono stati influenzati dall'effetto “trattamento”. Per il manganese, contenuti significativamente superiori sono stati osservati nelle foglie delle piante della Tesi A con valori medi superiori a 80 mg/kg s.s., mentre il controllo (Tesi B) evidenziava valori medi di 60-65 mg/kg s.s. Per lo zinco, i contenuti maggiori sono stati osservati nelle foglie delle piante della Tesi A, mentre il controllo evidenziava valori medi inferiori.

Il ferro risultava influenzato significativamente dall'effetto “data di campionamento”, con valori medi superiori nel mese di giugno. Anche per il boro sono emerse differenze significative legate all'epoca di campionamento, con valori più elevati nel mese di giugno. Nessuna differenza significativa è emersa per il contenuto di rame.

Effetto dei trattamenti fogliari sulla vigoria delle piante.

Nelle tabelle 3.10 e 3.11 sono riportati i rilievi di sezione del tronco a 20 cm da terra (AST) e la conta delle nocchie presenti in pianta durante la stagione vegeto-produttiva del 2021 per le cultivar oggetto di studio. Pur non evidenziando differenze significative all'analisi della varianza, le piante delle due cultivar in prova, evidenziavano una maggiore vigoria (valori di ATS maggiori nelle Tesi trattate con interventi fogliari totali e integrativi), particolarmente evidente nel caso della Tesi B in Tonda di Giffoni, con valori di ATS di oltre 13 cm². Inoltre, le Tesi trattate per via fogliare evidenziavano una maggiore presenza di nocchie, evidente nel caso della Tesi A in Tonda di

Giffoni, lasciando intendere un parziale effetto di anticipazione nell'entrata in produzione, rispetto alle piante trattate con sola fertilizzazione tradizionale a terra.

Tabella 3.10. Vigoria delle piante della cultivar Tonda di Giffoni determinata tramite il calcolo della sezione del tronco a 20 cm da terra (AST), e numero medio di involucri e di nocciole per pianta determinati in fine giugno 2021. I rilievi sono stati condotti su 12 piante selezionate per ogni tesi sperimentale.

Cultivar	Trattamento	involucri con nocciole	nocciole	AST cm²
TG	Tesi A	2	4	10,76
	Tesi B	1	1	13,61
	Tesi C	0	0	10,30

Tabella 3.11. Vigoria delle piante della cultivar Tonda Gentile Romana determinata tramite il calcolo della sezione del tronco a 20 cm da terra (AST), e numero medio di involucri e di nocciole per pianta determinati in fine giugno 2021. I rilievi sono stati condotti su 12 piante selezionate per ogni tesi sperimentale.

Cultivar	Trattamento	involucri con nocciole	nocciole	AST cm²
TGR	Tesi A	1	2	7,63
	Tesi B	0,5	1	5,51

Durante il mese di gennaio 2022, in inizio secondo anno di sperimentazione, è stata condotta la conta del numero di amenti (infiorescenze maschili) e del numero di glomeruli (fiori femminili), per questi ultimi almeno quelli visibili per estrusione degli stigmi, presenti sulle piante selezionate nelle prove di nutrizione fogliare. Inoltre, a giugno 2022 sono stati determinati nuovamente alcuni parametri biometrici come l'altezza delle piante e la sezione del tronco a 20 cm da terra (tabelle 3.12 e 3.13).

Dall'elaborazione dei dati raccolti è emersa una significativa differenza tra le Tesi di nutrizione della Tonda di Giffoni per quanto riguarda l'altezza delle piante. Il valore medio più elevato è stato osservato nella Tesi A con 2,14 m; valori leggermente inferiori sono stati osservati nella Tesi B con 2,05 m, mentre la Tesi C di controllo ha fatto registrare valori medi inferiori, e pari a 1,74 m. Anche i valori di sezione del tronco hanno evidenziato differenze significative tra le Tesi con valori medi compresi tra 21,3 cm² per la Tesi B, e 18,6 cm² per la Tesi C.

Relativamente al numero di amenti per pianta questi hanno evidenziato discreta variabilità passando da valori medi di 210 amenti per pianta nella Tesi C, a valori di 182 amenti per pianta per la Tesi A e 192 per la Tesi B. Diversamente dalla presenza di amenti, le infiorescenze femminili hanno evidenziato un comportamento antitetico, in quanto la frequenza maggiore di glomeruli femminili è stata osservata per la Tesi A, rispetto a quelli della Tesi B e C.

Tabella 3.12. Valori medi di altezza della pianta e sezione del tronco a 20 cm da terra, per la cultivar Tonda di Giffoni determinati in giugno 2022. Conta degli amenti e dei glomeruli per pianta condotta a Gennaio 2022.

Tesi	Altezza (m)	Sezione del tronco (cm ²)	n° amenti (max-min)	n° glomeruli (max-min)
A	2,14 ± 0,21a	19,05 ± 4,70 b	182 (249-141)	6 (12-3)
B	2,05 ± 0,17 a	21,28 ± 5,62 a	192 (309-121)	2 (3-1)
C	1,74 ± 0,13 b	18,58 ± 5,59 b	210 (303-44)	1 (3-0)

Anche la cultivar Tonda Gentile Romana presentava delle differenze significative per i parametri analizzati. L'altezza media della pianta risultava essere di 1,6 m nella Tesi A, superiore rispetto a quella rilevata nella Tesi B (1,2 m). I valori medi di sezione del tronco, pari a 8,75 cm² nella Tesi B, erano di entità superiore nella Tesi A (12,5 cm²). Il numero medio di amenti per pianta era di 49 nella Tesi A, mentre erano pari a 36 nel Controllo (Tesi B). Infine, in entrambe le Tesi non si riscontrava ancora la presenza di infiorescenze femminili. Si precisa che in fase di fioritura, data l'inconsistenza dei glomeruli femminili, poco visibili per assenza di vessilli fiorali vistosi, la conta degli stessi risulta complicata, motivo per il quale si è optato anche per la conta dei frutti in fase di maturazione (fine luglio – inizio agosto).

Tabella 3.13. Valori medi di altezza della pianta e sezione del tronco a 20 cm da terra, per la cultivar Tonda Gentile Romana determinati in giugno 2022. Conta degli amenti e dei glomeruli per pianta condotta a gennaio 2022.

Tesi	Altezza (m)	Sezione del tronco (cm ²)	n° amenti (max-min)	n° glomeruli (max-min)
A	1,57 ± 0,11 a	12,48 ± 3,77 a	49 (72-41)	0
B	1,21 ± 0,16 b	8,75 ± 3,29 b	36 (72-8)	0

Al fine di valutare l'effetto delle prove di nutrizione fogliare è stata eseguita la conta "in planta" dei frutti (involucri o clusters) in entrambe le cultivar in prova.

La figura 3.8 descrive la presenza di involucri (infruttescenze) nella cultivar Tonda di Giffoni, mentre la figura 3.9, descrive quella riscontrata nella cultivar Tonda Gentile Romana.

Nella prima cultivar la Tesi A, sottoposta a 4 trattamenti fogliari stagionali, evidenziava una frequenza maggiore di frutti rispetto alle Tesi B e C, mentre la cultivar Tonda Gentile Romana presentava un comportamento antitetico, con maggiore frequenza di infruttescenze nella Tesi B (Controllo).

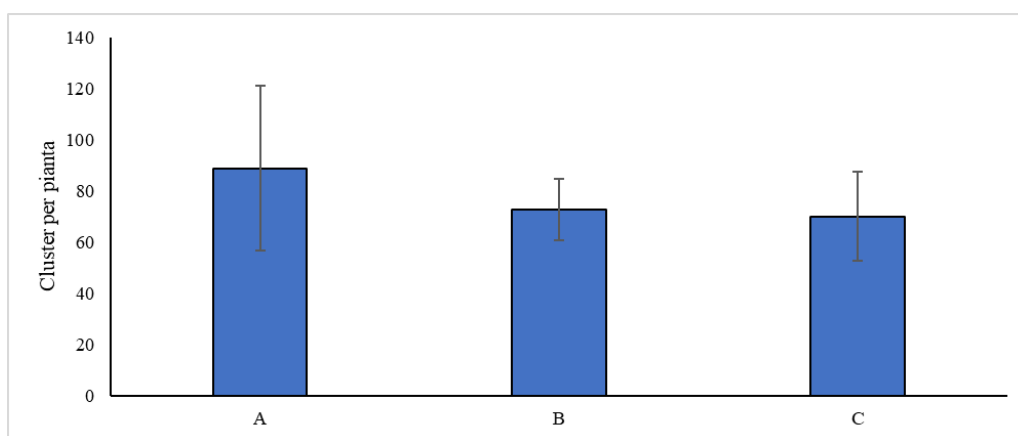


Figura 3.8. Numero medio di infruttescenze presenti per pianta per la cultivar Tonda di Giffoni (stagione vegeto-produttiva 2022).

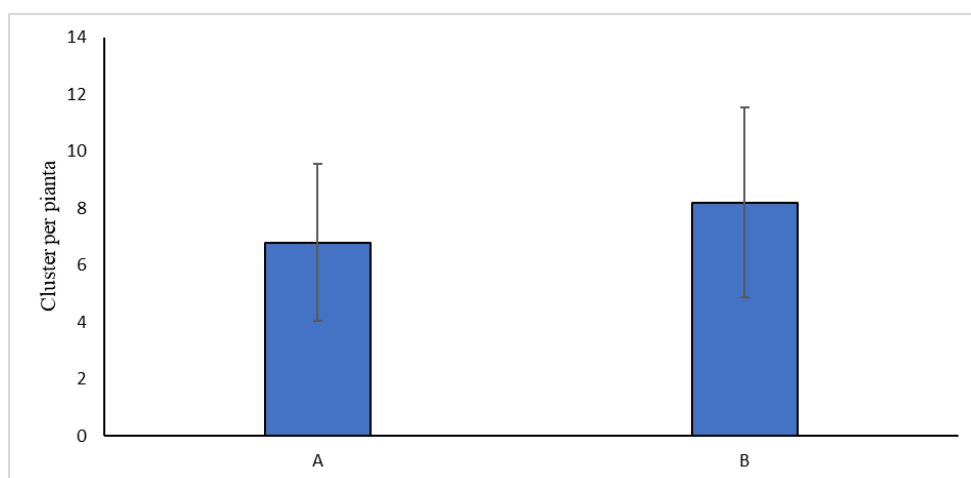


Figura 3.9. Numero medio di infruttescenze presenti per pianta per la cultivar Tonda Gentile Romana (stagione vegeto-produttiva 2022).

Nel mese di settembre 2022, è stata effettuata la raccolta manuale delle nocciole per pianta, e contestualmente sono stati replicati i rilievi biometrici al fine di determinare l'efficienza produttiva delle piante (espressa come rapporto tra produzione e sezione del tronco) in funzione del trattamento di nutrizione. I valori medi elaborati per la cultivar Tonda di Giffoni sono riportati in tabella 3.14, mentre quelli della cultivar Tonda Gentile Romana in tabella 3.15. La sezione del tronco risultava superiore nella Tesi A della cultivar Tonda di Giffoni, con valori di 27 cm² per pianta, mentre valori leggermente inferiori sono stati osservati nelle Tesi C e B, e pari rispettivamente a 25 cm² e 23 cm². Differenze significative sono state osservate per il parametro produzione, con valori medi per pianta di 950 g nella Tesi A, significativamente superiori rispetto a quella della Tesi B (677 g pianta⁻¹) e del controllo (434 g pianta⁻¹). Anche il parametro efficienza produttiva è risultato superiore nella Tesi A.

Tabella 3.14. Produzione per pianta ed efficienza produttiva della cultivar Tonda di Giffoni sottoposta a differenti trattamenti di nutrizione. Stagione vegeto-produttiva 2022.

Cultivar	Tesi	Sezione (cm ²)	Produzione (g)	Efficienza produttiva (kg cm ⁻²)
TG	A	26,91 ± 6,41	950,20 ± 171,36 a	0,035 ± 0,01
	B	22,97 ± 5,29	677,03 ± 158,31 b	0,029 ± 0,01
	C	25,03 ± 6,83	434,15 ± 130,53 c	0,017 ± 0,01
<i>d.m.s. p<0,05</i>		<i>n.s.</i>	**	<i>n.s.</i>

I valori di tabella 3.15, relativa ai parametri acquisiti in Tonda Gentile Romana, evidenziavano una sezione del tronco significativamente superiore nella Tesi A (13,46 cm²) rispetto alla Tesi B (9,24 cm²). Anche la produzione risultava significativamente superiore nella Tesi A, sottoposta a 4 trattamenti fogliari, con valori medi 38 g di nocciole per pianta, rispetto alla Tesi B di controllo, che presentava valori medi per pianta di 16 g. Nessuna significatività è stata osservata per il parametro efficienza produttiva, risultata comunque superiore nella Tesi A.

Tabella 3.15. Produzione per pianta ed efficienza produttiva della cultivar Tonda Gentile Romana sottoposta a differenti trattamenti di nutrizione. Stagione vegeto-produttiva 2022.

Cultivar	Tesi	Sezione (cm ²)	Produzione (g)	Efficienza produttiva (kg cm ⁻²)
TGR	A	13,46 ± 3,29 a	38,37 ± 10,36 a	2,85 ± 0,47
	B	9,24 ± 3,57 b	16,67 ± 5,69 b	1,80 ± 0,41
<i>d.m.s. p<0,05</i>		**	**	<i>n.s.</i>

Bibliografia di riferimento.

- Cerovic, Z. G., Ghozlen, N. B., Milhade, C., Obert, M., Debuissou, S., Le Moigne, M. (2015). Non-destructive diagnostic test for nitrogen nutrition of grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on duallex leaf-clip measurements in the field. *J. Agric. Food Chem.*, 63: 3669-3680.
- Cristofori, V., Bortolato, A., Valentini, R., Stelliferi, R., Valentini, B. (2018). Total foliar nutrition applied on European hazelnut. *Acta Hortic.*, 1226: 273-280.
- Cristofori, V., Silvestri, C., Valentini, R., Pica, A.L., Pierini, E., Ferrazzo, V. (2020). Concimazione fogliare strategia efficace per il nocciolo. *L'Informatore Agrario* n.16/2020: 43-47.
- Overbeck, V., Schmitz, M., Tartachnyk, I., Blanke, M. (2018). Identification of light availability in different sweet cherry orchards under cover by using non-destructive measurements with a Duallex™. *European Journal of Agronomy*, 93: 50-56.
- Wijewardana, C., Reddy, K. R., Shankle, M. W., Meyers, S., Gao, W. (2018). Low and high-temperature effects on sweet potato storage root initiation and early transplant establishment. *Scientia Hortic.*, 240: 38–48.

Azione 4 - Ottimizzazione dell'irrigazione del corileto.

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) - Università della Tuscia

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) - Università della Tuscia

Al fine di sviluppare protocolli irrigui ottimizzati per l'area sperimentale, quale sito pilota di nuova introduzione del nocciolo, sono state svolte delle attività preliminari di studio diffuso delle caratteristiche fisiche dei suoli tramite rilevamento pedologico.

I suoli dei corileti dell'azienda Corte Migliorina sono stati rilevati a due diverse scale di dettaglio, quella aziendale (scala 1:10.000) e ad altissimo dettaglio (scala 1:1.000) su alcuni appezzamenti sperimentali.

Per programmare al meglio il rilevamento pedologico aziendale sono stati raccolti gli strati informativi regionali disponibili (geologia e pedologia 1:10.000) e i dati delle analisi aziendali. Sei profili sono stati scavati negli appezzamenti sperimentali, come descritto successivamente. Altri 8 punti sono stati selezionati negli altri appezzamenti, in posizioni morfologiche e litologiche differenti. Non sono stati effettuati profili nell'area occupata dalle argille e limi marini, in quanto interessata in minima parte alla corilicoltura.

Nei punti prescelti sono stati scavati profili fino alla profondità di circa 1.5 m (figura 4.1) e sono stati descritti secondo la metodologia ufficiale, suddividendo il profilo in orizzonti di suolo. Tutti gli orizzonti sono stati descritti per: colore, presenza di screziature da ossido-riduzione, scheletro, struttura, concrezioni ed altre figure pedogenetiche. Gli orizzonti sono stati campionati per le analisi di laboratorio, che hanno riguardato: tessitura, pH, conducibilità elettrica, carbonato di calcio totale, capacità di scambio cationico (CSC) e basi di scambio (Calcio, Magnesio, Potassio e Sodio), carbonio organico e azoto. Le metodologie utilizzate sono descritte nei paragrafi successivi.

Tutti i profili, una volta descritti ed analizzati, sono stati classificati secondo la classificazione internazionale WRB (World Reference Base for Soil Resource, International Union of Soil

Science). Sulla base delle caratteristiche fisico-chimiche, del substrato da cui si sono sviluppati e della morfologia, tutti i suoli descritti sono stati associati alle Unità Tipologiche (UTS) regionali. Questo rende possibile confrontare la carta dei suoli aziendale 1:10,000 di Corte Migliorina, con quella regionale.



Figura 4.1. Esempio di escavazione di un profilo con impiego di escavatore, presso un appezzamento coltivato a nocciolo nell'azienda sperimentale Corte Migliorina.

Cartografia di dettaglio degli appezzamenti sperimentali.

All'inizio del progetto sono state selezionate 3 aree classificate come di seguito sulla base delle cultivar presenti (Tonda Gentile Romana, Tonda di Giffoni e Tonda di Giffoni 2), di circa 4 ettari ciascuna, dove è stato effettuato uno studio di maggior dettaglio (figura 4.2). Questo ha riguardato la mappatura di alto dettaglio tramite sensori di rilevamento prossimale (descritti di seguito), le analisi della vigoria delle piante da satellite (Sentinel 2), e l'individuazione di due siti per appezzamento contrastanti dal punto di vista della crescita dei noccioli. In ognuno di questi siti è stato descritto ed analizzato un profilo di suolo, allo stesso modo dei profili esterni agli appezzamenti sperimentali. Negli orizzonti sotto-superficiali sono stati prelevati dei campioni indisturbati per la misura della densità apparente, proprietà correlata al grado di compattamento del suolo, e per l'analisi della curva tensione-volume. Da quest'ultima si può calcolare la quantità d'acqua disponibile per le piante che può trattenere il suolo (AWC). Negli stessi siti sono state effettuate delle prove di permeabilità *in situ* per misurare la conducibilità idraulica del suolo (K_{sat}).

In un quarto appezzamento, coltivato con cultivar Camponica, è stato effettuato solamente il rilievo con i sensori ad induzione elettromagnetica.



Figura 4.2. Localizzazione dei 4 appezzamenti sperimentali oggetto di indagini pedologiche di dettaglio.

Descrizione del sensore ad induzione elettromagnetica Geonics EM38-Mk2.

Per la cartografia di alto dettaglio degli appezzamenti sperimentali è stato utilizzato il sensore ad induzione elettromagnetica Geonics EM38-MK2 (figura 4.3), che permette di misurare la conducibilità elettrica apparente (ECa) del suolo a due diverse profondità (circa 0-75 cm e 0-150 cm). La ECa è un parametro relazionato a diverse caratteristiche del suolo, quali tessitura, profondità, compattamento, pietrosità, umidità e salinità. Ad esempio, le rocce poco fratturate hanno valori di conduttività generalmente inferiori a 1 mS/m, la sabbia ha valori compresi tra 1 e 10 mS/m, l'argilla tra 25 e 100 mS/m, mentre la presenza di acqua nel suolo può variare significativamente la conducibilità a seconda dei sali disciolti da pochi mS/m fino a circa 1.000 mS/m.

Per il rilevamento del campo oggetto di questo lavoro, l'EM38 è stato trainato da una moto-agricola tramite un apposito carrello munito di GPS per registrare la localizzazione di ogni punto di misura. Utilizzando tecniche di geostatistica, si sono ottenute due "Mappe di Conducibilità Elettrica" del suolo, la prima relativa allo strato più superficiale (0-75 cm), mentre la seconda maggiormente influenzata dal suolo profondo (0-150 cm). Tramite questa metodologia, si possono quindi individuare orizzonti profondi a diversa tessitura (più argillosi o più sabbioso-ghiaiosi), presenza di substrato roccioso, eventuali problemi di ristagno idrico o scarsa ossigenazione.



Figura 4.3. Sensore ad induzione elettromagnetica EM38-MK2 e carrello di trasporto in campo utilizzato per il rilevamento.

I 14 profili descritti coprono la variabilità quasi totale dei suoli presenti in azienda, con l'esclusione di piccole aree poco rappresentative o non interessate dai corileti (suoli argillosi vicino l'invaso aziendale). La zona con maggior frequenza di profili è quella centrale, dove sono presenti gli appezzamenti sperimentali. Se la parte più orientale dell'azienda, dove sono stati impiantati i nuovi

corileti, è caratterizzata da suoli sabbiosi, poco o per niente calcarei, sviluppati su arenaria, la parte centrale ha invece suoli da moderatamente a molto calcarei, di medio impasto. Proprio in quest'area centrale, nei primi corileti impiantati (4-5 anni), sono presenti zone dove i noccioli sono cresciuti poco e risultano fortemente sotto stress. Nel rilevamento di dettaglio delle aree sperimentali è stata data particolare attenzione a queste porzioni aziendali tramite descrizione ed analisi di profili, ponendo l'attenzione sui possibili fattori limitanti la crescita e il benessere ecofisiologico dei noccioli.

Sebbene il nocciolo sia contraddistinto da una discreta rusticità, adattandosi a diverse condizioni pedo-climatiche, è comunque una specie che predilige ambienti freschi e suoli sciolti o di medio impasto (franchi), dotati di buona fertilità, permeabilità e capacità di immagazzinamento idrico.

I suoli aziendali non hanno limitazioni correlate alla loro composizione granulometrica; sono, nel complesso, suoli di medio impasto (franchi, franco-argillosi, franco-sabbiosi, franco-limosi), idonei dunque alla coltivazione del nocciolo.

L'area studiata mostra un'ampia variabilità spaziale nelle principali caratteristiche chimiche del suolo. Il pH variava da "neutro" (P4, P5) a "sub-alcario"/"alcario", il calcare totale da "assente" o "in tracce" (P4, P5, P6) ad "estremamente elevato" (P12, P13). La dotazione di carbonio organico aerea anch'essa molto variabile, ma sempre piuttosto bassa (< 0,9% TOC, < 1,6% SO), in taluni casi prossima a zero già nei primi centimetri di profondità (P2, P4, P6, P7). Ad essa si associa un livello di azoto totale (N) da "scarso" (P4, P6) a "medio" con variabilità simile a quella del TOC (coefficiente di correlazione $R = 0,808$), a conferma della stretta interdipendenza tra riserva di azoto e contenuto di sostanza organica del suolo. I valori estremamente bassi del rapporto C/N in tutta l'area (< 6,5) suggeriscono scarsa umificazione e rapida mineralizzazione della sostanza organica.

La capacità di scambio cationico (CSC) appare correlata principalmente con il contenuto di argilla ($R = 0.629^{***}$), attestandosi su valori da "medio-bassi" (P4, P5, P6) a "medi". Il complesso di scambio è largamente dominato dal calcio (Ca), con percentuale di saturazione della capacità di scambio fino al 95%.

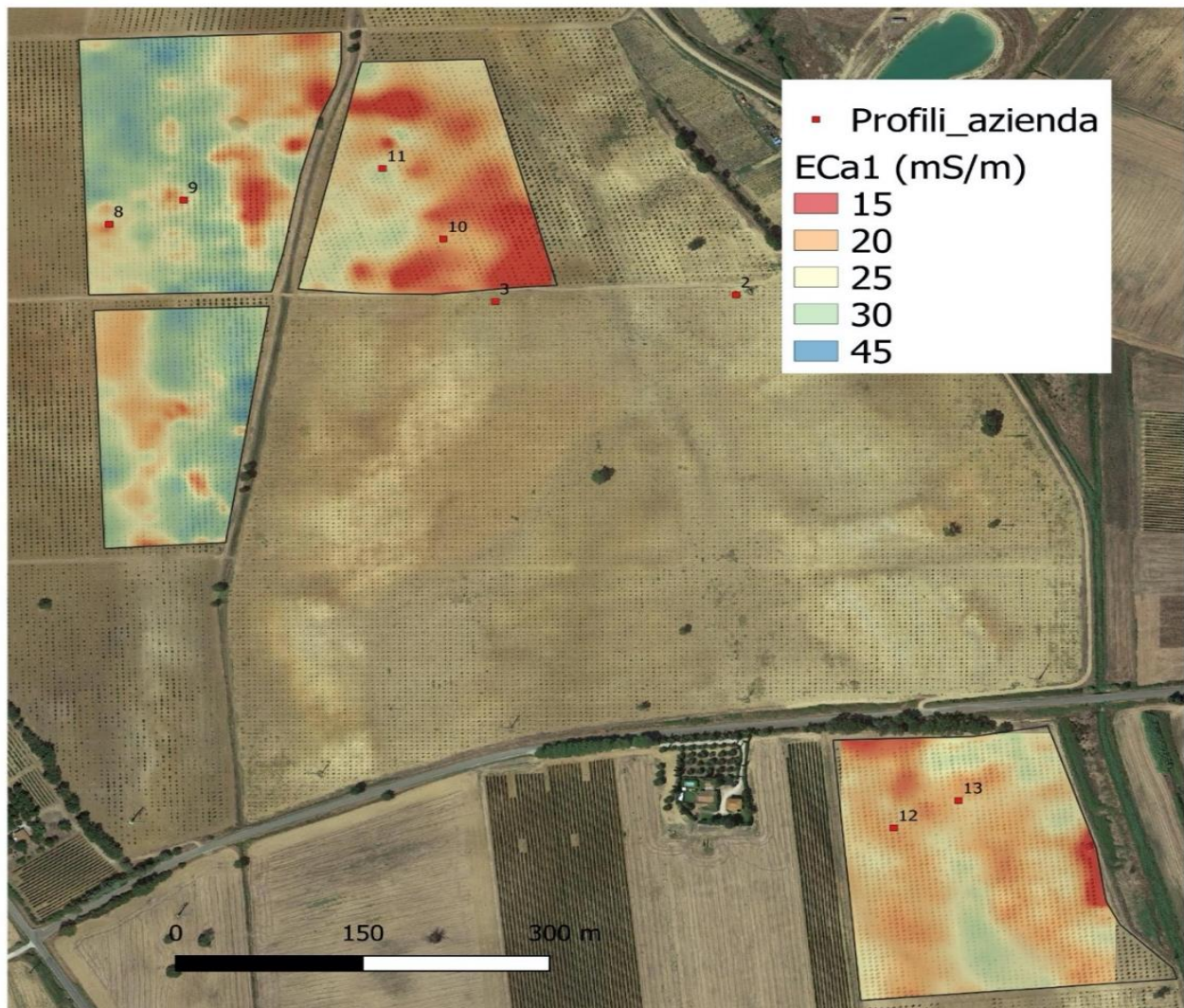


Figura 4.5. Carte di conducibilità elettrica apparente dei quattro appezzamenti sperimentali oggetto di studio pedologico.

Dallo studio dei profili nelle aree sotto stress (profili 8, 10 e 13) è emerso che il fattore limitante più evidente è la presenza di uno o più orizzonti sotto-superficiali (da 10 a 50-55 cm), compattati (densità apparente generalmente maggiore di $1,6 \text{ g/cm}^3$), poco porosi, talvolta anche molto pietrosi (P8, P10), che limitano fisicamente il giusto approfondimento radicale del nocciolo. Dalle analisi idrologiche è stato riscontrato che quest'orizzonte limitante diminuisce l'acqua disponibile per le piante (AWC da 75 a 79 mm, contro i 111-130 mm delle aree non stressate) e la velocità di drenaggio, soprattutto nei profili P10 e P13 ($K_{\text{sat}} < 2,1 \text{ mm/h}$).

Al contrario di quanto riportato in letteratura, non sembra invece che il carbonato di calcio sia un fattore limitante importante. Nei suoli in cui i noccioli crescono bene e non sono sotto stress sono



state individuate concentrazioni di carbonato di calcio totale intorno al 20%, e fino a 39% nel P12. In particolare, nel P9 dove le piante crescono ottimamente, è stata osservata un'ottima esplorazione radicale sia nell'orizzonte calcico più superficiale (10-55 cm) in cui il carbonato di calcio è pari al 17,5%, sia in quello più profondo (55-80 cm), in cui il carbonato di calcio non è stato analizzato, ma è sicuramente maggiore.

Rilevamento pedologico tramite sensore ad induzione elettromagnetica.

Nel mese di giugno 2022 è stato effettuato un ulteriore rilevamento di dettaglio dei suoli tramite l'utilizzo di sensore ad induzione elettromagnetica (EMAS, di proprietà di AgriSoing s.r.l.) su circa 50 ettari di corileti che non erano stati rilevati dettagliatamente nel periodo precedente. L'apparecchiatura, trainata in campo tramite Quad, era dotata di sensore ad induzione elettromagnetica (fabbricato dalla Gf-Instruments, Repubblica Ceca), che misura la resistività elettrica (ER) del suolo a tre profondità: 0-50, 0-100 e 0-150 cm. La resistività elettrica è semplicemente l'inverso della conducibilità (ECa). Le misure di ER, circa una al secondo, sono georiferite in continuo tramite GPS, e vengono registrate in un palmare. Per questo rilevamento si è deciso di fare transetti distanziati circa 10 m, ovvero uno ogni due file di noccioli.



Figura 4.6. Impiego dell'apparecchiatura EMAS della Agri_SOING utilizzata per il rilevamento della resistività elettrica.

I dati sono stati scaricati nel processore, visualizzati su software GIS e trasformati in file vettoriali puntuali (Shapefile, .shp). Tramite il software sono stati eliminati errori ed outliers legati a

influenze esterne, ad esempio tubi metallici d'irrigazione. Una volta pulito lo shapefile, i punti sono stati interpolati tramite Inverse Distance Weighting (IDW) per ottenere la mappa della resistività alle 3 profondità all'interno degli appezzamenti rilevati.

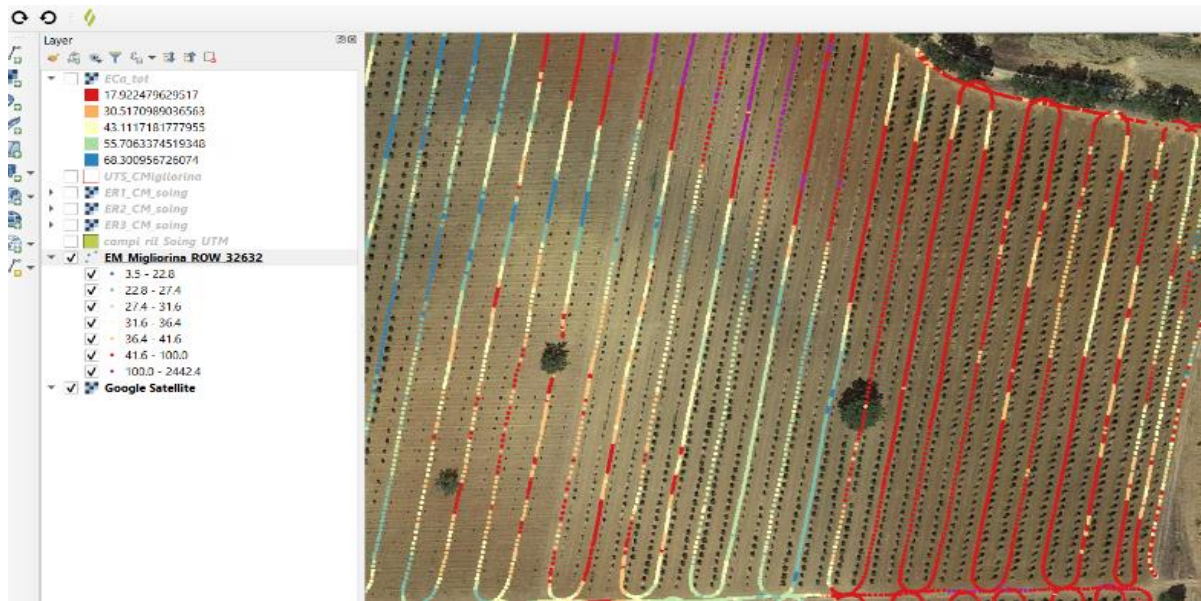


Figura 4.7. Shapefile con evidenza dei punti di rilevamento ed il valore di resistività elettrica del suolo.

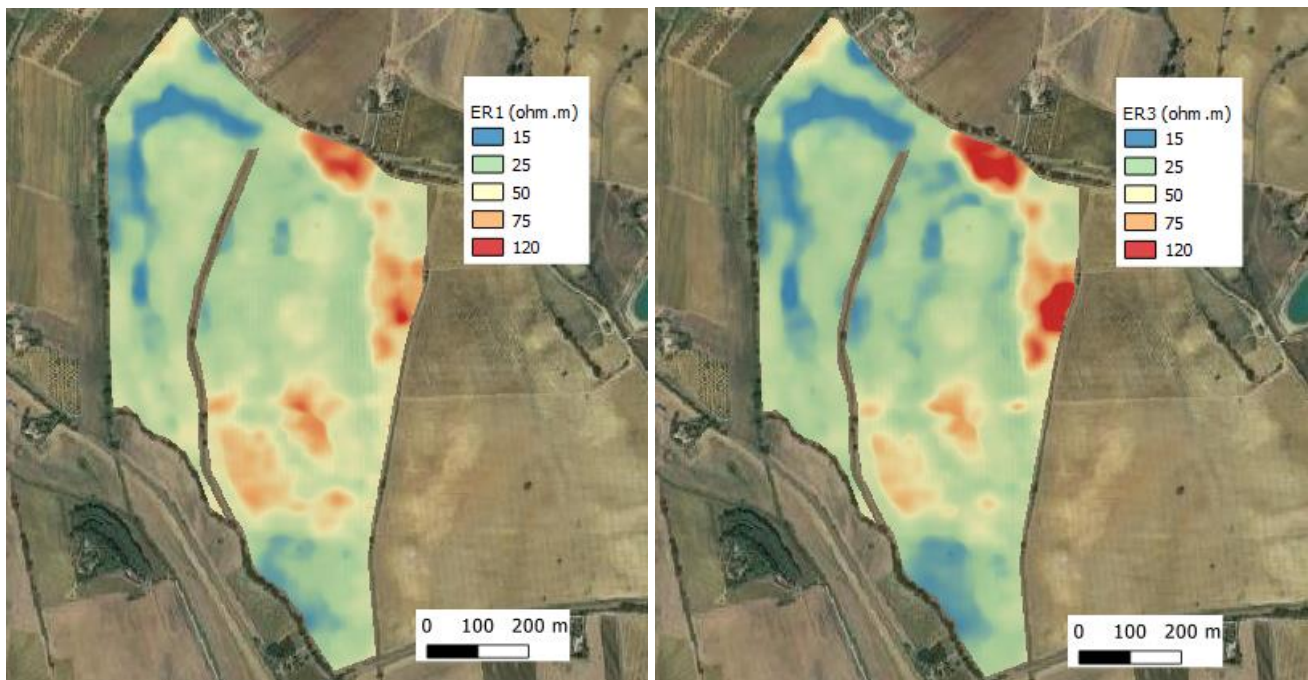


Figura 4.8. Mappe di resistività elettrica del suolo; a sinistra quella più superficiale (ER1, 0-50 cm), a destra quella più profonda (ER3, 0-150 cm).

Sulla base dei risultati ottenuti dalle mappe, e considerando i punti di osservazione (trivellate e profili già effettuati), sono stati selezionati 4 punti per lo scavo di profili, volti a coprire la massima variabilità dei suoli. In particolare, un profilo è stato inserito nell'area con valori minimi di resistività, due profili sono stati inseriti in punti a resistività intermedia (25-50 ohm.m) e distanti tra loro, ed un ultimo profilo è stato utilizzato per descrivere il suolo nei valori massimi di resistività (>80 ohm.m).



Figura 4.9. Esempio di scavo di uno dei profili con descrizione e campionamento degli orizzonti di suolo.

I profili di suolo sono stati descritti utilizzando le “Linee guida dei metodi di rilevamento e informatizzazione dei dati pedologici”. Almeno due orizzonti di suolo per ogni profilo sono stati campionati per le analisi di laboratorio.

Gli orizzonti di suolo campionati sono stati analizzati in laboratorio per tessitura, carbonio organico, azoto, pH, elettroconducibilità, fosforo assimilabile, carbonato di calcio totale e attivo, capacità di scambio cationica e basi di scambio. I dati di descrizione dei profili e le analisi sono stati inseriti nel database dei profili aziendali.

La carta dei suoli aziendale e le tipologie di suoli aziendali sono state quindi aggiornate con questi nuovi rilievi, ottenendo così una carta dei suoli qualitativa di maggior dettaglio ed accuratezza (figura 4.10) e una corrispondente tabella di classificazione degli stessi (figura 4.11).

Carta delle unità tipologiche di suolo (Tenuta Corte Migliorina, Orbetello, GR)

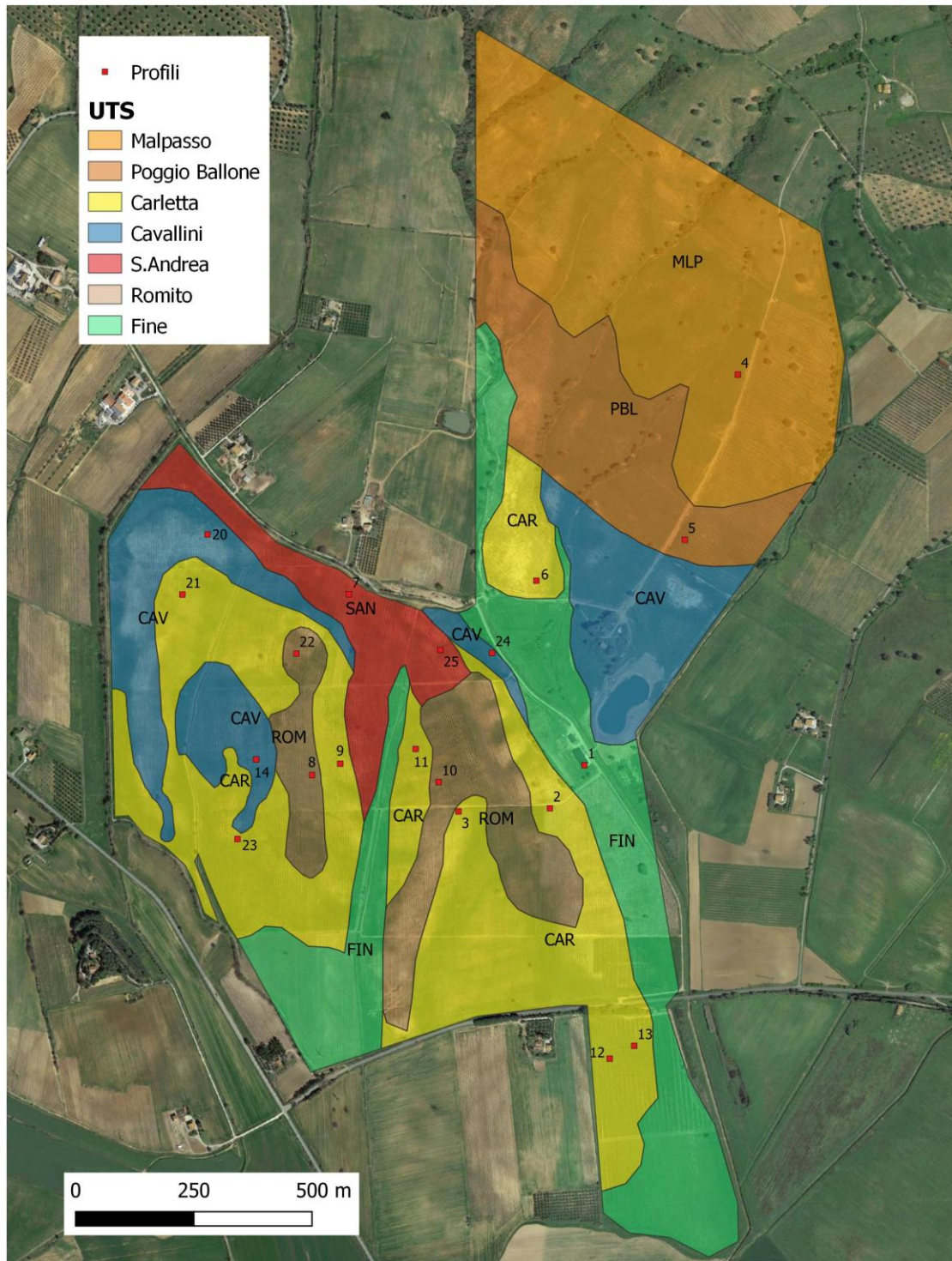


Figura 4.10. Carta dei suoli aziendali 1:10,000, aggiornata e corretta dopo i rilevamenti di dettaglio con i sensori ad induzione elettromagnetica e i successivi profili.

Litologia (età)	Legenda	Nome	Profili	Classificazione internazionale WRB	Tessitura	Pietrosità	Chimismo
Arenaria macigno e depositi di versante associati (Oligocene)	MLP	Malpasso	4	Eutric Cambisol (Arenic)	Sabbioso Franca (sabbia 55-60%, argilla 15%)	Media da comune a frequente (5-35%)	neutri (6.6-7.2), non calcarei, scarsa sostanza organica, squilibrio del rapporto magnesio/potassio per eccesso di magnesio
	PBL	Poggio Ballone	5	Eutric Cambisol (Loamic)	Franca o Franco Argillosa (sabbia 40-45%, argilla 30-35%)	Media da comune a frequente (5-35%)	neutri o legg. sub-acidi (6.4-7.6), non calcarei, scarsa sostanza organica, squilibrio del rapporto magnesio/potassio per eccesso di magnesio
Sabbie e arenarie marine (Pliocene)	CAR	Carletta	2, 3, 6, 9, 11, 12, 13, 21, 23	Haplic Calcisol (Loamic, Sodic)	Da Franco Siltosa a Franco Argillosa (25-35% sabbia, 20-32% argilla)	Fine e media comune (5-15%)	sub-alcini (pH 8-8.3), talvolta alcalino-sodici (pH 8.6-8.8), fortemente calcarei soprattutto in profondità, moderata sostanza organica
Argille marine (Pliocene)	CAV	Cavallini	20, 24	Haplic Calcisol (Clayic, Endo-Stagnic, Endo-Vertic)	Argillosa (40-50% argilla)	Fine e media comune (5-15%)	sub-alcini o alcalini (8-8.6), calcarei e sodici in profondità. Ristagni idrici e proprietà vertiche a circa 70-80 cm
Brecce calcaree (Quaternario)	SAN	S.Andrea	7	Chromic Luvisol (Loamic)	Franco Argillosa (40-45% sabbia, 30-35% argilla)	Media frequente (20-35%)	sub-alcini (pH 7.7-8.2), moderatamente calcarei, scarsa sostanza organica
	ROM	Romito	8, 10, 22	Skeletal Cambic Calcisol (Loamic)	Franca o Franco Argillosa (30-35% sabbia, 20-35% argilla)	Fine e media comune (5-15%) in superficie, grande e abbondante in profondità (45-50%)	sub-alcini (pH 8-8.3), leggermente calcarei, moderata sostanza organica
Depositi alluvionali (Olocene)	FIN	Fine	1	Calcaric Fluvisol Cambisol (Loamic)	Franca o Franco Sabbiosa Argillosa (40-50% sabbia, 15-35% argilla)	Fine scarsa (< 5%)	sub-alcini (pH 8-8.3), leggermente calcarei, moderata sostanza organica

Figura 4.11. Classificazione dei suoli indagati in Corte Migliorina a seguito dell'ottenimento di una carta dei suoli ad elevata accuratezza.

Prove di ottimizzazione all'irrigazione della pianta.

L'ottimizzazione dell'apporto di acqua è necessaria nelle aree caratterizzate da limitata disponibilità di questa risorsa e da distribuzione irregolare delle piogge, in particolare negli impianti giovani capaci di esplorare volumi limitati di suolo. A tal fine, in concomitanza con l'inizio dell'estate e quindi con la stagione di irrigazione del nocciolo, sono state condotte delle prove atte a ottimizzare il processo di distribuzione dell'acqua irrigua in subirrigazione. Il campo selezionato per la prova, della grandezza di circa due ettari era coltivato con la varietà Tonda Gentile delle Langhe e irrigato tramite subirrigazione caratterizzata da ali irrigue sotterranee poste a circa 50 cm di profondità. A seguito di una prima mappatura (figura 4.12) sono state riscontrate due macroaree, dove tramite l'apertura di due profili di suolo sono emersi rispettivamente una prima zona caratterizzata da un terreno sabbioso con elevata presenza di ghiaia in profondità e ben drenato, mentre il secondo si presentava di tessitura argillosa, poco drenante e con elevata presenza di sedimentazioni di carbonato di calcio al di sotto di 80 cm di profondità, sintomo di un elevato ristagno idrico nel periodo invernale.

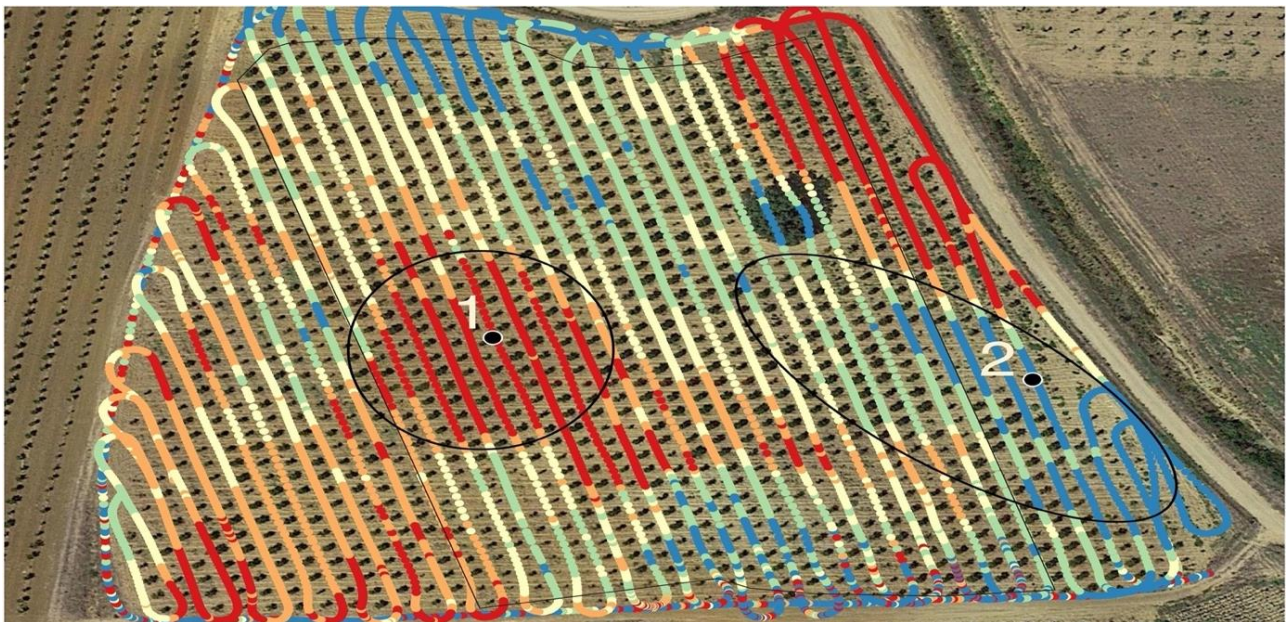


Figura 4.12. Mappatura conducibilità elettrica della tesi sperimentale di irrigazione.

A inizio giugno 2022, al fine di riscontrare la differenza di conducibilità elettrica del suolo in regime di asciutto e irrigato, è stata condotta una sperimentazione che ha previsto il mantenimento dell'area oggetto di studio in regime non irrigato per una durata di circa dieci giorni, è stato quindi effettuato un primo rilievo prossimale del suolo tramite sensore ad induzione elettromagnetica GF Mini-Explorer, precedentemente descritto, al quale ha seguito un'irrigazione per un totale di quattro ore e una nuova mappatura del terreno.

Come previsto la lettura del primo orizzonte di suolo <50cm non ha prodotto differenze significative in quanto l'irrigazione si trovava al di sotto di essa.

Nel secondo orizzonte a 100 cm (figura 4.13) si sono riscontrate delle aree parallele alle linee d'irrigazione con valori leggermente più bassi e altre con valori leggermente più elevati (variazioni da -5 a + 8 mS/m). Le aree allungate con variazione positiva (delta $ECa > 5$ mS/m) potrebbero riferirsi a linee sub-irrigue in cui c'è maggior emissione d'acqua, mentre quelle con variazione negativa potrebbero indicare una subirrigazione scarsa o nulla. Ulteriori indagini, corredate anche da misure dirette dell'umidità dovranno essere effettuate per comprendere meglio la possibilità d'utilizzo di questa tecnica nel monitoraggio della subirrigazione.

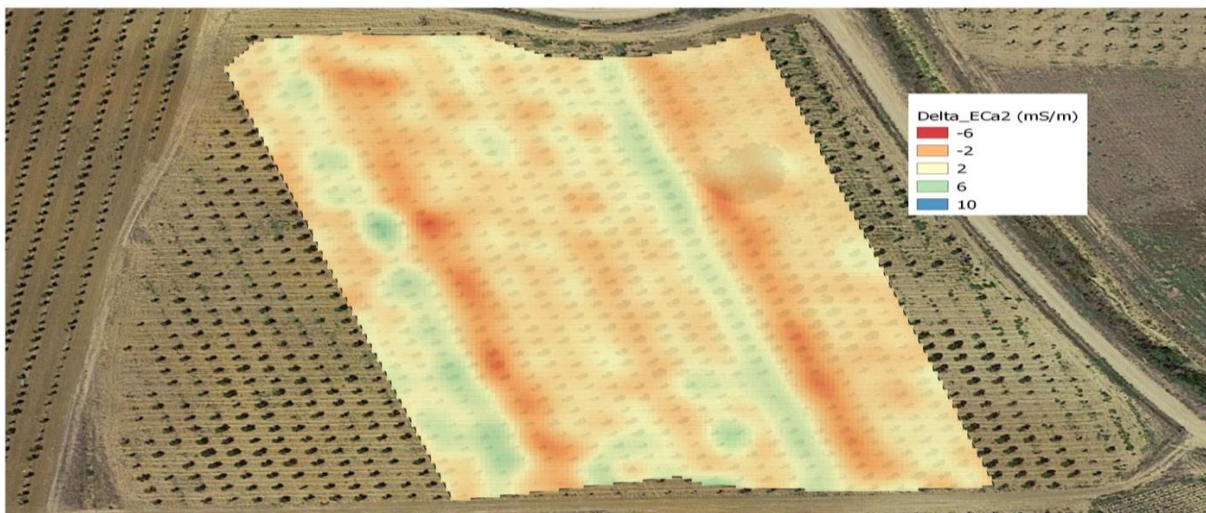


Figura 4.13. Mappa della variazione di conducibilità elettrica (delta $ECa = ECa$ dopo irrigazione – ECa prima dell'irrigazione). La figura mostra il delta ECa_2 , per la profondità fino ad 1 m.

Il delta dei valori di ECa ottenuti per la terza profondità (0-1.5 m, figura 4.14) sono più omogenei nell'appezzamento. Probabilmente, risentono del basso volume irriguo effettuato nella prova, per

questo si è deciso di ripetere la stessa con un turno di irrigazione superiore alle otto ore tale da ottenere dati precisi anche nelle porzioni di terreno più profonde.

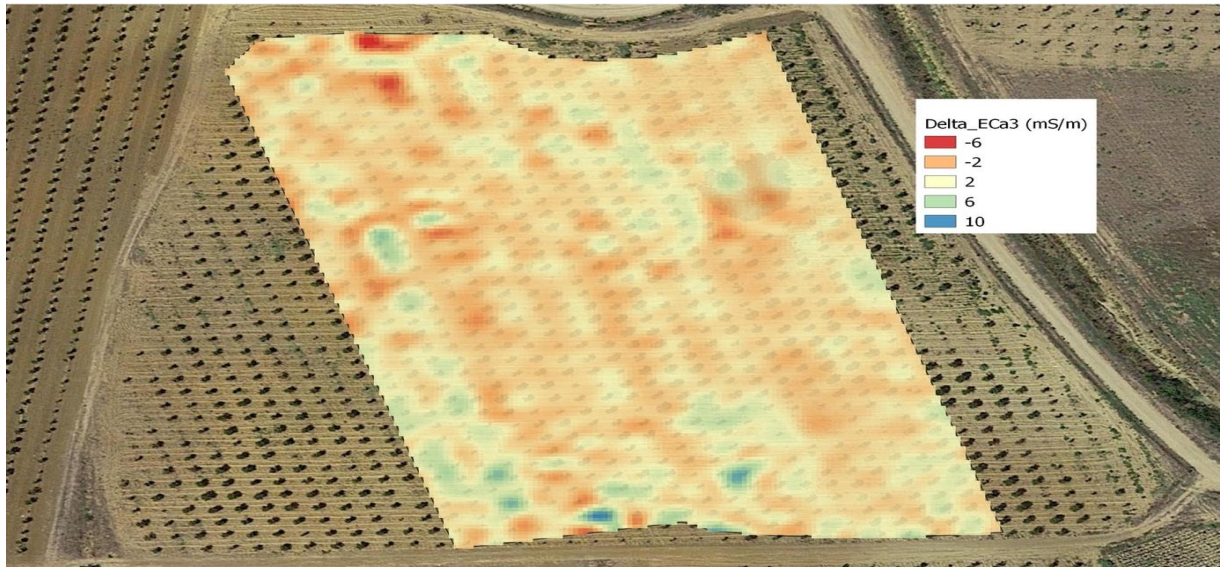


Figura 4.14. Mappa della variazione di conducibilità elettrica (delta ECa3), per la profondità fino ad 1,5 m.

Tale sistema digitalizzato di monitoraggio dell'uniformità di distribuzione dell'acqua irrigua in subirrigazione, una volta messo a punto in modo definitivo, fornirà un "tool" innovativo per il monitoraggio irriguo negli agroecosistemi irrigati con sistemi di somministrazione localizzata dell'acqua e dunque non soltanto nell'agroecosistema corileto.

Azione 5 - Tecnologia NIR e qualità delle nocciole.

Attuatore:

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE), in collaborazione con il laboratorio di Tecnologie Alimentari del Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici Agroalimentari e Forestali (DIBAF) - Università degli Studi della Tuscia (Responsabile di laboratorio Prof. Andrea Bellincontro).

Le attività di caratterizzazione della qualità delle nocciole tramite impiego di tecnologia NIR e ulteriori test di valutazione qualitativa sono state condotte a carico di campioni di nocciole sgusciate sottoposte a trattamento con ozono (O₃) a differenti concentrazioni, al fine di sviluppare nuovi protocolli di conservazione del prodotto sgusciato, non invasivi e capaci di preservare a lungo la shelf-life delle nocciole.

L'ozono è una molecola gassosa formata da tre atomi di ossigeno legati insieme elettricamente, ed è riconosciuto essere un composto ad altissimo potere ossidante. L'ozono è prodotto dall'ossigeno presente nell'aria tramite scariche elettriche come fulmini e radiazioni elettromagnetiche ad alta energia. Caratteristica peculiare di questo gas è l'elevata instabilità, la quale fa sì che ossidi molto velocemente qualsiasi microorganismo (muffe, protozoi, batteri, lieviti e virus) e riconvertendosi altrettanto rapidamente in ossigeno molecolare (O₂), senza lasciare alcun residuo. Ed è proprio per queste caratteristiche e proprietà che, negli ultimi anni, è stato ampiamente utilizzato e sperimentato nell'industria alimentare. Le applicazioni di tale sostanza nel settore alimentare sono in particolare riconducibili ad alcuni fattori quali: la sanificazione delle acque e degli ambienti di lavorazione; l'utilizzo per l'eliminazione e l'abbattimento della carica batterica; l'impiego come ossidante di contaminanti organici; il rallentamento dei naturali processi di deterioramento dei prodotti agroalimentari e la conseguente estensione della shelf-life degli stessi.

Nel 2001 è stato approvato come GRAS (Generally Recognised as Safe) dalla US FDA (Food and Drug Administration) ed è stato quindi deciso il suo utilizzo come additivo sui prodotti alimentari con la finalità di abbattere i patogeni e sanificare gli alimenti e gli ambienti di produzione (Graham et al.,1997). A causa del forte potenziale ossidativo, l'ozono ossida i componenti cellulari delle pareti batteriche, attaccando numerosi costituenti batterici quali proteine, lipidi insaturi, enzimi delle membrane cellulari, peptidoglicani e acidi nucleici nel citoplasma. Va quindi a danneggiare i



batteri tramite meccanismi di lisi (Khadre et al., 2001). L'ozono, oltretutto, ha la capacità di attivare e generare specie reattive dell'ossigeno (ROS), le quali sono in grado di stimolare vari processi biologici compresa l'espressione di proteine coinvolte nei processi ossidativi (Bocci et al., 1996; Bocci, 1996b). I ROS possono poi alterare i processi metabolici delle piante andando a modificare la struttura delle proteine e ad aumentare la suscettibilità alla degradazione proteolitica. L'applicazione dell'ozono in post-raccolta è stata largamente studiata e sperimentata. Molti lavori scientifici sono stati finalizzati a studiare l'azione antimicrobica dell'ozono, altri hanno invece esaminato l'effetto di quest'ultimo sulla qualità dei frutti in post-raccolta tramite lo studio degli attributi correlati (Tzortzakis, Chrysargyris 2016). Il risultato è stato che l'applicazione con l'ozono diminuisce lo sviluppo microbico ed al tempo stesso mantiene la qualità dei prodotti (da un punto di vista nutrizionale, visivo e strutturale), allungandone, di conseguenza, la shelf-life (Carletti et al., 2013; Miller et al., 2013). Altre indagini sono state effettuate saturando le celle di conservazione dei prodotti agroalimentari con ozono. I risultati ottenuti dimostrano come si ha una consistente riduzione della carica microbica ed una notevole estensione della shelf-life. Questo perché, oltre ad avere effetti ossidanti verso i microorganismi, l'ozono diminuisce notevolmente la produzione di etilene, ormone collegato alle fasi di maturazione e senescenza, da parte dei vegetali (Skog et al., 2001; Palou, et al., 2001). L'inattivazione, da parte dell'ozono, dei microrganismi presenti sugli alimenti dipende in modo significativo dalla superficie dell'alimento (natura, composizione chimica, consistenza) e dalle caratteristiche dei microrganismi, incluso il carico di contaminazione del prodotto (Kim et al., 1999; Wani et al., 2016). Un vantaggio del trattamento con ozono è costituito dalla mancanza di residui chimici al termine del processo. È dunque considerata una tecnologia di trasformazione alimentare economica ed ecologica. L'uso dell'ozono può essere vantaggioso a causa dei minori costi di acquisto e di manutenzione delle unità di fornitura di ozono rispetto al costo che avrebbe la fornitura dei disinfettanti tradizionalmente impiegati (Brodowska et al., 2018).

Scelta delle concentrazioni di ozono da usare nei trattamenti sperimentali.

I trattamenti con ozono possono essere effettuati con ozono gassoso o con acqua ozonata. In entrambi i casi, a causa della sua elevata instabilità molecolare, l'ozono può essere stoccato ma va prodotto in prossimità del luogo del trattamento ed utilizzato congiuntamente alla sua produzione. Per la scelta delle concentrazioni da utilizzare è stato effettuato uno studio preliminare in letteratura. Molti studi, infatti, confermano che trattamenti con ozono a concentrazioni abbastanza elevate, agiscono su funghi e sulle micotossine da essi prodotte, soprattutto l'aftalotossina, e che, anche a concentrazioni

piuttosto basse, ha una azione fungicida; inoltre è stato evidenziato anche un effetto di mantenimento dei parametri qualitativi/nutraceutici degli alimenti trattati. Proctor et al. (2004) hanno ottenuto un'alta diminuzione di aflatossine lavorando i campioni con 50 ppm di ozono per 60 ore. Akbas e Ozdemir (2006) hanno riportato che l'aflatossina AFB1 e le aflatossine totali possono essere ridotte rispettivamente del 23-24% a seguito del trattamento sui semi di pistacchio contaminati, i quali sono stati ozonizzati a 9 ppm di ozono per 420 minuti; inoltre, l'efficienza dell'ozono per la degradazione dell'aflatossina nei pistacchi è aumentata con l'aumentare del tempo di esposizione e della concentrazione di ozono. Alencar et al. (2012) hanno esposto campioni di arachidi per 96 ore a 21 ppm di ozono, ottenendo una disintossicazione rispettivamente del 30% e del 25% dalle aflatossine totali e dell'AFB1.

Demirci e collaboratori hanno determinato come trattamenti di 3,33 ppm per 120 minuti e di 10 ppm per 60 minuti sono condizioni ottimali per un'elevata percentuale di eliminazione delle aflatossine. Liew e Prange (1994) hanno utilizzato concentrazioni di ozono molto più basse di quelle sopra elencate per studiare gli effetti dei trattamenti su parametri qualitativi di carote e sulla crescita di agenti patogeni post-raccolta: *B. cinerea* e *S. sclerotiorum*. Sono stati testate diverse concentrazioni di ozono, quali 7,5, 15, 30 o 60 ppb per 8 ore. Durante la frigoconservazione si è riscontrata una riduzione del 50% del tasso di crescita giornaliero di entrambi i patogeni alla massima concentrazione di ozono, confermando dunque l'azione antifungina.

Whangchai et al. (2006) hanno esposto frutti di longan ad una concentrazione ozono pari a 200 ppb per 15, 30, 60 e 120 minuti per poi conservarli a 25°C. Anche in questo caso, si è evidenziato come l'esposizione dei frutti all'ozono per 60 e 120 minuti abbia ridotto significativamente la popolazione di microrganismi sulle superfici dei frutti.

Sharpe et al. (2009) hanno studiato l'effetto dell'ozono sulla vitalità delle spore di *B. cinerea* e sulla crescita del micelio di *B. cinerea* e *S. sclerotiorum*. La vitalità delle spore di *B. cinerea* è stata ridotta di oltre il 99,5% dopo l'esposizione a 450 e a 600 ppb di ozono per 48 ore a 20 °C. Anche la sporulazione di *B. cinerea* è stata sostanzialmente inibita dai trattamenti con ozono.

Boonkorn, et al. (2012) hanno esaminato gli effetti dell'ozono (200 ppb per 4 e 6 ore) sulla crescita della muffa verde (*Penicillium digitatum*) e l'attività degli enzimi antiossidanti (superossido dismutasi, catalasi e ascorbato perossidasi) nella buccia del frutto di mandarino inoculato artificialmente. L'ozono, anche in questo caso, ha ridotto la popolazione fungina. Le attività della superossido-dismutasi, catalasi e ascorbato perossidasi sono aumentate dopo la fumigazione con ozono e sono rimaste significativamente superiori a quelle del frutto di controllo durante tre giorni



di conservazione a 25 °C. Oltretutto, le caratteristiche qualitative della frutta non sono state negativamente influenzate dall'esposizione all'ozono e non si è verificata fitotossicità nella frutta esposta ad alte dosi di ozono.

Giuggioli et al. (2015) hanno esposto i frutti di lampone ad una concentrazione costante di ozono pari a 500 ppb ed una concentrazione di ozono compresa tra 200 e 50 ppb. I frutti trattati sono stati mantenuti a temperature basse per 13 giorni e poi a temperature di vendita commerciale (6-9 °C) per ulteriori giorni; dalle analisi effettuate tutte le caratteristiche qualitative e i tratti nutraceutici dei frutti sono stati mantenuti nel tempo grazie ai trattamenti effettuati con l'ozono.

In seguito a quanto evidenziato in letteratura, le concentrazioni che sono state scelte nel nostro lavoro per il trattamento sperimentale sono state: 200 ppb, 600 ppb e 8 ppm. La scelta di tre condizioni (dosaggi/esposizioni) di trattamento è stata operata nella logica di indurre una condizione iperossidante estrema (8 ppm), a fianco a due più plausibili dosaggi per indurre favorevoli risposte nelle nocciole (200 e 600 ppb). L'obiettivo principale dello studio è stato quello di verificare la possibilità di preservare la qualità nutrizionale e aumentare la conservabilità di nocciole sgusciate, tramite trattamenti post-raccolta con ozono. L'ipotesi assunta è stata che l'ozono avesse un effetto nell'aumentare la shelf-life delle nocciole salvaguardando la qualità. Un aspetto particolarmente importante è stato la verifica delle possibilità di valutazione della conservabilità e della qualità del prodotto trattato con ozono per via analitica distruttiva tradizionale e non-distruttiva tramite impiego di tecnologia NIRs (Near Infrared Reflectance Spectroscopy).

Analisi effettuate sulle nocciole sottoposte a trattamenti con ozono.

L'azione è stata avviata nel mese di ottobre 2021 e ripetuta nell'ottobre 2022. Per l'implementazione delle prove sono state utilizzate nocciole fresche (non tostate) essiccate, provenienti dall'azienda Didattico-Sperimentale dell'Università della Tuscia, utilizzate come "training" per la messa a punto di un sistema di determinazione della qualità delle nocciole fresche sgusciate senza ricorrere a interventi distruttivi del prodotto. Le prove sono state condotte su 4 tesi totali (50 nocciole per campione), suddivise in campioni irrigati e non irrigati, raccolti nelle annate agrarie 2020 e 2021.

Una volta messo a punto il programma sono iniziate le prove sul campione di nocciole fornito dall'Attuatore 1, formato da 50 kg di nocciole sgusciate. Le nocciole sono state suddivise in quattro tesi: tre tesi sono state sottoposte a trattamento a diverse concentrazioni di ozono (8 ppm, 600 ppb, 200 ppb) per diverse tempistiche (1 ora per 8 ppm di ozono; 3 ore per le altre concentrazioni), e una

quarta tesi non trattata, utilizzata come controllo sperimentale. Le tesi sono state campionate durante frigoconservazione (+4 °C) circa ogni dieci giorni (per un totale di 60 giorni di “storage”) a seguito del trattamento fino ad ottenere cinque diversi tempi di analisi.

Su campioni di nocciole prelevati dalle varie tesi e per i vari periodi monitoraggio qualitativo a seguito del trattamento con ozono e successiva conservazione in ambiente controllato, sono state effettuate le seguenti analisi:

- **tecnica NIRs (Near Infrared Reflectance Spectroscopy).** È un metodo di analisi non distruttivo, probabilmente la tecnica non distruttiva più utilizzata ed in continua espansione nel settore agroalimentare. La tecnologia NIR presenta numerosi vantaggi rispetto ad altre tecniche di analitica classica. È semplice, rapida ed economica. Non è richiesta preparazione del campione ed è possibile ripetere rapidamente più misure sullo stesso campione. È una tecnica multi-parametrica poiché, a partire da un singolo spettro, è possibile determinare diversi costituenti. La tecnologia NIR sfrutta la radiazione infrarossa. L'assorbimento della radiazione infrarossa da parte del campione comporta una variazione degli stati vibrazionali. Gli spettri di composti chimici possono essere osservati in conseguenza di movimenti e vibrazioni molecolari. La sostanza organica (costituita da atomi di carbonio, ossigeno, azoto, fosforo, zolfo e quantità minori di altri elementi) vibra a frequenze specifiche nella regione infrarossa dello spettro. Questa specificità dà importanti indicazioni riguardo alla composizione interna del campione (Wang&Paliwal, 2007; Oliveira & Franca, 2011). Le letture NIR sono state effettuate su nocciole intere sgusciate. Per ogni nocciola (50 in tutto) sono state effettuate due letture. Gli spettri risultanti sono poi stati mediati al fine di ottenere uno spettro medio rappresentativo per ogni campione. Le analisi sotto riportate sono state effettuate per i campioni di entrambi le annate agrarie 2021-22 (figura 5.1).
- **Colorimetro.** Il colore rappresenta la percezione visiva delle radiazioni elettromagnetiche comprese nello spettro del visibile. Lo spettro del visibile ha un range di lunghezze d'onda che va da circa 400 a 700 nm. Alle varie lunghezze d'onda le diverse tecnologie misurano la luce trasmessa o riflessa in questi diversi punti. I punti possono essere tracciati graficamente a formare una curva spettrale che è unica e diventa un eccellente strumento per identificare i colori. Sono state sviluppate diverse scale di colore per esprimere le differenze di colore. Per le analisi colorimetriche sulle nocciole trattate con ozono è stata utilizzata la scala CIEL*a*b*. I sistemi di colore CIE utilizzano tre coordinate per collocare il colore all'interno di uno ‘spazio colore’ tridimensionale: L* (luminosità), a* (rosso/verde) e b*

(giallo/blu). Oltre ai valori L^* , a^* e b^* possono essere presi in considerazione il valore C^* , o Cromo, che rappresenta la saturazione e l'Hue Angle, o “angolo di colore” che rappresenta la tinta. Come per il NIR anche questa operazione è stata effettuata sia sulla nocciola intera che al suo interno. Ciascuna nocciola (50 in totale) è stata sottoposta ad analisi con colorimetro Konica Minolta CM-2600d utilizzando la modalità SCE (specular component excluded).

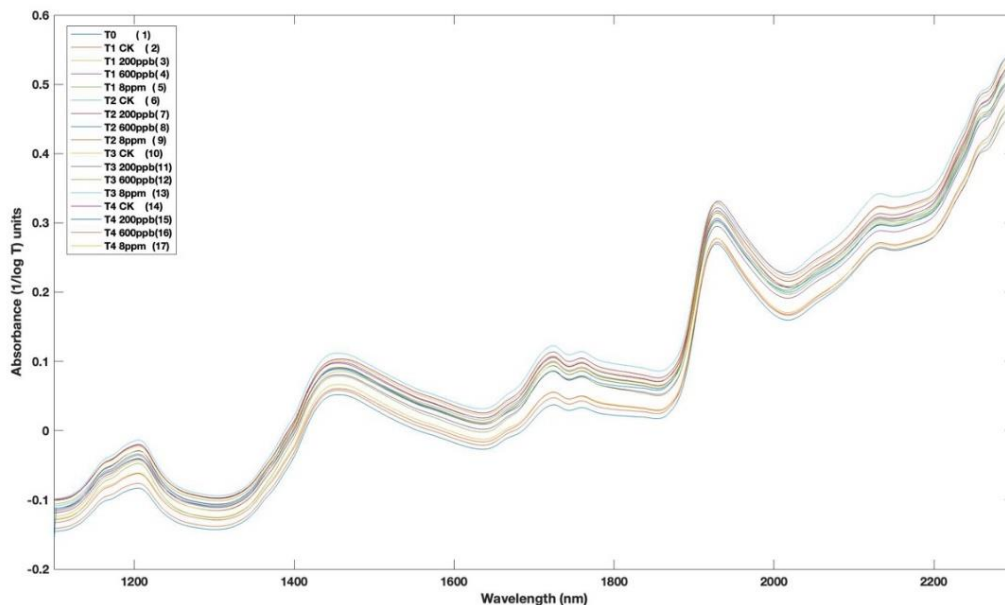


Figura 5.1. Descrizione degli spettri mediati ottenuti tramite test con tecnologia NIRs (Near Infrared Reflectance Spectroscopy), su nocciole fresche sgusciate sottoposte a differenti trattamenti con ozono.

- **Analisi reologiche.** Le analisi reologiche comprendono la determinazione analitica del carico massimo di rottura N , la deformazione al carico di rottura, il modulo di Young. Per il calcolo dei parametri afferenti alle analisi reologiche è stato utilizzato lo strumento Istron Universal Testing Machine 4301, con cella di carico di 1 kN, pistone di diametro 32 mm e velocità della traversa 10 mm/min. Lo strumento possiede due piattine, una fissa ed una mobile, che effettuano l'azione di compressione sulla nocciola (figura 5.2). Il test di compressione è stato utilizzato in modo da agire una sola volta sul campione fino a raggiungere il punto di cedimento strutturale. I parametri restituiti dallo strumento sono: la *forza o carico massimo di rottura* e la *deformazione* (Ghirardello et al., 2013).

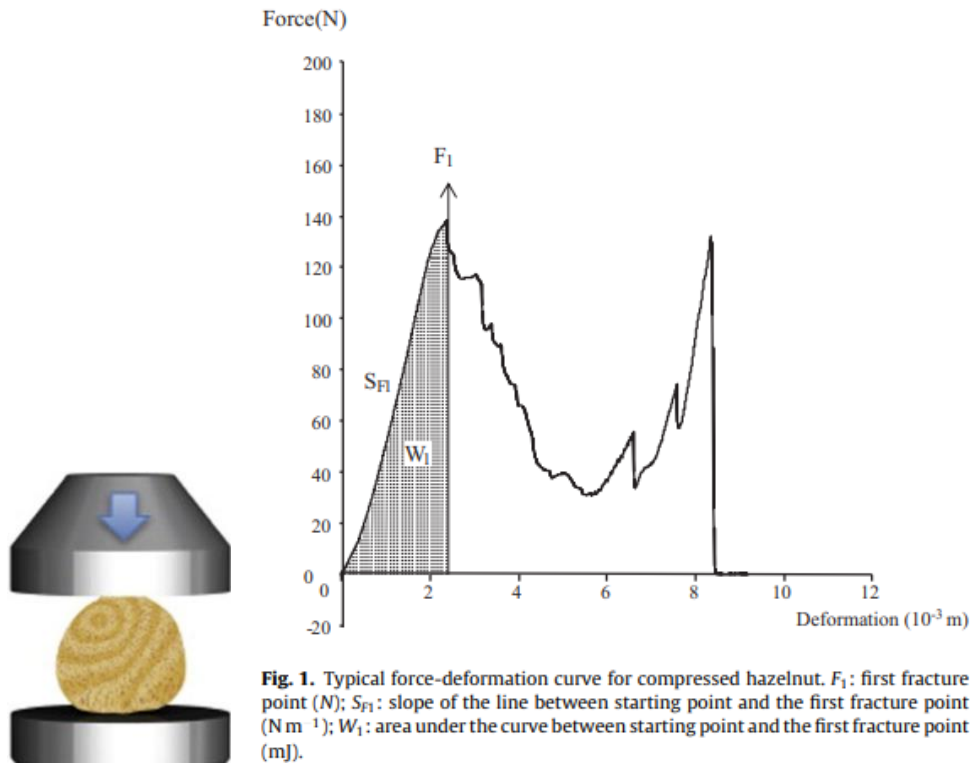


Figura 5.2. Esempio di piattine, una fissa ed una mobile, dello strumento Istron Universal Testing Machine 4301, che effettuano l'azione di compressione sulla nocciola (a sinistra). Esempio di curve di deformazione e carico massimo di rottura (a destra).

- **Valutazione dell'irrancidimento ossidativo.** Una volta effettuate le diverse prove con NIR, colorimetro e Istron, le nocciole sono state pressate con l'ausilio di un torchio manuale fino all'ottenimento dell'olio che è stato opportunamente centrifugato in modo da separare la frazione liquida da quella solida. L'olio è stato utilizzato per la determinazione dell'acidità totale e del numero di perossidi secondo metodiche ufficiali AOAC (NDG C 10 1976). Per la determinazione del numero di perossidi, a 4 g di olio sono stati aggiunti 25 ml di una miscela di acido acetico-cloroformio 3:2 V/V e 0,5 ml di una soluzione satura di ioduro di potassio (esente da iodio libero o iodati), preparata sul momento. I campioni sono stati sottoposti ad agitazione per 1 minuto e poi lasciati riposare a temperatura ambiente e al buio per 5 minuti. Successivamente sono stati aggiunti 75 ml di acqua deionizzata e poche gocce dell'indicatore salda d'amido e i campioni titolati con soluzione di tiosolfato di sodio 0,01



N. L'aggiunta di tiosolfato è stata effettuata fino a quando il colore blu-violaceo della soluzione non è scomparso, raggiungendo un colore quasi trasparente. Il numero di perossidi, espressi come milli-equivalenti di O₂ attivo contenuto in 1 kg di olio, è stato calcolato attraverso la formula:

$$\text{Numero di perossidi} = V \times N \times 100 / g$$

dove: V= ml di tiosolfato impiegati nella titolazione del campione; N= normalità esatta della soluzione di tiosolfato (0,01); g = grammi di olio pesato per la determinazione. Per l'analisi dell'acidità libera dell'olio, sono stati pesati 1,25 g di olio successivamente sciolti in una miscela di alcol-etero (1:2 V/V) per poi titolare con una soluzione di idrossido alcalino (KOH o NaOH) 0,1 N fino al viraggio del colore sul rosso, in presenza di qualche goccia di fenolftaleina. L'acidità totale espressa come g di acido oleico contenuti in 100 g di olio è stata calcolata attraverso la seguente formula:

$$\text{Acidità libera} = V \times N \times 28,2 / P$$

dove: V = volume di soluzione di idrossido alcalino usato espresso in millilitri; N = fattore di normalità della soluzione di idrossido alcalino (0.1); P = peso in g dell'olio analizzato.

La misurazione dell'acidità libera aveva lo scopo specifico di andare a monitorare lo stato di avanzamento del processo alterativo, quantificando la percentuale di acidi grassi liberi non esterificati.

Risultati ottenuti dalle analisi distruttive e non distruttive, effettuate sulle nocciole sottoposte a differenti trattamenti con ozono.

Per valutare la qualità delle nocciole tramite metodologie distruttive, applicate di routine nell'industria del semi-trasformato, si considerano solitamente i parametri di acidità libera e numero di perossidi presenti nell'olio di nocciola, estratto a freddo. Valori di acidità libera e di perossidi elevati sono indice della presenza di fenomeni degradativi che avvengono a carico della frazione lipidica. Infatti, i lipidi possono andare incontro a modifiche anche sostanziali durante conservazioni prolungate o effettuate in condizioni di stoccaggio non idonee, processi di tostatura, ammaccature o agenti esterni quali funghi e parassiti.

Anche il trattamento con ozono può causare fenomeni ossidativi nelle nocciole. L'ozono può essere utilizzato per la conservazione della frutta secca poiché è un disinfettante efficace contro un ampio

spettro di microorganismi presenti sulla superficie dei frutti, aumentandone la shelf-life. Durante tali trattamenti però possono avvenire reazioni tra ozono ed oli vegetali, quasi esclusivamente a discapito dei doppi legami carbonio-carbonio negli acidi grassi insaturi. Questa reazione produce diversi composti ossigenati come idroperossidi, ozonidi, aldeidi, perossidi, diperoxidi e poliperossidi che possono portare a processi di irrancidimento ossidativo riducendo la qualità della nocciola (Barley., 1982; Uzun e Ibanoglu, 2017).

I perossidi e l'acidità libera sono, quindi, importanti indicatori di qualità. Nel primo anno di sperimentazione (stagione agraria 2021), concentrazioni elevate di ozono (8 ppm) hanno provocato un drastico aumento nel tenore in acidità (figura 5.3) e perossidi (figura 5.4), sottolineando l'effetto fortemente ossidativo del trattamento. Al contrario, concentrazioni minori (200 e 600 ppb) avvicinavano i frutti trattati a condizioni più simili alle nocciole controllo, confermando l'efficacia dell'ozono nel preservare i tratti qualitativi quando applicato a concentrazioni ponderate. Un aumento nel tenore in acidità libera si correla bene con l'aumento dei perossidi nel processo di trattamento con ozono; quindi, maggiore è il valore di acidità più intensa è l'idrolisi lipidica e maggiore il contenuto in acidi grassi liberi.

L'andamento del controllo non sottoposto a preliminare trattamento con ozono è confermato dalla letteratura nella quale si afferma che per le nocciole e per frutti di composizione simile ad esse (come pistacchio, mandorle e noci) esiste un aumento minimo dei perossidi in 30-40 giorni di frigoconservazione e che possano, però, con il trascorrere dei mesi, incrementare di valore (Leahu et al., 2016; Radan et al., 2018). Infatti, analizzando differenti cultivar di nocciole Krol et al. (2021) hanno determinato che l'aumento di perossidi dopo 5 mesi di conservazione non è stato rilevabile in ciascun campione di olio di nocciole appartenenti a cultivar diverse; mentre dopo 9 mesi, gli oli hanno mostrato valori più elevati. Questo conferma l'aumento minimo dei perossidi nel nostro campione non trattato. Nel loro studio, però, i valori sono risultati molto più bassi dei nostri, poiché le nocciole utilizzate nella stagione 2021 erano, evidentemente, già in fase ossidativa. È importante notare come tale trattamento di 200 ppb abbia valori di perossidi anche più bassi del controllo non trattato, e questo potrebbe far supporre la presenza di un'azione fungicida da parte dell'ozono e quindi di preservazione delle nocciole da possibili microorganismi ad azione ossidativa. Un altro parametro importante in termini di misurazione della qualità dell'olio nell'industria alimentare è l'acidità libera che misura la degradazione chimica dell'olio; man mano che l'olio si degrada aumenta la quantità di acidi grassi liberati dai gliceridi, incrementando il livello di acidità libera e quindi l'irrancidimento dell'olio.

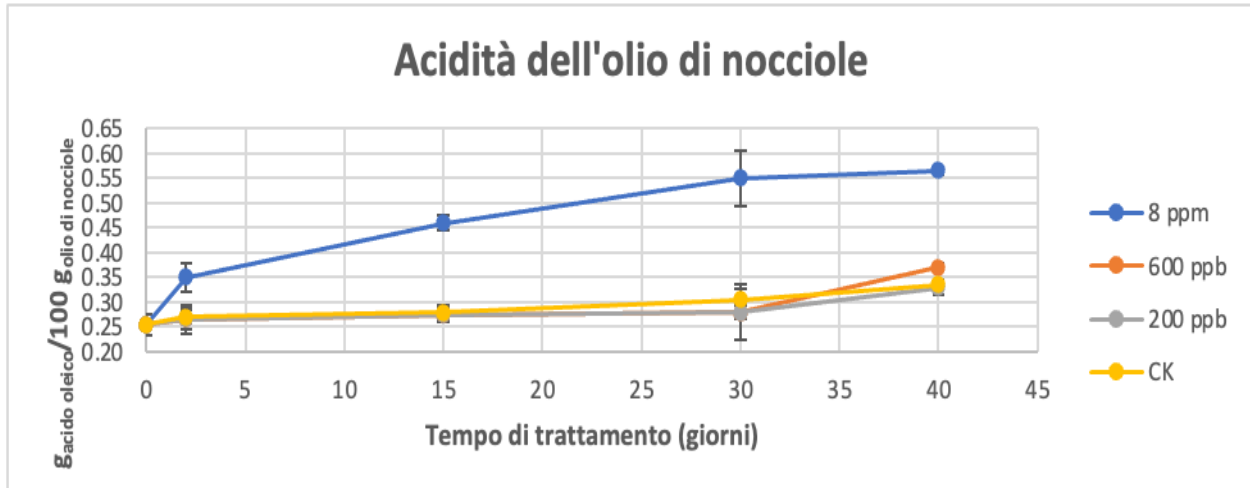


Figura 5.3. Contenuto di acidità libera nell'olio delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono (stagione produttiva 2021).

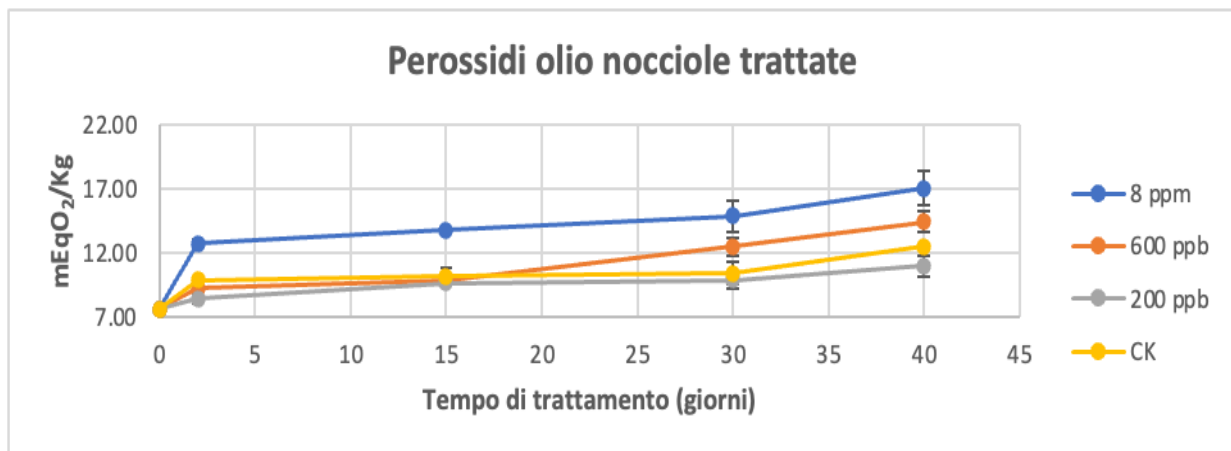


Figura 5.4. Numero di perossidi nell'olio delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono (stagione produttiva 2021).

Dalla figura 5.3 è facile notare come il campione con trattamento a 8 ppm di ozono presentava, sin dal primo giorno di trattamento, valori di acidità molto più elevati rispetto agli altri trattamenti più blandi e al controllo che, al contrario, risultavano invariati tra loro. Durante il periodo di frigoconservazione l'acidità libera delle nocciole trattate con 8 ppm presentava il doppio dei valori rispetto alle altre tesi trattate, con un picco massimo dello 0,57 g acido oleico / 100 g olio di nocciole a 40 giorni dal trattamento, in confronto a una media dello 0,32 g acido oleico / 100 g olio di nocciole presentate nelle altre tesi, le quali tra loro non presentavano variazioni significative. Questi risultati hanno

confermato che il trattamento a dosi elevate di ozono provoca l'innesco di reazioni di ossidazione degli acidi grassi. Inoltre, i risultati ottenuti in questo studio corrispondono a quanto riportato in letteratura, dove è stato dimostrato che un aumento del valore di acidità libera si correla bene con l'aumento dei perossidi nel processo di trattamento con ozono (Skalska et al., 2009; Uzun e Ibanoglu, 2017). Maggiore è il valore di acidità, più intensa è l'idrolisi lipidica e maggiore è il contenuto di acidi grassi liberi. Inoltre, un valore elevato di acidità può conferire un sapore saponoso o sgradevole nella frutta a guscio come nocciole, noci, mandorle, pistacchi (Krol et al., 2021).

Risultati di acidità libera e numero di perossidi molto simili a quelli rinvenuti nella stagione 2021, sono stati ottenuti anche nel 2022, su campioni di nocciole della annata agraria corrente, sottoposte nuovamente a trattamenti con ozono, secondo lo schema sperimentale precedentemente descritto. L'andamento dei parametri analitici determinati è riportato in figura 5.5.

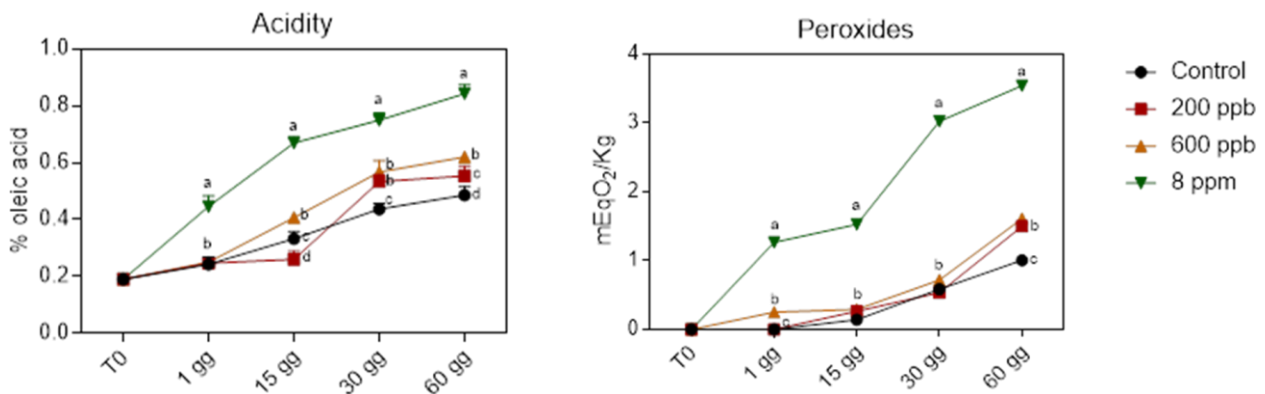


Figura 5.5. Contenuto di acidità libera (grafico a sinistra) e numero di perossidi (grafico a destra) nell'olio delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono (stagione produttiva 2022).

Con riferimento alle analisi colorimetriche non distruttive, in generale, le coordinate L*, b* e a* risultavano positive con valori della coordinata L* maggiori rispetto alle altre due. La tendenza del colore è verso il giallo per la coordinata b* positiva e verso il rosso per la coordinata a* positiva, con valori di a* leggermente inferiori a quelli di b*. La combinazione dei valori del giallo e del rosso di queste due coordinate tende al colore marrone, risultato confermato dai valori assunti dall'angolo di colore. In entrambi gli anni di sperimentazione, lo studio del colore o ΔE , non ha evidenziato differenze tra i diversi trattamenti né per i diversi tempi di campionamento; quindi, si



può affermare che i vari trattamenti con ozono non incidono sulla colorazione della pellicola esterna (figure 5.6 e 5.7), la quale rimane pressoché invariata cromaticamente anche durante il periodo di frigoconservazione. Questo risultato è imputabile proprio alla presenza sulla superficie della nocciola sgusciata di tale tegumento, il quale presenta un colore marrone che non viene alterato dal trattamento con ozono.

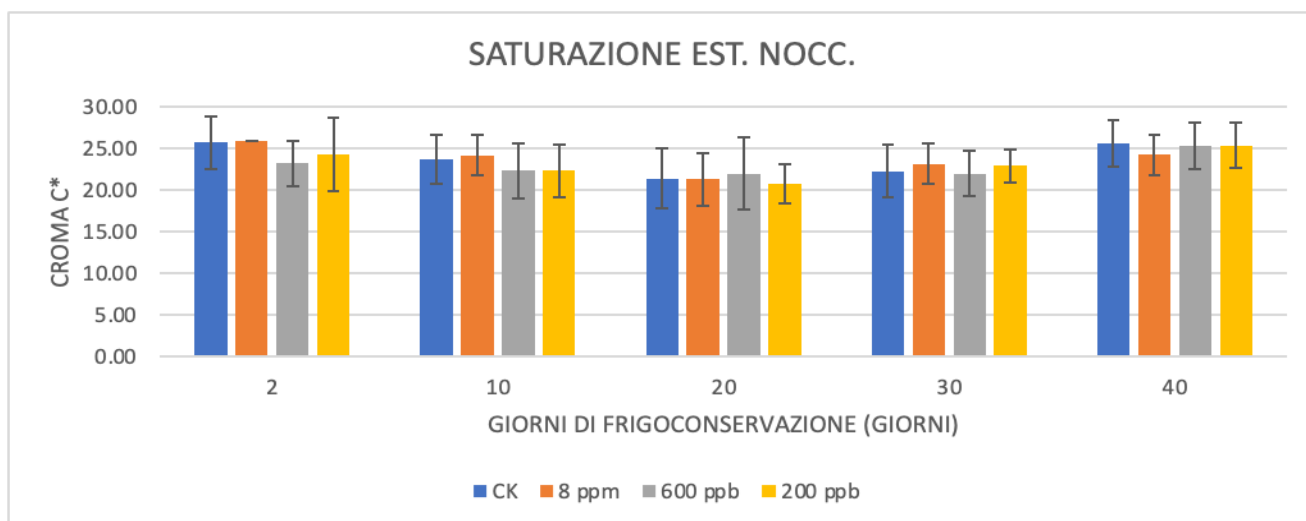


Figura 5.6. Saturazione colorimetrica esterna delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono, determinata con impiego di colorimetro (stagione produttiva 2021).

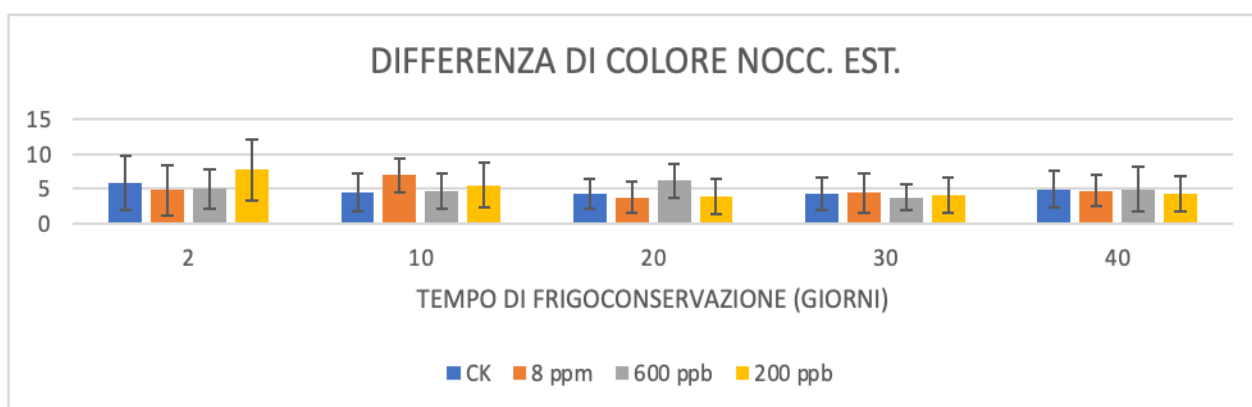


Figura 5.7. Differenza di colorazione esterna delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono, determinata con impiego di colorimetro (stagione produttiva 2021).

Nella stagione produttiva 2022, si è osservato lo stesso comportamento in termini di assenza di differenze tra i campioni trattati e i campioni controllo non trattati con ozono, e nei diversi tempi di campionamento, come riportato in figura 5.8.

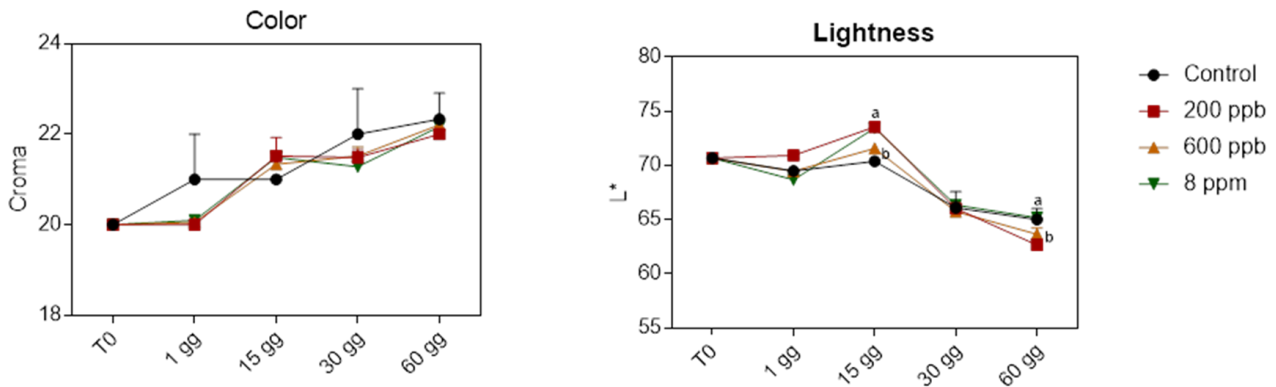


Figura 5.8. Saturazione colorimetrica esterna (grafico a sinistra) e lucentezza (grafico a destra) delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono, determinata con impiego di colorimetro (stagione produttiva 2022).

Tuttavia, piccole differenze sono state osservate nel tempo sul parametro L* (lucentezza) che tende a diminuire durante la conservazione, indipendentemente dal tipo di trattamento con ozono effettuato (figura 5.8 dx).

Le analisi della consistenza della nocciola sgusciata, riportati come modulo di Young, sono rappresentate nella figura 5.9, per la stagione produttiva 2021, e 5.10 per la stagione produttiva 2022. Similmente a quanto osservato con le analisi del colore, i risultati delle prove svolte hanno evidenziato come i campioni non presentavano significative variazioni nei valori riguardanti il carico massimo di rottura e la deformazione delle nocciole sottoposte a differenti trattamenti con ozono. Nello specifico, l'analisi dei dati riportati nei grafici indicano che nei primi 10 giorni di frigoconservazione le nocciole trattate non si differenziano da quelle non trattate, presentando valori di rigidità, in media, di circa 65 N/mm e leggermente più elevati (ma in linea) con i valori riportati da Di Matteo et al., 2011. Dai 20 ai 30 giorni di frigoconservazione si possono notare delle diminuzioni di elasticità in tutte le tesi considerate, in particolare nelle nocciole trattate con 8 ppm e 600 ppb di ozono, con un massimo di rigidità nel trattamento effettuato con 8 ppm di ozono pari a 85.08 N/mm. Al contrario, il trattamento più blando a 200 ppb non ha mostrato alcun effetto di

modificazione sull'elasticità delle nocciole. Interessante notare dunque la rapida risposta visco-elastica, dopo un giorno di trattamento a 8 ppm di ozono, poi azzerata nel tempo.

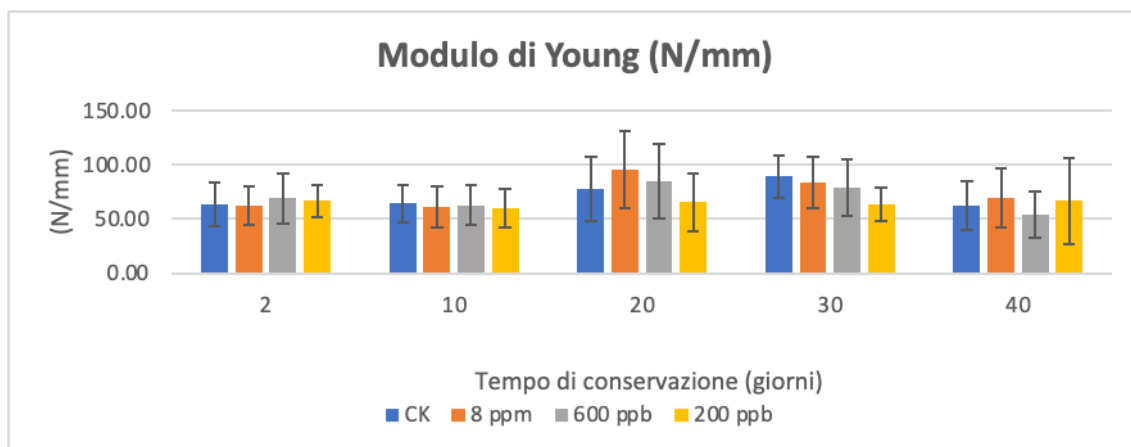


Figura 5.9. Modulo di Young delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono, determinata con impiego di instron (stagione produttiva 2021).

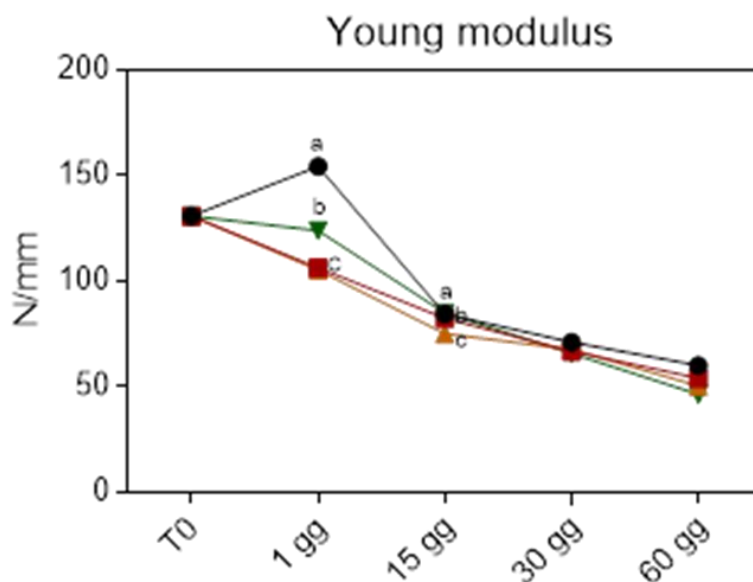


Figura 5.10. Modulo di Young delle nocciole sgusciate sottoposte a trattamenti a differenti concentrazioni di ozono, determinata con impiego di instron (stagione produttiva 2022).

In figura 5.11 è possibile rilevare i risultati della caratterizzazione spettrale (FT-NIR) di singole nocciole intere, appartenenti ai vari gruppi campionari. Secondo quanto già presente nella letteratura disponibile (Hirano et al., 1998; Ayvaz et al., 2022), picchi (centri vibrazionali) di sicura significatività vengono osservati a:

- 1.450 e 1.920 nm stretching degli OH liberi e alle bande di combinazione degli OH appartenenti all'acqua, nonostante il relativamente basso tenore idrico dei frutti di nocciola;
- 1.700 nm stretching del primo over-tone dei C-H ($C-H_2$, $=C-H_2$ e $cis-R_1CH = CHR_2CH_3$) a carico degli acidi grassi insaturi;
- 2.060 e 2.100 nm attribuibile a fonti lipidiche e, nello specifico, a bande di combinazione di C-H e C-O;
- 2.100 nm, contraddistinto da plausibile correlazione con i gruppi ammidici delle proteine;
- 2.200-2.260 nm, descritta come combinazione in stretching dei gruppi C-H ed in deformazione dei $C-H_2$ appartenenti alla componente carboidratica.

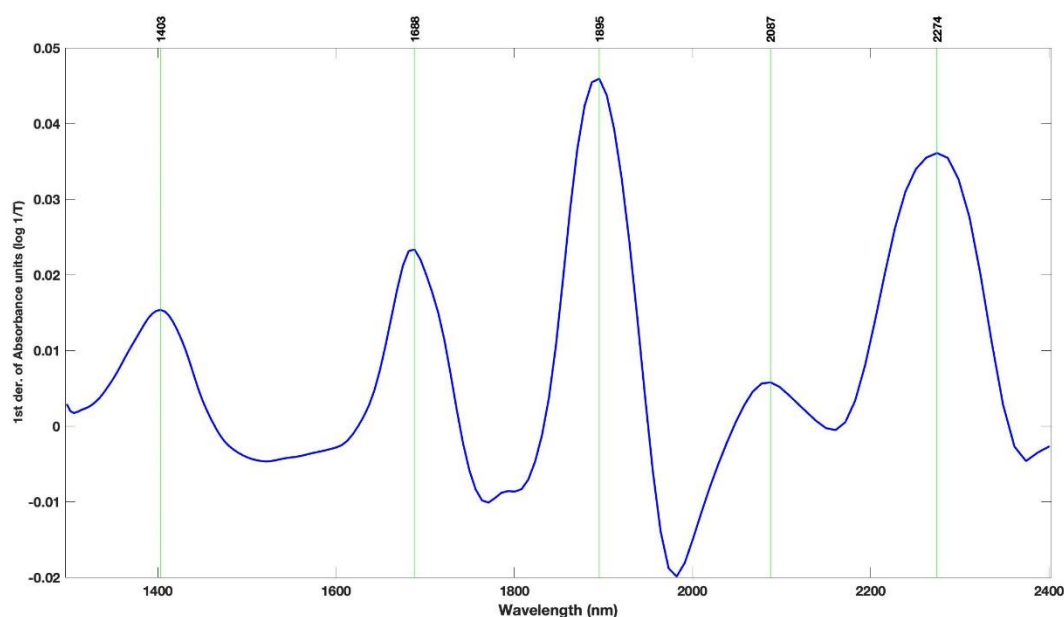


Figura 5.10. Spettri in Assorbanza ($\log 1/T$) da acquisizioni FT-NIR, ai quali è stato applicato un filtro di Savitzky-Golay ($der.1^{\wedge}$; smoothing da 25 punti), mediati per tutti i gruppi campionari di nocciole. I picchi di più significativa assorbanza si riferiscono al comportamento vibrazionale dei gruppi funzionali di risonanza.

Dall'analisi delle componenti principali (PCA) effettuata sugli spettri NIR (figure 5.11 e 5.12) ciò che si evidenzia è che significative differenze si osservano solo ai tempi di conservazione più lunghi (40 e 60 gg rispettivamente per l'annata 2021 e 2022). Gli spettri NIR, dunque, discriminano nocciole trattate a 200 e 600 ppb e a 8 ppm, a 60 gg di conservazione (storage). Le nocciole trattate con ozono risultavano molto simili a quelle non trattate (CK) a 15 e 30 gg. È interessante vedere come l'analisi spettrale ben correla con i dati analitici di acidità e perossidi. Infatti, a 40 e 60 giorni, le tesi risultavano ben segregate nello "score-plot" delle misure spettrali e ben differenti in termini di contenuto di perossidi. Questo suggerisce una risposta «tardiva» rispetto al trattamento, soprattutto per le concentrazioni di ozono più moderate (200 e 600 ppb).

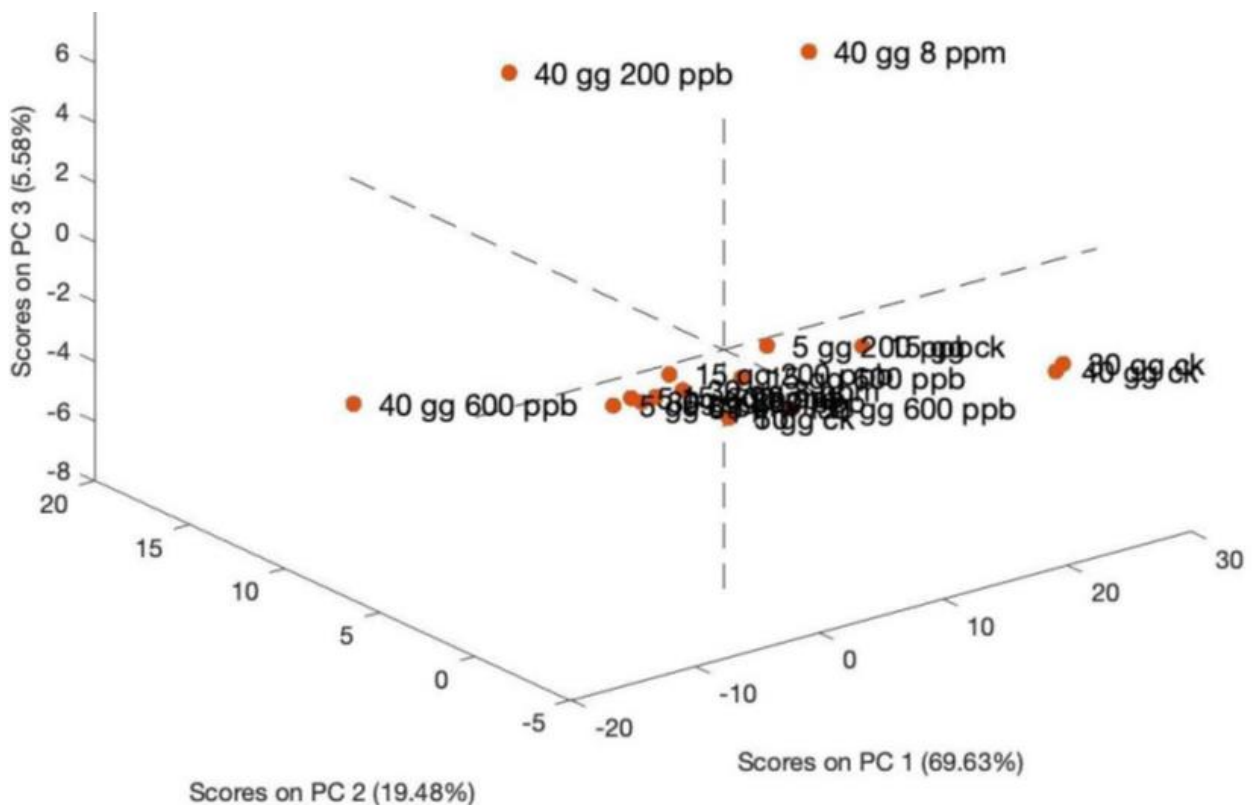


Figura 5.10. Score-plot dell'analisi delle componenti principali effettuata sugli spettri NIR su nocciole intere sgusciate trattate con diverse concentrazioni di ozono e frigoconservazione (+4 °C) per 40 giorni nella stagione produttiva 2021.

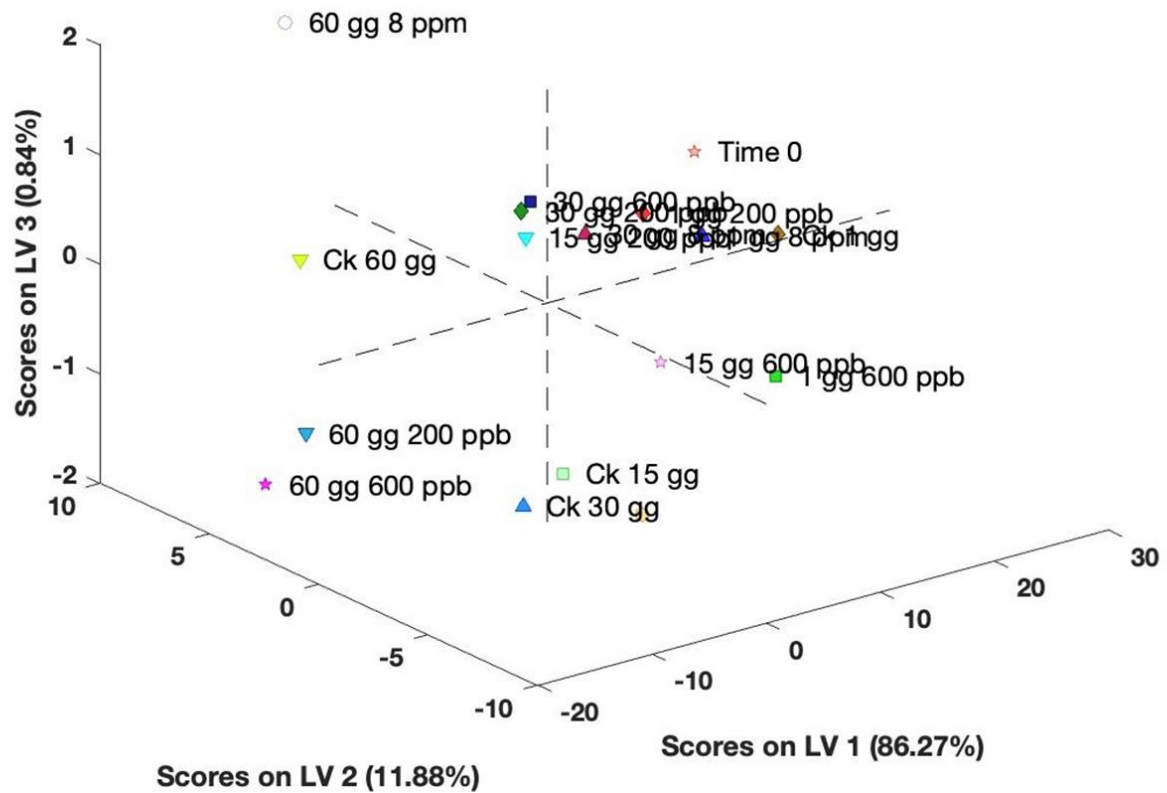


Figura 5.11. Score-plot dell'analisi delle componenti principali effettuata sugli spettri NIR su nocciole intere sgusciate trattate con diverse concentrazioni di ozono e frigoconservazione (+4 °C) per 40 giorni nella stagione produttiva 2022.

Osservando poi le variabili (lunghezze d'onda) più importanti nelle discriminazioni, a 60 gg di storage, tra le condizioni di trattamento a dominare è la risposta spettrale di acqua residuale e frazione lipidica e degli acidi grassi. Per la costruzione del modello predittivo di tipo PLS sui valori di umidità gli spettri crudi sono stati trasformati in assorbanza e, a turno, trattati per varie tipologie di filtri chemiometrici (nel dettaglio, filtro di Savitzky-Golay per 1^a e 2^a derivazione a 15 e 25

punti di smooting rispettivamente e SNV – standard normal variate) e rispettivamente sottoposti a calcolo computazionale regressivo, appunto, per il modello PLS.

La migliore performace è stata ottenuta con spettri trasformati da originari valori di trasmittanza in assorbanza ($\log I/T$) e pretrattati con filtro di Savitzky-Golay per 1^a derivazione a 15 punti di smooting (figura 5.12).

Il modello per la predizione dell'acidità presenta una correlazione (indice di determinazione, R^2), rispettivamente in calibrazione (Cal) e predizione (CV) uguale a 0,884 e 0,720 con 4 LVs che minimizzano l'errore (RMSEC e RMSECV) a 0,12 e 0,19% (figura 5.13).

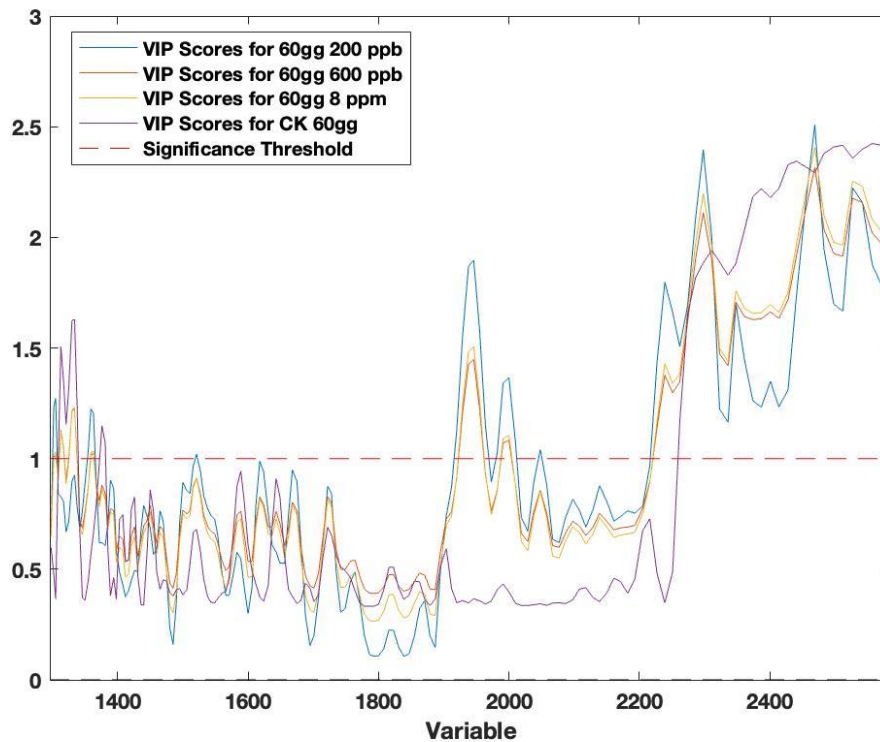


Figura 5.12. Variabili significative nella proiezione relative all'anno 2022 nelle nocciole trattate, dopo 60 giorni di conservazione.

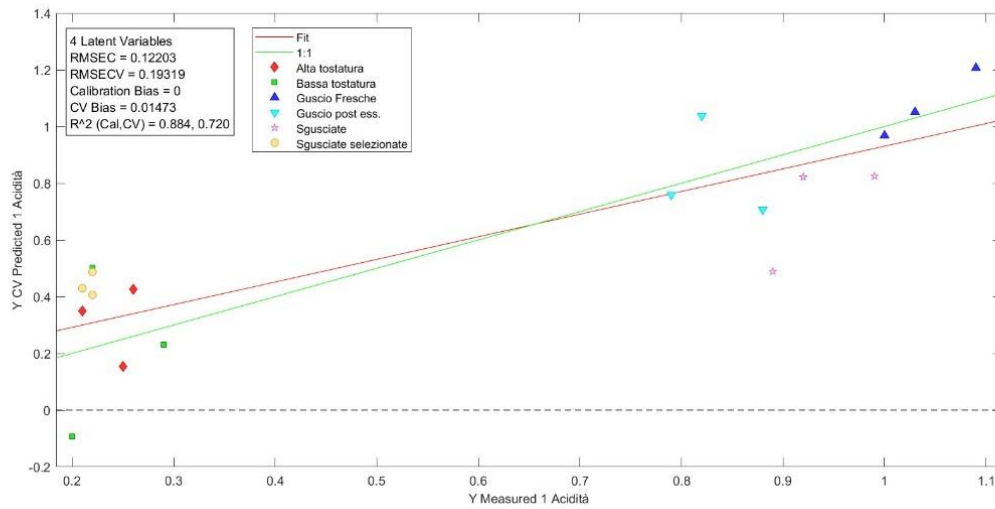


Figura 5.13. Scatter-Plot relativo al modello regressivo di tipo PLS per l'acidità libera nell'olio estratto a freddo dalle nocciole sottoposte a differenti trattamenti con ozono.

Per quanto concerne il modello messo a punto per la valutazione del contenuto di perossidi, sono emerse correlazioni nettamente meno soddisfacenti rispetto al modello precedente, con correlazioni pari al 0,778 (R2 Cal) e 0,325 (R2 CV) (figura 5.14).

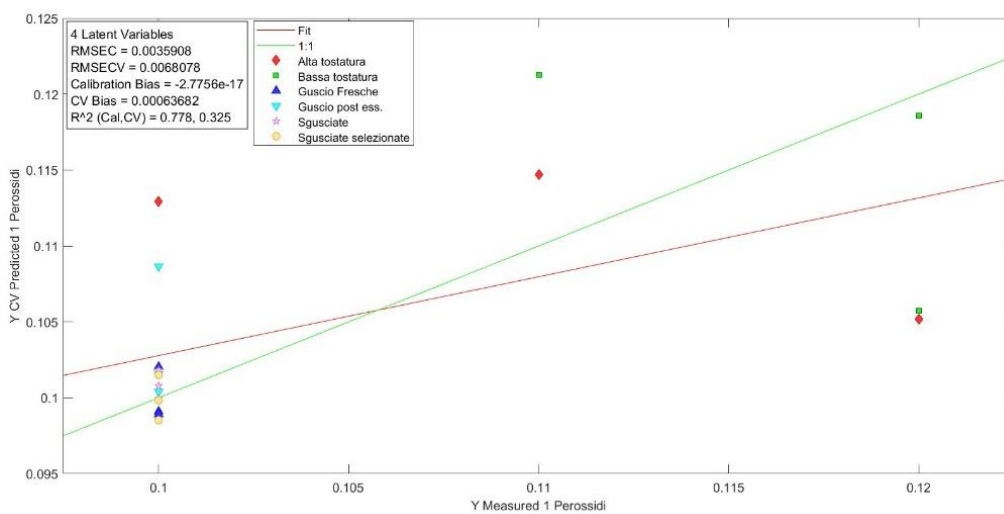


Figura 5.14. Scatter-Plot relativo al modello regressivo di tipo PLS per il numero di perossidi nell'olio estratto a freddo dalle nocciole sottoposte a differenti trattamenti con ozono.

In linea generale è possibile osservare come i modelli presentino delle chiare potenzialità (più o meno marcate in relazione ai singoli parametri testati) o limitazioni in termini di correlazione tra dato distruttivo e non-distruttivo. Più nel dettaglio, si è osservata una buona confidenza per la predizione di parametri quali acidità libera e una più scarsa efficienza, quando si utilizza l'informazione (distruttiva e non) relativa al contenuto di perossidi.

Bibliografia di riferimento.

- Alencar, E. R. de, Faroni, L. R. D. A., Soares, N. de F. F., Silva, W. A. da, & Silva Carvalho, M. C. da. (2012). Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 899–905. <https://doi.org/10.1002/JSFA.4668>.
- Akbas, M. Y., & Ozdemir, M. (2006). Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2099–2104. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2579>.
- Aslam R., Alam M.S. and Saeed P.A. 2020. Sanitization Potential of Ozone and Its Role in Postharvest Quality Management of Fruits and Vegetables. 12: 48-67. (*Food Eng. Rev.*).
- Bernalte M.J., Sabio E., Hernandez M.T. and Gervasini C. 2003. Influence of storage delay on quality of 'Van' sweet cherry. 28 (2): 303-312. (*Postharvest Biol. Tec.* (2003)).
- Bailey PS. 1982. *Ozonation in organic chemistry*, 2: Non olefinic compounds. San Diego, USA: Academic Press. [http:// dx.doi.org/10.1002/ange.19840960428](http://dx.doi.org/10.1002/ange.19840960428).
- Boonkorn P, Gemma H, Sugaya S, Setha S, Uthaibutra J, Whangchai K (2012) Impact of high-dose, short periods of ozone exposure on green mold and antioxidant enzyme activity of tangerine fruit. *Postharvest Biol Technol* 67:25–28. doi: 10.1016/j.postharvbio.2011.12.012.
- Brodowska A.J., Nowak A. and Śmigielski K. 2018. Ozone in the food industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: An overview. 58: 2176–2201. (*Critical reviews in food science and nutrition*).
- Carletti L., Botondi R., Moscetti R., Stella E., Monarca D., Cecchini M. and Massantini R. 2013. Use of Ozone in Sanitation and Storage of Fresh Fruits and Vegetables. 11: 585-589. (*J. Food Agric. Environ.*

- De Angelis, E., Bavaro, S. L., Monaci, L., & Pilolli, R. (2018). *Effects of the Varietal Diversity and the Thermal Treatment on the Protein Profile of Peanuts and Hazelnuts*. *Journal of Food Quality*, 2018, 1–10. doi:10.1155/2018/7635957.
- Demirci, A. Ş., Sivri Tirpanci, G., Tunc, M., & Mutlu, S. Detoxification of Hazelnut Artificially Contaminated with Aflatoxins by Gaseous Ozone. Available at SSRN 4173347.
- Di Matteo, M.; Albanese, D.; Liguori, L. Alternative method for hazelnuts peeling. *Food Bioprocess Technol.* 2012, 5, 1416–1421, doi:10.1007/s11947-011-0509-7.
- Frigoconservazione e qualità post-raccolta delle noci in guscio; <https://rivistafrutticoltura.edagricole.it/post-raccolta/frigoconservazione-e-qualita-post-raccolta-delle-noci-in-guscio/> .
- Ghirardello, D., Contessa, C., Valentini, N., Zeppa, G., Rolle, L., Gerbi, V., & Botta, R. (2013). Effect of storage conditions on chemical and physical characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 81, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.014>.
- Khadre, M.A., Yousef, A.E Kim, J.-G., 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *J. Food Sci.* 66, 1242-1252.
- Kim J.G., Yousef A.E. and Dave S. 1999. Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods: A Review. 62: 1071-1087. (*J. Food Prot.*).
- Król, K., Gantner, M., & Piotrowska, A. (2021). The quality characteristic and fatty acid profile of cold-pressed hazelnut oils during nine months of storage. *Agronomy*, 11(10), 2045.
- L. S. Oliveira and A. S. Franca, “Applications of near infrafredspectroscopy (NIRS) in food quality evaluation,”*Food Quality Control, Analysis and Consumer Concerns*, vol. 4, no. 3,pp. 131–179, 2011.
- Liew, C. L., & Prange, R. K. (1994). Effect of Ozone and Storage Temperature on Postharvest Diseases and Physiology of Carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(3), 563–567. doi:10.21273/jashs.119.3.563.
- Proctor, A. D., Ahmedna, M., Kumar, J. v., & Goktepe, I. (2007). Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment. 21(8), 786–793. <https://doi.org/10.1080/02652030410001713898>.
- Pryor, W. A., Das, B., & Church, D. F. (1991). The ozonation of unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 4(3), 341–348. doi: 10.1021/tx00021a014.

- Pryor WA, Squadrito GL, Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity the role of lipid ozonation products. *Free Radic Biol Med.* 1995; 19:935–941. doi: 10.1016/0891-5849(95)02033-7.
- Rabadán, A., Álvarez-Ortí, M., Pardo, J. E., & Alvarruiz, A. (2018). Storage stability and composition changes of three cold-pressed nut oils under refrigeration and room temperature conditions. *Food Chemistry*, 259, 31–35. doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.098.
- Sagu ST, Huschek G, Homann T, Rawel HM. Effect of Sample Preparation on the Detection and Quantification of Selected Nuts Allergenic Proteins by LC-MS/MS. *Molecules.* 2021 Aug 3;26(15):4698. doi: 10.3390/molecules26154698. PMID: 34361856; PMCID: PMC8348345.
- Sarron E., Gadonna-Widehem P. and Aussenac T. 2021. Ozone Treatments for Preserving Fresh Vegetables Quality: A Critical Review. 10(3): 605. (*Foods*).
- Sharpe D, Fan LH, McRae K, Walker B, MacKay R, Doucette C (2009) Effects of ozone treatment on *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* in relation to horticultural product quality. *J Food Sci* 74(6):M250–M257. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01234.x.
- Skalska K, Ledakowicz S, Perkowski J, Sencio B. 2009. Germicidal Properties of Ozonated Sunflower Oil. *Ozone Sci. Eng.* **31**, 232–237. <http://dx.doi.org/10.1080/01919510902838669>.
- Uzun, H., & Ibanoglu, E. (2017). Oxidation kinetics of hazelnut oil treated with ozone. *Grasas y Aceites*, 68(4), e222-e222.
- Wang W, Paliwal J (2007) Near-infrared spectroscopy and imaging in food quality and safety. *Sens & Instrumen Food Qual* 1:193–207.
- Whangchai K, Saengnil K, Uthaibutra J (2006) Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of longan fruit. *Crop Prot* 25(8):821–825. doi:10.1016/j.cropro.2005.11.003.

Azione 6 - Disinfestazione delle nocciole essiccate e sgusciate.

Attuatore:

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE), in collaborazione con il laboratorio di Tecnologie Alimentari del Dipartimento per la Innovazione nei Sistemi Biologici Agroalimentari e Forestali (DIBAF) - Università degli Studi della Tuscia (Responsabile scientifico Prof. Valerio Cristofori).

Al fine di monitorare l'effetto disinfestante dei trattamenti con ozono, una aliquota dei campioni di nocciole fresche sgusciate, raccolte nella stagione produttiva 2022, e sottoposte a trattamento con ozono a differenti concentrazioni, sono state sottoposte ad analisi microbiologiche presso il laboratorio accreditato Phy.dia., recentemente realizzato grazie ad uno spin-off del Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali dell'Università della Tuscia.

Analisi microbiologiche a carico delle nocciole sgusciate.

Tutti i campioni di nocciole sgusciate sottoposte a trattamento con ozono e poste in conservazione nella stagione produttiva 2022, sono state sottoposte ad analisi microbiologiche al fine di effettuare la conta microbica totale presente sulle nocciole trattate e non trattate. Dalla totalità dei campioni sono state isolate 15 nocciole delle quali è stato misurato il diametro, e calcolato il valore medio del raggio impiegato per il calcolo dell'area media e del volume medio per singola nocciola. Per ogni tesi sono stati prelevati in maniera random un totale di 45 nocciole: queste sono state suddivise in maniera casuale per formare 3 gruppi da 15 nocciole, i quali rappresentavano le tre repliche biologiche per ciascuna tesi. Il terreno agarizzato utilizzato per le prove è lo Yeast Extract Agar (YEA). Per l'isolamento degli epifiti, il protocollo sperimentale utilizzato è stato il seguente: all'interno di una beuta sterile da 1 l trasferire 200 ml di buffer (acqua deionizzata sterile addizionata con 0,2% di Tween 80); aggiungere 15 nocciole (corrispondenti ad una replica biologica) e lasciare sull'agitatore orbitale per 1 ora a 120 rpm; dopo l'incubazione, piastrare 100 µl del buffer su una piastra contenente il terreno agarizzato; operare due diluizioni decimali seriali in acqua deionizzata sterile e piastrare le due sospensioni risultanti; ripetere lo stesso procedimento su ulteriori due aliquote del buffer proveniente dalla stessa beuta (repliche tecniche); lasciare ad incubare in termostato le piastre a 27°C per 48 ore; effettuare la conta per ogni piastra dei

microrganismi presenti operando una distinzione tra batteri e funghi. I valori di ogni gruppo di piastre sono stati mediati e sono stati messi in relazione con la superficie totale di 15 nocciole per ottenere la misura del numero di microrganismi per cm^2 di superficie.

Risultati delle analisi microbiologiche su nocciole sgusciate trattate con ozono.

I risultati della conta microbica totale, effettuata al microscopio in laboratorio, sono stati associati alle valutazioni non-distruttive ed alle analisi chimico-fisiche condotte sulle nocciole della stagione produttiva 2022, sopra descritte.

In figura 6.1, dove sono riportati i risultati della conta microbica totale, è possibile evidenziare un parziale effetto selettivo dell'ambiente (dovuto alla bassa presenza di ossigeno) sul controllo non trattato e sulla tesi a 200 ppb. Il trattamento di 200 ppb, a fine conservazione, ha ridotto la crescita microbica di circa il 50% rispetto al controllo. Come atteso, si è registrato un drastico e definitivo effetto del trattamento a 8 ppm, che ha ridotto la carica microbica totale del 90% già al primo giorno post-trattamento. Un ottimo e persistente risultato è stato ottenuto anche con il trattamento di 600 ppb a partire da 15 giorni in avanti, il che comporta un totale abbattimento della carica microbica totale a 60 giorni di conservazione.

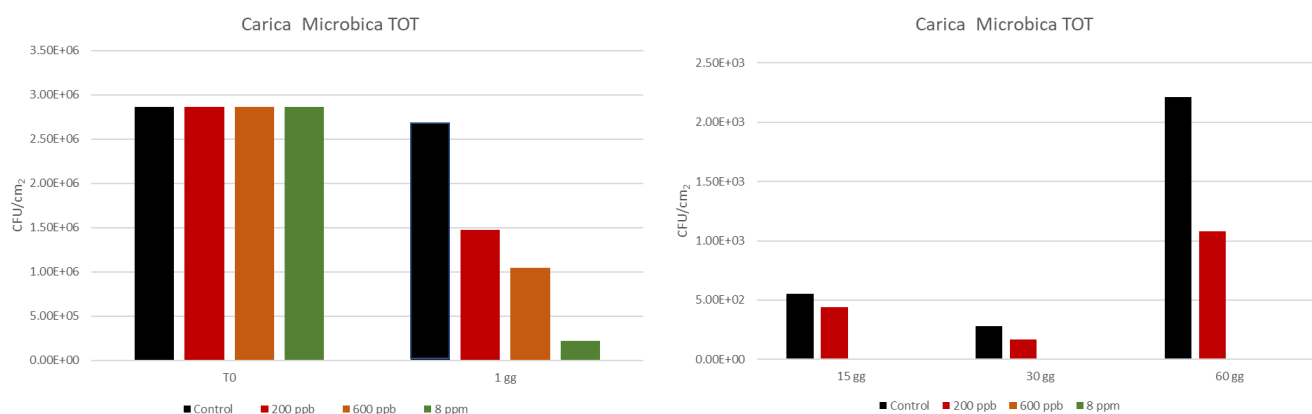


Figura 6.1. Carica microbica totale sulle nocciole fresche sgusciate sottoposte a trattamento con ozono a diverse concentrazioni. A sinistra carica microbica a seguito del trattamento con ozono e dopo 1 giorno dal trattamento. A destra carica microbica dopo 15, 30 e 60 giorni dal trattamento, rispettivamente (stagione produttiva 2022).



Concentrazioni elevate di ozono (8 ppm) abbattano la carica microbica, ma al tempo stesso possono provocare un drastico aumento nel tenore in acidità libera e perossidi, sottolineando l'effetto fortemente ossidativo del trattamento. Al contrario, concentrazioni minori (200 e 600 ppb) avvicinano i frutti trattati a condizioni più simili alle nocciole controllo non trattate con ozono, confermando l'efficacia di questo gas ossidante nel preservare i tratti qualitativi quando applicato a concentrazioni ponderate. Un aumento nel tenore in acidità libera si correla in modo robusto con l'aumento del numero dei perossidi nel processo di trattamento con ozono; quindi, maggiore è il valore di acidità più intensa è l'idrolisi lipidica e maggiore il contenuto in acidi grassi liberi. Trattamenti a concentrazioni di 600 ppb di ozono, preservano le caratteristiche qualitative, e contestualmente abbattano la carica microbica totale. Infine, la valutazione spettrale NIR si è dimostrata funzionale nella discriminazione delle nocciole su base "trattamento" e "tempo di storage", risultando dunque promettente nella predizione dei parametri qualitativi.

Azione 7 - Formazione e divulgazione.

Attuatori:

- 1) Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.
- 2) Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE) - Università della Tuscia

Le attività di formazione e divulgazione dei risultati ottenuti nel Progetto, previste nell’Azione 7, sono riportate sinteticamente di seguito e dettagliate nella apposita sezione 4 della presente relazione conclusiva.

Attività di formazione e divulgazione.

Le attività di formazione e divulgazione, rivolte principalmente ai partecipanti al Progetto Integrato di Filiera, a tecnici di settore, e vari stakeholders regionali e non solo, sono state svolte in tre differenti fasi dell’esecuzione progettuale:

Fase 1: realizzazione del campo collezione di varietà di nocciolo europeo costituite presso il programma di miglioramento genetico del nocciolo condotto dall’Oregon State University di Corvallis (OR-USA). Le varietà americane introdotte nel campo collezione presso Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr. tramite apposito “agreement”, sono state oggetto di periodiche visite guidate su richiesta di singoli stakeholders interessati al materiale vegetale di nuova introduzione in ambiente toscano, e più in generale in ambiente europeo. Le opere di messa a dimora delle piante, coincidenti con l’inizio delle attività sperimentali, sono state condotte a partire dal 25/11/2020.

Fase 2: attività di formazione e divulgazione svolta presso Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr. in data 20/12/2022. Tematiche trattate: presentazione del Progetto Integrato di Filiera; stato di avanzamento delle attività sperimentali finalizzate alla sottomisura 16.2; visita presso i campi collezione di nocciolo europeo (*Corylus avellana*) realizzati durante il progetto; dimostrazione pratica di gestione della chioma presso i noccioli di Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., confronto tra impianti disetanei, differenti forme di allevamento e differenti cultivar.

Fase 3: convegno di chiusura del Progetto FIL.CO.T. sottomisura 16.2. Evento tenutosi in data 20/04/2023 presso la sede Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.. Esposti i principali risultati ottenuti durante l’esecuzione delle attività sperimentali. Relazioni finalizzate: Prof. Valerio

Cristofori - "Adattamento varietale del nocciolo in ambiente toscano e interventi agronomici a supporto"; Prof. Simone Priori - "Mappatura e monitoraggio dei suoli coltivati a nocciolo presso la Tenuta Corte Migliorina"; Prof. Andrea Bellincontro - "Trattamento post-raccolta con ozono su nocciole fresche: monitoraggio dei parametri qualitativi e microbiologici in conservazione tramite tecnologie distruttive e Spettroscopia NIR".

Partecipazione a convegni con comunicazioni finalizzate al progetto.

- Xth International Congress on Hazelnut (International Society for Horticultural Science). Corvallis (Oregon – USA), 05-09 settembre 2022.
- 8° Convegno Nazionale Post-Raccolta (Società di Ortoflorofruitticoltura Italiana). Pescia (PT), 29-30 settembre 2022.
- ACQUE. Verso il World Water Day 2023. Accelerating Cooperation and Partnership on Water. Panel - Uso sostenibile dell'acqua in agricoltura: opportunità, sfide e buone pratiche. Relazione a invito Prof. Valerio Cristofori – Risposta del nocciolo all'irrigazione localizzata: valutazioni agronomiche di lungo periodo. Palazzo Senatorio, Piazza del Campidoglio 1 - Roma, 17 marzo 2023.

Tesi di Laurea finalizzate al progetto.

- Loppi Alessandra, 2022. "Sensori prossimali del suolo e cartografia del suolo per l'ottimizzazione dell'irrigazione in corileti subirrigati" (Laurea Magistrale SAA – LM69. A.A. 2021/22. Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università della Tuscia. Relatore: Prof. S. Priori; Correlatore: Prof. Valerio Cristofori).

Elenco delle pubblicazioni finalizzate.

- Furlan M., Pagani E., Domenichini M., Maule A., Perugini M., Silvestri C., Priori S., Cristofori V., 2021. Regione Toscana e Loacker insieme per sviluppare la filiera corilicola. RIVISTA DI FRUTTICOLTURA E DI ORTOFLORICOLTURA, vol. Anno LXXXV, n.9/2021 (Dossier Frutta secca): 38-42. ISSN: 0392-954X.
- Modica B., Modesti M., Forniti R., Pagani E., Mencarelli F., Cristofori V., Bellincontro A., 2022. Trattamenti post-raccolta con ozono gassoso per la conservabilità delle nocciole. 8° Convegno Nazionale Post-Raccolta (Società di Ortoflorofruitticoltura Italiana). Pescia (PT), 29-30 settembre 2022. Atti dei Riassunti.



- Cristofori V., Pagani E., Bevilacqua F., Silvestri C., Priori S., Modesti M., Bellincontro A., Mencarelli F., Perugini M., Niedermayr F., Furlan M., 2023. Development of the hazelnut chain in Tuscany: the integrated project “Loacker, Hazelnuts of Maremma”. Xth International Congress on Hazelnut. Corvallis (Oregon – USA), 05-09 settembre 2022. Acta Horticulturae, in press.

3. Ricadute economiche e ambientali.

Il progetto FIL.CO.T., pensato e sviluppato secondo un approccio innovativo spesso basato sull'utilizzo in campo e in post-raccolta di sensoristica prossimale (reti IoT per la connessione in “real time” delle stazioni agrometeorologiche, utilizzo di sensoristica ad induzione elettromagnetica e di sensori prossimali per il monitoraggio ecofisiologico delle piante, impiego della tecnologia NIRs) ha consentito di valutare l'adattabilità colturale del nocciolo europeo nel nuovo ambiente di coltivazione, includendo alcune ricadute di carattere economico e ambientale particolarmente evidenti.

Dal punto di vista economico, la nuova filiera corilicola toscana, in fase di ampliamento, rappresenta una valida alternativa imprenditoriale per gli imprenditori agricoli locali, promuovendo la diversificazione degli ordinamenti colturali e dunque della produzione lorda vendibile dell'azienda. Tra l'altro, il consolidamento economico della filiera locale può inoltre trarre vantaggio dalla limitrofa corilicoltura viterbese, consolidata da decenni nel Lazio, quale distretto di possibile fruizione della futura produzione di nocciole, oltre che “modello consolidato di filiera” per affrontare razionalmente eventuali future criticità colturali, e sviluppare innovativi sistemi di associazionismo imprenditoriale.

Il progetto FIL.CO.T., nella sua esecuzione sperimentale, ha inoltre generato quattro output tecnici caratterizzati da elevata valenza ambientale, di seguito descritti:

- 1) lo studio dell'adattabilità varietale del nocciolo coltivato nel nuovo ambiente di introduzione consente/consentirà di identificare un pool di cultivar idonee alla coltivazione nel distretto individuato, impiegando dunque cultivar più resilienti e meno esigenti in fattori produttivi di sintesi (fertilizzanti minerali; fitofarmaci, ecc.);
- 2) la messa a punto di tabelle di diagnostica fogliare cultivar-sito specifiche consentirà la razionalizzazione degli interventi di fertilizzazione e nutrizione fogliare, favorendo l'ottimizzazione dell'impiego dei nutrienti (su tutti l'azoto) negli effettivi periodi di necessità colturale e nelle giuste dosi, abbattendo dunque in modo significativo l'effetto di deriva dei nutrienti dall'agroecosistema corileto;

- 3) il monitoraggio tramite sensoristica prossimale ad induzione elettromagnetica dell'efficacia di distribuzione dell'acqua irrigua somministrata in sub-irrigazione nel corileto, sempre più frequente, favorirà il risparmio della risorsa acqua;
- 4) la predisposizione di mappe di classificazione dei suoli coltivati ad elevato dettaglio consentirà applicazioni di agricoltura di precisione e digitale, che sulla scorta del paradigma “fare la cosa giusta, al momento giusto, con la giusta dose” consentirà una futura gestione dell'agroecosistema secondo il modello dell'intensificazione sostenibile delle colture agrarie (produrre di più utilizzando meno).



4. Quadro delle attività di divulgazione realizzate (numero dei partecipanti agli eventi realizzati, programmi delle iniziative, presentazioni, sito web, ecc.) e copia del materiale divulgativo e tecnico scientifico prodotto.

Ad integrazione di quanto già descritto nella Sezione 1 - Azione 7 della presente relazione tecnica, le attività di formazione e divulgazione dei risultati ottenuti nel Progetto sono state svolte tramite la realizzazione di due incontri divulgativi e di formazione, tenuti presso la sede di Orbetello della Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr.. Entrambi gli eventi sono stati pubblicizzati tramite social, stampa locale e mailing-list dedicate per la più ampia diffusione presso i soggetti interessati. In particolare, sono state invitati a partecipare ai due convegni, gli uffici preposti della Regione Toscana, gli Ordini Provinciali degli Agronomi di Grosseto, Siena, Livorno e Viterbo, il Collegio Provinciale dei Periti Agrari della provincia di Grosseto, le principali organizzazioni agricole delle provincie di Grosseto e Viterbo e tutte le aziende agricole partecipanti al P.I.F., incluse ulteriori aziende agricole interessate dal progetto “Loacker Nocciolati Italiani”, con un totale di oltre cento email di invito inoltrate per ogni evento. Entrambi gli incontri hanno ottenuto il patrocinio dell’Ordine dei Dottori Agronomi e Forestali della Provincia di Grosseto e sono stati accreditati per il riconoscimento dei Crediti Formativi Professionali.

Il progetto è stato inoltre divulgato via web mediante la realizzazione di un sito internet, attualmente presente all’interno del sito della Loacker S.P.A, visitabile al link:

<https://www.loacker.com/int/en/our-road-to-sustainability/sustainable-supply-chain/our-italian-hazelnut-orchards/supply-contracts>

In entrambe le occasioni, a tutti i partecipanti è stato fornito il “Manuale Loacker di gestione del corileto”. Il documento tecnico consegnato gratuitamente a tutti i partecipanti descrive le principali operazioni colturali da eseguire per l’impianto del nocciolato, le operazioni colturali da attuare durante l’anno e le principali avversità che possono colpire la coltura.

Descrizione delle attività svolte durante gli incontri di divulgazione e formazione.

Incontro del 20/12/2022: tenuto presso Loacker Corte Migliorina – Strada Vicinale della Migliorina 13 – Fonteblanda Orbetello (GR).

Il primo convegno di divulgazione dei risultati e di formazione degli intervenuti all'incontro si è articolato in due sessioni; una nella mattina ed una nel pomeriggio. La prima sessione ha visto l'arrivo e registrazione dei partecipanti, i saluti del dott. Maurizio Furlan in rappresentanza della Loacker Corte Migliorina, e gli interventi dei relatori dott. Maurizio Domenichini e del Prof. Valerio Cristofori per la presentazione dello stato dell'arte del Progetto Integrato di Filiera e lo stato di avanzamento delle attività sperimentali finalizzate alla sottomisura 16.2, con breve dibattito e discussione finale. Alla sessione del mattino hanno partecipato anche gli studenti e professori dell'I.S.I.S. Leopoldo II di Lorena di Grosseto (indirizzo tecnico agrario). La delegazione è stata accompagnata a una preliminare visita dei nocciolieti della Loacker Tenuta Corte Migliorina, con descrizione morfo-anatomica della pianta del nocciolo e descrizione generale della tecnica colturale da applicare in campo per la sua coltivazione.

Alla conclusione della prima sessione, è seguito un light lunch per tutti i partecipanti e le attività sono poi proseguite nel pomeriggio con la visita presso i campi collezione di nocciolo europeo (*Corylus avellana*) realizzati durante il progetto e dimostrazioni pratiche di gestione della chioma del nocciolo presso gli impianti di Loacker Tenuta Corte Migliorina S.R.L. Soc. Agr., con confronto tra impianti disetanei, differenti forme di allevamento e differenti cultivar.

Il convegno ha visto complessivamente la partecipazione di 46 aziende agricole ed altri soggetti interessati, 4 dottori agronomi e 45 studenti e professori dell'I.S.I.S. Leopoldo II di Lorena di Grosseto.

Incontro del 20/04/2023: tenuto presso Loacker Corte Migliorina – Strada Vicinale della Migliorina 13 – Fonteblanda Orbetello (GR). Convegno di chiusura della Misura 16.2.

Il convegno conclusivo della Misura 16.2 e del P.I.F. 35/2017 “Loacker, Nocciole di Maremma” si è articolato in un'unica sessione concentrate nella mattina, e conclusa con light lunch. Le attività a seguito della registrazione dei partecipanti, sono state avviate dai saluti del dott. Maurizio Furlan in rappresentanza della Loacker Corte Migliorina, ai quali hanno fatto seguito gli interventi dei relatori dott. Maurizio Domenichini, Prof. Valerio Cristofori, Prof. Simone Priori e Prof. Andrea Bellincontro per l'illustrazione dei principali risultati ottenuti durante l'esecuzione delle attività sperimentali. La giornata si è conclusa con discussione e dibattito sui principali temi di interesse, proseguita anche durante il light lunch.

Il convegno ha visto la partecipazione di 41 aziende agricole ed altri soggetti interessati oltre che di 4 dottori agronomi interessati alla filiera corilicola.

Al convegno ha partecipato, su invito, anche la stampa locale, la quale ha pubblicato un articolo divulgativo in data 14 Aprile 2023 sulla testata on-line Grossetonotizie (<https://www.grossetonotizie.com/grosseto/agricoltura-grosseto/2023/04/14/nocciole-di-maremma-loacker-incontra-gli-agricoltori-per-illustrare-il-progetto/>) e due ulteriori articoli in data 21/04/2023 pubblicati rispettivamente sulla testata on-line MaremmaOggi (<https://www.maremmaoggi.net/loacker-scrive-il-futuro-della-maremma-mica-noccioline/>) e sull'edizione cartacea del Tirreno, edizione di Grosseto.

Partecipazione a convegni con comunicazioni finalizzate e pubblicazioni finalizzate al progetto FIL.CO.T. sottomisura 16.2.

L'elenco delle partecipazioni a convegni con comunicazioni e pubblicazioni scientifiche finalizzate al Progetto sono descritte nella Sezione 1 – Azione 7 della presente relazione tecnica conclusiva di Progetto.

5. Considerazioni conclusive (sintesi dei risultati conseguiti, considerazioni sull'applicazione dei risultati al territorio interessato dal progetto di cooperazione e sulla potenzialità di trasferimento ad altre realtà territoriali regionali).

Le attività svolte durante l'esecuzione del progetto FIL.CO.T., hanno consentito di sviluppare una serie di protocolli innovativi e replicabili per una gestione sostenibile della corilicoltura nel nuovo ambiente di coltivazione, sia in termini di filiera primaria sia di gestione post-raccolta.

Tra gli outputs più rilevanti, alcuni dei quali caratterizzati da trasferimento tecnologico già eseguibile, si elencano rispettivamente:

- a messa a punto di un protocollo consolidato e replicabile negli anni per complete valutazioni di adattabilità varietale del nocciolo europeo in nuovi areali di coltivazione;
- l'ottimizzazione di alcune tecniche di gestione del corileto, quali ad esempio la nutrizione fogliare tramite la definizione di schede di diagnostica fogliare cultivar-sito specifiche;
- l'ottimizzazione di innovative tecniche di condizionamento e stoccaggio delle nocciole con impiego di opportune concentrazioni di ozono, oltre che di monitoraggio qualitativo e di sanità alimentare.

Inoltre, la definizione di una carta dei suoli aggiornata e ad elevato dettaglio, come quelle prodotte per l'azienda Corte Migliorina, rappresenta uno degli strumenti più rilevanti per applicazioni di agricoltura di precisione (Agricoltura 3.0) e di digitalizzazione delle aziende agricole (Agricoltura 4.0). Tale strumento digitalizzabile, e georiferibile, diviene fondamentale per lo sviluppo di future mappe di prescrizione per la gestione del corileto secondo il metodo del Rateo Variabile.

La sensoristica impiegata (proximal sensing) per l'esecuzione delle attività sperimentali ha inoltre consentito di sviluppare un protocollo per il monitoraggio della distribuzione dell'acqua irrigua nel corileto subirrigato, al fine di monitorare negli anni la corretta distribuzione dell'acqua irrigua per risalita capillare ed individuare con accuratezza eventuali malfunzionamenti dell'impianto di subirrigazione.

Un ulteriore aspetto innovativo derivante dalla realizzazione del progetto, fa riferimento all'introduzione nell'ambiente toscano, e quindi più in generale in Italia, di nuove cultivar di



nocciolo europeo costituite presso l'Oregon State University, e finora caratterizzate da limitazioni di ingresso in area UE.

Il modello progettuale sviluppato su base biennale, insieme ai risultati più rilevanti ottenuti, si presta per una sua replicazione o per applicazioni puntuali in ambienti corilicoli extra-regionali, soprattutto se caratterizzati da recente costituzione ex-novo e in assenza di preliminari evidenze tecnico-scientifiche e/o sperimentali di adattamento culturale.

Infine, il modello sviluppato in seno al progetto, inclusi alcuni elementi di trasferimento tecnologico in fase avanzata, può essere, previa armonizzazione colturale, adattato a differenti filiere frutticole, prevalentemente afferenti al comparto frutta secca (noce, castagno da frutto, mandorlo, pistacchio).

Il Responsabile Scientifico
Attuatore 1
Dr. Maurizio Furlan



Il Responsabile Scientifico
Attuatore 2
Prof. Valerio Cristofori

