Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE, AMBIENTALI E ALIMENTARI

Ciclo XXXIV

Settore Concorsuale: 07/B1 - AGRONOMIA E SISTEMI COLTURALI ERBACEI ED ORTOFLORICOLI

Settore Scientifico Disciplinare: AGR/02 - AGRONOMIA E COLTIVAZIONI ERBACEE

La biodiversità funzionale del frumento tenero: uno strumento di adattamento per modelli di cerealicoltura a ridotto impatto ambientale

Presentata da: **Lorenzo Negri**

Coordinatore Dottorato
Prof. Massimiliano Petracci

Supervisore
Prof. Giovanni Dinelli

Co-supervisore
Dott.ssa Sara Bosi

Esame finale anno 2022

ABSTRACT

I sistemi agro-alimentari industriali, dalla produzione alla trasformazione, considerando anche il consumo, la perdita e gli sprechi di prodotti, contribuiscono fortemente al cambiamento climatico. Al fine di ridurre l'impiego di prodotti fitosanitari ed aumentare la resilienza della coltivazione del frumento, nel contesto dei cambiamenti climatici, risulta necessario comprendere a fondo le interazioni e i legami tra tecniche agronomiche a ridotto impatto ambientale e caratteristiche varietali vantaggiose.

Per queste ragioni, risulta strategicamente importante la scelta e l'individuazione di genotipi con elevate capacità di adattamento alle condizioni locali e caratteristiche intrinseche di miglior competitività verso le avversità biotiche ed abiotiche.

Lo scopo generale di questo lavoro è caratterizzare ed individuare i criteri e il materiale genetico più adeguato e adatto per realizzare una coltivazione a ridotto impatto ambientale del frumento tenero.

Una sperimentazione, realizzata in tre annate agrarie presso un'azienda agricola biologica ha permesso di caratterizzare 24 accessioni di frumento tenero. I rilievi effettuati hanno riguardato sia la componente agronomica, che quella nutrizionale e nutraceutica.

Alcune accessioni hanno mostrato ottime performance agronomiche. Tra le varietà caratterizzate da una maggiore stabilità produttiva, Piave, Canove, Bianco Nostrale o Guà 113 hanno mostrato range di oscillazione estremamente ridotti. Tra queste, Guà 113 ha mostrato un'ottima stabilità anche dal punto di vista del contenuto proteico, mentre una maggiore stabilità per i composti funzionali è stata osservata per le accessioni Sieve, Carosello e Canove.

Un secondo studio ha avuto come scopo quello di caratterizzare e descrivere, sul piano nutrizionale ed agronomico, diversi genotipi e popolazioni evolutive di frumento, osservando come essi siano influenzati dall'ambiente di coltivazione e dall'andamento meteorologico delle diverse annate agrarie. Nel corso della sperimentazione, alcuni genotipi, quali ad esempio Andriolo, Verna e Frassineto, in particolari condizioni pedoclimatiche favorevoli hanno raggiunto valori produttivi estremamente elevati (> 5 t/ha), mentre in altri contesti, più limitanti, hanno registrato valori decisamente inferiori (circa 2 t/ha). Al contrario, le popolazioni Bioadapt originale e Bioadapt evolutivo si sono dimostrate generalmente stabili, in termini di risultati conseguiti, mostrando oscillazioni contenute negli anni.

La terza ricerca ha riguardato invece aspetti della fisiologia del frumento tenero, al fine di studiare una caratteristica delle piante con particolare rilevanza e possibili importanti implicazioni, nella coltivazione sostenibile del frumento tenero.

L'obiettivo è stato quello di individuare le varietà di frumento tenero con una maggiore attività allelopatica potenziale, attraverso l'analisi della crescita radicale iniziale della pianta di frumento e delle piante infestanti circostanti. Sono state selezionate e messe a confronto 30 cultivar di frumento tenero, mentre come specie infestante "modello" è stata scelta il loietto perenne (*Lolium perenne L.*).

Le evidenze raccolte mostrano come il fenomeno chimico allelopatico sia complesso e ancora da approfondire. I fattori genotipo di frumento, numero di piante di grano e numero di piante di loietto, così come le loro interazioni, sono risultate significative, mettendo in luce come il fenomeno allelopatico non sia semplicemente una risposta dose-dipendente rispetto alle molecole emesse nel substrato di coltura.

Complessivamente, i risultati ottenuti confermano l'importanza che la scelta varietale può esercitare nel migliorare i risultati produttivi e qualitativi del frumento tenero, per ottimizzare sistemi agricoli sostenibili e resilienti. Le caratterizzazioni delle risorse varietali realizzate nel presente studio non solo forniscono elementi validi per la valorizzazione di differenti accessioni, ma rappresentano una valida base per l'impostazione di futuri programmi di miglioramento genetico, per l'ottenimento di genotipi con caratteristiche agronomiche, qualitative e fisiologiche idonee a sistemi produttivi a ridotto impiego di input e con un'elevata stabilità, a fronte di mutevoli condizioni ambientali.

INDICE

ABSTRACT **0**

1 INTRODUZIONE **1**

1.1 MODELLI AGRONOMICI SOSTENIBILI E RESILIENTI: SOLO UNA MODA O UNA NECESSITÀ? **1**

1.2 STRUMENTI PER IMPLEMENTARE LA SOSTENIBILITÀ DELLE PRODUZIONI AGRICOLE **3**

1.3 IL FRUMENTO IN SISTEMI AGRONOMICI A RIDOTTO IMPATTO AMBIENTALE E RESILIENTI **4**

1.4 BIBLIOGRAFIA **6**

2 SCOPO DELLA TESI **9**

3 ESPLORAZIONE AGRONOMICA DELLA BIODIVERSITÀ DEL FRUMENTO TENERO **11**

3.1 INTRODUZIONE **11**

3.1.1 IL RUOLO PRIMARIO DEL FRUMENTO TENERO PER UNA PRODUZIONE ALIMENTARE SOSTENIBILE ***11***

3.2 SCOPO **13**

3.3 MATERIALI E METODI **14**

3.3.1 MATERIALE GENETICO ***14***

3.3.2 LUOGO E CONDIZIONI DI COLTIVAZIONE ***14***

3.3.3 RESA E PARAMETRI AGRONOMICI ***16***

3.3.4 QUALITÀ TECNOLOGICA ***17***

3.3.5 ASPETTI FITOSANITARI ***17***

3.3.6 QUALITÀ NUTRIZIONALE E NUTRACEUTICA ***17***

3.3.7 ANALISI STATISTICA ***18***

3.4 RISULTATI **19**

3.4.1 DATI METEOROLOGICI E CARATTERISTICHE DEL SUOLO ***19***

3.4.2 RESA E RELATIVI PARAMETRI AGRONOMICI ***21***

3.4.3 PARAMETRI TECNOLOGICI, ASPETTI FITOSANITARI E CARATTERISTICHE FUNZIONALI ***23***

3.4.4 GGE BIPLOT: PERFORMANCE MEDIE E STABILITÀ ***25***

3.5 DISCUSSIONE **31**

3.6 CONCLUSIONI **34**

3.7 BIBLIOGRAFIA **35**

4 POPOLAZIONI EVOLUTIVE: UNA SOLUZIONE PER L'ADATTAMENTO DEL FRUMENTO TENERO A DIVERSI CONTESTI AMBIENTALI 41

4.1 INTRODUZIONE 41

4.1.1 MODELLI DI AGRICOLTURA A RIDOTTO IMPATTO AMBIENTALE: OPPORTUNITÀ E CRITICITÀ 41

4.1.2 VARIETÀ LOCALI E RIVOLUZIONE VERDE 43

4.1.3 MIGLIORAMENTO GENETICO EVOLUTIVO 44

4.2 SCOPO 45

4.3 MATERIALI E METODI 46

4.3.1 PROVE DI CAMPO 46

4.3.2 GERMOPLASMA COLTIVATO NELLA PROVA 48

4.3.3 SCHEMA SPERIMENTALI E RILIEVI AGRONOMICI 49

4.3.4 ANALISI DEI MACRO-NUTRIENTI E DEI COMPOSTI FUNZIONALI . 51

4.3.5 ELABORAZIONI STATISTICHE DEI DATI 56

4.4 RISULTATI 57

4.4.1 DATI PEDO-CLIMATICI 57

4.4.2 RISULTATI AGRONOMICI E PRODUTTIVI 64

4.4.3 STRESS BIOTICI 68

4.4.4 CARATTERIZZAZIONE NUTRIZIONALE E NUTRACEUTICA 69

4.5 DISCUSSIONE 74

4.5.1 RISULTATI PRODUTTIVI E CARATTERI MORFOLOGICI 74

4.5.2 STRESS BIOTICI 77

4.5.3 PARAMETRI NUTRIZIONALI 78

4.5.4 CARATTERISITCHE NUTRACEUTICHE E ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE DELLE FARINE 81

4.6 CONCLUSIONI 84

4.7 BIBLIOGRAFIA 86

5 POTENZIALE ALLELOPATICO DEL FRUMENTO: UN MECCANISMO FISIOLOGICO CON UN IMPATTO AGRONOMICO 93

5.1 INTRODUZIONE 93

5.1.1 FRUMENTO TENERO: TRADIZIONE E PRODUZIONE 93

5.1.2 CRITICITÀ NELLA GESTIONE DELLA FLORA INFESTANTE 94

5.1.3 ALLELOPATIA 97

5.2 SCOPO 101

5.3 MATERIALI E METODI 102

5.3.1 MATERIALE VEGETALE DI PARTENZA 102
5.3.2 ATTIVITÀ PRELIMINARI 103
5.3.3 VALUTAZIONE DEL POTENZIALE ALLELOPATICO 105
5.3.4 ANALISI STATISTICA 108
5.4 RISULTATI.....109
5.4.1 PROVA PRELIMINARE 109
5.4.2 CRESCITA RADICALE INIZIALE DEL LOIETTO E ATTIVITÀ ALLELOPATICA POTENZIALE DEL FRUMENTO.....109
5.4.3 CRESCITA RADICALE DEL FRUMENTO: ALLELOPATIA E AUTOTOSSICITÀ 111
5.5 DISCUSSIONE.....114
5.5.1 POTENZIALE ALLELOPATICO DEL FRUMENTO VERSO IL LOIETTO 114
5.5.2 AUTOTOSSICITÀ E POTENZIALE DI CRESCITA INIZIALE DEL FRUMENTO 118
5.5.3 VALUTAZIONE COMPLESSIVA DELLA COMPETITIVITÀ DEL FRUMENTO 123
5.6 CONCLUSIONI 127
5.7 BIBLIOGRAFIA.....128
6 CONCLUSIONI 135

1 INTRODUZIONE

1.1 MODELLI AGRONOMICI SOSTENIBILI E RESILIENTI: SOLO UNA MODA O UNA NECESSITÀ?

A partire dal XVIII secolo le attività dell'uomo determinanti lo sviluppo economico-industriale hanno iniziato a modificare la composizione dell'atmosfera, contribuendo a influenzare il clima globale e determinando cambiamenti più rapidi di quelli osservati in passato (IPCC, 2014). Questo si è poi riflesso nei cambiamenti climatici che nell'ultimo decennio stanno manifestando i loro importanti impatti, specialmente sulle attività agricole, che subiscono più di altri settori economici gli impatti di eventi meteorologici estremi, sempre più frequenti (IPCC, 2014).

L'agricoltura e il cambiamento climatico si caratterizzano per una complessa relazione di causa-effetto.

Il settore agricolo è responsabile del 13% delle emissioni globali di gas ad effetto serra (GHGs); tale valore, aumenterebbe ulteriormente se venissero prese in considerazione la deforestazione e le fasi di trasformazione della filiera agro-alimentare (Kasterine e Vanzetti, 2010).

Il profilo di emissione di gas serra del settore primario è profondamente diverso da quello degli altri settori (settore industriale o dei trasporti); esso è infatti principalmente responsabile delle emissioni di protossido di azoto (N_2O) e metano (CH_4).

In aggiunta, il settore agricolo è co-responsabile anche dell'inquinamento delle acque, causato fondamentalmente dall'utilizzo dei prodotti fitosanitari.

Stando al "*Rapporto Nazionale dei Pesticidi delle Acque 2017-2018"* (Edizione 2020) elaborato da ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale), il 21% delle acque superficiali e il 5,2% delle acque sotterranee campionate, si caratterizzano per concentrazioni di sostanze attive impiegate in agricoltura superiori ai limiti di legge (ISPRA, 2020).

Da questo possiamo comprendere gli impatti che pratiche agricole non virtuose o non tecnologicamente avanzate causano sull'ambiente e sugli agro-ecosistemi (Figura 1-A).

Nel tempo, tali attività hanno generato un impatto ecologico negativo che ha compromesso la qualità dell'atmosfera, dei corpi idrici, della biodiversità e della fertilità del suolo.

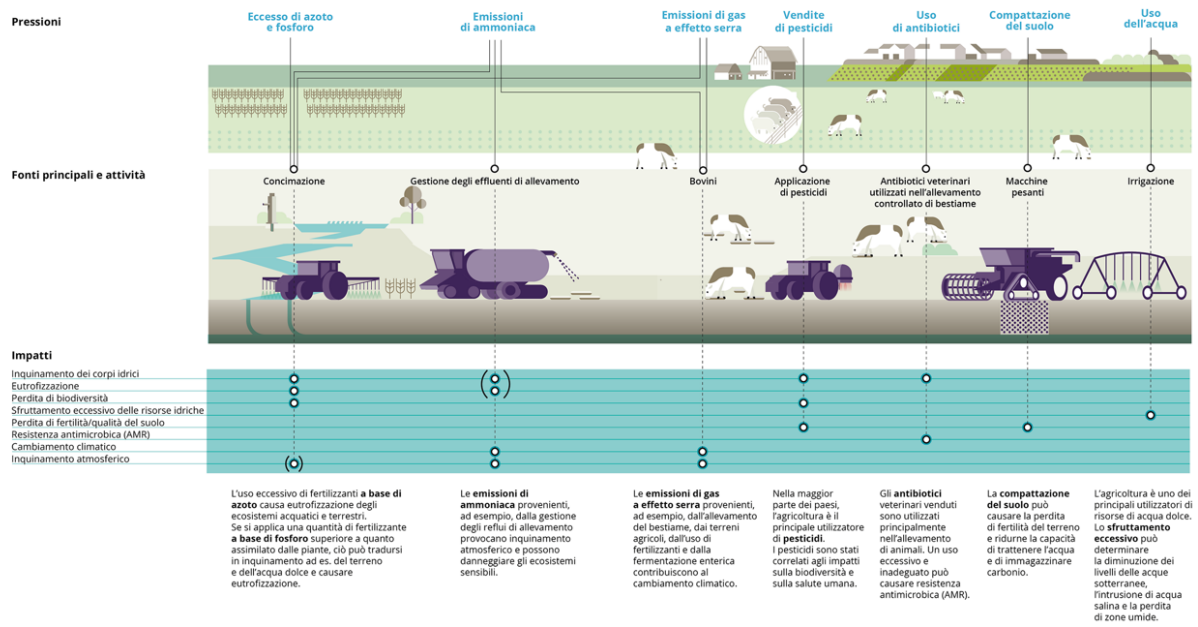


Figura 1-A: Inquinamento e altri impatti dell'agricoltura sull'ambiente. Fonte immagine: Agenzia europea per l'ambiente - https://www.eea.europa.eu/it/

A fronte di queste criticità, l'attenzione dell'opinione pubblica verso le tematiche ambientali e le difficoltà tecnico-economiche nella gestione di diverse problematiche agronomiche (fitosanitarie, produttive, ecc.) ha determinato una crescente attenzione verso gli impatti ambientali delle attività produttive da parte degli attori del settore agro-alimentare. È interessante osservare che a tale dinamica, è associato ad esempio un importante aumento della superficie agricola gestita in modo biologico.

Tale incremento è influenzato da molteplici fattori: socio-economici, etici e politica (ad es. Politica Agricola Comunitaria e Nazionale).

Le Politiche Comunitarie Europee negli ultimi anni hanno incentivato un'agricoltura più ecosostenibile; *PAC* e la *Direttiva Uso Sostenibile dei Prodotti Fitosanitari* hanno promosso l'adozione di pratiche virtuose, a minor rischio per la salute umana e l'ambiente. Negli ultimi 10 anni in Europa la superfice destinata al settore biologico è aumentata del 66%, riguardando 13,8 milioni di ettari (nel 2019), pari al 8,5% della SAU totale europea (Eurostat, 2020), con un valore delle vendite al dettaglio più che raddoppiato.

Per affrontare le sfide climatiche e ambientali, l'Unione Europea nel dicembre 2019 ha varato il *Green Deal*, una serie di iniziative politiche con l'obiettivo di ridurre le emissioni nette di gas ad effetto serra di almeno il 55% entro il 2030 rispetto ai livelli del 1990 (EU Commission, 2020).

In agricoltura, il *Green Deal* si concretizza attraverso la *"Farm to Fork Strategy"*, strategia che ha l'obiettivo, entro il 2030, di incrementare del +25% i terreni convertiti al sistema biologico, ridurre del -50% l'utilizzo dei prodotti fitosanitari pericolosi e ridurre del -50% l'utilizzo dei fertilizzanti (EU Commission, 2020).

1.2 STRUMENTI PER IMPLEMENTARE LA SOSTENIBILITÀ DELLE PRODUZIONI AGRICOLE

Nel settore primario, i sistemi agro-alimentari industriali, partendo dalla produzione alla trasformazione, considerando anche il consumo, la perdita e gli sprechi di prodotti, contribuiscono in modo importante al cambiamento climatico (Vermeulen *et al.*, 2012). Senza necessariamente distinguere sistemi produttivi differenti (sistemi biologici, integrati, …), migliorare la sostenibilità dei sistemi produttivi agricoli risulta di cruciale importanza, per garantire una continuità e una redditività futura alle attività di produzione agro-alimentare. Come evidenziato da Springmann *et al.* (2018), molte sfide del 21esimo secolo sono interconnesse tra loro e al cambiamento climatico; in particolare, l'agricoltura industriale è uno dei settori che contribuisce maggiormente ai mutamenti climatici, ma allo stesso tempo ne subisce anche fortemente gli impatti.

Tra i maggiori impatti sul settore produttivo agricolo, vi è la riduzione della resilienza dei sistemi colturali, evidenziata per il frumento da un recente studio (Kahiluoto et al., 2019).

Al fine di ridurre gli effetti negativi sull'ambiente del sistema agro-alimentare, sono necessarie strategie che includono: orientamento delle diete verso prodotti più salutari e con una riduzione degli alimenti di origine animale, miglioramento delle tecnologie e della gestione dei processi produttivi, riduzioni degli sprechi alimentari (Springmann *et al.,* 2018).

In ambito agricolo, vi sono diverse strategie da adottare, in modo sinergico, per mitigare gli impatti del cambiamento climatico e contestualmente adattarsi ad essi, tra cui:

- Riduzione e utilizzo razionale dei prodotti chimici di sintesi (fertilizzanti, diserbanti, insetticidi e anticrittogamici)
- Adozione di pratiche agronomiche che preservino la sostanza organica nel terreno e la sua fertilità biologica
- Coltivazione di specie e/o varietà resistenti o tolleranti agli stress e con un'elevata adattabilità all'ambiente di coltivazione

- Conservazione delle infrastrutture ecologiche nell'agroecosistema per tutelare la biodiversità funzionale dell'ambiente di coltivazione

Tra i diversi sistemi di coltivazione, l'agricoltura biologica è un esempio di un sistema di gestione agronomica ed ecologica che mira a incrementare e migliorare l'interazione tra le pratiche agronomiche, la biodiversità e la salvaguardia delle risorse naturali (Reg CE 848/2018). In aggiunta, modelli agricoli basati su pilastri similari a quelli dell'agricoltura biologica possono ridurre l'inquinamento dovuto all'uso di fertilizzanti di sintesi e di fitofarmaci (Muller *et al.*, 2017; Tuomisto *et al.*, 2012; Pimentel *et al.*, 2005).

1.3 IL FRUMENTO IN SISTEMI AGRONOMICI A RIDOTTO IMPATTO AMBIENTALE E RESILIENTI

I cereali hanno un ruolo di primaria importanza nei sistemi agricoli e ancora maggiore in quelli a ridotto impiego di input, per le loro caratteristiche botaniche e per le pratiche agronomiche che richiedono nella coltivazione. La struttura dell'apparato radicale e l'abbondanza di residui colturali ricchi di carbonio, tipica dei cereali, possono contribuire all'accumulo di sostanza organica nel terreno. Per quanto concerne la coltivazione del frumento tenero, le misure descritte nel precedente paragrafo risultano strategiche per raggiungere una sostenibilità complessiva della sua produzione.

La realizzazione di rotazioni colturali e minime lavorazioni, il miglioramento della fertilità biologica e della sostanza organica (ottenibile, ad esempio, con sovesci o l'impianto di *cover crops*), insieme alle caratteristiche morfo-fisiologiche tipiche del frumento, contribuiscono, ad esempio, alla riduzione della pressione delle specie infestanti nei campi (Hofmeijer *et al.*, 2019; Kadziene *et al.*, 2020; Tautges *et al.*, 2017), la principale criticità nella coltivazione del frumento.

Nell'intento di ridurre l'impiego di prodotti fitosanitari ed aumentare la resilienza della coltivazione del frumento nel contesto dei cambiamenti climatici, risulta necessario comprendere a fondo le interazioni e i legami tra tecniche agronomiche a ridotto impatto ambientale e caratteristiche varietali vantaggiose in un contesto di riduzione nell'uso di mezzi tecnici (van der Meulen e Chauhan, 2017).

Per queste ragioni, risulta strategicamente importante la scelta e l'individuazione di genotipi con elevate capacità di adattamento alle condizioni locali e caratteristiche intrinseche di miglior competitività verso le avversità biotiche ed abiotiche.

Solo con l'integrazione di tutti questi aspetti sarà possibile sviluppare un sistema di gestione sostenibile del frumento che:

- rispetti i sistemi e i cicli naturali e preservi la fertilità dei suoli,
- contribuisca a un alto livello di diversità biologica negli agro-ecosistemi,
- assicuri un impiego responsabile dell'energia e delle risorse naturali,
- miri a ottenere prodotti di alta qualità,
- produca un'ampia varietà di alimenti e altri prodotti agricoli che rispondano alla domanda dei consumatori di prodotti ottenuti con procedimenti che non danneggino l'ambiente, la salute umana, la salute dei vegetali o la salute e il benessere degli animali.

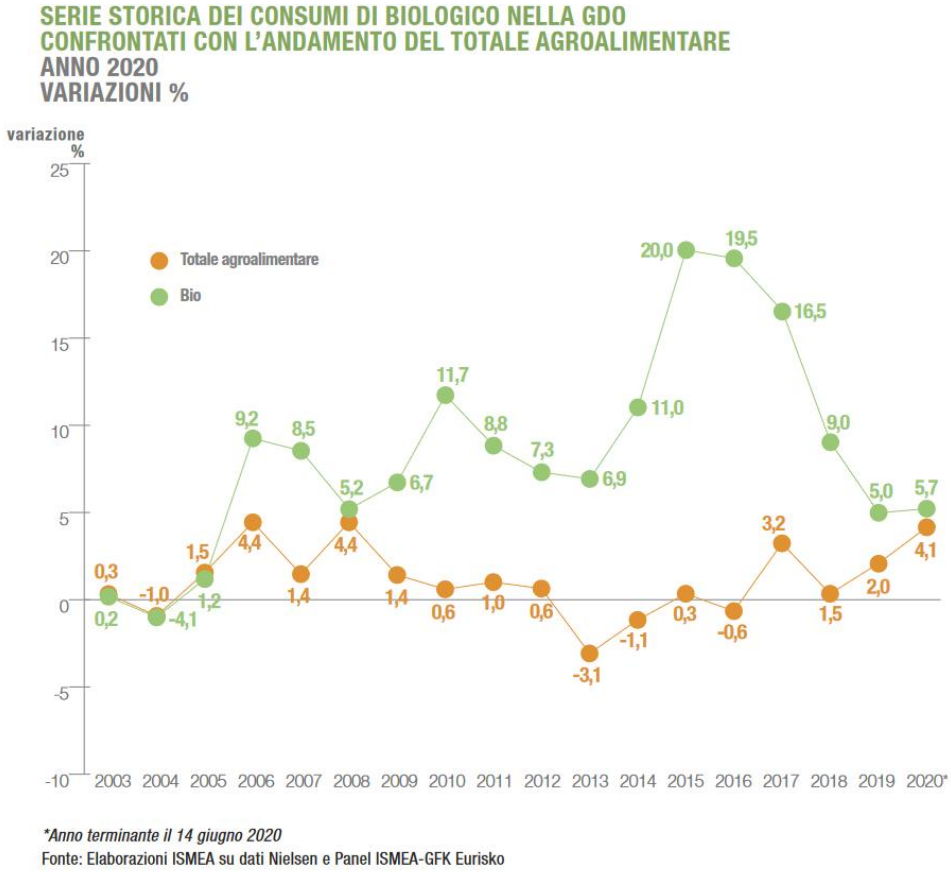


Figura 1-B: Andamento dei consumi di prodotti biologici in Italia nella Grande Distribuzione Organizzata nel 2020. Fonte immagine: Sistema d'informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica (SINAB) - http://www.sinab.it/

La domanda di prodotti alimentari, anche derivati del frumento, sempre più orientata verso la maggiore sostenibilità ambientale e il minor contenuto in sostanze dannose per la salute, risulta in continua crescita (Figura 1-B). A fronte di questo però, rimangono ancora sfide importanti da superare, per migliorare la sostenibilità ambientale ed economica della produzione di frumento tenero. Per il frumento, la differenza di resa produttiva tra un sistema come quello biologico e quello convenzionale risulta ancora significativa e alta, rispetto soprattutto ad altre colture (Ponisio *et al.*, 2015; Seufert *et al.*, 2012; Wilbois e Schmidt, 2019).

Tra le criticità da superare, l'impiego di varietà di frumento non adattate adeguatamente ai sistemi a ridotto impiego di input o a sistemi biologici potrebbe ridurre il potenziale produttivo della coltura, quando le condizioni di coltivazione sono differenti dalle condizioni in cui è stata effettuata la selezione varietale.

1.4 BIBLIOGRAFIA

European Commission, 2020. Farm to Fork strategy for a fair, healthy and environmentally friendly food system, https://ec.europa.eu/food/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en

Eurostat, 2020. Organic farming statistics: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Organic_farming_statistics

Hofmeijer, M.A.J., Krauss, M., Berner, A., Peigné, J., Mäder, P., Armengot, L., 2019. Effects of reduced tillage on weed pressure, nitrogen availability and winter wheat yields under organic management. Agronomy 9. https://doi.org/10.3390/agronomy9040180

IPCC, 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland

ISPRA, 2020. Rapporto Nazionale dei Pesticidi delle Acque 2017-2018 (Edizione 2020), ISPRA, Rapporti 334/2020, pubblicazione scaricabile presso https://www.isprambiente.gov.it/it/pubblicazioni/rapporti/rapporto-nazionale-pesticidi-nelle-acque-dati-2017-2018

Kadziene, G., Suproniene, S., Auskalniene, O., Pranaitiene, S., Svegzda, P., Versuliene, A., Ceseviciene, J., Janusauskaite, D., Feiza, V., 2020. Tillage and cover crop influence on weed pressure and Fusarium infection in spring cereals. Crop Protection 127. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104966

Kahiluoto, H., Kaseva, J., Balek, J., Olesen, J.E., Ruiz-Ramos, M., Gobin, A., Kersebaum, K.C., Takáč, J., Ruget, F., Ferrise, R., Bezak, P., Capellades, G., Dibari, C., Mäkinen, H., Nendel, C., Ventrella, D., Rodríguez, A., Bindi, M., Trnka, M., 2019. Decline in climate resilience of european wheat. Proceedings of the National Academy

of Sciences of the United States of America 116, 123–128. https://doi.org/10.1073/pnas.1804387115

Kasterine, A., Vanzetti, D., n.d. The Effectiveness, Efficiency and Equity of Market-based and Voluntary Measures to Mitigate Greenhouse Gas Emissions from the Agri-food Sector 1.

Muller, A., Schader, C., El-Hage Scialabba, N., Brüggemann, J., Isensee, A., Erb, K.H., Smith, P., Klocke, P., Leiber, F., Stolze, M., Niggli, U., 2017. Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture. Nature Communications 8. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01410-w

Pimentel, D., Hepperly, P., Hanson, J., Douds, D., Seidel, R., 2005. Environmental, energetic, and economic comparisons of organic and conventional farming systems. BioScience 55 (7), 573–82.

Ponisio, L.C., M'gonigle, L.K., Mace, K.C., Palomino, J., Valpine, P. de, Kremen, C., 2015. Diversification practices reduce organic to conventional yield gap. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 282. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1396

Regolamento (CE) n. 2018/848, 2018. Norme relative alla produzione biologica e l'etichettatura dei prodotti biologici

Seufert, V., Ramankutty, N., Foley, J.A., 2012. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. Nature. https://doi.org/10.1038/nature11069

Springmann, M., Clark, M., Mason-D'Croz, D., Wiebe, K., Bodirsky, B.L., Lassaletta, L., et al., 2018. Options for keeping the food system within environmental limits. Nature 562, 519–525. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0594-0

Tautges, N.E., Burke, I.C., Borrelli, K., Fuerst, E.P., 2017. Competitive ability of rotational crops with weeds in dryland organic wheat production systems. Renewable Agriculture and Food Systems 32, 57–68. https://doi.org/10.1017/S1742170516000028

Tuomisto, H.L., Hodge, I.D., Riordan, P., Macdonald, D.W., 2012. Does organic farming reduce environmental impacts? - A meta-analysis of European research. Journal of Environmental Management 112, 309–320. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.08.018

Van der Meulen, A., Chauhan, B.S., 2017. A review of weed management in wheat using crop competition. Crop Protection 95, 38–44. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.004

Vermeulen, S.J., Campbell, B.M., Ingram, J.S.I., 2012. Climate change and food systems. Annual Review of Environment and Resources. https://doi.org/10.1146/annurev-environ-020411-130608

Wilbois, K.P., Schmidt, J.E., 2019. Reframing the debate surrounding the yield gap between organic and conventional farming. Agronomy. https://doi.org/10.3390/agronomy9020082

2 SCOPO DELLA TESI

A fronte delle criticità evidenziate, lo scopo generale di questo elaborato di tesi è caratterizzare ed individuare i criteri e il materiale genetico più adeguato e adatto per realizzare una coltivazione a ridotto impatto ambientale del frumento tenero e che renda sostenibile, dal punto di vista economico e ambientale, la coltivazione di questo cereale. Al fine di valorizzare aspetti di elevato interesse per i consumatori e considerare i potenziali effetti del cambiamento climatico sulla coltura del frumento tenero, le ricerche condotte si sono orientate verso diverse tematiche di studio.

Una ricerca si pone l'obiettivo di individuare i genotipi di frumento tenero più adatti a sistemi agronomici che prevedano un ridotto impiego di input, garantendo rese produttive e qualitative soddisfacenti, caratteristiche nutrizionali e salutistiche migliori, stabilità delle produzioni in un contesto climatico mutevole.

La caratterizzazione varietale può fornire indicazioni molto utili nella scelta varietale da parte degli agricoltori del materiale già disponibile, ma può anche fornire informazioni preziose, per orientare programmi di miglioramento genetico che abbiano come fine ultimo, l'ottenimento di materiale genetico con spiccate caratteristiche di resilienza e adattabilità a contesti ambientali differenti, mutevoli e a modelli agronomici che minimizzano e ottimizzano l'uso di mezzi tecnici di sintesi.

Un ulteriore lavoro, per questo, è stato svolto al fine di studiare l'efficacia e la funzionalità di una particolare metodologia di miglioramento genetico che, nel caso di frumento tenero, potrebbe essere una soluzione per migliorare la resilienza e la sostenibilità della coltivazione di questo cereale. Lo sviluppo di una popolazione evolutiva di frumento e la quantificazione della sua reale capacità produttiva (in termini quantitativi e qualitativi) e di adattamento a contesti ambientali differenti potrebbe supportare la diffusione di un'innovazione "a basso costo", con importanti riflessi sulla sostenibilità delle coltivazioni e l'aumento della resilienza degli agro-ecosistemi, soprattutto in aree agricole marginali o poco favorevoli.

Essendoci importanti relazioni tra il comportamento agronomico di ogni singola varietà di frumento e le caratteristiche morfo-fisiologiche intrinseche del singolo genotipo, al fine di comprendere meglio un meccanismo fisiologico naturale di competizione delle specie vegetali, è stato realizzato uno studio, in ambiente controllato, per individuare il potenziale allelopatico di un gruppo di genotipi di frumento tenero, tra quelli principalmente coltivati attualmente ed in passato in Italia. L'individuazione di genotipi

con un maggior o minor potenziale allelopatico e la possibilità di monitorare questo carattere con un modello relativamente semplificato potrebbero risultare delle strategie vincenti e con implicazioni agronomiche molto importanti. Sfruttando la capacità intrinseca di un genotipo di rispondere alla presenza di erbe infestanti, sarà potenzialmente possibile ridurre l'impatto ambientale per contrastare una delle principali criticità biotiche nella coltivazione del frumento tenero.

3 ESPLORAZIONE AGRONOMICA DELLA BIODIVERSITÀ DEL FRUMENTO TENERO

3.1 INTRODUZIONE

3.1.1 IL RUOLO PRIMARIO DEL FRUMENTO TENERO PER UNA PRODUZIONE ALIMENTARE SOSTENIBILE

Circa il 90-95% della produzione mondiale di grano consiste in grano tenero (Triticum aestivum L. 2n = 42, esaploide, genoma AABBDD), rappresentando una delle principali colture per la sicurezza alimentare globale (Giraldo et al., 2019). Tuttavia, garantire la sicurezza alimentare globale, tutelando al contempo l'ambiente, i terreni non agricoli e la biodiversità, è considerata la più grande sfida scientifica che l'umanità sta affrontando (Cassman, 2012). La sicurezza alimentare è anche intrinsicamente legata al cambiamento climatico, che si è dimostrato responsabile di circa il 32-39% della variabilità nella resa annua della produzione globale di grano, per lo più coltivato in assenza di irrigazione e del 31-51% della variabilità delle rese in Europa occidentale (Ray et al., 2015). Nel contesto europeo, il grande divario genetico per la resa del grano europeo (Senapati and Semenov, 2020), il declino nella resilienza climatica del grano europeo (Kahiluoto et al., 2019)insieme ai futuri cambiamenti climatici previsti (Hristov et al., 2020) sono forti indicatori delle sfide che la coltivazione del grano deve affrontare. Più specificamente, il clima mediterraneo è caratterizzato da una distribuzione ridotta e irregolare delle precipitazioni ed insieme all'aumento delle temperature attorno alla fine del ciclo colturale, tende a determinare condizioni che possono compromettere la stabilità della resa (Carranza-Gallego et al., 2019; de Lima et al., 2021). Non sorprende, perciò, che le rese di grano, influenzate dai cambiamenti climatici, possano diminuire fino al 49% entro il 2050 nell'Europa meridionale (Hristov et al., 2020), evidenziando l'insufficiente sviluppo di programmi di miglioramento genetico del grano e la scarsa selezione di cultivar adatte a fronteggiare l'incertezza e la variabilità climatica (Kahiluoto et al., 2019). Attualmente, nonostante sia la coltura più coltivata al mondo, gli investimenti nella ricerca sul grano sono ridotti, rispetto a quelli per altre colture (Reynolds et al., 2021).

I moderni sistemi monocolturali, a causa della loro omogeneità ecologica, sono particolarmente vulnerabili ai cambiamenti climatici e agli stress biotici, una condizione che costituisce anche un grave rischio per la sicurezza alimentare (Altieri et al., 2015; Wolfe et al., 2008). Dal momento che le variazioni ambientali (clima, bassi o variabili

livelli di fertilità del suolo) e i fattori di stress (malattie) non possono essere mitigati da input sintetici nell'agricoltura sostenibile e biologica, questi ultimi rappresentano dei sistemi ideali per valutare la diversità genetica delle colture di grano per la resilienza a variazioni ambientali (Wolfe et al., 2008; Bellon e van Etten, 2014; Altieri et al., 2015). Da una valutazione bibliometrica di documenti scientifici (2000-2018), è stata evidenziata la grande importanza del grano per la sostenibilità negli agroecosistemi (Giraldo et al., 2019). A tal fine, vi è stato un crescente interesse nella conservazione delle varietà di grano autoctone in reali condizioni di campo, rappresentando ecotipi addomesticati, tradizionali, regionali, adattati localmente ai rispettivi ambienti agricoli naturali e culturali. Le recenti ricerche sul grano tenero hanno sottolineato il ruolo delle varietà autoctone e delle varietà di antica costituzione, individualmente o mescolate in popolazioni, come risorse genetiche nel miglioramento della sostenibilità negli agroecosistemi mediterranei in assenza di irrigazione (Bellon e van Etten, 2014; Bocci et al., 2020; Carranza-Gallego et al., 2019; Ghiselli et al., 2016; Koutis et al., 2012; Migliorini et al., 2016). In Italia, il grano tenero, che costituisce il 40% della produzione totale di grano, sta affrontando attualmente un trend negativo del -5,43% della produzione (AGRI-Food Data Portal, 2021). Nel contesto della coltivazione del grano tenero in Italia, gli agroecosistemi sostenibili si confrontano con una scelta limitata di varietà adattate a tali sistemi (Bocci et al., 2020; Migliorini et al., 2016). Di conseguenza, la ricerca di genotipi di grano tenero più adattabili alle variazioni ambientali e con elevata stabilità di performance rimane un obiettivo importante (Bocci et al., 2020; Migliorini et al., 2016).

Anche se la resa potenziale rimane un criterio di selezione dominante (Kahiluoto et al., 2019; Senapati and Semenov, 2020), tra i criteri fondamentali vi è anche la valutazione della resilienza delle colture come un importante parametro, insieme alla resa (Kahiluoto et al., 2019), così come la caratterizzazione delle proprietà funzionali e tecnologiche (Bocci et al., 2020; Carranza-Gallego et al., 2019; Ghiselli et al., 2016; Migliorini et al., 2016). Questo viene sottolineato anche nel nuovo regolamento del settore biologico UE 848/2018, che richiede cultivar adatte all'agricoltura biologica, con i seguenti attributi: maggiore diversità genetica, resistenza o tolleranza alle malattie, potenziale adattativo alle diverse condizioni pedoclimatiche locali e capacità di produrre alimenti di alta qualità. Comprendere le relazioni tra il genotipo (G) e le caratteristiche di un ambiente specifico (E), così come l'interazione tra i due fattori (GE), è la chiave per migliorare le performance derivanti dal solo potenziale genetico

(Altieri et al., 2015). In particolare, la stabilità di un genotipo rivela la sua costanza nelle prestazioni (resilienza) in ambienti differenti e/o mutevoli, per caratteri economicamente importanti come la resa e la qualità del grano, ed è di particolare l'importanza in ambienti in cui le condizioni variano periodicamente (Muhammad and Mohammad, 2018).

Tradizionalmente, i dati provenienti dalle prove di valutazione varietale o di coltivazione sono elaborati utilizzando l'analisi della varianza (ANOVA), seguita da altre elaborazioni statistiche come l'analisi delle componenti principali (PCA); diversamente, per poter distinguere le cultivar che esprimono una performance complessivamente migliore e stabilità in diversi ambienti di coltivazione o all'interno dello stesso specifico ambiente, il modello G + G x E (GGE Biplot), sviluppato da (Yan et al., 2000), ha dimostrato di essere uno strumento efficace nella valutazione complessiva delle performance (Bocci et al., 2021). A seconda della complessità dei dati, il GGE Biplot potrebbe essere usato per l'analisi dell'effetto dell'ambiente (modello "which-won-where", in base al quale i genotipi specifici possono essere raccomandabili a specifici mega-ambienti), per la valutazione del genotipo (modello "prestazioni e stabilità media") e per la valutazione test-ambiente (Ding et al., 2008). L'analisi biplot GGE è risultata adatta per la selezione di varietà locali di grano tenero stabili, in regime di coltivazione biologico, nei paesi mediterranei (Bocci et al., 2020; Koutis et al., 2012; Migliorini et al., 2016), prospettando un utilizzo più diffuso di tale strumento, per la valutazione delle prestazioni e della stabilità del grano tenero in agroecosistemi sostenibili.

3.2 SCOPO

Tenendo in considerazione il requisito principale per la ricerca di genotipi di grano tenero adattati alle mutevoli condizioni ambientali, con resa e parametri di qualità stabili, il presente studio è finalizzato alla valutazione di 24 genotipi di grano tenero (impiegando anche lo strumento GGE biplot per evidenziare le performance medie e la stabilità), in una azienda agricola biologica situata in provincia di Bologna (Emilia-Romagna, Italia), nell'arco di più anni, per comprendere meglio le variazioni stagionali per le variabili monitorate. Poiché il settore biologico ha una scelta limitata di varietà specificamente adattate ad esso, sono state valutate diverse tipologie di selezioni varietali: varietà locali o ecotipi, cultivar di antica costituzione (pre *Rivoluzione Verde*) e cultivar moderne (tra le maggiormente impiegate attualmente in Italia in agricoltura

biologica). Tutti i genotipi sono stati valutati per la resa, nonché per parametri tecnologici, nutrizionali e nutraceutici e anche fitosanitari.

3.3 MATERIALI E METODI

3.3.1 MATERIALE GENETICO

Il materiale genetico selezionato per la prova comprende otto varietà (ecotipi locali: Andriolo, Benco, Bianco nostrale, Canove, Gentil rosso, Gentil bianco, Gamba di Ferro e Piave), di cui per gran parte non si conoscono le origini della loro selezione, diffuse nelle province di Toscana, Emilia-Romagna e Veneto tra la metà del 1800 e l'inizio del 1900 (Tabella 3-A). Usando le varietà locali come progenitori, furono sviluppate le cultivar di antica costituzione (rilasciate prima del 1950) e, a loro volta, utilizzate come varietà parentali per la produzione di ulteriori acessioni. Le otto varietà di antica costituzione (selezionate nel periodo compreso tra il 1920 e il 1950) includono Abbondanza, Autonomia A, Fiorello, Frassinetto, Guà113, Inallettabile, Mentana e Verna (Tabella 3-A). Le otto varietà moderne selezionate comprendono una gamma di genotipi, appartenenti a diverse classi di qualità, secondo la classificazione delle farine adottata in Italia, determinate dall'Indice sintetico di qualità (Borasio, 1997). Le varietà moderne comprendono: frumenti panificabili ([FP] comprendenti Aquilante, Bilancia, Bolero e Palesio), frumenti panificabili superiori ([FPS] - Blasco) e frumenti di forza ([FF] - Bologna, Rebelde e Sagittario) (Tabella 3-A). Le informazioni relative alla registrazione varietale (Assosementi, 2021) e sul contesto storico di selezione dei singoli genotipi sono state raccolte da fonti riportate in calce alla Tabella 3-A.

3.3.2 LUOGO E CONDIZIONI DI COLTIVAZIONE

La coltivazione delle cultivar analizzate è stata effettuata presso l'azienda agricola biologica "Podere Santa Croce" (30 ha), situata nel comune di Argelato (Bologna) in Emilia-Romagna, Italia (44° 39'57' N, 11°19'43' 'E, 16 m slm). Tutte le varietà locali, provenienti da questa regione, sono state abbandonate nella coltivazione e sostituite con moderne varietà di frumento tenero. Tuttavia, presso il Podere Santa Croce viene attualmente mantenuta una collezione varietale in campo, costituito da una vasta collezione di oltre 130 genotipi del genere *Triticum spp.* In collaborazione con l'Università di Bologna, viene conservata *on*-field, la biodiversità genetica, caratterizzandola al contempo, anche dal punto di vista qualitativo, per la ricerca di genotipi con le migliori proprietà qualitative, oltre che performanti dal punto di vista produttivo.

Codice	Genotipo	Classificazione	Anno	Allevatore	Zona di origine/Adattabilità
1	Abbondanza	Cv. Antica	1950	Michahelles ·	Toscana/collina, montagna
2	Andriolo	Autoctono	-	-	Toscana (1800)/montagna
3	Aquilante (FP)	Moderno	2006	CO. NA.SE (SM)	
4	Autonomia A	Cv. Antica	1938	Michahelles ·	Centro Italia/pianura
5	Benco ·	Autoctono	-	-	Toscana
6	Bianco nostrale	Autoctono	-	-	Toscana/montagna
7	Bilancia (FP)	Moderno	1996	Psb, (EM)	-
8	Blasco (FPS)	Moderno	2002	CO. NA.SE (SM)	-
9	Bolero (FP)	Moderno	1987	Venturoli Sementi, (EM),	Benoist (Francia),
10	Bologna (FF)	Moderno	1999	SIS (EM), C.C.	Benoist (Francia)
11	Canove	Autoctono	-	-	Veneto /montagna
12	Fiorello	Cv. Antica	1947	IABO ·	Emilia-Romagna
13	Frassineto	Cv. Antica	1932	M. Michahelles ·	Toscana/ montagna, collina
14	Gamba di ferro	Autoctono	-	-	-
15	Gentil bianco	Autoctono	-	-	Toscana (1800)/ collina
16	Gentil rosso	Autoctono	-	-	Centro Italia
17	Guà113	Cv. Antica	1936	Ricciarelli.	Veneto/pianura
18	Inallettabile	Cv. antica	1920	F. Todaro ·	Italia centro-settentrionale/pianura
19	Mentana	Cv. antica	1923	N. Strampelli	Centro Italia
20	Palesio (FP)	Moderno	2000	SIS (EM)	-
21	Piave	Autoctono	-	-	Veneto (1800) / collina
22	Rebelde (FF)	Moderno	2012	CO. NA.SE (SM)	-
23	Sagittario (FF)	Moderno	1995	Psb, (EM)	-
24	Verna	Cv. antica	1941	M. Gasperini	Toscana/montagna, molto rustico

Tabella 3-A Varietà locali, di antica e moderna costituzione di Triticum aestivum L., coltivate a Podere Santa Croce (Emilia-Romagna), per tre annate consecutivi di coltivazione (2016-2019). Consorzio Nazionale Sementi (CO. NA.SE), Emilia-Romagna (EM), Istituto Allevamento Vegetale Bologna (IABO), Società Italiana Sementi (SIS), Società Produttori Sementi (Psb), frumento panificalbile (FP), frumento panificabile superiore (FPS), frumento di forza (FF). Le informazioni sono state ottenute dalle seguenti fonti: (Assosementi,2021),
http://biodiversita.provincia.vicenza.it/pagstor/h_ita0340001.htm,
https://www.conase.it/prodotti/cereali/frumento-tenero,
https://orgprints.org/id/eprint/15244/1/bollettino_03_07_frumento.pdf

Tutti i 24 genotipi descritti nella Tabella 3-A, sono stati coltivati singolarmente su una superficie di 1.1 m × 6.5 m (7.15 m^2), seguendo un disegno sperimentale completamente randomizzato, con due repliche di campo per ogni varietà. Le performance delle varietà sono state analizzate per tre annate consecutive (2016-2017, 2017-2018 e 2018-2019). Il seme è stato seminato con una seminatrice (densità di semina di 180 kg/ha di seme) il 9/12/2016, 17/11/2017 e 25/11/2018, e poi raccolto con una mietitrebbia, nella seconda settimana di luglio dell'anno successivo.

Rispettando i principi della coltivazione biologica, durante il ciclo di coltivazione non sono stati effettuati né trattamenti di fertilizzazione né trattamenti fitosanitari. Ogni anno, il materiale di studio è stato incluso in uno schema di rotazione triennale. Colture orticole (pomodoro e insalata), hanno preceduto la semina del grano tenero. Dopo il raccolto, è stata seminata una coltura miglioratrice, in particolare trifoglio da foraggio.
I dati metereologici (piogge, temperature medie, massime e minime) durante le tre stagioni di coltivazione sono state registrate dalla stazione meteorologica dell'Agenzia Regionale per la Prevenzione, l'Ambiente e l'Energia (Arpae, Emilia-Romagna), situata nei pressi di Saletto nel comune di Bentivoglio (Bologna – Italia, 44° 37 '56' 'N, 11° 26' 28'' E, 18 m slm), a meno di 10 km dal campo sperimentale. Il terreno era di tipo franco-argilloso, con un rapporto argilla:sabbia:limo di 26:32:42 (Agriparadigma laboratories https://www.agriparadigma.it/). I dati meteorologici stagionali ed i parametri del suolo, distinguendo i parametri ambientali per ogni annata di coltivazione, sono presentati nella sezione risultati.
Nel presente studio sono state analizzate: la resa (e varie misurazioni agronomiche potenzialmente correlate) nonché i principali parametri tecnologici, fitosanitari e funzionali di qualità.

3.3.3 RESA E PARAMETRI AGRONOMICI

Prima del raccolto, alla fase fenologica di sovra-maturazione, fase BBCH 92 (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt, und Chemische Industrie), e per ogni anno di coltivazione, l'altezza della pianta, su 10 piante mature casuali all'interno di ogni parcella, è stata misurata dal livello del suolo fino alla base della spiga. L'allettamento è stato osservato complessivamente su tutte le piante all'interno di ciascuna parcella ed espresso in percentuale del numero totale di piante. Alla fine del ciclo colturale, la resa è stata misurata per ciascuna parcella ed espressa in t/ha. Il peso ettolitrico (HW) della granella è stato determinato impiegando il Grain Analyzer Infratec 1241 (FOSS Analytical A/S, Hillerød, Danimarca), sulla base delle linee guida del produttore. Inoltre, sono stati determinati i seguenti parametri agronomici, che hanno un potenziale effetto sulla resa: numero di spighe/m^2, numero di carisossidi/spiga (cinque repliche di campo per varietà) e peso 1000 semi (TKW, due repliche di campo per ciascuna varietà).

3.3.4 QUALITÀ TECNOLOGICA

Le analisi della qualità tecnologica del frumento considerate nel presente studio includono il contenuto proteico totale, l'indice Zeleny e il contenuto in glutine umido. Questi parametri sono stati determinati sulla granella (due repliche per varietà con 10 letture strumentali per ogni replica) utilizzando il Grain Analyzer Infratec 1241, seguendo le linee guida del produttore.

3.3.5 ASPETTI FITOSANITARI

La valutazione delle malattie fungine è stata effettuata prima della raccolta, alla fase fenologica di fine maturazione lattea, fase BBCH 77, selezionando casualmente 10 piante di grano all'interno di ciascuna parcella sperimentale e realizzando una stima visiva della malattia sulla foglia a bandiera e sulle foglie sottostanti. La valutazione delle malattie fungine è stata effettuata complessivamente ricercando segni e sintomi delle ruggini del frumento, di fusariosi (*Fusarium graminearum*) e di septoriosi delle foglie (*Septoria tritici*). La valutazione delle malattie è stata calcolata utilizzando una scala di valutazione descrittiva con diverse classi di valutazione (da 0 a 10), in cui ogni classe corrisponde a una percentuale specifica di infezione della superficie del tessuto in esame. La scala di punteggio adottata è stata la seguente: 0 = nessuna infezione, 1 = 1-10%, 2 = 11-20%, 3 = 21-30%, 4 = 31-40%, 5 = 41-50%, 6 = 51-60%, 7 = 61-70%, 8 = 71-80%, 9 = 81-90% e 10 = 91-100% dei tessuti colpiti da patogeni.

Il deossinivalenolo (DON), prodotto dal genere fungino *Fusarium* spp., è stato quantificato nelle farine integrali prodotte, utilizzando il kit ELISA AgraQuant® Deoxynivalenol (Romer Labs, Division Holding GmbH, Austria), secondo le istruzioni del produttore, descritto e convalidato da (Zheng et al., 2005).

3.3.6 QUALITÀ NUTRIZIONALE E NUTRACEUTICA

Le analisi delle caratteristiche funzionali per la dieta umana includono la quantificazione di: fibra alimentare insolubile (IDF), fibra alimentare solubile (SDF), contenuto totale di polifenoli (TPC), contenuto totale di flavonoidi (TFC), attività anti-radicalica totale utilizzando un saggio basato sul radicale 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazin-1-yl (DPPH) ed uno sul potenziale antiossidante di riduzione ferrica (saggio FRAP). Per l'analisi dei composti funzionali, le cariossidi sono state macinate a pietra, per produrre farina integrale e sono state analizzate due repliche per ogni varietà, ogni anno. IDF e SDF sono state estratte e misurate impiegando il “Megazyme Total Dietary Fibre Assay kit” (Megazyme International, Irlanda),

seguendo il protocollo del produttore; la metodica è stata adattata a partire da metodi precedentemente riportati da Prosky et al. (1988) e Lee et al. (1992). TPC, comprendenti sia polifenoli in forma libera, sia in forma legata, sono stati estratti come descritto in precedenza da Dinelli et al. (2011). I polifenoli liberi e legati sono stati quindi quantificati secondo il metodo spettrofotometrico con reagente Folin-Ciocalteau (a 765 nm), utilizzando l'acido gallico come standard di riferimento (Singleton et al., 1999); la somma della frazione fenolica libera e della frazione legata restituisce il contenuto in polifenoli totali della farina. Similmente, i flavonoidi liberi e legati sono stati misurati separatamente utilizzando un saggio colorimetrico spettrofotometrico (a 510 nm), con catechina come standard di riferimento (Adom et al., 2003); la somma della frazione dei flavonoidi liberi e della frazione dei flavonoidi legati restituisce il contenuto in flavonoidi totali della farina. Il test DPPH è stato eseguito misurando la riduzione (a 515 nm) di DPPH• a 1,1-difenil-2-picril idrazina (Floegel et al., 2011), mentre il saggio FRAP (che si basa sulla riduzione di ioni Fe^{3+} a Fe^{2+}) è stato realizzato utilizzando un metodo spettrofotometrico (a 593 nm), riportato in precedenza da Benzie e Strain (1996). L'attività antiossidante è stata misurata sugli estratti fenolici *free* e *bound* complessivamente, ottenendo i valori DPPH e FRAP totali.

3.3.7 ANALISI STATISTICA

Le analisi statistiche sono state eseguite applicando il modello lineare generale ed utilizzando il software *IBM SPSS Statistics for Windows* (Versione 25, IBM Corp., Armonk, NY, USA), considerando il fattore "Varietà" come fattore ad effetti fissi e il fattore "anno" come fattore ad effetti variabili. I confronti post hoc tra le medie misurate sono stati eseguiti utilizzando il test di Tukey.

Nel presente studio, i GGE biplot sono stati esplorati utilizzando l'elaborazione "media versus stabilità". Il software impiegato è stato *R 4.0.2* e il pacchetto *GGEBiplotGUI*, nel quale è stata proposta una nuova implementazione computazionale interattiva in linguaggio R, per elaborare le principali funzioni dei metodi GGE biplot (Frutos et al., 2014). La funzione "media versus stabilità" facilita la visualizzazione dellae performance e della stabilità media di un genotipo. Il biplot è rappresentato attraverso due componenti principali (PC), vale a dire la componente principale 1 (PC1, asse x) rispetto alla PC2 (asse y), che rappresentano individualmente una percentuale della variabilità imputabile agli effetti G + GE (genotipo e interazione genotipo-ambiente). La percentuale additiva dalla somma di PC1 e PC2 rappresenta la variabilità totale di G

+ GE spiegata dal grafico GGE biplot. La linea a freccia singola è l'asse ambientale medio o l'asse della media ambientale (AEA o MEA) e indica performance medie più elevate in tutti gli ambienti, nella direzione della freccia. Sul MEA, la media ambientale è definita come i valori medi di PC1 e PC2 e viene rappresentata con un cerchio. Qualsiasi genotipo che si collochi all'interno del cerchio è l'ideotipo o genotipo ideale, combinando sia performance medie elevate che stabilità del carattere. La linea perpendicolare al MEA è l'ordinata media ambientale (MEO) e il punto di intersezione tra i due assi è il punto di origine, che rappresenta sia la media totale delle performance sia un'elevata stabilità. L'aumento della variabilità (scarsa stabilità) dei genotipi è definito da un posizionamento più distante dal MEA, in entrambe le direzioni lungo il MEO, con un possibile posizionamento in prossimità dei punti rappresentanti le medie di ambienti o annate specifiche (adattamento migliore a specifiche condizioni ambientali) (Frutos et al., 2014; Neisse et al., 2018).

3.4 RISULTATI

3.4.1 DATI METEOROLOGICI E CARATTERISTICHE DEL SUOLO

Si può assumere che la fonte di variabilità ambientale nel singolo ambiente di Podere Santa Croce, Argelato (Bologna), nel corso dei tre anni, derivi dall'andamento meteorologico e dalle caratteristiche del suolo. La distribuzione delle precipitazioni totali è stata variabile nei diversi anni (Figura 3-A). Nel 2017-2018, le precipitazioni sono state le più alte durante l'intero ciclo di coltivazione (dicembre-giugno) e le più basse nel periodo di maturazione (aprile-giugno) (Tabella 3-B). L'annata 2017-2018, differisce dai restanti due anni per la variazione più bassa nell'aumento di temperature minime e massime, nel periodo di maturazione delle cariossidi e per il minor contenuto di fosforo assimilabile. Il primo anno, 2016-2017, si è distinto dal secondo e dal terzo anno di coltivazione, sia per le precipitazioni che per il tasso di aumento della temperatura durante la maturazione della spiga, nonché per il più basso contenuto di sostanza organica, azoto totale e rapporto C/N (Tabella 3-B). Invece, l'ultimo anno di coltivazione (2018-2019) si è distinto per le precipitazioni più elevate e il più alto tasso di aumento della temperatura media, nel periodo di maturazione aprile-giugno (Tabella 3-B).

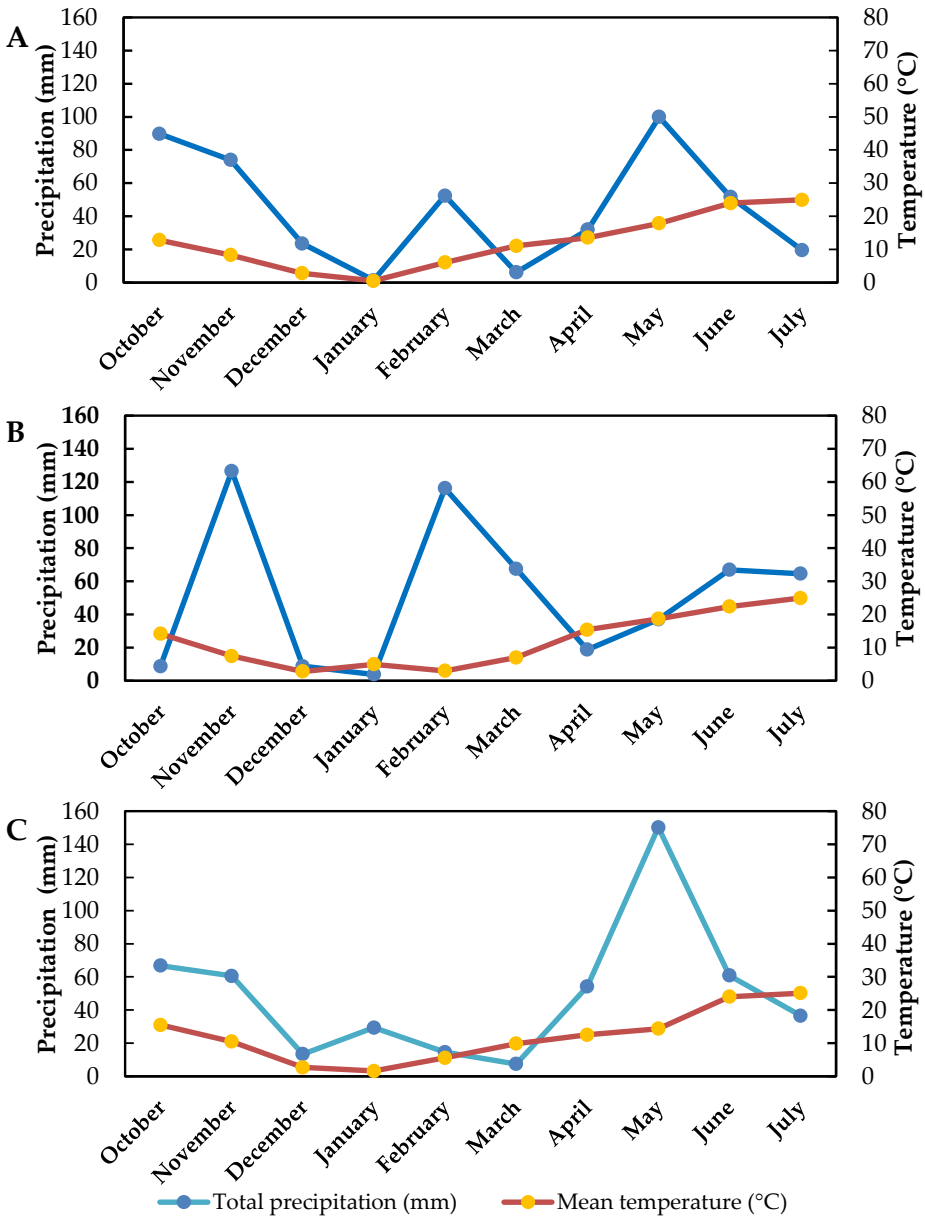


Figura 3-A Grafici Bagnouls – Gaussen relativi a precipitazioni cumulate mensili e temperatura media mensile nelle tre annate di coltivazione 2016-2017 (A), 2017-2018 (B) e 2018-2019 (C) presso Podere Santa Croce, Argelato (Emilia-Romagna, Italia)

Condizioni meteorologiche durante il ciclo di crescita del frumento	2016-2017	2017-2018	2018-2019
Dic-giugno: precipitazioni cumulate (mm)	287	384	337
Aprile-giugno: precipitazioni cumulate (mm)	184	123	265
Aprile-giugno: numero di giorni piovosi	16	28	35
Aprile-giugno: aumento T max (°C/mese)	3.51	2.46	4.10
Aprile-giugno: aumento T min (°C/mese)	3.21	2.12	3.33
T max alla raccolta (°C)	31.20	30.09	31.19
Caratteristiche del suolo prima della semina	**2016-2017**	**2017-2018**	**2018-2019**
pH	7.61	6.57	7.57
Sostanza organica (% ss)	1.2	3.3	3.7
N totale (‰ ss)	0.7	1.4	1.5
Rapporto C/N	9.7	13.6	14.7
P assimilabile (mg/kg ss)	38.6	19.0	31.5
K assimilabile (mg/kg ss)	229	215	215

Tabella 3-B Condizioni meteorologiche durante la crescita del frumento e parametri di fertilità del suolo prima della semina distinti per i tre anni di coltivazione dei 24 genotipi di grano tenero. Dati metereologici forniti dalla stazione meteorologica dell'Agenzia Regionale per la Prevenzione, l'Ambiente e l'Energia (Arpae, Emilia-Romagna). Le caratteristiche del suolo sono state misurate dai laboratori Agriparadigma (https://www.agriparadigma.it/).

3.4.2 RESA E RELATIVI PARAMETRI AGRONOMICI

L'effetto dell'anno è risultato significativo sulla resa, così come l'interazione tra genotipo e annata (Tabella 3-C). Il peso ettolitrico (HW) è un'indicazione sulle dimensioni delle cariossidi e il loro grado di riempimento, utilizzata dai mulini come indice della resa in farina. HW è risultato significativamente diverso nei tre anni, per i diversi genotipi e significativamente influenzato dall'interazione genotipo-ambiente (GE). L'HW complessivamente è risultato leggermente inferiore al requisito di mercato raccomandato di 80 kg/hL (Tabella 3-C). Ulteriori parametri agronomici di interesse, generalmente studiati in relazione alla resa, sono riportati nella Tabella 3-C e si sono dimostrati tutti significativamente differenti per i differenti anni, genotipi (ad eccezione del peso 1000 semi) e per l'interazione genotipo-annata. Come già ampiamente riportato in precedenti studi, per quanto concerne l'altezza media delle piante, tutte le varietà moderne sono risultate significativamente più basse e hanno mostrato la più bassa propensione all'allettamento (Tabella 3-C). Complessivamente, le varietà locali e di antica costituzione erano significativamente più alte, con una tendenza molto variabile all'allettamento (Tabella 3-C). L'allettamento è stato significativamente più alto nell'annata 2017-2018, in coincidenza con le precipitazioni più elevate tra dicembre e giugno (Tabella 3-B). Tuttavia, l'allettamento si è verificato tardivamente

durante il periodo di maturazione delle cariossidi e non sembra aver avuto alcun effetto sulla resa.

	Resa (t/ha)	**Peso ettolitrico** (kg/hL)	**Altezza pianta** (cm)	**Allettamento** (%)	**Spighe/m²** (numero)	**Cariossidi/spiga** (numero)	**Peso 1000 semi** (g)
Annata	***	***	***	***	***	***	***
2016/2017	3.35 b	76.5 a	104.8 a	20.9 b	151.9 b	50.0 a	48.4 a
2017/2018	3.00 c	76.6 a	91.9 b	51.0 a	150.0 b	48.5 a	42.9 b
2018/2019	3.87 a	74.9 b	106.7 a	17.2 c	258.0 a	37.0 b	43.0 b
Genotipo	**ns**	***	***	***	***	**	**ns**
Abbondanza	2.25	73.4 h	86.5 g	5.0 a	119.4 h	45.5 c-f	42.3
Andriolo	2.69	76.0 c-f	115.7 de	21.7 bc	144.5 fgh	47.2 b-f	42.4
Aquilante	3.38	79.7 a	72.8 h	0.0 a	136.0 gh	56.3 a	45.3
Autonomia A	3.63	76.6 cde	105.6 f	37.5 ef	173.0 c-h	47.8 b-f	44.9
Benco	3.46	74.5 fgh	124.9 c	80.0 j	234.0 bc	33.9 h	46.4
Bianco nostrale	3.01	76.5 cde	125.6 c	81.7 j	208.9 b-f	33.9 h	45.8
Bilancia	3.51	73.8 gh	60.7 j	5.8 a	161.1 d-h	50.5 a-d	44.3
Blasco	3.42	80.0 a	71.3 hi	2.5 a	177.6 c-h	51.8 abc	43.2
Bolero	3.68	73.4 h	70.3 hi	0.0 a	180.8 c-h	46.6 c-f	46.6
Bologna	3.79	76.2 c-f	72.2 h	0.0 a	154.8 e-h	54.9 ab	49.3
Canove	3.61	75.2 e-h	118.0 d	68.3 h	213.2 b-e	42. 8 d-g	41.5
Fiorello	3.06	76.5 cde	89.7 g	5.0 a	164.4 d-h	41.4 e-h	45.7
Frassineto	3.32	75.8 c-f	124.0 c	32.5 de	221.3 bcd	35.3 gh	47.5
Gamba di Ferro	3.55	75.9 c-f	140.2 a	88.3 j	246.3 b	33.8 h	45.1
Gentilbianco	4.00	75.5 d-g	117.1 de	34.2 de	210.8 b-e	46.6 c-f	43.1
Gentil rosso	3.08	75.5 d-g	132.0 b	81.3 j	165.7 d-h	48.2 b-e	44.5
Guà113	3.83	74.7 e-h	115.9 de	51.7 g	177.8 c-h	50.2 a-d	44.6
Inallettabile	3.11	76.1 c-f	114.1 de	26.7 cd	199.8 b-g	40.1 fgh	43.6
Mentana	3.25	77.4 cd	111.7 e	43.3 f	191.1 b-g	40.6 efgh	43.4
Palesio	2.86	76.2 c-f	75. 7 h	0.0 a	135.7 gh	47.5 b-f	45.5
Piave	4.81	77.7 bc	116.6 de	32.5 de	367.5 a	37.4 gh	41.1
Rebelde	3.89	79.1 ab	74.4 h	0.0 a	181.7 c-h	53.2 abc	47.0
Sagittario	3.43	74.4 fgh	65.8 ij	0.0 a	151.3 e-h	51.8 abc	49.2
Verna	3.14	73.8 gh	126.6 bc	15.0 b	162.6 d-h	46.1 c-f	42.2
Anno x Genotipo	***	***	***	***	**	***	***

Tabella 3-C Resa media e parametri agronomici dei 24 genotipi di Triticum asetivum L., monitorati per tre anni consecutivi di coltivazione (2016-2019).
*ANOVA a due vie e significatività del fattore anno, fattore genotipo e della loro interazione. * P ≤ 0.05 ** P ≤ 0.01 *** P ≤ 0.01, ns - non significativo. Lettere diverse (a–j) denotano differenze significative.*

3.4.3 PARAMETRI TECNOLOGICI, ASPETTI FITOSANITARI E CARATTERISTICHE FUNZIONALI

I parametri tecnologici di qualità includono l'indice di Zeleny (un parametro qualitativo simile all'indice di glutine), utilizzato nella selezione varietale e nell'analisi rapida per stimare la qualità complessiva del grano nella trasformazione, insieme alle proteine totali e al glutine umido. Questi parametri sono variati significativamente nelle annate, tra i genotipi e a seguito dell'interazione GE (ad eccezione del glutine umido). L'intervallo di valori riportato nella Tabella 3-D non risulta differenziarsi nettamente per ecotipi, cultivar di antica costituzione e di moderna costituzione.

I parametri di qualità fitosanitaria includevano l'incidenza dei patogeni e il contenuto in DON. L'incidenza dei patogeni nel corso dei tre anni è stata attribuibile alla presenza principalmente di ruggine fogliare bruna (*Puccinia triticina*) e macchie fogliari (*Septoria tritici*). Nell'anno 2018-2019, la fusariosi della spiga (*Fusarium graminearum*) è stata rilevata solo su Mentana e Bolero. L'incidenza dei patogeni è stata significativamente più elevata nell'annata agraria 2018-2019 (Tabella 3-D), in coincidenza con l'annata con le precipitazioni più elevate e il più alto tasso di aumento della temperatura nel periodo di maturazione della spiga (Tabella 3-B). I livelli di DON, prodotto dal genere *Fusarium*, nelle cariossidi per tutti i 24 genotipi erano inferiori al livello soglia di 1250 ppb (Tabella 3-D), consentito per il frumento tenero, definito dal regolamento (CE) n. 1881/2006 (CE, 2007).

I parametri funzionali di qualità, riportati nella Tabella 3-E, includono le IDF (cellulose ed emicellulose) e le SDF (emicellulose altamente fermentabili, pectine e cere, importanti per il microbiota intestinale). L'IDF è anche considerato un importante parametro per la cottura, tuttavia, nel presente studio, l'IDF è incluso tra i parametri funzionali, dato che livelli elevati sono associati ad un aumento della massa fecale e dei tempi di transito. Sono stati inclusi anche il contenuto in antiossidanti (TPC e FPC) e attività antiossidante delle farine (FRAP e DPPH). L'interazione GE è stata altamente significativa per tutti i parametri funzionali (Tabella 3-E).

	Proteine totali (%)	Indice di Zeleny (%)	Glutine umido (%)	Patogeni (scala 0-10)	DON (ppb)
Annata	***	***	***	***	***
2016/2017	13.0 a	34.5 a	26.9 a	1.27 c	212.2 a
2017/2018	12.7 a	34.0 a	25.6 a	1.73 b	202.3 b
2018/2019	11.5 b	25.0 b	21.5 b	4.77 a	200.0 b
Genotipo	***	*	**	ns	***
Abbondanza	10.4 j	21.5 m	21.2 fg	2.17	211 a-d
Andriolo	12.2 d-h	29.9 g-k	25.2 b-e	2.33	200 d
Aquilante	12.6 c-g	27.6 i-l	23.4 c-g	4.33	220 ab
Autonomia A	12.0 e-h	28.2 i-l	23.7 c-g	2.50	200 d
Benco	12.8 b-f	30.7 f-i	25.8 b-e	1.83	222 ab
Bianco nostrale	13.1 bcd	35.3 bcd	26.9 abc	2.17	200 d
Bilancia	11.6 hi	26.6 kl	22.7 d-g	2.83	200 d
Blasco	11.9 fgh	25.4 l	20.3 g	4.17	217 abc
Bolero	12.8 b-f	31.9 d-g	23.7 b-g	3.00	200 d
Bologna	12.3 c-h	33.0 c-f	24.6 b-f	1.83	200 d
Canove	11.8 fgh	28.1 i-l	23.2 c-g	3.00	200 d
Fiorello	13.3 bc	37.5 b	26.8 abc	2.83	200 d
Frassineto	13.7 ab	35.5 bc	27.6 ab	2.83	200 d
Gamba di Ferro	13.1 bcd	32.9 c-f	25.7 b-e	2.67	201 cd
Gentil bianco	12.8 b-f	33.0 c-g	26.4 a-d	2.50	200 d
Gentil rosso	12.1 d-h	31.8 e-h	24.3 b-f	1.33	200 d
Guà113	12.2 d-h	30.5 f-j	24.8 b-f	1.83	200 d
Inallettabile	14.2 a	41.4 a	29.6 a	2.83	200 d
Mentana	13.0 bcd	34.6 b-e	24.7 b-f	2.33	212 a-d
Palesio	11.9 fgh	29.6 g-k	24.5 b-f	2.67	207 b-d
Piave	11.7 ghi	28.3 i-l	24.2 b-f	2.00	200 d
Rebelde	12.4 c-h	27.1 jkl	22.3 efg	3.50	226 a
Sagittario	10.8 ij	28.5 h-l	23.3 c-g	3.50	200 d
Verna	12.9 b-e	33.8 c-f	26.7 abc	1.17	200 d
Anno x Genotipo	***	***	ns	***	***

Tabella 3-D Parametri inerenti alla qualità tecnologica e fitosanitaria delle 24 varietà di Triticum aestivum L. Dati inerenti tre annate colturali consecutive (2016-2019).
*ANOVA a due vie e significatività del fattore anno, fattore genotipo e della loro interazione. * P ≤ 0.05 ** P ≤ 0.01 *** P ≤ 0.01, ns - non significativo. Lettere diverse (a–l) denotano differenze significative.*

	IDF (g/100 g)	SDF (g/100 g)	TPC (mg/100 g)	TFC (mg/100 g)	FRAP (mmol/100 g)	DPPH (mmol/100 g)
Annata	**ns**	******	*******	******	*******	*******
2016/2017	15.5	5.16 a	275 b	90.5 b	1.01 a	2.78 b
2017/2018	16.7	4.53 b	291 a	111.0 a	0.62 b	3.96 a
2018/2019	16.4	4.96 a	211 c	92.4 b	1.00 a	2.65 b
Genotipo	**ns**	******	**ns**	*****	**ns**	**ns**
Abbondanza	15.5	4.81 c-f	234	119.5 ab	0.67	2.54
Andriolo	14.5	5.38 a-d	233	89.5 gh	0.70	2.74
Aquilante	15.3	4.11 ghi	275	82.4 ij	0.83	3.05
Autonomia A	17.9	5.00 c-f	260	101.0 def	0.82	2.70
Benco	15.2	5.02 c-f	233	112.0 bc	0.68	2.71
Bianco nostrale	14.3	5.39 a-d	265	106.0 cde	0.84	3.44
Bilancia	15.1	4.90 c-f	301	82.5 hij	0.99	3.18
Blasco	15.2	3.80 i	226	86.1 hi	1.02	2.57
Bolero	15.8	3.73 i	280	84.7 hij	0.86	3.77
Bologna	14.7	4.05 hi	278	61.8 k	0.87	3.02
Canove	18.0	5.92 a	248	95.4 fg	0.96	3.16
Fiorello	17.7	5.39 a-d	255	115.0 abc	0.95	3.43
Frassineto	16.8	5.40 a-d	239	99.1 def	0.89	2.76
Gamba di Ferro	18.1	4.42 e-i	281	122.5 a	1.01	3.90
Gentil bianco	18.6	5.05 c-f	252	107.3 cd	0.92	3.22
Gentil rosso	17.3	5.99 a	270	106.5 cde	0.85	3.43
Guà113	15.4	4.57 e-h	279	117.5 ab	0.99	3.80
Inallettabile	15.9	5.14 b-e	224	100.3 def	0.89	2.85
Mentana	17.4	5.80 ab	299	97.6 efg	0.84	3.07
Palesio	14.7	4.76 d-g	256	75.4 j	0.74	2.75
Piave	17.0	5.00 c-f	249	123.8 a	0.92	3.39
Rebelde	15.2	3.73 i	249	82.5 hij	0.94	2.75
Sagittario	17.2	4.35 f-i	249	79.4 ij	0.91	3.49
Verna	16.7	5.52 abc	280	106.9 cde	0.93	3.45
Anno x Genotipo	*******	*******	*******	*******	*******	*******

Tabella 3-E Parametri inerenti alla qualità funzionale delle farine integrali delle 24 varietà Triticum aestivum L. Dati relativi a tre annate colturali consecutive (2016-2019).
*ANOVA a due vie e significatività del fattore anno, fattore genotipo e della loro interazione. * P ≤ 0.05 ** P ≤ 0.01 *** P ≤ 0.01, ns - non significativo. Lettere diverse (a–j) denotano differenze significative.*

3.4.4 GGE BIPLOT: PERFORMANCE MEDIE E STABILITÀ

Le analisi GGE biplot riportate in letteratura sulle colture di maggiore interesse vengono eseguite quasi esclusivamente per studiare la resa, che è considerata il parametro più importante. Nel presente studio, le analisi GGE biplot sono state estese

per includere diversi parametri qualitativi (tecnologici, fitosanitari e funzionali), al fine di valutare le performance medie rispetto alla stabilità di ciascun carattere, con l'obiettivo di individuare genotipi con prestazioni medie sia stabili, sia stabilmente superiori alla media per una gamma diversificata di variabili.

Considerata l'importanza della resa, la sua variazione è stata influenzata principalmente dagli effetti congiunti del genotipo e dell'interazione di esso con l'ambiente (G+ GE), che determinano il 75,38% della varianza totale (40,80% PC1 e 34,86% PC2) della somma dei quadrati GGE (Figura 3-B). L'ecotipo Piave (codice 21) ricade all'interno dell'ambiente medio (cerchio) sul MEA e può essere quindi considerato l'ideotipo stabile con la media maggiore di tutti i 24 genotipi. L'ecotipo Gentil bianco (codice 15) e la varietà di antica costituzione Gùa113 (codice 17) si sono classificati secondo e terzo, rispettivamente, per prestazioni di resa e con relativa elevata stabilità. Un ulteriore genotipo di interesse è stato l'ecotipo Gamba di Ferro (codice 14), con elevata stabilità, posizionato sul MEA, vicino al centro di origine, che rappresenta la media complessiva (Figura 3-B). È interessante notare che la maggior parte degli ecotipi e delle varietà di antica costituzione hanno mostrato generalmente una maggiore stabilità, sia con prestazioni medie superiori alla media (Piave, Gentil Bianco, Gùa113, Gamba di Ferro) sia inferiori alla media (Mentana [codice 19], Inallettabile [codice 18], Gentil rosso [codice 16], Fiorello [codice 12], Andriolo [(codice 2], Abbondanza [codice 1]). Al contrario, le varietà moderne sono distribuite lungo il MEA, sia con rese superiori alla media (Bologna [codice 10], Rebelde [codice 22] e Bolero [codice 9]), sia inferiori alla media (Blasco [codice 8], Sagittario [codice 23] e Palesio [codice 20]). Tuttavia, le cultivar moderne hanno mostrato un'alta variabilità, essendo distribuite a maggiore distanza dal MEA, in prossimità delle posizioni riferite ad annate specifiche (Figura 3-B). I parametri agronomici (numero di spighette per spiga, numero di semi per spiga, peso cariossidi/spiga, peso 1000 semi) non erano associati ai genotipi con elevata resa ed erano tutti al di sotto della media generale (risultati non mostrati).

Oltre alla stabilità e all'alto rendimento (ideotipo), il Piave è risultato un ecotipo di interesse anche per l'alto peso ettolitrico (classificato 4°), con relativa stabilità (Figura 3-B), nonché per l'elevata stabilità nella bassa incidenza media di patogeni (classificato 22, Figura 3-B). Inoltre, il Piave ha mostrato medie elevate e relativa stabilità per TFC, FRAP e DPPH. Sebbene per quest' ultima variabile non fosse posizionato a grande

distanza dal MEA, appariva tendenzialmente più adatto alle specifiche condizioni ambientali del 2018-2019 (Figura 3-C).

Gamba di Ferro è risultato un ecotipo interessante per l'elevata stabilità di una serie di parametri. Sia per la resa che per l'HW, Gamba di Ferro si è posizionato vicino al centro di origine, all'intersezione degli assi, mostrando prestazioni medie più vicine alla media complessiva ma con elevata stabilità, in base alle variazioni stagionali nel corso dei tre anni (Figura 3-B). Per le proprietà tecnologiche, Gamba di Ferro si è posizionato sul MEA (altamente stabile), in posizione 9°, 5° e 7°, al di sopra della media generale, seguendo la direzione della freccia, per l'indice Zeleny (Figura 2C), la proteina totale (Figura 3-B) e il glutine umido (Figura 3-B). Allo stesso modo, per i parametri funzionali, questo ecotipo ha mostrato un'elevata stabilità e si è classificato al secondo posto tra tutti i genotipi (posizione 2) fondamentalmente sul MEA, sia per IDF (Figura 3-C) che per FRAP (Figura 3-C). Gamba di Ferro si è classificato in posizione 5° lungo il MEA, sia per TPC (Figura 3-C) che per TFC (Figura 3-C) ma era anche distante dal MEA, con maggiore adattamento specifico alle condizioni ambientali che contraddistinguono l'annata '17-18. Inoltre, questo ecotipo ha mostrato la più alta attività DPPH (Figura 3-C) di tutti i genotipi (posizione 1°), ma con adattamento specificatamente maggiore alle condizioni ambientali del '18-19. Tuttavia, è da evidenziare che Gamba di Ferro è risultato il genotipo con taglia più elevata e con la più alta propensione all'allettamento (Tabella 3-C). Per entrambe le variabili, Gamba di Ferro ha mostrato una bassa stabilità e le condizioni ambientali del '18-19 sono quelle che hanno favorito maggiormente l'allettamento (risultati GGE biplot non mostrati), a causa probabilmente di precipitazioni più elevate rispetto alle altre annate (Tabella 3-B). Come menzionato in precedenza, l'allettamento si è verificato tardivamente e non ha avuto alcun riflesso sulla resa.

Un altro genotipo di interesse è stata la cultivar di antica costituzione Verna (codice 24), per la combinazione di stabilità e performance medie superiori alla media complessiva, per tutte le caratteristiche tecnologiche, nonché per l'incidenza dei patogeni e per alcuni parametri funzionali. Verna si è classificata in posizione 4°, 5° e 3° lungo il MEA per valori medi dell'indice Zeleny (Figura 3-B), proteine totali (Figura 3-B) e glutine umido (Figura 3-B), rispettivamente. Posizionandosi vicino al MEA, Verna ha mostrato un'elevata stabilità per tutte le caratteristiche elencate sopra. Verna ha prevalso per la più bassa incidenza di patogeni (posizione 24) ed era relativamente vicino al MEA (Figura 3-B). Questa cultivar si è classificata 4°, con una relativa stabilità

per SDF (Figura 3-C) e 5°, con elevata stabilità, per FRAP (Figura 3-C). Per TP e TF, Verna si è classificata in posizione 3° e 2°, considerando i valori medi, ma per entrambe le variabili ha mostrato un'elevata variabilità, essendo più performante specificatamente nelle condizioni del '18/19. Tuttavia, Verna si è classificata appena al di sotto del centro di origine per la resa media (Figura 3-B) ed era più adatta alle condizioni '17/18. Pur essendo una pianta a taglia alta (classificata 3° in altezza), a differenza di Gamba di Ferro, Verna era più resistente all'allettamento (classificata 19°), mostrando un'elevata stabilità per altezza e suscettibilità all'allettamento (Tabella 3-C, risultati in GGE biplot non mostrati).

A differenza di Gamba di Ferro e Verna, che risultano genotipi più adatti ad una selezione generale per l'alta stabilità, l'ecotipo Gentil Bianco (codice 15) e la varietà di antica costituzione Guà 113 (codice 17) hanno mostrato una relativa stabilità di resa. Gentil Bianco, ha anche mostrato performance superiori alla media per l'indice Zeleny, proteine totali, glutine umido, IDF e TFC, con relativa stabilità, posizionandosi vicino ma non esattamente sul MEA (Figure 3-B e 3-C), avendo anche una relativa stabilità per FRAP e DPPH (Figura 3-C). Questi genotipi, sebbene posizionati vicini al MEA, per tutte le variabili sopra menzionate erano potenzialmente più adatti all'ambiente caratteristico del 2017-18. Allo stesso modo, Gùa 113 ha mostrato prestazioni medie superiori alla media generale per TFC e FRAP, con adattamento più specifico per il 2017-18 (Figure 3-B e 3-C). Guà 113 è risultato altamente stabile con una media superiore alla media generale per TPC (classificato 4°) e DPPH (classificato 2°) (Figura 3-C).

È interessante sottolineare che l'ecotipo Abbondanza (codice 1) ha mostrato una stabilità elevata con bassa resa (Figura 3-B) e una stabilità molto bassa con le medie più basse per i parametri tecnologici (Figura 3-B). Inoltre, sono state osservate medie con valori bassi e con bassa stabilità per TPC, FRAP e DPPH (Figura 3-C). Similmente, sono state misurate anche basse medie con ridotta stabilità per i parametri funzionali, sia per l'ecotipo con resa inferiore alla media generale, Andriolo (codice 2), sia per la varietà moderna, Palesio (codice 20) (Figure 3-B e 3-C).

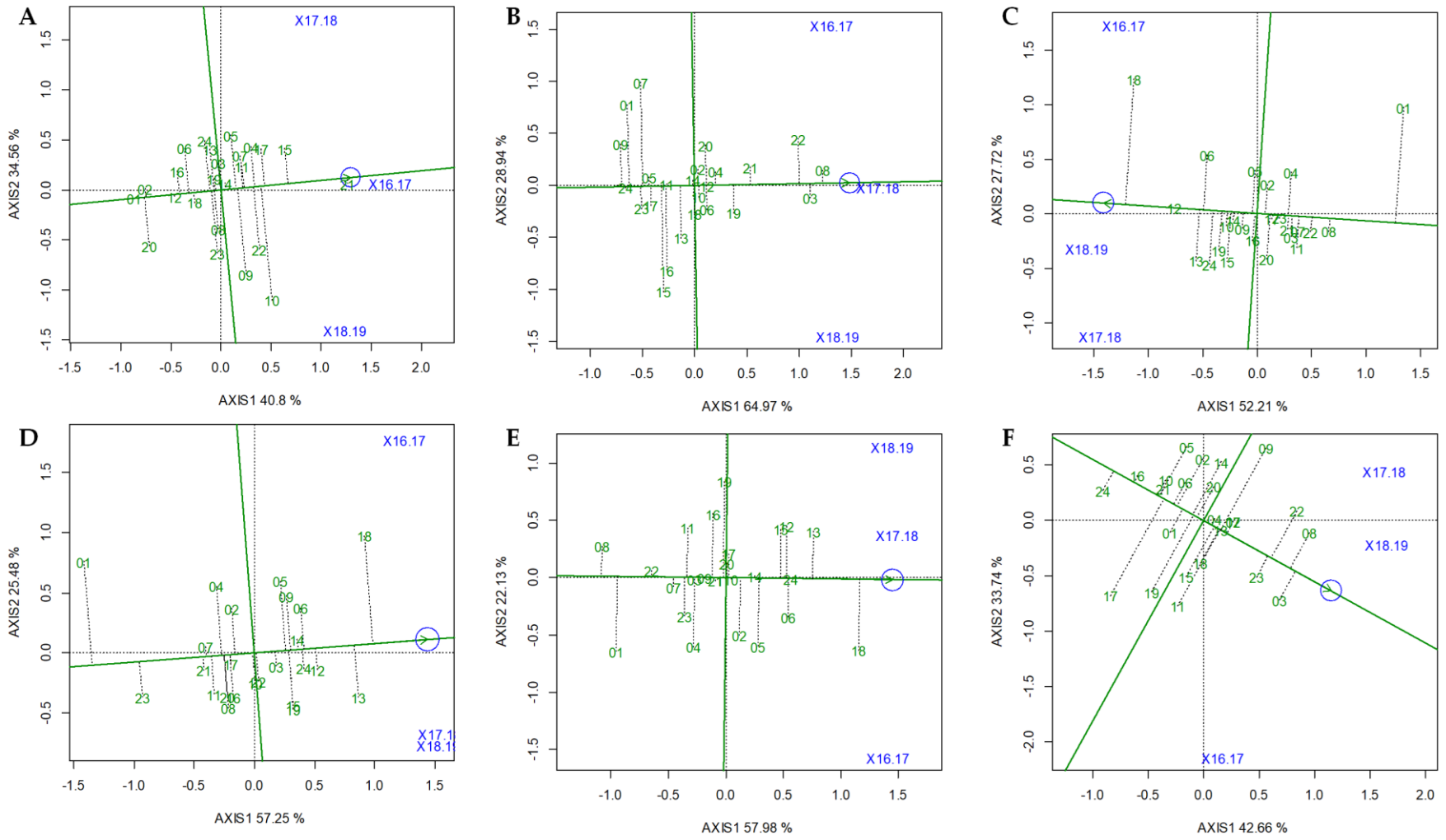


Figura 3-B Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per resa (A), peso ettolitrico (B), Indice di Zeleny (C), proteine totali (D), glutine umido (E) e incidenza patogeni (F). Genotipi: 1 (Abbondanza), 2 (Andriolo), 3 (Aquilante), 4 (Autonomia A), 5 (Benco), 6 (Bianco nostrale), 7 (Bilancia), 8 (Blasco), 9 (Bolero), 10 (Bologna), 11 (Canove), 12 (Fiorello), 13 (Frassineto), 14 (Gamba di ferro), 15 (Gentil bianco), 16 (Gentil rosso), 17 (Guà113), 18 (Inallettabile), 19 (Mentana), 20 (Palesio), 21 (Piave), 22 (Rebelde), 23 (Sagittario) e 24 (Verna). X16.17, X17.18 e X18.19 rappresentano le tre annate di coltivazione

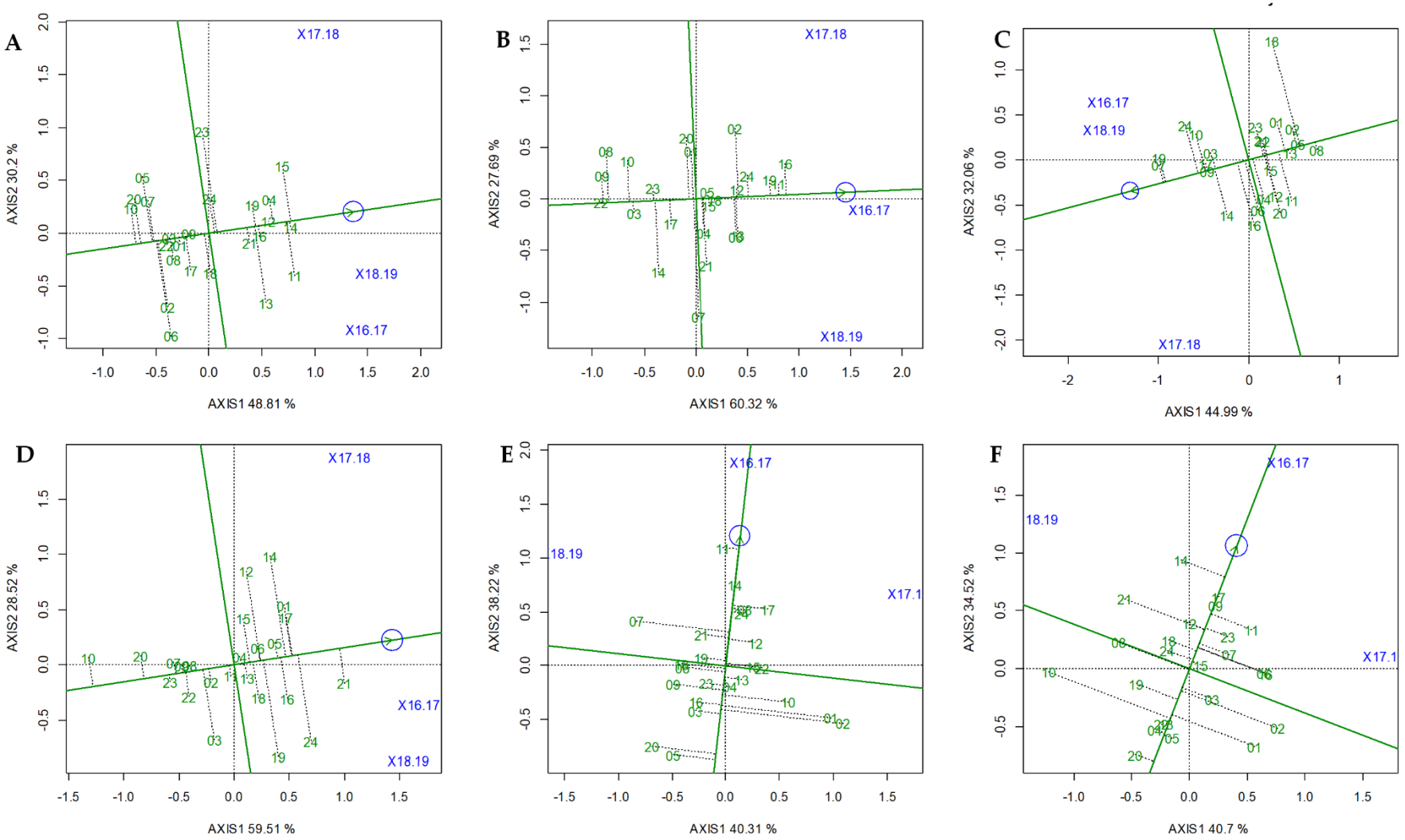


Figura 3-C Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per IDF (A), SDF (B), TPC (C), TFC (D), FRAP (E) e DPPH (F) per 1 (Abbondanza), 2 (Andriolo), 3 (Aquilante), 4 (Autonomia A), 5 (Benco), 6 (Bianco nostrale), 7 (Bilancia), 8 (Blasco), 9 (Bolero), 10 (Bologna), 11 (Canove), 12 (Fiorello), 13 (Frassineto), 14 (Gamba di ferro), 15 (Gentil bianco), 16 (Gentil rosso), 17 (Guà113), 18 (Inallettabile), 19 (Mentana), 20 (Palesio), 21 (Piave), 22 (Rebelde), 23 (Sagittario) e 24 (Verna). X16.17, X17.18 e X18.19 rappresentano le tre tre annate di coltivazione

3.5 DISCUSSIONE

La coltivazione di colture resilienti con rese stabili in un contesto di variazioni meteorologiche imprevedibili a breve termine è di fondamentale importanza per garantire la sicurezza alimentare. Considerati la sostanziale variazione dell'attuale resa globale di frumento (Ray et al., 2015), gli sforzi insufficienti nella selezione delle cultivar per l'incertezza climatica (Kahiluoto et al., 2019) e la mancanza di materiale adatto ad agroecositemi sostenibili, per valutare la diversità genetica in funzione delle caratteristiche di resilienza (Migliorini et al., 2016), c'è un crescente interesse nel realizzare prove agronomiche con ecotipi e varietà di antica costituzione, conservati in banche genetiche *ex situ*, per la conservazione e valorizzazione *in situ* di questo materiale (Bellon e van Etton, 2014). L'obiettivo del presente studio è caratterizzare e valutare le performance dei genotipi considerati, valorizzando quelli che raggiungono medie superiori alla media generale e la maggiore stabilità per tre anni consecutivi, non solo per la resa produttiva ma anche per i parametri tecnologici, fitosanitari e di qualità nutrizionale e nutraceutica. Queste valutazioni sono state effettuate anche utilizzando la funzione "media versus stabilità", dall'elaborazione GGE-biplot. Fino ad oggi, le analisi GGE biplot sono state utilizzate prevalentemente per le valutazioni della resa delle colture agrarie e vi è quindi una mancanza di informazioni sulle performance medie rispetto alla stabilità dei parametri qualitativi. Il presente studio, che coinvolge una collezione di 24 genotipi di grano tenero, tra cui ecotipi (8), cultivar di antica costituzione (8) e cultivar moderne (8), ha individuato tre dei migliori potenziali candidati per una selezione "ampia", sulla base delle prestazioni medie superiori alla media complessiva e alta stabilità per il maggior numero di tratti qualitativi di interesse. Tra i migliori genotipi sono emersi gli ecotipi Piave, Gamba di Ferro e la cultivar di antica costituzione Verna. Inoltre, altri due genotipi interessanti, con prestazioni medie superiori alla media generale e relativa buona stabilità per numerosi parametri di interesse, ma potenzialmente più adatti a specifiche condizioni ambientali, risultano essere l'ecotipo Gentil Bianco e la cultivar Guà 113.

Ad eccezione della varietà Verna, i genotipi più performanti (Piave, Gamba di Ferro e Gentil Bianco e Guà 113) nel presente studio non hanno ancora mostrato il potenziale sufficiente per essere iscritte nel Registro Nazionale Italiano di Conservazione Varietale (Assosementi, 2021) e sono attualmente solo conservate in banche del germoplasma o presso centri di ricerca. In Italia, il Ministero delle Politiche Agricole,

Alimentari e Forestali ha istituito nel 2009 il Registro Nazionale delle Varietà da Conservazione (D.Lgs. 29/10/2009 n. 149 - https://www.camera.it/parlam/leggi/deleghe/09149dl.htm) consentendo così la registrazione delle varietà locali. La possibilità di usufruire di questo registro faciliterebbe il commercio e, in definitiva, la sopravvivenza delle risorse genetiche, che sono attualmente mantenute *in situ* dagli "agricoltori custodi" (Spina et al., 2021). Pertanto, i risultati del presente studio forniscono incoraggiamenti per l'uso più diffuso di queste risorse genetiche, non solo per la resa, confrontabile con quella di cultivar moderne, ma anche per i parametri qualitativi.

L'ecotipo Piave è stato valutato come il genotipo ideale per la resa, combinando le massime prestazioni produttive con la loro stabilità negli anni, nonostante la variabilità dei parametri climatici e del suolo.

È interessante notare che, sebbene fosse diffuso in Veneto, fino ai primi anni del 1900, il Piave in quel periodo era considerato a basso rendimento e non sufficientemente competitivo rispetto ad altri ecotipi e fu di conseguenza sostituito (http://biodiversita.provincia.vicenza.it/pagstor/h_ita0340001.htm). Oltre a Piave, diversi ecotipi (Gentil Bianco, Gamba di Ferro, Gentil Rosso e Andriolo) e varietà di antica costituzione (Guà 113, Mentana, Inallettabile, Fiorello e Abbondanza) sono risultati da altamente stabili a relativamente stabili per la resa nel triennio. Anche se non tutti i genotipi erano stati inizialmente selezionati in Emilia-Romagna, si potrebbero considerare ben adattati al luogo della sperimentazione, caratterizzato da diverse fertilità del suolo negli anni e una distribuzione irregolare delle precipitazioni, insieme ad elevate temperature alla fine del ciclo colturale, condizioni tipiche del clima Mediterraneo, che possono compromettere la stabilità della resa (Carranza-Gallego et al., 2019; de Lima et al., 2021). I presenti risultati confermano gli studi precedenti, evidenziando l'importanza di studiare il potenziale della biodiversità intraspecifica per raggiunger una maggiore stabilità produttiva o qualitativa delle coltivazioni in condizioni ambientali imprevedibili (Bocci et al., 2020; Ghiselli et al., 2016; Koutis et al., 2012; Migliorini et al., 2016). I genotipi che hanno raggiunto le performance migliori potrebbero anche essere impiegati per costituire popolazioni evolutive di frumento, che è stato dimostrato possono essere maggiormente in grado di evolvere gradualmente e adattarsi a differenti ambienti, anche al di fuori dell'area di origine (Bocci et al., 2020). Nel presente studio, sono stati analizzati ecotipi e cultivar di grano tenero individualmente e non in miscugli, mostrando comunque stabilità nel corso dei tre anni.

Escludendo la variabile resa, il Piave, Gamba di Ferro e Verna hanno mostrato sia elevate prestazioni medie con elevata stabilità per diversi parametri tecnologici, fitosanitari e nutraceutici. Un importante fattore che contribuisce al potenziale successo di una varietà e che facilita la registrazione dei genotipi di grano nel Registro Nazionale è legato ai parametri qualitativi tecnologici (di trasformazione), utilizzati per prevedere possibilità dell'uso finale delle farine (Spina et al., 2021).

Nel presente studio, sia Gamba di Ferro che Verna erano altamente stabili con prestazioni superiori alla media per il contenuto in proteine e di glutine umido, con Gamba di Ferro che mostrava un indice Zeleny altamente stabile, una misura analoga all'indice di glutine nello stimare la qualità e le potenzialità di trasformazione delle farine. È interessante evidenziare che Gentil Bianco ha mostrato prestazioni medie superiori alla media generale per tutti i parametri tecnologici misurati, raggiunte però soprattutto in specifiche condizioni ambientali (relative all'annata 2017-2018). Le caratteristiche reologiche delle farine includono generalmente gli indici alveografici W (forza dell'impasto) e P / L (equilibrio tra tenacità ed estensibilità dell'impasto). Pertanto, al fine di promuovere ulteriormente i genotipi di interesse emersi in questo studio, sarà necessario effettuare prove di panificazione su questo materiale, in esperimenti futuri.

I risultati attuali hanno mostrato che l'incidenza dei patogeni è stata significativamente più alta nel 2018-2019, in coincidenza con l'annata dalle precipitazioni più elevate e con il più alto tasso di aumento della temperatura nel periodo di maturazione delle cariossidi. Gli effetti dei cambiamenti climatici sono strettamente legati ai cambiamenti che influenzano la distribuzione e l'aggressività dei patogeni (Bocci et al., 2020), vedendo lo spostamento delle condizioni ambientali verso climi umidi e più caldi, che favoriscono le ruggini fogliari e altri agenti patogeni fungini. L'analisi GGE biplot è stata efficacemente utilizzata per mostrare visivamente sia la tolleranza che la stabilità di linee pure selezionate da ecotipi di frumento, come indice di valutazione della diversità genetica, per migliorare l'efficacia di selezione per genotipi resistenti alle ruggini (Akan and Akcura, 2018; Gitonga* et al., 2016). Sia Piave che Verna sono stati identificati come due dei genotipi più resistenti, anche stabilmente, all'attacco dei patogeni.

I benefici per la salute umana di IDF, SDF, TPC, TFC e l'importanza di assumere nella dieta composti con elevata attività antiossidante sono ampiamente riportati in letteratura e rappresentano parametri funzionali utili per i quali sono state indagate le prestazioni dei genotipi di grano, anche in termini di stabilità a fronte dei mutamenti

nelle condizioni ambientali, le cui informazioni in merito sono scarse. I risultati del presente studio hanno indicato che Verna abbia sia un'elevata stabilità che elevati valori di SDF e FRAP, nonché medie elevate di TPC e TFC, ma con una loro espressione più variabile, molto probabilmente favorita in condizioni di maggiori precipitazioni e più alte temperature durante la maturazione della spiga (distintive per il 2018-2019). Gli effetti citoprotettivi e antiproliferativi positivi del Verna su linee cellulari (Leoncini et al., 2012), nonché i significativi effetti benefici sul colesterolo totale, sul colesterolo LDL e sulla glicemia in soggetti umani (Sereni et al., 2016; Sofi et al., 2010), motiverebbero la selezione di questa cultivar, considerando anche il FRAP altamente stabile, insieme a buone caratteristiche di qualità fitosanitataria e tecnologica. Gamba di Ferro ha anche mostrato un'elevata stabilità con medie elevate di IDF e FRAP, un'elevata stabilità sia per i parametri tecnologici sia di resa, mentre la cultivar Guà113, ha mostrato prestazioni medie elevate combinate con un'elevata stabilità per TPC e DPPH. Al contrario, le varietà con resa inferiore alla media, Abbondanza, Andriolo e Palesio hanno tutte mostrato prestazioni inferiori alla media anche per i parametri funzionali, combinati con una scarsa stabilità.

3.6 CONCLUSIONI

Considerando i risultati dell'elaborazione "media versus stabilità" nell'analisi GGE biplot, è stata dimostrata per tre anni consecutivi la stabilità della resa, con valori buoni per una produzione in agricoltura biologica, per diversi dei genotipi studiati. Dei 24 genotipi selezionati, gli ecotipi Piave e Gamba di Ferro, così come la cultivar Verna, hanno mostrato un'elevata stabilità combinata con una media superiore alla media generale di tutti i genotipi, per una serie di parametri qualitativi di interesse. Inoltre, la relativa stabilità, combinata con una media elevata per vari parametri qualitativi di interesse, oltre alla resa, è stata dimostrata anche per Gentil Bianco e Guà 113. Complessivamente, i genotipi sopramenzionati hanno dimostrato di soddisfare i requisiti per un materiale genetico che sia adatto ad agroecosistemi sostenibili, secondo le definizioni del regolamento biologico UE 848/2018, che indica i seguenti attributi: diversità genetica, resistenza alle malattie o tolleranza e potenziale adattativo alle diverse condizioni locali del suolo e del clima. Concludendo, è stato dimostrato il potenziale per produrre alimenti di alta qualità garantendo anche maggiore resilienza delle produzioni di frumento tenero, ma sono necessarie ulteriori indagini, comprendendo anche prove di panificazione.

3.7 BIBLIOGRAFIA

Adom, K.K., Sorrells, M.E., Liu, R.H., 2003. Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Wheat Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 7825–7834. https://doi.org/10.1021/jf030404l

AGRI-Food Data Portal - Cereals Production. Directorate-General for Agriculture and Rural Development of the European Union. Available online: https://agridata.ec.europa.eu/extensions/DashboardCereals/CerealsProduction.html (accessed on 30/09/2021).

Akan, K., Akcura, M., 2018. GGE biplot analysis of reactions of bread wheat pure lines selected from central anatolian landraces of Turkey to leaf rust disease (Puccinia triticina) in multiple location-years. Cereal Research Communications 46, 311–320. https://doi.org/10.1556/0806.46.2018.12

Altieri, M.A., Nicholls, C.I., Henao, A., Lana, M.A., 2015. Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. Agronomy for Sustainable Development 2015 35:3 35, 869–890. https://doi.org/10.1007/S13593-015-0285-2

Assosementi (Associazione Italiana sementi). Disponibile online: http://www.sementi.it/articoli/163/registro-nazionale-varieta-specie-agrarie. (Consultato il 7/10/2021).

Bellon, M.R., Etten, J. Van. 2014. Plant genetic resources and climate change. Jackson, M., Ford-Lloyd, B., Parry, M. Eds., CABI-ebooks, capitolo 8, 137-150. https://doi.org/10.1079/9781780641973.0137

Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "'Antioxidant Power'": The FRAP Assay, ANALYTICAL BIOCHEMISTRY.

Bocci, R., Bussi, B., Petitti, M., Franciolini, R., Altavilla, V., Galluzzi, G., di Luzio, P., Migliorini, P., Spagnolo, S., Floriddia, R., Rosi, G.L., Petacciato, M., Battezzato, V., Albino, A., Faggio, G., Arcostanzo, C., Ceccarelli, S., 2020. Yield, yield stability and farmers' preferences of evolutionary populations of bread wheat: A dynamic solution to climate change. European Journal of Agronomy 121, 126156. https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126156

Borasio, E., 1997. Classificazione merceologica del frumento con indici di qualità. Agricoltura 9: 59-61.

Carranza-Gallego, G., Guzmán, G.I., Garcia-Ruíz, R., Molina, M.G. de, Aguilera, E., 2019. Addressing the Role of Landraces in the Sustainability of Mediterranean Agroecosystems. Sustainability 2019, Vol. 11, Page 6029 11, 6029. https://doi.org/10.3390/SU11216029

Cassman, K.G., 2012. What do we need to know about global food security? Global Food Security 1, 81–82. https://doi.org/10.1016/J.GFS.2012.12.001

CE, regolamento (CE) n. 1126/2007 della Commissione, del 28 settembre 2007. https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:255:0014:0017:EN:PDF35 .

de Lima, V.J., Gracia-Romero, A., Rezzouk, F.Z., Diez-Fraile, M.C., Araus-Gonzalez, I., Kamphorst, S.H., do Amaral Júnior, A.T., Kefauver, S.C., Aparicio, N., Araus, J.L., 2021. Comparative Performance of High-Yielding European Wheat Cultivars Under Contrasting Mediterranean Conditions. Frontiers in Plant Science 0, 1190. https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.687622

Dinelli, G., Segura-Carretero, A., di Silvestro, R., Marotti, I., Arráez-Román, D., Benedettelli, S., Ghiselli, L., Fernadez-Gutierrez, A., 2011. Profiles of phenolic compounds in modern and old common wheat varieties determined by liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1218, 7670–7681. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.065

Ding, M., Tier, B.; Yan, W.; Wu, H.X.; Powell, M.B.; McRae, T.A., 2008. Application of GGE biplot analysis to evaluate Genotype (G), Environment (E), and G×E interaction on Pinus radiata: a case study. New N Z J For Sci. 2008, 38, 132–142. Available from: http://www.scionresearch.com/data/assets/pdf_file/0007/5596/NZJFS_38_12008_Ding_et_al_132-142.pdf

Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., Chun, O.K., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. Journal of Food Composition and Analysis 24, 1043–1048. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2011.01.008

Frutos, E., Galindo, M.P., Leiva, V., 2014. An interactive biplot implementation in R for modeling genotype-by-environment interaction. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment 28, 1629–1641. https://doi.org/10.1007/s00477-013-0821-z

Ghiselli, L., Rossi, E., Whittaker, A., Dinelli, G., Baglio, A.P., Andrenelli, L., Benedettelli, S., 2016. Nutritional characteristics of ancient tuscan varieties of triticum aestivum L. Italian Journal of Agronomy 11, 237–245. https://doi.org/10.4081/ija.2016.750

Giraldo, P., Benavente, E., Manzano-Agugliaro, F., Gimenez, E., 2019. Worldwide research trends on wheat and barley: A bibliometric comparative analysis. Agronomy. https://doi.org/10.3390/agronomy9070352

Gitonga*, H.W., Ojwang, P.P.O., Macharia, G.K., Njau, P.N., 2016. Evaluation of advanced bread wheat genotypes for resistance to stem rust and yield stability. African Journal of Plant Science 10, 111–120. https://doi.org/10.5897/AJPS2016.1398

Hristov, J., Toreti, A., Pérez Domínguez, I., Dentener, F., Fellmann, T., Elleby, C., Ceglar, A., Fumagalli, D., Niemeyer, S., Cerrani, I., Panarello, L., Bratu, M., 2020. Analysis of climate change impacts on EU agriculture by 2050 JRC PESETA IV project-Task 3. https://doi.org/10.2760/121115

Kahiluoto, H., Kaseva, J., Balek, J., Olesen, J.E., Ruiz-Ramos, M., Gobin, A., Kersebaum, K.C., Takáč, J., Ruget, F., Ferrise, R., Bezak, P., Capellades, G., Dibari, C., Mäkinen, H., Nendel, C., Ventrella, D., Rodríguez, A., Bindi, M., Trnka, M., 2019. Decline in climate resilience of european wheat. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 116, 123–128. https://doi.org/10.1073/pnas.1804387115

Koutis, K., Mavromatis, A.G., Baxevanos, D., Koutsika-Sotiriou, M., Koutis, K., Mavromatis, A.G., Baxevanos, D., Koutsika-Sotiriou, M., 2012. Multienvironmental evaluation of wheat landraces by GGE Biplot Analysis for organic breeding. Agricultural Sciences 3, 66–74. https://doi.org/10.4236/AS.2012.31009

Lancashire, P.D., Bleiholder, H., Langeluddecke, P., Stauss, R., van den Boom, T., Weber, E., Witzen-Berger, A., 1991. A uniform decimal code for growth stages of crops

and weeds. Ann. Appl. Biol. 119 (3), 561–601. doi:10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x

Lee, S.C.; Prosky, L.; De Vries, J.W. Determination of total, soluble and insoluble fibre in foods-enzymatic–gravimetric method. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1992, 75, 395-416.

Leoncini, E., Prata, C., Malaguti, M., Marotti, I., Segura-Carretero, A., Catizone, P., Dinelli, G., Hrelia, S., 2012. Phytochemical Profile and Nutraceutical Value of Old and Modern Common Wheat Cultivars. PLoS ONE 7. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045997

Migliorini, P., Spagnolo, S., Torri, L., Arnoulet, M., Lazzerini, G., Ceccarelli, S., 2016. Agronomic and quality characteristics of old, modern and mixture wheat varieties and landraces for organic bread chain in diverse environments of northern Italy. European Journal of Agronomy 79, 131–141. https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.05.011

Muhammad, S., Mohammad, F., 2018. Identifying stable bread wheat derived lines across environments through GGE biplot analysis. Sarhad Journal of Agriculture 34, 63–69. https://doi.org/10.17582/JOURNAL.SJA/2018/34.1.63.69

Neisse, A.C., Kirch, J.L., Hongyu, K., 2018. AMMI and GGE Biplot for genotype × environment interaction: a medoid–based hierarchical cluster analysis approach for high–dimensional data. Biometrical Letters 55, 97–121. https://doi.org/10.2478/bile-2018-0008

Prosky, L.; Asp, N-G.; Schweizer, T.F, De Vries, J.W.; Furda, L. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fibre in foods and food products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1988, 71, 1017-1023.

Ray, D.K., Gerber, J.S., Macdonald, G.K., West, P.C., 2015. Climate variation explains a third of global crop yield variability. Nature Communications 6. https://doi.org/10.1038/ncomms6989

Reynolds, M.P., Lewis, J.M., Ammar, K., Basnet, B.R., Crespo-Herrera, L., Crossa, J., Dhugga, K.S., Dreisigacker, S., Juliana, P., Karwat, H., Kishii, M., Krause, M.R., Langridge, P., Lashkari, A., Mondal, S., Payne, T., Pequeno, D., Pinto, F., Sansaloni, C., Schulthess, U., Singh, R.P., Sonder, K., Sukumaran, S., Xiong, W., Braun, H.J.,

2021. Harnessing translational research in wheat for climate resilience. Journal of Experimental Botany 72, 5134–5157. https://doi.org/10.1093/JXB/ERAB256

Senapati, N., Semenov, M.A., 2020. Large genetic yield potential and genetic yield gap estimated for wheat in Europe. Global Food Security 24. https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.100340

Sereni, A., Cesari, F., Gori, A.M., Maggini, N., Marcucci, R., Casini, A., Sofi, F., 2016. Cardiovascular benefits from ancient grain bread consumption: findings from a double-blinded randomized crossover intervention trial. http://dx.doi.org/10.1080/09637486.2016.1216528 68, 97–103. https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1216528

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Ravent6s, R.M., 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent.

Sofi, F., Ghiselli, L., Cesari, F., Gori, A.M., Mannini, L., Casini, A., Vazzana, C., Vecchio, V., Gensini, G.F., Abbate, R., Benedettelli, S., 2010. Effects of Short-Term Consumption of Bread Obtained by an Old Italian Grain Variety on Lipid, Inflammatory, and Hemorheological Variables: An Intervention Study. https://home.liebertpub.com/jmf 13, 615–620. https://doi.org/10.1089/JMF.2009.0092

Spina, A., Dinelli, G., Palumbo, M., Whittaker, A., Cambrea, M., Negri, L., Bosi, S., 2021. Evaluation of standard physico-chemical and rheological parameters in predicting bread-making quality of durum wheat (Triticum turgidum L. ssp. durum [Desf.] Husn.). International Journal of Food Science & Technology 56, 3278–3288. https://doi.org/10.1111/IJFS.15018

Wolfe, M.S., Baresel, J.P., Desclaux, D., Goldringer, I., Hoad, S., Kovacs, G., Löschenberger, F., Miedaner, T., Østergård, H., Lammerts van Bueren, E.T., 2008. Developments in breeding cereals for organic agriculture. Euphytica 2008 163:3 163, 323–346. https://doi.org/10.1007/S10681-008-9690-9

Yan, W., Hunt, L.A., Sheng, Q., Szlavnics, Z., 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. Crop Science 40, 597–605. https://doi.org/10.2135/cropsci2000.403597x

Zheng, Z., Humphrey, C.W., King, R.S., Richard, J.L., 2005. Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. Mycopathologia 2005 159:2 159, 255–263. https://doi.org/10.1007/S11046-004-8666-0

4 POPOLAZIONI EVOLUTIVE: UNA SOLUZIONE PER L'ADATTAMENTO DEL FRUMENTO TENERO A DIVERSI CONTESTI AMBIENTALI

4.1 INTRODUZIONE

4.1.1 MODELLI DI AGRICOLTURA A RIDOTTO IMPATTO AMBIENTALE: OPPORTUNITÀ E CRITICITÀ

Il presente studio vuole contribuire allo sviluppo di soluzioni innovative per la coltivazione dei cereali, in particolare del frumento tenero (Triticum aestivum L.), in quanto spesso le più diffuse tecniche colturali attualmente adottate risultano essere poco sostenibili, sia dal punto di vista ambientale, ma anche sociale e economico, e non sempre idonee a fornire un prodotto finale avente un elevato valore qualitativo.

Per questo motivo nel tempo sono stati effettuati studi, analisi e sperimentazioni di sistemi di coltivazione alternativi a quelli più comuni; tra questi, ve ne sono alcuni che prevedono la coesistenza e la crescita simultanea di differenti genotipi di frumento tenero, mescolati tra loro, all'interno di uno stesso appezzamento agricolo.

Su questo principio si basa il cosiddetto metodo del "miglioramento genetico evolutivo", secondo il quale ad una maggiore diversità genetica corrisponde maggiore adattabilità e quindi maggiore resistenza e resilienza del sistema colturale a differenti tipologie di stress. In funzione di questo, i miscugli varietali utilizzati attraverso tale tecnica presentano, in campo, maggiore capacità di affrontare e superare autonomamente le avversità, una produttività più costante negli anni rispetto alle varietà coltivate in purezza e quindi minore vulnerabilità nei confronti dei cambiamenti climatici, sia nel breve che nel lungo periodo (Ceccarelli e Grando, 2020). Parallelamente, con tali metodi, è possibile ridurre i costi di produzione, limitare gli impatti ambientali e implementare la biodiversità(Phillips and Wolfe, 2005).

I benefici derivanti dalla coltivazione in contemporanea di diverse varietà di frumento, inoltre, potrebbero non riguardare esclusivamente gli aspetti agronomici, ambientali ed economici, in quanto vi sono ipotesi secondo cui tale tecnica sarebbe in grado di incidere positivamente anche sulla salute umana, grazie a peculiari caratteristiche nutraceutiche possedute dal prodotto che si ottiene dai cosiddetti miscugli.

Un esempio di modello agricolo a ridotto impatto ambientale e che è normato a livello europeo è quello dell'agricoltura biologica.

Il Codex Alimentarius Commission (FAO, 1999) ha definito l'agricoltura biologica: "Trattasi di un sistema di gestione della produzione di tipo olistico, che promuove ed implementa la salute degli agroecosistemi, la biodiversità, i cicli biologici e la vitalità del suolo. Essa predilige l'uso di pratiche gestionali come alternativa all'impiego di input esterni, tenendo conto che le condizioni regionali richiedono sistemi adatti a livello locale. In tal senso è possibile ricorrere a tecniche agronomiche, biologiche e meccaniche, in sostituzione all'uso di sostanze sintetiche, per soddisfare qualunque specifica esigenza dell'interno del sistema stesso".

L'agricoltura biologica è un sistema di produzione che mira alla salvaguardia della funzionalità degli ecosistemi e della fertilità del suolo, nonché al benessere delle persone e degli animali, vietando l'impiego di fertilizzanti e fitofarmaci di sintesi e rigenerando il suolo prevalentemente attraverso il miglioramento del contenuto in sostanza organica, che aumenta la capacità di ritenzione idrica e riduce la probabilità di perturbazioni del sistema suolo (Mäder et al., 2002).

Lammerts van Bueren e Myers (2012) hanno evidenziato come la selezione delle cultivar sia più difficoltosa per i sistemi a basso input rispetto a quelli convenzionali. Questo perché ad esempio l'agricoltura biologica, nello specifico, si discosta dal concetto di modifica ed aggiustamento dell'ambiente a favore della coltura. Non essendo infatti possibile ricorrere all'impiego di fertilizzanti o fitofarmaci di sintesi, le condizioni di coltivazione sono meno controllabili e maggiormente mutevoli. Di conseguenza, le rese delle produzioni biologiche si attestano, in media, intorno a valori più bassi di circa il 20% rispetto a quelle dei sistemi convenzionali, pur variando in funzione delle colture e delle regioni (Tuomisto et al., 2012).

In risposta a tale criticità, l'agricoltura biologica cerca di incrementare la resilienza e la capacità di auto-regolazione degli agro-ecosistemi nel lungo periodo attraverso la diversità funzionale presente in campo e nel suolo.

L'adattamento degli organismi biologici avviene sia attraverso i cambiamenti evolutivi, indotti dalla selezione naturale che agisce sui caratteri quantitativi, sia tramite risposte ecologiche di tipo plastico (fisiologiche ad esempio) (Ceccarelli et al., 2010). Di conseguenza, favorire la diversità tra le piante, a livello di campo e di azienda agricola, diviene estremamente importante in quanto aumenta la probabilità di far emergere genotipi in grado di adattarsi alle variazioni ambientali, a condizioni sfavorevoli e quindi di produrre raccolti soddisfacenti e stabili nel tempo.

In questa prospettiva, la legge nazionale n°194/2015 (Disposizioni per la tutela e la valorizzazione della biodiversità di interesse agricolo e alimentare), sancisce l'importanza dell'agro-biodiversità e della sua tutela. Attraverso tale normativa vengono riconosciuti e promossi:

- lo studio, il recupero e la trasmissione di conoscenze sulle risorse genetiche locali;
- lo studio e la diffusione di pratiche proprie dell'agricoltura biologica e di altri sistemi colturali a basso impatto ambientale e volti al risparmio idrico, alla minore emissione di anidride carbonica, alla maggiore fertilità dei suoli e al minore utilizzo di imballaggi per la distribuzione e per la vendita dei prodotti;
- lo studio, il recupero e la trasmissione dei saperi tradizionali relativi alle colture agrarie, alla naturale selezione delle sementi per fare fronte ai mutamenti climatici;
- la corretta alimentazione.

4.1.2 VARIETÀ LOCALI E RIVOLUZIONE VERDE

Le varietà locali di frumento tenero, che oggi risentono di notevole interesse, hanno alcune caratteristiche che le contraddistinguono dalle varietà attualmente maggiormente coltivate. Generalmente si considerano varietà locali di frumento tenero genotipi a taglia alta, con bassa produttività e che sono stati selezionati prima della cosiddetta Rivoluzione Verde. Con questo termine si intende il movimento che interessò il settore agricolo, negli anni '50-'60 del secolo scorso, e che portò numerose innovazioni in termini di miglioramento genetico del grano. L'inizio della Rivoluzione Verde, nel 1944, ha luogo in Messico e si basa su un progetto realizzato al fine di aumentare le produzioni di frumento, che portarono il Messico a raggiungere l'autosufficienza di produzione e garantire un'esportazione del prodotto. Il movimento interessò le principali colture agrarie, frumento, mais e riso, che registrarono valori di produttività sempre crescenti grazie al miglioramento genetico da cui si sono ottenute piante caratterizzate da resa elevata, taglia bassa, con un conseguente aumento della resistenza all'allettamento. I metodi innovativi e più performanti, con cui erano coltivate queste colture, prevedevano l'impiego di sistemi irrigui con apporti elevati di fertilizzanti e l'utilizzo di prodotti chimici per proteggere le colture agrarie da malattie (Pingali, 2012). L'uso intensivo dei terreni diffusosi nei decenni a seguire, ha avuto conseguenze importanti anche sulla biodiversità, la quale, a causa della alterazione e frammentazione degli habitat, nonché dell'inquinamento o dell'introduzione di specie alloctone, ha subito drastiche riduzioni. La lista rossa IUCN delle specie minacciate

conferma che l'agricoltura intensiva è una delle principali cause per il declino delle specie negli ambienti coltivati (Bengtsson et al., 2005).

Le varietà locali *pre*- "Rivoluzione Verde", risultano ben adattate per l'ambiente in cui si sono evolute o in cui sono state selezionate, idonee per un sistema agricolo a basso impatto ambientale grazie alla loro rusticità, con una generale costanza di produzione negli anni e una ridotta richiesta di input.

Tra le varietà locali o di antica costituzione, gli ecotipi in particolare hanno legami profondi con un determinato territorio e la sua popolazione, per un periodo di tempo minimo di 25-30 anni. Un ecotipo di frumento, in effetti, rappresenta una popolazione di genotipi omozigoti, per alleli diversi (a causa dell'autogamia della specie), coltivata nell'areale di riferimento per diverse decine di anni e che non abbia preso parte a programmi di miglioramento genetico.

Tali popolazioni si caratterizzano per un'elevata variabilità genetica, che gli permette di continuare ad evolversi ed adattarsi in risposta alle pressioni selettive imposte dagli agricoltori e dall'ambiente. Rappresentano quindi una preziosa fonte da cui estrarre caratteri potenzialmente utili per rispondere in futuro sia a stress biotici e sia abiotici (Barcaccia e Falcinelli, 2011).

Le varietà di antica costituzione possono quindi essere utilizzate come risorsa di variabilità genotipica, anche per caratteri legati alle proprietà salutistiche della farina, come il contenuto di composti fenolici (Dinelli et al., 2011).

Le varietà di antica costituzione non offrono prestazioni soddisfacenti nei sistemi produttivi convenzionali, in cui si ricorre ad alti livelli di concimazione di sintesi, in quanto non riescono ad utilizzare efficientemente elevati quantitativi di azoto (Benedettelli et al., 2013). Tuttavia, uno studio comparativo tra varietà di antica costituzione e moderne, cresciute in condizioni di basso input di fertilizzanti, ha messo in evidenza che i genotipi di antica costituzione possono eguagliare quelli moderni per differenti tratti agronomici (ad esempio nel peso dei mille semi) ed essere caratterizzati da un maggior valore nutraceutico in termini di contenuto di polifenoli e flavonoidi (di Silvestro et al., 2017).

4.1.3 MIGLIORAMENTO GENETICO EVOLUTIVO

Per migliorare la sostenibilità del sistema agro-alimentare biologico e per adattarsi agli impatti dei cambiamenti climatici occorre ricercare ed adottare approcci innovativi. In tal senso, potrebbe risultare conveniente sfruttare a nostro vantaggio il potenziale

evolutivo degli organismi viventi, in particolare delle nostre colture, selezionando per l'adattamento specifico delle cultivar (Ceccarelli, 2014). Questo approccio è stato sviluppato per la prima volta da Herbert Webber (1908) e sviluppato successivamente da Suneson nel 1956 (Suneson, 1956).

La metodologia, definita oggi "miglioramento genetico evolutivo", si basa sull'utilizzo di germoplasma diversificato, che, anno dopo anno, viene sottoposto alla selezione naturale attraverso la continua raccolta e risemina della progenie, direttamente nei campi degli agricoltori in cui il materiale selezionato verrà realmente coltivato.

Così facendo, dovrebbe essere possibile ottenere un miglioramento a livello genotipico, in quanto tali popolazioni evolveranno, adattandosi in maniera positiva alle specifiche condizioni ambientali del luogo (tipologia di suolo, pratiche agronomiche, precipitazioni, temperature) in cui vengono coltivate (Ceccarelli, 2014).

Il miglioramento genetico evolutivo rientra in un concetto più ampio, definito "gestione dinamica" delle risorse fitogenetiche, che ha come obiettivo quello di mantenere e "imitare" i processi naturali responsabili della diversificazione e conservazione della diversità genetica. Il principio basilare su cui si fonda la gestione dinamica è la suddivisione e coltivazione di sottopopolazioni, all'interno di ambienti differenti. Il fine è conservare ed implementare la variabilità genetica: nonostante vi sia il rischio di perdere alcuni caratteri, a causa della selezione e della deriva, ci si aspetta possano comparire, attraverso questa metodica, nuovi genotipi e forme alleliche, grazie ai fenomeni di ricombinazione, mutazione e migrazione.

Mentre la popolazione iniziale evolve, i selezionatori e gli agricoltori, inoltre, possono praticare al suo interno la selezione artificiale attraverso criteri variabili di volta in volta, sviluppando per esempio varietà o sottopopolazioni migliorate, sempre più adattate alle condizioni ambientali ed alle esigenze degli agricoltori.

Ciò permette su scala collettiva di salvaguardare la variabilità genetica sia all'interno delle cultivar, sia tra di esse, conciliando la tutela dell'agro-biodiversità e l'adattamento ai cambiamenti climatici con l'incremento della sostenibilità dei sistemi agricoli (Witcombe et al., 1996).

4.2 SCOPO

L'obiettivo principale della sperimentazione consiste nella valutazione e nella valorizzazione di diverse tipologie di accessioni di frumento tenero per la coltivazione

in sistemi produttivi a ridotto impatto ambientale e che permettano di minimizzare l'impiego di mezzi tecnici, garantendo elevati standard produttivi e qualitativi.
Nello specifico, con questo studio si vuole effettuare un'indagine sull'effettiva capacità di una popolazione di frumento tenero di evolversi in ambienti geograficamente distinti ma ravvicinati, al fine di stabilire un'efficace strategia per la produzione di popolazioni evolutive che garantiscano buone performance produttive, elevata adattabilità a contesti ambientali mutevoli ed elevate caratteristiche qualitative dei prodotti raccolti.
Ad oggi, la carenza di varietà di frumento tenero specificatamente adattate all'agricoltura biologica, costringe talvolta gli operatori del settore ad utilizzare varietà sviluppate per l'agricoltura convenzionale.
Tali varietà, in agricoltura biologica, senza una concimazione massiva con i fertilizzanti azotati di sintesi, spesso non riescono a fornire produzioni soddisfacenti. La mancanza di idonei genotipi, così come la difficoltà di realizzare un'agricoltura redditizia ad alto input, rappresentano inoltre le cause principali del costante e progressivo abbandono della cerealicoltura in gran parte delle aree marginali (aree collinari e montane).
La costituzione di nuove varietà e popolazioni, adattabili a sistemi agricoli a basso input e caratterizzate da un'accettabile e sostenibile produttività, potrebbe rappresentare un'opportunità per il rilancio della cerealicoltura nelle aree marginali.
Questa attività di ricerca permetterà di comprendere meglio le differenze che il contesto ambientale determina su semplici varietà e su popolazioni evolutive, considerando i principali parametri produttivi e le caratteristiche salutistiche e nutrizionali della granella.
Parallelamente, si andrà a valutare l'influenza dell'ambiente nei confronti di tali popolazioni e le opportunità che queste offrono dal punto di vista della sostenibilità e specialmente nel contesto attuale dei cambiamenti climatici.

4.3 MATERIALI E METODI

4.3.1 PROVE DI CAMPO

Nelle attività svolte sono state impiegate popolazioni segreganti di frumento derivanti da incroci di 5 varietà di frumento a taglia alta quali Andriolo, Verna, Gentil Rosso, Inallettabile e Frassineto. Questi genotipi sono stati scelti tra le varietà di antica costituzione, poiché, oltre a possedere una elevata variabilità genetica, risultano potenzialmente più adatte a diversi contesti territoriali e a sistemi agronomici a ridotto impiego di input, poiché coltivati nei decenni passati in simili condizioni estensive.

Inoltre, sono stati scelti sulla base di precedenti studi, che ne evidenziano le elevate proprietà qualitative e l'alto contenuto di composti funzionali (Leoncini et al., 2012).
Le prove di campo si sono svolte in un periodo di tempo corrispondente a tre annate agrarie, in cui sono state effettuate diverse analisi chimiche e rilievi di campo in ciascun anno di sperimentazione. Le colture sono state quindi monitorate lungo un arco temporale che va dal 15 ottobre 2016 al 15 luglio 2019. Le semine sono state realizzate presso quattro aziende agricole, tutte a conduzione biologica, situate in diversi territori e ambienti pedo-climatici, in modo da poter osservare l'influenza degli effetti ambientali sul materiale coltivato e raccolto. Di seguito viene riportata la posizione geografica di ognuna di esse:

- Azienda Agricola Ca' dei fiori: Via Casa Florio, 74 40040 Querciola (BO), LAT 44.199000°, LONG 10.875293°
- Azienda Agricola Cenacchi Andrea: Via Bonaccorsi, 17, 40050 Argelato (BO), LAT 44.665759°, LONG 11.328687°
- La Collina Società Cooperativa Agricola: Via C. Teggi, 38/42, 42123 Codemendo (RE), LAT 44.687959°, LONG 10.566706°
- Arvaia Società Cooperativa Agricola: Via Olmetola 16, 40132 Borgo Panigale (BO), LAT 44.506914°, LONG 11.257372

Figura 4-A Ubicazione delle quattro aziende coinvolte nella ricerca

4.3.2 GERMOPLASMA COLTIVATO NELLA PROVA

Il principale oggetto dello studio consiste in una popolazione evolutiva di frumento tenero selezionata dal gruppo di ricerca di Fisiologia vegetale del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Argo-Alimentari dell'Università di Bologna, denominata Bioadapt, ottenuta da incroci reciproci di 5 varietà di frumento di antica costituzione e a taglia alta quali Andriolo, Verna, Frassineto, Gentil Rosso e Inallettabile.

Sono stati quindi presi in esame e confrontati tra loro:

- Popolazione definita "Bioadapt Evolutivo", ossia la popolazione Bioadapt coltivata in ogni singola località della prova e di cui è stata utilizzata, per ciascuna azienda, la granella prodotta nell'annata precedente per la semina dell'annata successiva;
- 5 varietà di frumento tenero coltivate separatamente, quali Andriolo, Verna, Gentil Rosso, Inallettabile e Frassineto;
- Miscuglio definito "Bioadapt Originale", ottenuto all'inizio di ogni nuova annata agraria dall'impiego dei semi delle cinque varietà "in purezza", mescolati in uguali proporzioni prima della semina.

<u>Descrizione delle varietà oggetto di studio</u>

Sono di seguito brevemente descritte le varietà di frumento impiegate per lo studio e per le analisi di laboratorio e descritte in modo più ampio nel capitolo precedente:

- Frassineto: varietà a taglia alta ottenuta da una selezione di Gentil Rosso. Presenta spiga mutica e ha maturazione medio-tardiva. Mostra una buona produttività e ben si adatta a diversi areali di coltivazione.
- Inallettabile: varietà a taglia alta con spiga e granella dal colore chiaro. Presenta spiga aristata e ha maturazione tardiva. Presenta una produttività elevata e ottima adattabilità a diversi ambienti.
- Gentil Rosso: varietà locale toscana di taglia elevata che spesso è soggetta ad allettamento. Presenta spiga aristata, granella di colore scuro, con maturazione tardiva.
- Andriolo: presenta uno sviluppo vegetativo ridotto e quindi è meno suscettibile all'allettamento. Deriva dalla varietà Gentil Bianco. È caratterizzato da spiga e granella chiara, maturazione medio-tardiva.
- Verna: di taglia medio-alta e simile all'Inallettabile per i caratteri produttivi. Presenta spiga mutica e rossastra.

4.3.3 SCHEMA SPERIMENTALI E RILIEVI AGRONOMICI

Il disegno sperimentale utilizzato per la prova di campo è “split-plot”, in cui le aziende rappresentano il “main plot” e le 5 varietà assieme alle due popolazioni sopradescritte costituiscono il “sub plot”. Inoltre, le aziende sono considerate come fattore ad effetti casuali, mentre le varietà come il fattore ad effetti fissi. Sono state seminate 7 parcelle in ogni azienda con una densità di semina pari a 150 kg/ha, ciascuna di 1000 m2 di superficie, per le 5 varietà in purezza, la popolazione e il miscuglio sopra citati. È stato adottato un piano di rotazione per il frumento, comprendente anche una coltura da rinnovo e una miglioratrice del terreno; sono state infatti impiegate, come coltura da rinnovo la canapa mentre come coltura miglioratrice invece è stato scelto il fagiolo da granella. Sono stati effettuati 5 campionamenti randomizzati, all’interno di ogni singola parcella, ciascuno su un’area di saggio di dimensione di 1 m^2. Durante la fase vegetativa sono stati registrati valori biometrici tramite l’impiego di apposite schede colturali, in diverse fasi fenologiche BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt, und Chemische Industrie), di seguito riportati:

- Indice di allettamento (%), misurato alla fase fenologica BBCH 77 (fine maturazione lattea);
- Altezza della pianta (cm), misurato alla fase fenologica BBCH 89 (piena maturazione);
- Lunghezza della spiga (cm), misurato alla fase fenologica BBCH 89 (piena maturazione);
- Percentuale di copertura sulla superficie e tipologia di erbe infestanti, misurato alla fase fenologica BBCH 89 (piena maturazione);
- Incidenza delle patologie crittogame (0-10), misurato alla fase fenologica BBCH 77 (fine maturazione lattea).

Per l’annotazione dell’altezza, la lunghezza della spiga e l’incidenza dei patogeni sono state scelte casualmente cinque piante per ogni area di saggio, mentre per la percentuale di copertura, di allettamento e la tipologia di infestanti si è proceduto direttamente tramite analisi visiva di ciascuna area di saggio. L’incidenza dei patogeni è stata valutata su una scala di punti da 0 a 10, considerando la percentuale di tessuti vegetali colpita da agenti patogeni del frumento, dove 0 = assenza di patogeni e 10 = pianta completamente infettata.

Una volta conclusosi il ciclo colturale e raccolte le cariossidi delle piante nell’area di saggio, sono stati annotati:

- Resa in granella (t/ha);
- Peso di mille semi (g);
- Peso ettolitrico (kg/hl);

Per ciascuna località e appezzamento di coltivazione del frumento, sono stati monitorati nei tre anni di prova l'andamento delle precipitazioni e delle temperature massime, minime e medie, nel corso della stagione di coltivazione del frumento. I dati meteorologici sono stati rilevati dalle stazioni della rete di monitoraggio di ARPAE-ER (Agenzia Regionale per la Prevenzione, l'Ambiente e l'Energia dell'Emilia-Romagna) localizzate vicino alle 4 aziende coinvolte dalla ricerca. In aggiunta, sono state considerate anche le serie storiche dei dati di temperatura e precipitazioni per il trentennio 1985-2016, provenienti dal server Erg5_Eraclito. Il server Erg5 fornisce una stima affidabile sugli andamenti di temperatura e precipitazioni delle località in cui sono stati collocati i campi sperimentali, calcolandoli a partire dai dati della rete di stazioni meteorologiche vicine, mediante interpolazione spaziale dei dati; queste tecniche statistiche, a partire da valori noti di alcuni punti in un dato spazio, permettono di determinare i valori delle variabili considerate nei punti appartenenti allo stesso spazio in cui certi parametri non sono stati misurati direttamente (Ben Hamouda et al., 2019). Nel periodo di fine inverno delle tre annate agrarie considerate, sono stati anche effettuati i prelievi di terreno, per monitorare i principali parametri di fertilità fisico-chimica del suolo in cui erano coltivate le parcelle sperimentali di frumento, prima dell'inizio della fase di levata. Oltre alla tessitura del suolo, sono stati misurati i seguenti parametri:

- Azoto totale (‰ sulla sostanza secca)
- Azoto Ammoniacale (g/kg)
- Azoto nitrico (mg/kg di azoto totale)
- pH del suolo
- Sostanza organica (% sulla sostanza secca)
- Fosforo assimilabile (P_2O_5) (mg/kg di sostanza secca)
- Potassio assimilabile (K_2O) (mg/kg di sostanza secca)
- Rapporto Carbonio/Azoto (C/N)

4.3.4 ANALISI DEI MACRO-NUTRIENTI E DEI COMPOSTI FUNZIONALI

Per procedere con le analisi di tipo nutrizionale, per ciascun campione, sono state prese in considerazione 2 repliche biologiche, ottenute combinando le aree di saggio 1,2 e 3 e le aree di saggio 4 e 5, rispettivamente.

La granella prodotta in ogni parcella è stata raccolta e successivamente macinata, tramite un mulino da laboratorio con macine a pietra, ottenendo così la farina integrale di ogni cultivar.

Ogni campione di farina è stato analizzato per la caratterizzazione di diverse componenti nutrizionali e funzionali. I metodi adottati per lo svolgimento delle analisi rientrano tra quelli riconosciuti ufficialmente dall'American Association of Cereal Chemists (AACC Intl.) e i protocolli impiegati sono quelli approvati dall'Association of Official Analytical Chemists (AOAC INTERNATIONAL).

• Amido totale

L'amido, che rappresenta la maggiore fonte di carboidrati nella dieta, costituisce circa il 65-75% della cariosside e viene accumulato principalmente nell'endosperma, sotto forma di granuli (Dupont and Altenbach, 2003). L'amido è costituito da due polimeri, amilosio e amilopectina, il primo caratterizzato da una struttura molecolare lineare, mentre il secondo da una struttura ramificata. La determinazione dell'amido totale è stata realizzata mediante l'utilizzo della tecnologia NIR, impiegando un dispositivo Infratec 1241 Grain Analyzer (FOSS Analytical A/S, Hillerød, Denmark) e utilizzando le linee guida del produttore. Il dato è espresso come percentuale di amido nella farina integrale.

• Lipidi

I lipidi rappresentano solo il 2-3% della cariosside e sono accumulati sotto forma di sferosomi, presenti in maggioranza nel germe e nell'aleurone. La frazione lipidica del grano è composta da trigliceridi e fosfolipidi ma anche antiossidanti come tocoli e tocotrienoli, chiamati nell'insieme tocoferoli o vitamina E.

I lipidi totali sono stati misurati seguendo il metodo di Folch (FOLCH et al., 1957), adattato ai cereali secondo la procedura ufficiale AOAC. Per ogni campione sono stati estratti i lipidi mescolando, all'interno di provette a fondo conico aventi capacità di 50ml, 500mg di farina con 10ml di una soluzione di Cloroformio-Metanolo in rapporto 2:1 (v/v). La miscela ottenuta è stata posta in agitazione per venti minuti ed in seguito centrifugata a 10'000 rpm per 10 minuti. Terminato questo passaggio, il surnatante è stato prelevato, filtrato tramite il filtro Büchner e versato in becher da 50ml

precedentemente tarati. Questi sono stati collocati al di sotto di una cappa a flusso laminare finché la soluzione non è completamente evaporata. Dopodiché i becher sono stati pesati e, sottraendo la tara, è stato calcolato per ogni campione il contenuto in lipidi. Infine, il valore ottenuto è stato espresso in percentuale di lipidi nella farina integrale (g/100 g).

• Proteine

Le molecole proteiche presenti nelle cariossidi del frumento tenero possono essere suddivise in 4 differenti gruppi, che differiscono per la loro solubilità: albumine e globuline (proteine solubili), aventi funzioni enzimatiche, e gliadine e glutenine (proteine insolubili), che possiedono funzione di riserva. Le albumine e le globuline si trovano principalmente nell'embrione e nello strato aleuronico. Le gliadine e le glutenine rappresentano l'80% della componente proteica del frumento e sonoprincipalmente localizzate nell'endosperma.

Il contenuto proteico delle farine è stato determinato attraverso l'utilizzo della tecnologia NIR, impiegando un dispositivo Infratec 1241 Grain Analyzer (FOSS Analytical A/S, Hillerød, Denmark) e utilizzando le linee guida del produttore. Il contenuto proteico è espresso come percentuale di proteine nella farina integrale.

• Fibra alimentare IDF e SDF

La fibra alimentare è la frazione di carboidrati che, non essendo processata dagli enzimi dell'apparato digerente, non viene assimilata e utilizzata come fonte di energia. Le fibre alimentari insolubili vengono classificate sulla base della loro solubilità in acqua: la fibra alimentare insolubile (IDF) è formata prevalentemente da cellulosa e lignina, mentre la fibra alimentare solubile (SDF) risulta costituita da emicellulosa, pectina, mucillagini, beta-glucani e arabinoxilani.

Nella cariosside le fibre sono principalmente presenti nel pericarpo; a livello nutraceutico risultano benefiche per un corretto metabolismo.

Il contenuto delle due differenti frazioni di fibre, e conseguentemente quello della fibra totale (TDF), è stato misurato per ciascun campione seguendo i metodi ufficiali AACC 32-05 e AACC 32-21 (AACC, 2000), basati su processi enzimatici e gravimetrici inizialmente sviluppati da Prosky *et al.* (1988). È stato impiegato il kit di analisi "Total Dietary Fiber", prodotto dalla Megazyme (Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland).

Per ogni campione è stato pesato 1 g di farina integrale ed è stato sottoposto a digestione ad alta temperatura (60-100 °C), attraverso l'uso di α-amilasi termostabile,

proteasi ed amiloglucosidasi; in questo modo è stato possibile rimuovere dal campione le proteine e l'amido. Successivamente, la soluzione è stata filtrata attraverso celite (alluminato tricalcico) all'interno di crogiuoli: la parte residua sul filtro consiste nel residuo IDF, mentre la frazione acquosa filtrata, dopo esser stata addizionata con etanolo al 95% caldo, che causa la precipitazione delle componenti fibrose solubili, rappresenta il residuo SDF. Entrambi i residui sono stati essiccati in stufa alla temperatura di 40°C per 18 ore e successivamente quantificati con bilancia.

La massa delle due frazioni, successivamente, è stata corretta sottraendo il contenuto in peso delle ceneri e del residuo proteico ancora legati alla fibra, per determinare in modo preciso, per ogni campione, il contenuto di fibra alimentare solubile ed insolubile. Infine, sommando i due valori ottenuti, è stato possibile calcolare il valore totale della fibra alimentare (TDF). Tutti i contenuti in fibra sono espressi come percentuale di fibra nella farina integrale.

• Polifenoli

I polifenoli sono un gruppo eterogeneo di molecole derivate dal benzene, con uno o più gruppi idrossilici legati all'anello, che può essere presente nella forma ridotta (fenolo) o nella forma ossidata (chinone). Sulla base del numero degli anelli fenolici e delle altre molecole ad essi legati, si possono disinguere flavonoidi, acidi fenolici, stilbeni e lignani (Adom e Liu, 2002). I polifenoli sono un gruppo di più di 5000 sostanze organiche diverse, presenti nei vegetali, che, pur non essendo direttamente coinvolti nei processi metabolici umani, sono molto importanti nella dieta per la loro funzione antiossidante positiva sulla salute umana (Ozcan et al., 2014).

Nella cariosside di frumento, i composti fenolici sono concentrati principalmente negli strati più esterni della cariosside e possono essere presenti in forma solubile (liberi) o insolubile (legati). Elevate proprietà benefiche sono state dimostrate per entrambe le frazioni fenoliche (Kroon et al., 1997).

L'estrazione dei polifenoli liberi e legati è stata eseguita seguendo la procedura sviluppata da Dinelli et al. (2009). Per ogni campione è stato pesato 1 g di farina e ad esso sono stati aggiunti 10 ml di etanolo all'80% freddo, affinché si solubilizzassero i polifenoli liberi; in seguito, la miscela è stata posta in agitazione e centrifugata a 10000 rpm per 15 minuti. Il surnatante è stato prelevato e la frazione solida rimanente ("pellet") è stata sottoposta a trattamenti con soluzioni alcaline ed acide, per solubilizzare i composti fenolici legati, che sono stati successivamente estratti tramite diluizione con etilacetato. Il surnatante contenente i polifenoli liberi e quello contenente

i polifenoli legati sono stati fatti evaporare separatamente in cappa a flusso laminare. Terminata l'evaporazione, gli estratti dei polifenoli liberi sono stati risospesi in 10 ml di metanolo 80% (v/v) e filtrati attraverso filtri da 0.20 µm, mentre quelli dei polifenoli legati sono stati semplicemente disciolti in 10 ml di metanolo 100% (v/v); entrambi gli estratti, infine, sono stati conservati in frigo a 3°C fino al momento delle analisi quantitative, che sono state effettuate entro 48h dalla loro ri-sospensione.

L'analisi quantitativa dei composti fenolici iberi e legati è stata realizzata seguendo una tecnica colorimetrica sviluppata da Singleton *et al.* (1999), che prevede l'utilizzo del reagente di Folin-Ciocalteu. Si inizia diluendo all'interno di cuvette per spettrofotometro 40 µl di estratto fenolico con 1.60 ml di acqua distillata; dopodiché, la soluzione risultante viene ossidata aggiungendo 0.1 ml del reagente di Folin-Ciocalteu. Per fermare l'ossidazione, trascorsi cinque minuti, i campioni vengono addizionati con 0.3 ml di una soluzione contenente carbonato di sodio e successivamente lasciati per due ore al buio e a temperatura ambiente. Terminata l'incubazione, tramite spettrofotometro, è stata misurata l'assorbanza a 765 nm della soluzione ottenuta, che risultava di colore blu.

Il dato rilevato, per ogni campione, è stato infine trasformato in contenuto di composti fenolici attraverso una curva di calibrazione, realizzata calcolando i valori di assorbanza a 765 nm di soluzioni aventi differenti concentrazioni note di acido gallico, un acido fenolico utilizzato come "standard". Il risultato finale è stato espresso come rapporto tra i milligrammi di acido gallico equivalente e i 100 g di farina integrale. Sommando il contenuto dei polifenoli legati e dei polifenoli liberi si esprime il contenuto totale di polifenoli del campione.

• Flavonoidi

I flavonoidi sono una famiglia di polifenoli e sono costituiti da due anelli aromatici legati da un eterociclo derivato dalla ciclizzazione di un residuo propanico; sono caratterizzati da un'elevata attività antiossidante dovuta all'attitudine di neutralizzare i radicali liberi (Adom et al., 2003).

Essendo una sottocategoria dei composti fenolici, gli estratti dei polifenoli liberi e legati, ottenuti come descritto nel capitolo precedente, sono stati analizzati anche per la quantificazione dei flavonoidi.

Il protocollo adottato è basato sul metodo colorimetrico descritto inizialmente da Adom *et al.* (2003). Per ogni campione, 500 µl dell'estratto fenolico sono stati miscelati con una soluzione a base di nitrito di sodio all'interno di cuvette; successivamente è stata

addizionata una soluzione di cloruro di alluminio esaidrato, che induce la formazione di complessi flavonoidi-alluminio; trascorsi 5 minuti, la reazione è stata fermata aggiungendo idrossido di sodio. Al termine, è stata immediatamente effettuata la misurazione dell'assorbanza della soluzione a 510 nm, tramite spettrofotometro. Similmente a quanto descritto per i polifenoli, il dato rilevato, per ogni campione, è stato infine convertito in contenuto di flavonoidi liberi e legati, attraverso una curva di calibrazione realizzata misurando i valori di assorbanza a 510 nm di soluzioni aventi differenti concentrazioni note di catechina, un flavonoide incolore utilizzato come "standard". Il risultato finale è stato espresso come milligrammi di catechina equivalente su 100 g di farina integrale. Sommando i quantitativi dei flavonoidi legati e di quelli liberi, è stato ottenuto il contenuto totale di flavonoidi del campione.

• Attività antiossidante

Oltre ad aver misurato il contenuto totale in polifenoli e flavonoidi, è stata valutata l'attività antiossidante degli estratti fenolici totali, ottenuti come riportato nei paragrafi precedenti. Per questo, è stato misurato il "Ferric Reducing Antioxidant Potential" (Benzie e Strain, 1996), in sigla FRAP. L'analisi si basa sul potere riducente che i composti antiossidanti possiedono quando reagiscono con ioni Ferro, causando la riduzione di ioni ferrici (Fe3+) a ioni ferrosi (Fe2+), tramite cessione di elettroni allo ione ferrico. Questo saggio venne inizialmente sviluppato per lo studio di fluidi biologici e in seguito fu adattato per valutare l'attività antiossidante di estratti fenolici.

Il protocollo prevede la miscelazione all'interno di cuvette da spettrofotometro, 20 µl di estratto di polifenoli liberi, 20 µl di estratto di polifenoli legati, 40 µl di metanolo all'80% e 2.4 ml di reagente FRAP. Questo reagente deve essere preparato al momento dell'utilizzo, miscelando in proporzione 10:1:1 (v/v), rispettivamente, una soluzione buffer acetato 300 mM (mmol/l) pH 3.6, una soluzione 10 mM di "2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine" (TPTZ) (in 40 mM di HCl) e una soluzione 20 mM di cloruro ferrico esaidrato. Alle condizioni di pH del reagente FRAP, gli ioni Fe formano dei complessi con TPTZ, aventi caratteristiche differenti in funzione dello stato di ossidazione dello ione; in particolare, il complesso con lo ione ridotto Fe2+, determina una colorazione blu-violacea della soluzione.

Il saggio prevede un tempo di incubazione di sessanta minuti, al buio, a temperatura ambiente. Al termine dell'incubazione viene effettuata la misura dell'assorbanza a 593 nm. Il valore di assorbanza di ogni campione viene confrontato con quello di uno "standard" a concentrazioni note (da 0 a 1500 µmol/l) di solfato ferroso eptaidrato

(FeSO4.7H2O) in acqua. In questo modo sono state ottenute le curve di calibrazione, che esprimono la concentrazione in µmol/l di ioni Fe2+, in funzione del valore di assorbanza misurato allo spettrofotometro. L'assorbanza dei campioni varia in funzione del diverso contenuto di ioni Fe3+ e Fe2+, complessati a TPTZ, e dipende dall'attività riducente dei composti antiossidanti presenti in soluzione. In particolare, a maggiori valori di assorbanza corrisponde maggiore presenza di Fe2+-TPTZ e quindi una maggiore attività antiossidante della soluzione contente molecole con capacità riducente.

Poiché i valori dell'attività antiossidante FRAP vengono espressi in mmol Fe2+/100g di farina integrale, attraverso le curve di taratura è stato possibile quantificare, per ogni campione, la concentrazione di ioni Fe ridotti ed avere quindi una stima quantitativa della capacità antiossidante di ciascun estratto fenolico.

4.3.5 ELABORAZIONI STATISTICHE DEI DATI

Le analisi statistiche sono state eseguite impiegando il modello lineare generale, attraverso il software IBM SPSS Statistics for Windows (Versione 25, IBM Corp., Armonk, NY, USA); è stata effettuata una Analisi della Varianza (ANOVA) a tre vie, considerando il fattore "Genotipo" come fattore ad effetti fissi e il fattore "anno" e "località" come fattori ad effetto variabile. I dati inclusi nell'analisi statistica fanno riferimento a quelli misurati nei tre anni di prova. I confronti post hoc tra le medie osservate sono stati eseguiti utilizzando il test di Tukey, con $p \leq 0.05$.

Al fine di indagare le interazioni tra ambiente di coltivazione e genotipo, per comprendere anche eglio l'adattamento dei genotipi studiati, sono stati costruiti dei GGE biplot. Il software utilizzato è stato R ver. 4.0.2 e il pacchetto GGEBiplotGUI (Frutos et al., 2014). Lo strumento "mean versus stability" facilita la visualizzazione delle performance di una determinata variabile e della stabilità media che un genotipo mostra per quel carattere, in differenti ambienti e in differenti annate agrarie. Il grafico è costruito su due componenti principali (PC), vale a dire la componente principale 1 (PC1, asse x) rispetto a PC2 (asse y), che rappresentano individualmente una percentuale degli effetti e quindi della variabilità Genotipo e interazione Genotipo-Ambiente (G + GE). La percentuale additiva dalla somma di PC1 e PC2 rappresenta la variabilità totale di G + GE spiegata dal grafico GGE. La linea a freccia singola è l'asse ambientale medio o l'asse della media ambientale (AEA o MEA) e indica performance medie più elevate in tutti gli ambienti, nella direzione della freccia. Sul

MEA, la media ambientale è definita come i valori medi di PC1 e PC2 e viene rappresentata con un cerchio. Qualsiasi genotipo che si collochi all'interno del cerchio è l'ideotipo o genotipo ideale, combinando sia performance medie elevate che stabilità del carattere. La linea perpendicolare al MEA è l'ordinata media ambientale (MEO) e il punto di intersezione tra i due assi è il punto di origine, che rappresenta sia la media delle prestazioni che un'elevata stabilità. L'aumento della variabilità (scarsa stabilità) dei genotipi è definito da un posizionamento più distante dal MEA, in entrambe le direzioni lungo il MEO, con un possibile posizionamento in prossimità dei punti rappresentanti le medie di ambienti o annate specifiche (adattamento migliore a specifiche condizioni ambientali) (Frutos et al., 2014; Neisse et al., 2018).

4.4 RISULTATI

4.4.1 DATI PEDO-CLIMATICI

Al fine di comprendere meglio le interazioni genotipo-ambiente, risulta fondamentale caratterizzare il contesto pedo-climatico di ciascuna località in cui si è svolta la prova. Nelle Tabelle 4-A e 4-B vengono riportati i valori, misurati durante il periodo di fine accestimento del frumento, dei principali parametri di fertilità fisico-chimica del suolo.

AZIENDA	PARTICELLE	%	Tessitura USDA
Cenacchi	Argilla	26	Franco
	Sabbia	32	
	Limo	42	
Arvaia	Argilla	22	Franco-Sabbioso-Argilloso
	Sabbia	54	
	Limo	24	
La collina	Argilla	28	Franco-Argilloso
	Sabbia	32	
	Limo	40	
Ca' dei fiori	Argilla	36	Franco-Argilloso
	Sabbia	24	
	Limo	40	

Tabella 4-A Tessitura dei suoli delle quattro aziende coinvolte nella sperimentazione

Dal punto di vista tessiturale, in tutte e quattro le aziende, riscontriamo suoli con buone caratteristiche fisiche e abbastanza tipiche dei suoli emiliano-romagnoli (Tabella 4-A). Il pH e il rapporto C/N risultano avere valori idonei per la coltivazione del frumento, con oscillazioni attorno a valori di pH neutri e valori di C/N spesso compresi tra 9 e 11 (valori ottimali), ma che a volte vedono favorita la componente del carbonio, rispetto a quella dell'azoto. La gestione biologica dei terreni di queste aziende si riflette

verosimilmente su questi parametri di fertilità, così come sul contenuto dei principali macronutrienti.

STAGIONE	AZIENDA	N totale ‰ ss	N ammoniacale g/kg ss	pH	SO % ss	P_2O_5 mg/kg ss	K_2O mg/kg ss	C/N	N nitrico mg/kg N
primavera 2017	Arvaia	0.9	< 0.002	7.66	1.6	38.1	288	10.6	12
	Ca' dei fiori	2.3	< 0.002	7.38	3.4	58.6	376	8.6	< LQ
	Cenacchi	1	< 0.002	7.50	2.6	13.0	170	15.2	< LQ
	La collina	1.2	< 0.002	7.78	2.3	113.3	268	11.2	< LQ
primavera 2018	Arvaia	0.7	< 0.002	6.36	1.6	114.1	88	13.4	< LQ
	Ca' dei fiori	1.2	< 0.002	7.36	2.4	18.3	136	11.7	< LQ
	Cenacchi	1	< 0.002	7.79	3.0	29.3	166	15.8	< LQ
	La collina	1.1	< 0.002	7.5	2.2	131.0	312	11.5	< LQ
primavera 2019	Arvaia	0.7	< 0.002	7.30	1.1	98.6	280	9.0	12
	Ca' dei fiori	1.6	< 0.002	6.54	2.8	43.1	199	10.2	17
	Cenacchi	1.4	< 0.002	6.57	3.3	19.0	215	13.6	< LQ
	La collina	1.2	< 0.002	7.44	3.1	30.2	207	15.0	< LQ

Tabella 4-B Principali caratteristiche di fertilità chimica del suolo. Azoto (N) totale, Azoto (N) ammoniacale, pH, Sostanza organica (SO), Fosforo assimilabile (P_2O_5), Potassio assimilabile (K_2O), Rapporto Carbonio su Azoto (C/N), Azoto (N) nitrico

Dal punto di visita meteorologico, sono stati monitorati i dati relativi a temperatura media, massima, minima e quelli relativi alle precipitazioni nel periodo che va da inizio ottobre a fine luglio. Nelle Figure 4-B (Cenacchi), 4-C (Ca' dei fiori), 4-D (Arvaia), 4-E (La Collina), vengono riportati i grafici che rappresentano l'andamento di temperature medie giornaliere e precipitazioni giornaliere nei tre anni di prova, nelle quattro località. Nello stesso grafico vi è sempre indicato l'andamento della temperatura media nello stesso periodo dell'anno, ma considerando la media giornaliera del trentennio antecedente la prova. In questo modo, è possibile evidenziare andamenti anomali delle temperature, rispetto alla media climatica del periodo di crescita del frumento in ciascuna località.

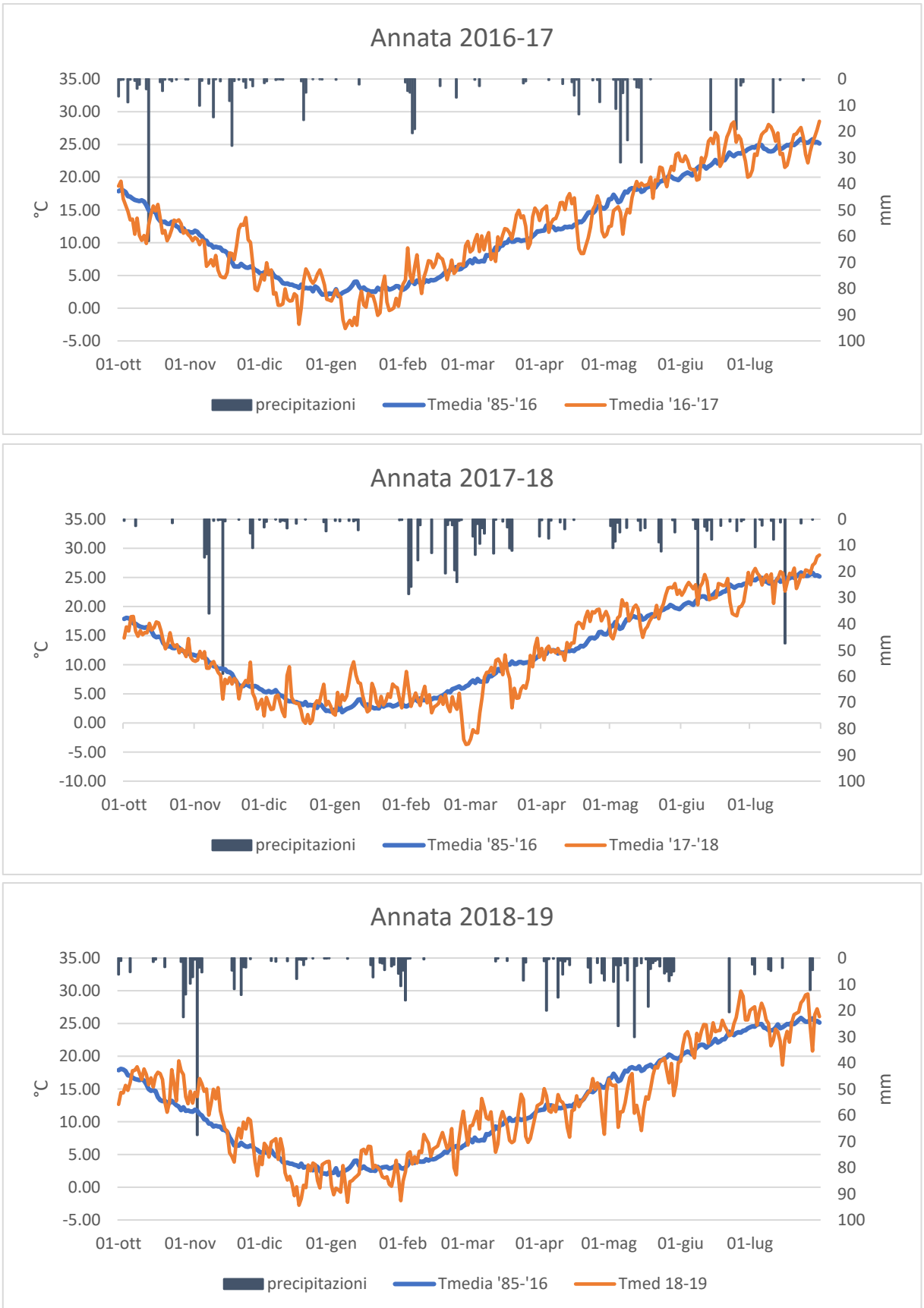


Figura 4-B Andamento della temperatura media giornaliera (linea arancione), della temperatura media giornaliera del trentennio climatico di riferimento (1985-2016) (linea azzurra) e delle precipitazioni cumulate giornaliere di ciascun anno di prova (barre blu), presso l'azienda Cenacchi. Dati rilevati dalla stazione ARPAE di Sala Bolognese.

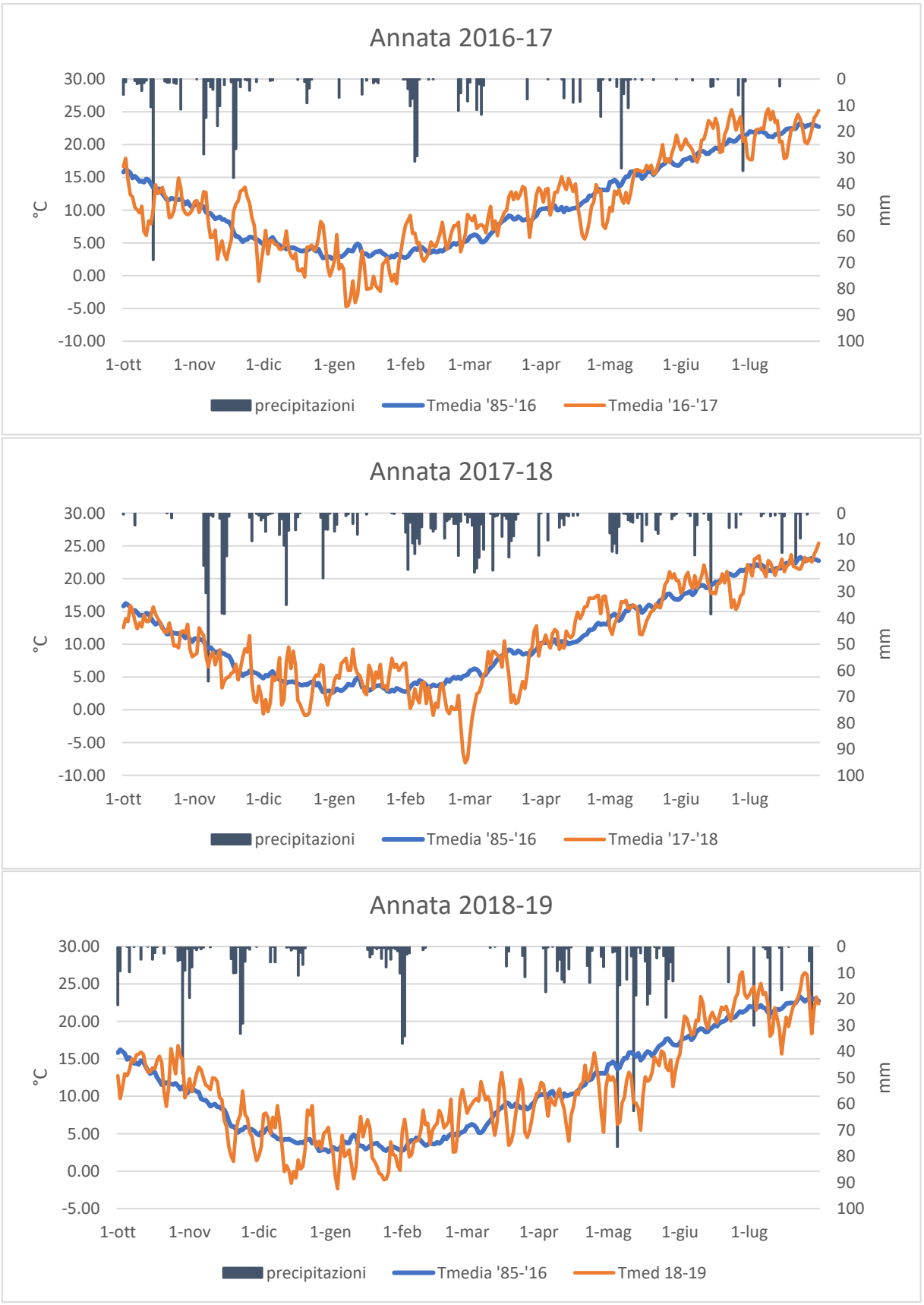


Figura 4-C Andamento della temperatura media giornaliera (linea arancione), della temperatura media giornaliera del trentennio climatico di riferimento (1985-2016) (linea azzurra) e delle precipitazioni cumulate giornaliere di ciascun anno di prova (barre blu), presso l'azienda Ca' dei fiori. Dati rilevati dalla stazione ARPAE di Querciola (M. Acuto delle Alpi).

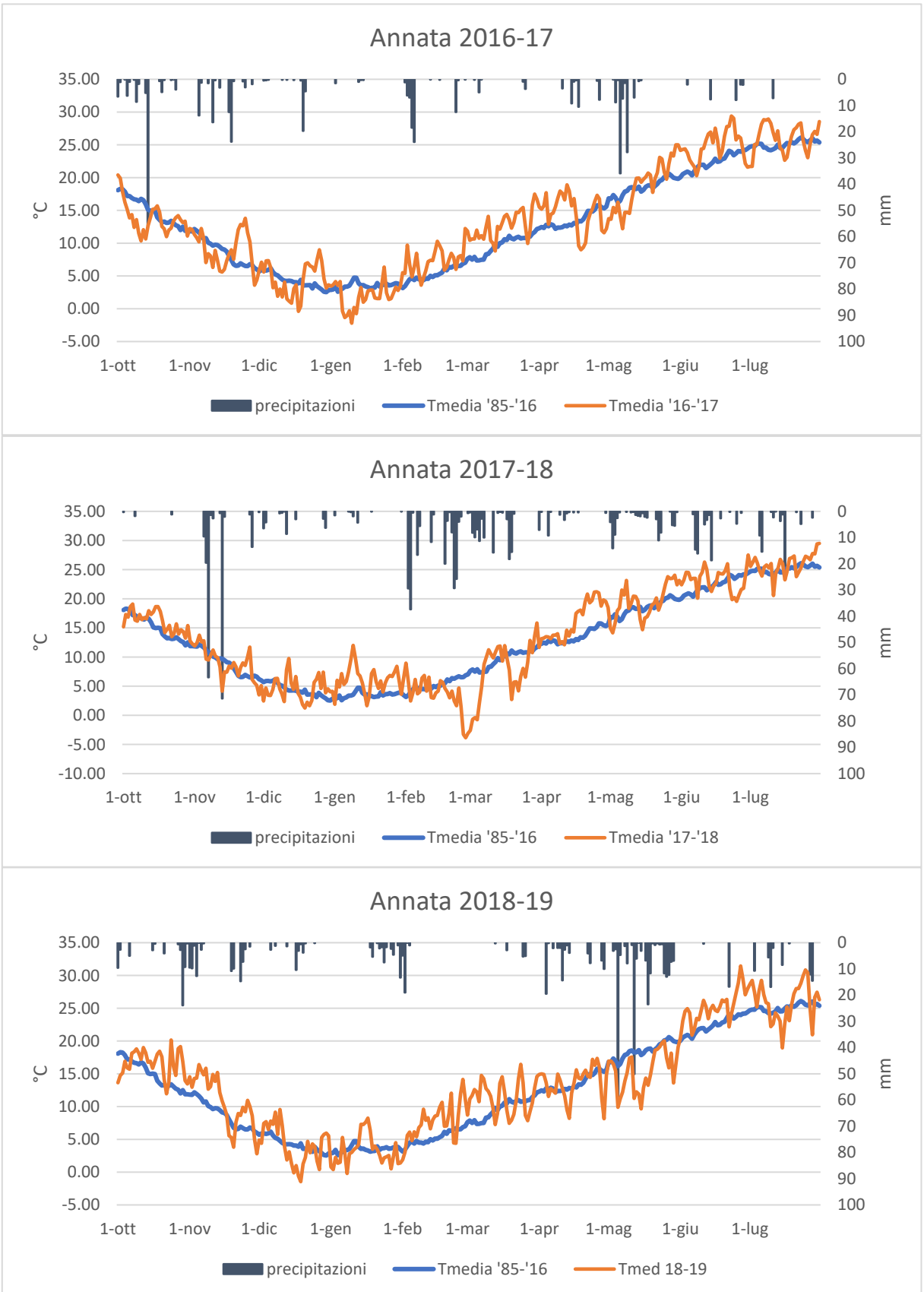


Figura 4-D Andamento della temperatura media giornaliera (linea arancione), della temperatura media giornaliera del trentennio climatico di riferimento (1985-2016) (linea azzurra) e delle precipitazioni cumulate giornaliere di ciascun anno di prova (barre blu), presso l'azienda Arvaia. Dati rilevati dalla stazione ARPAE di Zola Predosa.

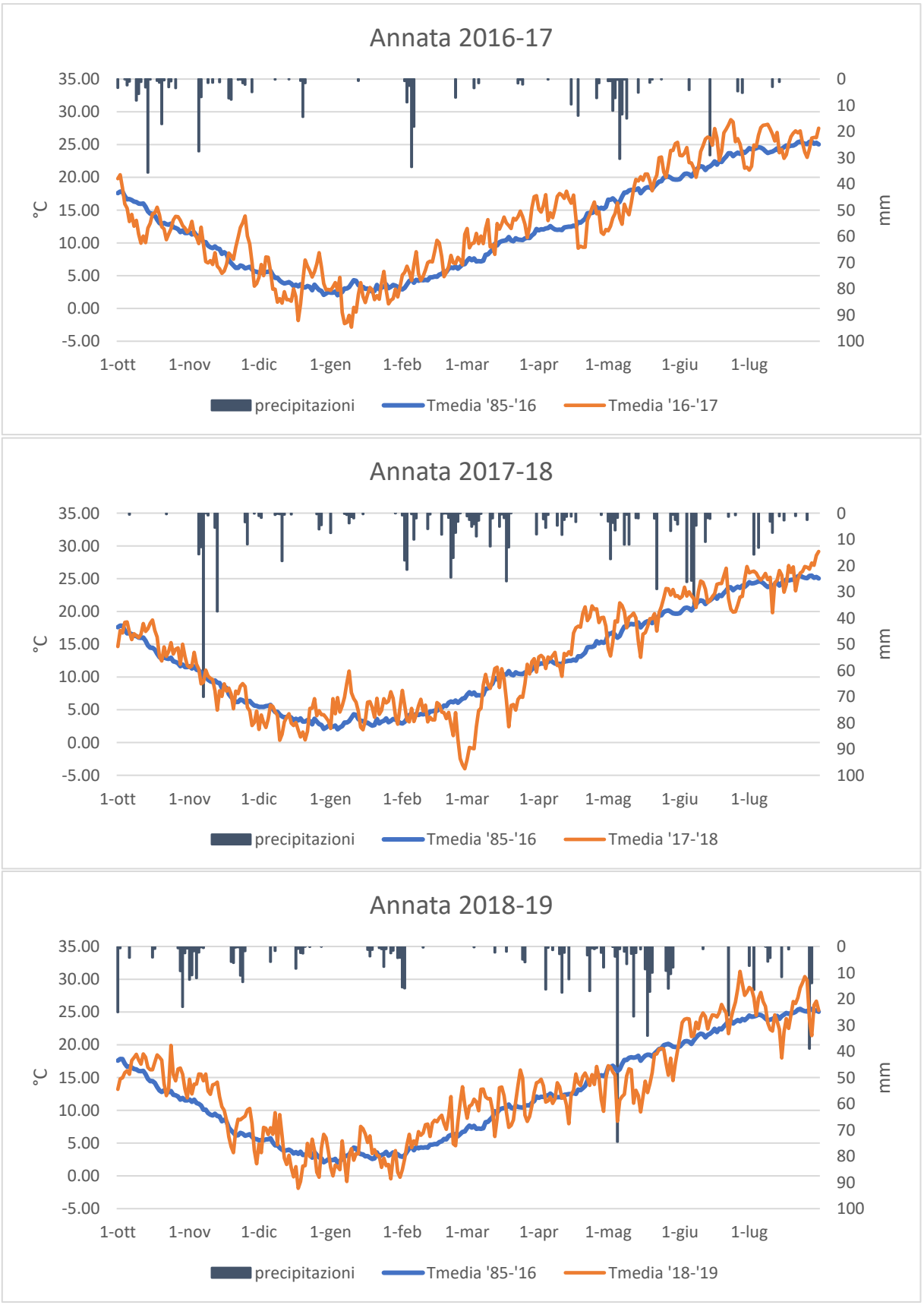


Figura 4-E Andamento della temperatura media giornaliera (linea arancione), della temperatura media giornaliera del trentennio climatico di riferimento (1985-2016) (linea azzurra) e delle precipitazioni cumulate giornaliere di ciascun anno di prova (barre blu), presso l'azienda La Collina. Dati rilevati dalla stazione ARPAE di Reggio Emilia.

I fattori meteorologici possono avere influenzato in maniera diretta lo sviluppo vegetativo della coltura e lo sviluppo delle cariossidi, influendo sulla loro qualità, oltre che sulle performance produttive.

Presso l'azienda Cenacchi (Figura 4-B), nell'anno 2016-2017, i valori di temperature e precipitazioni registrati, mettono in evidenza un periodo di potenziali condizioni siccitose (scarse precipitazioni e temperature elevate rispetto alla media climatica del periodo), durante il mese di aprile, e possibili stress idrici importanti a partire dal mese di giugno. Nell'annata successiva, 2017-2018, si sono verificate diverse fasi di possibile siccità: al terminare di dicembre, inizio di gennaio e nel pieno della primavera, da fine marzo a inizio aprile. Diversamente, si può invece evidenziare come nella stagione estiva non si siano riscontrate situazioni di stress idrico a causa di alcuni eventi temporaleschi anomali, con abbondanti precipitazioni registrate da maggio a luglio. Nel corso della terza annata, nel 2018-2019, è evidenziabile un prolungato periodo di siccità a partire da febbraio fino a metà marzo e da metà giugno fino alla raccolta della coltura.

L'azienda agricola Ca' dei fiori (Figura 4-C), situata ad un'altitudine maggiore (703 m s.l.m) rispetto alle altre aziende agricole, presenta condizioni meteo-climatiche differenti.

Si può osservare come, rispetto alle altre aziende, si sia registrato un valore molto alto di precipitazioni cumulate nel corso dei tre anni, che per diversi mesi della stagione di crescita, specialmente nel secondo e terzo anno di prova, ha superato abbondantemente i 150 mm di pioggia mensili. Anche le temperature medie sono risultate essere più basse rispetto alle altre aziende coinvolte nella prova sperimentale, durante lo sviluppo vegetativo della pianta e lo sviluppo della granella, con differenze anche di due gradi nelle temperature medie mensili; queste differenze nelle temperature, risultano ancora maggiori nel periodo di fine primavera ed estivo.

Da queste osservazioni si evince che la coltura ha attraversato, nel corso dei tre anni oggetto di studio, periodi di stress idrico o siccità ridotti, rispetto alle altre aziende agricole.

Nell'annata 2016-2017 si osserva un singolo periodo di possibile siccità, subito dopo la metà di maggio, anticipato rispetto agli altri contesti analizzati. Nell'anno successivo, 2017-2018, la coltura vede presentarsi un singolo breve periodo di siccità nei primi giorni di giugno, così come per l'annata successiva 2018-2019; questo è dovuto all'elevato valore di piogge cumulate registrato in questi due anni, rispettivamente 2085

mm e 1811.6 mm, e alle temperature medie più basse rispetto a quelle riscontrate nelle altre aziende.

Presso l'azienda agricola Arvaia (Figura 4-D), nell'annata 2016-2017, si evidenzia un andamento meteorologico, per temperature e precipitazioni, analogo a quello riscontrato per l'azienda agricola Cenacchi. Nell'annata successiva, 2017-2018, si osserva un breve periodo di stress idrico all'inizio di ottobre e di pochi giorni tra marzo e aprile; ciò è dovuto alle temperature medie non troppo elevate e ad una quantità di precipitazioni cumulate abbondanti. Nel terzo anno di studio invece, si è riscontrato un periodo di condizioni siccitose, collocato tra la fine di maggio e metà luglio, suggerendo che l'anno preso in considerazione è stato caratterizzato da una quantità abbondante di precipitazioni cumulate nel periodo aprile-maggio.

Prendendo in considerazione l'azienda agricola La collina (Figura 4-E), durante l'annata 2016-2017 si osservano tre periodi di potenziale stress idrico per il frumento: uno in prossimità del mese di febbraio, il secondo da aprile ad inizio maggio e l'ultimo che inizia nel mese di giugno fino alla raccolta del prodotto. L'anno 2017-2018 ha registrato invece una quantità abbondante di piogge cumulate e temperature medie abbastanza in linea con la media climatica del periodo, che hanno permesso di evitare situazioni di stress idrico, ad eccezione di un breve periodo a metà ottobre. Nell'anno successivo, 2018-2019, si può osservare un prolungato periodo di siccità, tra febbraio e marzo e uno breve tra inizio e metà giugno, che però segue il mese di maggio, che ha registrato precipitazioni abbondanti e temperature medie anche inferiori alla media climatica del periodo.

4.4.2 RISULTATI AGRONOMICI E PRODUTTIVI

Le caratteristiche agronomiche delle varietà e della popolazione Bioadapt verranno descritte mediante i dati rilevati durante la sperimentazione, all'interno di ogni azienda, per le tre annate agrarie oggetto di studio. I valori medi delle variabili, misurati durante la prova, sono riportati nella Tabella 4-C, in cui viene esplicitata la significatività del singolo fattore.

	Resa	1000 semi	Peso ettolitrico	Altezza pianta	Lunghezza spiga	Allettamento	Infestanti	Incidenza patogeni
Anno	***	***	***	***	ns	***	ns	***
2017	3.75 a	50.74 a	80.30 a	139.90 a	10.12 a	40.79 a	14.87 a	0.99 b
2018	2.86 c	48.63 b	80.80 a	121.00 c	9.90 a	42.45 a	16.44 a	1.17 b
2019	3.22 b	46.33 c	76.30 b	133.90 b	9.89 a	30.84 b	15.33 a	2.03 a
Azienda	***	***	***	***	ns	***	***	***
Cà de Fiori	2.45 c	47.99 c	79.70 b	120.50 c	10.09 a	0.28 d	11.83 b	0.41 c
La collina	3.85 a	46.56 d	77.00 d	136.60 a	10.50 a	80.14 a	11.88 b	2.07 a
Arvaia	3.86 a	50.90 a	80.80 a	136.70 a	8.92 a	37.84 b	9.54 b	0.80 b
Cenacchi	2.74 b	48.66 b	78.90 c	129.60 b	10.41 a	24.32 c	28.00 a	2.08 a
Varieta	***	***	***	***	***	***	*	ns
Inallettabile	2.90 c	49.25 c	78.40 b	120.30 f	9.21 de	20.91 f	17.40 a	1.35 a
Verna	3.18 b	44.57 f	77.10 c	125.40 e	8.98 e	23.96 e	17.60 a	1.26 a
Gentil Rosso	3.31 ab	49.32 bc	79.40 ab	142.70 a	11.61 a	55.74 a	14.30 abc	1.31 a
Andriolo	3.50 a	47.22 e	80.10 a	135.40 b	10.43 b	52.11 b	12.17 c	1.42 a
Frassineto	3.39 ab	52.90 a	79.10 ab	132.70 c	10.12 bc	41.8 c	16.63 ab	1.48 a
Bioadapt originale	3.34 ab	48.19 d	79.80 a	130.20 d	9.97 c	32.93 d	17.51 a	1.36 a
Bioadapt evolutivo	3.39 ab	49.97 b	80.00 a	135.40 b	9.47 d	40.13 c	13.15 bc	1.67 a
Azienda * anno	***	***	***	***	***	***	***	***
Anno * varietà	***	***	***	***	***	***	***	***
Azienda * varietà	***	***	***	***	***	***	***	***
Azienda * varietà * anno	***	***	***	***	***	***	***	***

*Tabella 4-C ANOVA a tre vie dei parametri produttivi e morfologici. Anno e Azienda sono fattori ad effetti random, mentre la varietà è considerata il fattore ad effetti fissi. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti. Le variabili prese in considerazione sono: resa (t/ha), peso 1000 semi (g), peso ettolitrico (kg/hl), altezza pianta (cm), lunghezza spiga (cm), allettamento (% di piante allettate sulla superficie totale), infestanti (% di occupazione della superficie da parte di specie infestanti), incidenza patogeni (scala visiva da 0 a 10 con 0=assenza di malattie e 10=pianta completamente infettata)*

Risultati agronomici

La resa ad ettaro, principale carattere produttivo del frumento, si è differenziata statisticamente nelle tre annate agrarie: nella prima annata si può notare, dalla Tabella 4-C, una resa media di 3.75 t/ha, nel 2017-2018 2.86 t/ha e 3.22 t/ha nell'ultima annata 2018-2019.

Da evidenziare anche le differenze significative dell'areale di coltivazione per la resa produttiva: si osserva come le rese maggiori si siano registrate nelle aziende agrarie di Arvaia (3.86 t/ha) e La collina (3.85 t/ha), mentre nelle aziende di Ca' de Fiori (2.45 t/ha) e Cenacchi (2.74 t/ha) sono inferiori.

Analizzando i genotipi, si possono evidenziare differenze significative che riguardano la resa produttiva. In particolare, la varietà Inallettabile è risultata essere la varietà con rese statisticamente più basse (2.90 t/ha) rispetto alle altre varietà oggetto di studio, mentre la varietà che ha registrato la resa produttiva maggiore è Andriolo (3.50 t/ha).

Risultano statisticamente significative l'interazione tra l'areale di coltivazione sia con il genotipo che con l'annata agraria, ma anche l'interazione dell'annata agraria con il genotipo e l'interazione areale di coltivazione-genotipo-annata agraria.

Il peso di 1000 semi risulta essere statisticamente influenzato da tutti i tre fattori indipendenti presi in esame (Tabella 4-C).

L'annata agraria che ha registrato valori maggiori è quella del 2016-2017 (50.74 g), mentre sono vi sono stati valori inferiori nell'annata 2017-2018 (48.63 g) e nell'annata 2018-2019 (46.33 g).

Considerando l'ambiente di coltivazione, si è osservato un peso di 1000 semi statisticamente superiore presso l'azienda Arvaia (50.90 g), mentre quella che ha registrato il valore più basso è l'azienda La collina (46.56 g). L'azienda Cenacchi (48.66 g) e Ca' de Fiori (47,99 g) presentano valori intermedi.

Il genotipo che presenta il valore statisticamente più alto, in termini di peso di 1000 semi, è il Frassineto (52.90 g), mentre quello con il valore più basso risulta essere la varietà Verna (44.57 g).

Le interazioni tra i tre fattori (anno, località, varietà) e l'interazione località-varietà-anno sono tutte risultate altamente significative.

Il peso ettolitrico si è differenziato statisticamente nelle tre annate agrarie, per il genotipo e negli areali di coltivazione (Tabella 4-C). Come si osserva dalla Tabella 4-C, nella prima annata è pari a 80.30 kg/hl (2016-2017), per poi passare a 80.80 kg/hl (2017-2018) e 76.30 kg/hl (2018-2019).

L'ambiente di coltivazione ha determinato una differenziazione statistica: il peso ettolitrico medio maggiore si è ottenuto presso l'azienda agraria Arvaia (80.80 kg/hl), mentre quello minore presso l'azienda La collina (77.00 kg/hl).

Anche i genotipi si sono differenziati tra loro: i genotipi che presentano il maggior peso ettolitrico medio risultano essere l'Andriolo (80.10 kg/hl), le popolazioni Bioadapt evolutivo (80.00 kg/hl) e Bioadapt originale (79.80 kg/hl), mentre presenta il valore medio più basso la varietà Verna (77.10 kg/hl).

Per quanto concerne l'allettamento, hanno avuto effetti statisticamente significativi tutti i fattori indipendenti (anno, varietà, azienda), come si può evincere dalla Tabella 4-C.

Le condizioni migliori si sono registrate nell'annata agraria 2018-2019, con un allettamento pari al 30.84% del campo, mentre nelle stagioni precedenti risulta essere maggiore, con valori pari a 42.45% (2017-2018) e 40.79% (2016-2017).

L'azienda agraria che presenta condizioni ambientali sfavorevoli all'allettamento delle piante risulta essere Ca' dei Fiori (0.28%), mentre presso La collina si può osservare un valore di allettamento pari all'80.14%.

Analizzando l'effetto del genotipo si può osservare come la varietà Inallettabile sia quella meno suscettibile all'allettamento (20.91%), mentre tutte le altre varietà registrano indici superiori al 30% ad eccezione del Verna. In particolare, si può evidenziare come la varietà Gentil Rosso sia la varietà che raggiunge valori medi di altezza maggiori e presenti il valore di suscettibilità all'allettamento più alto (circa 56%). Allo stesso modo si può notare il comportamento opposto della varietà Inallettabile, la quale presenta un'altezza media della pianta di 120.30 cm e una tendenza ad allettare pari a circa il 21%.

Anche per questa variabile, tutte le interazioni tra fattori sono risultate altamente significative.

Risultati morfologici

L'altezza della pianta è stata significativamente influenzata da tutti i tre fattori indipendenti riportati in Tabella 4-C (anno, località, varietà).

L'altezza media delle piante ha registrato il valore più alto nella prima annata agraria (139.90 cm), riducendosi nettamente nell'annata successiva (121.00 cm) e aumentando nuovamente nell'annata 2018-2019 (133.90 cm).

L'influenza dell'areale di coltivazione è significativa; in particolare, la taglia media delle piante registrata presso l'azienda Arvaia (136.70 cm) si distingue statisticamente da quella registrata presso l'azienda Ca' dei Fiori (120.50 cm). I genotipi considerati

hanno un comportamento eterogeneo in riferimento all'altezza della pianta, con valori che vanno dai 120.30 cm della varietà Inallettabile ai 142.70 cm del Gentil Rosso.
Le interazioni tra i fattori considerati (azienda, anno, varietà) e l'interazione località-varietà-anno sono altamente significative.
La lunghezza della spiga sembra essere un carattere meno influenzato dall'ambiente, risultando statisticamente significativo solo l'effetto del fattore genotipo (Tabella 4-C).
Analizzando il fattore "varietà" si osserva come il genotipo con le spighe di maggiore lunghezza sia il Gentil Rosso (11.61 cm), mentre quello con le spighe di dimensioni minori sia il Verna (8.98 cm). Complessivamente, la varietà Gentil Rosso presenta caratteristiche ben definite, risultando il genotipo con l'altezza delle piante e la lunghezza delle spighe maggiori, rispetto alle altre varietà oggetto di studio.
Tutte le interazioni tra i diversi fattori sono risultate in ogni modo altamente significative.

4.4.3 STRESS BIOTICI

L'effetto dell'areale di coltivazione e del genotipo è risultato statisticamente significativo sulla presenza di infestanti, misurata in percentuale di infestazione rispetto alla superficie di ogni area di saggio, mentre non si sono riscontrate differenze nelle diverse annate agrarie (Tabella 4-C).
Si può osservare come la varietà Andriolo, la quale presenta il livello di infestanti più basso, sia quella che presenta anche la resa più alta.
Infine, tutti e tre i fattori di variabilità presentano interazioni significative tra loro.
L'incidenza delle malattie è stata misurata tramite una scala visiva di punteggio da 0 a 10 e per questa variabile risultano altamente significativi il fattore anno e il fattore azienda, mentre non si sono riscontrate differenze in relazione al genotipo. Si potrebbe perciò ipotizzare che l'effetto dell'ambiente di coltivazione sia maggiore dell'effetto che la scelta varietale potrebbe determinare sull'insorgenza di problemi fitosanitari del frumento.
Nel corso delle annate agrarie, ha registrato valori sempre crescenti pari a 0.99/10 (2016-2017), 1.17/10 (2017-2018) e 2.03/10 (2018-2019).
Analizzando le diverse aziende si può osservare come si sia registrata una maggiore incidenza delle malattie presso Cenacchi (2.08/10), mentre il livello più basso è riscontrabile presso l'azienda Ca' dei Fiori (0.41/10).
Anche in questo caso tutte le interazioni tra fattori sono risultate altamente significative.

4.4.4 CARATTERIZZAZIONE NUTRIZIONALE E NUTRACEUTICA

In Tabella 4-D sono riportati i dati ottenuti dalle analisi effettuate sulle componenti nutrizionali e nutraceutiche della granella e i risultati dell'ANOVA effettuata su di essi. Per ciascuna varietà o popolazione in prova nelle 4 aziende e per ciascuna annata agraria, sono stati analizzati 2 campioni di granella distinti (ciascuno in duplicato). La granella raccolta durante le fasi di campionamento in pieno campo è stata pulita e macinata in modo integrale, tramite mulino a pietra da laboratorio.

	PROTEINE	AMIDO	LIPIDI	IDF	SDF	TDF	FP	BP	TP	FF	BF	TF	FRAP
Anno	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
2017	12.64 c	55.82 c	5.13 a	14.96 b	4.67 a	19.62 b	175.60 a	125.40 b	301.10 b	117.33 a	21.33 b	138.70 b	1.01 a
2018	14.70 a	56.94 b	3.36 b	16.94 a	4.44 b	21.38 a	176.30 a	139.70 a	316.00 a	109.52 b	54.74 a	164.30 a	0.88 b
2019	13.37 b	58.30 a	3.45 b	17.26 a	4.18 c	21.44 a	105.20 b	89.40 c	194.50 c	56.81 c	22.78 b	79.60 c	0.85 c
Azienda	***	***	**ns**	*	**ns**	*	***	***	***	***	***	***	***
Cà de Fiori	13.24 b	57.15 b	4.00 a	15.96 c	4.38 a	20.34 b	138.70 d	128.60 b	267.30 c	91.82 b	32.35 a	124.20 c	0.92 b
La collina	15.06 a	56.01 c	3.95 a	16.77 a	4.32 a	21.09 a	156.40 b	80.70 c	237.10 d	91.84 b	24.10 b	115.90 d	0.82 c
Arvaia	13.04 bc	58.67 a	3.99 a	16.65 ab	4.54 a	21.19 a	146.20 c	127.10 b	273.30 b	95.53 a	41.30 a	136.80 a	0.98 a
Cenacchi	12.96 c	58.55 a	3.98 a	16.06 bc	4.46 a	20.52 ab	164.60 a	138.90 a	303.50 a	98.25 a	33.95 a	132.20 b	0.94 b
Varieta	***	***	***	***	**ns**	***	***	***	***	***	***	***	***
Inalettabile	13.82 c	58.61 a	4.15 b	15.32 d	4.29 a	19.61 d	159.70 a	122.00 a	281.70 a	96.15 b	32.58 b	128.70 bc	0.92 abc
Verna	14.90 a	56.70 e	4.20 ab	17.28 a	4.30 a	21.57 a	161.90 a	121.60 a	283.50 a	108.05 a	34.87 ab	142.90 a	0.93 abc
Gentil Rosso	13.34 d	57.26 d	3.95 c	16.10 bcd	4.53 a	20.63 bc	150.20 b	119.70 ab	269.80 b	88.22 cd	32.24 b	120.50 d	0.94 ab
Andriolo	13.31 d	57.27 d	3.74 de	16.88 ab	4.37 a	21.25 ab	143.20 c	119.80 ab	263.00 bc	89.69 cd	31.76 b	121.50 d	0.95 a
Frassineto	14.40 b	57.53 cd	4.31 a	15.71 cd	4.52 a	20.23 cd	156.90 a	103.80 c	260.70 c	104.85 a	28.35 c	133.20 b	0.81 d
Bioadapt originale	12.84 e	57.85 bc	3.88 cd	16.47 bc	4.66 a	21.13 ab	147.20 bc	119.60 ab	266.80 bc	90.37 c	35.79 a	126.20 c	0.92 bc
Bioadapt evolutivo	12.67 e	58.10 b	3.69 e	16.83 ab	4.34 a	21.17 ab	148.00 bc	116.20 b	264.20 bc	86.08 d	33.97 ab	120.00 d	0.91 c
Azienda * anno	***	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Anno * varietà	***	***	*	**ns**	***	**ns**	***	***	***	***	***	***	*
Azienda * varietà	***	***	**	**ns**	*	**ns**	***	**	***	***	***	***	***
Azienda * varietà * anno	***	***	***	**ns**	***	**ns**	***	***	***	***	***	***	***

*Tabella 4-D ANOVA a tre vie dei parametri nutrizionali e nutraceutici. Anno e Azienda sono fattori ad effetti random, mentre la Varietà è considerata il fattore ad effetti fissi. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti. Le variabili prese in considerazione sono: proteine (g/100 g); amido (g/100 g); lipidi (g/100 g), fibra alimentare insolubile (IDF) (g/100 g), fibra alimentare solubile (SDF) (g/100 g), fibra alimentare totale (TDF) (g/100 g), polifenoli liberi (FP) (mg GAE/100 g), polifenoli legati (BP) (mg GAE/100 g), polifenoli totali (TP) (mg GAE/100 g), flavonoidi liberi (FP) (mg CE/100 g), flavonoidi legati (BP) (mg CE/100 g), flavonoidi totali (TF) (mg CE/100 g), attività antiossidante FRAP (mmol Fe^{2+}/100 g).*

MACRONUTRIENTI

Il contenuto proteico della granella presenta delle differenze significative considerando tutti e tre i fattori indipendenti (anno, azienda, genotipo). Si registra un contenuto proteico medio complessivo pari a 12.64 g/100g nell'annata 2016-2017, 14.7 g/100g nell'anno successivo e 13.37 g/100g per l'anno 2018-2019 (Tabella 4-D). Dalle analisi effettuate si può osservare come il contenuto proteico della granella sia aumentato in concomitanza di annate caratterizzate da abbondanti precipitazioni (annate agrarie 2017-2018 e 2018-2019). Viceversa, nella prima annata agraria (2016-2017), più siccitosa rispetto alle due annate successive, si sono osservati i valori proteici più bassi.

La variabilità delle precipitazioni registrate nel periodo di sperimentazione e le diverse condizioni climatiche in cui si collocano le singole aziende hanno determinato differenze significative anche in funzione dell'areale di coltivazione: presso La collina si è registrato il contenuto medio proteico più elevato (15.06 g/100g), mentre il valore più basso è stato osservato presso l'azienda Cenacchi (12.96 g/100g). Analizzando i genotipi, la varietà con il più alto valore in contenuto proteico medio è risultata essere la varietà Verna (14.90 g/100g), mentre i valori più bassi si sono ottenuti nel miscuglio Bioadapt originale (12.84 g/100g) e nella popolazione Bioadapt evolutivo (12.67 g/100g).

Il contenuto in amido ha presentato differenze significative tra le annate, gli areali di coltivazione e i genotipi (Tabella 4-D).

La varietà che ha fatto registrare il valore più alto in amido è risultata l'Inallettabile (58.61 g/100g), mentre quella con il contenuto più basso il Verna (56.70 g/100g).

Per quanto riguarda il contenuto totale di lipidi, mediante analisi statistica, non sono state riscontrate differenze in relazione all'areale di coltivazione, ma si sono evidenziate differenze significative tra le annate di produzione e i genotipi (Tabella 4-D). Si è registrato il contenuto lipidico medio massimo (5.13 g/100g) nell'anno 2016-2017. I genotipi con il contenuto lipidico più alto, in modo similare rispetto a quanto osservato per le proteine, sono risultati Frassineto (4.31 g/100g), Verna (4.20 g/100g) e Inallettabile (4.15 g/100g).

FIBRA ALIMENTARE

Analizzando i risultati presenti nella Tabella 4-D, si osserva come il contenuto in fibra insolubile (IDF), il contenuto in fibra solubile (SDF) e il contenuto in fibra totale (TDF) siano influenzati significativamente dall'annata agraria.

Si può infatti notare che, sia per IDF che per TDF, il contenuto medio più elevato si sia registrato nell'annata 2018-2019 (rispettivamente 17.26 g/100g e 21.44 g/100g); viceversa, l'effetto sul SDF è risultato opposto, mettendo in luce i valori medi più bassi nell'annata agraria 2018-2019 (4.18 g/100g).

In merito all'areale di coltivazione si sono osservate differenze statistiche significative per le componenti IDF e TDF: il contenuto in fibra insolubile e totale ha raggiunto il valore medio più elevato presso l'azienda agricola La collina e Arvaia. Al contrario, presso l'azienda Ca' dei Fiori, si sono osservati i valori più bassi sia per IDF che per TDF (rispettivamente 15.96 g/100g e 20.34 g/100g). Il fattore genotipo, infine, ha un effetto altamente significativo per il contenuto di IDF e TDF, ma non per SDF. Verna ha raggiunto i valori più alti sia per IDF (17.28 g/100g) che per TDF (21.57 g/100g), mentre la varietà Inallettabile mostra i valori più bassi di IDF (15.32 g/100g) e TDF (19.61 g/100g).

L'interazione tra i fattori località di coltivazione e annata agraria risulta essere statisticamente significativa per tutte e tre le componenti della fibra alimentare (IDF, SDF, TDF); le altre interazioni non presentano effetti significativi sul contenuto in IDF e TDF.

COMPOSTI FENOLICI

I polifenoli sono composti del metabolismo secondario fondamentali per il corpo umano, in quanto contrastano l'azione dei radicali liberi, svolgono l'azione di antinfiammatori-antivirali e regolano il livello del colesterolo nel sangue (Dinelli et al., 2011).

Il contenuto in polifenoli free (FP) è risultato significativamente influenzato dall'annata agraria, dal genotipo e dall'areale di coltivazione (Tabella 4-D).

L'azienda dove il contenuto medio in polifenoli free è risultato più alto è Cenacchi (164.6 mg GAE/100g), mentre quella con il valore più basso l'azienda Ca' dei Fiori (138.7 mg GAE/100g).

Dall'analisi delle singole varietà si è osservato che l'accessione con il maggior contenuto in polifenoli free è il Verna (161.9 mg GAE/100g), mentre la varietà con i contenuti medi più bassi è risultata l'Andriolo (143.2 mg GAE/100g).

Tutte le interazioni tra fattori indipendenti sono risultate significative.

Per quanto riguarda i polifenoli bound (BP), osservando l'influenza dell'annata agraria, si può notare come l'annata 2017-2018, così come per FP, è risultata quella con il contenuto in BP più alto (139.70 mg GAE/100g), rispetto ai 125.40 mg GAE/100g

dell'annata 2016-2017 e agli 89.40 mg GAE/100g del 2018-2019. Per quanto riguarda le località invece, l'azienda agraria Cenacchi ha fatto osservare i valori più alti (138.90 mg GAE/100g), mentre l'azienda La Collina i valori più bassi (80.70 mg GAE/100g). Il genotipo, infine, che si è caratterizzato per il contenuto di polifenoli bound più elevato è stato Inallettabile (122.00 mg GAE/100g), mentre quello con il contenuto medio inferiore è risultato il Frassineto (103.80 mg GAE/100).

I flavonoidi sono una classe di composti appartenenti alla famiglia dei polifenoli, conferiscono l'aroma caratteristico al frumento e svolgono funzioni antiossidanti e antinfiammatorie per il corpo umano(di Gioia et al., 2014).

Per quanto riguarda i flavonoidi liberi (FF), come si evince dalla Tabella 4-D, essi sono influenzati significativamente da tutti e tre i fattori indipendenti considerati (annata agraria, genotipo, località di coltivazione). In modo del tutto simile a quanto osservato per i polifenoli, anche per i flavonoidi liberi si è osservata una riduzione del contenuto medio nel corso dei tre anni di prova: 117.33 mg CE/100g nella prima annata agraria (2016-2017), 109.52 mg CE/100g nell'annata 2017-2018, 56.81 mg CE/100g nella terza annata (2018-2019). Da un punto di vista varietale, i genotipi che si sono distinti per il contenuto di flavonoidi liberi sono stati il Verna (108.05 mg CE/100g) e il Frassineto (104.85 mg CE/100g), i quali si sono discostati in maniera significativa da tutte le restanti varietà o popolazioni.

Osservando i flavonoidi bound (BF), in riferimento all'areale di coltivazione, solo l'azienda La collina ha fatto registrare valori statisticamente più bassi rispetto alle altre località (24.10 mg CE/100g).

Infine, le popolazioni Bioadapt (originale e evolutivo) e il Verna hanno fatto registrare i valori più elevati di flavonoidi bound (Tabella 4-D).

ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE

L'analisi statistica ha rilevato effetti significativi dell'annata agraria, dell'areale di coltivazione e del genotipo sul potenziale antiossidante delle farine integrali oggetto di studio.

Si può osservare, dalla Tabella 4-D, una forte riduzione dell'attività antiossidante (FRAP) nell'ultima annata considerata nello studio: nella prima annata agraria il FRAP è risultato pari a 1.01 mmol Fe^{2+}/100 g, per diminuire drasticamente nelle due annate successive, raggiungendo valori pari a 0.88 mmol Fe^{2+}/100 g (2017-2018) e 0.85 mmol Fe^{2+}/100 g (2018-2019). Presso l'azienda agraria Arvaia si è raggiunto il valore medio più elevato del FRAP (mmol Fe^{2+}/100 g).

Considerando i genotipi, la varietà che presenta attività antiossidante più alta è l'Andriolo (0. 95 mmol Fe^{2+}/100 g).

4.5 DISCUSSIONE

4.5.1 RISULTATI PRODUTTIVI E CARATTERI MORFOLOGICI

Considerando gli effetti delle interazioni tra i fattori considerati sulla resa, evidenziati in Figura 4-F, si può osservare come il miscuglio Bioadapt originale e la popolazione Bioadapt evolutivo non si siano differenziati mediamente in modo significativo da alcune varietà in purezza, in termini di resa: si può infatti notare come le varietà Gentil Rosso, Andriolo e Frassineto abbiano rese medie statisticamente non differenti da quelle delle popolazioni. Si potrebbe ipotizzare pertanto che le suddette varietà abbiano assunto un ruolo dominante nell'influenzare la resa di Bioadapt Originale e Bioadapt evolutivo. In generale, si può affermare che le rese ottenute nel corso della sperimentazione sono buone, considerato il sistema di coltivazione biologico, rispetto a quelle riportate in studi simili (Bocci et al., 2020).

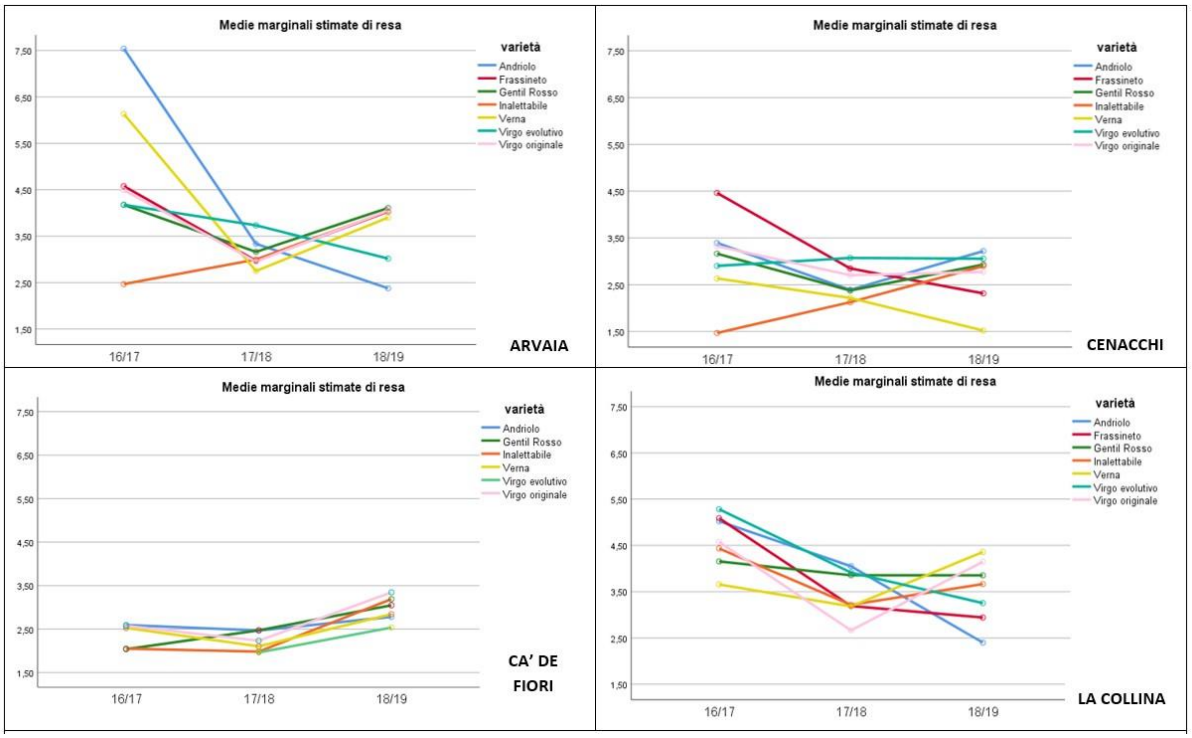


Figura 4-F Confronto delle medie marginali delle rese produttive di ogni varietà e popolazione coltivata, in ogni singola azienda nelle tre annate oggetto di studio

Entrambe le popolazioni si sono dimostrate tendenzialmente stabili per le loro rese, in tutti e quattro gli areali di coltivazione: Bioadapt originale e Bioadapt evolutivo assumono infatti, in ciascuna località, dei valori massimi e minimi di resa non molto differenti tra le diverse annate, rispetto alle varietà in purezza, che mostrano una

maggiore oscillazione nei valori; si può quindi ipotizzare che le popolazioni si siano adattate generalmente ai diversi ambienti di coltivazione, mantenendo valori medi della resa in linea con quelli delle varietà in purezza. I risultati indicano che probabilmente le popolazioni non sono in grado di raggiungere le rese massime registrate per alcune varietà, le quali possono raggiungere performance produttive elevate se si trovano nelle condizioni ambientali e di fertilità migliori. Bioadapt originale e Bioadapt evolutivo, invece, possono rappresentare un'ottima alternativa per ottenere rese produttive stabili nel tempo, anche in condizioni ambientali e agronomiche meno favorevoli.

Anche le elaborazioni GGE biplot confermano la vantaggiosa stabilità agronomica della popolazione Bioadapt Evolutivo che raggiunge negli anni e nelle diverse località (Figura 4-G) valori medi elevati ma soprattutto con una buona stabilità, maggiore delle cultivar in purezza e migliore del miscuglio semplice.

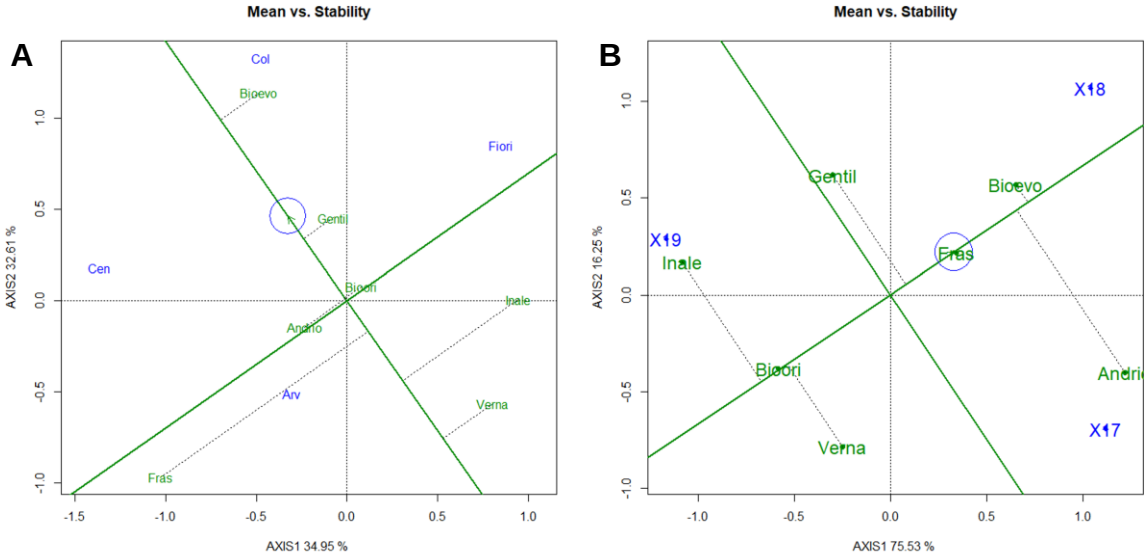


Figura 4-G Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per la resa. Il grafico A esplora la performance e la stabilità in termini di resa nei 4 ambienti di coltivazione. Il grafico B esplora la performance e la stabilità in termini di resa nei 3 anni di coltivazione.

Analizzando il peso di 1000 semi e il peso ettolitrico (Figura 4-H) si può notare come le popolazioni Bioadapt originale e Bioadapt evolutivo presentino una stabilità superiore. Al contrario, le varietà in purezza presentano una forte variabilità dovuta probabilmente alle condizioni meteorologiche registrate nelle annate oggetto di studio.

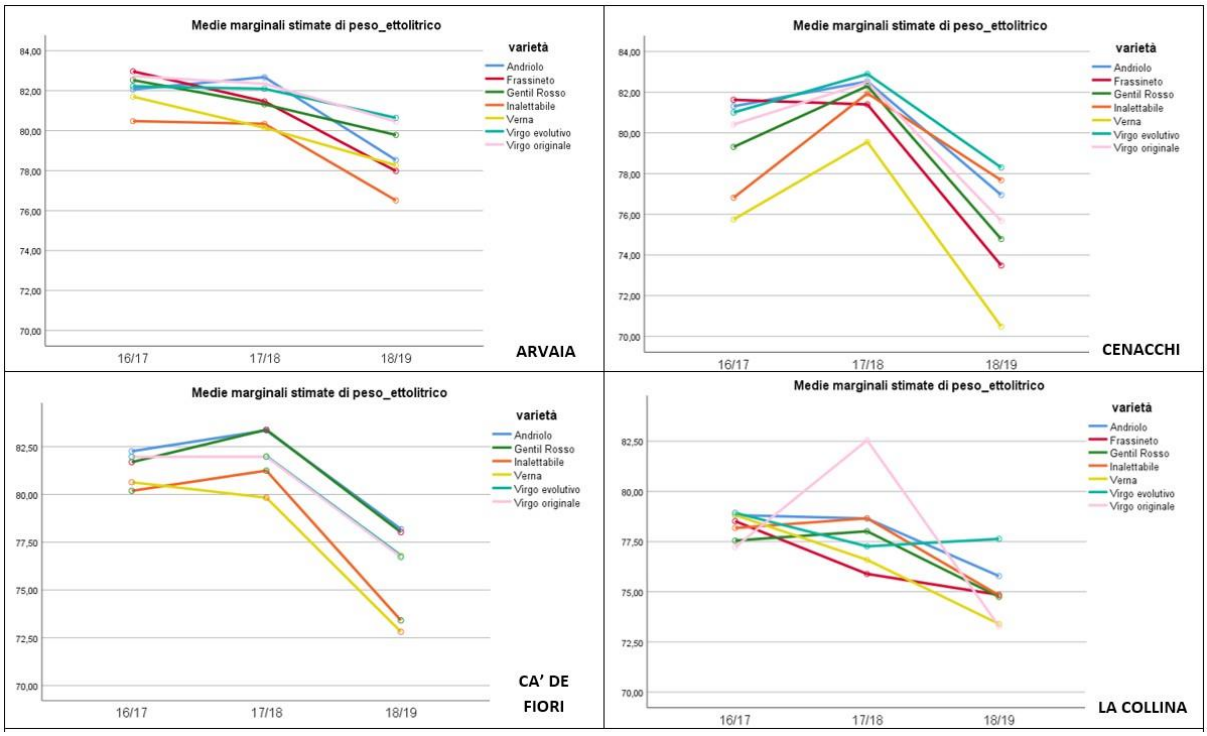


Figura 4-H Confronto delle medie marginali del peso ettolitrico di ogni varietà e popolazione coltivata, in ogni singola azienda nelle tre annate oggetto di studio

Confermando alcune evidenze emerse in precedenti studi sugli effetti dei fattori meteorologici sulla resa (van der Velde et al., 2012), il peso di 1000 semi, il peso ettolitrico e la resa produttiva sembrano aver risentito delle numerose precipitazioni che si sono registrate nell'anno 2017-2018 e 2018-2019; i valori più alti di questi parametri, infatti, si registrano nell'annata agraria 2016-2017, che vede precipitazioni cumulate nettamente inferiori rispetto a quelle riscontrate nell'annate successive (quasi dimezzate nelle aziende Arvaia e Ca' dei fiori). Nel primo anno, infatti, i valori registrati per queste variabili risultano essere anche superiori alle medie riportate in letteratura (Migliorini et al., 2016).

Dalle analisi GGE biplot, si conferma una buona stabilità del peso ettolitrico per la popolazione Bioadapt Evolutivo, che registra negli anni (Figura 4-I) valori medi elevati ma soprattutto una buona stabilità. Per questa variabile, la differenza nella stabilità e nelle performance non è elevata rispetto al miscuglio originale, con Andriolo che invece risulta avere buone performance e un'elevata stabilità negli anni e nelle differenti località. Il peso ettolitrico della popolazione Bioadapt Evolutivo risulta essere meno stabile tra le diverse località (Figura 4-I), con valori tendenzialmente maggiori nelle aziende Collina e Cenacchi, le cui condizioni ambientali sembrano essere state favorevoli per le performance di questo parametro.

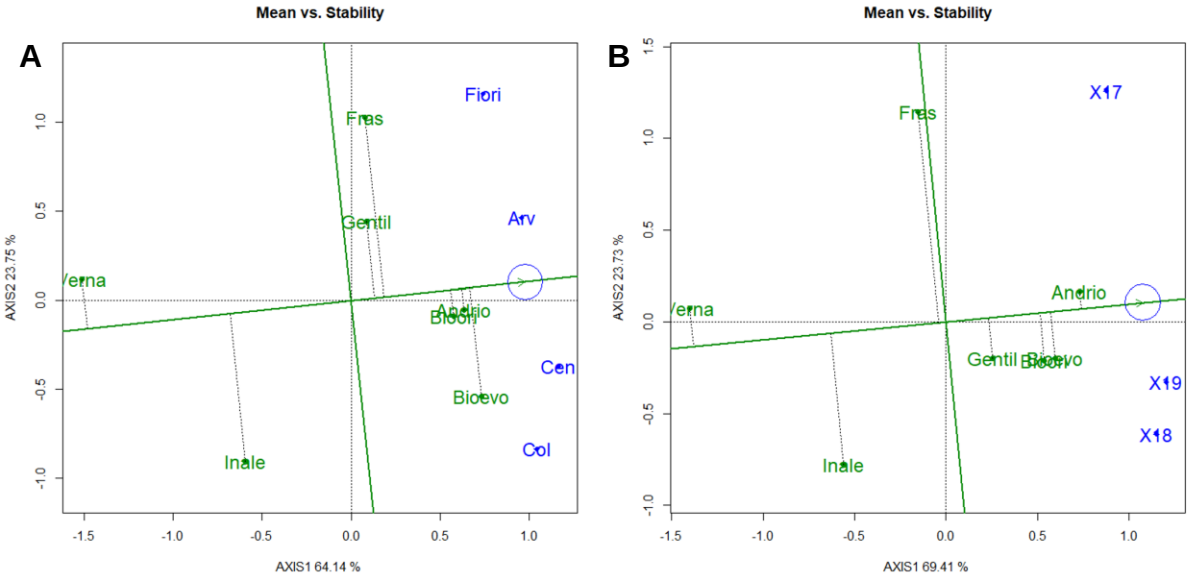


Figura 4-I Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per il peso ettolitrico. Il grafico A esplora la performance e la stabilità in termini di peso ettolitrico nei 4 ambienti di coltivazione. Il grafico B esplora la performance e la stabilità in termini di peso ettolitrico nei 3 anni di coltivazione.

Dai dati riportati in Tabella 4-C, si può vedere come, a livello genotipico, le varietà che presentano altezze medie elevate hanno indici di allettamento superiori; per questo motivo l'altezza delle piante, assieme alla resa, è uno dei parametri che è spesso oggetto di programmi di miglioramento genetico, mirati alla costituzione di varietà a taglia ridotta e meno soggette ad allettamento (Ormoli et al., 2015).

La varietà Andriolo, nonostante presenti indici di allettamento e un'altezza media della pianta elevati, presenta la resa più alta: dalla prova effettuata si potrebbe ipotizzare che le varietà a taglia elevata, presentano un allettamento di tipo tardivo, che non interferisce eccessivamente con le fasi di riempimento e maturazione della cariosside. Le varietà, Bioadapt evolutivo e Bioadapt originale presentano valori di altezza pianta e indici di allettamento in linea con valori riportati in letteratura (Migliorini et al., 2016), ma mantengono comunque valori produttivi buoni.

4.5.2 STRESS BIOTICI

Dal punto di vista fitosanitario, come descritto precedentemente, l'incidenza delle malattie raggiunge il valore massimo nell'annata 2018-2019; essa ha registrato un quantitativo di piogge cumulate elevate e questo conferma come l'andamento climatico abbia influenzato lo svilupparsi di malattie.

Dal punto di vista genotipico, si osserva come l'incidenza delle malattie non abbia presentato differenze significative in relazione alla varietà considerata: le accessioni oggetto di studio infatti presentano mediamente una fase di levata precoce, una

copertura fogliare voluminosa e un accestimento rigoglioso, che probabilmente permettono loro di essere fortemente competitive verso i patogeni e le specie infestanti.

Le pratiche agronomiche adottate dal sistema di coltivazione biologico, il quale prevede l'impiego di bassi input, hanno esaltato la rusticità delle accessioni oggetto di studio; si è quindi dimostrato come la variabilità genetica di queste varietà di frumento possa essere utilizzate come base genetica per nuovi programmi di miglioramento genetico (Dinelli et al., 2009) e come esse possano essere valorizzate da regimi di agricoltura biologica o comunque a ridotto impiego di input.

Il livello d'infestanti, che non è risultato influenzato dall'annata di crescita, è un parametro molto importante per colture che crescono in agricoltura biologica; si può osservare infatti come, per alcune aziende, la percentuale di infestanti raggiunga anche valori elevati (Cenacchi - 28%). Questo parametro è quindi soggetto all'influenza della conduzione agronomica dell'azienda, la quale può adottare piani di lotta alle malerbe più o meno specifici. Ne consegue una diretta relazione con le rese, in quanto il frumento compete con le malerbe per gli elementi nutritivi e per lo spazio di crescita.

Considerando specificatamente il miscuglio Bioadapt originale e la popolazione Bioadapt evolutivo, invece, emerge una differenziazione per la capacità di competizione con le infestanti (Tabella 4-C): la popolazione evolutiva sembra avere una maggiore capacità di competizione, rispetto al semplice miscuglio delle varietà considerate, evidenziando quindi una potenzialità di miglioramento di questa caratteristica, derivante da un'interazione positiva ottenuta con l'approccio del miglioramento genetico evolutivo.

4.5.3 PARAMETRI NUTRIZIONALI

MACRONUTRIENTI

Dal punto di vista del contenuto proteico, il miscuglio Bioadapt originale e la popolazione Bioadapt evolutivo presentano valori medi inferiori rispetto alle varietà in purezza, ma risultano essere relativamente stabili nelle differenti località (Figura 4-J), con valori comunque medi superiori al 12%: popolazione e miscuglio infatti presentano tendenzialmente, nel corso delle tre annate agrarie, valori più omogenei tra loro rispetto ad alcune varietà in purezza.

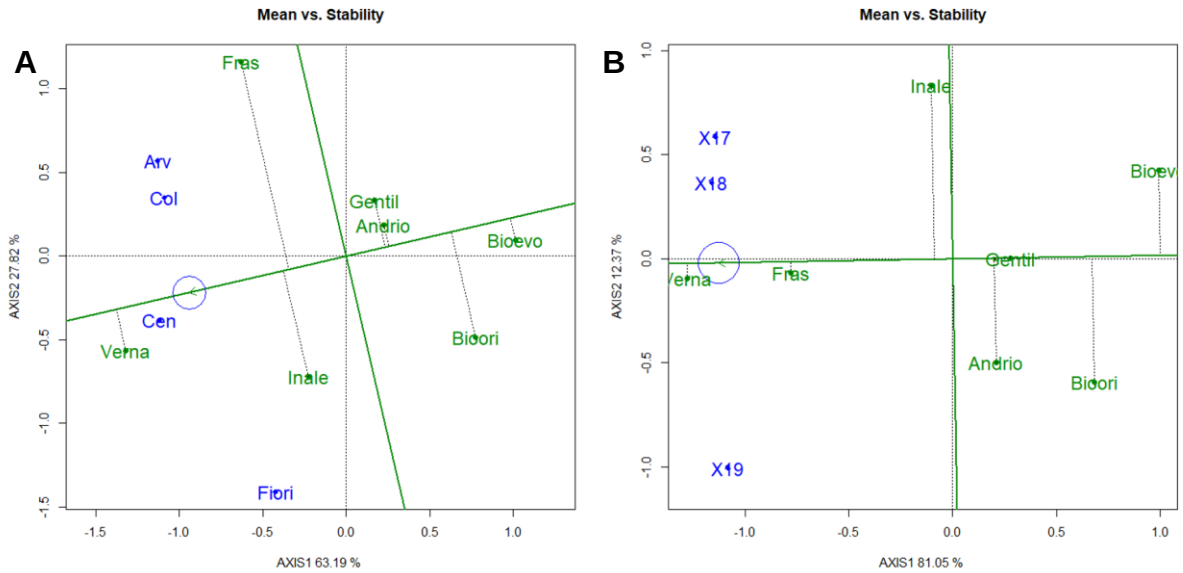


Figura 4-J Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per il contenuto proteico. Il grafico A esplora la performance e la stabilità in termini di proteine nei 4 ambienti di coltivazione. Il grafico B esplora la performance e la stabilità in termini di proteine nei 3 anni di coltivazione.

Questo sembra mettere in evidenza come le popolazioni risultino risentire meno alle "oscillazioni meteorologiche" osservate nel corso delle prove di campo. Alcune delle varietà (Verna, Frassineto e Inalettabile), in determinati contesti produttivi, riescono a raggiungere valori estremamente elevati (>16%), tuttavia, in condizioni ambientali più difficili (ad es. caratterizzati da scarsa piovosità o scarsa fertilità azotata del terreno) il contenuto proteico diminuisce in modo più che rilevante (< 12%) (Figura 4-K).

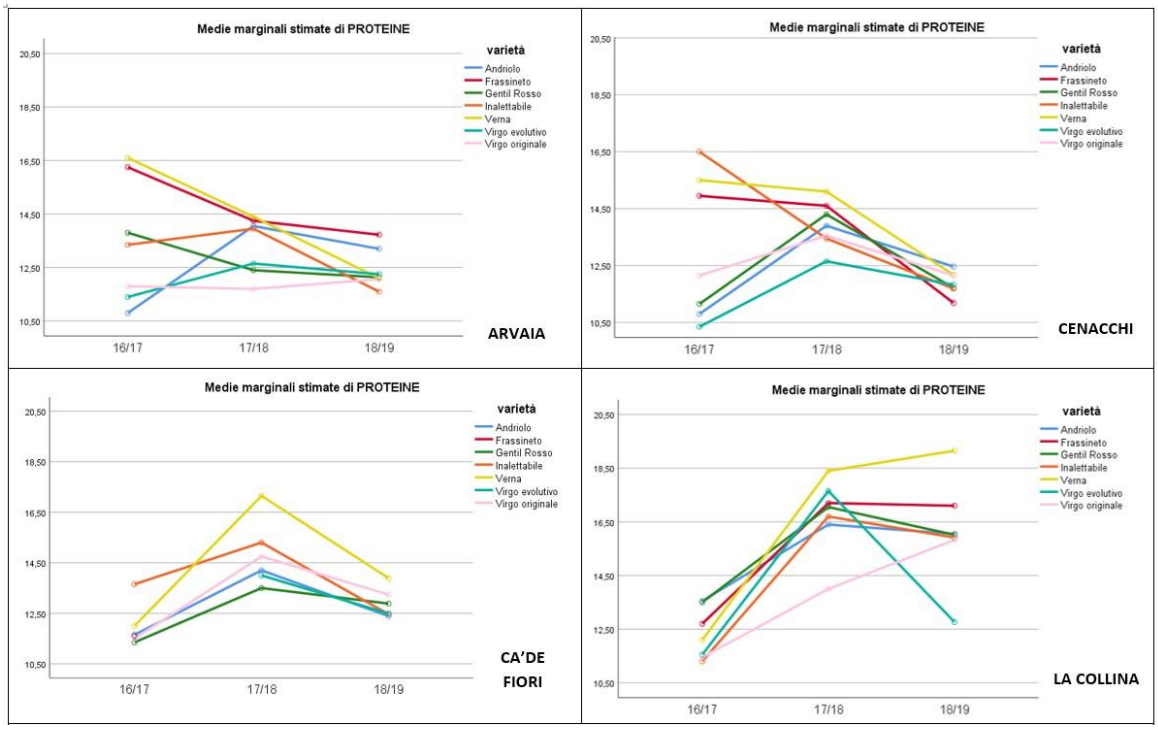


Figura 4-K Confronto delle medie marginali del contenuto proteico di ogni varietà e popolazione coltivata, in ogni singola azienda e nelle tre annate oggetto di studio

FIBRA ALIMENTARE

La percentuale di fibra contenuta nelle farine di frumento dipende innanzitutto dal loro grado di abburattamento e dalle tecniche di macinazione: alcuni studi hanno infatti dimostrato che farine integrali presentano una percentuale di fibre superiori di almeno il 9% rispetto alle altre farine e pertanto, per ottenere i massimi benefici dalle proprietà salutistiche della fibra, se ne consiglia il loro consumo (Scalfi e Montagnese, 2010).

Le componenti IDF e TDF hanno registrato valori più alti nelle annate di sperimentazione 2017-2018 e 2018-2019, ovvero quelle in cui le piogge cumulate sono risultate nettamente superiori rispetto alla prima annata oggetto di studio.

È pertanto ipotizzabile che condizioni di temperature medie più basse e precipitazioni cumulate maggiori abbiano influenzato in modo negativo il contenuto di fibra totale e il contenuto in fibra insolubile. relazione positiva con l'andamento delle temperature e una relazione inversa rispetto alle precipitazioni.

Questa correlazione positiva è stata già riscontrata in precedenti studi (Shewry et al., 2010) e può essere spiegata facendo riferimento a particolari meccanismi di difesa della pianta: in condizioni di stress da temperatura, la pianta reagisce provocando un inspessimento dei tegumenti esterni.

Il contenuto di fibra insolubile IDF, rispetto al contenuto in fibra solubile (SDF), è la frazione che maggiormente influisce sul contenuto finale in fibra (TDF). Considerando il contenuto in fibra totale, la popolazione evolutiva è risultata generalmente stabile, con valori medi omogenei nelle tre annate oggetto di studio, in ciascuna località (Figura 4-L).

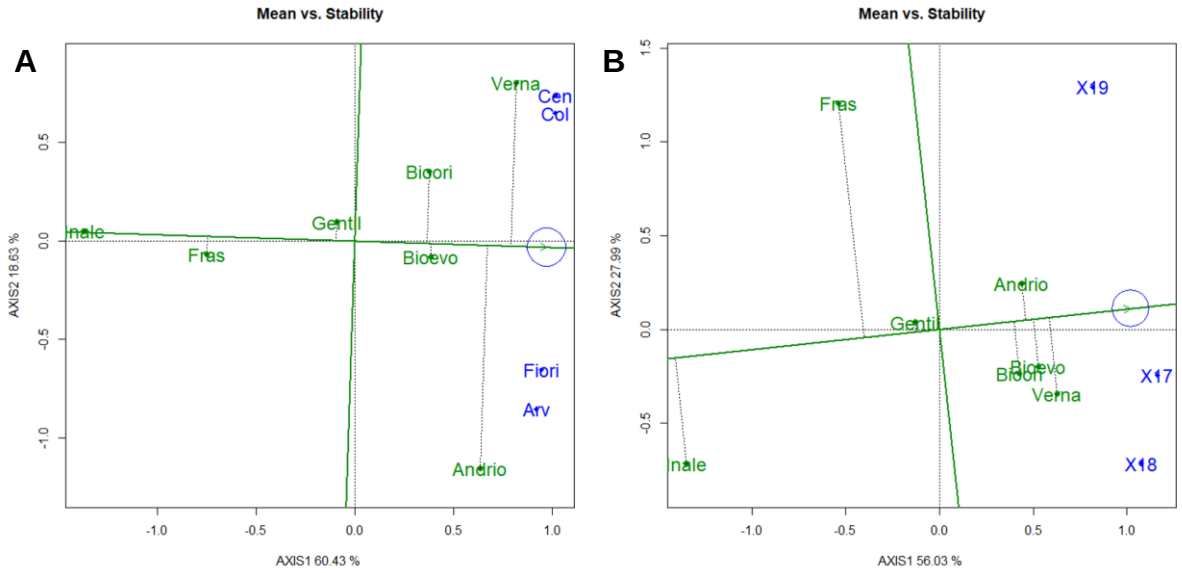


Figura 4-L Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per il contenuto in fibre totali. Il grafico A esplora la performance e la stabilità in termini di fibre totali nei 4 ambienti di coltivazione. Il grafico B esplora la performance e la stabilità in termini di fibre totali nei 3 anni di coltivazione.

In uno studio condotto da Scalfi e Montagnese (2010) si è osservato come farine integrali derivanti da frumenti di antica costituzione presentino una concentrazione in fibre maggiore rispetto a quelle derivanti da frumenti moderni: tale dato può essere correlabile alla diversa dimensione delle cariossidi, le quali, essendo tendenzialmente inferiori nei frumenti di antica costituzione, possono determinare una maggior concentrazione in elementi fibrosi nelle farine.

4.5.4 CARATTERISITCHE NUTRACEUTICHE E ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE DELLE FARINE

Analizzando l'andamento nelle tre annate agrarie, si può osservare come il contenuto totale in polifenoli abbia raggiunto i valori più elevati nelle annate 2016-2017 e 2017-2018, per poi diminuire in maniera evidente nell'ultima annata (2018-2019).

Va evidenziato che, nella terza annata, tutti i genotipi monitorati hanno registrato una riduzione sia nel contenuto proteico che nel peso ettolitrico, rispetto alle precedenti annate, mettendo in luce probabili condizioni di crescita non ottimali per il corretto riempimento della cariosside. È quindi ipotizzabile che sia il metabolismo primario che quello secondario abbiano risentito di tali condizioni. A livello genotipico, le popolazioni Bioadapt originale e Bioadapt evolutivo presentano un contenuto in polifenoli che varia in modo similare a quello delle varietà coltivate in purezza, in ciascuna località (Figura 4-M).

I dati medi registrati nel corso dello studio, risultano essere più bassi rispetto a quelli riscontrati in precedenti ricerche svolte sugli stessi genotipi da Dinelli et al. (2011). Questo fa ipotizzare che i meccanismi di attivazione della sintesi di composti del metabolismo secondario dipendano solo in parte dal genotipo.

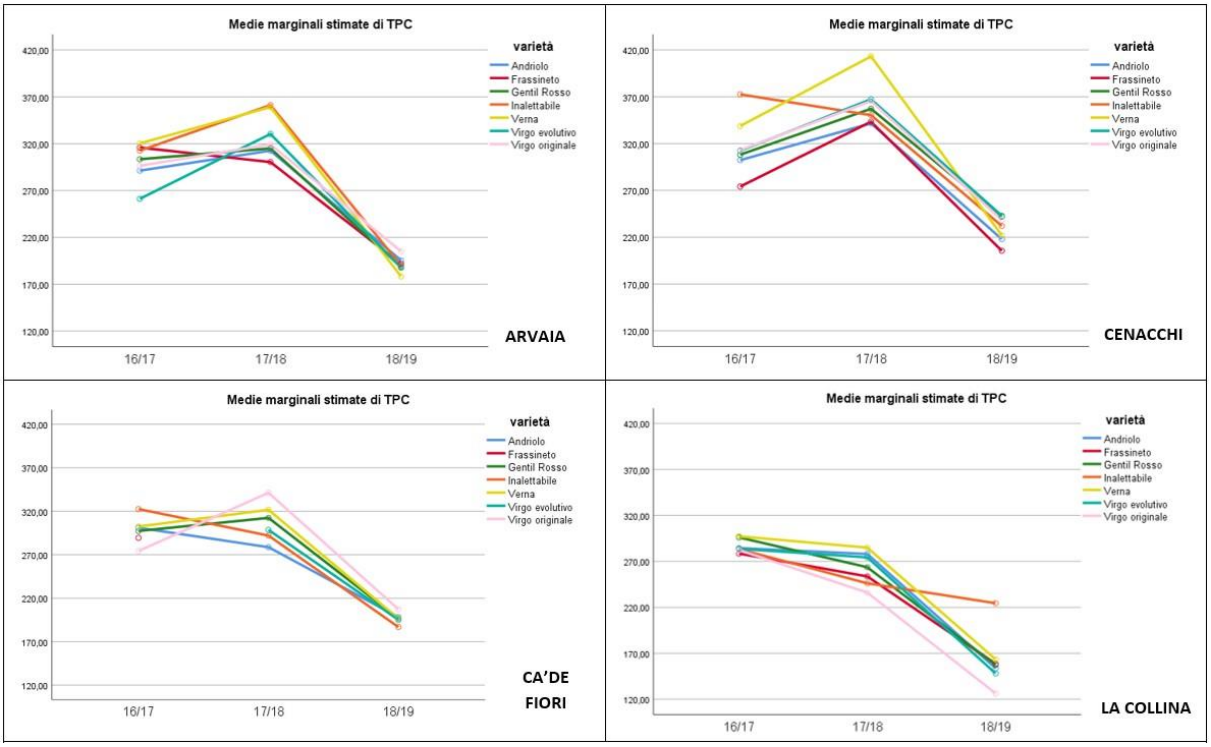


Figura 4-M Confronto delle medie marginali del contenuto in polifenoli totali (TPC) di ogni varietà e popolazione coltivata, in ogni singola azienda e nelle tre annate oggetto di studio

Le analisi GGE biplot effettuate sul contenuto in polifenoli totali evidenziano una buona stabilità per la popolazione Bioadapt Evolutivo, che registra negli anni (Figura 4-N) valori di TPC vicini alla media complessiva ma con una buona stabilità. Per questa variabile, vi è una certa differenza nella stabilità e nelle performance rispetto al miscuglio originale, con Inallettabile e Verna che invece risultano avere buone performance negli anni e nelle differenti località. Interessante rilevare come variano le diverse performance medie e la loro stabilità, confrontando le interazioni con le condizioni ambientali legate alla diversa annata agraria e alle diverse località separatamente. Il TPC della popolazione Bioadapt Evolutivo risulta essere meno stabile tra le diverse località (Figura 4-N), mentre i genotipi con medie maggiori (Verna e Inallettabile) risultano anche avere un contenuto in polifenoli totali abbastanza stabile nelle differenti località. All'opposto, confrontando le diverse annate, pur rimanendo le medie di TPC maggiori per i due genotipi in purezza rispetto a Bioadapt Originale, la loro stabilità negli anni risulta molto inferiore a quella che mostra la popolazione.

Probabilmente, la sintesi di polifenoli nella popolazione evolutiva risulta meno influenzata dalle variazioni negli andamenti meteorologici medi delle diverse annate, rispetto ai singoli genotipi. La popolazione mostra invece maggiore variabilità nella produzione di polifenoli in relazione alle condizioni ambientali specifiche di ogni singola località (ad esempio alle caratteristiche pedologiche), rispetto ad alcuni genotipi (come il Gentil Rosso), che risultano avere una produzione molto stabile di TPC nelle quattro località monitorate.

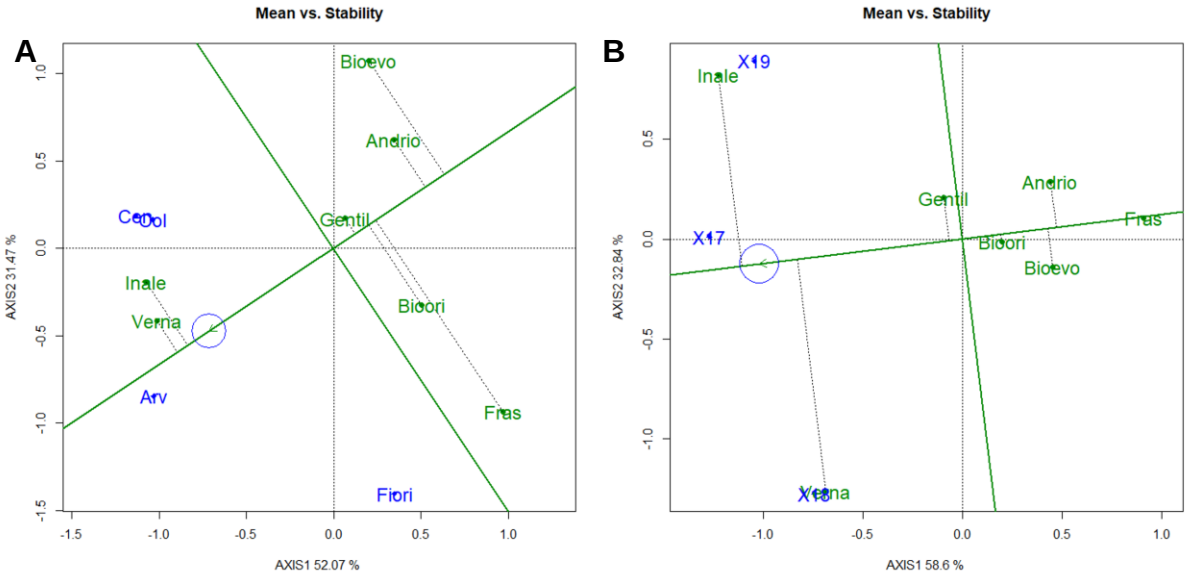


Figura 4-N Analisi GGE-biplot applicando la funzione "media versus stabilità" per il contenuto in polifenoli totali. Il grafico A esplora la performance e la stabilità in termini di polifenoli totali nei 4 ambienti di coltivazione. Il grafico B esplora la performance e la stabilità in termini di polifenoli totali nei 3 anni di coltivazione.

Complessivamente, l'andamento dei flavonoidi è risultato del tutto simile a quanto osservato per i polifenoli: anche in questo caso, infatti, i valori più elevati si sono osservati nella seconda e nella prima annata agraria (rispettivamente pari a 164.30 mg CE/100g e 138,70 g CE/100g), mentre valori decisamente più bassi si sono osservati nella terza annata (79.60 mg CE/100g) (Figura 4-O). Anche in merito alla località di coltivazione, si può affermare che le aziende Arvaia e Cenacchi abbiano raggiunto i valori più elevati sia di polifenoli totali che di flavonoidi totali. Viceversa, l'azienda La collina e Ca' de Fiori, hanno fatto registrare, per entrambe le variabili, i valori più bassi.

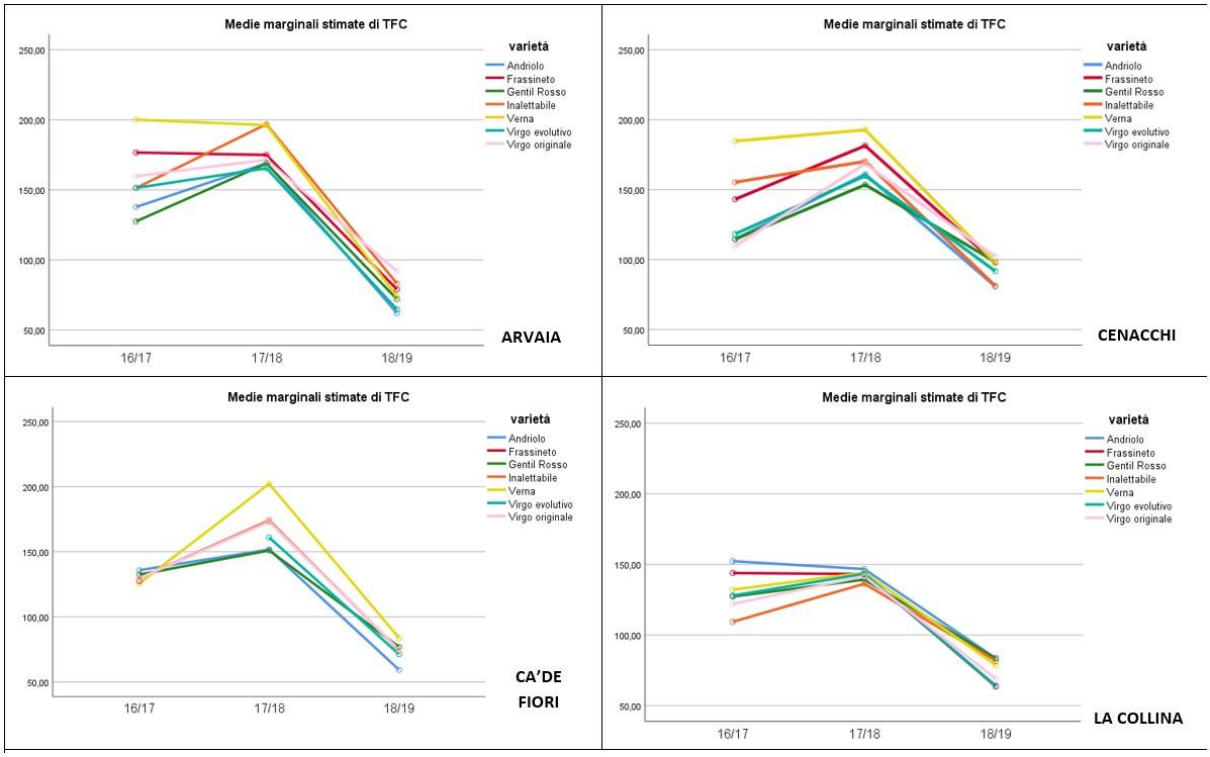


Figura 4-O Confronto delle medie marginali del contenuto in flavonoidi totali (TFC) di ogni varietà e popolazione coltivata, in ogni singola azienda e nelle tre annate oggetto di studio

I valori medi misurati nella sperimentazione sono in linea con quelli riportati in letteratura sui medesimi genotipi, coltivati in condizioni di agricoltura biologica (Dinelli et al., 2011).

L'attività antiossidante (FRAP), a differenza del contenuto totale di polifenoli e flavonoidi, è risultata massima nella stagione 2016-2017: si può ipotizzare che l'andamento stagionale, con scarse precipitazioni rispetto alle altre due annate oggetto di studio, probabilmente abbia influenzato il profilo dei composti fenolici, in termini di molecole chimiche presenti nelle farine, che di conseguenza ha influenzato l'attività antiossidante.

Per questo parametro, la popolazione evolutiva è risultata mediamente stabile e non si è distinta particolarmente, rispetto ad altre varietà "in purezza".

4.6 CONCLUSIONI

Il frumento è una delle colture agrarie più diffuse e coltivate al mondo, per l'importanza che esso ricopre nell'alimentazione umana.

Le attività di miglioramento genetico effettuate nel secolo scorso hanno portato le varietà moderne a raggiungere elevati valori di produttività, resistenza alle malattie, abbassamento della taglia, senza però prestare attenzione a miglioramenti in termini

qualitativi e nutrizionali. Le suddette varietà richiedono un sistema di coltivazione ad alti input, per esplicare al meglio il loro potenziale genetico.

I genotipi selezionati prima della cosidetta Green Revolution, mostrano un'elevata competitività nei confronti delle infestanti e tolleranza verso le malattie, adattandosi molto bene alla coltivazione in regimi di agricoltura biologica, oggi un settore molto in crescita.

Considerando i risultati ottenuti nella sperimentazione, emerge chiaramente l'importanza delle interazioni tra gli effetti dell'annata agraria, del genotipo scelto e dell'areale di coltivazione, nell'influenzare in maniera significativa le rese produttive e qualitative del frumento.

L'andamento stagionale, soprattutto per le precipitazioni cumulate nel periodo tra aprile e luglio, ha determinato, nelle ultime due annate oggetto di studio, riduzioni di produttività e di qualità nelle farine ottenute. Il miscuglio Bioadapt originale e la popolazione Bioadapt evolutivo hanno mostrato comunque una certa adattabilità a tali eventi, riuscendo comunque ad ottenere rese in linea con le varietà semplici, che sono state impiegate inizialmente per la loro costituzione.

Anche l'areale di coltivazione ha influito sui parametri oggetto di studio e si può evidenziare come l'ambiente pedo-climatico abbia comportato alcune differenze: l'azienda agricola Ca' dei Fiori, collocata ad altitudine maggiore, presenta valori più bassi di resa ma raggiunge valori dei parametri nutrizionali molto vicini a quelli registrati nelle altre tre aziende, collocate in zone di pianura. Nell'azienda di montagna le piante hanno raggiunto altezze e indici di allettamento inferiori, segno di come l'effetto ambientale abbia modificato e influenzato il portamento delle piante, riducendo la crescita vegetativa.

La popolazione Bioadapt evolutivo e il miscuglio Bioadapt originale sono complessivamente riusciti ad adattarsi ai diversi areali di coltivazione e alle diverse condizioni metereologiche: la popolazione e il miscuglio mantengono valori di resa tendenzialmente stabili nel corso delle tre annate oggetto di studio, in ciascun areale in cui sono state coltivate e riseminate. Per questo motivo entrambe potrebbero rappresentare una valida alternativa per gli agricoltori, che potrebbero quindi scegliere quale varietà o popolazione utilizzare, a seconda dei propri obbiettivi aziendali.

Le varietà in purezza sono in grado di raggiungere rese anche maggiori della popolazione evolutiva, se si trovano nelle condizioni ideali di crescita, come ad esempio l'Andriolo, che ha raggiunto le 7.5 t/ha presso l'azienda agraria Arvaia. Si è

però visto come queste varietà possano presentare una certa eterogeneità le variabili analizzate; questo dimostra come le varietà di frumento utilizzate siano in grado di adattarsi in maniera positiva ai diversi areali di coltivazione e alle diverse condizioni ambientali, seppur in maniera ridotta rispetto alle popolazioni evolutive, considerando specialmente i parametri agronomici.

Dallo studio, sembra che la varietà Inallettabile, in termini di resa produttiva, sia favorita in ambienti umidi e con abbondanti precipitazioni, considerando le sue rese nei tre anni oggetto di studio, rispetto a quelle delle altre varietà in purezza. Si segnala infine il risultato ottenuto dalla varietà Verna, che presenta i valori migliori in termini nutrizionali, nello specifico: maggior contenuto proteico, maggior contenuto in fibre alimentari, maggior contenuto in polifenoli e flavonoidi.

Concludendo, si può aggiungere che le varietà oggetto di studio e le popolazioni evolutive possano rappresentare un valido materiale di partenza per programmi di miglioramento genetico, al fine di ottenere nuove tipologie di genotipi, che presentino valori nutrizionali elevati, maggiore stabilità negli anni delle performance produttive e qualitative e un migliore adattamento a diversi contesti pedo-climatici. Considerati i livelli produttivi e qualitativi raggiunti dal materiale oggetto di studio nelle condizioni sperimentali applicate, questi genotipi possono inoltre rappresentare una risorsa per gli agricoltori, specialmente in modelli di agricoltura a ridotto impiego di input o in areali caratterizzati da condizioni ambientali non “ideali” alla coltivazione del frumento.

4.7 BIBLIOGRAFIA

AACC (American Association of Cereal Chemists) International, 2000. Approved methods, 11th ed. St. Paul, MN: AACC International.

Adom, K.K., Liu, R.H., 2002. Antioxidant activity of grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 6182–6187. https://doi.org/10.1021/jf0205099

Adom, K.K., Sorrells, M.E., Liu, R.H., 2003. Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Wheat Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 7825–7834. https://doi.org/10.1021/jf030404l

ARPAE-ER - Agenzia Regionale per la Prevenzione, l'Ambiente e l'Energia dell’Emilia-Romagna. https://www.arpae.it/it

Barcaccia, G. e Falcinelli, M., 2011. Genetica e genomica. Vol. II. Miglioramento Genetico. *op. cit.*

Ben Hamouda, G., Pavan, V., Antolini, G., Botarelli, L., Ventura, F., 2019. Comparison and validation of daily meteorological data.from ERA5 rianalisys with observational surface data, from Emilia-Romagna region. Atti del XXII Convegno Nazionale di Agrometeorologia, 101-105.

Benedettelli, S., Ghiselli, L., Martinelli, T., 2013. Attività di miglioramento genetico sul frumento tenero. Da: Pane nuovo e pane antico: evoluzione delle varietà di grano, della tecnica molitoria e panificatoria. Pacini editore. Amministrazione provinciale di Siena - settore sviluppo rurale, 25-77

Bengtsson, J., Ahnström, J., Weibull, A.C., 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: A meta-analysis. Journal of Applied Ecology 42, 261–269. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x

Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "'Antioxidant Power'": The FRAP Assay, ANALYTICAL BIOCHEMISTRY.

Bocci, R., Bussi, B., Petitti, M., Franciolini, R., Altavilla, V., Galluzzi, G., di Luzio, P., Migliorini, P., Spagnolo, S., Floriddia, R., Rosi, G.L., Petacciato, M., Battezzato, V., Albino, A., Faggio, G., Arcostanzo, C., Ceccarelli, S., 2020. Yield, yield stability and farmers' preferences of evolutionary populations of bread wheat: A dynamic solution to climate change. European Journal of Agronomy 121, 126156. https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126156

Ceccarelli, S., 2014. GM crops, organic agriculture and breeding for sustainability. Sustainability (Switzerland) 6, 4273–4286. https://doi.org/10.3390/su6074273

Ceccarelli, S., Grando, S., 2020. Evolutionary Plant Breeding as a Response to the Complexity of Climate Change. iScience 23, 101815. https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101815

Ceccarelli, S., Grando, S., Maatougui, M., Michael, M., Slash, M., Haghparast, R., Rahmanian, M., Taheri, A., Al-Yassin, A., Benbelkacem, A., Labdi, M., Mimoun, H.,

Nachit, M., 2010. Plant breeding and climate changes. Journal of Agricultural Science 148, 627–637. https://doi.org/10.1017/S0021859610000651

D'Egidio, M.G., Carcea, M., 2013. I metodi analitici per la misura della qualità dei cereali. Molini d'Italia, 6/2013, 17-21.

di Gioia, D., Strahsburger, E., Lopez de Lacey, A.M., Bregola, V., Marotti, I., Aloisio, I., Biavati, B., Dinelli, G., 2014. Flavonoid bioconversion in bifidobacterium pseudocatenulatum B7003: A potential probiotic strain for functional food development. Journal of Functional Foods 7, 671–679. https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.018

di Silvestro, R., di Loreto, A., Bosi, S., Bregola, V., Marotti, I., Benedettelli, S., Segura-Carretero, A., Dinelli, G., 2017. Environment and genotype effects on antioxidant properties of organically grown wheat varieties: a 3-year study. Journal of the Science of Food and Agriculture 97, 641–649. https://doi.org/10.1002/jsfa.7782

Dinelli, G., Carretero, A.S., di Silvestro, R., Marotti, I., Fu, S., Benedettelli, S., Ghiselli, L., Gutiérrez, A.F., 2009. Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1216, 7229–7240. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.041

Dinelli, G., Segura-Carretero, A., di Silvestro, R., Marotti, I., Arráez-Román, D., Benedettelli, S., Ghiselli, L., Fernadez-Gutierrez, A., 2011. Profiles of phenolic compounds in modern and old common wheat varieties determined by liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1218, 7670–7681. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.065

Dupont, F.M., Altenbach, S.B., 2003. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. Journal of Cereal Science 38, 133–146. https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00030-4

ERG5_Eraclito - Dataset climatico dal 1961 della Regione Emilia-Romagna, ARPAE-ER. https://dati.arpae.it/dataset/erg5-eraclito

FAO/WHO, 1999, Codex Alimentarius Commission approves guidelines for organic food, http://www.un.org/press/en/1999/19990706.SAG44.html

FOLCH, J., LEES, M., SLOANE STANLEY, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. The Journal of biological chemistry 226, 497–509. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5

Frutos, E., Galindo, M.P., Leiva, V., 2014. An interactive biplot implementation in R for modeling genotype-by-environment interaction. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment 28, 1629–1641. https://doi.org/10.1007/s00477-013-0821-z

Kroon, P.A., Faulds, C.B., Ryden, P., Robertson, J.A., Williamson, G., 1997. Release of Covalently Bound Ferulic Acid from Fiber in the Human Colon.

Lammerts van Bueren, E.T., Myers, F.R., 2012. Organic Crop breeding: Integrating organic agricultural approaches and traditional and modern plant breeding methods

Legge 1 dicembre 2015, n. 194, “Disposizioni per la tutela e la valorizzazione della biodiversita' di interesse agricolo e alimentare”, https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2015/12/11/15G00210/sg%20

Leoncini, E., Prata, C., Malaguti, M., Marotti, I., Segura-Carretero, A., Catizone, P., Dinelli, G., Hrelia, S., 2012. Phytochemical Profile and Nutraceutical Value of Old and Modern Common Wheat Cultivars. PLoS ONE 7. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045997

Mäder, P., Fliebach A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U., 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. Science 296, 1694–1697

Migliorini, P., Spagnolo, S., Torri, L., Arnoulet, M., Lazzerini, G., Ceccarelli, S., 2016. Agronomic and quality characteristics of old, modern and mixture wheat varieties and landraces for organic bread chain in diverse environments of northern Italy. European Journal of Agronomy 79, 131–141. https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.05.011

Neisse, A.C., Kirch, J.L., Hongyu, K., 2018. AMMI and GGE Biplot for genotype × environment interaction: a medoid–based hierarchical cluster analysis approach for

high–dimensional data. Biometrical Letters 55, 97–121. https://doi.org/10.2478/bile-2018-0008

Ormoli, L., Costa, C., Negri, S., Perenzin, M., Vaccino, P., 2015. Diversity trends in bread wheat in Italy during the 20th century assessed by traditional and multivariate approaches. Scientific Reports 5. https://doi.org/10.1038/srep08574

Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Delikanli, B., 2014. Phenolics in Human Health. International Journal of Chemical Engineering and Applications 5, 393–396. https://doi.org/10.7763/ijcea.2014.v5.416

Phillips, S.L., Wolfe, M.S., 2005. Evolutionary plant breeding for low input systems. Journal of Agricultural Science. https://doi.org/10.1017/S0021859605005009

Pingali, PL., 2012. Green Revolution: Impacts, limits, and the path ahead. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(31), 12302–12308

Prosky, L., Asp, N.G., Schwizer, T.F., De Vries, J.W., Furda, I., 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study, Journal - Association of Official Analytical Chemists, 71(5), 1017-1023.

Scalfi, L., Montagnese, C., 2010. Cereali integrali, fibra alimentare da cereale quadro lipidemico, Nutrizione Umana e Dietetica, Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università degli Studi Federico II, Napoli, 1-5

Shewry, P.R., Piironen, V., Lampi, A.M., Edelmann, M., Kariluoto, S., Nurmi, T., Fernandez-Orozco, R., Ravel, C., Charmet, G., Andersson, A.A.M., Åman, P., Boros, D., Gebruers, K., Dornez, E., Courtin, C.M., Delcour, J.A., Rakszegi, M., Bedo, Z., Ward, J.L., 2010. The HEALTHGRAIN wheat diversity screen: Effects of genotype and environment on phytochemicals and dietary fiber components. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58, 9291–9298. https://doi.org/10.1021/jf100039b

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*, Methods in Enzymology, 299, 152-178.

Suneson, C.A., 1956. An Evolutionary Plant Breeding Method 1. Agronomy Journal 48, 188–191. https://doi.org/10.2134/agronj1956.00021962004800040012x

Tuomisto, H.L., Hodge, I.D., Riordan, P., Macdonald, D.W., 2012. Does organic farming reduce environmental impacts? - A meta-analysis of European research. Journal of Environmental Management 112, 309–320. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.08.018

van der Velde, M., Tubiello, F.N., Vrieling, A., Bouraoui, F., 2012. Impacts of extreme weather on wheat and maize in France: Evaluating regional crop simulations against observed data. Climatic Change 113, 751–765. https://doi.org/10.1007/s10584-011-0368-2

Webber, H.J., 1908, Plant-Breeding for Farmers, Cornell Univ Bull, 251, 289–332

Witcombe, J.R., Joshi, A., Joshi, K.D., Sthapit, B.R., 1996. Farmer Participatory Crop Improvement. I. Varietal Selection and Breeding Methods and Their Impact on Biodiversity. Experimental Agriculture 32, 445–460. https://doi.org/10.1017/S0014479700001526

5 POTENZIALE ALLELOPATICO DEL FRUMENTO: UN MECCANISMO FISIOLOGICO CON UN IMPATTO AGRONOMICO

5.1 INTRODUZIONE

5.1.1 FRUMENTO TENERO: TRADIZIONE E PRODUZIONE

Il frumento tenero (Triticum aestivum L.) è considerato come uno dei cereali più antichi e più importanti per la dieta dell'uomo. Si stima che le prime coltivazioni risalgano circa al 10.000 a.C. e che abbiano spinto le tribù nomadi del tempo a costruire i primi insediamenti, adatti a conservare il raccolto anche per molto tempo (Khan e Shrewry, 2009). Il grano e successivamente il pane nell'alimentazione umana hanno quindi inevitabilmente influenzato l'economia delle prime civiltà antiche, mantenendo la loro importanza anche nelle epoche successive (Rubel, 2011).

Il frumento tenero, infatti, rimane fra i cereali più coltivati al mondo per le ottime proprietà nutrizionali, ma soprattutto per l'eccellente adattabilità agronomica, facilità nel trasporto, conservazione e trasformazione (van der Meulen e Chauhan, 2017).

Durante il corso dei secoli, l'uomo ha perfezionato le tecniche agronomiche per ottimizzare la produttività della coltura, raggiungendo una media globale di circa 3.5 tonnellate ad ettaro: ad oggi vengono seminati circa 220 milioni di ettari (Fischer et al., 2014) e raccolte circa 775 milioni di tonnellate (FAO, 2021). L'Europa contribuisce alla produzione annuale di frumento tenero con circa un sesto del totale mondiale: 128 milioni di tonnellate nell'anno 2021 (DG AGRI, 2021). In Italia, il frumento tenero è il secondo cereale più coltivato: nel 2021 circa 500 mila ettari sono stati destinati alla produzione di circa 3 milioni di tonnellate (ISTAT, 2021). Anche se la produttività ad ettaro di questo cereale in Italia è molto alta, raggiungendo anche valori di 6 tonnellate ad ettaro, quasi il doppio di quella globale, la produzione interna non è sufficiente a soddisfare la domanda. Le industrie molitorie nazionali dipendono inevitabilmente dall'estero per l'approvvigionamento del grano tenero: le importazioni rappresentano circa il 60% del fabbisogno interno (Info Farine, 2021). Nonostante ciò, il frumento tenero rimane una coltura particolarmente importante per il nostro paese: in circa 30 anni, la produttività ad ettaro è circa raddoppiata grazie al perfezionamento e allo studio delle tecniche produttive, allo sviluppo di pratiche agronomiche razionali, alla selezione genetica e alla meccanizzazione del settore agricolo (Info Farine, 2021).

5.1.2 CRITICITÀ NELLA GESTIONE DELLA FLORA INFESTANTE

Fra le varie tecniche produttive necessarie per la coltivazione del frumento tenero, è di fondamentale importanza la gestione della flora infestante. Le piante infestanti hanno un impatto molto forte sulla produzione: competono con la coltura per l'assorbimento dei nutrienti e dell'acqua, sono vettori di malattie, riducono qualità e resa alla raccolta. Per gestire questo problema, dal 1947, i coltivatori acquistano periodicamente attrezzature e soprattutto prodotti chimici ritenuti indispensabili per la difesa (Powles e Shaner, 2001). La riduzione sostanziale della taglia dei frumenti coltivati a partire dall'avvento della "Green revolution", selezionati per un habitus di tipo "nano" o "semi-nano", ha poi reso la necessità degli agricoltori di ricorrere al diserbo chimico ancora più forte. Gli erbicidi si sono dimostrati fin da subito particolarmente efficaci, ma l'uso frequente e spesso anche eccessivo di queste sostanze ha influenzato la pressione selettiva sulle popolazioni di piante infestanti, favorendo la diffusione di specie resistenti agli erbicidi più utilizzati (Norsworthy et al., 2012), innescando quindi un effetto a catena per il quale sarà sempre più difficile ottenere dei formulati efficaci (Kraehmer *et al.*, 2014). In particolare, questo problema è emerso anche nella gestione delle infestanti del frumento tenero (Travlos et al., 2011), soprattutto per gli erbicidi utilizzati in post-emergenza, ovvero gli inibitori dell'ACCasi (enzima Acetil-Coa carbossilasi) e dell'ALS (enzima Aceto-Lattato sintetasi), i più utilizzati in Italia. Il controllo della flora infestante si è reso più complicato in post-emergenza, perciò, si è tornati ad effettuare diserbi in pre-emergenza, pratica che era cessata sostanzialmente dagli anni '80 ad oggi. I prodotti più utilizzati al momento per questo tipo di applicazione sono miscele a base delle sostanze attive chlorsulfuron, clortoluron, diflufenican, pendimetalin e triallate, che riescono a contenere infestanti a foglia larga come il papavero, molto comune nel frumento, crucifere e graminacee (Cinquemani, 2020). L'efficacia di queste sostanze attive è elevata, ma altrettanto lo è il loro impatto ambientale: la maggior parte di esse permane nel terreno per molto tempo, aumentando così i rischi di inquinamento del suolo, delle acque sotterranee tramite dilavamento e dell'aria attraverso evaporazione, con conseguenze sulla salute dell'uomo e degli altri esseri viventi presenti nell'ecosistema (UFAM, 2008).

Dalla seconda metà del XX secolo la comunità scientifica ha quindi dedicato maggiore attenzione agli effetti dannosi che i prodotti chimici possono arrecare all' uomo e all'ambiente in cui vengono utilizzati (Science et al., 2001). Proprio per queste ragioni, stanno aumentando le limitazioni all'uso dei diserbanti consentiti: un caso importante

è quello dell'uso del glyphosate in UE. Il prodotto sistemico per il controllo delle infestanti in presemina più utilizzato a livello mondiale, approvato fino al 15 dicembre 2022, è in una posizione incerta per il rinnovo dell'autorizzazione alla commercializzazione in Europa, poiché già classificato responsabile di gravi danni agli occhi e con effetti tossici per gli organismi acquatici con effetti a lungo termine, sia prima che dopo la valutazione dell'ECHA (Agenzia europea delle sostanze chimiche) nel 2017 (EFSA, 2021).

Anche il controllo meccanico delle infestanti, che oggi è l'alternativa più diffusa alla lotta chimica, presenta un problema di natura ambientale, a causa delle emissioni generate dalle macchine durante l'avanzamento in campo (Weiner et al., 2001).

Risulta strategico quindi trovare dei metodi innovativi e più sostenibili, e possibilmente più economici, per la gestione delle infestanti (Liebman e Gallandt, 1997), coerenti con un modello di agricoltura a basso input (Olofsdotter *et al.*, 2002).

Anche con questa consapevolezza, molti agricoltori hanno deciso di convertire i propri terreni al sistema di agricoltura biologica (Lockeretz e Madden, 1987). L'agricoltura biologica riesce ad offrire cibo prodotto in maniera efficiente ed economicamente competitiva, attraverso modalità più sicure per l'uomo e per l'ambiente (Lockeretz, 2007); tra cui, specialmente, il totale inutilizzo dei prodotti chimici di sintesi, per valorizzare la biodiversità, le attività, la fertilità del suolo e i cicli biologici (Corsi, 2008).

Il biologico si propone quindi come un settore produttivo con regolamentazioni e caratteristiche diverse dagli altri sistemi produttivi (Abitabile, 2013). Proprio per questo, nel 1972 fu fondata IFOAM, la federazione internazionale dei movimenti dell'agricoltura biologica, che ancora oggi coordina e rappresenta l'agricoltura biologica in più di 100 paesi (Lockeretz, 2007). Dagli anni '90 la superficie globale biologica certificata aumenta a ritmi sostenuti: partendo da valori di 0.7 milioni di ettari nel 1993 si è arrivati a 5.1 milioni di ettari nel 2003, superando nel 2006 i 30 milioni di ettari (Corsi, 2008).

Il sistema biologico in Italia ha iniziato ad affermarsi nel settore agricolo nei primi anni '80, aumentando fortemente l'affermarsi di regole e certificazioni negli anni '90. Nel 2017, in Italia, l'8.7% delle colture cerealicole sono produzioni biologiche: 305 mila ettari su un totale di 1.9 milioni di ettari sono colture biologiche. Il settore biologico è ancora attualmente in fase di costante espansione: fra il 2015 e il 2017 gli ettari coltivati a biologico sono aumentati del 35.5%; particolarmente significativo è l'aumento degli ettari destinati alla produzione di grano tenero biologico, che raggiunge i 52 mila ettari

(Del Bello, 2019). Ad oggi misurare la sostenibilità dell'agricoltura biologica è, per molti, argomento di particolare interesse, soprattutto in questa importante fase di crescente attenzione verso il settore (Abitabile, 2013).

Altro argomento di attualità è sicuramente il Green Deal europeo, presentato nel 2019, che pone l'obiettivo di trasformare l'Europa in un continente a neutralità climatica entro il 2050, ovvero di ridurre a zero l'emissione netta di gas serra (Montanarella e Panagos, 2021). Ad oggi le politiche non sono in grado di puntare ad un traguardo di questo tipo ma non è più possibile accontentarsi di una riduzione del 60% (Haines e Scheelbeek, 2020). L'European Green Deal propone una politica rivoluzionaria, che mira a ridurre l'inquinamento e allo stesso tempo ad aumentare le ricerche e gli investimenti sulle tecnologie rispettose dell'ambiente (Leonard *et al.*, 2021). È sicuramente necessario strutturare una politica complessa e completa, che comprenda gli aspetti climatici, energetici, ambientali, industriali, economici e sociali di questo grande progetto (Claeys *et al.*, 2019). È fondamentale, inoltre, per raggiungere la neutralità climatica nel 2050, sfruttare il potenziale che i terreni hanno nelle strategie di mitigazione e adattamento. Questo sarà possibile aumentando il contenuto di sostanza organica dei suoli agricoli attraverso lo sviluppo di pratiche sostenibili (Montanarella e Panagos, 2021).

La commissione europea ha fissato nuovi obiettivi da raggiungere entro il 2030 proponendo la "Biodivesity Strategy", piano decennale volto a proteggere la natura e i suoli dall'inquinamento, attraverso nuove tecniche di gestione dei terreni (Montanarella e Panagos, 2021). Le ambizioni sono molte: individuare come aree protette almeno il 30% dei terreni europei, contenere l'espansione urbana, aumentare le aree coltivate ad alta biodiversità del 10%, convertire il 25% delle coltivazioni europee in coltivazioni biologiche, continuare con la bonifica dei terreni contaminati, ridurre la degradazione dei suoli, piantare più di tre miliardi di alberi e ridurre l'utilizzo di pesticidi (Montanarella e Panagos, 2021). Il progetto si basa sulla strategia "Farm to Fork", letteralmente dall'azienda alla forchetta, la quale punta ad aumentare la produzione di cibo salutare diminuendo del 50% l'inquinamento dei suoli, attraverso una riduzione del 20% nell'uso di fertilizzanti e di almeno il 50% dei nutrienti persi (Montanarella e Panagos, 2021).

5.1.3 ALLELOPATIA

Proprio per rispondere a queste esigenze, gli agricoltori hanno iniziato recentemente a prestare attenzione a cultivar che tollerino maggiormente la presenza della flora infestante, permettendo quindi di ridurre gli input necessari per promuovere la crescita della coltura (Andrew et al., 2015). Per diminuire la fitness delle piante infestanti, tali cultivar dovrebbero essere in grado di competere efficacemente per le risorse limitate e indispensabili alla pianta, ovvero spazio, luce, acqua e sostanze nutritive (Andrew et al., 2015). Alcune cultivar, inoltre, attraverso il rilascio nel terreno di sostanze bioattive prodotte dal metabolismo secondario, riescono ad inibire la germinazione dei semi, la crescita e lo sviluppo delle piante circostanti (Andrew et al., 2015). Questo particolare meccanismo di difesa chimica è chiamato allelopatia (Olofsdotter et al., 2002).

In alcune specie l'allelopatia può manifestarsi in forma di auto-tossicità: ovvero una interferenza intraspecifica che avviene quando una pianta rilascia nel terreno composti chimici che ostacolano lo sviluppo di piante della stessa specie. In altre specie (molto comune nelle specie foraggere) è invece il fenomeno dell'etero-tossicità: ovvero una forma di interferenza interspecifica che avviene quando una pianta rilascia nel terreno composti chimici che ostacolano lo sviluppo di piante di altre specie. Gli effetti allelopatici sono responsabili nel ridurre, nelle piante sensibili, la germinazione dei semi, lo sviluppo, l'accrescimento delle plantule e dell'apparato radicale, l'assorbimento dei nutrienti, l'attività enzimatica e fotosintetica. L'allelopatia può influenzare notevolmente lo sviluppo delle piante, che si può tradurre in una conseguente riduzione della resa (Masoni et al., 2000).

Fondamentale è delineare la differenza fra competizione e allelopatia: se nel primo caso si tratta di un fenomeno che determina la perdita o la riduzione nell'ambiente di alcuni fattori che sono indispensabili per la crescita delle piante, nel secondo caso invece si tratta di un fenomeno "attivo", che aggiunge nel terreno sostanze chimiche. Ad oggi, non esistono tecniche che permettono di eliminare possibili effetti allelopatici in esperimenti di competizione: sebbene i due fenomeni possano essere descritti in modo ben differenziato, da un punto di vista pratico è impossibile identificare in fase sperimentale il contributo dell'uno o dell'altro. Per questi motivi l'allelopatia non può essere identificata come una particolare forma di competizione, ma possiamo comprendere entrambi i fenomeni con un unico termine: "interferenza" (Rice, 2012).

La maggior parte degli studi sull'interazione fra specie coltivate e infestanti hanno riportato forme di "interferenza", senza però specificare se gli effetti fossero causati da

competizione, allelopatia o da entrambi (Rice, 2012). Inoltre, si era soliti identificare gli effetti delle attività allelopatiche che le piante infestanti avevano sulle colture, oppure che le colture avevano su altre colture adiacenti, senza però considerare la potenzialità economica che il fenomeno dell'allelopatia poteva dimostrare nella lotta alle infestanti da parte della coltura stessa (Steinsiek et al., 1982).

Le prime scoperte dell'effettiva importanza dell'attività allelopatica si ottennero confrontando accessioni di specie selvatiche di cocomero e avena con specie domesticate. Le specie selvatiche vantavano una maggiore capacità allelopatica rispetto a quelle domesticate (Steinsiek et al., 1982). In diversi studi, sono stati determinati differenti composti, diluiti in soluzione acquosa e prelevati da piante infestanti e da piante coltivate, che mostravano un effetto inibitorio sulla germinazione e sulla crescita dei semi di frumento (Chon e Nelson, 2010). Soluzioni acquose di composti estratti dai residui colturali di frumento tenero e avena ebbero dei risultati significativi nella riduzione della crescita delle piante di soia (Cox, 1977). In un altro studio, si riuscì a dimostrare la presenza di cinque acidi fenolici nei residui colturali di frumento tenero. Fra questi cinque, l'acido cumarico era quello presente in maggior concentrazione e quindi probabilmente il fattore principale dell'alterazione della crescita vegetale (Guenzi e McCalla, 1966). Il potenziale allelopatico dei residui colturali del frumento tenero potrebbe essere particolarmente funzionale per gestire le infestanti di colture seminate su sodo come la soia, nelle quali il problema delle infestanti è molto grave (Triplett *et al.*, 1977). Per sostenere questa ipotesi, furono fatti studi per dimostrare se effettivamente il potenziale allelopatico dei residui colturali del frumento tenero aveva effetto sulla germinazione e sulla crescita delle piante infestanti. In una ricerca, venne studiata nel dettaglio la fitotossicità dei composti presenti nei residui colturali di frumento tenero su sei specie infestanti selezionate, l'effetto della temperatura sulla tossicità dei composti e l'efficacia di questi composti in caso di pioggia (Steinsiek et al., 1982). Quasi tutti i composti si dimostrarono efficaci nell'inibizione della germinazione e della crescita dei semi delle piante infestanti prese in considerazione. Questa inibizione risultò essere significativamente diversa per ogni infestante, dipendendo anche dal tipo di composto e dalla temperatura. Non è risultata significativa invece la differenza nella crescita e nella germinazione in base al tempo di interazione (Steinsiek et al., 1982).

Il grado di tossicità dei composti dipende quindi dalla specie infestante considerata e dalla temperatura, con un'efficacia massima a 35°C. I buoni risultati ottenuti con la

bagnatura hanno suggerito la possibilità di utilizzare la pioggia come metodo per mobilitare i composti solubili direttamente nel terreno (Guenzi e McCalla, 1966). Successivamente però, ulteriori studi hanno smentito questa ipotesi, dimostrando che, dopo otto settimane di esposizione in pieno campo, i residui di frumento tenero non contenevano nessun composto solubili in acqua (Guenzi et al., 1967). Da questo stesso studio venne confermato che la tossicità dei composti estratti da nove varietà di frumento tenero non era sempre costante sulle piante infestanti (Guenzi et al., 1967). Prima di poter sfruttare l'allelopatia come un efficace metodo di contrasto alle infestanti, è necessario valutare il potenziale allelopatico delle varietà di frumento, analizzando quali composti tossici sono presenti e come questi si comportano in situazioni di campo (Steinsiek et al., 1982).

L'effetto allelopatico della coltura nella lotta contro le infestanti potrebbe essere valutato in relazione alla fase fenologica, durante la fase vegetativa e dopo la raccolta. Il periodo di post-raccolta però è potenzialmente meno significativo per il rendimento della coltura stessa, dato che, la rimozione delle piante donatrici arresta il rilascio costante degli allelochimici, utili nel contrasto alla crescita delle specie infestanti (Wu et al., 2000a).

In linea con queste considerazioni, nei primi anni 2000, sono state condotte diverse ricerche sull'attività allelopatica potenziale o *potential allelopathic activity* (PAA) del frumento durante la crescita vegetativa (Wu et al., 2000a). In uno studio, sono state valutate le interazioni di 453 accessioni di frumento tenero, provenienti da 50 Stati differenti, nei confronti della infestante *Lolium rigidum* (Gaud.) attraverso una tecnica di bio-saggio innovativa, denominata "*equal compartment agar method*" (ECAM). In questa collezione varietale, furono trovate differenze significative nella PAA: l'inibizione della crescita radicale del loietto è stata misurata da un minimo del 9.7% ad un massimo del 90.9% (Wu et al., 2000a). Il potenziale allelopatico era caratterizzato da una distribuzione normale dei valori all'interno della collezione, suggerendo che il carattere considerato fosse multigenico, ovvero influenzato da più di un gene. Dallo screening di 453 varietà, vennero identificati, per valori di PAA, due gruppi principali: *Condor* e *Pavon*. Le varietà del gruppo *Condor* sono il 30% più allelopatiche rispetto a quelle del gruppo *Pavon* (76% contro 46% di PAA). Dimostrando che il potenziale allelolopatico è considerevolmente influenzato dalla specifica cultivar, è possibile ipotizzare di effettuare incroci per selezionare cultivar con una spiccata attività allelopatica (Wu et al., 2000a).

Bertholdsson, rifacendosi a questi risultati, ha condotto studi sul potenziale allelopatico di 127 varietà scandinave di orzo (Bertholdsson, 2004) e di 813 cultivar di frumento tenero (Bertholdsson, 2010). Anche in questo caso, è stata impiegata come pianta infestante modello una specie del genere *Lolium*, ovvero il *Lolium perenne* (L.). Per la valutazione del germoplasma è stata impiegata sempre la tecnica ECAM (Wu et al., 2000a), leggermente modificata per consentirne la corretta applicazione con un numero maggiore di piante, differenti quantità e concentrazione di agar e diversa lunghezza del periodo di crescita delle piante. Queste modifiche permisero di calcolare nel modo migliore possibile la variabilità del potenziale allelopatico delle 813 varietà di frumento tenero. La frequenza di distribuzione di PAA si rivelò normale ma tendenzialmente "piatta", essendo compresa fra il -10% e 57%, con un picco di frequenza nella distribuzione dei valori di PAA tra il 12 e il 25% (Bertholdsson, 2010).
L'approfondimento di questi esperimenti ha portato inoltre a identificare e a isolare 7 acidi fenolici coinvolti nel fenomeno allelopatico di 58 accessioni di germogli di frumento tenero, attraverso gas-cromatografia e spettrometria di massa (Wu et al., 2001). Le accessioni si differenziavano significativamente per la produzione di acido vanillico, acido siringico, acido-4-idrossibenzoico, acido trans-p-cumarico, acido cis-p-cumarico, acido trans-ferulico e acido cis-ferulico. Si è inoltre evidenziato come la quantità di ogni acido fenolico nel germoglio sia correlata e influenzata dagli altri acidi fenolici. Nelle accessioni sono state misurate concentrazioni totali variabili, da 93.2 mg/kg a 453,8 mg/kg, ed è stato anche evidenziato che le accessioni caratterizzate da concentrazioni molto alte di acidi fenolici sono tendenzialmente fortemente allelopatiche verso le piante infestanti (Hanwen Wu et al., 2001).
A fronte di queste evidenze, si potrebbe quindi ipotizzare una possibile riduzione dell'utilizzo di sostanze chimiche o di altri metodi di gestione delle infestanti attraverso l'impiego di cultivar con buon vigore iniziale e con elevate potenzialità allelopatiche (Bertholdsson, 2005). La comunanza di molte molecole ad effetto allelopatico, con composti coinvolti nella resistenza alle malattie, suggerisce la possibilità di effettuare incroci per ottenere piante tolleranti alle specie infestanti indesiderate, seguendo procedimenti similari a quelli attualmente utilizzati per selezionare piante resistenti alle avversità fungine (Rice, 2012). Uno studio più recente ha accertato nel frumento tenero la presenza di *loci* genetici associabili al potenziale allelopatico, fornendo una base preliminare per il miglioramento genetico delle cultivar di grano tenero nella risposta alle piante infestanti (Zuo et al., 2012). L'ereditabilità dei caratteri che determinano un

buon potenziale allelopatico era già stata confermata per il frumento tenero (Mokhtari et al., 2002). Linee che hanno manifestato alta PAA, ottenute tramite incrocio da genitori con differenze significative di PAA, deprimono la crescita di infestanti circa il 24% in più rispetto al genitore meno allelopatico (Bertholdsson, 2010). Alla luce di queste considerazioni si potrebbero ipotizzare programmi di miglioramento genetico che migliorino il potenziale allelopatico di cultivar di frumento tenero che siano già ampiamente utilizzate (Worthington et al., 2015).

Non sempre però gli incroci con alti valori di PAA esprimono una relazione positiva con i valori di resa (Bertholdsson, 2007). Questo fenomeno potrebbe non essere necessariamente un problema se l'attività allelopatica è migliorata sufficientemente da ridurre notevolmente i costi per la gestione delle infestanti; in tal senso, sarebbe strategico riuscire a verificare la resa senza dover effettuare ogni volta prove in campo (Bertholdsson, 2010).

5.2 SCOPO

Come evidenziato in precedenti studi, il frumento tenero sembra avere una PAA diversa in base alla cultivar, e questa capacità può interferire sulle piante vicine anche a seconda di quali specie infestanti sono presenti.

L'obiettivo di questa ricerca è quello di individuare le varietà di frumento tenero con una maggiore attività allelopatica potenziale attraverso l'analisi della crescita radicale iniziale della pianta di frumento e delle piante infestanti circostanti. Sono state selezionate e messe a confronto 30 cultivar di frumento tenero mentre come specie infestante "modello" è stata scelta una tra le specie monocotiledoni maggiormente presente nei campi di frumento come infestante: il loietto perenne (*Lolium perenne* L.).

Il presente studio propone un metodo di saggio in ambiente controllato, che monitora i primi stadi di crescita delle piante, al fine di analizzare le interazioni fra densità di semina del frumento, scelta varietale e PAA delle varietà di frumento nei confronti del *Lolium perenne*. La scelta di affrontare tale tema di ricerca deriva dall'attuale necessità di ridurre il più possibile il diserbo chimico, sviluppando soluzioni sostenibili alternative ed economicamente vantaggiose per la gestione della flora infestante, compatibili con le regolamentazioni attuali e obbligatorie in taluni modelli di agricoltura, come quella dei sistemi biologici. L'attività sperimentale è stata basata inizialmente su alcuni precedenti studi, che hanno sviluppato metodiche semplificate e modelli di studio in

ambiente controllato per comprendere meglio il fenomeno allelopatico e in particolare l'attività allelopatica potenziale del frumento tenero.

5.3 MATERIALI E METODI

5.3.1 MATERIALE VEGETALE DI PARTENZA

Al fine di esplorare il potenziale allelopatico di materiale genetico diversificato, sono state scelte 30 cultivar di frumento tenero di non recente costituzione/coltivazione a taglia alta (definibili come cultivar "antiche" ed ecotipi) ed attualmente coltivate in Italia a taglia bassa (definibili come cultivar moderne). Le cultivar impiegate nello studio sono riportate nella Tabella 5-A.

Codice	Genotipo	Classificazione	Anno	Selezionatore	Area di orgine/adattabilità
ABB	Abbondanza	Cv. antica	1950	M. Michahelles	Toscana/collina, montagna
ALE	Aleppo	Cv. moderna	2016	CO.NA.SE (EM)	-
AND	Andriolo	Ecotipo	-	-	Toscana (1800)/montagna
AQU	Aquilante	Cv. moderna	2006	CO.NA.SE (EM)	-
AUT	Autonomia	Cv. antica	1938	M. Michahelles	Italia centrale/pianura
BEN	Benco	Ecotipo	-	-	Toscana
BIA	Bianconostrale	Ecotipo	-	-	Toscana/montagna
BOL	Bolero	Cv. moderna	1987	Venturoli Sementi	Benoist (Francia)
BOO	Bologna	Cv. moderna	1999	SIS	-
CAN	Canove	Ecotipo	-	-	Veneto/montagna
CAR	Carosello	Cv. antica	1927	-	Italia centro-meridionale
FAL	Falcone	Cv. antica	1953	IABO	-
FRA	Frassineto	Cv. antica	1932	M. Michahelles	Toscana/montagna, collina
FUN	Funo	Cv. antica	1944	IABO	-
GAM	Gamba di ferro	Ecotipo	-	-	-
GEB	Gentil Bianco	Ecotipo	-	-	Toscana (1800)/collina
GER	Gentil Rosso	Ecotipo	-	-	Toscana
GIO	Giorgione	Cv. moderna	2013	SIS	-
INA	Inalettabile	Cv. antica	1920	F. Todaro	Italia centro-settentrionale/pianura
MEN	Mentana	Cv. antica	1923	N. Strampelli	Italia centrale
MET	Metropolis	Cv. moderna	2016	CO.NA.SE (EM)	-
MIE	Mieti	Cv. moderna	1992	M. Michahelles	Italia centro-settentrionale
PIA	Piave	Ecotipo	-	-	Veneto (1800) /collina
REB	Rebelde	Cv. moderna	2012	CO.NA.SE (EM)	-
RIE	Rieti	Ecotipo	-	-	Italia centro-settentrionale
SAN	San Pastore	Cv. antica	1931	N. Strampelli	-
TEO	Terminillo	Cv. antica	1907	N. Strampelli	-
TER	Terramare	Cv. moderna	2012	CO.NA.SE (EM)	-
VER	Verna	Cv. antica	1941	M. Gasperini	Toscana/montagna, collina
VIL	Villa Glori	Cv. antica	1918	N. Strampelli	-

Tabella 5-A Genotipi selezionati per il saggio dell'attività allelopatica potenziale. Consorzio Nazionale Sementi (CO.NA.SE), Emilia-Romagna (EM), Istituto Allevamento Vegetale Bologna (IABO), Società Italiana Sementi (SIS), Società Produttori Sementi (Psb). Fonti: Assosementi, 2021, http://biodiversita.provincia.vicenza.it/pagstor/h_ita0340001.htm, https://www.conase.it/prodotti/cereali/frumento-tenero, https://orgprints.org/id/eprint/15244/1/bollettino_03_07_frumento.pdf

5.3.2 ATTIVITÀ PRELIMINARI

Prima di iniziare il saggio della potenziale attività antiossidante dei genotipi selezionati, sono state effettuate delle prove preliminari per ottimizzare il protocollo del biosaggio in agar, proposto inizialmente da (Wu et al., 2000b).

In particolare, sono state verificate le idonee modalità di esecuzione per lo studio in merito a:

- la durata della possibile dormienza e la capacità germinativa dei semi di loietto;
- la formulazione del substrato a base di agar e le modalità di preparazione di questo;
- l'efficacia della sterilizzazione dei semi di frumento e di loietto.

Le prove per verificare la durata della dormienza dei semi di infestante si sono sviluppate attraverso lo studio di tre diversi trattamenti.

Nel primo trattamento (T0) i semi di loietto non hanno subito nessun tipo di incubazione. Nel secondo trattamento (T5) i semi dell'infestante sono stati incubati in frigo a 5°C per 5 giorni. Nel terzo trattamento (F2F) i semi di loietto hanno subito una prima incubazione in frigo per una settimana, sono stati poi conservati a temperatura ambiente per due giorni ed hanno subito una seconda incubazione in frigo per una settimana.

I semi di tutti i trattamenti sono stati posti a germinare su carta da filtro umida.

Sono state valutate, inoltre, diverse condizioni di pre-germinazione: seguendo uno schema fattoriale, alcune repliche dei precedenti trattamenti sono state poste in camera di crescita con ciclo chiaro/scuro di 8/16 ore a temperature alternate di 25°C/15°C; altre repliche al buio a 25°C costanti.

Ad intervalli di 24 ore è stata controllata la percentuale di semi germinati per ogni trattamento e per ogni condizione di crescita del germinello.

Per selezionare il substrato ottimale da utilizzare nella prova, sono state confrontate due soluzioni al 35% di concentrazione (w/v), una con agar in polvere e una con polvere di agarosio e parallelamente due diversi metodi di preparazione della soluzione, tramite fornello e tramite l'autoclave.

In aggiunta, è stata effettuata una prova di disinfezione per verificare l'efficacia della sterilizzazione dei semi di frumento e di loietto proposta da (Wu et al., 2000b).

I semi sono stati sterilizzati (trattamento T) immergendoli in etanolo al 70% per 2,5 minuti e poi risciacquati con abbondante acqua distillata; sono stati poi immersi in una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% per 15 min, seguita da cinque risciacqui in acqua distillata sterilizzata.

I semi non sterilizzati (trattamento T0) sono stati sciacquati con sola acqua distillata.

Tutti i semi di grano sono stati incubati alla luce a 25 ° C per 48 ore, in piastre Petri su carta da filtro umida. Dopo 48 ore, è stata fatta la conta dei semi di frumento germinati. I semi germinati dei due diversi trattamenti sono stati quindi distribuiti nei barattoli con i diversi tipi di substrato: sono stati appoggiati sulla superficie dell'agar con l'aiuto di pinzette sterili, disposti in modo circolare lungo le pareti del barattolo.

I barattoli sono stati lasciati alla luce a 21°C per 10 giorni ed è stata monitorata la presenza di microrganismi estranei a 2 e 8 giorni di distanza dal trapianto in agar.

5.3.3 VALUTAZIONE DEL POTENZIALE ALLELOPATICO

Adattando i protocolli sperimentali già proposti da Bertholdsson (2010) e Wu et al. 2000b), sulla base dei risultati delle prove preliminari realizzate, i semi di loietto e delle 30 cultivar di frumento sono stati sterilizzati, immergendoli in etanolo al 70% e successivamente in una soluzione di ipoclorito di sodio al 2.5%, per poi essere risciacquati con abbondante acqua distillata.

A seguire, i semi sono stati posti a germinare in piastre Petri di vetro, su carta da filtro umida, con ciclo luce/buio di 8/16 ore, a temperature alternate di 25°C/15°C. La pre-germinazione è stata di 48 ore per il grano e di 72 ore per il loietto.

Nel frattempo, è stata preparata una soluzione di agar in acqua, con concentrazione 0.35 % (w/v), ne sono stati versati 30 ml in barattoli di plastica trasparente da 400ml, ed è poi stata lasciata solidificare.

Terminata la pre-germinazione, i semi di loietto e i semi di grano pre-germinati, per ogni cultivar, sono stati selezionati in modo da prelevare quelli con uno stato di crescita uniforme e seminati sulla superficie dell'agar con l'aiuto di pinzette sterili.

I semi di loietto occupavano la parte centrale del barattolo, mentre quelli di grano sono stati posizionati in modo circolare lungo il perimetro del barattolo, come schematizzato in Figura 5-A.

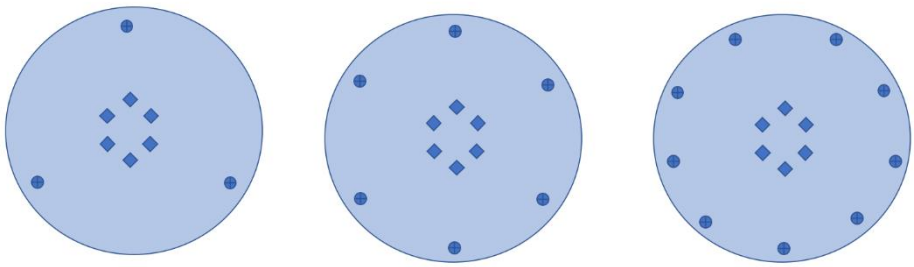


Figura 5-A Schema di semina nei barattoli delle piante di loietto e di frumento, alle diverse densità per numero di piante di grano. I rapporti tra semi di loietto e di frumento sono i seguenti: 6 piante loietto:3 piante frumento, 6 piante loietto:6 piante frumento, 6 piante loietto:9 piante frumento

I barattoli sono stati chiusi con il coperchio in modo blando e posti in camera di crescita, in condizioni di luce costante, a 21°C, per 10 giorni. Le piante erano illuminate da luce, prodotta da lampade a fluorescenza, con una densità del flusso di fotoni fotosintetici (PPFD) pari a 150.68 µmol/m^2/s.

Trascorsi 10 giorni, le radici di ciascuna pianta di frumento e di loietto sono state scannerizzate singolarmente. Lo scanner impiegato è il modello EPSON Expression 11000xl, con una risoluzione di scansione di 300 punti per pollice (*dots per inch* o DPI). Le immagini scansionate sono state elaborate attraverso il software RhizoVision Explorer 2.0.2 (Seethepalli et al., 2021). Il programma è stato configurato per l'elaborazione delle immagini con impostazioni riportate in Tabella 5-B.

Variabile	**Settaggio**
Root type	Broken roots
Image Thresholding Level	240
Invert images	false
Keep largest component	true
Filter noisy components on background	true
Maximum background noisy component size	1
Filter noisy components on foreground	true
Maximum foreground noisy component size	4
Enable edge smoothing	true
Edge smoothing threshold	3
Enable root pruning	true
Root pruning threshold	9
Convert pixels to physical units	true
Dots per inch	300

Tabella 5-B Impostazioni di analisi delle immagini degli apparati radicali settate nel software RhizoVision Explorer 2.0.2

Figura 5-B Immagine di un apparato radicale di frumento, prima dell'elaborazione a sinistra (A) e dopo l'elaborazione (B) attraverso il software RhizoVision Explorer

Considerate le dimensioni contenute dell'apparato radicale del frumento e del loietto, dopo solo 10 giorni di crescita in ambiente controllato, le caratteristiche radicali estrapolate ed analizzate attraverso l'elaborazione delle immagini di ogni singola pianta delle due diverse specie sono le seguenti:

- Numero di apici radicali (numero)
- Numero di punti di ramificazione (numero)
- Lunghezza totale dell'apparato radicale (mm)
- Diametro medio delle radici (mm)
- Area superficiale dell'intero apparato radicale (mm^2)

Inoltre, è stato misurato il peso secco medio di un singolo apparato radicale di frumento e loietto, per tutti i differenti trattamenti.

Successivamente, l'attività allelopatica potenziale (PAA) dei genotipi di frumento è stata calcolata, sulla base di ciascuna variabile quantificata, seguendo la formula elaborata da Bertholdsson (2005): PAA = (1 – A1/A2)*100 con A1 = valore della variabile considerata relativa alla radice del loietto in presenza di grano, A2 = valore della variabile considerata relativa alla radice del loietto in assenza di grano.

Al fine di valutare il possibile effetto cumulativo sul potenziale allelopatico di ogni cultivar, dovuto alla maggior presenza di piante di grano come fonte di sostanze allelopatiche, per ogni cultivar di frumento sono state valutate 3 diversi rapporti, tra numero di piante di grano e numero piante di loietto. Per ogni genotipo, sono stati collocati 3, 6 e 9 semi di frumento per ogni barattolo, insieme a 6 semi di loietto; come

controlli, sono state seminate le diverse densità di semi di grano in barattoli senza i semi di loietto, per ciascuna varietà. Allo stesso modo, sono stati anche seminati i controlli per la crescita del loietto in assenza di grano, preparando barattoli contenenti solo semi di loietto.

Il numero di semi di grano è stato scelto cercando di simulare diverse densità potenziali di campo con un modello semplificato, individuando densità corrispondenti di campo che, sulla base delle caratteristiche varietali (accestimento, portamento, taglia, …), si applicano frequentemente nella coltivazione del frumento in Italia. 3 piante di frumento nel barattolo corrispondono ad una densità di campo di circa 200 piante a m^2, 6 semi a circa 390 piante a m^2 e 9 semi a circa 590 piante a m^2.

Ogni trattamento è stato replicato tre volte in camera di crescita.

5.3.4 ANALISI STATISTICA

Adottando un disegno sperimentale completamente randomizzato, per evidenziare al meglio le differenze tra i genotipi, in termini di sviluppo radicale e di attività allelopatica potenziale, i dati raccolti sono stati elaborati impiegando il modello lineare generale attraverso il software *IBM SPSS Statistics for Windows* (Versione 25, IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Considerando le variabili misurate sulle radici loietto, al fine di evidenziare effetti della presenza del grano sulla crescita della specie infestante, è stata effettuata un'ANOVA a due vie, considerando come fattori ad effetto fisso il genotipo di frumento e il numero di piante di frumento presenti nel barattolo. È stata anche valutata la significatività dell'interazione tra i due fattori. Il medesimo approccio di analisi statistica è stato applicato per un'ANOVA a due vie, prendendo in esame la PAA, calcolata per ogni variabile misurata nella prova. I confronti post hoc tra le medie osservate sono stati eseguiti utilizzando il test di Tukey, con $p \leq 0.05$.

Dal momento che un aspetto molto importante nella competizione in campo tra frumento e infestanti può consistere anche nella diversa capacità e rapidità di crescita, attraverso lo schema sperimentale adottato, è stato anche possibile studiare il diverso potenziale di crescita iniziale dei diversi genotipi di frumento, in assenza e in presenza del loietto.

Elaborando perciò i medesimi caratteri radicali citati precedentemente, ma sulle piante di grano, è stata effettuata un'ANOVA a tre vie, considerando come fattori ad effetto fisso il genotipo di frumento, il numero di piante di frumento presenti nel barattolo e la

presenza o assenza del loietto. È stata anche valutata la significatività dell'interazione tra i tre fattori. Successivamente sono state anche eseguite due ANOVA a due vie, sempre sulle variabili riferite all'apparato radicale del frumento, per evidenziare differenze nella crescita delle radici, determinate potenzialmente dal genotipo e dal numero di piante di frumento. Un'analisi è stata effettuata considerando solo la crescita del frumento senza infestanti, per mettere in luce differenze dovute alla densità di piante e al diverso genotipo scelto nella crescita iniziale delle radici; l'altra analisi ha invece esaminato le performance di crescita del frumento, confrontando solo le piante sviluppatesi in presenza delle infestanti. I confronti post hoc tra le medie osservate sono stati eseguiti utilizzando il test di Tukey, con $p \leq 0.05$. Queste analisi distinte permettono di evidenziare meglio le differenze legate alla densità di semina e alla scelta varietale e l'interazione che si sviluppa tra questi due fattori, in assenza o in presenza di loietto.

5.4 RISULTATI

5.4.1 PROVA PRELIMINARE

Dalla prova preliminare sulla dormienza dei semi di loietto impiegati non sono emerse differenze significative tra i trattamenti T0, T5 e T2T, per cui è stato deciso di non fare nessun tipo di trattamento per interrompere una possibile dormienza dei semi, che sembra essere assente nel materiale sementiero di loietto impiegato.

Inoltre, si è deciso di utilizzare l'agar in polvere come materiale base per produrre il substrato, preparato tramite fornello.

La modalità di sterilizzazione dei semi proposta da (Wu et al., 2000b) è risultata efficace; per questo, tale procedura è stata adottata anche durante la prova.

5.4.2 CRESCITA RADICALE INIZIALE DEL LOIETTO E ATTIVITÀ ALLELOPATICA POTENZIALE DEL FRUMENTO

Il controllo con solo loietto (W0) si differenzia significativamente dai trattamenti con la presenza delle piante di grano (W3, W6, W9), specialmente in termini di peso e di superficie radicale del loietto stesso; in generale, il loietto quando senza frumento mostra una crescita maggiore in tutti i parametri misurati. Questo rafforza l'ipotesi di una possibile e importante azione inibitoria del frumento nei confronti della crescita del loietto.

Confrontando l'effetto della densità di piante di frumento sulla crescita radicale del loietto, emergono differenze significative, ad esclusione del peso secco delle radici di

loietto. Considerando il fattore genotipo, la significatività delle differenze riscontrate è elevata per tutte le variabili.

Va evidenziata la significatività dell'interazione tra il fattore Varietà e il fattore Numero di piante di grano, per tutte le variabili, ad esclusione della superficie radicale (Tabella 5-C).

		Medie quadratiche					
Fattore	**g.l.**	**Peso (mg)**	**Numero apici**	**Punti ramificazione**	**Lunghezza (mm)**	**Diametro medio (mm)**	**Area superficie (mm^2)**
Genotipo grano	29	0.2***	16.9***	22.8***	5633.2***	0.0***	15707.0***
Numero piante grano	2	0.0 ns	91.1***	171.1***	41722.5***	0.1***	33869.3***
Genotipo*Piante grano	58	0.1***	7.5***	11.3***	2432.2***	0.0***	2474.5 ns
Errore	188	0.0	3.4	2.7	934.4	0.0	2212.9

*Tabella 5-C ANOVA a due vie delle caratteristiche radicali delle piantine di loietto analizzate. I fattori ad effetto fisso sono: genotipo di frumento, numero di piante di grano. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Le variabili considerate sono peso secco medio delle radici di una pianta, numero di apici radicali di una pianta, numero di punti di ramificazione nell'apparato radicale di una pianta, lunghezza totale dell'apparato radicale di una pianta, diametro medio delle radici, area della superficie radicale di una pianta. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti.*

In Tabella 5-C, vengono presentati i risultati dell'ANOVA a due vie, considerando l'attività allelopatica potenziale del frumento sul loietto. La densità delle piante di grano risulta significativa per tutte le variabili misurate, tranne che per il peso secco; per il fattore Varietà, si riscontra significatività su tutti i parametri misurati.

Va evidenziata la presenza dell'interazione tra il fattore Varietà e il fattore numero piante grano per tutti i parametri tranne che per la superficie radicale.

		Medie quadratiche					
Fattore	**g.l.**	**PAA Peso (mg)**	**PAA Numero apici**	**PAA Punti ramificazione**	**PAA Lunghezza (mm)**	**PAA Diametro medio (mm)**	**PAA Area superficie (mm^2)**
Genotipo grano	29	3898.9***	2858.5***	9064.9***	3937.6***	553.0***	3937.6***
Numero piante grano	2	239.6 ns	15497.6***	68058.3***	29164.1***	3663.3***	29164.1***
Genotipo*Piante grano	58	1001.2***	1271.4***	4488.8***	1700.1***	519.2***	1700.1***
Errore	188	505.7	582.4	1065.1	664.3	213.2	664.3

*Tabella 5-D ANOVA a due vie dell'attività allelopatica potenziale (PAA) dei diversi genotipi oggetto di studio nei confronti del loietto perenne. I fattori ad effetto fisso sono: genotipo di frumento, numero di piante di grano. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Le variabili per le quali sono stati calcolati il PAA sono il peso secco medio delle radici di una pianta, numero di apici radicali di una pianta, numero di punti di ramificazione nell'apparato radicale di una pianta, lunghezza totale dell'apparato radicale di una pianta, diametro medio delle radici, area della superficie radicale di una pianta. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti.*

I risultati mostrano che le 30 varietà di frumento differiscono significativamente nella loro potenziale attività allelopatica; in termini di lunghezza della radice del loietto, le varietà mostrano una PAA in un intervallo dal -21.21% al 68.99%; per quanto riguarda

il peso radicale del loietto, il range di PAA va da un minimo di -8.25% ad un massimo di 76.38%; in termini di superficie radicale del loietto, le percentuali di inibizione da parte delle varietà vanno dal 13.47% al 77.66%.

La varietà Inallettabile si distingue per la più elevata PAA in termini di lunghezza della radice, diametro, superficie radicale e numero ramificazioni, con inibizioni nei confronti del loietto rispettivamente del 68.99%, 25.82%, 77.66% e 94.83%. Tuttavia, la varietà Inallettabile si differenzia anche per una delle peggiori prestazioni di crescita in presenza di loietto.

La varietà Abbondanza invece presenta i valori più bassi di inibizione nei confronti del loietto in termini di lunghezza della radice, superficie radicale e ramificazioni radicali, con una PAA percentuale rispettivamente del -21.21%, -13.47% e -25.95%; questi valori negativi indicano che questa varietà non solo non inibisce il loietto, ma ne promuove la crescita rispetto al controllo con solo loietto.

5.4.3 CRESCITA RADICALE DEL FRUMENTO: ALLELOPATIA E AUTOTOSSICITÀ

I risultati dell'ANOVA a 3 vie, realizzata per le variabili relative alle radici delle piantine di frumento, vengono riportati in Tabella 5-E.

Il fattore numero di piante di infestante è risultato significativo per tutti i parametri tranne che per l'area della superficie radicale. I fattori numero piante di grano e varietà di grano invece influenzano in modo significativo tutti i parametri di crescita misurati.

		Medie quadratiche					
Fattore	**g.l.**	**Peso (mg)**	**Numero apici**	**Punti ramificazione**	**Lunghezza (mm)**	**Diametro medio (mm)**	**Area superficie (mm^2)**
Num. loietto	1	116.3***	56.5***	563.6***	146543.2***	0.0*	37385.3 ns
Num. grano	2	85.9***	67.8***	76.1***	111392.8***	0.0***	1364368.1***
Genotipo grano	29	19.6***	45.4***	120.0***	40460.9***	0.1***	189682.1***
Num. loietto * Num. grano	2	25.5***	13.8*	75.8**	156869.6***	0.1***	108863.7***
Num. loietto * Genotipo	29	7.5***	52.5***	123.3***	27274.8***	0.0***	124847.2***
Num grano * Genotipo	58	2.3 ns	6.0*	27.4***	8762.6***	0.0***	36620.2***
Num. loietto * Num. grano * Genotipo	58	1.6 ns	9.1***	30.1***	11325.4***	0.0***	43607.3***
Errore	360	1.9	4.3	11.5	2778.8	0.0	14213.3

*Tabella 5-E ANOVA a tre vie delle caratteristiche radicali delle piantine di frumento analizzate. I fattori ad effetto fisso sono: presenza/assenza di piante di loietto, numero di piante di grano, genotipo di frumento. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Le variabili considerate sono peso secco medio delle radici di una pianta, numero di apici radicali di una pianta, numero di punti di ramificazione nell'apparato radicale di una pianta, lunghezza totale dell'apparato radicale di una pianta, diametro medio delle radici, area della superficie radicale di una pianta. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti.*

Si evidenziano le interazioni significative tra il numero di piante infestanti e il numero di piante di frumento e tra il fattore “numero di piante loietto” e il fattore “genotipo” per tutti i parametri; è stata trovata anche un’interazione significativa tra il fattore “numero piante grano” e il fattore “varietà” per tutti i parametri tranne che per il peso secco della radice di frumento.

La presenza di infestanti riduce la crescita del frumento in termini di peso e di lunghezza della radice; al contrario, ne promuove il numero di ramificazioni radicali, il numero di apici radicali e il diametro medio delle radici. I valori di superficie radicale non sono stati influenzati dalla presenza o assenza del loietto.

Alla densità W3 di piante di frumento (3 piante in ciascun barattolo), si sono registrati i valori più elevati di crescita del frumento stesso in termini di peso, numero di apici radicali, numero di ramificazioni, lunghezza totale della radice e superficie radicale; la densità maggiore W9 (9 piante di frumento in ciascun barattolo) ha determinato invece la minor crescita del frumento per gli stessi parametri. Viceversa, la misura del diametro della radice ha mostrato valori più alti per le densità W6 (6 piante di frumento in ciascun barattolo) e W9, le quali si distinguono in modo significativo dalla densità W3.

Per quanto riguarda il peso secco della radice, considerando il fattore genotipico, le varietà che complessivamente hanno mostrato pesi più elevati, sono Falcone, con un peso di 10.4 mg, insieme a Terminillo, Frassineto, Genti bianco, Funo, Carosello, Autonomia, Mentana, Gentil rosso, Rieti, Aquilante, Verna, Bianconostrale, Rebelde, Aleppo. Le varietà che hanno registrato pesi secchi più bassi sono Giorgione, con il peso minimo di 6.51 mg, statisticamente assimilabile a Inallettabile, Benco, Abbondanza, Canove, Mieti, Piave, Metropolis, Villaglori, San Pastore e Bolero.

La misura del numero di apici radicali ha evidenziato delle differenze significative tra le varietà: il range di valori va da un minimo di 8.05 per il Piave ad un massimo di 13.7 per l’Andriolo.

La varietà Autonomia si è distinta per il maggior numero di ramificazioni radicali (16.2) e per la più ampia superficie radicale (936.2 mm^2); per questi parametri la varietà Inallettabile ha fatto registrare i valori minori, rispettivamente di 6.68 e 495.61 mm^2.

In riferimento alla lunghezza totale della radice, i valori oscillano da un minimo di 217.3 mm per la varietà moderna Bolero ad un massimo di 387.25mm per la varietà di antica costituzione Falcone.

La misura del diametro radicale ha fatto registrare un minimo di 0.58 mm per la varietà Mieti, e un massimo di 0.8 mm per la varietà Frassineto.

Per mettere meglio in evidenza differenze nella crescita del grano in presenza e in assenza del loietto, sono state condotte 2 analisi della varianza separate, che hanno dato gli esiti riportati nelle Tabelle 5-F e 5-G.

		Medie quadratiche					
Fattore	**g.l.**	**Peso (mg)**	**Numero apici**	**Punti ramificazione**	**Lunghezza (mm)**	**Diametro medio (mm)**	**Area superficie (mm^2)**
Num. grano	2	102.4***	70.1***	151.3***	252458.4***	0.0 ns	1119470.4***
Genotipo grano	29	14.4***	15.2***	22.6***	14667.0***	0.0***	51374.6***
Num grano * Genotipo	58	2.3*	4.0***	10.6*	3036.2***	0.0***	14687.5***
Errore	180	1.5	1.7	7.0	1212.8	0.0	6752.4

*Tabella 5-F ANOVA a due vie delle caratteristiche radicali delle piantine di frumento in assenza di loietto. I fattori ad effetto fisso sono: numero di piante di grano, genotipo di frumento. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Le variabili considerate sono peso secco medio delle radici di una pianta, numero di apici radicali di una pianta, numero di punti di ramificazione nell'apparato radicale di una pianta, lunghezza totale dell'apparato radicale di una pianta, diametro medio delle radici, area della superficie radicale di una pianta. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti.*

In assenza di loietto, il fattore numero piante di grano è risultato significativo per i parametri peso della radice, lunghezza delle radici, area della superficie radicale, apici e numero di ramificazioni radicali del frumento stesso; il diametro delle radici di frumento invece non è stato influenzato in modo significativo dalla densità del frumento stesso.

Per il fattore varietà si riscontra significatività per tutti i parametri misurati.

Va evidenziata la significatività dell'interazione tra il fattore numero piante grano e fattore varietà per tutti i parametri.

Il numero di apici radicali e di ramificazioni non si è differenziato fra le densità 6 e 9, ma è aumentato in modo significativo alla densità W3.

In termini di peso secco, in assenza di loietto la varietà che ha avuto una crescita maggiore è stata il Terminillo (12.04 mg), quella con crescita minore il Giorgione (6.85 mg).

La varietà Carosello si è distinta per il maggior numero di apici radicali (12.97) e di ramificazioni radicali (12.59); per questi parametri la varietà Villaglori ha fatto registrare i valori minori, rispettivamente di 8.0 e 6.7.

In riferimento alla lunghezza totale della radice, i valori oscillano da un minimo di 222.8 mm per la varietà Bolero ad un massimo di 404.8 mm per la varietà Mieti.

La misura del diametro medio delle radici ha evidenziato delle differenze significative tra le varietà: il range di valori va da un minimo di 0.6 mm per il Funo ad un massimo di 0.9 mm per il Piave.

La misura della superficie radicale ha fatto registrare un minimo di 528.5 mm^2 per le varietà Inallettabile, e un massimo di 830.6 mm^2 per la varietà Rieti.

		Medie quadratiche					
Fattore	**g.l.**	**Peso (mg)**	**Numero apici**	**Punti ramificazione**	**Lunghezza (mm)**	**Diametro medio (mm)**	**Area superficie (mm^2)**
Num. grano	2	9.0*	11.5ns	0.6ns	15804.0*	0.1***	353761.4***
Genotipo grano	29	12.6***	82.6***	220.7***	53068.6***	0.1***	263154.8***
Num grano * Genotipo	58	1.7ns	11.2*	47.0***	17051.7***	0.0***	65539.9***
Errore	180	2.4	7.0	16.0	4344.8	0.0	21674.2

*Tabella 5-G ANOVA a due vie delle caratteristiche radicali delle piantine di frumento in presenza di loietto. I fattori ad effetto fisso sono: numero di piante di grano, genotipo di frumento. Sono riportate anche le significatività delle interazioni tra fattori. Le variabili considerate sono peso secco medio delle radici di una pianta, numero di apici radicali di una pianta, numero di punti di ramificazione nell'apparato radicale di una pianta, lunghezza totale dell'apparato radicale di una pianta, diametro medio delle radici, area della superficie radicale di una pianta. Effetto non significativo =ns, significatività con *= P≤0.05, **= P≤0.01, *** = P≤0.001. I valori indicati dalla stessa lettera non sono significativamente differenti.*

In presenza di loietto, il numero di apici e di ramificazioni radicali del grano non è influenzato dalla densità del grano stesso; il numero di piante di grano risulta invece significativo per tutti gli altri parametri.

Per il fattore varietà si sono rilevate differenze significative per tutti i parametri misurati. Va evidenziata la presenza dell'interazione significativa tra il fattore numero piante grano e il fattore varietà per tutti i parametri, ad esclusione del fattore peso.

In presenza del loietto, la varietà di antica costituzione Autonomia A si è distinta per i valori più alti nel numero di apici (16.6) e di ramificazioni radicali (22.6), nella lunghezza totale delle radici (444.4 mm) e nella superficie radicale (1101.9 mm^2). Le varietà Piave e Terminillo invece hanno mostrato i valori più bassi, rispettivamente, di apici (6.7) e di ramificazioni radicali (4.9), e di lunghezza (205.9 mm) e superficie radicale (445.6 mm^2).

5.5 DISCUSSIONE

5.5.1 POTENZIALE ALLELOPATICO DEL FRUMENTO VERSO IL LOIETTO

La crescita del loietto è risultata significativamente influenzata dalla presenza del frumento, che ne deprime lo sviluppo radicale in modo significativo. Si è evidenziato però che, in funzione del carattere radicale considerato, l'effetto del grano può essere di entità differente, in funzione della densità di piante e del genotipo di frumento considerato. Se infatti vi sono differenze significative nella crescita della radice di

loietto in presenza di differenti genotipi di frumento, considerando il peso secco, la lunghezza totale della radice e l'area della superficie radicale, lo stesso non si può dire considerando il fattore densità di semina del frumento. In particolare, la diversa densità di piante di frumento influenza lo sviluppo radicale del loietto in termini di lunghezza totale e diametro medio delle radici, ma non risultano differenze significative nel peso secco della radice del loietto, quando sono presenti 3, 6 o 9 piante di frumento. Questo fa ipotizzare che le sostanze rilasciate nel mezzo di coltura da parte del frumento, agiscano principalmente sui meccanismi fisiologici legati all'allungamento e alla distensione cellulare nella radice, che si basano sull'aumento del contenuto in acqua della cellula, più che sui meccanismi di divisione cellulare, che invece sono legati all'aumento della sostanza secca (Evert e Eichhorn, 2006).

In questa collezione varietale, sono state trovate differenze significative nella PAA, misurata su peso secco della radice di loietto, lunghezza totale della radice e area della superficie radicale, in funzione del genotipo. Considerando il peso secco della radice di loietto, l'inibizione della crescita radicale del loietto è stata misurata da un minimo del -8.25% (effetto promotore della crescita) per Bianco Nostrale ad un massimo del 76.38% per Rieti.

Le diverse varietà di frumento differiscono nel loro potenziale allelopatico nei confronti il loietto, e questo suggerisce che la scelta e l'adozione di una varietà in funzione del suo potenziale allelopatico può essere una strategia utile nella gestione integrata delle infestanti (Wu et al., 2001).

Come evidenziato nelle Figure 5-C/D/E, i diversi genotipi interagiscono in modo allelopatico verso il loietto, con modalità differenti; questo si evince dal valore di attività allelopatica potenziale, che varia per lo stesso genotipo, in funzione della variabile considerata.

Si confermano quindi le precedenti evidenze ottenute da altri studi su differenti genotipi (Bertholdsson, 2010, 2007, 2005).

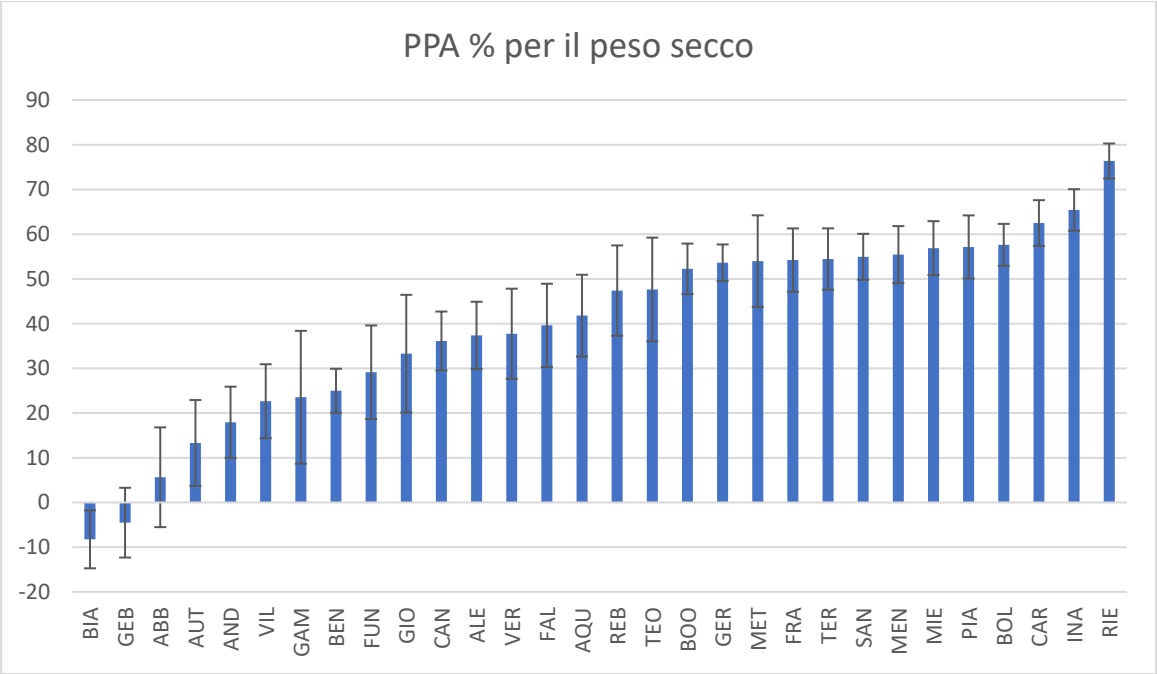


Figura 5-C Attività allelopatica potenziale media (±SE) in % dei diversi genotipi, mediando le differenti densità di frumento, considerando il peso secco della radice di una pianta media di loietto.

Per quanto riguarda l'inibizione nell'aumento della sostanza secca nelle radici di loietto, diversi genotipi superano il 50% di PAA, in particolare Rieti, Inalettabile, Carosello tra i genotipi di antica costituzione, insieme a Bolero e Mieti, tra le cultivar moderne (Figura 5-C)

Diversi genotipi hanno anche determinato una riduzione maggiore del 50 % nella lunghezza totale delle radici di loietto. Inalettabile (68.99%), Mentana e Funo tra le cultivar di antica costituzione, Bolero e Bologna tra le cultivar di moderna costituzione.

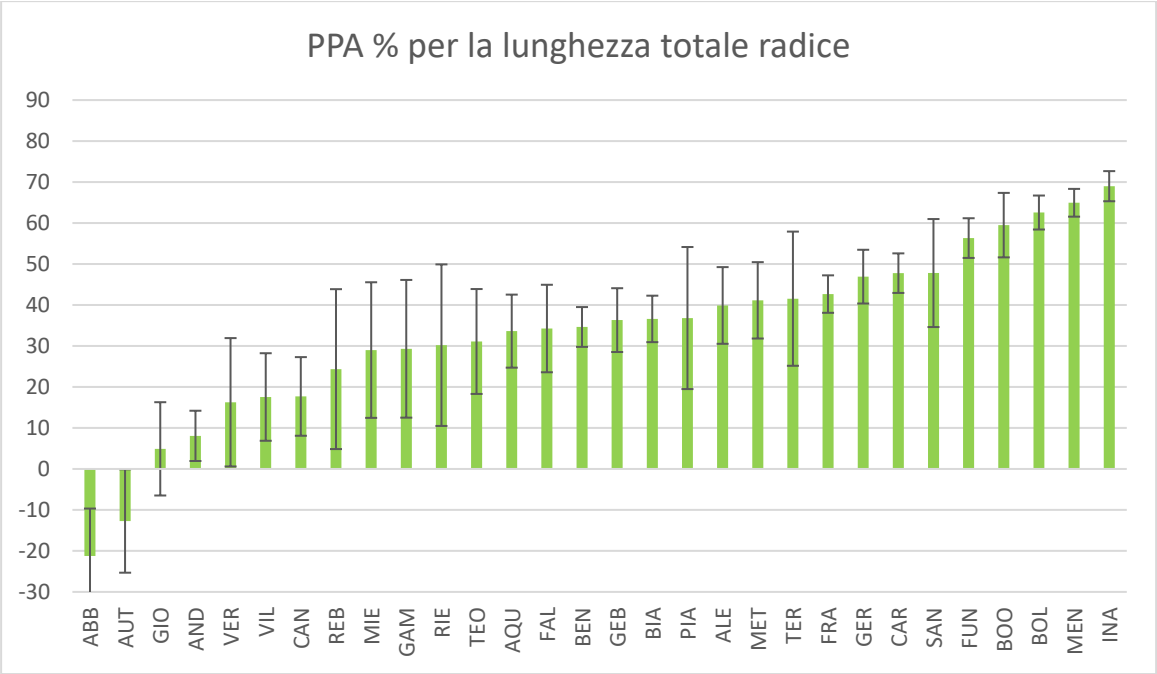


Figura 5-D Attività allelopatica potenziale media (±SE) in % dei diversi genotipi, mediando le differenti densità di frumento, considerando la lunghezza totale dell'apparato radicale di loietto.

I risultati ottenuti sono in linea con quelli emersi da uno studio di Inderjit, che nel 2001 ha evidenziato come la crescita in termini di lunghezza della radice del loietto perenne sia inibita dalla presenza grano ed in particolare, similmente al presente studio, sembra essere significativamente influenzata dalla densità dei semi di grano.

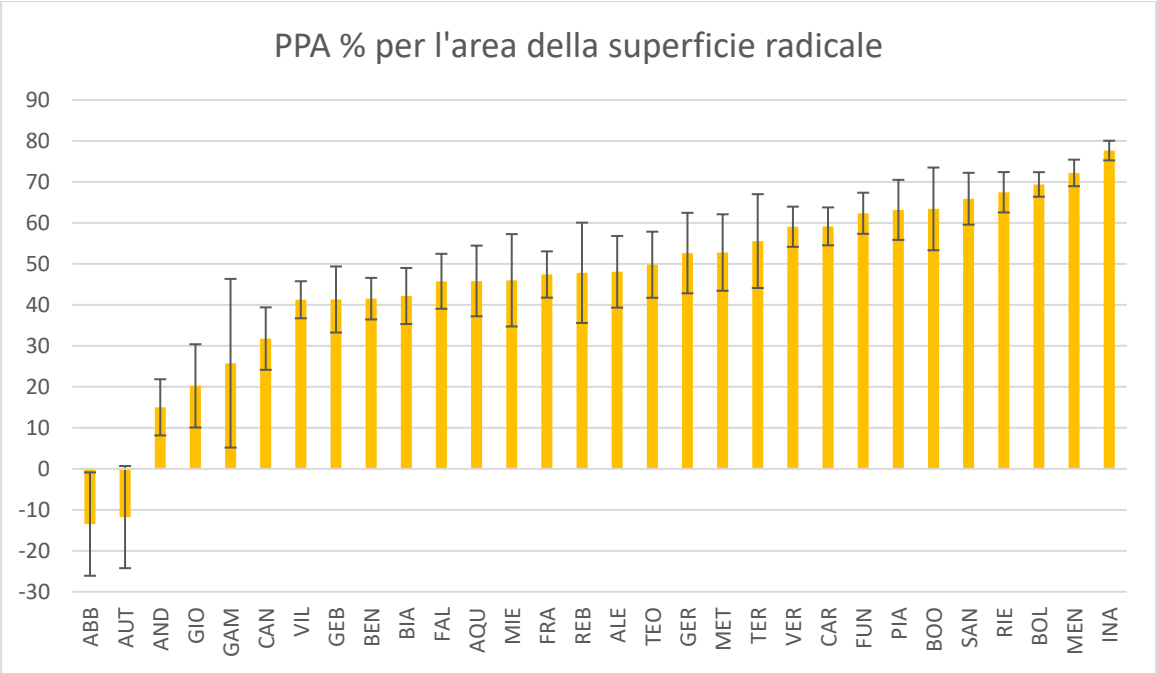


Figura 5-E Attività allelopatica potenziale media (±SE) in % dei diversi genotipi, mediando le differenti densità di frumento, considerando l'area della superficie dell'apparato radicale di loietto.

I risultati ottenuti sembrano confermare evidenze già emerse in precedenti studi (Belz, 2007; Bertholdsson, 2010), secondo cui gli effetti delle sostanze allelopatiche non sono

correlati linearmente alla loro concentrazione, ma anzi, vi è la possibilità che a basse concentrazioni possano anche essere promototrici della crescita delle specie infestanti.

5.5.2 AUTOTOSSICITÀ E POTENZIALE DI CRESCITA INIZIALE DEL FRUMENTO

I primi studi sull'autotossicità del frumento sono apparsi in un rapporto di Schreiner e Reed del 1907, in cui si afferma che le radici di grano, avena e alcune altre piante coltivate emettono sostanze chimiche inibitorie sui loro stessi germogli (Wu et al., 2007).

Da allora, l'autotossicità è stata identificata in molte colture di campo, tra cui il frumento (Wu et al., 2007).

Tuttavia, gran parte delle conoscenze sull'autotossicità delle colture deriva dallo studio dei residui vegetali; le indagini sugli effetti “autotossici” degli essudati radicali sono ad oggi scarse (Wu et al., 2007).

Wu et al. nel 2007 ha valutato gli essudati radicali del frumento mediante il metodo ECAM ed ha identificato differenze significative sia nell’allelopatia derivante dai diversi genotipi, sia nell'autotossicità varietale. Questi risultati suggeriscono che è necessaria un'attenta selezione, nella scelta della varietà di grano ideali, al fine di ridurre al minimo gli impatti negativi dell'autotossicità varietale e massimizzare gli effetti allelopatici verso le specie infestanti.

I risultati emersi nel presente studio mettono in evidenza chiaramente effetti dovuti al rilascio di sostanze nel mezzo di coltura, che hanno determinato differenze nello sviluppo delle plantule in assenza di loietto, manifestando potenziali effetti di autotossicità, così come invece effetti nella competizione in presenza di infestanti.

La presenza del loietto, per taluni genotipi, ha determinato un calo nella crescita delle plantule di frumento, mentre in altri casi l’ha addirittura migliorata.

Per comprendere meglio le complesse interazioni tra presenza della specie infestante loietto, differente densità di semina del frumento e diverso genotipo considerato, risulta utile analizzare separatamente le differenti interazioni.

In particolare, per quanto concerne il peso secco delle radici del frumento, la presenza del loietto sembra ridurne il valore, a tutte e tre le differenti densità di semi di frumento considerate (Figura 5-F). La riduzione maggiore, si registra per la densità W3, suggerendo che probabilmente la maggior competizione intraspecifica a maggiori

densità di frumento si riflette in una minore importanza dell'azione negativa del loietto sul frumento.

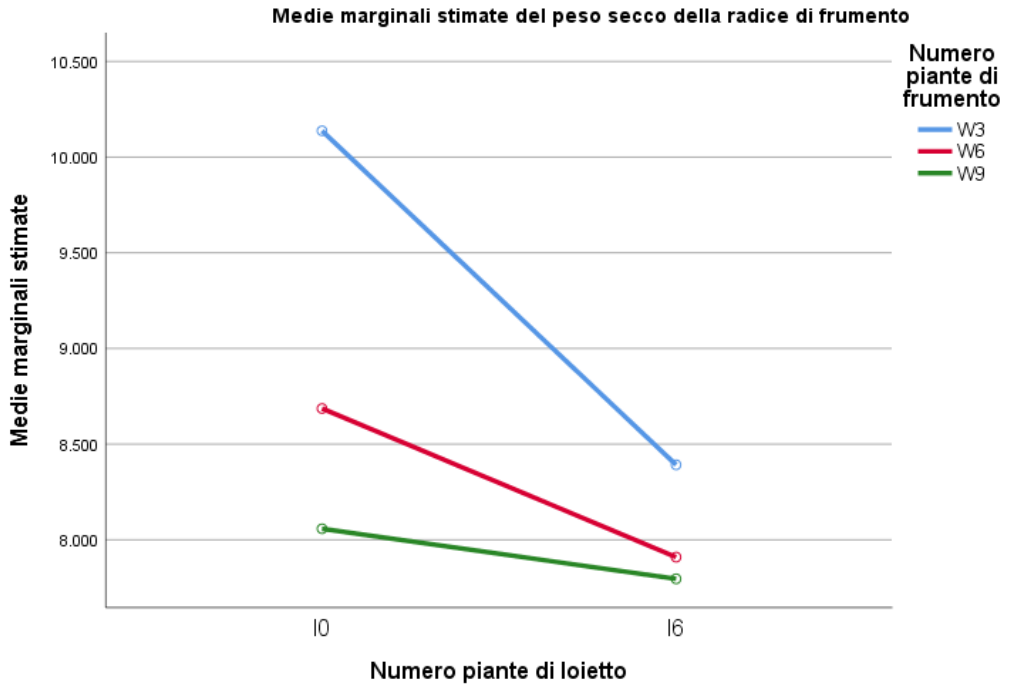


Figura 5-F Effetti dell'interazione tra numero di piante di frumento e presenza/assenza di loietto sull'accumulo di sostanza secca nella radice del grano.

Al variare della variabile considerata, si assiste ad una differente tipologia di interazione. Considerando la lunghezza della radice di frumento (Figura 5-G), la presenza del loietto, inibisce l'allungamento radicale complessivo del frumento; l'effetto maggiore si riscontra sempre alla densità W3 del frumento, mentre alle densità W6 e W9, non si osserva un calo di pari entità.

Considerando l'area della superficie radicale del frumento (Figura 5-H), al contrario, si assiste ad un aumento della superfice alle densità di frumento W6 e W9, correlata ad un maggior diametro radicale medio, verificato specialmente a densità W6. Risulta inoltre importante evidenziare e confermare risultati emersi in precedenti studi (Wu et al., 2007), in merito all'autotossicità del frumento, imputabile all'emissione di sostanze allelopatiche da parte delle radici del grano, che si sono evidenziate anche nel presente studio. Per le diverse variabili considerate, la densità maggiore di frumento, in assenza di loietto, determina una riduzione dei valori osservati.

La differente interazione, per le diverse variabili, induce ad ipotizzare possibili diversità nella concentrazione di specifiche sostanze allelopatiche prodotte dal frumento, che per certe caratteristiche radicali hanno un effetto depressivo, mentre, per altre hanno

un effetto promotore. In aggiunta, la presenza del loietto influisce in questi meccanismi di possibile autotossicità, esaltandoli o riducendoli.

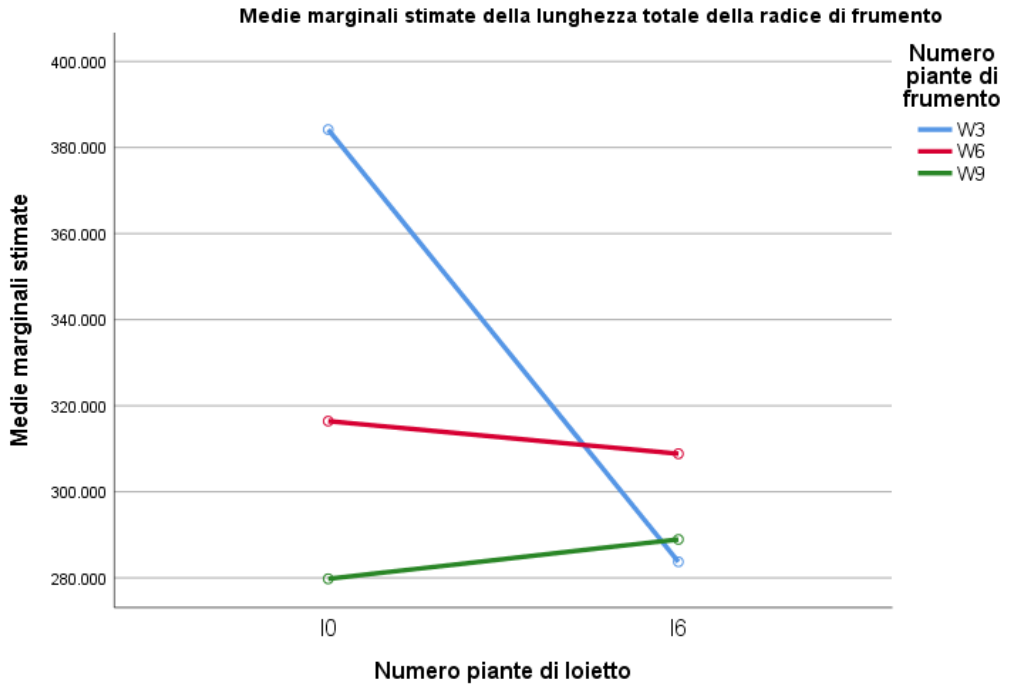


Figura 5-G Effetti dell'interazione tra numero di piante di frumento e presenza/assenza di loietto sulla lunghezza totale della radice del grano.

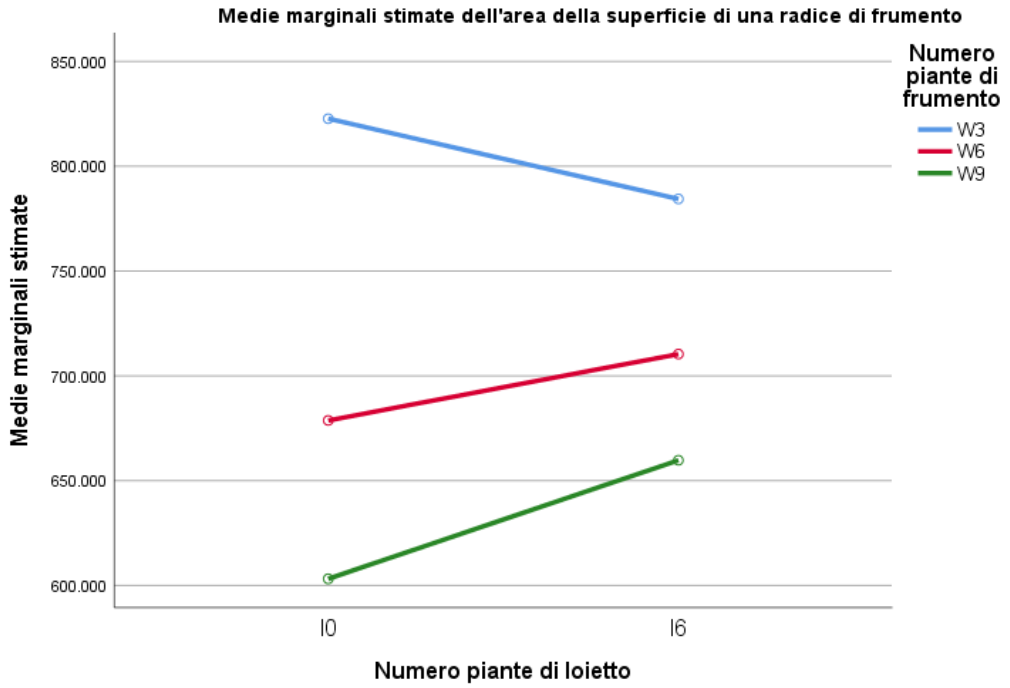


Figura 5-H Effetti dell'interazione tra numero di piante di frumento e presenza/assenza di loietto considerando l'area della superficie radicale del frumento.

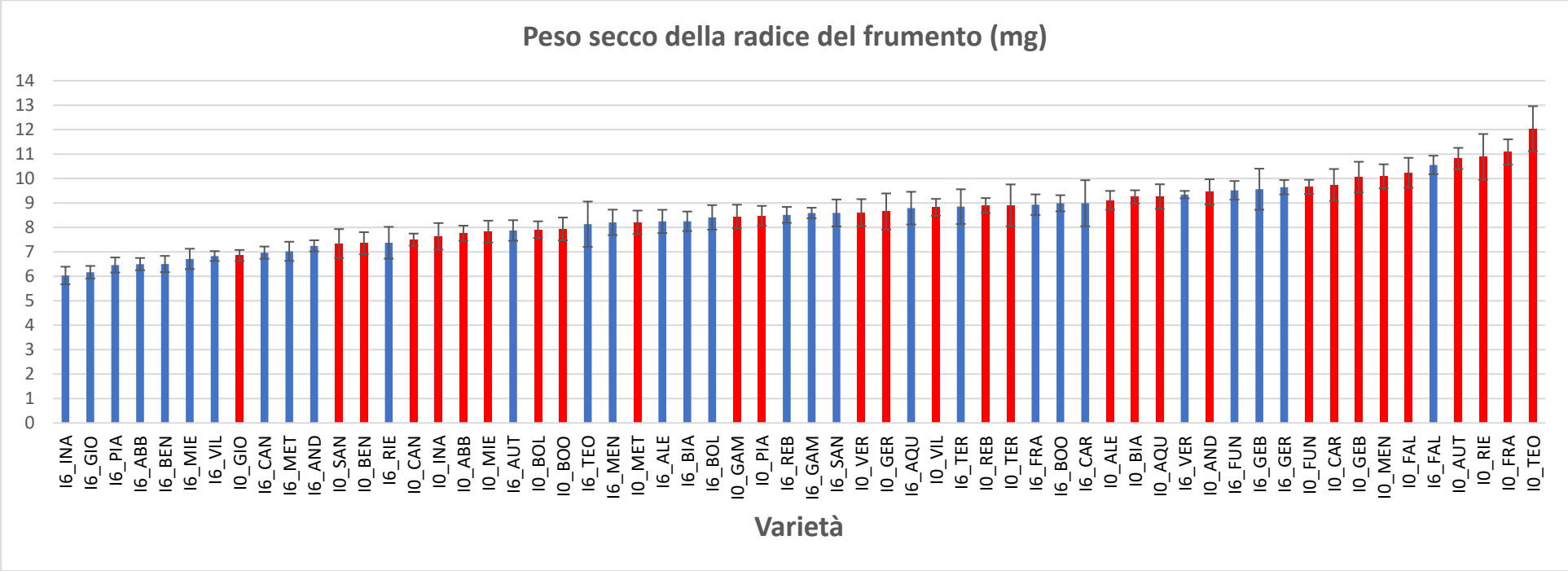
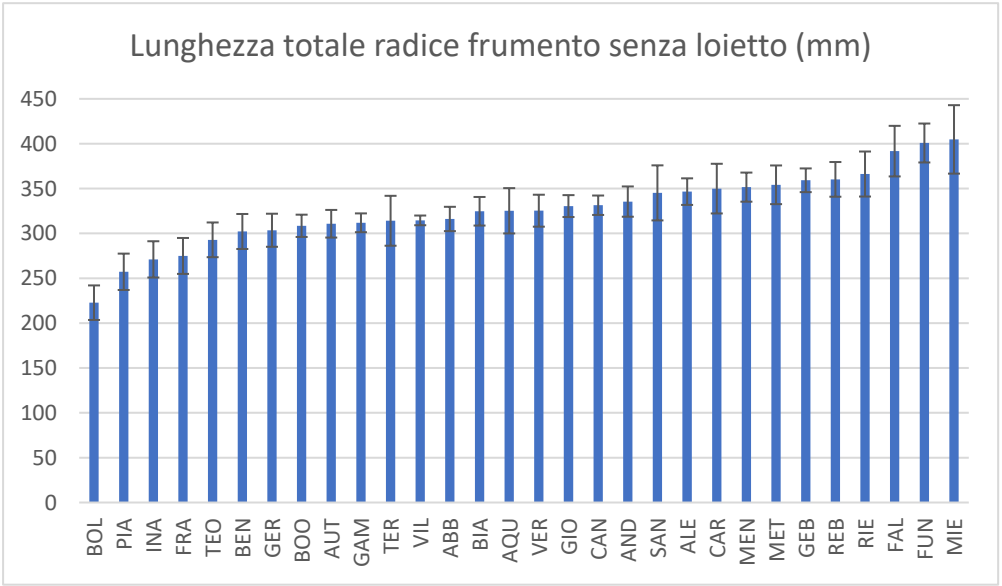


Figura 5-I Peso secco medio in % delle radici dei diversi genotipi di frumento (±SE). Le barre blu rappresentano i valori relativi ai genotipi di frumento in presenza del loietto, le barre rosse quelli relativi agli stessi genotipi in assenza del loietto.

Anche studiando l'interazione tra genotipo e presenza o assenza del loietto, emergono evidenze molto interessanti. Osservando il peso secco (Figura 5-I) emergono genotipi che sono fortemente penalizzati dalla presenza del loietto (Inallettabile, Giorgione, Piave), mentre altri tollerano maggiormente la sua presenza, in taluni casi accumulando sostanza secca in modo similare a quando presenti senza infestanti (Falcone, Gentil Rosso, Gentil Bianco). Simili considerazioni possono essere fatte valutando la lunghezza delle radici di frumento e la loro superficie (Figure 1-J e 1-K). Anche in questo caso, vi sono genotipi che in assenza di loietto raggiungono le migliori prestazioni di crescita iniziale, ma che risentono molto della sua presenza (Mieti, Rebelde) e altri che invece tollerano la tollerano molto bene (Funo, Autonomia), raggiungendo alte performance in presenza del loietto.



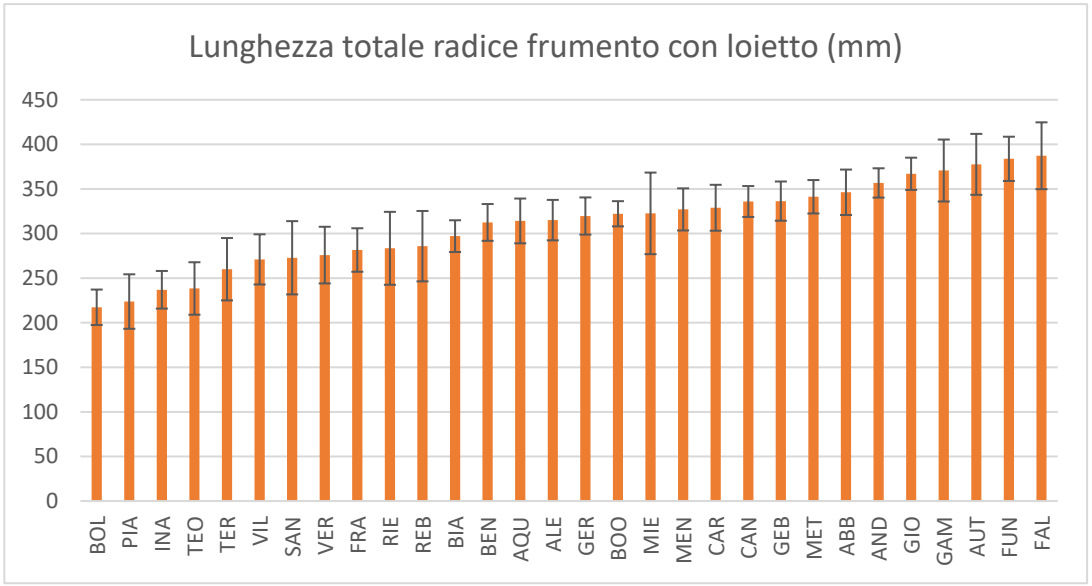
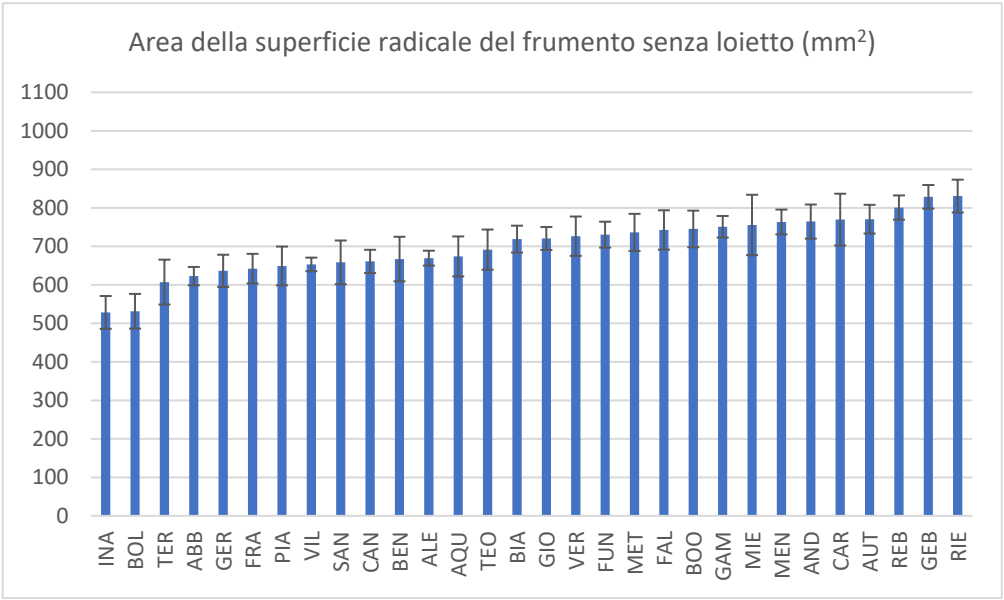


Figura 5-J Lunghezza totale delle radici dei diversi genotipi di frumento (±SE). Le barre blu rappresentano i valori relativi ai genotipi di frumento in assenza del loietto, le barre arancioni quelli relativi agli stessi genotipi in presenza del loietto.



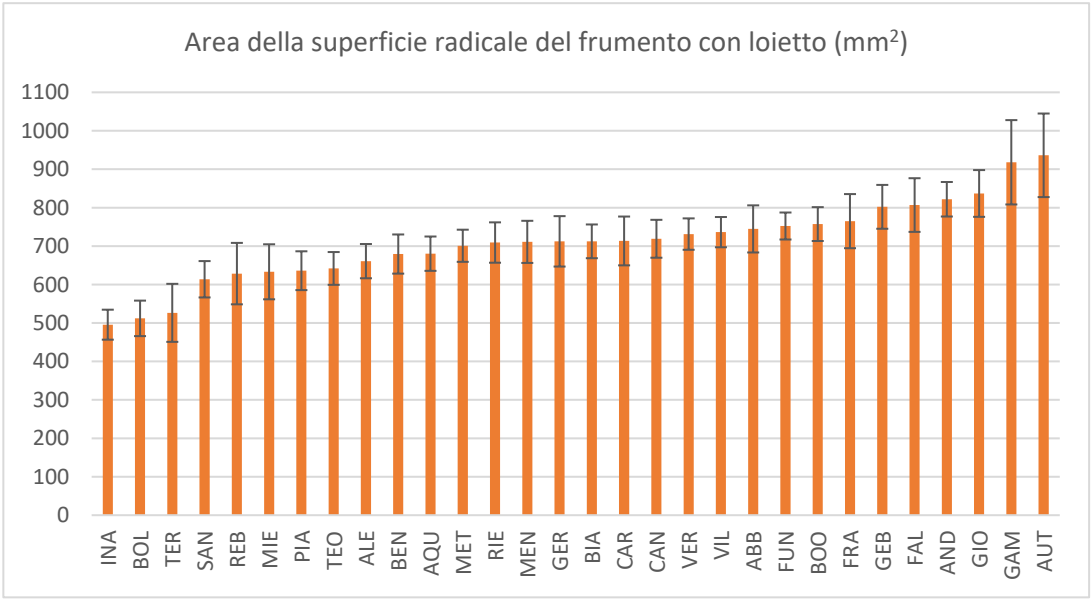


Figura 5-K Area della superficie delle radici dei diversi genotipi di frumento (±SE). Le barre blu rappresentano i valori relativi ai genotipi di frumento in assenza del loietto, le barre arancioni quelli relativi agli stessi genotipi in presenza del loietto.

5.5.3 VALUTAZIONE COMPLESSIVA DELLA COMPETITIVITÀ DEL FRUMENTO

Nella moderna agricoltura, cultivar che contrastano adeguatamente e in modo spontaneo specifiche specie infestanti possono rappresentare uno strumento di gestione biologica di diverse problematiche emergenti, tra cui l'aumento di specie infestanti resistenti agli erbicidi (Bertholdsson, 2010; Wu et al., 2003).

Quello che emerge dal presente studio è che la capacità di una cultivar di frumento di tollerare o contrastare lo sviluppo del loietto può riguardare caratteristiche di competitività (crescita più vigorosa), una sorta di allelopatia "passiva" e caratteristiche di allelopatia vera e propria ("attiva"). A livello radicale, ciò che in ogni caso determina relazioni dirette tra piante di frumento con loro stesse e con piante di loietto sono sostanze chimiche allelopatiche, che interagiscono con i processi fisiologici radicali, a livello intraspecifico e interspecifico (Huang et al., 2003; Hanwen Wu et al., 2001).

Per cercare di evidenziare meglio le complesse relazioni e le diverse strategie che le cultivar hanno a disposizione per crescere meglio in assenza o in presenza di infestanti, sono state realizzate delle Analisi Multivariate delle Componenti Principali, che possono aiutare a evidenziare i genotipi con le performance di crescita radicale migliori e con i migliori indici PAA.

Con queste elaborazioni (Figure 1-L/M/N), che considerano contemporaneamente la variabilità di tutti i parametri analizzati, si confermano evidenze già emerse precedentemente e che altri studiosi hanno rilevato (Wu et al., 2000a): le accessioni di frumento che crescono in modo più vigoroso non necessariamente sono quelle che mostrano maggiori potenziali allelopatici e viceversa. Si possono anche isolare genotipi che differenziano, in misura maggiore o in modo non molto divergente, le loro performance di crescita radicale, in funzione della loro densità e in funzione dell'interazione con le piante di loietto. Per future prove di campo o per futuri programmi di miglioramento genetico per il potenziale allelopatico del frumento, i genotipi di interesse risulterebbero essere quelli con maggiore PAA complessiva e migliore competitività (e quindi crescita) verso sé stessi e verso le infestanti. Anche grazie alle elaborazioni PCA, risaltano genotipi con queste caratteristiche come: Rieti, Falcone, Carosello, Mentana, Frassineto, Bologna, Funo, Gentil Rosso e Verna.

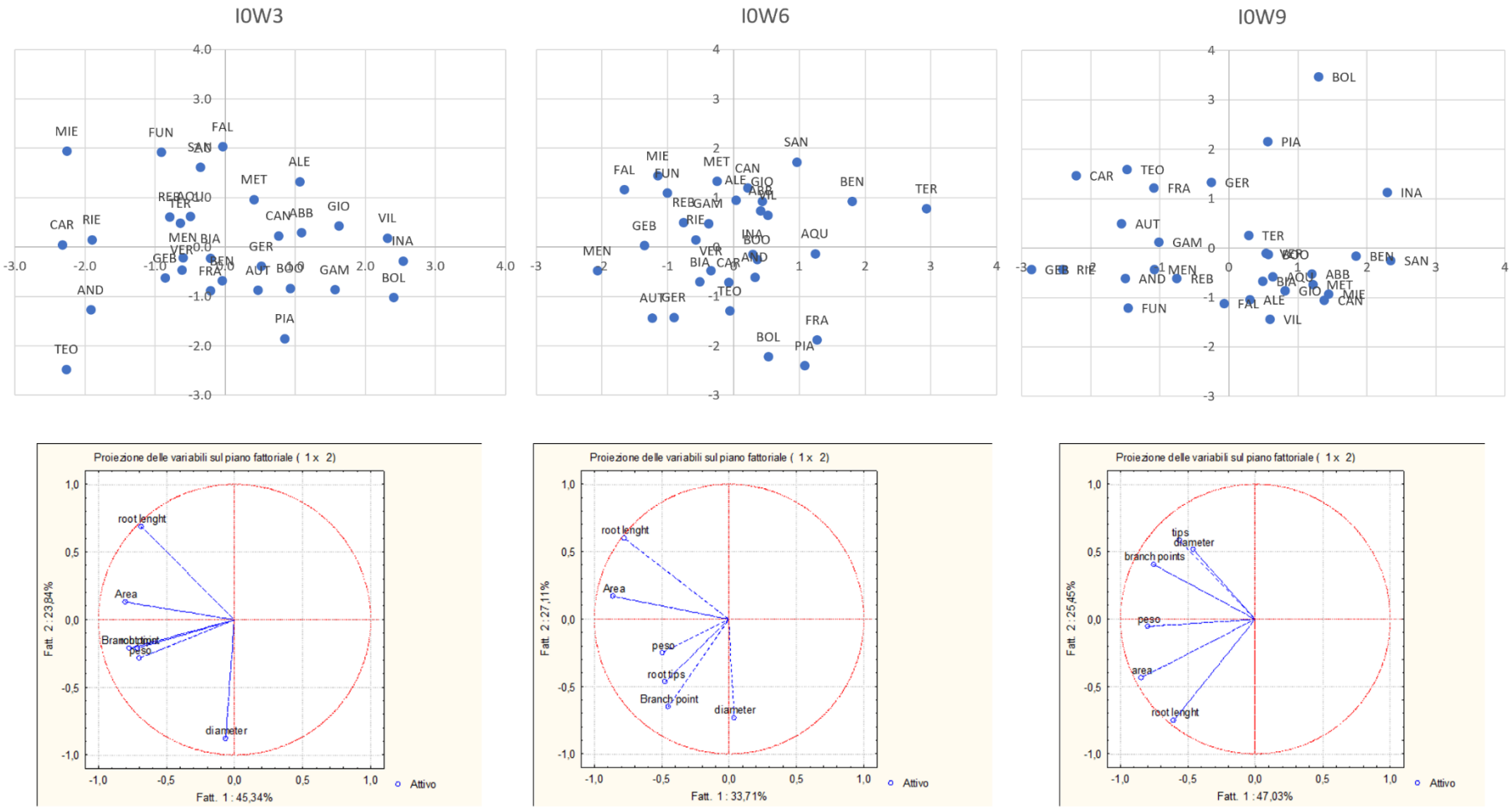


Figura 5-J Analisi delle Componenti Principali delle variabili misurate per le radici del frumento, in assenza di loietto, con 3 piante di grano (I0W3), 6 piante di grano (I0W6) e 9 piante di grano (I0W9). I casi sono rappresentati dal loro punto medio, per facilitare la visualizzazione del grafico

Per i caratteri considerati, risultano molto interessanti diverse accessioni di antica costituzione, mentre la maggioranza dei genotipi moderni differenziano maggiormente le loro performance, in funzione della densità di piante di frumento e della presenza del loietto.

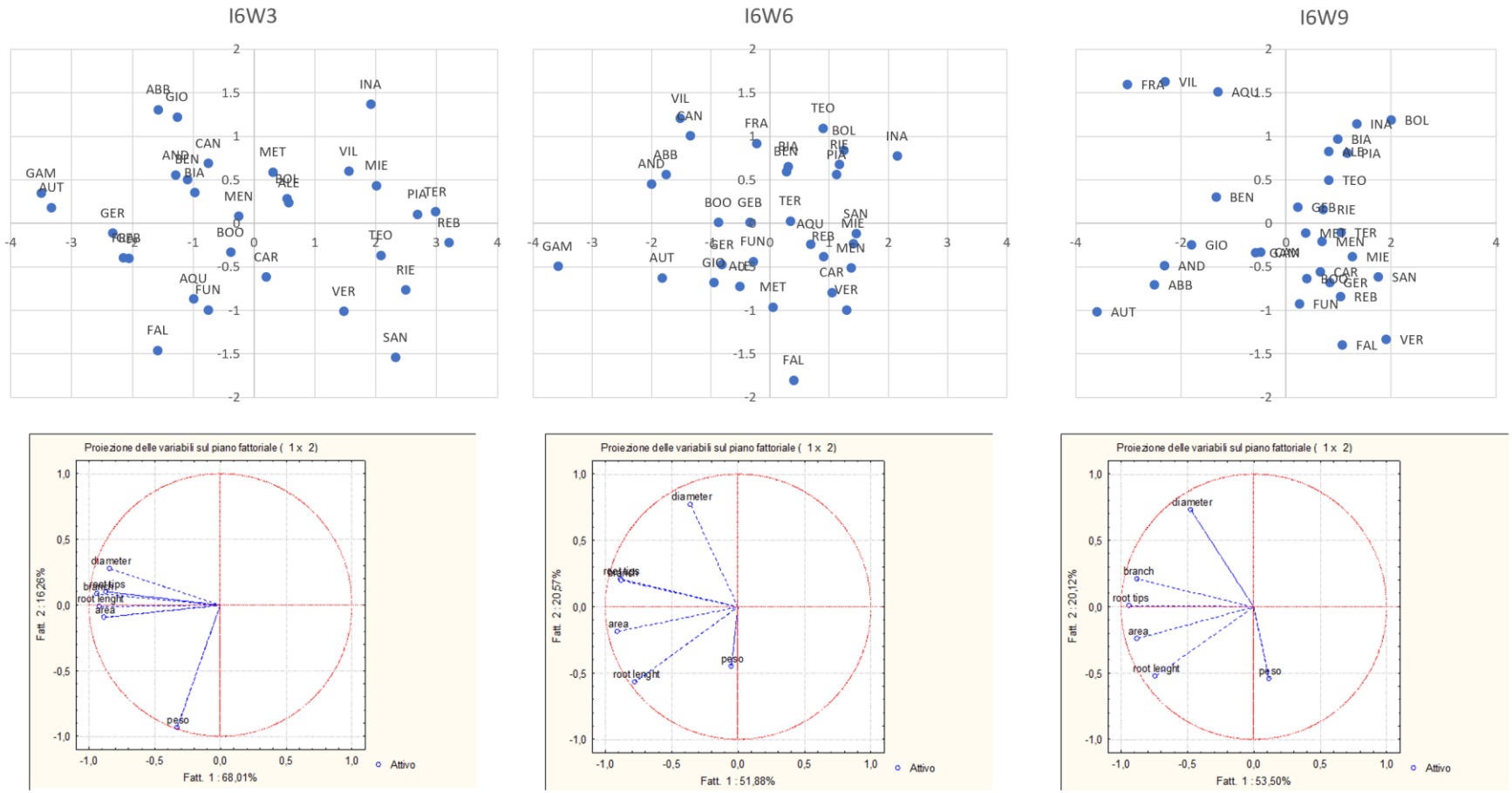


Figura 5-K Analisi delle Componenti Principali delle variabili misurate per le radici del frumento, in presenza di loietto, con 3 piante di grano (I0W3), 6 piante di grano (I0W6) e 9 piante di grano (I0W9). I casi sono rappresentati dal loro punto medio, per facilitare la visualizzazione del grafico

I risultati di questo studio suggeriscono che i caratteri legati alle potenzialità di crescita o di competizione del frumento e al potenziale allelopatico verso le infestanti non necessariamente sono associati geneticamente e che i programmi di miglioramento

genetico futuri dovrebbero esaltare congiuntamente la capacità competitiva di una cultivar e il maggior potenziale allelopatico possibile verso le infestanti, come evidenziato anche da Wu et al., 2000a.

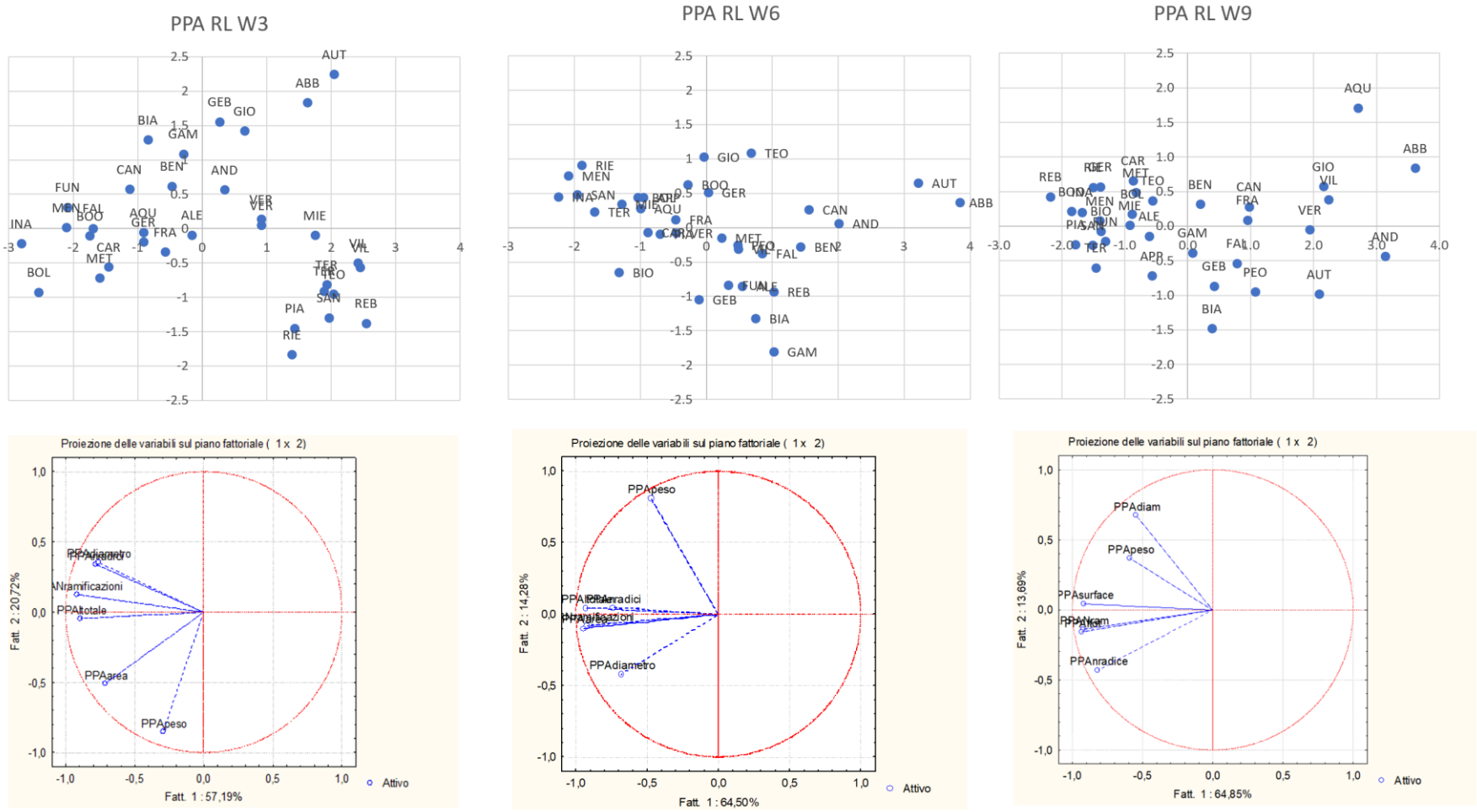


Figura 5-L Analisi delle Componenti Principali delle variabili misurate per l'attività allelopatica potenziale (PAA), con 3 piante di grano (I0W3), 6 piante di grano (I0W6) e 9 piante di grano (I0W9). I casi sono rappresentati dal loro punto medio, per facilitare la visualizzazione del grafico.

5.6 CONCLUSIONI

Il grano ha un ruolo fondamentale nella sicurezza alimentare globale. Le infestanti sono però tra le ragioni principali di possibili riduzioni nelle rese, specialmente in modelli agricoli a ridotto impiego di input. Avere a disposizione genotipi con un potenziale allelopatico verso le infestanti e inserirli nelle coltivazioni in campo potrebbe rappresentare una valida strategia per un controllo "biologico" delle infestanti nei campi di frumento.

Il presente studio mostra l'efficacia di un modello semplificato per la valutazione dell'attività allelopatica potenziale di differenti genotipi. Il modello messo a punto permette inoltre di evidenziare possibili effetti di autotossicità in giovani piantine di frumento, riuscendo a valutare la crescita radicale delle giovani plantule di frumento, quando allevate a diverse densità. La principale limitazione del modello è da ricercarsi nel fatto che l'intera indagine viene condotta sulle radichette seminali, che in condizioni di pieno campo scompaiono nelle fasi immediatamente precedenti alla fase di accestimento per essere sostituite dalle radici fascicolate prodotte dalla corona. Sarà pertanto necessario validare il modello con prove in condizioni di pieno campo, per verificare se i risultati ottenuti possano essere riferiti all'intero ciclo biologico della coltura, o alla sola fase precedente la comparsa dell'apparato radicale fascicolato.

Complessivamente, le evidenze raccolte nel presente studio mostrano come il fenomeno chimico allelopatico sia complesso e ancora da approfondire. I fattori genotipo di frumento, numero di piante di grano e numero di piante di loietto, così come le loro interazioni sono risultate significative, mettendo in luce come il fenomeno allelopatico non sia semplicemente una risposta dose-dipendente rispetto alle molecole emesse nel substrato di coltura. In aggiunta, emerge come i meccanismi di competitività colturale, in termini di sviluppo precoce dei tessuti radicali del frumento, non siano necessariamente correlati al potenziale allelopatico. Incrociando tutte le variabili, grazie alla analisi delle componenti principali, è stato possibile evidenziare come diverse varietà di antica costituzione/ecotipi a taglia alta siano particolarmente promettenti per esercitare un'azione di "interferenza" nei confronti delle infestanti (Rieti, Falcone, Carosello, Mentana, Frassineto, Funo, Gentil Rosso e Verna). All'opposto, tra le varietà di moderna costituzione a taglia bassa, il solo Bologna ha mostrato caratteristiche del tutto simile al gruppo delle varietà a taglia alta evidenziato precedentemente.

I risultati ottenuti sono perciò molto utili come base preliminare per realizzare future prove in serra o in campo, che possano confermare la validità delle principali evidenze emerse e permettere di caratterizzare chimicamente i composti responsabili di fenomeni allelopatici del frumento oppure di autotossicità verso sé stesso. Attraverso prove di campo, sarà possibile mettere in luce reali correlazioni tra il potenziale allelopatico di un genotipo, l'effetto della densità di semina e i principali parametri produttivi del frumento tenero.

5.7 BIBLIOGRAFIA

Abitabile, C., Arzani., 2013. Misurare la sostenibilità dell'agricoltura biologica. INEA, Italia, 9-441.

Andrew, I.K.S., Storkey, J., Sparkes, D.L., 2015. A review of the potential for competitive cereal cultivars as a tool in integrated weed management. Weed Research 55, 239–248. https://doi.org/10.1111/wre.12137

Belz, R.G., 2007. Allelopathy in crop/weed interactions - An update. Pest Management Science. https://doi.org/10.1002/ps.1320

Bertholdsson, N. O., 2007, Varietal variation in allelopathic activity in wheat and barley and possibilities to use this in breeding. *Allelopathy Journal* 19, 193–202. http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/1/5/2637_bertholdssonno.htm

Bertholdsson, N.O., 2004. Variation in allelopathic activity over 100 years of barley selection and breeding. Weed Research 44, 78–86. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2003.00375.x

Bertholdsson, N.O., 2005. Early vigour and allelopathy - Two useful traits for enhanced barley and wheat competitiveness against weeds. Weed Research 45, 94–102. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2004.00442.x

Bertholdsson, N.O., 2007. Varietal variation in allelopathic activity in wheat and barley and possibilities for use in plant breeding. Allelopathy Journal 19, 193–202.

Bertholdsson, N.O., 2010. Breeding spring wheat for improved allelopathic potential. Weed Research 50, 49–57. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2009.00754.x

Chon, S.-U., Nelson, C.J., 2010. Allelopathy in Compositae plants. A review for Sustainable Development Allelopathy in Compositae plants. A review. Agron. Sustain. Dev 30, 349–358. https://doi.org/10.1051/agro/2009027ï

Cinquemani, T., 2020. Diserbo pre-emergenza del grano. Ecco quando e come farlo. *AgroNotizie*. https://agronotizie.imagelinenetwork.com/difesa-e-diserbo/2020/10/12/diserbo-pre-emergenza-del-grano-ecco-quando-e-come-farlo/68206

Claeys, G., Tagliapietra, S., Zachmann, G., 2019. How to make the European Green Deal work. *Policy Contribution Issue*, Bruegel 13, 1-21

Corsi, A., 2008. L'agricoltura biologica: problemi e prospettive. *Agriregionieuropa*, 4 (14) https://agriregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/14/lagricoltura-biologica-problemi-e-prospettive?qt-eventi=1

Cox, R. W., 1977. Factors affecting the growth and yeld of double-cropped soybeans. M.S. thesis, Univ. of Arkansas, Fayetteville, 1-102.

Del Bello, D., Meo, E., Crescenzi, F., Guarrera, L., Callieris, R., 2019. I cereali biologici. Sinab, Italia,11-88

DG AGRI, 2021. Cereal Production. 26 agosto 2021. https://agridata.ec.europa.eu/extensions/DashboardCereals/CerealsProduction.html

EFSA, 2021. Glifosato: le autorità di regolamentazione dell'UE avviano le valutazioni del rinnovo. 15 giugno 2021. https://www.efsa.europa.eu/it/news/glyphosate-eu-regulators-begin-review-renewal-assessments

Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 2006. Esau's plant anatomy: Meristems, cells, and tissues of the plant body—their structure, function and development. 3rd edn. Hoboken : John Wiley & Sons

FAO, 2021. World Food Situation: FAO Cereal Supply and Demand Brief. 2 settembre 2021. http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/

Fischer, T., Byerlee, D., Edmeades, G., 2014. Crop Yields and Global Food Security: Will Yield Increase Continue to Feed the World? In “Wheat” Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 65-132

Guenzi, W.D., McCalla, T.M., 1966. Phenolic Acids in Oats, Wheat, Sorghum, and Corn Residues and Their Phytotoxicity 1. Agronomy Journal 58, 303–304. https://doi.org/10.2134/agronj1966.00021962005800030017x

Guenzi, W.D., McCalla, T.M., Norstadt, F.A., 1967. Presence and Persistence of Phytotoxic Substances in Wheat, Oat, Corn, and Sorghum Residues 1. Agronomy Journal 59, 163–165. https://doi.org/10.2134/agronj1967.00021962005900020012x

Haines, A., Scheelbeek, P., 2020. European Green Deal: a major opportunity for health improvement. The Lancet. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30109-4

Huang, Z., Haig, T., Wu, H., An, M., Pratley, J., 2003. Correlation between phytotoxicity on annual ryegrass (Lolium rigidum) and production dynamics of allelochemicals within root exudates of an allelopathic wheat. Journal of Chemical Ecology 29, 2263–2279. https://doi.org/10.1023/A:1026222414059

Inderjit, Olofsdotter, M., Striebig, J.C., 2001. Wheat (Triticum aestivum) interference with seedling growth of perennial ryegrass (Lolium perenne): influence of density and age. Weed Technol. 15, 807–812.

Info Farine, 2021. Il frumento in Italia e nel mondo. 20 settembre 2021. http://www.infofarine.it/il-frumento-tenero-in-italia-e-nel-mondo/

ISTAT, 2021. Agricoltura, Coltivazioni ed allevamenti, Coltivazioni. 20 settembre 2021. http://dati.istat.it/Index.aspx?DataSetCode=DCSP_COLTIVAZIONI

Khan, K., Shrewry, P.R., 2009. Wheat: Chemistry and Technology: Fourth Edition. Wheat: Chemistry and Technology: Fourth Edition 1–467.

Leonard, M., Pisani-Ferry, J., Shapiro, J., Tagliapietra, S., Wolf, G., 2021, The geopolitics of the European Green Deal. *Policy Contribution Issue*, Bruegel 4, 1-23

Liebman, M., Gallandt, E.R., 1997. Many little hammers: ecological management of crop – weed interaction. In “Ecology in Agriculture” Eds. Jackson L.E., Academy Press, San Diego, CA, 291-343.

Lockeretz, W., 2007. Organic Farming: An International History. CABI, UK, 1-274.

Lockeretz, W., Madden, P., 1987. Midwestern organic farming: A ten-year follow-up. *American Journal of Alternative Agriculture* 2 (2), 57-63. https://doi.org/10.1017/S0889189300001582

Masoni, A., Pampana, S., 2000. Allelopatia. In “Obiettivo radice: metodi di studio e risultati ottenuti in ambiente mediterraneo”, Eds. Mosca, G., Vamerali, T., CLEUP, Padova, Italy, 67-71 http://hdl.handle.net/11568/167460

Mokhtari, S., Galwey, N.W., Cousens, R.D., Thurling, & N., 2002. The genetic basis of variation among wheat F 3 lines in tolerance to competition by ryegrass (Lolium rigidum), Euphytica.

Montanarella, L., Panagos, P., 2021. The relevance of sustainable soil management within the European Green Deal. Land Use Policy 100. https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2020.104950

Norsworthy, J.K., Ward, S.M., Shaw, D.R., Llewellyn, R.S., Nichols, R.L., Webster, T.M., Bradley, K.W., Frisvold, G., Powles, S.B., Burgos, N.R., Witt, W.W., Barrett, M., 2012. Reducing the Risks of Herbicide Resistance: Best Management Practices and Recommendations. Weed Science 60, 31–62. https://doi.org/10.1614/ws-d-11-00155.1

Olofsdotter, M., Jensen, L.B., Courtois, B., 2002. Improving crop competitive ability using allelopathy, an example from rice. Plant Breeding 121, 1–9. http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.00662.x

Powles, S.B., Shaner, D.L., 2001. Herbicide Resistance and World Grains, CRC Press LLC, U.S.A.

Rice, E. L., 2012. Allelopathy. Academic Press, Orlando, Florida.

Rubel, W., 2011. Bread: A Global History. In “The Early History of Bread”, Reaktion Books Ltd, London, 10-38

Seethepalli, A. and York, L. M., 2020. RhizoVision Explorer - Interactive software for generalized root image analysis designed for everyone (Version 2.0.2). Zenodo. http://doi.org/10.5281/zenodo.4095629

Seethepalli, A., Dhakal, K., Griffiths, M., Guo, H., Freschet, G.T., York, L.M., n.d. RhizoVision Explorer: Open-source software for root image analysis and measurement standardization. https://doi.org/10.1101/2021.04.11.439359

Steinsiek, J.W., Oliver, L.R., Collins, F.C., 1982. Allelopathic Potential of Wheat (Triticum aestivum) Straw on Selected Weed Species. Weed Science 30, 495–497. https://doi.org/10.1017/s0043174500041047

Travlos, I.S., Giannopolitis, C.N., Economou, G., 2011. Diclofop resistance in sterile wild oat (Avena sterilis L.) in wheat fields in Greece and its management by other post-emergence herbicides. Crop Protection 30, 1449–1454. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.07.001

Triplett, G. B., Van Doren, D. M., 1977. Agriculture without tillage. Sci. Am. 236 (1): 28-33

UFAM, 2008. Base per l’uso di prodotti sanitari. 28 ottobre 2015. https://www.bafu.admin.ch/bafu/it/home/temi/prodotti-chimici/dossier/prodotti-fitosanitari/effetti-dei-prodotti-fitosanitari-su-uomo-e-ambiente.html

van der Meulen, A., Chauhan, B.S., 2017. A review of weed management in wheat using crop competition. Crop Protection 95, 38–44. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.004

Weiner, J., Griepentrog, H., Kristensen, L., 2001. Suppression of weeds by spring wheat Triticum aestivum increases with crop density and spatial uniformity, Journal of Applied Ecology.

Worthington, M., Reberg-Horton, S.C., Brown-Guedira, G., Jordan, D., Weisz, R., Murphy, J.P., 2015. Relative Contributions of Allelopathy and Competitive Traits to the

Weed Suppressive Ability of Winter Wheat Lines Against Italian Ryegrass. Crop Science 55, 57–64. https://doi.org/10.2135/cropsci2014.02.0150

Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., An, M., Liu, D.L., 2007. Autotoxicity of wheat (Triticum aestivum L.) as determined by laboratory bioassays. Plant and Soil 296, 85–93. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9292-7

Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T., 2000a. Evaluation of seedling allelopathy in 453 wheat (Triticum aestivum) accessions against annual ryegrass (Lolium rigidum) by the equal-compartment-agar method. Australian Journal of Agricultural Research 51, 937–944. https://doi.org/10.1071/AR00017

Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T., 2000b. Laboratory screening for allelopathic potential of wheat (Triticum aestivum) accessions against annual ryegrass (Lolium rigidum). Australian Journal of Agricultural Research 51, 259–266. https://doi.org/10.1071/AR98183

Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T., 2001. Allelopathy in wheat (Triticum aestivum). Annals of Applied Biology 139, 1–9. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2001.tb00124.x

Wu, H., Pratley, J., Ma, W., Haig, T., 2003. Quantitative trait loci and molecular markers associated with wheat allelopathy. Theoretical and Applied Genetics 107, 1477–1481. https://doi.org/10.1007/s00122-003-1394-x

Wu, Hanwen, Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D., An, M., 2001. Allelochemicals in wheat (Triticum aestivum L.): variation of phenolic acids in shoot tissues, Journal of Chemical Ecology.

Zuo, S., Liu, G., Li, M., 2012. Genetic basis of allelopathic potential of winter wheat based on the perspective of quantitative trait locus. Field Crops Research 135, 67–73. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.07.005

6 CONCLUSIONI

Il frumento è una delle colture agrarie più diffuse e coltivate al mondo, per l'importanza che esso ricopre nell'alimentazione umana.

Le attività di miglioramento genetico effettuate nel secolo scorso hanno permesso alle varietà moderne di raggiungere elevati valori di produttività, resistenza alle malattie, abbassamento della taglia, … I suddetti genotipi, però, richiedono un sistema di coltivazione ad alti input per esprimere al meglio il loro potenziale genetico.

La caratterizzazione di una collezione varietale diversificata, realizzata in condizioni di agricoltura con un ridotto impiego di input, fornisce indicazioni molto utili per la scelta varietale da parte degli agricoltori del materiale già disponibile, ma produce informazioni preziose, per orientare programmi di miglioramento genetico che abbiano, come fine ultimo, l'ottenimento di materiale genetico con spiccate caratteristiche di resilienza e adattabilità a contesti ambientali mutevoli e a modelli agronomici, che minimizzano e ottimizzano l'uso di mezzi tecnici di sintesi.

Dei 24 genotipi selezionati, gli ecotipi Piave e Gamba di Ferro, così come la cultivar Verna, hanno mostrato un'elevata stabilità, combinata con una media superiore alla media generale di tutti i genotipi, per una serie di parametri qualitativi di interesse. Complessivamente, i genotipi sopramenzionati hanno dimostrato di soddisfare i requisiti per un materiale genetico che sia adatto ad agroecosistemi sostenibili. Concludendo, è stato dimostrato il potenziale per produrre alimenti di alta qualità, garantendo anche maggiore resilienza delle produzioni di frumento tenero, ma sono necessarie ulteriori indagini, comprendendo anche prove di panificazione.

Lo sviluppo di una popolazione evolutiva di frumento e la quantificazione della sua reale capacità produttiva (in termini quantitativi e qualitativi) e di adattamento a contesti ambientali differenti supporta la diffusione di un'innovazione "a basso costo", con importanti riflessi sulla sostenibilità delle coltivazioni e l'aumento della resilienza degli agro-ecosistemi, soprattutto in aree agricole marginali o poco favorevoli.

La popolazione Bioadapt evolutivo e il miscuglio Bioadapt originale sono complessivamente riusciti ad adattarsi ai diversi areali di coltivazione e alle diverse condizioni metereologiche: la popolazione e il miscuglio mantengono valori di resa tendenzialmente stabili nel corso delle tre annate oggetto di studio, in ciascun areale in cui sono state coltivate e riseminate. Per questo motivo, entrambe potrebbero

rappresentare una valida alternativa per gli agricoltori, che potrebbero quindi scegliere quale varietà o popolazione utilizzare, a seconda dei propri obiettivi aziendali.

L'individuazione di genotipi con un maggior o minor potenziale allelopatico e la possibilità di monitorare questo carattere con un modello relativamente semplificato potrebbero risultare delle strategie vincenti e con implicazioni agronomiche molto importanti. Sfruttando la capacità intrinseca di un genotipo di rispondere alla presenza di erbe infestanti, sarà potenzialmente possibile ridurre l'impatto ambientale per contrastare una delle principali criticità biotiche nella coltivazione del frumento tenero.

Le evidenze raccolte mostrano come il fenomeno chimico allelopatico sia complesso e ancora da approfondire. I fattori genotipo di frumento, numero di piante di grano e numero di piante di loietto, così come le loro interazioni sono risultate significative, mettendo in luce come il fenomeno allelopatico non sia semplicemente una risposta dose-dipendente rispetto alle molecole presenti nel substrato di coltura. In aggiunta, emerge come i meccanismi di competitività colturale, in termini di sviluppo precoce dei tessuti radicali del frumento, non siano necessariamente correlati al potenziale allelopatico.

Complessivamente, i risultati ottenuti confermano l'importanza che la scelta varietale può esercitare nel migliorare i risultati produttivi e qualitativi del frumento tenero, per ottimizzare sistemi agricoli sostenibili e resilienti. Le caratterizzazioni delle risorse varietali realizzate nel presente studio rappresentano una valida base di informazioni per futuri programmi di miglioramento genetico, per l'ottenimento di genotipi idonei a sistemi produttivi a ridotto impiego di input, nel contesto del cambiamento climatico.