PROGETTO BIOLEG

Diamo gambe all'agricoltura biologica

Misura 124 del PSR 2007-2013 della Regione Toscana

Relazione finale PARTNER A7-
Centro di Ricerche Agro-Ambientali "Enrico Avanzi"
- CiRAA - Università di Pisa - UNIPI

Come da Progetto, il Centro di Ricerche Agro-Ambientali "Enrico Avanzi" ha preso parte al Progetto "Bioleg" come partner effettivo (A7) facendosi carico delle seguenti azioni:

Fase 2:acquisto di un prototipo per la falciatura/andanatura del fagiolo
- Azione 2.2: collaudo del prototipo (A7)

Fase 3: Realizzazione di test di collaudo per il trasferimento delle innovazioni di processo
- Azione 3.2: test di collaudo per la definizione di strategie di controllo non chimico delle infestanti su fagiolo, cece e lenticchia (A7)
- Azione 3.3: test di collaudo per la definizione delle consociazioni tra leguminose e cereali (A7)

Fase 5 Caratterizzazione delle produzioni agricole in relazione alla destinazione /trasformazione
- Azione 5.1: caratterizzazione chimico-nutrizionale dei prodotti primari e dei sottoprodotti (A7)
- Azione 5.3: test di collaudo per la definizione di strategie alimentari (A7).

Fase 6: Realizzazione dell' attività di divulgazione
- Azione 6.1: predisposizione e diffusione di materiale divulgativo e materiale linee guida (A7)
- Azione 6.2: organizzazione eventi pubblici (A7)

Di seguito si relaziona sulle azioni 2.2, 3.2, 3.3, 5.1, 5.3, 6.1 e 6.2 condotte nel biennio 2013-2014.

Azione 2.2: collaudo del prototipo

Il Centro di Ricerche Agro-ambientali Enrico Avanzi, con il contributo del gruppo di lavoro per la meccanica e meccanizzazione agricola coordinato dal prof. Andrea Peruzzi, ha condotto, come da programma, le attività previste dall'azione 2.2 al fine di rispondere alle esigenze tecniche dell'azienda Podere Pereto (partner A1) che consistevano nella messa a punto di un prototipo per la raccolta del fagiolo.
Partendo da questa esigenza, il gruppo di lavoro di cui sopra ha condotto una ricerca di mercato per individuare le macchine più idonee a realizzare un cantiere di lavoro che soddisfacesse le esigenze tecniche e agronomiche evidenziate dal proprietario dell'azienda nel corso di precedenti colloqui.
A seguito dell'indagine condotta, rilevata la disponibilità in azienda di una trebbiatrice a punto fisso Vignoli Oleomeccanica (mod. Mimosa), al fine di migliorare le prestazioni operative del cantiere di raccolta del fagiolo e di altre leguminose da granella prodotte dall'Azienda Podere Pereto, il gruppo di lavoro ha

concordato con il proprietario di organizzare il nuovo cantiere utilizzando una macchina semovente in grado di raccogliere il prodotto andanato e contemporaneamente trebbiarlo.
Premesso che: (i) sul mercato non erano disponibili macchine trebbiatrici semoventi in grado di convogliare la biomassa andanata verso l'apparato trebbiante; (ii) che la realizzazione "ex-novo" di una macchina sì fatta avrebbe comportato costi superiori a quelli relativi all'allestimento di una mietitrebbiatrice "convenzionale" adeguatamente modificata allo scopo, il gruppo di lavoro ha convenuto con il proprietario dell'azienda Podere Pereto che la soluzione tecnico-economica più conveniente sarebbe stata l'acquisto una mietitrebbia usata e la realizzazione su quest'ultima di tutte le modifiche necessarie a renderla funzionale alle esigenze aziendali.
A seguito di questa decisione, è stata avviata una ulteriore ricerca di mercato, indirizzata a individuare un prodotto con le caratteristiche desiderate. Da questa sono emerse le disponibilità di una mietitrebbiatrice semovente ARBOS 1220 del 1969 di proprietà dell'azienda agricola "I Pioppi" e di una piccola officina in provincia di Cuneo (Giordanengo Ezio) in grado di apportare alla ARBOS le modifiche previste. La più rilevante di queste è stata la rimozione della testata (barra falciante, aspo abbattitore e convogliatore) e la sua sostituzione con un pick-up a denti retrattili, con la funzione di raccogliere le piante di fagiolo estirpate e disposte in andane; i denti retrattili, ruotando "agganciano" le parti vegetative delle piante andanate e le convogliano verso 2 rulli controrotanti che precedono l'apparato trebbiante.
Dalla trasformazione della ARBOS 1220 è nato così il "prototipo" oggetto del collaudo.
Il prototipo di trebbiatrice semovente individuato, è stato sviluppato per operare specificatamente su leguminose da granella, pertanto presenta un sistema di trebbiatura (battitore/controbattitore) appropriato e tale da non causare danni ai semi di fagiolo. Il prototipo individuato ha una larghezza di lavoro sufficiente a garantire capacità di lavoro appropriate e sufficientemente elevate così da poter dominare le superfici coltivate a fagiolo nell'azienda Bordoni, e in altre aziende limitrofe, intervenendo con la necessaria tempestività nel periodo utile per le operazioni di raccolta anche al fine di evitare fenomeni di deterioramento delle piante disposte in andane e apprezzabili perdite di granella.
Prima dell'acquisto di questa macchina, nell'ambito delle attività previste dal progetto, è stata valutata la sua capacità a operare efficacemente anche sulle varietà di fagiolo coltivate presso l'azienda Podere Pereto e in particolare sul fagiolo dall'occhio. Infatti, a differenza del fagiolo comune, il fagiolo dall'occhio è caratterizzato da una taglia nettamente inferiore, che determina una minore biomassa vegetativa sulle andane.

Il cantiere di raccolta per le leguminose da granella utilizzato dall'azienda Podere Pereto fornito dal partner A1 e preso in esame durante la prima fase del progetto era composto dalle seguenti macchine operatrici:
- estirpa/andanatrice (Fig. 1a);
- andanatrice (Fig. 1b);
- trebbiatrice a punto fisso (Fig. 1c).

Durante il primo anno sono state condotte alcune prove di collaudo presso l'azienda agricola del partner A1.

Fig.1a

Fig.1b

Fig.1c

Il prototipo di estirpa/andanatrice è composto da un telaio principale su cui sono montati 4 vomeri che lavorando molto in superficie riescono a sradicare contemporaneamente 4 file di piante. L'operatrice è provvista di appositi deflettori che consentono di avvicinare le piante sradicate in 3 andane piuttosto larghe: una andana centrale formata dalle due file interne e due "mezze andane" laterali ognuna formata da ciascuna delle due file laterali. La "mezza andana" posta lateralmente formerà un'andana completa con l'accoppiamento del successivo passaggio dell'operatrice.
Il prototipo di andanatrice è azionato dalla presa di potenza della trattrice. La macchina è composta da una testata raccoglitrice (pick-up) costituita da denti metallici montati su un tamburo rotante che sollevano dal terreno le piante di fagiolo sradicate. Queste poi sono indirizzate verso un aspo rotante che le passa ad un nastro trasportatore trasversale che le scaricherà lateralmente in modo da creare una andana omogenea.
La trebbiatrice a punto fisso presa in esame in questa prima fase del progetto è una trebbiatrice Vignoli modello Mimosa in cui è stato modificato il dispositivo di battitura. Nello specifico il battitore originale è stato sostituito con un battitore dotato di spuntoni metallici (Fig. 2).

Figura 2. Battitore modificato della trebbiatrice a punto fisso.

Durante il primo anno del progetto sono state condotte alcune prove sperimentali presso l'azienda del partner A1. Lo scopo di queste attività è stato quello di valutare i principali parametri operativi dell'intero cantiere di raccolta e l'efficienza delle varie operatrici in termini di perdite di prodotto durante le diverse fasi di raccolta. I principali parametri operativi delle macchine utilizzate nel cantiere di raccolta sono riportati nella Tabella 1

Tabella 1– Principali parametri operativi delle macchine operatrici adottate nel cantiere di raccolta.

Parametri	Operatrici	
	Estirpa/andanatrice	Andanatrice
Larghezza di lavoro (m)	2,80	1,40
Velocità (km/h)	3,27	2,11
Rendimento operativo η_o	0,85	0,65
Capacita di lavoro reale (ha/h)	0,81	0,29

I dati relativi all'efficienza del cantiere in termini di perdita di prodotto sono stati calcolati rispetto alla produzione potenziale della coltura rilevata mediante raccolta manuale.
A questa prima fase di test del prototipo di macchine raccoglitrici già presenti in azienda è seguita una seconda fase di collaudo su un prototipo di raccogli-sgranatrice per il fagiolo acquistato dall'azienda partner. La raccogli-sgranatrice è stata sviluppata a partire da una mietitrebbia Arbos 1220 del 1975, dotata di un motore diesel a sei cilindri in linea Perkins da 77 kW (106 CV), sviluppata in origine per la raccolta del frumento (Fig. 3). Al momento dell'acquisto, prima di iniziare la trasformazione per la raccolta del fagiolo, la macchina aveva un allestimento appropriato per la raccolta del riso.

Figura 3. Mietitrebbia Arbos 1220, dotata di un motore diesel a sei cilindri in linea Perkins da 77 kW

La raccolta del fagiolo ha inizio con l'estirpazione delle piante, che vengono raggruppate in andane e lasciate a essiccare sul terreno per la successiva raccolta meccanizzata. La raccogli-sgranatrice è stata perciò modificata eliminando il gruppo di taglio costituito dalla barra falciante e l'aspo e inserendo al suo posto un pick-up (Fig. 4) con denti retrattili della larghezza di 2 m, idoneo alla raccolta del prodotto precedentemente raggruppato in andane (Fig. 5).

Figura 4. pick-up con denti retrattili della larghezza di 2 m, idoneo alla raccolta delle piante di fagiolo precedentemente raggruppate in andane.

Figura 5. Raccogli-sgranatrice durante la fase di raccolta del prodotto precedentemente raggruppato in andane.

Le piante di fagiolo vengono in seguito trasportate al gruppo di trebbiatura (battitore e controbattitore), che su questa macchina ha subito due modifiche fondamentali. La prima modifica apportata al battitore riguarda la sua tipologia, poiché il battitore a spranghe presente in origine sulla macchina danneggiava irreparabilmente il fagiolo. La scelta è stata orientata verso i battitori a denti, il cui principio di funzionamento è assimilabile alle dita di due mani che si intersecano. Il battitore utilizzato su questa macchina ha un elemento mobile con denti alti sei centimetri che nella rotazione vanno a intersecarsi con le feritoie presenti nella griglia sottostante. La macchina è stata allestita con quattro battitori in serie, che provvedono alla progressiva trebbiatura del prodotto. La seconda importante modifica apportata al

battitore riguarda il regime di rotazione, infatti i battitori tradizionali a spranghe o a denti lavorano ad un regime minimo di circa 400 rpm, mentre nel caso del fagiolo è necessario abbassare notevolmente tale valore onde evitare una consistente perdita di prodotto. Per poter variare il regime di rotazione e calibrarlo in base alle condizioni di "elasticità" del fagiolo è stato installato un cambio meccanico di velocità comandato direttamente dall'albero motore attraverso una catena. Si tratta di un cambio utilizzato prevalentemente sui camion Fiat OM 690, con un totale di dieci marce, suddivise in quattro marce veloci, quattro marce lente e due retromarce (una veloce e una lenta). L'albero in uscita dalla scatola del cambio trasmette il moto ai quattro battitori attraverso delle catene, per cui le variazioni di velocità interessano i quattro battitori in maniera equivalente. Grazie al cambio, il regime di rotazione finale dei battitori varia fra 140 e 200 rpm. Nel caso dei battitori a spranghe la trasmissione del moto è comandata da una grossa cinghia collegata all'albero motore. Su questa macchina invece è stato necessario utilizzare una trasmissione a catena per poter lavorare grosse quantità di prodotto a bassi regimi di rotazione evitando di "ingolfare" la macchina. Nel caso di uno sforzo improvviso, infatti, la cinghia può avere problemi di slittamento e ciò causa l'arresto del battitore con ovvie conseguenze.
Il prodotto una volta attraversati i battitori raggiunge gli scuotipaglia. Per la lavorazione del fagiolo sono stati utilizzati gli scuotipaglia presenti in origine sulla mietitrebbiatrice da frumento a cui non sono state apportate modifiche di alcun genere, mentre le facchiniere originali per il trasporto del prodotto alla seconda ventilazione sono state sostituite con elevatori a tazze. Questo accorgimento, unito alla diminuzione del regime di rotazione di tali organi da (350 a 250 rpm), ha consentito di evitare i danni al prodotto causati dallo sfregamento delle facchiniere. La ventilazione non ha subito modifiche ed è rimasta quella originaria della macchina da frumento, così come il suo regime di rotazione, pari a circa 800 rpm. Anche la crivellazione e la ventilazione secondaria non hanno subito modifiche di alcun genere.
L'unica modifica rilevante compiuta sul cassone di raccolta riguarda la coclea di scarico che originariamente trasportava il prodotto verso l'alto perpendicolarmente al terreno rovinando il fagiolo. Per porre rimedio a tale inconveniente, la coclea è stata inclinata lateralmente con ottimo risultato sull'integrità della granella (Fig. 6).

Figura 6. Coclea inclinata lateralmente per evitare la rottura della granella.

Anche per la raccogli-sgranatrice sono stati misurati in campo i principali parametri operativi, riportati nella tabella 2.

Tabella 2. Principali parametri operativi della macchina raccogli/sgranatrice

Parametri	Raccogli/sgranatrice
Larghezza di lavoro (m)	2
Velocità (km h^{-1})	2,90
Rendimento operativo η_o	0,80
Capacità di lavoro reale (ha h^{-1})	0,46

Nella tabella 3 è riportato il confronto, in termini di perdita di prodotto rispetto alla produzione potenziale, tra le due macchine operatrici utilizzate nella prima e nella seconda fase per la raccolta del fagiolo.
L'analisi dei dati ha fornito risultati incoraggianti sia per l'estirpa/andanatrice che per l'andanatrice. Infatti, per queste due operatrici i livelli stimati di perdita di prodotto rispetto alla produzione potenziale si sono attestati rispettivamente su valori di 0,7% e del 12,1%. Per quanto concerne la trebbiatrice a punto fisso le perdite di prodotto rispetto alla produzione potenziale sono state più alte attestandosi a livelli del 26%. Questo valore comprende anche le perdite di granella imputabili alla fase di caricamento manuale delle piante andanate nel sistema di alimentazione dell'operatrice. L'intero cantiere di lavoro ha determinato perdite pari al 39 %.

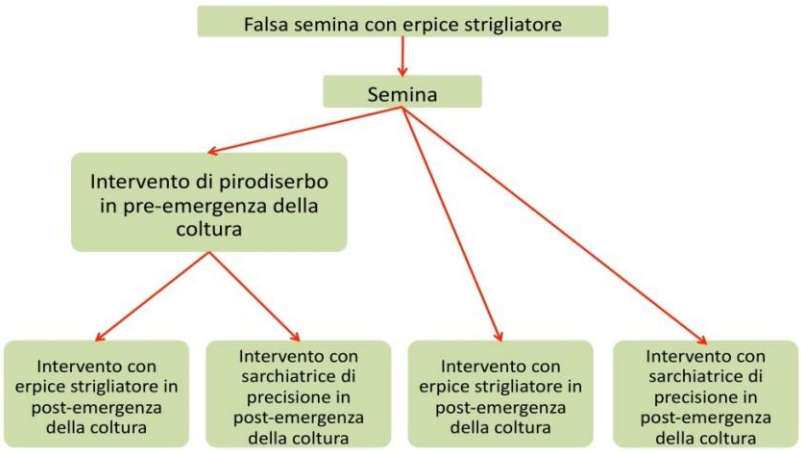
Tabella 3. Perdita di prodotto delle macchine operatrici impiegate per la raccolta del fagiolo espresse come percentuale di riduzione rispetto alla produzione potenziale

Anno	**Macchina**	**Perdita rispetto alla produzione potenziale**
2013	Estirpa/andanatrice	0,7%
	Andanatrice	12%
	Trebbiatrice a punto fisso	26%
	Intero cantiere	39%
2014	Estirpa/andanatrice	0,8%
	Raccogli/sgranatrice	10%
	Intero cantiere	10,8%

L'utilizzo della raccogli-sgranatrice per il fagiolo ha permesso di ottenere una riduzione delle perdite di prodotto raccolto del 16% rispetto alla trebbiatrice a punto fisso e ha ridotto le perdite, rispetto alla produzione potenziale, al 10%. Nel complesso questo secondo cantiere di lavoro ha comportato una riduzione delle perdite, rispetto al primo di circa il 20 %.
L'efficienza del primo cantiere potrebbe, comunque, essere aumentata evitando di effettuare la seconda andanatura.

Azione 3.2: test di collaudo per la definizione di strategie di controllo non chimico delle infestanti su fagiolo, cece e lenticchia

Nei due anni del progetto, presso l'azienda agricola Bordoni e presso il CiRAA sono stati allestiti i campi di fagiolo, cece e lenticchia. Per tutte e tre le colture prese in esame, le tesi poste a confronto sono state differenziate per tipologia di gestione della flora spontanea (Fig. 7).



I quattro itinerari tecnici per il controllo delle infestanti da porre a confronto prevedevano una falsa semina effettuata con erpice strigliatore, tuttavia l'anomalo andamento meteorologico registrato tra la fine dell'anno 2012 e l'inizio dell'anno 2013, ha influenzato negativamente le condizioni di lavorabilità del terreno, impedendo di fatto di effettuare correttamente gli interventi di falsa semina previsti.
Dopo la semina delle colture (effettuata in ritardo a causa delle avverse condizioni meteorologiche), per due dei quattro itinerari, era stato previsto un intervento di pirodiserbo in fase di pre-emergenza, tale trattamento ed i rilievi malerbologici connessi sono stati effettuati nell'aprile 2013.
In fase di post-emergenza della coltura era stato previsto di differenziare ulteriormente i trattamenti volti al contenimento dello sviluppo delle avventizie. Tuttavia le frequenti precipitazioni, protrattesi per un lungo periodo di tempo, hanno impedito l'effettuazione di interventi meccanici, compromettendo inevitabilmente la prova di collaudo.
Al fine di ottenere comunque 2 anni di osservazioni, nell'annata seguente le prove di collaudo sono state realizzate sia presso l'azienda partner (Podere Pereto) sia presso il CiRAA. La prova in azienda, che aveva le stesse caratteristiche di quella svolta al CiRAA (ed è stata gestita secondo lo stesso protocollo), ha avuto un carattere prettamente dimostrativo come test pilota per l'applicazione delle tecniche innovative di controllo delle malerbe.
Le macchine operatrici utilizzate per il controllo fisico delle infestanti sono state l'erpice strigliatore, l'operatrice per il pirodiserbo e la sarchiatrice di precisione.
L'erpice strigliatore è costituito da una serie di telaietti modulari larghi 1,5 m che sono collegati elasticamente mediante quattro catene poste all'estremità di un supporto a U al telaio principale. L'attrezzo è "semiportato", ossia portato dalla trattrice in posizione di trasporto e durante le manovre (voltate e trasferimenti) mentre è trainato, mediante collegamento ai due tiranti del sollevatore e appoggiato su ruotini pneumatici, nelle condizioni di lavoro. Su ogni telaietto si trovano più file di denti elastici, realizzati in acciaio speciale rinforzato (con diametro di 6 mm), conformati a "J", composti da un primo tratto verticale più lungo (25 cm) ed un secondo segmento più corto (11 cm) angolato rispetto al primo di 135° nella direzione di avanzamento della macchina. L'attrezzatura può comunque essere equipaggiata anche con denti elastici di maggiore spessore (7-9 mm) che determinano un'azione più energica di "disturbo" sul terreno. La particolare disposizione longitudinale degli organi di lavoro consente all'erpice di operare anche su strisce di terreno molto vicine tra loro, fino a una distanza minima di 2,5 cm. La profondità di lavoro dell'operatrice varia in funzione della quota di appoggio dei ruotini pneumatici (regolabile facilmente modificando il punto di attacco ad apposite staffe presenti sul telaio) e dell'angolo che i denti formano con la perpendicolare alla superficie del terreno, tra -45° e +15° (l'inclinazione è

regolabile attraverso un'apposita leva). Il controllo delle malerbe si realizza tramite azioni congiunte di lacerazione dei tessuti, di estirpatura e ricoprimento con il terreno.
Questa macchina è stata utilizzata per la sperimentazione su fagiolo, cece e lenticchia, per la realizzazione della tecnica della falsa semina e per le operazioni di controllo selettivo delle infestanti in post-emergenza (Figura 8).

Figura 8. Realizzazione della falsa semina con erpice strigliatore.

La macchina per il pirodiserbo utilizzata durante la fase finale della falsa semina, per devitalizzare le infestanti emerse dopo la semina della coltura e prima dell'emergenza della stessa, è stata equipaggiata con cinque bruciatori a bacchetta larghi 25 cm (fronte di lavoro di 1,25 m) (Fig. 9). Questa macchina ha una struttura piuttosto semplice ed è composta dai seguenti elementi: il telaio, i serbatoi del combustibile, lo scambiatore termico, i dispositivi di regolazione e di sicurezza, i bruciatori, i dispositivi per l'accensione dei bruciatori, i meccanismi per mantenere la corretta distanza tra bruciatore e terreno. Il telaio ha la funzione di supportare i serbatoi del GPL, lo scambiatore termico, i dispositivi di regolazione e di sicurezza e i bruciatori con i relativi meccanismi di distanziamento dal terreno. Il telaio è completato dal sistema standard di attacco a tre punti alla trattrice. I serbatoi del combustibile sono quattro semplici bombole di GPL commerciali con capacità di 25 kg, ciascuna delle quali è collegata con una singola coppia di bruciatori. Lo scambiatore termico è presente in quanto il GPL evapora a temperatura ambiente, ma, essendo contenuto sotto pressione nel serbatoio, necessita dell'apporto di energia esterna affinché il passaggio dalla fase liquida a quella gassosa avvenga con sufficiente velocità. Lo scambiatore termico è un recipiente metallico riempito d'acqua calda in cui sono collocate le bombole. Per il riscaldamento dell'acqua vengono in questo caso utilizzati i gas di scarico del trattore che sono convogliati, per mezzo di un tubo flessibile inserito nella marmitta, in un tubo in rame che passa dentro la tramoggia e che ha funzione di scambiatore termico. L'altezza e l'inclinazione dei bruciatori sono state regolate in modo da mantenere una distanza di 10 cm e un'inclinazione di 45° rispetto alla superficie del terreno in fase di lavoro, con la finalità di ottenere la massima efficienza termica. Durante la falsa semina la pressione di esercizio del GPL è stata di 0.3 MPa e a la velocità di avanzamento di 2 km h^{-1}.

*Figura 9. Operatrice per il pirodiserbo utilizzata durante la fase finale della falsa semina***.**

La sarchiatrice di precisione è stata utilizzata per il controllo selettivo delle infestanti in post-emergenza.
La macchina è costituita da un telaio sul quale sono inseriti gli organi lavoranti rappresentati da ancore a zampa d'oca ed elementi a "L". L'operatrice è dotata di un sistema di guida manuale e di sedile per l'operatore, in modo da effettuare un intervento molto ravvicinato alle file della coltura (di precisione) senza danneggiare le piante coltivate. Gli organi di lavoro sono disposti su parallelogrammi articolati dotati di ruote per la regolazione della profondità di lavoro. La lavorazione è stata superficiale (circa 3 cm) in modo da determinare l'eliminazione delle piante spontanee presenti senza determinare un eccessivo rimescolamento del terreno che potrebbe indurre nuovi semi delle infestanti a emergere (Fig. 10).

Figura 10 - Intervento di sarchiatura con sarchiatrice dotata di sistema di guida manuale su cece.

Le caratteristiche operative delle macchine utilizzate sono riportate nelle Tabelle 4 e 5.
Prima della semina della coltura (tra metà aprile e metà maggio) sono stati realizzati tre interventi di falsa semina con erpice strigliatore. Le colture sono state seminate il a metà maggio, in seguito all'ultimo intervento di falsa semina con erpice strigliatore. Per la semina è stata utilizzata una seminatrice di precisione regolata per seminare ad una distanza sulla fila di 5,3 cm e tra le file di 75 cm, per un investimento di 25 piante m^{-2} per il fagiolo e il cece.

La lenticchia è stata seminata a una distanza di 1,78 cm sulla fila e 20 cm tra le file, per un investimento di 281 piante m^{-2}. Prima dell'emergenza delle colture è stato effettuato un trattamento di pirodiserbo a tutta superficie in modo da devitalizzare le infestanti emerse in seguito all'ultimo passaggio con erpice strigliatore e garantire un maggior vantaggio competitivo alle plantule della coltura. Il disegno sperimentale utilizzato è stato a blocchi completamente randomizzati con tre repliche. I livelli del fattore "tipologia di trattamento" sono stati il controllo delle infestanti con strigliatore, con sarchiatrice, il testimone scerbato manualmente e il testimone non scerbato. I trattamenti sono stati applicati tra i primi e la metà di giugno (Figura 11).

Figura 11. - Intervento di strigliatura con erpice strigliatore su lenticchia.

L'entità dell'infestazione è stata valutata in termini numerici (densità delle infestanti) e i campionamenti sono stati realizzati su aree di saggio di dimensioni pari a 25 x 30 cm. L'investimento delle colture e la densità delle infestanti sono state misurate prima di ogni intervento di controllo e 7 giorni dopo il trattamento stesso, mentre alla raccolta la densità delle infestanti è stata valutata in termini di biomassa secca (campionamenti su area di saggio di 1 m^2). La valutazione della resa delle colture è stata effettuata sulla stessa area di saggio. I dati relativi alla biomassa delle infestanti a raccolta e alle rese sono stati analizzati statisticamente utilizzando un modello misto lineare con il software R (pacchetto aggiuntivo lmerTest). I dati relativi alla densità delle infestanti osservate 8 giorni dopo l'ultimo intervento di controllo e la densità di investimento a raccolta delle piante delle varie colture sono stati analizzati statisticamente utilizzando un modello misto lineare generalizzato con il software R (pacchetto aggiuntivo lme4 e lsmeans). Sono state registrate tutte le principali caratteristiche operative dei cantieri di lavoro utilizzati per il controllo non-chimico della flora spontanea, quali ad esempio la velocità e la profondità di lavoro, la capacità operativa, il tempo operativo, il consumo di combustibile, etc.
Di seguito si riportano i principali risultati ottenuti:

Caratteristiche operative dei cantieri di lavoro
Le principali caratteristiche operative delle macchine utilizzate per il controllo delle infestanti in post-emergenza sono state riportate nella Tabella 4 (fagiolo e cece) e Tabella 5 (lenticchia). Entrambe le operatrici utilizzate nella strategia di controllo fisico delle infestanti su fagiolo e cece sono state caratterizzate da un fronte di lavoro pari a 3,00 m e di 1,50 m su lenticchia. Le due operatrici hanno lavorato a una profondità di lavoro relativamente bassa (sempre inferiore a 4 cm) e ad una limitata richiesta di potenza. Al riguardo è stata impiegata una trattrice di potenza nominale pari a 50 kW. L'erpice strigliatore ha lavorato ad una velocità superiore rispetto a quella della sarchiatrice (5,50 vs 2,00 km h^{-1}) poiché quest'ultima necessita che un secondo operatore, seduto sull'operatrice stessa, abbia il tempo per

far lavorare la macchina il più vicino possibile alle file della coltura e per evitare al contempo di danneggiare le piante.

Tabella 4. Caratteristiche operative dell'erpice strigliatore e della sarchiatrice di precisione utilizzate su fagiolo e cece.

Caratteristiche dei cantieri	**Erpice strigliatore**	**1ª Sarchiatura di precisione**	**2ª Sarchiatura di precisione**
Larghezza di lavoro (m)	3,00	3,00	3,00
Profondità di lavoro (cm)	3,30	2,90	3,40
Velocità di lavoro (km h^{-1})	5,50	1,80	2,20
Capacità operativa (ha h^{-1})	1,65	0,54	0,66
Tempo operativo (h ha-1)	0,67	2,06	1,68
N° operatori	1	2	2
Potenza trattrice (kW)	50	50	50
Consumo gasolio (kg ha^{-1})	2,80	7,40	8,10

Tabella 5. Caratteristiche operative dell'erpice strigliatore e della sarchiatrice di precisione utilizzate su lenticchia.

Caratteristiche dei cantieri	**Erpice strigliatore**	**1ª Sarchiatura di precisione**	**2ª Sarchiatura di precisione**
Larghezza di lavoro (m)	1,50	1,00	1,00
Profondità di lavoro (cm)	3,00	3,10	3,20
Velocità di lavoro (km h^{-1})	4,80	1,38	1,90
Capacità operativa (ha h^{-1})	0,72	0,14	0,19
Tempo operativo (h ha^{-1})	1,54	8,05	5,85
N° operatori	1	2	2
Potenza trattrice (kW)	50	50	50
Consumo gasolio (kg ha^{-1})	5,40	12,28	12,96

Controllo delle erbe infestanti

Le erbe infestanti maggiormente presenti prima degli interventi di falsa semina nei siti in cui è stata condotta la prova appartenevano al genere *Chenopodium* (70%) (Figura 12). La densità iniziale delle infestanti, osservata prima degli interventi di falsa semina, è stata pari a poco meno di 200 piante m^{-2}. La falsa semina ha permesso il controllo di circa il 55% delle infestanti inizialmente presenti. Prima degli interventi di sarchiatura e strigliatura in post-emergenza della coltura la comunità delle infestanti è stata rappresentata principalmente dalle specie *Cynodon Dactylon* L. (20%) e *Cyperus* spp. (70%) (Figura 13).

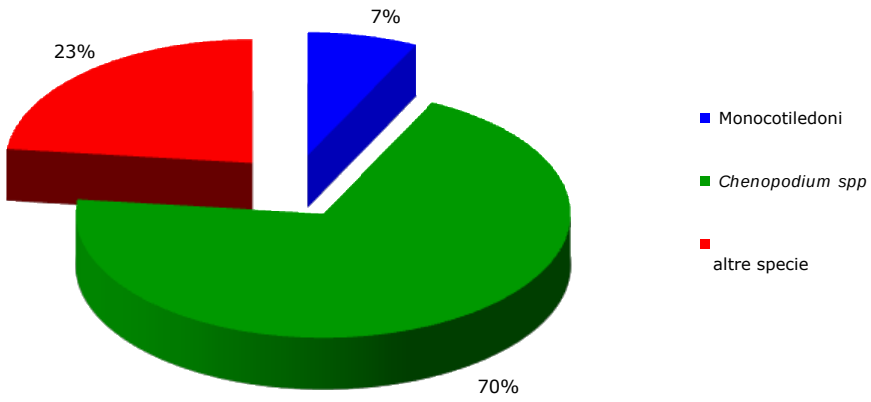


Figura 12. Composizione floristica (%) osservata in campo prima degli interventi di falsa semina, durante le prove condotte presso il CiRAA.

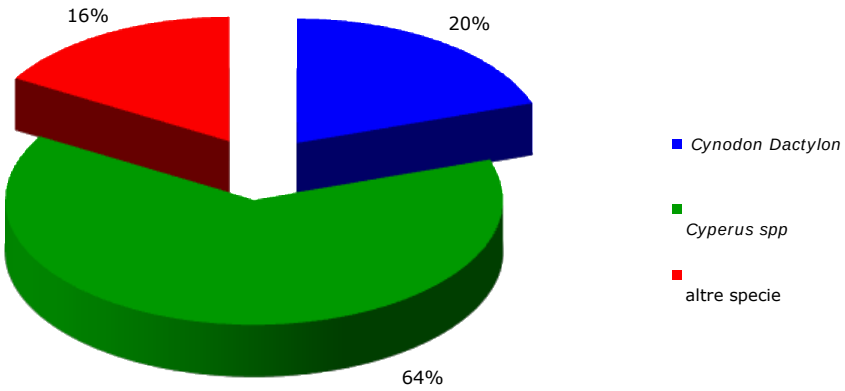


Figura 13. Composizione floristica (%) osservata in campo successivamente agli interventi di falsa semina e prima degli interventi di sarchiatura e strigliatura, durante le prove condotte presso il CiRAA.

La densità delle infestanti, osservata in seguito agli interventi di controllo (8 giorni dopo l'ultimo intervento), effettuati rispettivamente con sarchiatrice di precisione ed erpice strigliatore, è risultata mediamente più alta nelle parcelle in cui è stata coltivata la lenticchia (Tabella 6). In questa coltura l'intervento di sarchiatura ha permesso di controllare il 47% in più delle infestanti rispetto all'erpice strigliatore e il 58% in più rispetto al testimone non trattato (Tabella 6, Fig. 16). Non sono state invece osservate differenze statisticamente significative tra densità delle infestanti osservata in seguito ai trattamenti con erpice strigliatore e quella osservata nel testimone non trattato (Tabella 6, Fig. 16). Anche nel fagiolo non sono state osservate differenze statisticamente significative tra densità delle infestanti osservata in seguito ai trattamenti con erpice strigliatore e quella osservata nel testimone non trattato (Tabella 6, Fig. 14), mentre la sarchiatura ha permesso un controllo del 55% e 53% superiore rispetto a quello osservato nelle parcelle strigliate e nel testimone non trattato, rispettivamente (Tabella 6, Fig. 14). Nel cece la sarchiatura ha determinato un controllo delle infestanti del 64% e 75% superiore rispetto a

quello osservato nelle parcelle strigliate e nel testimone non trattato, rispettivamente. La strigliatura ha permesso di ottenere un controllo delle infestanti del 30% superiore a quello del testimone non trattato (Tabella 6, Fig. 15).

Tabella 6. Densità delle infestanti (piante m-2) media e limiti inferiori e superiori (intervallo di confidenza del 95%) osservata 8 giorni dopo l'ultimo intervento di controllo delle infestanti con le diverse macchine operatrici nelle varie colture. Dati retro trasformati.

	MACCHINA	**DENSITA' MEDIA** (piante m^{-2})	**INFERIORE** (piante m^{-2})	**SUPERIORE** (piante m^{-2})
FAGIOLO	Sarchiatrice	78	65	94
	Strigliatore	173	144	207
	Testimone	167	140	200
CECE	Sarchiatrice	14	12	17
	Strigliatore	39	33	46
	Testimone	55	47	65
LENTICCHIA	Sarchiatrice	108	86	135
	Strigliatore	204	164	253
	Testimone	257	207	319

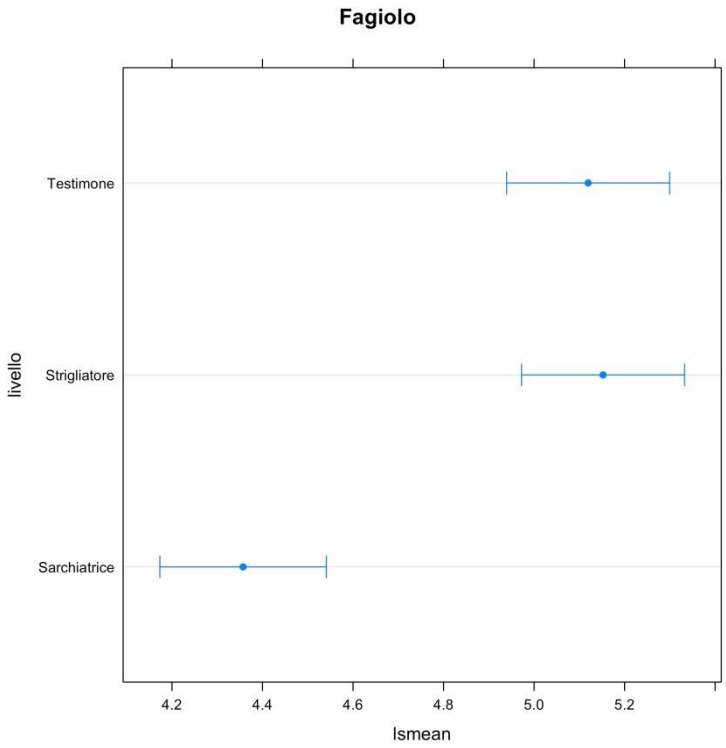


Fig. 14. Schema che illustra la densità delle infestanti (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservata 8 giorni dopo l'ultimo intervento di controllo delle infestanti con le diverse macchine operatrici nel fagiolo. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

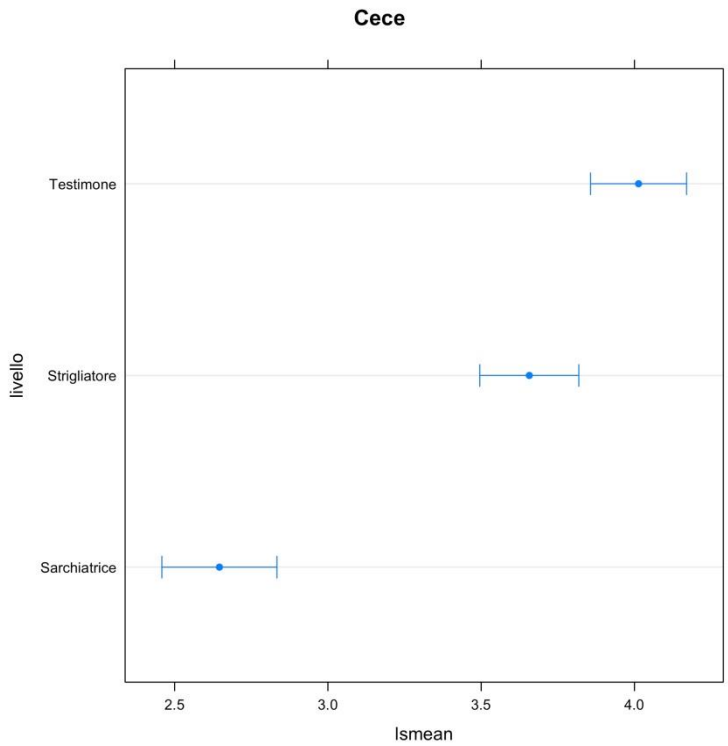


Fig15. Schema che illustra la densità delle infestanti (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservata 8 giorni dopo l'ultimo intervento di controllo delle infestanti con le diverse macchine operatrici nel cece. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

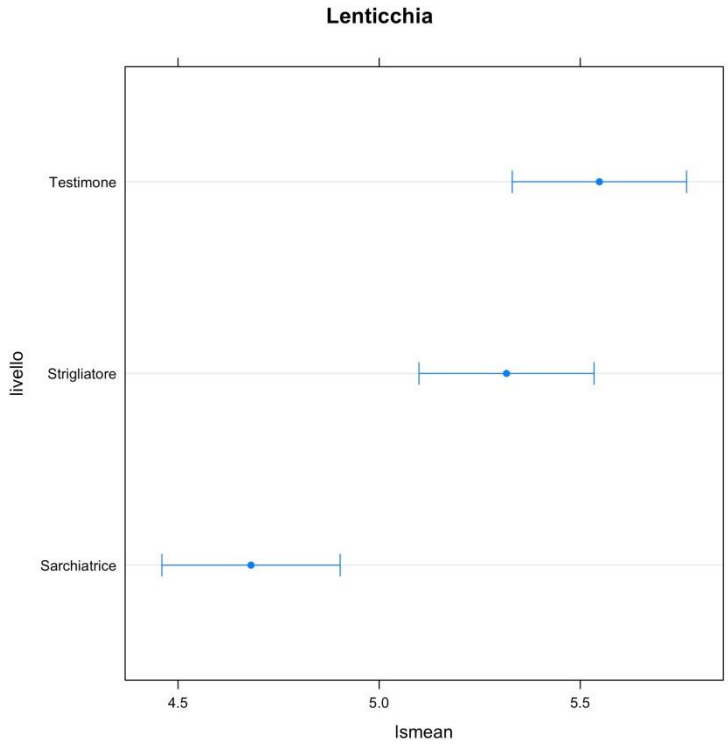


Fig. 16. Schema che illustra la densità delle infestanti (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservata 8 giorni dopo l'ultimo intervento di controllo delle infestanti con le diverse macchine operatrici nella lenticchia. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

La biomassa secca delle infestanti a raccolta, che tiene in considerazione tutto il flusso delle infestanti emerse durante il ciclo colturale, è riportata in tabella 7. In tutte le colture è stato osservato che nelle parcelle in cui il controllo delle infestanti è stato effettuato con sarchiatrice di precisione la biomassa secca delle erbe spontanee a raccolta è stata più bassa rispetto a quella osservata nelle parcelle in cui il controllo è stato effettuato con erpice strigliatore (27%, 44% e 23% in meno, rispettivamente per fagiolo, cece e lenticchia) (Figure 17, 18 e 19). Il controllo con sarchiatrice ha permesso di ottenere una biomassa a raccolta delle infestanti del 37%, 56% e 25% inferiore rispetto al testimone non trattato. L'erpice strigliatore non ha permesso di ottenere una biomassa delle infestanti a raccolta statisticamente diversa rispetto a quella del testimone non trattato nella lenticchia, mentre nel fagiolo e nel cece la biomassa è stata rispettivamente del 13% e del 22% inferiore.

Tabella 7. Biomassa secca delle infestanti (g m-2) media e limiti inferiori e superiori (intervallo di confidenza del 95%) osservata a raccolta in seguito ai diversi trattamenti di controllo delle infestanti nelle varie colture.

	MACCHINA	**BIOMASSA MEDIA** (g m^{-2})	**INFERIORE** (g m^{-2})	**SUPERIORE** (g m^{-2})
FAGIOLO	Sarchiatrice	183	166	200
	Strigliatore	250	233	267
	Testimone	289	272	306
CECE	Sarchiatrice	109	103	115
	Strigliatore	194	188	201
	Testimone	250	244	257
LENTICCHIA	Sarchiatrice	146	129	163
	Strigliatore	190	174	207
	Testimone	195	178	212

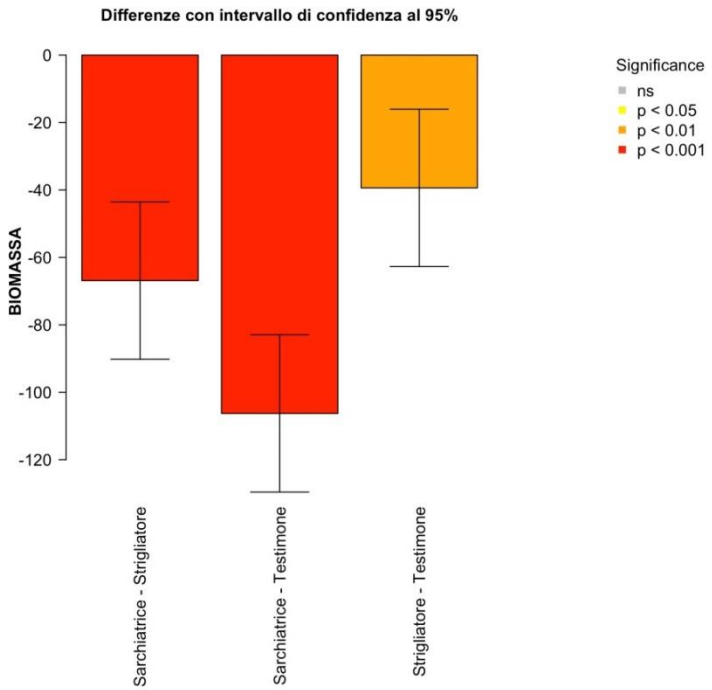


Fig. 17. Schema che illustra le differenze tra la biomassa secca delle infestanti osservata a raccolta nel fagiolo in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le biomasse sono diverse tra loro.

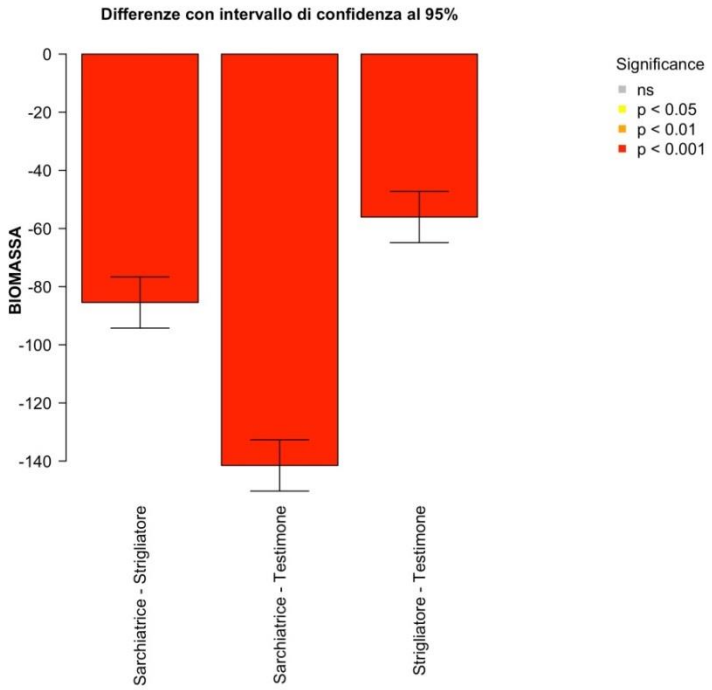


Fig. 18. Schema che illustra le differenze tra la biomassa secca delle infestanti osservata a raccolta nel cece in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le biomasse sono diverse tra loro.

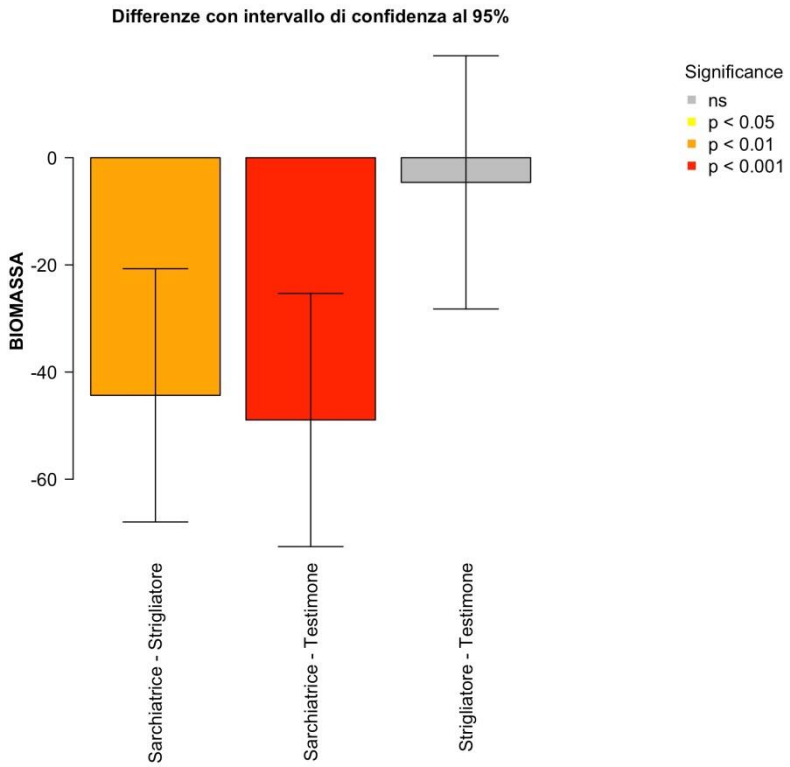


Fig. 19. Schema che illustra le differenze tra la biomassa secca delle infestanti osservata a raccolta nella lenticchia in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le biomasse sono diverse tra loro.

Densità di investimento a raccolta e rese

Nel cece e nella lenticchia gli interventi meccanici di controllo delle infestanti con sarchiatrice di precisione ed erpice strigliatore non hanno determinato perdite di piante in seguito ai trattamenti di controllo, né conseguenti a un'eccessiva competizione da parte delle infestanti, infatti non sono state osservate differenze statisticamente significative tra i due interventi di controllo e nemmeno tra queste e i due testimoni (Tabella 8, Figure 20 e 21). Nella lenticchia è stata osservata una riduzione dell'investimento a raccolta del 52% nel testimone non scerbato rispetto a quello iniziale (testimone scerbato). Tutto ciò conferma come la lenticchia sia una coltura molto sensibile alla competizione con le infestanti. L'utilizzo di sarchiatrice ed erpice strigliatore ha permesso la sopravvivenza del 30% di piante in più rispetto a quanto osservato nel testimone non scerbato (Tabella 8, Figure 4.11).

Tabella 8. Densità di investimento alla raccolta (piante m-2) medio e limiti inferiori e superiori (intervallo di confidenza del 95%) delle varie colture osservate nelle parcelle il cui controllo fisico è stato effettuato con le diverse macchine operatrici. T=testimone. Dati retro trasformati.

	MACCHINA	**INVESTIMENTO MEDIO** (piante m^{-2})	**INFERIORE** (piante m^{-2})	**SUPERIORE** (piante m^{-2})
FAGIOLO	Sarchiatrice	19	16	23
	Strigliatore	17	14	20
	T non scerbato	21	17	25
	T scerbato	21	17	24
CECE	Sarchiatrice	17	14	20
	Strigliatore	14	12	18
	T non scerbato	16	13	19
	T scerbato	17	14	20
LENTICCHIA	Sarchiatrice	73	66	80
	Strigliatore	77	70	84
	T non scerbato	56	50	63
	T scerbato	116	108	126

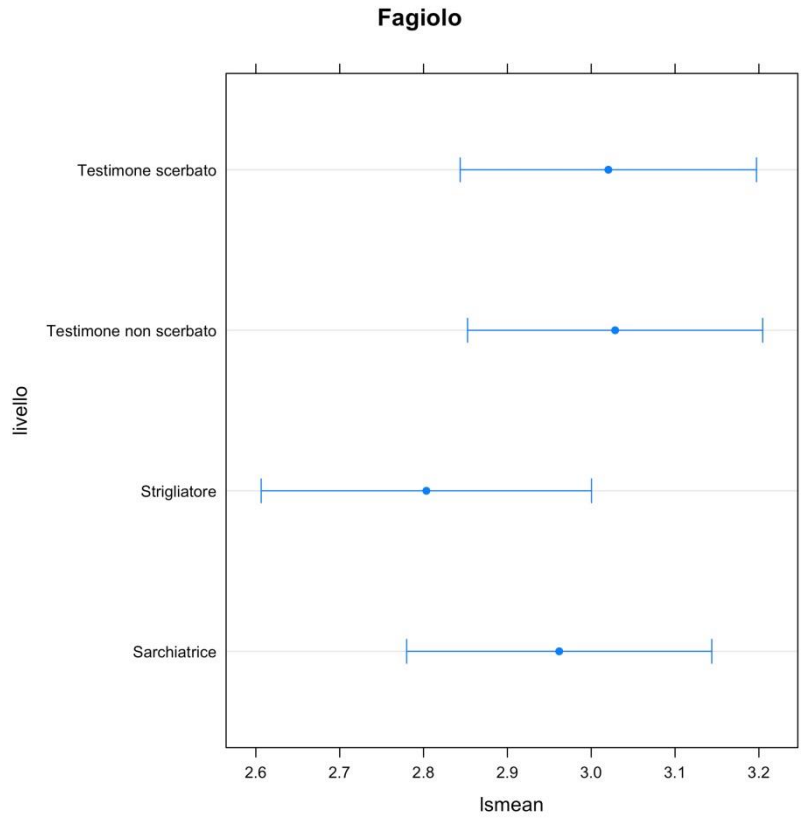


Fig. 20. Schema che illustra la densità di investimento delle piante del fagiolo (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

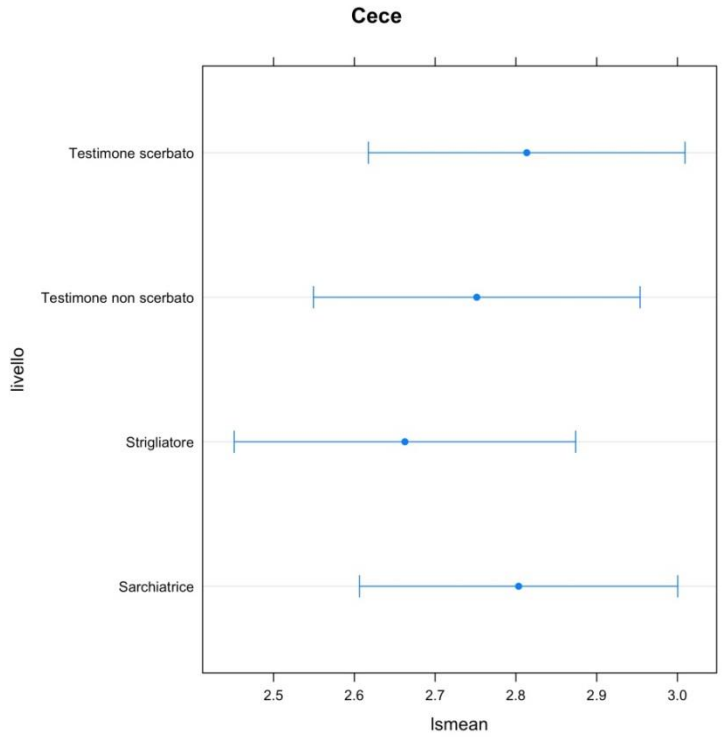


Fig. 21. Schema che illustra la densità di investimento delle piante del cece (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

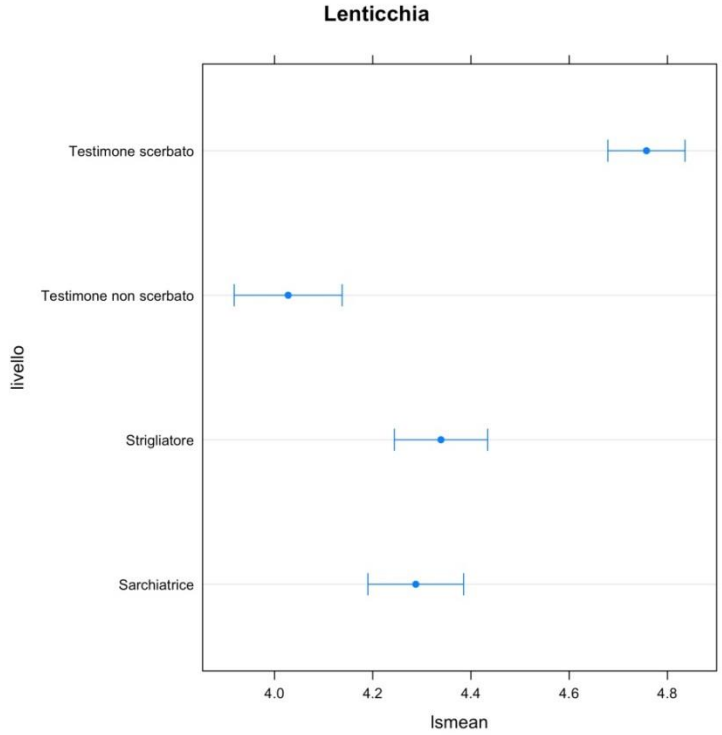


Fig. 22. Schema che illustra la densità di investimento delle piante del fagiolo (medie ed intervallo di confidenza al 95%) osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. I dati sono espressi come logaritmi naturali.

Nelle parcelle sarchiate, la resa del fagiolo è stata mediamente pari a 1,5 Mg ha^{-1}, quella del cece a 0,9 Mg ha^{-1} e quella della lenticchia di 0,7 Mg ha^{-1}. Nelle parcelle strigliate, la resa del fagiolo è stata mediamente pari a 1 Mg ha^{-1}, quella del cece a 0,7 Mg ha^{-1} e quella della lenticchia di 0,5 Mg ha^{-1} (Tabella 6). Le rese del fagiolo e del cece sarchiato non sono state statisticamente differenti dal testimone scerbato a mano (Fig. 23), evidenziando come l'impiego di questa macchina operatrice garantisca un livello di controllo delle infestanti tale da permettere che non vi siano perdite di resa rispetto al controllo manuale (Figure 23 e 24). Nel fagiolo e nel cece è stato osservato un incremento della resa medio rispettivamente del 31% e del 22% nelle parcelle sarchiate rispetto a quelle in cui il controllo delle infestanti è stato effettuato con erpice strigliatore (Figure 23 e 24). Nella lenticchia, il ridotto numero di piante della coltura osservato a raccolta nelle parcelle sarchiate e strigliate rispetto al testimone scerbato a mano ha determinato una perdita di resa rispettivamente del 22% e del 43% (Fig. 25). La maggiore efficienza della sarchiatrice di precisione rispetto all'erpice strigliatore nel controllo delle infestanti ha comunque permesso di osservare una resa del 27% maggiore nelle parcelle sarchiate rispetto a quelle strigliate (Fig. 25).

Tabella 6. Rese medie e limiti inferiori e superiori (intervallo di confidenza del 95%) osservate nelle parcelle il cui controllo fisico è stato effettuato con le diverse macchine operatrici per le varie colture. T=testimone.

	MACCHINA	**RESA MEDIA** (Mg ha^{-1})	**INFERIORE** (Mg ha^{-1})	**SUPERIORE** (Mg ha^{-1})
FAGIOLO	Sarchiatrice	1,52	1,36	1,67
	Strigliatore	1,05	0,89	1,21
	T non scerbato	1,03	0,88	1,19
	T scerbato	1,7	1,54	1,86
CECE	Sarchiatrice	1,07	0,98	1,15
	Strigliatore	0,83	0,75	0,92
	T non scerbato	0,68	0,60	0,77
	T scerbato	1,17	1,08	1,25
LENTICCHIA	Sarchiatrice	0,73	0,62	0,85
	Strigliatore	0,53	0,42	0,67
	T non scerbato	0,53	0,42	0,65
	T scerbato	0,93	0,82	1,05

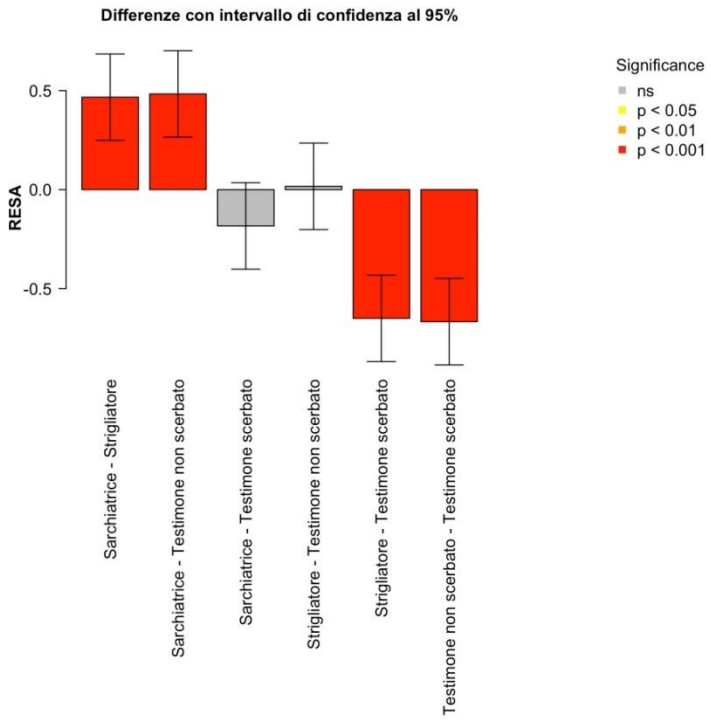


Fig. 23. Schema che illustra le differenze di resa del fagiolo osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le rese sono diverse tra loro.

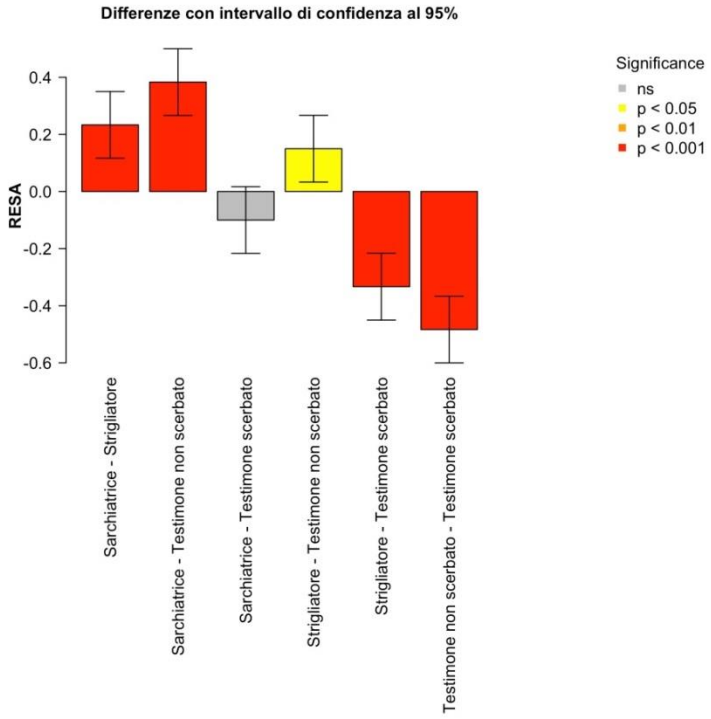


Fig. 24. Schema che illustra le differenze di resa del cece osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le rese sono diverse tra loro.

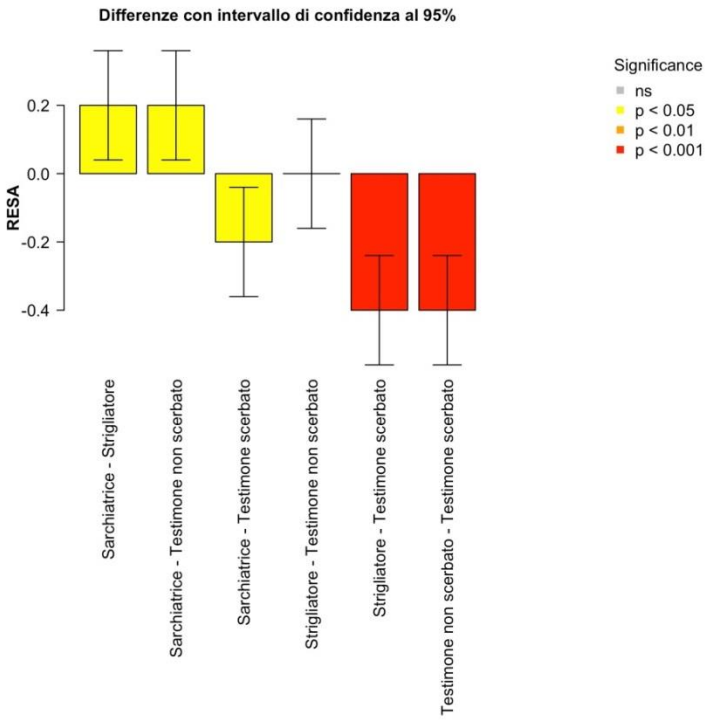


Fig. 25. Schema che illustra le differenze di resa della lenticchia osservate in seguito ai differenti trattamenti di controllo delle infestanti. Per p<0.05, p<0.01, e p<0.001 le differenze sono diverse da 0, il che significa che le rese sono diverse tra loro.

Per testare la tolleranza del fagiolo ai trattamenti di pirodiserbo è stata condotta presso il CiRAA "una prova aggiuntiva.
La macchina operatrice utilizzata è stata regolata in modo da eseguire un trattamento con fiamma incrociata sulla fila della coltura (Fig. 26). Il disegno sperimentale utilizzato è stato a blocchi completamente randomizzati con tre repliche. I fattori sono stati le dosi di GPL e lo stadio di sviluppo del fagiolo. Tutte le parcelle sono state regolarmente scerbate al momento dell'emergenza di nuove infestanti, in modo da annullare l'eventuale competizione tra infestanti e coltura. Le dosi di GPL sono state regolate mantenendo una pressione costante e variando la velocità di lavoro. Il trattamento termico allo stadio V1 (completo sviluppo della prima foglia trifogliata al terzo nodo) ha previsto l'applicazione di 4 dosi biologiche di GPL ottenute combinando le velocità di lavoro 6, 7, 8 e 9 km h^{-1} con la pressione di esercizio di 0,2 MPa (dosi pari a 26, 29, 33 e 39 kg ha^{-1}) (Tabella 9). Il trattamento termico allo stadio V2 (completo sviluppo completo sviluppo della seconda foglia trifogliata) ha previsto l'applicazione di 4 dosi biologiche di GPL ottenute combinando le velocità di lavoro 3, 5, 6 e 8 km h^{-1} con la pressione di esercizio di 0,3 MPa (dosi pari a 39, 52, 63 e 104 kg ha^{-1}) (Tabella 9). Le applicazioni sono state effettuate rispettivamente in data 03/06/2014 (stadio V1) e 12/06/2014 (stadio V2). E' inoltre stato previsto un trattamento alla dose di 0 kg ha^{-1} di GPL (testimone scerbato). Un rilievo distruttivo sulla biomassa del fagiolo è stato effettuato 14 giorni dopo il trattamento a entrambi gli stadi (V1 e V2), in modo da valutare la riduzione di biomassa in termini di sostanza secca verificatesi in seguito all'applicazione delle diverse dosi di GPL. Sono inoltre stati effettuati campionamenti per valutare le rese della coltura, il numero e la biomassa delle piante alla raccolta. I dati sono stati analizzati con regressione non lineare (curve dose-risposta) utilizzando il pacchetto aggiuntivo *drc* del software R.

Figura 26- Macchina operatrice per il pirodiserbo regolata in modo da effettuare un trattamento con fiamme incrociate sulla fila della coltura.

Tabella 7 Velocità, pressione di esercizio e dosi biologiche ed operative di GPL impiegate per il trattamento di pirodiserbo ai diversi stadi di sviluppo del fagiolo per valutarne la tolleranza.

Velocità (km h^{-1})	Pressione di esercizio (MPa)	Dose biologica di GPL (kg ha^{-1})	Dose operativa di GPL (kg ha^{-1})	Stadio di sviluppo del fagiolo
6	0.2	39	13	V1
7	0.2	33	11	V1
8	0.2	29	10	V1
9	0.2	26	9	V1
3	0.3	104	35	V2
5	0.3	63	21	V2
6	0.3	52	17	V2
8	0.3	39	13	V2

Tutte le risposte al trattamento con pirodiserbo sono state influenzate dallo stadio di crescita del fagiolo e dalla dose di GPL utilizzata (Tabella 10). La biomassa secca delle piante di fagiolo trattate allo stadio V1 alla dose più alta (39 kg ha^{-1}) e osservata 14 giorni dopo il trattamento è risultata più bassa del 62% rispetto al controllo non trattato, mentre quella del fagiolo trattato allo stadio V2 alla dose più alta (104 kg ha^{-1}) è risultata più bassa del 75% rispetto al controllo non trattato (Fig. 27). Alla raccolta tali differenze sono state del 36% (fagiolo trattato a V1) e del 59% (fagiolo trattato a V2), indicando che con il passare del tempo le piante sopravvissute al trattamento tendono a recuperare biomassa (Fig. 28). Nessuna pianta trattata allo stadio V1 è morta, mentre quando il fagiolo è stato trattato allo stadio V2 alla dose più alta (104 kg ha^{-1}) è stata osservata una diminuzione del numero di piante del 37% (Fig. 29). Le rese sono risultate più basse del 29% e del 53% (rispettivamente per il fagiolo trattato allo stadio V1 e V2) rispetto al testimone non trattato quando è stata applicata la dose più alta di GPL (Fig. 30).

Tabella 10. Parametri di regressione per la biomassa del fagiolo 14 dopo il trattamento (DAT) ed alla raccolta, il numero di piante di fagiolo alla raccolta e la resa così come sono state influenzate dalla dose di GPL e dallo stadio di crescita delle piante al momento del trattamento.

VARIABILE	STADIO	PARAMETRI DELLA REGRESSIONE (±SE)			
		B	C	D	E
Biomassa 14 DAT (g m^{-2})	V1	10,8 (3,76)	3,3 (0,73)	8,7 (0,37)	30,6 (1,28)
	V2	14,6 (1,70)	5,3 (0,40)	21,0 (0,29)	55,4 (0,53)
Biomassa alla raccolta (g m^{-2})	V1	12,7 (0,40)	92,5 (0,56)	144,9 (0,36)	30,4 (0,10)
	V2	7,64 (0,14)	59,6 (0,39)	144,8 (0,36)	51, 2 (0,15)
N. piante alla raccolta (piante m^{-2})	V1	12,1 (26,10)	27,0 (3,06)	32,1 (2,23)	28,5 (5,55)
	V2	4,4 (5,06)	20,0 (2,4)	31,9 (2,35)	59,5 (14,63)
Resa (kg ha^{-1})	V1	8,9 (1,06)	1,2 (0,03)	1,7 (0,01)	30,0 (0,48)
	V2	11,1 (0,58)	0,8 (0,01)	1,7 (0,01)	58,0 (0,33)

B: pendenza della curva nel punto di inflessione; C: limite inferiore della curva; D: limite superiore della curva; E: dose di GPL che dà il 50% di risposta tra il limite superiore e quello inferiore; V1: completo sviluppo della prima foglia trifogliata al terzo nodo; V2: completo sviluppo completo sviluppo della seconda foglia trifogliata.

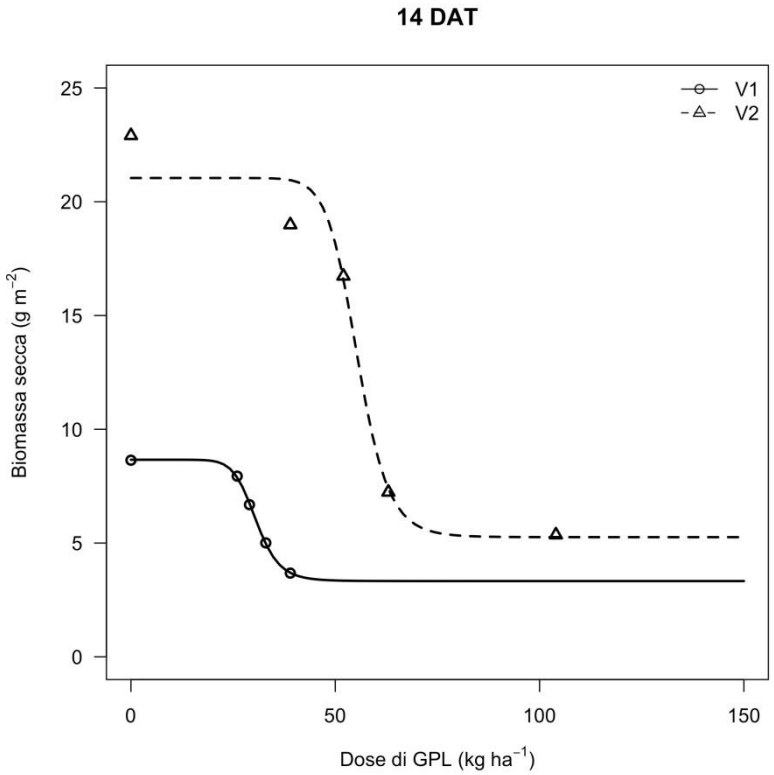


Fig. 27. Influenza della dose di GPL e dello stadio di crescita del fagiolo sulla biomassa secca (g m-2) del fagiolo osservata 14 giorni dopo il trattamento.

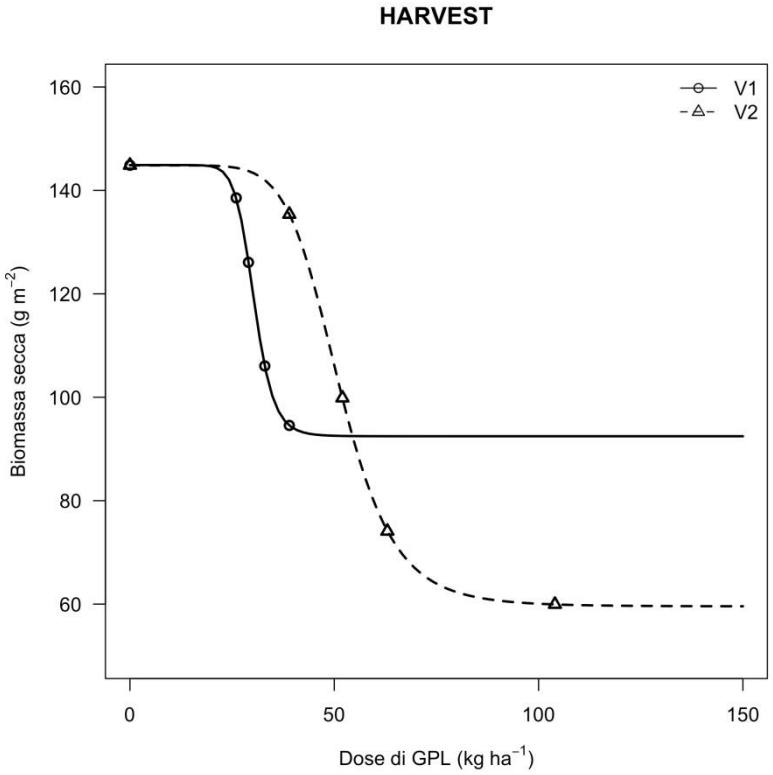


Fig. 28. Influenza della dose di GPL e dello stadio di crescita del fagiolo sulla biomassa secca (g m-2) del fagiolo osservata a raccolta.

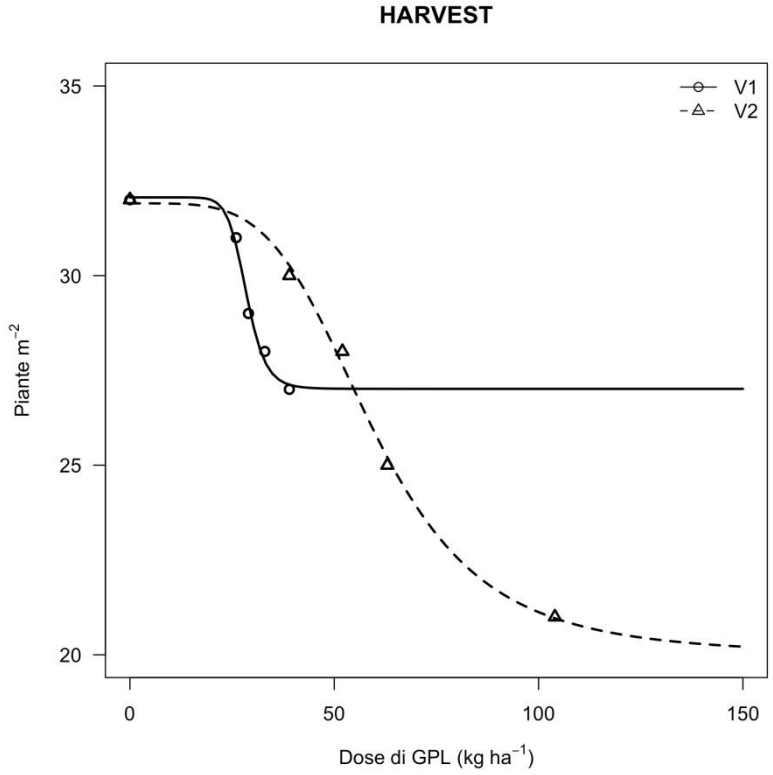


Fig. 29. Influenza della dose di GPL e dello stadio di crescita del fagiolo sul numero di piante (piante m-2) del fagiolo osservate a raccolta.

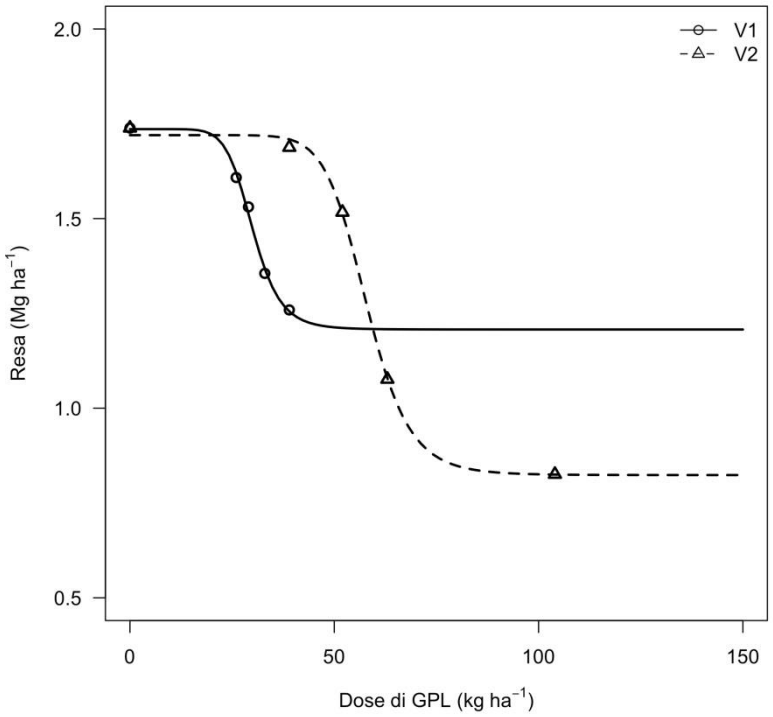


Fig. 30. Influenza della dose di GPL e dello stadio di crescita del fagiolo sulla resa (Mg ha^{-1}).

In conclusione le prove sull'utilizzo della sarchiatrice di precisione per il controllo delle infestanti nel fagiolo e nel cece hanno permesso di ottenere rese simili a quelle del testimone scerbato a mano. Questo è stato probabilmente determinato dall'appropriatezza dell'operatrice a controllare efficacemente le infestanti nel periodo in cui una mancanza di controllo avrebbe determinato una competizione tra coltura e infestanti tale da determinare perdite di resa. Nella lenticchia la perdita di resa del 22% rispetto al testimone scerbato osservata nelle parcelle sarchiate è stata probabilmente determinata dalla scarsa capacità competitiva della coltura che non è stato possibile aumentare con il controllo meccanico.
Un'alternativa al controllo meccanico delle infestanti in post-emergenza è l'utilizzo del pirodiserbo nelle colture tolleranti. Dallo studio preliminare effettuato durante le prove su fagiolo al CiRAA è risultato che le rese del fagiolo diminuiscono all'aumentare della dose di GPL impiegata. Futuri studi sono necessari per determinare le dosi ottimali di GPL in grado di non danneggiare la coltura e al tempo stesso controllare le infestanti riducendo drasticamente la loro competizione con la coltura.

Azione 3.3: test di collaudo per la definizione delle consociazioni tra leguminose e cereali

Come previsto dal programma delle attività, l'azione 3.3 ha avuto come obiettivo principale l'analisi delle problematiche tecniche e agronomiche connesse alla tecnica di consociazione tra leguminose e graminacee attraverso prove di collaudo di questa tecnologia presso l'azienda Podere Pereto. Nel 2013, per le già citate difficoltà tecniche connesse alle prolungate piogge primaverili, il collaudo previsto presso l'azienda Podere Pereto non ha prodotto risultati significativi e quindi nel 2014, al fine di disporre di un set di risultati attendibili, si è provveduto a realizzare le prove di collaudo della consociazione graminacee-leguminose, sia presso il Podere Pereto sia presso il CiRAA applicando in entrambi i casi gli stessi protocolli.

CiRAA - San Piero a Grado

La prova di collaudo presso il CiRAA è consistita in una consociazione tra *Triticum turanicum* e trifoglio alessandrino. Il primo anno la prova seminata in epoca tardiva (febbraio 2013), ha risentito delle avverse condizioni meteoriche. I rilevi condotti durante lo sviluppo della coltura e in fase di raccolta non hanno consentito, per la scarso investimento sia del cereale sia della leguminosa, di ottenere dati significativi.
L'annata seguente (2013/2014) la semina è stata effettuata nell'ottobre 2013. La prova di collaudo consisteva nella consociazione tra *T. turanicum* e due leguminose: il trifoglio alessandrino e la veccia pannonica. Le dosi di seme sono state di 120 kg/ha per il cereale, di 75 kg/ha per la veccia e di 30 kg/ha per il trifoglio. Prima della semina si è provveduto a prelevare campioni di terreno per la caratterizzazione chimico- fisica degli appezzamenti. Le caratteristiche del terreno sono riportate nella seguente tabella:

Tessitura		
Argilla %	Limo %	Sabbia%
25	40	35

Tabella 11. -Caratteristiche chimiche

pH	Conducibilità µ S	N ‰	Sost.Organica %	P_{Olsen} ppm
8	72.5	1.9	2.8	3.4

Per meglio studiare l'effetto di sostituzione delle leguminose si è previsto anche di lasciare una parte dell'appezzamento con *T. turanicum* in coltura pura e una parte, sempre con il cereale puro, ma concimato. Lo schema è stato sviluppato in due appezzamenti di cui uno aveva come precedente una leguminosa (erba medica) e l'altro una coltura non leguminosa (colza). Ai campi dove era prevista la concimazione, sono state apportate 60 unità di azoto per ettaro al momento della semina.

Precedente erba medica/colza						
Turanicum concimato (KC)	PASSETTO	Turanicum non concimato (KNC)	PASSETTO	Turanicum +Trifoglio (K+T)	PASSETTO	Turanicum +Veccia (K+V)

Fig.31 - Foto di insieme della prova del 2013-2014

Dopo l'emergenza della coltura e delle specie consociate (11 ottobre), è stato effettuato il monitoraggio dell'investimento. Il campionamento è stato realizzato tramite il lancio di un rettangolo di 25x30 cm, per un totale di 15 lanci per ogni striscia e ha riguardato sia la coltura, sia le leguminose e le specie infestanti presenti. Di queste ultime è stato fatto anche il riconoscimento floristico. I valori dell'investimento, rilevati nelle diverse tesi, sono risultati compresi tra le 124 e le 118 piante per metro m^2. Il trifoglio e la veccia hanno riportato una densità pari, rispettivamente, a circa 296 e 100 piante/m^2 (tabella 12).

Tabella 12	N° piante/ m^2
KC	117.8
KNC	118.2
K+T	124.0
K+V	123.6

Tra le malerbe presenti, quelle maggiormente rappresentate sono state il *Lolium* spp., la *Veronica persica* e la *Picris echioides*.
A fine ottobre è stata effettuata, sulle strisce con il cereale puro concimato e non, la strigliatura.

Fig.32 - Esecuzione della strigliatura

Per meglio interpretare i risultati relativi all'effettivo apporto di nutrienti determinato dalle colture leguminose consociate, sono state identificate alcune aree per ogni appezzamento all'interno delle quali sono state effettuate scerbature manuali periodiche.
I primi di dicembre è stata campionata la biomassa sia del cereale, sia delle leguminose e delle infestanti prelevando sei aree (di un metro quadro ciascuna) per ogni "strip". Dai campioni sono stati separati gli individui appartenenti alle diverse specie (cereale, leguminosa consociata e infestanti) e ne è stata determinata la relativa biomassa. In febbraio, in fase di levata, il campionamento è stato ripetuto con le stesse modalità.

Fig. 33 - Piante di T. turanicum a fine accestimento- inizio levata

Fig.34- Consociazione turanicum – t. alessandrino

Fig.35 - Consociazione turanicum – veccia

A seguito del monitoraggio sui patogeni fungini, effettuato a seguito della conclamata presenza di un'alta percentuale di attacco di ruggine bruna, si è provveduto, a marzo, a eseguire un trattamento fungicida. A maggio il rilievo sui patogeni fungini è stato ripetuto dando esito negativo. In entrambi i casi, per la valutazione, si è usata una metodologia che, tramite un doppio indice, valuta sia l'altezza cui l'infezione è presente sulla pianta sia l'intensità dell'attacco sulle foglie (scala di Cobbs modificata). In corrispondenza della fase di spigatura con modalità analoghe a quanto effettuato nelle altre fasi è stata campionata la biomassa di tutti i componenti della consociazione. La data media di spigatura del cereale è stata il 2 maggio.
A metà giugno è stato effettuato un rilievo per la stima della copertura (%) dei diverse componenti della consociazione e ne è stata misurata la relativa altezza. La raccolta è avvenuta nella prima metà di luglio.

Di seguito si riportano i dati produttivi relativi alla coltura di *T. turanicum* nelle differenti tesi (tabella 13).

Tabella 13

Trattamento	N. spighe (n./m2)	PS Granella (t/ha)	PS Pula (t/ha)	PS Paglia (t/ha)	PS Totale (t/ha)	Harvest Index (%)	Peso 1000 semi (g)
K+T	81	0,87	0,57	5,74	7,18	12,13	51,30
K+V	69	0,73	0,48	4,29	5,50	13,27	55,04
KNC	74	0,70	0,46	5,18	6,34	11,04	50,35
KC	81	0,78	0,51	5,56	6,85	11,39	51,48
Significatività[1]	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)
LSD	17.62	0.26	0.17	1.58	1.91	2.51	4.71
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)							
Scerbato	79.5	0.84	0.55	5.63	7.02 a	12.12	52.87
Non scerbato	72.3	0.70	0.44	4.76	5.92 b	11.92	51.22
Significatività[1]	(ns)	(0.06)	(0.06)	(0.06)	(*)	(ns)	(ns)
LSD	12.43	0.15	0.10	0.89	1.09	1.33	1.93
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

[1]Significatività: (ns)=non significativo, (*)=significativo per p*≤0.05, (**)=significativo per p≤0.01, (***)=significativo per p ≤0,00.* Le medie seguite da lettere diverse sono statisticamente differenti in seguito ad ANOVA LSD test (*p≤0.05).*

Il numero di spighe per metro quadro è risultato in media di 76, con variazioni tra 81 e 69. I valori più alti sono stati osservati nelle tesi con trifoglio consociato e in quelle concimate. Relativamente alla produzione di granella, è da notare che i valori produttivi sono stati abbastanza contenuti. Pur senza evidenziare differenze significative, tutte le tesi dove il cereale era consociato e dove era coltivato in purezza, ma con l'apporto della concimazione, hanno evidenziato un leggero incremento produttivo rispetto alla coltura pura non concimata. In particolare gli incrementi produttivi sono stati di circa il 24% per la consociazione con trifoglio, del 4% per quella con veccia e dell'11% per la tesi concimata. Il peso dei mille semi è risultato in media di 52 grammi, con il valore più elevato di 55 grammi per la consociazione con veccia.
La consociazione con il trifoglio ha determinato anche valori maggiori di peso secco della paglia e della pula ciò, associato a una produzione modesta, ha determinato un basso valore di harvest index.
Nella tabella 14 si riportano i risultati in termini di peso secco delle piante del cereale, delle leguminose consociate e delle infestanti prima della raccolta.
Pur in assenza di effetti significativi la presenza di trifoglio sembra aver determinato un maggiore sviluppo del cereale rispetto a quanto determinato dalla veccia e dalla concimazione.
L'incremento produttivo è risultato infatti pari al 30% rispetto al primo caso e al 4% rispetto al secondo. Questo effetto sembra essere stato legato sia alla maggiore capacità del trifoglio di sviluppare biomassa rispetto alla veccia (+33%) sia alla migliore azione esercitata sul contenimento delle infestanti (-33% in media).

Tabella 14

Trattamento	PS Totale Frumento (t/ha)	PS Totale Leguminose (t/ha)	PS Totale Infestanti (t/ha)	PS Totale Frum.+Legum. (t/ha)	PS Totale (Frum.+Legum.+Inf.) (t/ha)	Rapporto PS Totale Inf./PS Totale (%)
K+T	7,18	1,64 a	1,88	8,82	10,70	17,57
K+V	5,50	0,54 b	2,87	6.04	8,91	32,21
KNC	6,34	-	2,80	6,34	9,14	30,63
KC	6,85	-	2,77	6,85	9,62	28,79
Significatività	(ns)	(***)	(0.05)	(ns)	(ns)	(0.08)
LSD	1.91	0.62	0.79	2.28	2.09	10.91
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)						
Scerbato	7.02 a	0.53	1.93 b	7.56 a	9.48	22.25 b
Non Scerbato	5.92 b	0.50	3.24 a	6.38 b	9.62	35,36 a
Significatività	(*)	(ns)	(***)	(*)	(ns)	(***)
LSD	1.09	0.21	0.42	1.18	1.12	5.43
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

Sulle diverse componenti della produzione è stato determinato il contenuto in azoto e sono state calcolate le relative asportazioni (tabella 15).
Il trifoglio sembra aver determinato un buon accumulo di azoto nella granella, del tutto simile a quello del testimone concimato. Meno significativa è apparsa l'influenza della veccia su tale parametro, il contenuto di azoto della granella non ha evidenziato infatti grandi differenze rispetto al testimone non concimato. Questo effetto è senza dubbio legato allo scarso insediamento della leguminosa, che non ha raggiunto una densità tale da poter consentire un adeguato apporto di questo elemento alla coltura principale. La presenza di trifoglio sembrerebbe influenzare l'accumulo dell'azoto maggiormente nella spiga piuttosto che nella paglia. La concimazione sembra, invece, favorire l'accumulo di questo elemento anche nella porzione non produttiva della pianta.
In termini di asportazioni della granella i valori più alti sono stati osservati nella tesi dove era presente il trifoglio e in quella concimata. Le quantità asportate dalla paglia sono state maggiori nella tesi concimata e leggermente inferiori in quella con trifoglio (tabella 15).

Tabella 15

Trattamento	Azoto Paglia (%)	Azoto Pula (%)	Azoto Granella (%)	Asportazioni Azoto Paglia (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Pula (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Granella (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Totale (Kg N/ha)
K+T	0,55 ab	1,01	2,17 a	31,37 a	5,68	18,89	55,94 a
K+V	0,44 b	0,90	1,92 c	17,87 b	4,20	13,40	35,47 b
KNC	0,54 ab	0,94	1,98 bc	28,16 a	4,38	13,98	46,52 ab
KC	0,64 a	0,97	2,10 ab	34,95 a	5,10	16,56	56,61 a
Significatività	(*)	(ns)	(*)	(*)	(ns)	(ns)	(*)
LSD	0.13	0.22	0.18	9.96	1.58	5.65	8.76
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)							
Scerbato	0.58 a	0.93	2.01	32.00 a	5.28	17.39 a	53.35 a
Non scerbato	0.51 b	0.97	2.03	24.17 b	4.41	14.03 b	42.62 b
Significatività	(*)	(ns)	(ns)	(**)	(ns)	(*)	(*)
LSD	0.07	0.13	0.05	5.72	1.16	3.15	14.69
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

Relativamente alla biomassa totale del cereale, monitorata in quattro fasi di sviluppo della coltura (tabella 16), si osserva che nella fase iniziale le differenze sono essenzialmente riscontrabili tra la consociazione con la veccia e gli altri trattamenti. Questi ultimi, rispetto al primo, determinano uno sviluppo superiore in biomassa in media del 58%. Nella fase successive le differenze tendono ad attenuarsi per diventare evidenti nelle fasi finali di fioritura e raccolta. In particolare la consociazione con alessandrino e la concimazione sembrano determinare un maggiore sviluppo di biomassa nella coltura.

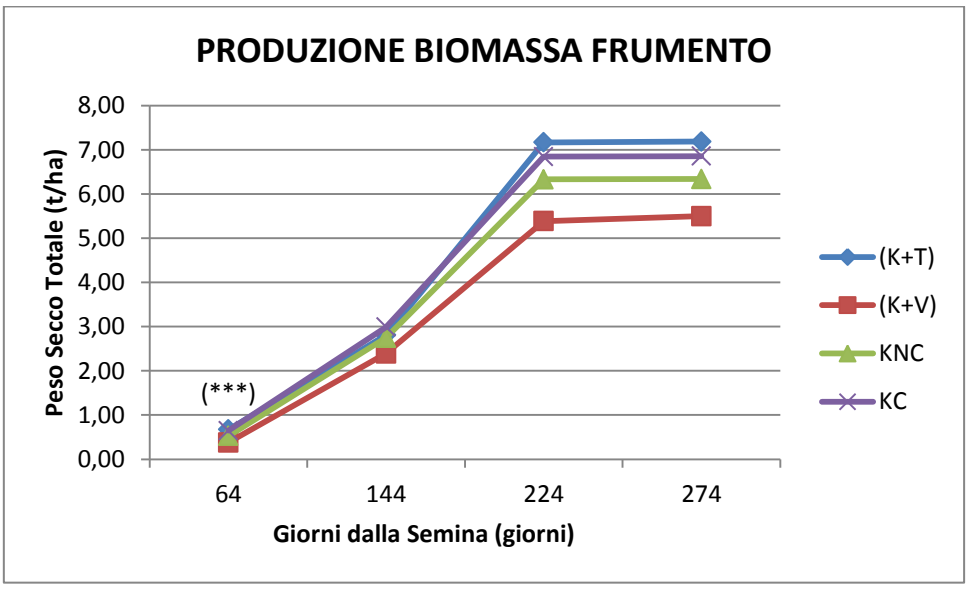
Tabella 16

	Peso Secco Totale (t/ha)			
Trattamento	BBCH 29	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
K+T	0,67 a	2,81	7,17	7,18
K+V	0,38 c	2,39	5,39	5,50
KNC	0,53 b	2,75	6,33	6,34
KC	0,65 ab	2,99	6,85	6,85
Significatività	(***)	0.06	(ns)	(ns)
LSD	0.13	0.44	1.94	1.91
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)				
Scerbato	0.55	2.90 a	6.96	7.02 a
Non scerbato	0.57	2.57 b	5.91	5.92 b
Significatività	(ns)	(*)	0.06	(*)
LSD	0.06	0.24	1.11	1.09
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

SCALA FENOLOGICA BBCH: 29=ACCESTIMENTO (64 giorni dalla semina), 34=LEVATA (144 giorni dalla semina), 69=FIORITURA (224 giorni dalla semina), 99=RACCOLTA (274 giorni dalla semina);

Nella figura 36 è possibile seguire graficamente l'andamento dell'accumulo della biomassa totale del cereale nei quattro momenti del ciclo di sviluppo analizzati.

Fig. 36. Accumulo di biomassa di T. turanicum (Mg ha^{-1}).



La concimazione sembra determinare, almeno nella fase iniziale, un maggiore sviluppo in altezza, mentre nelle fasi successive le differenze appaiono minori. In fase finale si osserva uno sviluppo vegetativo superiore (+ 7%), rispetto agli altri due trattamenti, nella consociazione con la veccia e nella tesi non concimata.

Nel trattamento concimato e con trifoglio l'altezza delle piante ha mostrato, in fase iniziale, uno sviluppo maggiore mentre nelle fasi successive questo carattere appare influenzato positivamente dalla presenza di veccia e dalla assenza di concimazione.

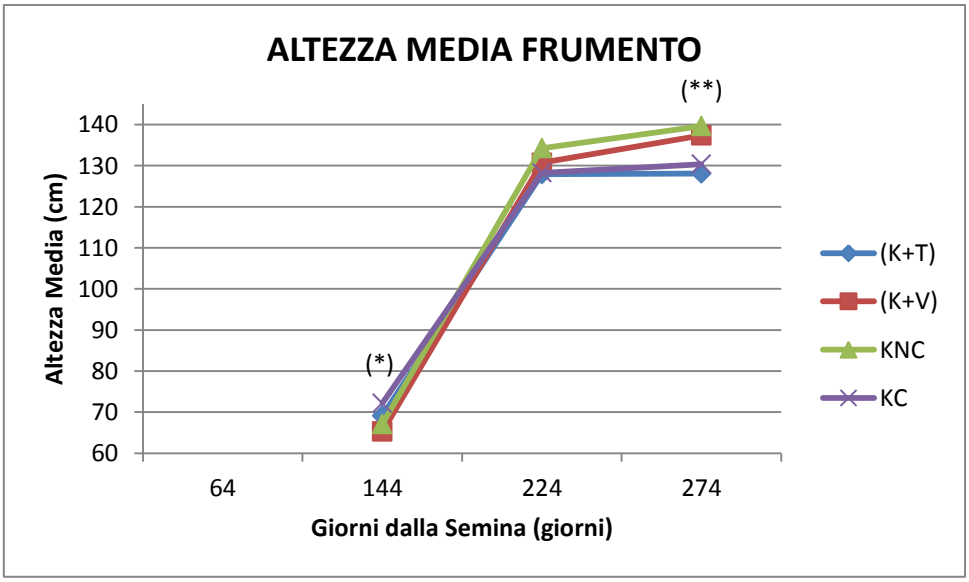
Tabella 17

	Altezza Media (cm)		
Trattamento	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
K+T	69 ab	128	128 b
K+V	65 b	131	137 a
KNC	67 b	134	140 a
KC	72 a	128	130 b
Significatività	(*)	(ns)	(**)
LSD	4.57	10.25	6.47
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)			
Scerbato	69.17	131	132 b
Non scerbato	67.73	130	135 a
Significatività	(ns)	(ns)	(**)
LSD	1.67	3.62	1.76
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)

SCALA FENOLOGICA BBCH: 29=ACCESTIMENTO (64 giorni dalla semina), 34=LEVATA (144 giorni dalla semina), 69=FIORITURA (224 giorni dalla semina), 99=RACCOLTA (274 giorni dalla semina);

Nella figura 37, che riporta l'andamento di questo parametro nei tre momenti del ciclo analizzati.

Fig. 37. Sviluppo in altezza di T. turanicum.



Il peso secco delle due leguminose consociate è riportato nella tabella 18. Come si può osservare lo sviluppo in biomassa del trifoglio alessandrino appare fin dalle prime fasi più consistente rispetto a quello della veccia.

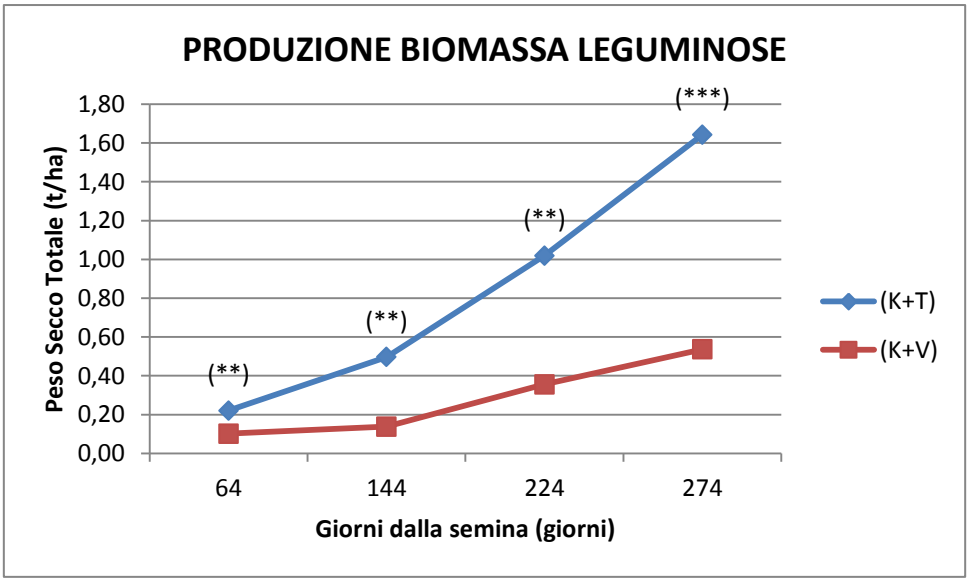
Tabella 18

	Peso Secco Totale (t/ha)			
Trattamento	BBCH 29	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
Trifoglio alessandrino	0,22 a	0,50 a	1,02 a	1,64 a
Vicia villosa	0,10 b	0,14 b	0,36 b	0,54 b
Significatività	(**)	(**)	(**)	(***)
LSD	0.11	0.25	0.52	0.62
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)				
Scerbato	0.07 b	0.15	0.34	0.53
Non scerbato	0.09 a	0.17	0.34	0.51
Significatività	(**)	(ns)	(ns)	(ns)
LSD	0.01	0.04	0.17	0.21
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(*)	0.07	(ns)	(ns)

SCALA FENOLOGICA BBCH: 29=ACCESTIMENTO (64 giorni dalla semina), 34=LEVATA (144 giorni dalla semina), 69=FIORITURA (224 giorni dalla semina), 99=RACCOLTA (274 giorni dalla semina);

Le differenze (figura 38) sono andate ampliandosi mano a mano che lo sviluppo della coltura procede; si passa da valori di biomassa della veccia inferiori a quelli del trifoglio di circa il 50 % nella fase di accestimento del cereale, a valori inferiori di circa il 65-70 % in quelle di fioritura e raccolta.

Fig. 38. Accumulo di biomassa delle leguminose consociate (Mg ha^{-1}).

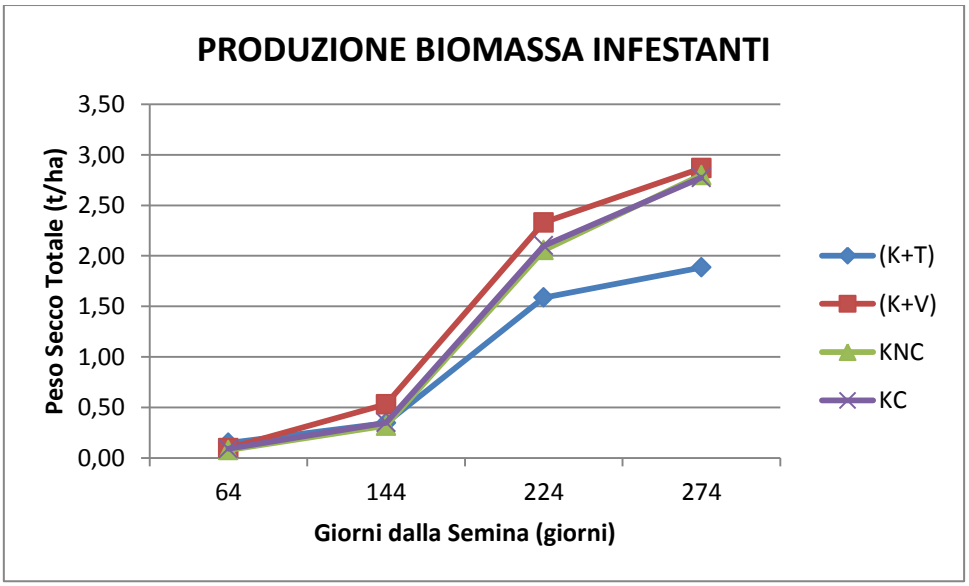


I diversi trattamenti non hanno determinato, nella fase iniziale, differenze sulla biomassa delle malerbe (tabella 19); durante le fasi successive il trifoglio sembra aver avuto un maggior effetto contenitivo riducendo le malerbe rispetto agli altri trattamenti in media del 25 % .

Tabella 19

	Peso Secco Totale (t/ha) Infestanti			
Trattamento	BBCH 29	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
K+T	0,15	0,34	1,59	1,88
K+V	0,10	0,53	2,33	2,87
KNC	0,08	0,32	2,06	2,80
KC	0,09	0,35	2,10	2,77
Significatività	(ns)	(ns)	(ns)	0.053
LSD	0.06	0.20	0.67	0.78
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)				
Scerbato	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.93 b
Non scerbato	0.20 a	0.77 a	4.04 a	3.24 a
Significatività	(***)	(***)	(***)	(***)
LSD	0.06	0.20	0.69	0.42
Interazione	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

Fig. 39. Accumulo della biomassa delle infestanti (Mg ha^{-1}).



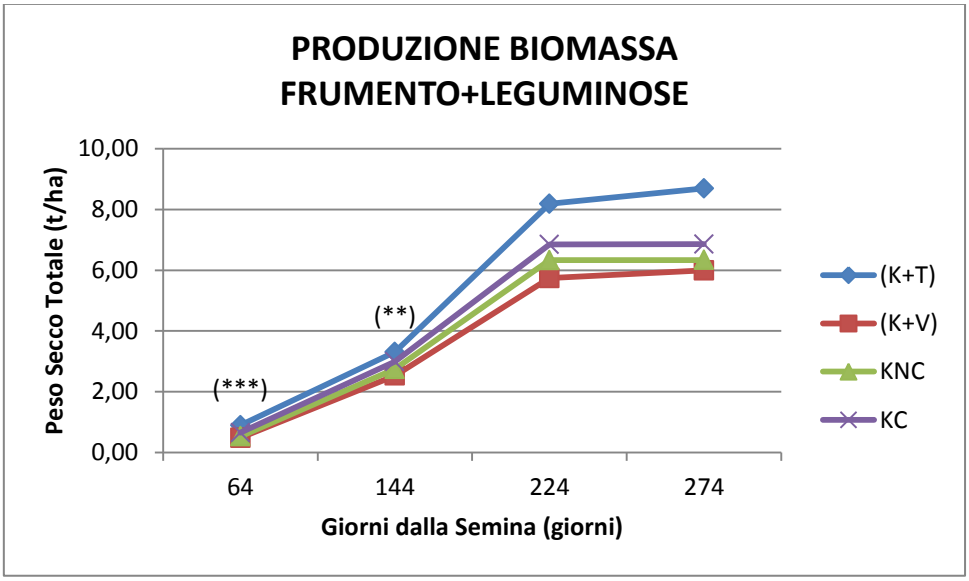
Relativamente alla biomassa totale del cereale e delle leguminose consociate, riportato nella tabella 20, si può osservare che i valori di peso secco più elevati sono sempre stati riscontrati nelle parcelle in cui il *T. turanicum* era consociato con il trifoglio. In media gli incrementi di biomassa totale nelle parcelle dove era presente il trifoglio sono stati variabili dal 20 al 60 % nei differenti momenti di campionamento.

Tabella 20

	Peso Secco Totale (t/ha) frumento+leguminose			
Trattamento	BBCH 29	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
K+T	0,89 a	3,31a	8,19	8,69
K+V	0,48 c	2,53 c	5,74	5,99
KNC	0,53 bc	2,75 bc	6,33	6,34
KC	0,65 b	2,99 ab	6,85	6,86
Significatività	(***)	(**)	(ns)	(ns)
LSD	0.14	0.40	2.25	2.28
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)				
Scerbato	0.62	3.04 a	7.30 a	7.36 a
Non scerbato	0.65	2.74 b	6.25 b	6.38 b
Significatività	(ns)	(*)	(*)	(*)
LSD	0.05	0.24	1.01	1.17
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	0.05	(ns)	(ns)	(ns)

La figura 40 illustra l'andamento nel tempo della biomassa totale del cereale e delle colture consociate.

Fig. 40. Accumulo di biomassa delle colture (pure e consociate) (Mg ha^{-1})

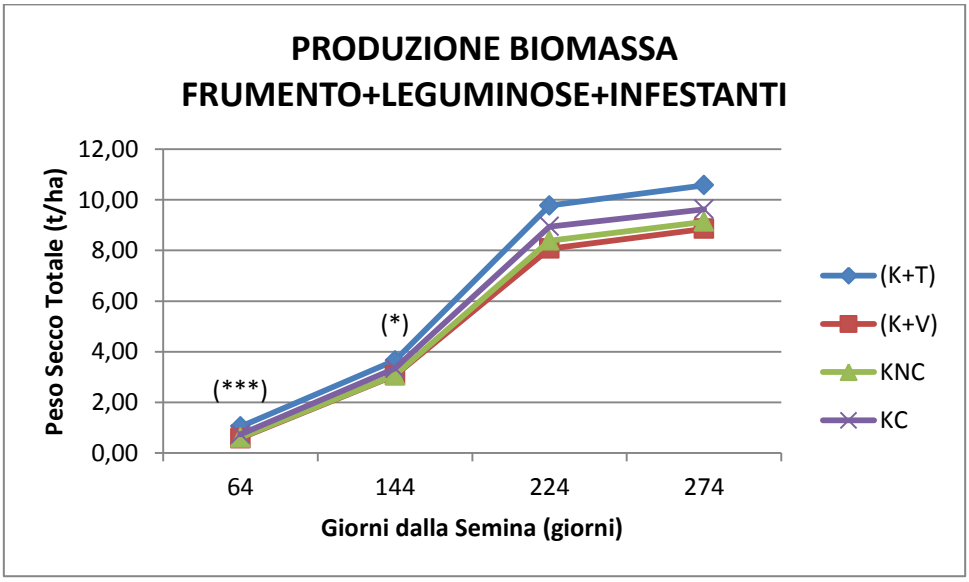


Di seguito (tabella 21) sono riportati i valori della biomassa totale del cereale, delle leguminose consociate e delle infestanti nelle 4 epoche di campionamento. Anche in questo caso le parcelle in cui era presente il trifoglio, sono risultate quelle con biomassa complessiva più elevata. Questo risultato, come mostrato dai dati riportati nelle precedenti tabelle, è essenzialmente legato al maggiore sviluppo sia del cereale sia della leguminosa e meno a quello delle infestanti che il trifoglio è stato in grado di controllare più efficacemente. Nella tesi con veccia, al contrario, le infestanti rappresentavano circa il 30 % in peso della biomassa totale.

Tabella 21

Trattamento	*Peso Secco Totale (t/ha) frumento+leguminose+ infestanti* BBCH 29	BBCH 34	BBCH 69	BBCH 99
K+T	1,04 a	3,65 a	9,77	10,58
K+V	0,57 c	3,06 b	8,07	8,86
KNC	0,60 bc	3,07 b	8,39	9,14
KC	0,74 b	3,34 ab	8,95	9,63
Significatività	(***)	(*)	(ns)	(ns)
LSD	0.14	0.38	2.09	2.09
Sub-Trattamento (presenza di infestanti)				
Scerbato	0.62 b	3.04 b	7.30 b	9.48
Non scerbato	0.86 a	3.51 a	10.26 a	9.62
Significatività	(***)	(**)	(***)	(ns)
LSD	0.09	0.32	0.99	1.12
Interazione Tratt. x Sub-Tratt.	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

Fig. 41. Accumulo di biomassa complessiva delle diverse colture saggiate (Mg ha^{-1}).



Analizzando i risultati relativi alle aree che erano state identificate in ogni appezzamento e sottoposte alla scerbatura manuale o meno, è possibile affermare che quest'ultima ha determinato un effetto positivo sulla produzione del cereale (+18 %) e ha avuto una azione fortemente contenitiva sulle infestanti riducendone la biomassa del 40%. Tale pratica non è risultata determinante per lo sviluppo delle leguminose, la cui biomassa è rimasta sostanzialmente analoga sia nelle aree scerbate sia in quelle non scerbate. Ha avuto invece un effetto positivo sullo sviluppo iniziale del frumento la cui altezza nelle parcelle prive di infestanti era leggermente superiore. Altro effetto significativo è stato quello sul contenuto in azoto della paglia che è apparso maggiore nelle tesi scerbate rispetto a quelle inerbite.

Azienda Podere Pereto - Rapolano Terme

Le prove di collaudo relative alle tecniche di consociazione da effettuare nel corso del primo presso l'azienda "Podere Pereto", non sono state realizzate poiché il progetto ha preso avvio nel gennaio 2013 (quindi con 3 mesi di ritardo rispetto all'epoca ottimale di semina delle consociazioni). Si è quindi ritenuto utile, in accordo con il proprietario dell'Azienda Podere Pereto, di utilizzare semi già presenti in azienda di trifoglio, lenticchia, cece e cicerchia per traseminarli in una coltura esistente di *T. turanicum*.
Si è provveduto quindi a realizzare test di germinazione del materiale per poterlo utilizzare a questo scopo. Purtroppo le avverse condizioni meteo (circa 300 mm piovuti tra gennaio e marzo 2013; dati SIR Toscana per la stazione di Monteroni d'Arbia) non hanno permesso alle operatrici di entrare in campo per effettuare la trasemina compromettendo anche questa attività.
Nel secondo anno di collaudo, il cereale (*T. turgidum*) è stato seminato, i primi di dicembre, su due appezzamenti: uno ha ricevuto l'apporto della concimazione, mentre sull'altro non sono stati applicati input esterni.
Nel marzo 2014 è stata rilevata la densità della coltura tramite 15 lanci per ogni appezzamento di un rettangolo di 0.25 x 0.30 cm. La densità media è risultata pari a 75 piante/ m^2. Sempre nello stesso mese è stata effettuata la trasemina del trifoglio alessandrino a cui è seguito un passaggio di strigliatura. Data la semina estremamente tardiva, la biomassa in fase di levata è stata determinata a maggio prelevando 5 campioni da un'area di 1 m^2 per parcellone. Alla fine di giugno è stato eseguito il rilievo sui patogeni fungini secondo la metodologia applicata a San Piero. Si sono stimate anche le percentuali di copertura delle diverse essenze che compongono la consociazione e a misurare la loro altezza. La coltura è stata raccolta a luglio 2014.
Come si può osservare dalla tabella 22, i due trattamenti (concimazione e consociazione) hanno determinato un numero di spighe per metro quadrato più alto rispetto al testimone non concimato. Gli incrementi sono stati del 5% e del 31 % rispettivamente per la tesi con trifoglio e per quella concimata. Dal punto di vista produttivo la concimazione sembra aver garantito un migliore livello di resa determinando un incremento, rispetto agli altri due trattamenti, di circa il 50%. Questo risultato è stato raggiunto oltre che grazie al maggior numero di spighe anche ad un peso dei mille semi leggermente più elevato. La tesi concimata ha riportato anche valori di peso secco della pula e della paglia superiori rispetto alle altre due.

Tabella 22

Trattamento	N. spighe (n./m^2)	PS Granella (t/ha)	PS Pula (t/ha)	PS Paglia (t/ha)	PS Totale Frumento (t/ha)	Harvest Index (%)	Peso 1000 semi (g)
K+T	71	0,88 b	0,38 b	1,30 b	2,56 b	34,37	51,01
KC	88	1,33 a	0,57 a	1,96 a	3,86 a	34,46	53,75
KNC	67	0,88 b	0,39 b	1,32 b	2,59 b	33,98	53,41
Significatività[1]	(0.06)	(**)	(**)	(*)	(**)	(ns)	(ns)
LSD	17.64	0.27	0.12	0.43	0.81	1.47	3.43
CV (%)[2]	16.12	18.04	18.23	19.30	18.53	2.94	4.46

Tale risultato è confermato anche dalla biomassa totale del cereale che, nella tesi concimata, è apparsa maggiore di circa il 50 %. Come si può osservare dalla tabella riportata di seguito la tesi dove era presente il trifoglio è stata penalizzata dalla più consistente presenza di infestanti (+17%).
Il contenuto di azoto nella granella è risultato leggermente maggiore nella tesi concimata rispetto sia a quella con trifoglio sia al testimone non concimato. Le tre tesi non hanno influito significativamente sul contenuto di azoto nella pula e nella paglia. Le maggiori asportazioni di azoto con la granella, con la pula e la paglia sono state rilevate nelle tesi concimate. Differenze non significative sono state osservate tra le tesi con il trifoglio e quelle non concimate.

Tabella 23

Trattamento	Azoto Paglia (%)	Azoto Pula (%)	Azoto Granella (%)	Asportazioni Azoto Paglia (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Pula (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Granella (Kg N/ha)	Asportazioni Azoto Totale (Kg N/ha)
K+T	0,35	1,01	1,58 ab	4,56	3,80 b	13,89 b	22,25 b
KC	0,33	0,97	1,70 a	6,51	5,50 a	22,53 a	34,54 a
KNC	0,39	0,94	1,48 b	4,79	3,63 b	13,02 b	21,43 b
Significatività	(ns)	(ns)	(*)	(ns)	(**)	(***)	(**)
LSD	0.21	0.22	0.14	2.85	1.14	3.52	5.76
CV (%)	40.98	22.75	6.10	36.98	18.16	14.65	15.16

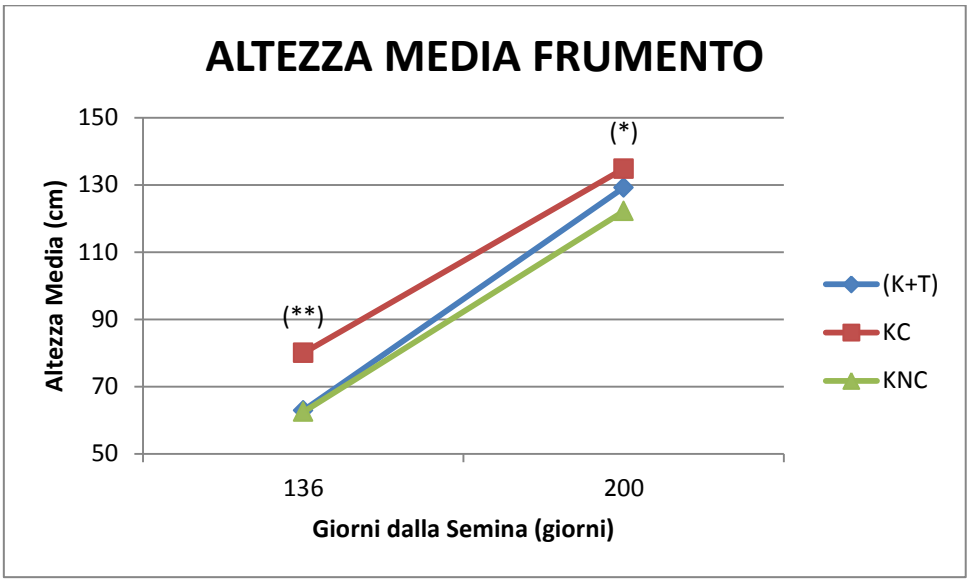
Anche seguendo la coltura in due momenti del ciclo colturale (levata e raccolta) la tesi concimata è apparsa in grado di influenzare maggiormente lo sviluppo della biomassa del cereale. Le differenze sono state visibili soprattutto in fase iniziale dove l'apporto della concimazione ha determinato un incremento della biomassa dell'85%.

Tabella 24

	BBCH 34			BBCH 99		
Trattamento	PS Totale	PS Totale	PS Totale	PS Totale	PS Totale	PS Totale
K+T	0,71 b	0,05	0,76 b	2,56 b	0,69	3,25 ab
KC	1,31 a	-	1,31 a	3,86 a	-	3,86 a
KNC	0,70 b	-	0,70 b	2,59 b	-	2,59 b
Significatività[1]	(**)	-	(*)	(**)	-	(*)
LSD	0.38	-	0.38	0.81	-	0.84
CV (%)[2]	28.64	-	28.37	18.53	-	17.76

Questo appare confermato osservando l'andamento dell'altezza media del frumento nelle stesse due fasi: le piante presenti nelle tesi concimate avevano un'altezza più elevata. Anche in questo caso il vantaggio determinato dalla concimazione azotata si osserva in fase iniziale.

Fig. 42. Variazione dell'altezza di tritucum diversamente consociato.



Azione 5.1: caratterizzazione chimico-nutrizionale dei prodotti primari e dei sottoprodotti

La caratterizzazione dei prodotti e dei sottoprodotti della filiera è avvenuta utilizzando come materiale di partenza i campioni di leguminose e cereali provenienti dalle produzioni raccolte all'interno della filiera BIOLEG dell'annata 2012 e di quella 2013. In particolare, per quanto riguarda i prodotti primari, cioè quelli destinati all'**alimentazione umana** sono state analizzate le seguenti tipologie di granelle di cereali e di leguminose:

2012	2013
Grano Cappelli	Grano Cappelli
Grano del Faraone	Grano del Faraone
Farro monococco	Farro monococco
Farro dicocco	Miglio

2012	2013
Cece nero	Cece nero
Lenticchia	Lenticchia
Cicerchia	Cicerchia
Fagiolo toscanello	Fagiolo toscanello
Cece fiorentino	Fagiolo zolfino
	Cece piccino

Per l'analisi dei sottoprodotti e dei co-prodotti della filiera destinati alla produzione di mangimi sono stati prelevati i seguenti campioni:

2012	2013
Spezzatura di farro	Grano del Faraone di seconda scelta
Scarto di farro	Crusca d'orzo
Crusca di farro	Crusca di farro perlato
Lenticchia di seconda scelta	
Cicerchia di seconda scelta	

Per ogni diversa granella, grazie all'impiego di un mulinetto elettrico con setaccio di 1 mm, si è provveduto alla preparazione di farine molto fini ed omogenee adatte sia all'analisi delle frazioni proteiche che dei metaboliti secondari. Le farine così ottenute sono state conservate a -20°C in tubi falcon da 50 mL fino al momento delle analisi.
Tutti i campioni di farina sono stati analizzati attraverso il metodo Kjeldahl al fine di determinare il contenuto di proteine grezze, partendo da 0,3 g di farina a cui veniva aggiunto H_2SO_4 (10 mL) e un catalizzatore contenente potassio, rame e selenio. Nel suddetto metodo si distinguono tre fasi: mineralizzazione, distillazione dell'ammoniaca e determinazione quantitativa dell'ammoniaca prodotta. Il metodo Kjeldahl viene universalmente applicato per determinare il contenuto di azoto totale, il quale poi moltiplicato per un fattore (6,25 per le leguminose; 5,7 per i cereali) consente di ottenere il valore di contenuto proteico espresso come percentuale di proteine su 100g di farina.
Confrontando i contenuti proteici delle nove granelle considerate, le percentuali ottenute dalle farine di leguminose erano generalmente più elevate di quelle dei cereali.

I campioni di leguminose raccolti nel 2012, destinati all'alimentazione umana, hanno mostrato un contenuto percentuale variabile dal 23% del cece nero e del cece fiorentino al 28% della cicerchia (Figura 42).
Le farine dei campioni di leguminose raccolti nel 2013 hanno mostrato un contenuto percentuale inferiore a quanto osservato per le granelle dell'anno precedente, ed oscillante approssimativamente tra il 17 ed il 24% (Figura 42). Come per l'anno 2012, anche nel 2013 il minor contenuto proteico è stato osservato nelle farine del cece nero e il maggiore nella cicerchia, sebbene entrambi i campioni mostrassero livelli proteici inferiori rispetto all'anno precedente.

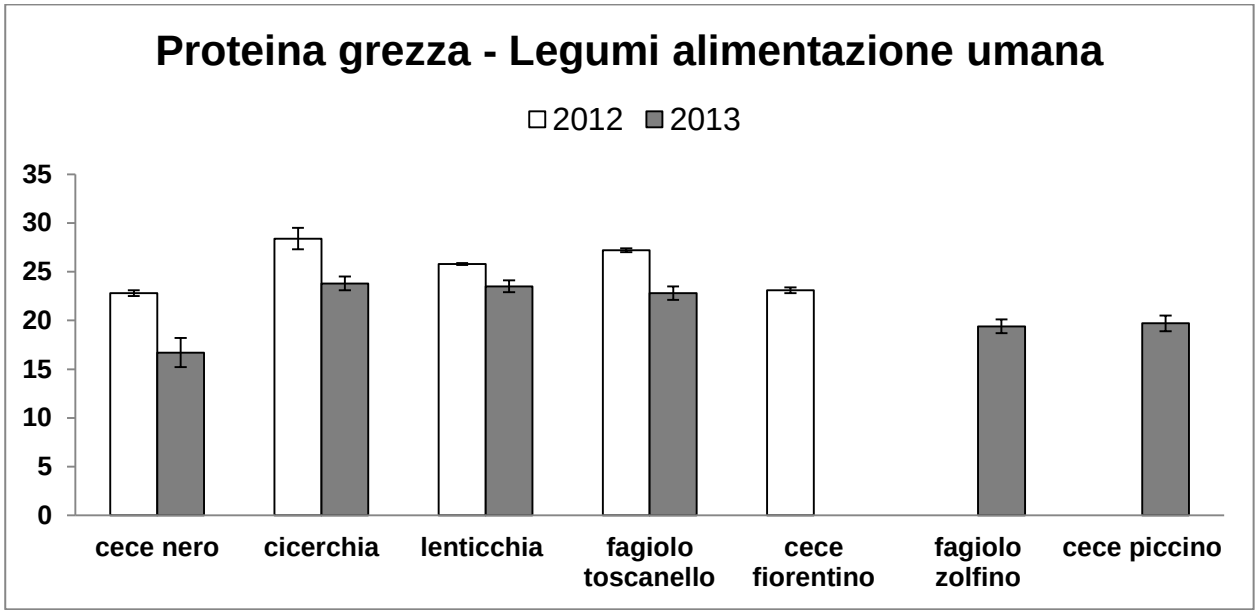


Figura 42: Contenuto percentuale di proteina grezza in granelle di leguminose destinate all'alimentazione umana. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Relativamente alle granelle di cereali, nei campioni raccolti nel 2012 il contenuto di proteine grezze oscillava tra il 9% del grano del faraone ed il 13% del grano Cappelli (Figura 43).
Nei campioni di cereali destinati all'alimentazione umana, raccolti nel 2013, sono stati misurati contenuti che oscillavano approssimativamente tra il 10 ed il 14% (Figura 43), leggermente più alti rispetto ai valori osservati nel 2012. All'interno di questo gruppo di campioni i livelli più bassi di proteina grezza sono stati misurati nel miglio (10%), specie non campionata nel 2012, mentre il grano del faraone mostrava la percentuale maggiore, pari al 14%.
Rispetto all'anno precedente il grano Cappelli presentava una leggera diminuzione nel contenuto proteico, mentre un aumento del 17 e del 54% è stato osservato rispettivamente nelle farine del farro monococco e del grano del faraone.

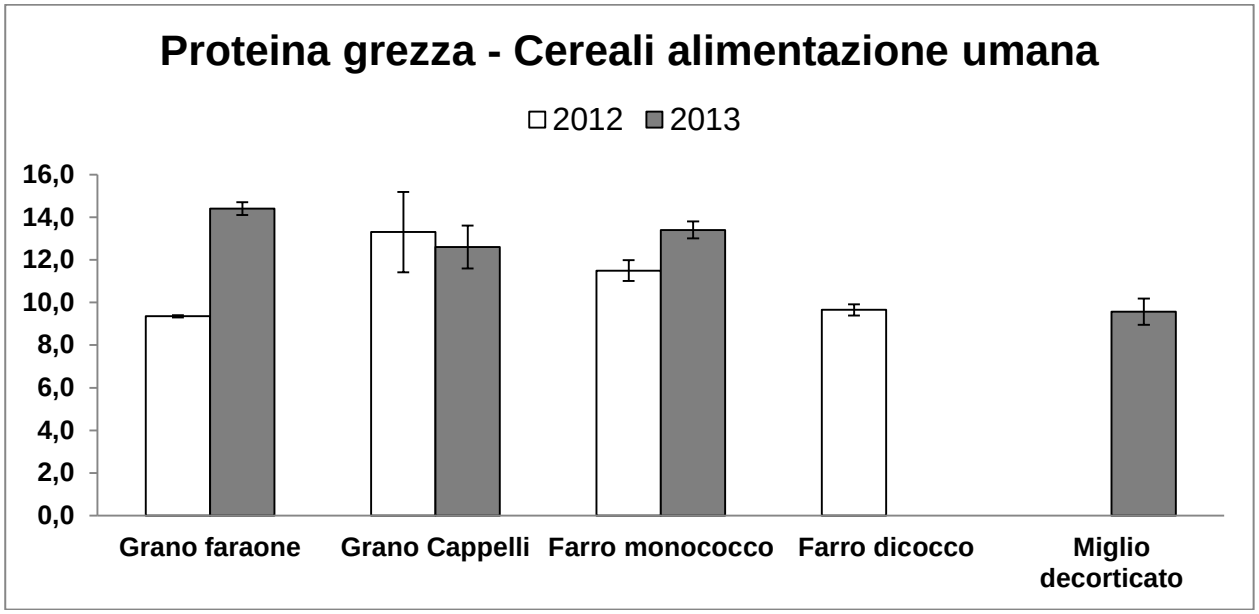


Figura 43: Contenuto percentuale di proteina grezza in granelle di cerali destinate all'alimentazione umana. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Negli sfarinati destinati all'alimentazione animale raccolti nel 2012 era ben evidente la differenza nel contenuto di proteine tra cereali e leguminose. La percentuale di proteina grezza contenuta negli sfarinati ottenuti da granelle di cereali oscillava infatti tra il 12 e il 13%, mentre nelle due leguminose di 2° scelta testate i valori erano compresi tra il 27 ed il 28 % (Figura 44).

Gli sfarinati destinati all'alimentazione animale ottenuti dal raccolto 2013 (Figura 44) sono stati tutti ricavati da granelle di cereali. La percentuale media di proteine grezze contenuta in questi campioni oscillava tra il 10 e l'11%.

Confrontando i valori del grano del faraone destinato all'alimentazione umana con quello di seconda scelta, si osserva in quest'ultimo un livello di proteine inferiore di circa il 26%.

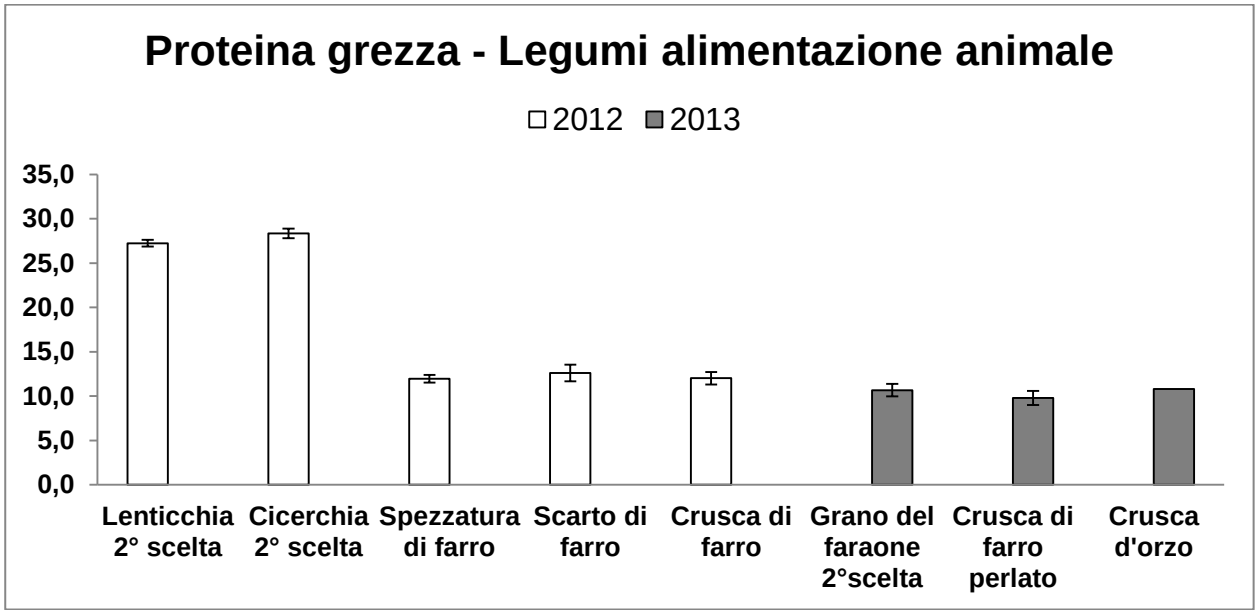


Figura 44: Contenuto di proteina grezza in granelle di leguminose e cereali destinate all'alimentazione animale. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Nei campioni di cereali e legumi destinati all'alimentazione umana, oltre al contenuto in proteine grezze è stato quantificato il contenuto delle singole frazioni che costituiscono le proteine di riserva dei semi. La caratterizzazione prevede l'estrazione sequenziale delle diverse frazioni (albumine, solubili in acqua; globuline, solubili in soluzioni saline; prolammine, solubili in soluzioni alcooliche; gluteline, solubili in soluzioni acide/alcaline) e la successiva quantificazione spettrofotometrica del loro contenuto proteico attraverso il metodo di Bradford.

I risultati ottenuti per i legumi mostrano che la frazione più rappresentativa contenuta in questi campioni è quella delle globuline. In particolare, nel 2012 (Tabella 25 e Figura 44), la cicerchia mostrava il più alto contenuto di globuline, con un contenuto di 128,7 mg/g sfarinato, corrispondente al 68% del contenuto proteico totale. Tuttavia, la percentuale di globuline in tutti i campioni di legumi del 2012 non scendeva mai sotto il 50%, con l'eccezione del cece nero in cui questa frazione costituiva il 42,7% (71,8 mg/g sfarinato).

Tutti i legumi analizzati mostravano contenuti di prolammine molto bassi rispetto alle altre frazioni. I valori analizzati erano compresi tra 1,23 mg/g sfarinato del cece nero e 3,1 mg/g sfarinato della lenticchia a cui corrispondevano percentuali tra 0,7 e 1,8% (campioni 2012).

Un prodotto può essere considerato appropriato per il consumo nella dieta dei celiaci se il contenuto di prolammine è in quantità compresa tra il 4 e l'8%. Alla luce di questi dati, tutti i legumi del 2012 sarebbero adatti per il consumo da soggetti affetti da malattia celiaca.

Riguardo la frazione delle albumine, il fagiolo toscanello mostra il contenuto più basso (11,6 mg/g sfarinato), pari al 9,9%. Gli altri legumi invece contenevano simili percentuali di albumine, comprese tra 17,8 e 28,1%.

Il contenuto maggiore di gluteline è stato misurato nel cece nero (55,3 mg/g sfarinato, corrispondente a 32,9) mentre quello minore nel cece fiorentino (22 mg/g sfarinato, corrispondente a 13,1%).

	2012				2013			
	GLB	PRO	ALB	GLU	GLB	PRO	ALB	GLU
Cece nero	71.8±4.3	1.2±0.1	39.7±2.0	55.3±3.2	63.9±14.2	1.2±0.1	33.0±3.0	54.6±2.2
Cicerchia	128.7±3.0	1.9±0.1	33.8±4.3	25.8±0.6	107.2±5.4	2.5±0.1	24.1±0.6	14.7±0.4
Lenticchia	88.9±4.7	3.1±0.2	36.3±2.6	45.5±0.7	89.0±3.3	1.5±0.1	37.9±4.9	52.2±4.3
Fagiolo toscanello	65.9±4.5	2.1±0.6	11.6±1.2	37.2±4.0	80.2±3.9	1.8±0.6	12.0±3.3	14.1±1.5
Cece fiorentino	96.8±6.9	1.6±0.0	46.9±2.0	21.9±3.2				
Fagiolo zolfino	-	-	-	-	75.5±9.0	1.5±0.6	14.9±2.3	16.3±3.9
Cece piccino	-	-	-	-	95.7±6.1	1.5±0.8	7.6±4.4	9.6±4.1

Tabella 25: Contenuto proteico (mg/g di sfarinato) delle diverse frazioni presenti in granelle di legumi destinate all'alimentazione umana. GLB, globuline; PRO, prolammin; ALB, albumine, GLU, gluteline. Sono riportati i valori medi ± deviazione standard

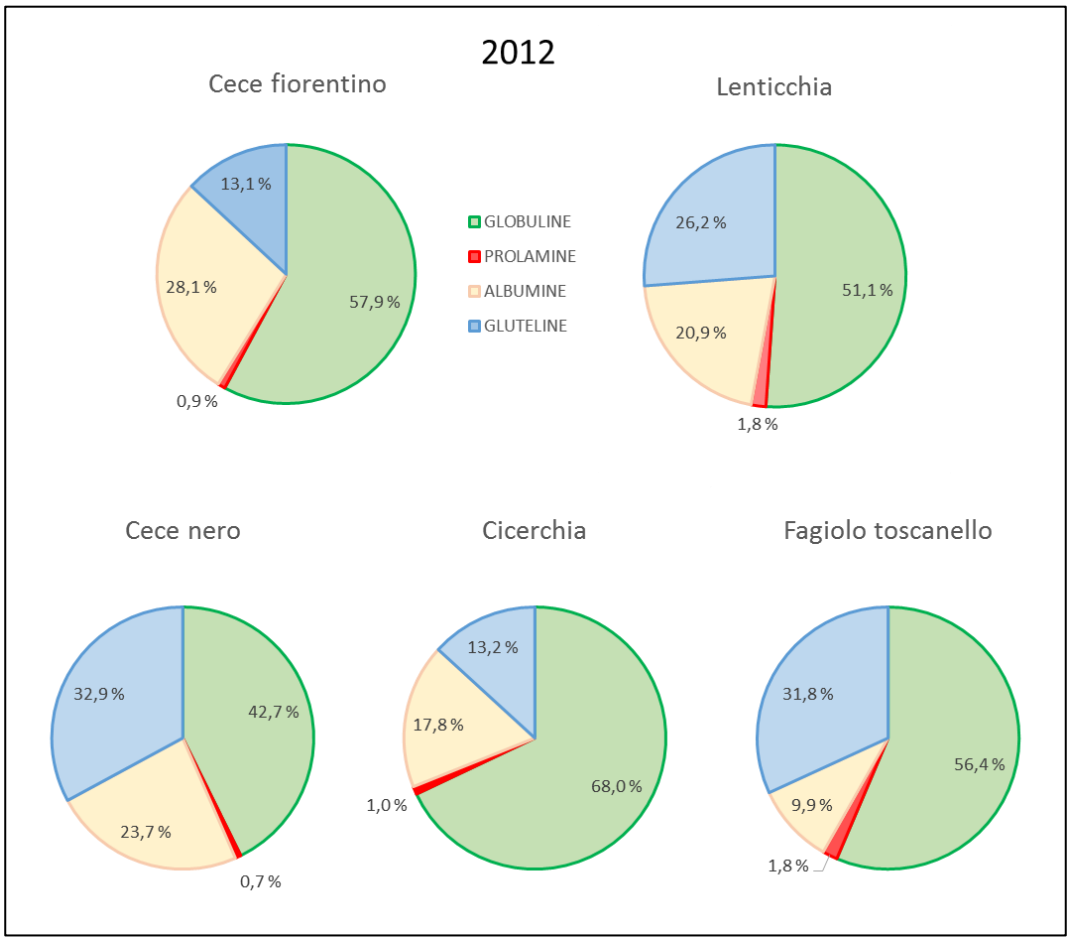


Figura 45: Composizione percentuale delle diverse frazioni proteiche presenti in granelle di legumi destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2012.

I legumi raccolti nel 2013 (Tabella 9 e Figura 45) confermano che la frazione più rappresentativa contenuta in questo tipo di granelle è quella delle globuline.

Di nuovo la cicerchia mostrava il più alto contenuto di globuline, con un contenuto di 107,2 mg/g sfarinato (-17% rispetto al 2012), corrispondente al 72,1% del contenuto proteico totale.

Considerando la composizione percentuale il cece piccino, con l'83,7% rispetto al contenuto proteico totale, appariva il campione più ricco in globuline.

E' interessante sottolineare che il contenuto di globuline del fagiolo toscanello nel 2013 (80,2 mg/g sfarinato) risultava maggiore rispetto al 2012 (+22%), il che determinava anche una diversa composizione delle proteine di riserva rispetto a quella dell'anno precedente.

La percentuale di globuline sul contenuto proteico totale nei campioni di cece nero e lenticchia del 2013 scendeva sotto il 50%, costituendo rispettivamente il 41,6% (63,9 mg/g sfarinato) e il 49,3 (89 mg/g sfarinato).

Anche i legumi analizzati nel 2013 mostravano contenuti di prolammine molto bassi rispetto alle altre frazioni (Figura 46), come già osservato nel 2012. I valori analizzati erano compresi tra 1,2 mg/g sfarinato del cece nero e 2,5 mg/g sfarinato della cicerchia, a cui corrispondevano percentuali tra 0,8 e 1,7%. Questi dati confermano che anche tutti i legumi del 2013 sarebbero adatti per il consumo da parte di soggetti affetti da malattia celiaca.

Riguardo la frazione delle albumine, il cece piccino mostra il contenuto più basso (7,61 mg/g sfarinato), pari al 6,5% mentre al contrario la lenticchia aveva il livello più alto (37,9 mg/g sfarinato; +4,5% rispetto al

2012), pari al 21,6% sul totale proteico. La cicerchia nel 2013, in particolare, mostrava invece un contenuto molto inferiore di albumine rispetto al 2012 (-29%).

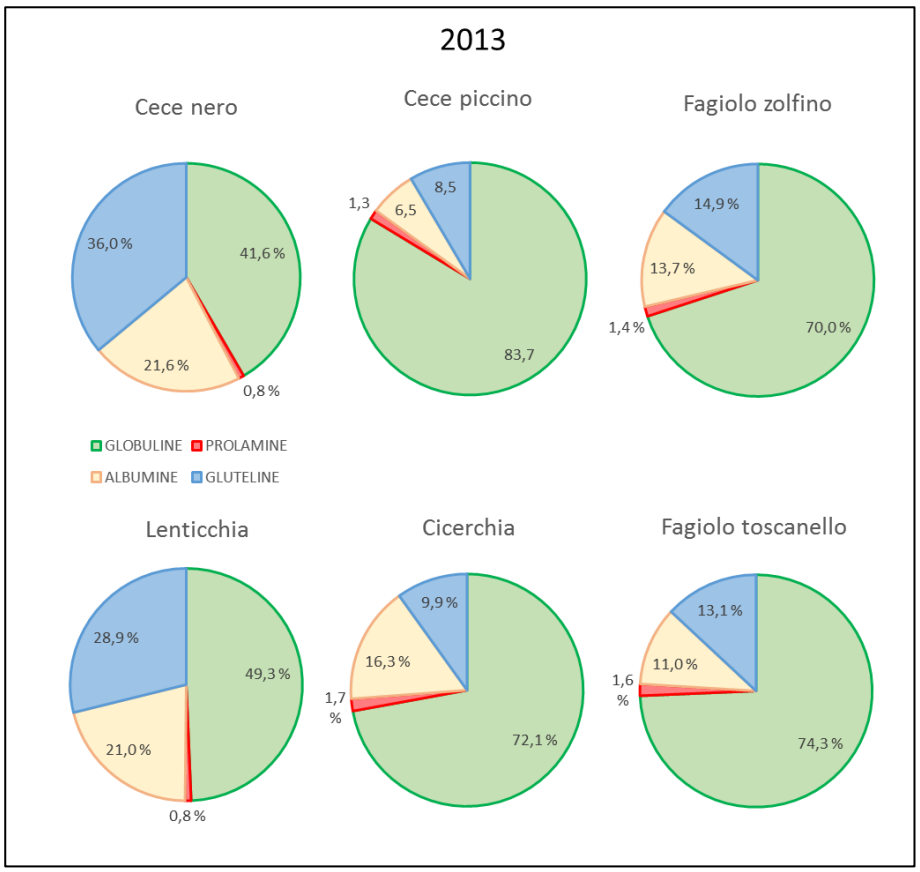


Figura 46: Composizione percentuale delle diverse frazioni proteiche presenti in granelle di legumi destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2013.

Il contenuto più alto di gluteline nel 2013 apparteneva al cece nero (54,6 mg/g sfarinato, corrispondente a 36%) mentre al contrario il livello più basso apparteneva al fagiolo toscanello (14,1 mg/g sfarinato, corrispondente a 13,1%). Il contenuto di gluteline nel fagiolo toscanello diminuiva nel 2013 del 62% rispetto al 2012, così come la cicerchia che invece mostrava un calo del 41%. Al contrario, la lenticchia aumentava del 15% il livello di gluteline rispetto all'anno precedente.

I risultati ottenuti per i cereali raccolti nel 2012 (Tabella 26 e Figura 47) non mostrano la presenza di una frazione chiaramente più rappresentativa in nessuno di questi campioni. Ciò si allontana dalle informazioni riportate in letteratura che indicano le prolammine come principali proteine di stoccaggio di tutti i cereali, alcuni autori riportano anche che albumine e globuline nel frumento rappresentano circa il 20% to 25% del contenuto proteico totale dell'endosperma.

Nell'annata 2012, solo nel grano Cappelli la somma delle prolamine (gliadine) e gluteline (glutenine) supera il 50% del totale delle proteine di riserva (gliadine + glutenine 54,5%, 16,5 e 16,2 mg/g sfarinato rispettivamente). Il più basso livello di prolamine (gliadine) appartiene al grano

del faraone (11,1 mg/g sfarinato), mentre il farro dicocco è il più povero in gluteline (glutenine) con 13 mg/g sfarinato.

Rispetto ai valori riportati in letteratura, tutte le granelle esaminate sono molto ricche in albumine (24-30%) e globuline (21-25%). Il farro monococco e il grano del faraone risultano rispettivamente il campione più ricco (14,4 mg/g sfarinato) e quello più povero in globuline (10,8 mg/g sfarinato). I contenuti maggiori di

albumine sono stati determinati nel farro dicocco e nel grano del faraone (15,4 e 15,5 mg/g sfarinato rispettivamente).

	2012				2013			
	GLB	PRO	ALB	GLU	GLB	PRO	ALB	GLU
Grano faraone	10.8±1.6	11.1±0.0	15.5±0.4	14.2±0.5	14.0±0.7	13.7±2.9	13.2±2.2	13.0±0.7
Grano Cappelli	13.1±1.0	16.5±0.4	14.3±0.3	16.2±1.0	16.1±0.4	14.7±2.1	13.9±0.1	9.0±0.7
Farro monococco	14.4±0.6	13.9±0.2	14.7±0.5	14.4±0.1	13.8±0.2	16.4±0.5	14.8±0.7	16.0±0.4
Farro dicocco	12.8±0.2	12.4±0.6	15.4±0.5	13.0±0.8				
Miglio decorticato					5.7±0.2	3.0±0.4	8.9±0.3	7.9±1.0

Tabella 26: Contenuto proteico (mg/g di sfarinato) delle diverse frazioni presenti in granelle di cereali destinate all'alimentazione umana. GLB, globuline; PRO, prolammin; ALB, albumine, GLU, gluteline. Sono riportati i valori medi ± deviazione standard

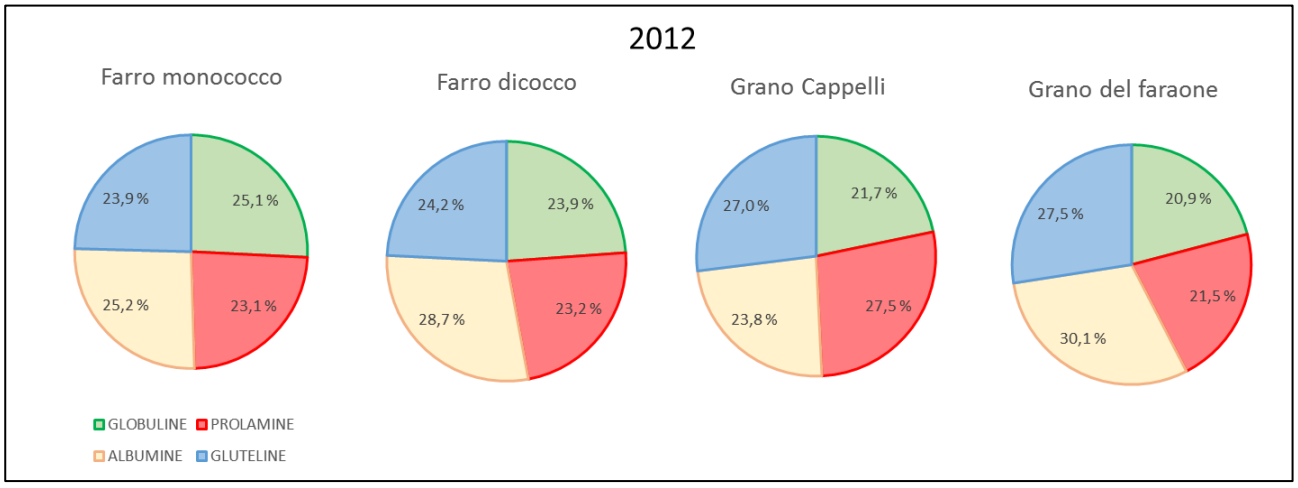


Figura 47: Composizione percentuale delle diverse frazioni proteiche presenti in granelle di cereali destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2012.

I risultati ottenuti per i cereali raccolti nel 2013 (Tabella 26 e Figura 48) confermano una certa differenza rispetto a quanto riportato precedentemente in letteratura relativamente ai contenuti delle diverse frazioni.

Nel 2013, prolamine (gliadine) e gluteline (glutenine) sono riconosciute come le principali proteine di riserva nel solo farro monococco (gliadine + glutenine 53,2%, 16,4 e 16 mg/g sfarinato rispettivamente), mentre in tutti gli altri campioni di cereali la loro somma percentuale è al di sotto del 50%.

Il miglio era il cereale con i minori contenuti per tutte le 4 frazioni. In particolare, sebbene la concentrazione di prolamine sia solo 3 mg/g sfarinato, percentualmente questa frazione risulta pari all'11%, che non garantisce il miglio come un alimento sicuro per i soggetti celiaci, diversamente da quanto riportato da altri autori.

Nel 2013, le granelle esaminate mostrano contenuti di albumine che variano tra 8,9 mg/g sfarinato del miglio a 14,8 mg/g sfarinato del farro monococco. Riguardo le globuline invece i livelli ottenuti erano compresi tra 5,7 del miglio a 16,1 mg/g sfarinato del grano Cappelli.

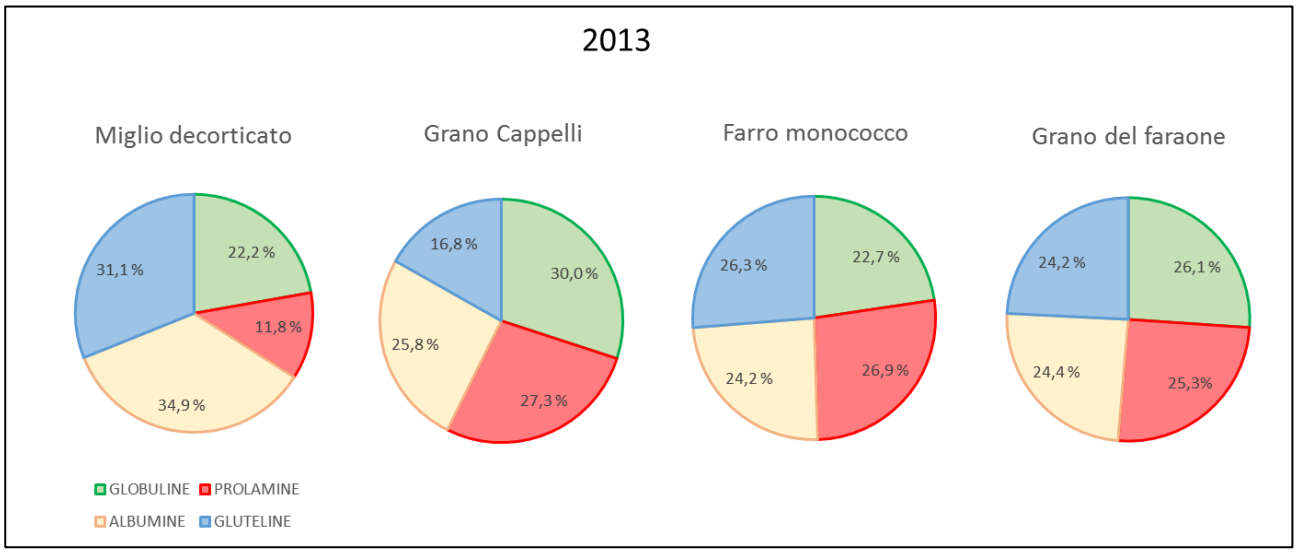


Figura 48: Composizione percentuale delle diverse frazioni proteiche presenti in granelle di cereali destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2013.

Il profilo proteico delle frazioni è stato poi analizzato mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide (SDS-PAGE). I pattern elettroforetici delle frazioni proteiche ottenute dai campioni di leguminose raccolti nel 2012 sono mostrate in Figura 49. I profili proteici differivano tra loro in funzione del campione di granella considerato. Le due varietà di cece mostravano per le albumine e le globuline la presenza delle stesse bande proteiche, simili sia a livello qualitativo che quantitativo. Al contrario, molto diverso era il profilo delle gluteline, che nel cece fiorentino mostrava numerose bande tra cui tre molto evidenti tra 45 e 31 kDa. In tutti i legumi, la frazione delle prolammine mostrava la presenza di pochissime bande, con l'unica eccezione del fagiolo toscanello. La cicerchia mostrava 3 bande piuttosto intense per le albumine e numerose bande per globuline e gluteline. Il fagiolo toscanello mostrava un segnale molto intenso per alcune bande della frazione delle globuline e alcune bande ben evidenti nelle albumine e gluteline.

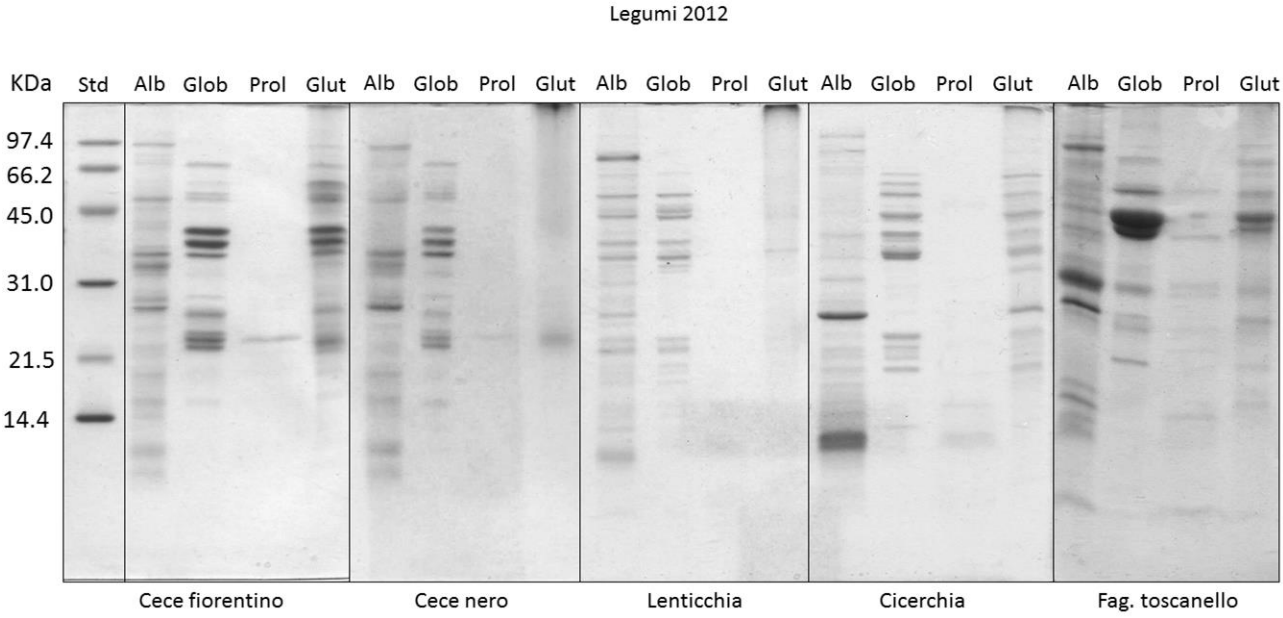


Figura 49: SDS-PAGE delle frazioni proteiche ottenute dai legumi raccolti nel 2012

I campioni di legumi raccolti nel 2013 (Figura 50) e nel 2012 (lenticchia, cicerchia e fagiolo toscanello) mostravano dei pattern essenzialmente simili. Il profilo proteico del fagiolo zolfino, presente solo nel campionamento 2013, risultava molto simile a quello del fagiolo toscanello. Il cece piccino, anch'esso presente solo nella raccolta 2013, mostrava un pattern paragonabile a quello del cece fiorentino del 2012 ma differiva per la sola frazione delle albumine nelle bande comprese tra 66 e 31 kDa. Tuttavia il cece piccino, come del resto il cece fiorentino, risulta estremamente diverso dal cece nero per quanto riguarda il profilo delle gluteline.

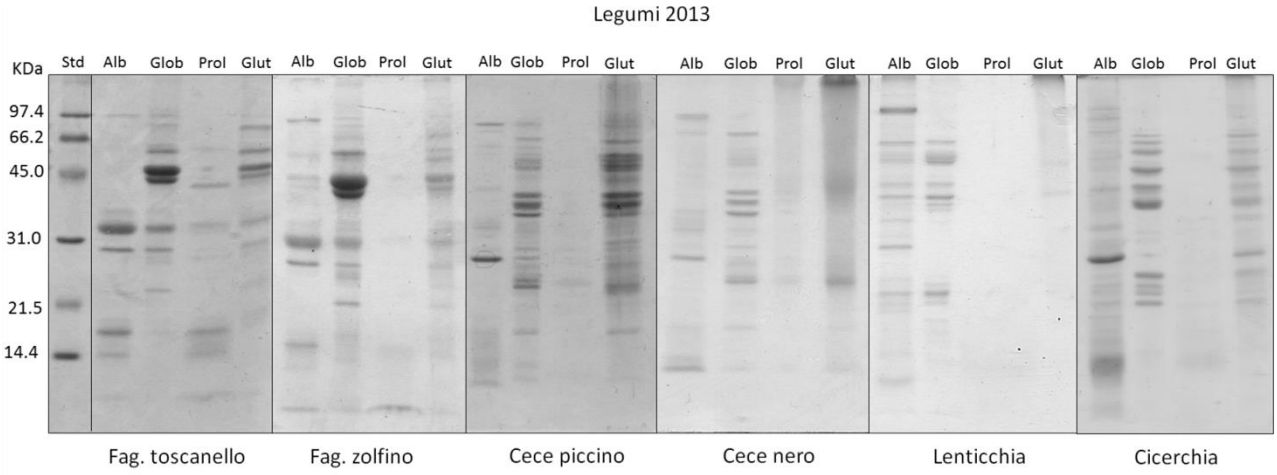


Figura 50: SDS-PAGE delle frazioni proteiche ottenute dai legumi raccolti nel 2013

Anche i profili proteici ottenuti dai campioni di cereali raccolti nel 2012 differivano tra loro in funzione del tipo di granella considerato (Figura 51). In tutti i campioni di cereali albumine e globuline sono caratterizzate da un ricco pattern di proteine lungo tutto il range di pesi molecolari.

In accordo a quanto mostrato da alcuni autori in Triticum spelta, anche nel farro dicocco e monococco da noi analizzati si possono identificare per albumine e globuline due ampie aree con bande di maggiore intensità comprese tra 66 – 23 kDa e tra 16 – 2 kDa, relativamente simili tra le due varietà. Tuttavia, 2 zone differenziano le albumine del farro monococco dal farro dicocco, localizzate i tra 66 e 45 kDa e tra 21 e 2 kDa.

Le prolammine di farro monococco e dicocco erano presenti soprattutto pattern nella regione compresa tra 45 e 31 kDa. Il solo farro monococco presentava una banda intensa a 14.4 kDa. Il pattern delle gluteline nelle due varietà di farro era abbastanza uniforme seppur con alcune differenze qualitative e quantitative ben evidenti.

Nelle due varietà di grano, Cappelli e del faraone, le albumine e le globuline mostravano pattern pressoché identici. Le prolamine (gliadine) e le gluteline (glutenine) erano anch'esse qualitativamente molto simili ma a livello quantitativo il grano Cappelli mostrava le bande più intense.

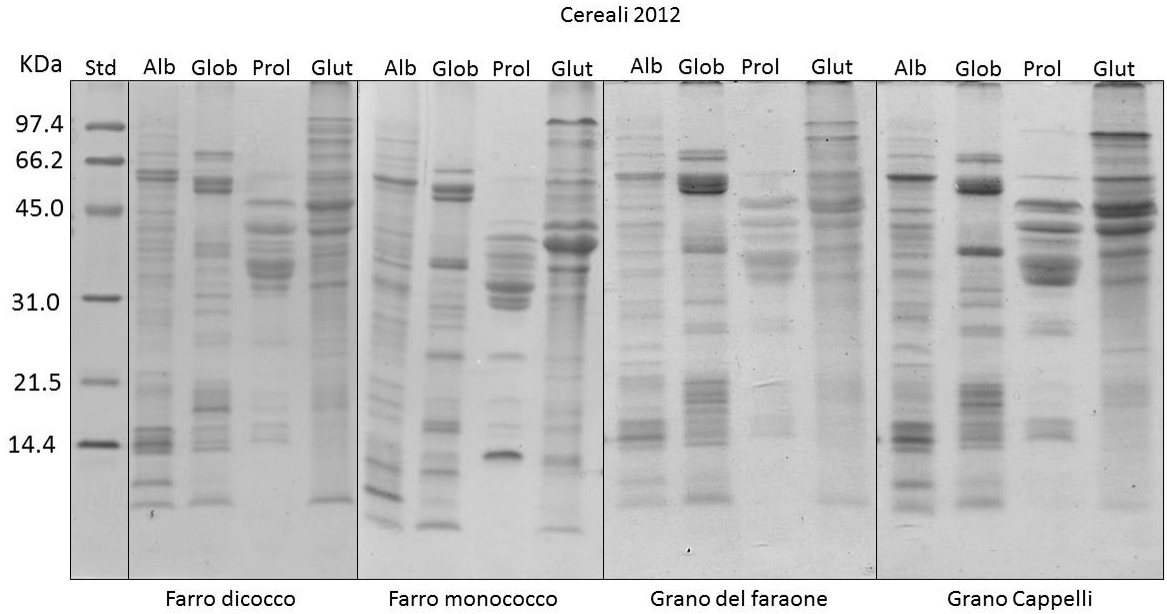


Figura 51: SDS-PAGE delle frazioni proteiche ottenute dai cereali raccolti nel 2012

I profili polipeptidici dei cereali campionati nel 2013 (Figura 52) erano molto simili sia qualitativamente che quantitativamente a quelli dei campioni raccolti nel 2012.
Il miglio, campionato solo nel 2013, mostrava il pattern delle prolamine (gliadine) costituito da bande con peso molecolare (26 – 14 kDa), inferiore a quello degli altri cereali. Similmente, anche le gluteline presentano bande a maggiore intensità nella zona a più basso peso molecolare (26 – 14 kDa).

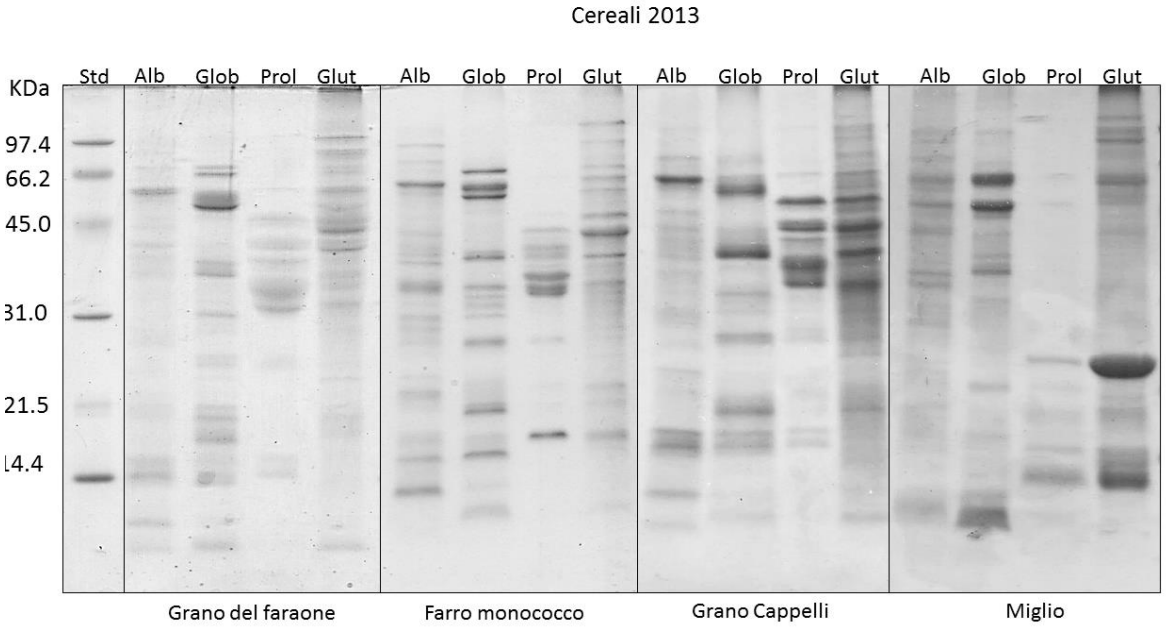


Figura 52: SDS-PAGE delle frazioni proteiche ottenute dai cereali raccolti nel 2013

Infine, nei campioni destinati all'alimentazione sia umana che animale è stato determinato il contenuto degli amminoacidi lisina, metionina e cisteina. Tra più di 300 aminoacidi presenti in natura, solo venti vengono utilizzati per la sintesi delle proteine. Tra questi, otto sono considerati essenziali perché l'organismo umano non è in grado di sintetizzarli e vanno assunti con la dieta: fenilalanina, isoleucina,

istidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina. Lisina e metionina vengono ritenuti aminoacidi limitanti rispettivamente di cereali e legumi, essendo presenti in quantità così ridotte da poter limitare l'utilizzo di tutti gli altri e quindi inficiare la sintesi di nuove proteine.
L'analisi del contenuto amminoacidico prevede l'idrolisi di 0,05 g di farina con 5 mL di HCl 6N a 110°C per 24h. Il campione raffreddato viene successivamente filtrato e diluito con 3,3 mL di acqua deionizzata. Per permettere la lettura in HPLC alla lunghezza d'onda stabilita (λ = 254nm) gli aminoacidi vengono derivatizzati con PITC (fenilisotiocianato), anche conosciuto come reattivo di Edman. Lo svolgimento di queste analisi ha richiesto la messa a punto di una metodica specifica per i campioni in esame, richiedendo un lungo tempo per il suo sviluppo e la successiva realizzazione.
Il contenuto di lisina in tutti i campioni di legumi 2012 era maggiore di quello della cisteina, che a sua volta era superiore al contenuto di metionina (Figura 53). Il minore e maggiore contenuto in lisina è stato misurato rispettivamente nel fagiolo toscanello (19,1 mg/g di sfarinato) e nella cicerchia (27,6 mg/g di sfarinato), mentre un risultato opposto è stato riscontrato per la metionina, che mostrava il contenuto maggiore nel fagiolo toscanello (6,9 mg/g di sfarinato) e il minore nella cicerchia (3,8 mg/g di sfarinato). Il fagiolo toscanello risultava il campione più ricco anche relativamente alla cisteina (16,2 mg/g di sfarinato) mentre il cece nero mostrava i livelli minori di questo amminoacido (12,9 mg/g di sfarinato).

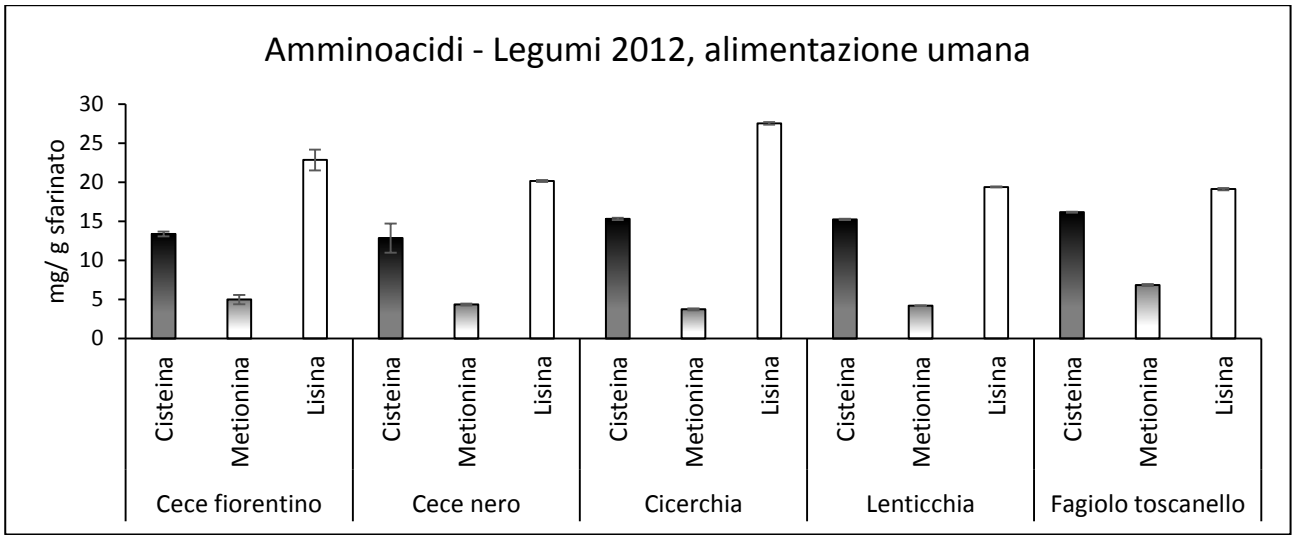


Figura 53: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di legumi destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2012. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Anche nel 2013, il contenuto medio di lisina in tutti i campioni di legumi era superiore a quello della cisteina, che a sua volta era di nuovo molto superiore rispetto ai contenuti di metionina (Figura 54). I legumi raccolti nell'anno 2013 avevano un contenuto medio di lisina compreso tra 20,9 mg/g di sfarinato del cece piccino e 31,4 mg/g di sfarinato del fagiolo toscanello. E' interessante notare un aumento del contenuto di questo aminoacido nel fagiolo toscanello dal 2012 al 2013 (+64%). Il valore più alto per la cisteina è stato riscontrato nella cicerchia (18,3 mg/g di sfarinato; +20% rispetto al 2012) mentre il più basso nella lenticchia (12,3 mg/g di sfarinato; -19% rispetto al 2012). Per la metionina, il cece nero mostrava il contenuto maggiore (6,6 mg/g di sfarinato; +50% rispetto al 2012) mentre la lenticchia, con un valore medio di 2,9 mg/g di sfarinato mostrava il livello minimo (-31% rispetto al 2012).

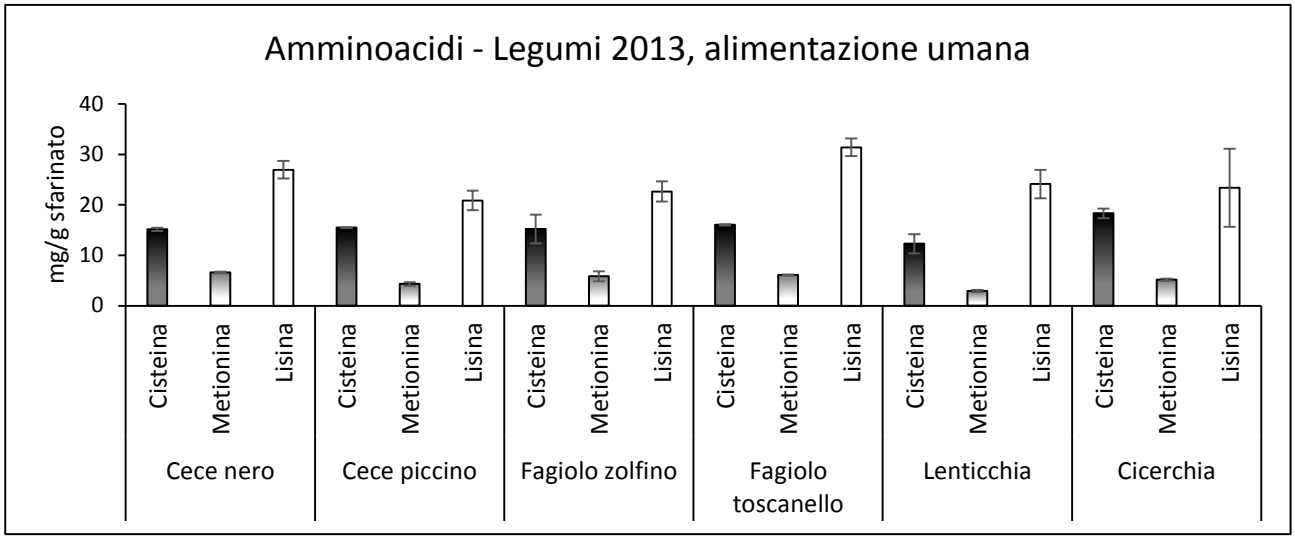


Figura 54: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di legumi destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2013. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard.

Nei cereali raccolti nel 2012 (Figura 55), la lisina presentava concentrazioni molto minori rispetto a quelle dei legumi 2012. Il valore di lisina più alto è stato osservato nel grano Cappelli (9,7 mg/g di sfarinato) mentre il contenuto minore nel farro dicocco (8,1 mg/g di sfarinato). Relativamente ai due aminoacidi solforati, in tutti campioni di cereali il contenuto di cisteina era superiore a quello della metionina. Il grano del faraone mostrava rispettivamente il più alto livello di cisteina (8,1 mg/g di sfarinato) e il più basso di metionina (1 mg/g di sfarinato). Il minor contenuto di cisteina era presente nel farro dicocco (5 mg/g sfarinato), mentre il massimo contenuto di metionina era riscontrato nel farro monococco (3,7 mg/g sfarinato).

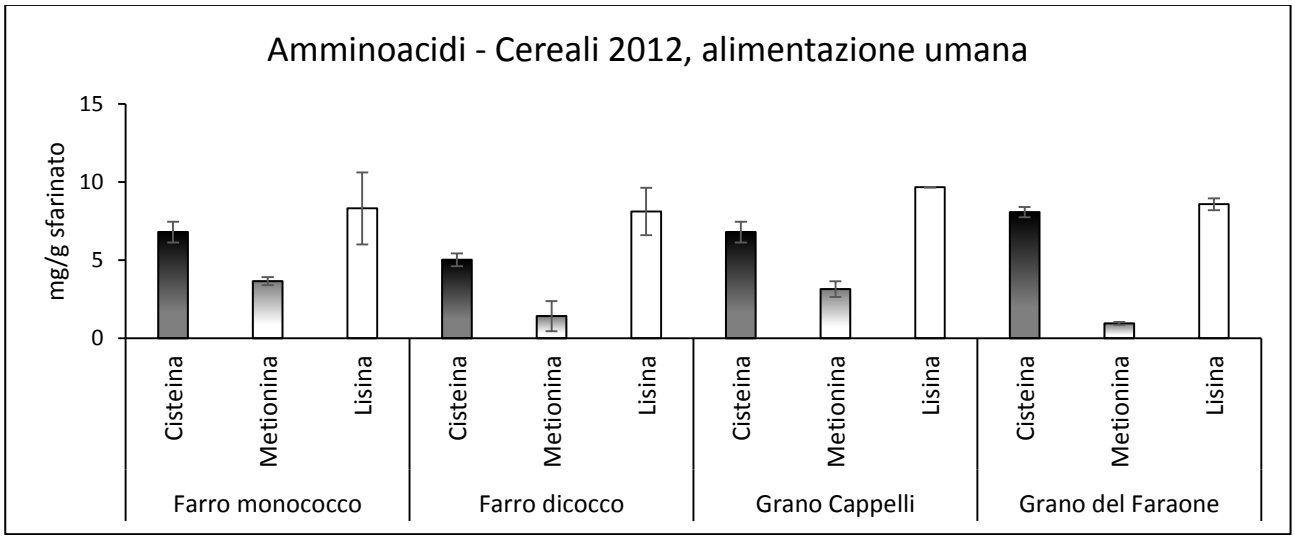


Figura 55: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di cereali destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2012. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Per i cereali raccolti nel 2013 (Figura 56), i contenuti più elevati di cisteina e lisina sono stati misurati nel miglio decorticato, con un valore medio di 21 e 10,8 mg/g di sfarinato rispettivamente.
Il contenuto minore di lisina era presente nel farro monococco (5,8 mg/g di sfarinato; -31% rispetto al 2012). Riguardo il contenuto di metionina, il grano del faraone mostrava il livello più elevato (4,7 mg/g di

sfarinato; circa 4 volte superiore rispetto al 2012) mentre il minor contenuto di questo aminoacido era presente nel farro monococco (2,5 mg/g sfarinato; -22% rispetto al 2012).

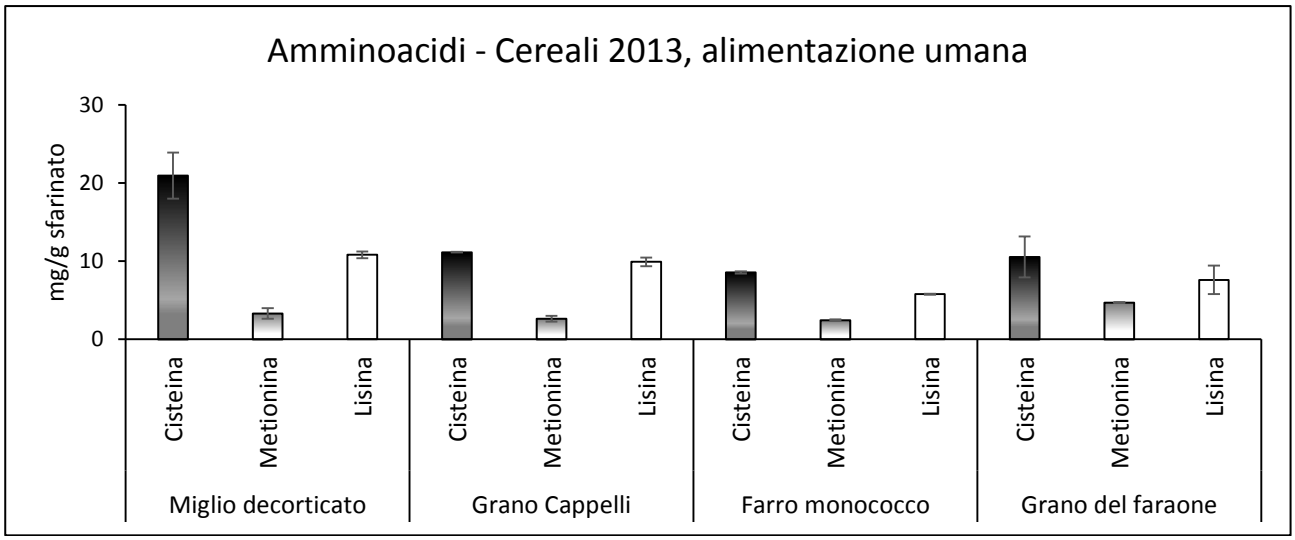


Figura 56: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di cereali destinate all'alimentazione umana, raccolte nel 2013. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

Le granelle di cereali e legumi campionate nel 2012 e destinate all'alimentazione animale (Figura 57) mostravano livelli diversi sia riguardo il contenuto di lisina che degli aminoacidi solforati. Come già riscontrato per i campioni destinati alla nutrizione umana, i due legumi lenticchia e cicerchia avevano livelli molto più alti di lisina rispetto ai cereali. Tuttavia, mentre i livelli di lisina contenuti nella cicerchia di 2° scelta erano del tutto simili a quelli del prodotto di prima qualità, la lenticchia di 2° scelta conteneva molta più lisina rispetto a quella per l'alimentazione umana (+80%). I tre sottoprodotti ottenuti dalla lavorazione del farro nell'anno 2012 mostravano contenuti molto simili tra loro per tutti gli aminoacidi analizzati e presentavano livelli di lisina e di cisteina superiori sia a quelli del farro monococco che dicocco destinati all'alimentazione umana.

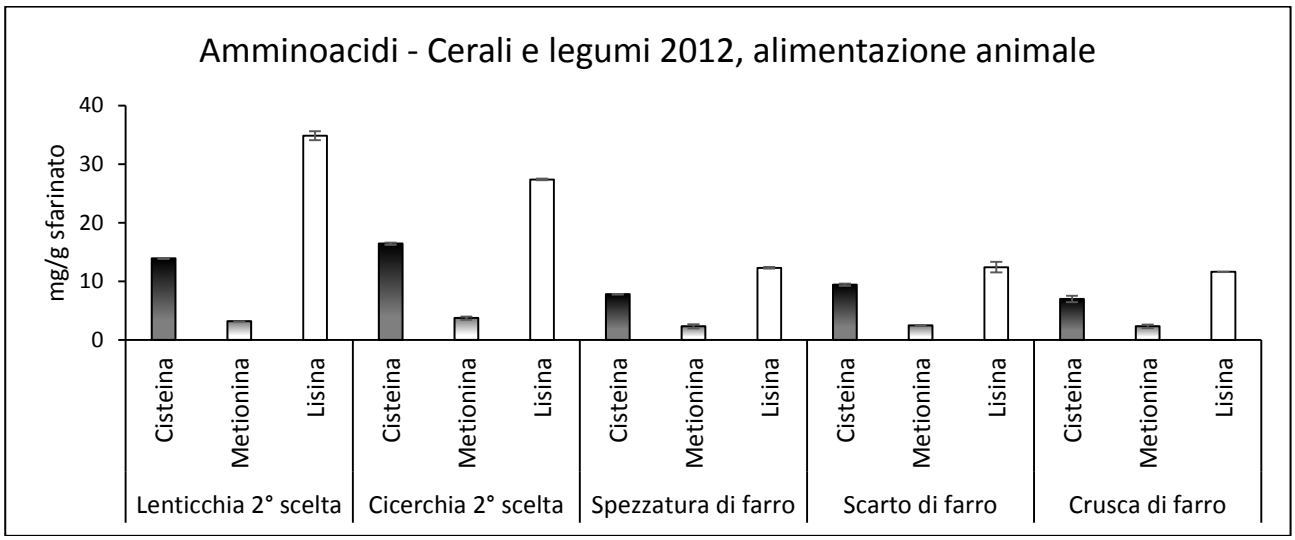


Figura 57: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di cereali e legumi destinate all'alimentazione animale, raccolte nel 2012. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

I campioni di cereali destinati all'alimentazione animale raccolti nel 2013 (Figura 58) mostravano contenuti diversi sia di lisina che degli aminoacidi solforati. Sia la crusca di farro perlato che quella d'orzo avevano livelli di lisina più elevati rispetto al grano del faraone di 2° scelta (7,8 mg/g di sfarinato). Al contrario, quest'ultimo prodotto esibiva un maggior contenuto di cisteina (10,9 mg/g di sfarinato) rispetto alle due crusche (8 e 9,7 mg/g di sfarinato). La metionina è l'aminoacido meno presente in questi campioni, con un contenuto variabile tra 1,5 e 3,5 mg/g di sfarinato (crusca di farro perlato e crusca d'orzo rispettivamente). Il grano del faraone destinato all'alimentazione animale aveva contenuti molto simili a quello per la nutrizione umana nei livelli di cisteina e lisina, mentre il contenuto di metionina in quello di seconda scelta era inferiore del 42%.

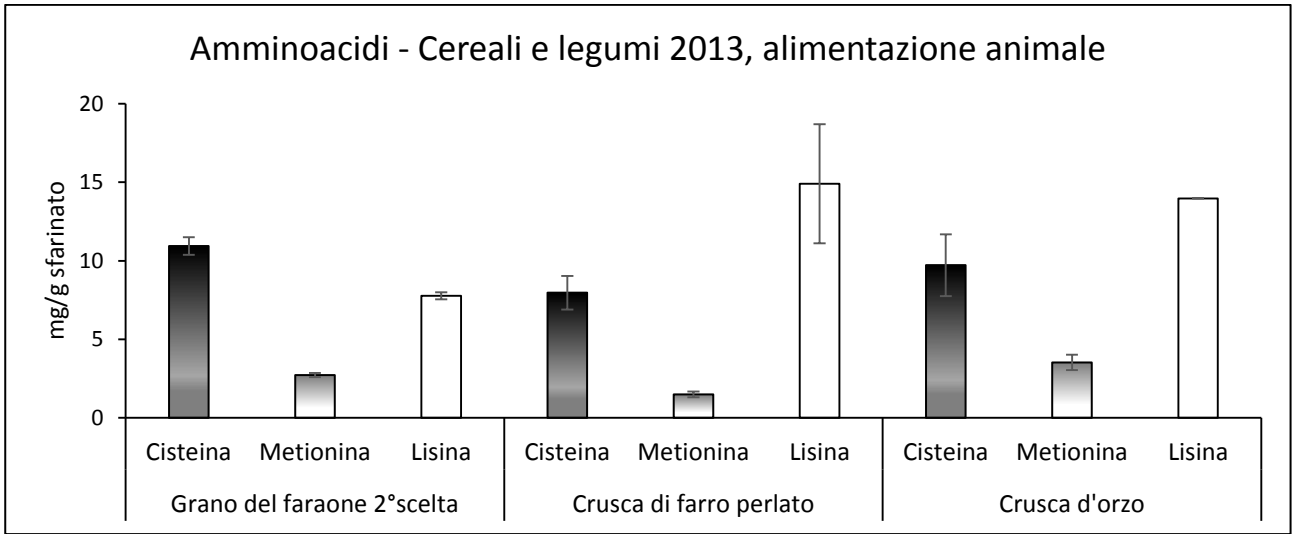


Figura 58: Contenuto degli aminoacidi cisteina, lisina e metionina nelle granelle di cereali destinate all'alimentazione animale, raccolte nel 2013. Gli istogrammi riportano i valori medi ± deviazione standard

I campioni destinati all'alimentazione umana, raccolti sia nel 2012 che nel 2013, oltre ad essere stati caratterizzati per la loro componente proteica-amminoacidica, sono stati sottoposti ad analisi HPLC per determinare il contenuto dei principali carotenoidi. L'analisi del contenuto di questi metaboliti secondari risulta particolarmente interessante da un punto di vista nutraceutico. È stato dimostrato che la luteina diminuisce nell'uomo il rischio di insorgenza di malattie degli occhi e della pelle. Tale composto non viene prodotto dal corpo umano e deve essere assunta con l'alimentazione. Il β-carotene è un precursore della vitamina A, a cui è stata riconosciuta un'azione antiossidante, anti-carcinogena, protettiva della vista, rafforzativa del sistema immunitario insieme ad una capacità di riduzione del rischio di infezioni. Le clorofille sono anch'esse coinvolte, seppur in misura minore, nel mantenimento della salute umana, ad esempio nell'abbassamento della pressione sanguigna e nel controllo degli zuccheri nel sangue.
L'analisi è stata eseguita mediante HPLC estraendo la frazione lipidica da 1,5 g di farina a cui venivano aggiunti 0,15 mg di MgCO3 e 35 ml di una miscela di metanolo e THF (tetraidrofurano) 1:1, contenente 0,1% BHT (butilidrossitoluene) come antiossidante. Il campione viene omogeneizzato con ultraturrax e filtrato sottovuoto. L'estrazione viene eseguita 2 volte e le miscele ottenute vengono raccolte in un pallone e ridotte ad un volume di circa 0,5 mL mediante evaporatore rotante. In seguito il campione viene contro-estratto impiegando 1 mL di esano, filtrato e iniettato in HPLC.
La separazione dei carotenoidi è stata condotta utilizzando una colonna ODS ad un flusso 0,8 mL/min utilizzando come fasi mobili la soluzione A (100% acetonitrile) e la soluzione B (metanolo/esano/diclorometano 1:1:1).

Le analisi hanno evidenziato la presenza di luteina e β-carotene in tutti i campioni mentre le clorofille erano presenti solo in alcune delle farine considerate (Tabelle 27 e 28). I legumi risultavano in ogni caso più ricchi in carotenoidi rispetto ai cereali.

I legumi contenevano composti diversi, in quantità diverse, in funzione della specie o della varietà analizzata. Dalla Tabella 27 si evince che solamente i semi di cece nero e lenticchia contenevano clorofille, sia a che b. In entrambi gli anni il cece aveva contenuti di clorofille circa doppi rispetto a quelli della lenticchia.

La luteina è il carotenoide presente in quantità maggiori in tutte le granelle di legumi analizzate.

I livelli di luteina ottenuti per la lenticchia confermano il contenuto riportato in letteratura per alcune varietà dello stesso legume sebbene ben 20 cv risultassero prive di β-carotene, diversamente da quanto riscontrato in questa ricerca ma in accordo con i risultati di altri autori

I livelli medi di luteina misurati nei campioni di cece fiorentino e cece nero del 2012 risultavano superiori in quest'ultimo, in accordo con quanto riportato da alcuni autori in due varietà di cece, in cui la varietà identificata come "brown" mostrava il contenuto maggiore.

Il cece nero mostrava anche il maggior contenuto in β-carotene tra tutti i legumi analizzati. Il contenuti di luteina e β-carotene nella cicerchia erano inferiori a quelli riportati per la lenticchia ed ad entrambe le varietà di cece ma superiori a quelli del fagiolo toscanello. Questo legume è risultato infatti il meno ricco in carotenoidi, con valori di luteina e di β-carotene rispettivamente pari a circa l'uno e il due % quelli del cece nero.

	2012				2013			
	Luteina	β-carot	Clorof *a*	Clorof *b*	Luteina	β-carot	Clorof *a*	Clorof *b*
Cece nero	16.8±2.7	2.2±0.3	11.3±0.1	5.4±0.5	24.0±1.0	3.9±0.01	20.0±0.1	8.0±0.9
Cicerchia	5.4±0.2	0.3±0.01	-	-	6,4±1.0	0,3±0,0	-	-
Lenticchia	13.7±2.5	1.3±0.3	5.5±0.7	2.5±0.3	15.7±1.0	1.0±0.0	8.9±0.1	4.7±0.9
Fagiolo toscanello	0.2±0.2	0.05±0.00	-	-	0.1±0.0	0.04±0.0	-	-
Cece fiorentino	11.3±0.7	1.4±0.2	-	-				
Fagiolo zolfino					0.2±0.0	0.06±0.0	-	-
Cece piccino					12.5±0.5	1.4±0.0	-	-

Tabella 27: Contenuto di carotenoidi (mg/g di sfarinato) in granelle di legumi destinate all'alimentazione umana. Valori medi ± deviazione standard

Anche nel 2013 la luteina era il pigmento più abbondante in tutti i campioni e la presenza delle clorofille veniva riscontrata solo nel cece nero e nella lenticchia. Generalmente, in tutte le granelle, si è osservato un maggior contenuto di pigmenti nella seconda annata.

Come già osservato nel 2012, anche nel 2013 il maggior contenuto di luteina e β-carotene è stato misurato nel cece nero, con valori superiori del 43% e del 77% rispetto a quelli dell'anno precedente. Un risultato simile è stato osservato anche per le due clorofille (+77% e 48% rispettivamente per clorofilla a e b rispetto all'anno precedente).

Il cece piccino mostrava contenuti di pigmenti simili a quelli del cece fiorentino campionato nel 2012. Relativamente alla lenticchia, nel 2013 tutti i composti, ad eccezione del β-carotene, mostravano un contenuto moderatamente superiore a quello dell'anno precedente.

I valori ottenuti nel 2013 dalle analisi della cicerchia mostravano un incremento di circa il 19% nel contenuto di luteina rispetto all'anno precedente. Come già osservato nel 2012 per il fagiolo toscanello,

anche nel 2013 i livelli più bassi di pigmenti sono stati osservati nelle granelle dei due fagioli esaminati, fagiolo zolfino e fagiolo toscanello.
Dalla valutazione del contenuto dei carotenoidi presenti nei campioni di cereali (Tabella 28) è emerso che la luteina è il principale pigmento presente in questo tipo di granelle. Inoltre, in nessuno dei campioni esaminati è stata riscontata la presenza di clorofilla a o b. Nel 2012 il farro monococco mostrava livelli di luteina più alti rispetto al farro dicocco (+65%), e il grano del faraone rispetto al
grano Cappelli (+62%). Per questi ultimi due campioni un risultato simile era riscontrato anche nel 2013.
Il miglio decorticato, campionato solo nel 2013, esibiva i livelli più alti tra tutte le granelle analizzate, sia per la luteina che per il β-carotene. I valori di luteina del grano del faraone e del grano Cappelli erano molto simili a quelli determinati nei campioni dell'anno precedente. Una diminuzione dei livelli di luteina è stato invece registrato per il farro monococco nel 2013 (-52%).

	2012		2013	
	Luteina	β-carot	Luteina	β-carot
Grano faraone	3,4±0,1	0,11±0,01	3,7±0.0	0,16±0,03
Grano Cappelli	2,1±0,1	0,05±0,00	2,8±0,4	0,07±0,01
Farro monococco	3,3±0,4	0,06±0,01	1,6±0,0	0,08±0,00
Farro dicocco	2,0±0,2	0,04±0,00		
Miglio decorticato			7,2±0,3	0,31±0,00

Tabella 28: Contenuto di carotenoidi (mg/g di sfarinato) in granelle di cereali destinate all'alimentazione umana. Valori medi ± deviazione standard

La determinazione del contenuto di tocoferoli è stata condotta estraendo 2,5 di g di sfarinato per le leguminose e 5 g per i cereali rispettivamente con 25 o 50 mL di KOH 1 M in etanolo. La miscela ottenuta viene omogeneizzata tramite Ultraturrax per 1 min e lasciata in agitazione per tutta la notte, al buio. Dopo centrifugazione a 5000 g per 5 min il surnatante è filtrato e portato a secco tramite evaporatore rotante. Il campione viene risospeso in 4 mL di etanolo e contro-estratto con 4 mL di acqua MilliQ e 8 mL di esano. La miscela ottenuta viene agitata tramite vortex e poi centrifugata a 3500 g per 5 min. Il surnatante viene recuperato e utilizzato per una seconda estrazione con esano. La fase superiore ottenuta è stata unita a quella precedentemente prelevata, poi portata a secco e successivamente risospesa in 1 mL di una miscela di esano ed etil acetato in rapporto 4:1. Il campione ottenuto viene filtrato ed iniettato in HPLC equipaggiato con detector fluorimetrico (λ eccitazione 298 nm, λ emissione 330 nm). La separazione dei tocoferoli è stata condotta utilizzando una colonna C18 e come fasi mobili la soluzione A (metanolo/acetonitrile/acqua 10/70/20) e la soluzione B (metanolo/etilacetato 70/30).
In Figura 59 sono riportati i contenuti totali di tocoferoli estratti dai legumi destinati all'alimentazione umana.
In entrambi gli anni, i livelli più alti di questi composti sono stati riscontrati nelle granelle delle diverse varietà di cece, che mostravano valori medi molto simili tra loro e compresi tra 2 e 2.97 mg/100g sfarinato. La lenticchia mostra un contenuto di tocoferoli leggermente inferiore a quello dei ceci. Anche i livelli riscontrati nella cicerchia e nel fagiolo toscanello risultano inferiori rispetto ai dati riportati da altri autori.
Nel 2013 il contenuto di tocoferoli nel cece nero risultava inferiore a quello dell'anno precedente del 24%. Un decremento nel livello di tocoferoli è stato registrato anche nella lenticchia (-17%), mentre la cicerchia mostrava un contenuto di tocoferoli di circa il 27% superiore rispetto a quello del 2012.

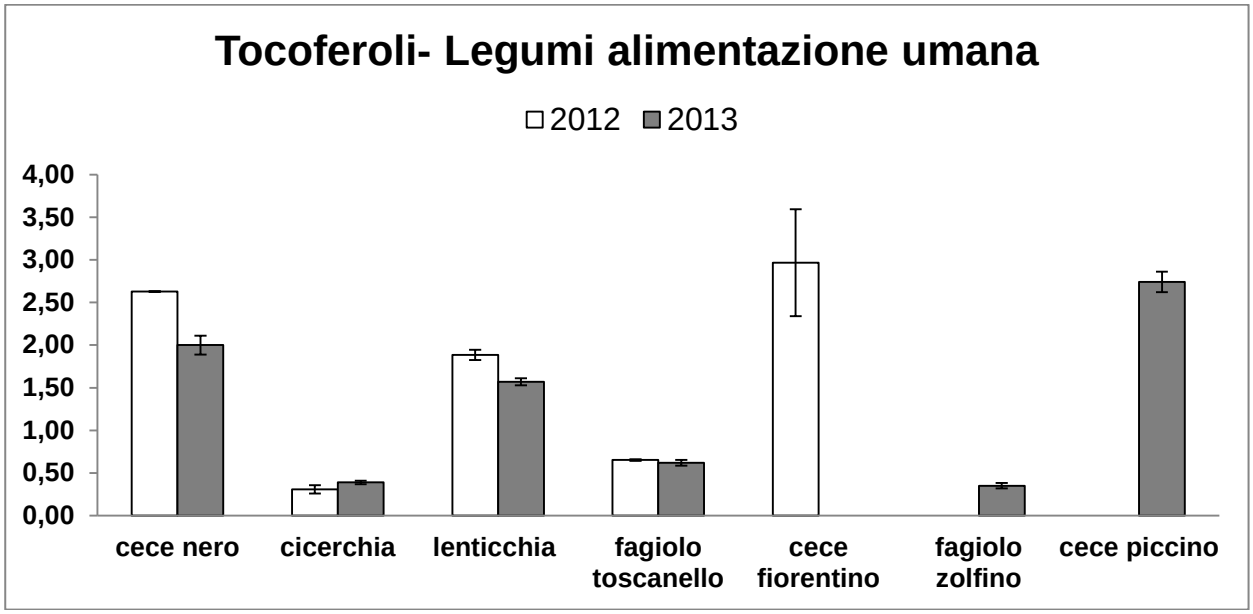


Figura 59: Contenuto di tocoferoli totali in granelle di leguminose destinate all'alimentazione umana. Gli istogrammi riportano i valori medi espressi come mg/100 g di sfarinato ± deviazione standard

Relativamente ai cereali (Figura 60), il farro monococco e il dicocco esibivano simili contenuti di tocoferoli. Tra le granelle campionate nel 2012, il grano Cappelli mostrava il maggiore contenuto di tocoferoli, circa tre volte quello del grano del faraone. Nel 2013 il miglio decorticato è risultato la granella con il maggiore contenuto di tocoferoli (0.65 mg/100g sfarinato). Sia il farro monococco che il grano del faraone mostravano nel 2013 contenuti di tocoferoli superiori a quelli ottenuti nell'anno precedente (rispettivamente 26% e 46%), mentre nel grano Cappelli i livelli di tocoferoli diminuivano del 70%.

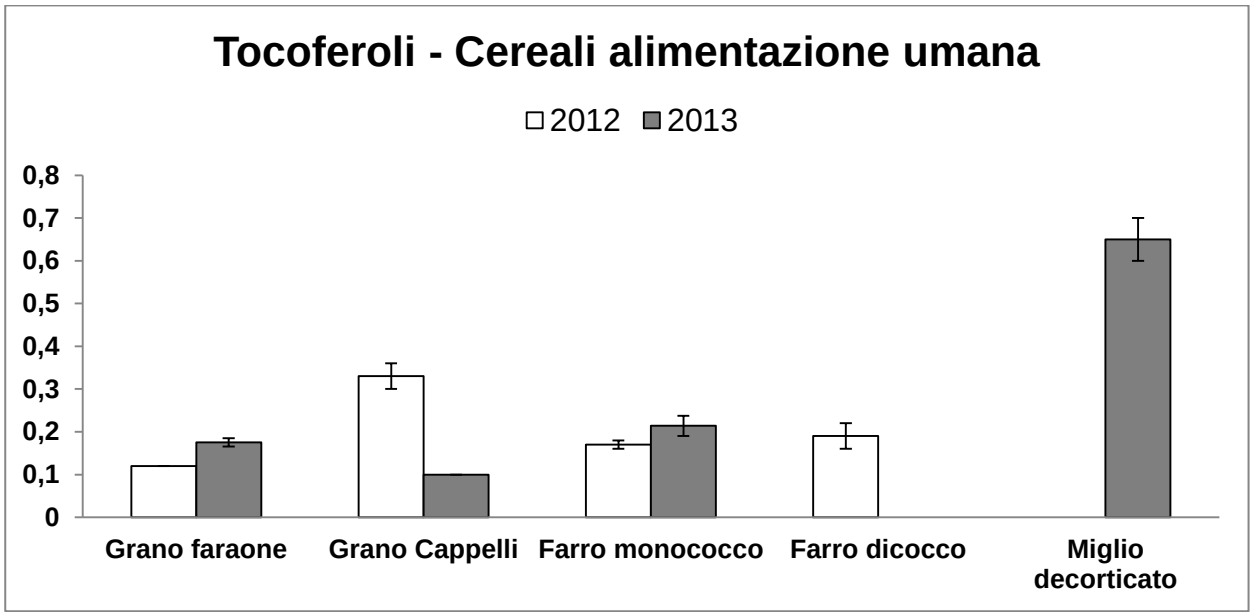


Figura 60: Contenuto di tocoferoli totali in granelle di cereali destinate all'alimentazione umana. Gli istogrammi riportano i valori medi espressi come mg/100 g di sfarinato ± deviazione standard

I risultati della caratterizzazione dei prodotti primari e secondari effettuata nei due anni del progetto possono essere sintetizzati nei seguenti punti:

- Le granelle di leguminose, in entrambe le annate considerate e per le due destinazioni alimentari prese in esame, presentano livelli di proteine grezze più del doppio di quelli dei cereali.
  Nelle leguminose il contenuto di proteine era maggiore nel 2012 rispetto all'anno successivo, mentre per i cereali il contenuto era maggiore nelle granelle campionate nel 2013.
- La valutazione delle diverse frazioni proteiche ha mostrato che nei legumi le globuline sono le proteine di riserva più abbondanti, indipendentemente dall'annata considerata, mentre le prolammine sono presenti in percentuali bassissime. I cereali, sia del 2012 che del 2013, non mostravano invece la presenza di una frazione preponderante, perché tutte mediamente simili tra loro. Il miglio costituisce un'eccezione mostrando livelli di prolammine molto più bassi rispetto agli altri cereali. Sia legumi che cereali mostravano all'interno di ogni singola frazione una certa variabilità legata alla specie e/o varietà, ed all'annata considerata.
- L'analisi SDS-PAGE delle singole frazioni mostrava variabilità legata alla specie e/o varietà, mentre il profilo rimaneva pressoché invariato in funzione dell'annata considerata.
- L'analisi degli aminoacidi ha mostrato che i legumi (per entrambe le destinazioni alimentari) possiedono livelli più alti rispetto ai cereali sia di lisina che di metionina e cisteina. Generalmente, la lisina è l'aminoacido presente in maggiori quantità nei legumi, seguita dalla cisteina e poi dalla metionina .Nei cereali, in generale, i livelli di lisina e cisteina non sono molto diversi tra loro con l'eccezione del miglio decorticato, dove la cisteina appare essere di gran lunga l'aminoacido più abbondante.
- L'analisi del contenuto dei carotenoidi ha mostrato che la luteina è il pigmento principale sia per i legumi che per i cereali analizzati, mentre il b-carotene è presente in quantità più esigue. I legumi mostravano sempre un contenuto maggiore di questi composti rispetto ai cereali, in entrambe le annate considerate. Solo in cece nero e lenticchia è stata osservata anche la presenza d ella clorofilla a e b. Tra i legumi il cece nero mostra i livelli maggiori di carotenoidi, mentre per i cereali il maggior contenuto di questi composti è stato osservato nel miglio decorticato. Un generale aumento della concentrazione di questi pigmenti è stato osservato nelle granelle raccolte nel 2013 rispetto a quelle del 2012.
- Il contenuto di tocoferoli totali era sempre maggiore nei legumi rispetto ai cereali. Anche per queste molecole si evidenzia variabilità tra specie e varietà considerate. Le tre varietà di cece e le lenticchie mostrano i maggiori livelli tra i legumi, mentre tra i cereali, come già osservato per i carotenoidi, è il miglio decorticato a possedere il maggiore contenuto di tocoferoli. Le granelle raccolte nelle due annate mostrano livelli differenti a seconda della specie considerata.

Nell'ambito della presente azione sono stati caratterizzati i seguenti co-prodotti o sotto prodotti della filiera ai fini di una loro **utilizzazione zootecnica**:

Spezzatura di farro
Scarto di farro
Crusca di farro
Lenticchia di seconda scelta
Spezzatura grano faraone
Crusca d'orzo
Crusca di farro perlato
Favino

Le analisi eseguite su queste materie prime, come da progetto sono state le seguenti: umidità, proteina grezza, ceneri, estratto etereo, frazioni fibrose secondo lo schema Van Soest (NDF, ADF, ADL), frazioni azotate secondo lo schema CNCPS (NDFIP, ADFIP, NPN, proteina solubile), amido, composizione degli acidi grassi, profilo proteico, composizione amminoacidica, contenuto in fenoli totali.

Tabella 29: Caratteristiche chimico-nutrizionali dei co-prodotti e sottoprodotti della filiera BIOLEG da destinare all'alimentazione animale.

	Sostanza secca (%)	Proteina grezza (%)	Ceneri (%)	Estratto etereo (%)	Amido (%)	Polifenoli (mg/kg)
Spezzatura di farro	89.1	11.1	1.9	2.3	55.1	568.1
Scarto lenticchia	88.1	23.6	3.7	2.7	45.0	6594.1
Scarto di farro	88.7	12.8	2.0	2.6	56.3	783.4
Crusca di farro	88.5	10.7	5.7	4.3	17.3	2148.3
Crusca farro perlato	88.6	9.6	7.2	5.1	16.4	2494.4
Crusca d'orzo	89.7	11.6	6.9	4.4	16.5	2535.0
Scarto cicerchia	88.5	26.1	3.9	1.6	43.1	790.7
Favino	91.9	25.2	3.9	1.8	32.5	8965.6
Spezzatura grano faraone	92.2	12.2	2.0	0.9	55.6	582.6

	Frazioni fibra			Frazioni proteiche				Aminoacidi		
	NDF (%)	ADF (%)	ADL (%)	NDFIP (%)	ADFIP (%)	NPN (%)	PS (%)	Cisteina (mg/g)	Metionina (mg/g)	Lisina (mg/g)
Spezzatura di farro	10.8	2.6	0.4	1.8	0.7	0.5	0.9	7.8	1.5	12.3
Scarto lenticchia	23.1	8.0	0.7	1.5	0.7	0.7	3.5	13.9	3.2	34.9
Scarto di farro	12.4	4.3	1.0	1.7	0.9	1.7	2.2	9.4	1.6	12.4
Crusca di farro	44.5	21.4	5.0	2.1	1.1	1.5	2.0	7.0	1.2	11.6
Crusca farro perlato	50.5	29.2	6.9	1.4	0.7	2.0	3.1	8.0	1.5	14.9
Crusca d'orzo	50.7	24.8	5.0	1.5	0.7	2.4	3.0	9.7	3.5	14.0
Scarto cicerchia	18.5	14.3	0.9	3.1	0.6	0.9	2.9	16.4	3.8	27.4
Favino	20.2	16.3	0.8	3.2	0.9	0.8	3.6	12.2	2.1	17.0
Spezzatura grano faraone	14.8	2.9	0.5	1.3	0.4	1.5	0.2	10.9	2.7	7.8

g/100 g acidi grassi	Acidi grassi saturi	Acidi grassi monoinsaturi	Acidi grassi polinsaturi	Acidi grassi polinsaturi n-6	Acidi grassi polinsaturi n-3
Spezzatura di farro	17,4	21,4	61,2	56,2	4,0
Scarto lenticchia	19,5	27,5	52,2	42,0	10,0
Scarto di farro	17,5	21,3	61,1	56,1	4,1
Crusca di farro	17,6	21,2	61,0	56,3	4,0
Crusca farro perlato	17,4	21,3	61,2	56,4	4,2
Crusca d'orzo	19,7	18,0	62,2	54,4	6,5
Scarto cicerchia	22.1	18.3	59.6	53.1	4.3
Favino	18,8	23,3	56,7	51,4	5,2
Spezzatura grano faraone	21,5	15,9	62,1	57,8	4,3

I principali sottoprodotti e co-prodotti derivano dalla pulitura e molitura dei cereali (crusche e spezzature) e dalla selezione delle granelle di leguminose per il consumo umano (lenticchie e cicerchie). La filiera, inoltre, produce favino, una granella di leguminose destinata esclusivamente ad alimentazione animale. Tutti questi prodotti sono stati analizzati per le caratteristiche chimico-nutrizionali a fini di una loro utilizzazione zootecnica. Le fonti proteiche sono rappresentate dalle tre tipologie di granelle di leguminose: favino, cicerchia e lenticchia, mentre gli altri sottoprodotti sono da considerarsi prevalentemente una fonte energetica. Da segnalare le crusche che si caratterizzano anche per un discreto contenuto di proteina. Le tre tipologie di granelle di leguminose hanno un contenuto di proteina grezza inferiore al 30% e un contenuto di amido piuttosto elevato. Questo aspetto le differenzia notevolmente dalle materie prime usualmente utilizzate in alimentazione animale (farina di estrazione di soia), che contengono più elevate quantità di proteina e un minor contenuto di amido. D'altra parte in zootecnia biologica l'uso della farina d estrazione di soia non è consentito, quindi è necessario utilizzare strategie differenti per formulare razioni adeguate. Per quanto riguarda la lenticchia e la cicerchia da segnalare il buon contenuto in lisina che le rende particolarmente adatte all'inserimento in razioni per suini e polli. Per i ruminanti, le più recenti acquisizioni consigliano di ridurre il contenuto di proteina grezza nella razione a valori non superiori al 16% per quelli da latte e non superiore al 12% per quelli da carne, quindi anche fonti proteiche a moderato contenuto di proteina grezza possono essere utilmente impiegate per l'alimentazione di questi animali. Questo aspetto è particolarmente importante nl settore biologico dove le razioni dovrebbero evitare la forzatura alimentare delle produzioni.

Tra gli aspetti interessanti si segnala un tenore più elevato di acidi grassi omega-3 nella granella di lenticchia rispetto a tutte le altre materie prime considerate, associato ad un buon contenuto di polifenoli che ne rafforzano l'attività antiossidante.

Al seguente link è possibile visionare le **schede nutrizionali** di tutti prodotti analizzati: http://www.avanzi.unipi.it/ricerca/ricerca_news/bioleg.htm

Azione 5.3: test di collaudo per la definizione di strategie alimentari

La presente azione aveva come obiettivo la valutazione dell'efficienza di mangimi formulati con gli ingredienti provenienti dalla filiera BIOLEG in diverse tipologie di allevamenti biologici. Questo al fine di valorizzare al meglio tutti i sottoprodotti e i co-prodotti della filiera, recuperando valore aggiunto per le aziende della filiera stessa. I mangimi sono stati formulati in collaborazione con il partner diretto Molino Cicogni che ha anche provveduto alla loro preparazione e alla loro consegna nelle aziende sede dei test. Inizialmente erano state preventivate tre tipologie di test: su ovini da latte, su bovini da carne e su suini. Tuttavia essendo la disponibilità di co-prodotti e di sottoprodotti legata alla produzione totale delle granelle, le quantità degli ingredienti necessari alla produzione dei mangimi sono state tali da consentire di formulare solo due tipologie di mangimi: uno per bovini da carne e uno per ovini da latte.

Collaudo su ovini da latte

Sede del collaudo è stata azienda agricola f.lli Mesina, partner indiretto; l'obiettivo è stato quello di formulare un mangime composto per almeno l'80% da co-prodotti e sottoprodotti della filiera BIOLEG e verificare la sua efficacia in un allevamento di pecore da latte in confronto ad un mangime standard biologico

Per questo, nelle prime quattro settimane di collaudo si è proceduto alla valutazione delle performance produttive del gregge alimentato con il mangime commerciale normalmente utilizzato nell'allevamento. Per la valutazione di cui sopra, sono stati effettuati campionamenti settimanali di latte, rilievi settimanali del numero di capi presenti e della quantità di latte prodotta nella mattina corrispondente, il prelievo di campioni di foraggi conservati e di campioni di pascolo, il rilievo delle quantità di mangime e di foraggio conservato somministrati alle pecore, il rilievo del numero medio di ore giornaliere in cui le pecore sono state tenute al pascolo. Alla fine delle quattro settimane sono stati ripetuti i prelievi e i rilievi sulla razione eseguiti all'inizio. Sui campioni prelevati sono state condotte le seguenti analisi: latte = contenuto di grasso, proteina, lattosio, urea, caseina, cellule somatiche, composizione degli acidi grassi e contenuto di calcio; alimenti = umidità, PG, EE, NDF, ADF, ADL, ceneri; frazioni glucidiche e proteiche secondo lo schema CNCPS.

La seconda fase del collaudo, durata 3 mesi, è consistita nella sostituzione progressiva del mangime, "convenzionale" con quello di nuova formulazione.

Il cambio di mangime è avvenuto nell'arco di una settimana attraverso una sostituzione graduale del mangime aziendale con quello sperimentale. Le quantità di mangime sono state commisurate alla produttività del gregge e alla disponibilità di pascolo. I rilievi sperimentali sono stati i medesimi di quelli previsti nella prima fase.

Tabella 30: Composizione del mangime formulato con le materie prime provenienti dalla filiera BIOLEG

Mangime BIOLEG	% sul tal quale
Favino *	25
Frumento duro spezzatura*	15
Lenticchia scarto *	15
Mais	12
Orzo *	10
Avena *	10
Crusca frumento *	8
Integrazione minerale	5
Percentuale ingredienti filiera BIOLEG	83

* Materia prima proveniente dalla filiera BIOLEG

Tabella 31: Composizione chimica dei due mangimi utilizzati nel test sperimentale.

	Mangime BIOLEG	Mangime standard
Umidità	11,0	11,0
Proteina grezza	18,0	17,5
Estratto etereo	2,5	5,6
Ceneri	7,2	10,0
NDF	16,5	24,3
ADF	8,8	16,0
ADL	1,1	3,2
UFL	1,2	1,2

Tabella 32: Caratteristiche delle frazioni glucidiche e proteiche dei due mangimi utilizzati nel test sperimentale.

Mangime BIOLEG		
Frazione	% ss	% CHO
CHO	72.30	100.00
A	8.80	12.17
B1	49.00	67.77
B2	11.86	16.40
NSC	57.80	79.94
C	2.64	3.65

Mangime standard		
Frazione	% ss	% CHO
CHO	66.90	100.00
A	9.60	14.35
B1	35.00	52.32
B2	14.62	21.85
NSC	44.60	66.67
C	7.68	11.48

Mangime BIOLEG		
Frazione	% ss	% PG
A	3.60	20.00
B1	0.40	2.22
B2	12.00	66.67
B3	1.20	6.67
C	0.80	4.44
totale	18.0	100

Mangime standard		
Frazione	% ss	% PG
A	2.00	11.43
B1	0.50	2.86
B2	13.00	74.29
B3	1.20	6.86
C	0.80	4.57
totale	17.5	100

Principali risultati ottenuti

I due mangimi sono risultati isoproteici e isoenergetici e sono stati somministrati in quantità comparabili al gregge (circa 500 g/capo al giorno), al fine di sostenere una produzione di latte che, nell'intero periodo del test sperimentale (circa 4 mesi) è stata mediamente di 0,8 kg/capo al giorno. Pur avendo un contenuto comparabile di proteina e di energia netta, il mangime BIOLEG, grazie al suo contenuto in materie prime, aveva un più elevato livello di zuccheri solubili e di amido e un più basso contenuto di carboidrati lentamente degradabili o indegradabili. Queste caratteristiche rendono il mangime formulato particolarmente adatto all'utilizzo durante il periodo di pascolamento delle pecore, in quanto si associa bene alle caratteristiche dell'erba fresca, ricca di zuccheri solubili e di azoto fermentescibile e povera di amido. Nel caso dell'allevamento biologico, che prevede il ricorso al pascolo ogni qual volta le condizioni

pedoclimatiche lo consentono, questo tipo di mangime è in grado di integrare efficientemente il razionale utilizzo del pascolo. I risultati produttivi mettono in evidenza una sostanziale equivalenza del mangime BIOLEG con quello standard normalmente utilizzato dall'azienda, relativamente alla produzione totale di latte. Considerando tuttavia che il mangime BIOLEG è stato somministrato nei tre mesi successivi al periodo di utilizzazione del mangime standard, è possibile ipotizzare una miglior efficienza del mangime BIOLEG, in quanto ha consentito di mantenere inalterata la produttività del gregge in una fase più avanzata della curva di produzione del latte.
Il risultato più interessante ha riguardato il contenuto di grasso, che è stato significativamente più elevato nel periodo di utilizzazione del mangime BIOLEG di poco più del 10% (6,6 contro 5,9, rispettivamente per il mangime BIOLEG e quello standard). Questo risultato è probabilmente dovuto al miglio profilo glucidico del mangime BIOLEG, già evidenziato in precedenza. Gli altri parametri di qualità del latte non sono risultati significativamente differenti.

Tabella 33: Produzione e composizione del latte prodotto durante il test sperimentale utilizzando le due tipologie di mangimi.

	Mangime BIOLEG	Mangime standard
Produzione di latte (kg/capo/d)	0,8	0,8
Grasso %	6,6	5,9
Proteina %	5,3	5,2
Lattosio %	4,5	4,6
Caseina %	4,1	3,9
SCC (LOG)	6,4	6,3
SFA	58,9	64,0
MUFA	33,2	28,0
PUFA	7,2	7,2
PUFA n-6	3,7	4,0
PUFA n-3	3,5	3,2
N-6/N-3	1,0	1,2
CLA	1,3	1,2

Collaudo su bovini da carne

Il collaudo dei "nuovi" formulati è stato condotto presso l'azienda agricola tenuta di Paganico, partner indiretto. L'obiettivo è stato quello di formulare due mangimi composti da co-prodotti e sottoprodotti della filiera BIOLEG e verificare la loro efficacia in un allevamento di bovini da carne tenendo in considerazione l'interazione tra le fonti proteiche utilizzate (lenticchia, cicerchia e favino) e la degradabilità dell'amido delle fonti energetiche impiegate. A tal fine, in un mangime sono stati introdotte farine di cereali e sottoprodotti con prevalenza di amido a lenta fermentescibilità (mangime AI), mentre nell'altro mangime sono state utilizzate le medesime granelle di leguminose, ma in combinazione con farine di cereali e sottoprodotti contenenti amido rapidamente fermentescibile (mangime AD). Nel caso del mangime AD la quantità di ingredienti provenienti dalla filiera BIOLEG era del 95%, mentre nel caso del mangime AI tale quantità scendeva al 50%, in quanto il mais era di provenienza extra-filiera.

Mangime AI	quantità %
Mais	50
Favino	15
Orzo	10
Lenticchia	10
Cicerchia	10
Integratori e legante	5
Totale	100

Mangime AD	quantità %
Triticum turanicum	30
Spezzatura farro	20
Orzo	15
Avena	15
Lenticchia	5
Cicerchia	5
Favino	5
Integratori e legante	5
Totale	100

Il test sperimentale ha previsto l'utilizzo di una razza locale, la razza Maremmana, e di una razza cosmopolita selezionata, la razza Limousine. Per ciascuna di queste due razze sono stati scelti 8 soggetti (omogeni per età e peso); 4 soggetti per gruppo sono stati alimentati con il mangime AD e 4 con mangime AI; la base foraggera era composta da fieno polifita prodotto in azienda fornito a volontà.
Le razioni proposte sono state testate sugli animali per un periodo di 4 mesi e le macellazioni degli animali sono state programmate considerando il raggiungimento, come obiettivo, di un peso minimo di 350 kg e di un'età di macellazione non superiore ai 20 mesi. Con cadenza quindicinale gli animali sono stati pesati e con cadenza settimanale sono stati registrati i consumi di alimenti e raccolti campioni dei foraggi impiegati in azienda.

Tabella 18: Composizione chimica degli alimenti (fieno e concentrati) utilizzati per il test sperimentale.

	Fieno	AI	AD
SS %	88.73	90.36	91.06
PG	6.90	15.56	14.47
EE	1.36	2.82	2.45
NDF	62.99	10.54	14.45
ADF	39.80	6.71	6.72
ADL	5.68	1.01	0.97
NDF ip	2.21	1.46	1.07
ADF ip	1.07	1.04	0.67
NPN	1.48	4.41	3.32
PS	0.98	4.50	4.58
Ceneri	9.77	6.82	7.02
Amido	-	58.44	60.10

Sui campioni prelevati sono state effettuate le seguenti analisi: carne = composizione centesimale (sostanza secca, proteine totali, estratto etereo, minerali totali); colore con sistema CIElab; composizione in acidi grassi; alimenti = umidità, PG, EE, NDF, ADF, ADL, ceneri; frazioni glucidiche e proteiche secondo lo schema CNCPS.

Principali risultati ottenuti

Il test sperimentale ha avuto una durata complessiva di 8 mesi, durante quali ciascun vitellone è stato controllato per le variazioni di peso e l'ingestione di mangime. Il consumo medio di mangime non è risultato differente fra i due gruppi, variando da un minimo di 2.5 kg/capo giorno nella prima fase a un massimo di 5 kg/capo giorno nella fase terminale. Il peso finale, l'incremento medio giornaliero e i valori di resa sono risultati significativamente più elevati per i vitelloni del gruppo alimentato con il mangime AI. Tuttavia le differenze tra i due gruppi si cominciano ad osservare dopo il terzo mese di controllo, quando cioè gli animali erano entrati nella fase di finissaggio. Questo aspetto mette in evidenza due aspetti interessanti: il primo riguarda l'efficienza di utilizzo delle fonti proteiche utilizzate (lenticchia, cicerchia e

favino) per la formulazione dei due mangimi. Fino a quando gli animali hanno avuto uno sviluppo muscolare l'efficienza di utilizzazione delle fonti proteiche è stata paragonabile, a prescindere dal tipo di fonte energetica inserita nel mangime (amido degradabile o amido resistente). Successivamente, quando gli animali sono entrati nella fase di finissaggio dove l'energia viene prevalentemente convertita in grasso, il mangime contenente fonti di amido a lenta degradabilità (mangime AI) è risultato superiore, consentendo di ottenere valori di incrementi medi giornalieri, pesi corporei e rese alla macellazione significativamente più elevate. Il mangime del tipo AD, pertanto, sembra particolarmente adatto per le prime fasi di accrescimento dei vitelloni e dovrebbe quindi essere formulato a questo scopo.
A fronte di queste differenze nelle performance in vita e dei parametri post-mortem delle carcasse, la carne ottenuta dagli animali appartenenti ai due gruppi sperimentali non ha evidenziato alcuna differenza significativa né in termini di composizione chimica né in termini di colore. Le differenze relative al peso finale degli animali e al ritmo di accrescimento, pertanto, non hanno influito sulla qualità della carne.

Tabella 35: Principali risultati relativi all'utilizzo delle due tipologie di mangimi sperimentali in vitelloni i accrescimento e ingrasso.

	Tipo di mangime			
	AI	AD	Errore standard	P<0.05
Peso Finale (kg)	490.33	448.36	28.73	*
Incremento medio giornaliero (kg/d)	1.10	0.96	0.07	*
Peso carcassa a caldo (kg)	267.90	240.54	16.67	*
Peso pelle (kg)	45.33	40.54	4.39	*
Peso arti anteriori (kg)	4.83	4.52	0.37	*
Peso arti posteriori (kg)	5.13	4.89	0.30	*
Peso testa (kg)	18.54	17.00	1.20	*
Resa a caldo	54.80	53.99	0.56	*

Tabella 36: Caratteristiche qualitative della carne ottenuta dai vitelloni alimentati con i due mangimi sperimentali.

	AD	AI	Errore standard
Umidità (g/100 g carne)	75.47	75.35	0.73
Proteina grezza (g/100 g carne)	19.91	19.56	3.28
Estratto etereo (g/100 g carne)	1.72	2.05	0.21
Ceneri (g/100 g carne)	1.12	1.12	0.17
L	43.45	42.84	2.19
a	8.75	9.35	1.51
b	13.74	13.59	1.23
Tinta (H)	59.16	55.28	1.42
Croma (C)	16.54	16.61	1.16

Figura 30: Andamento del peso corporeo medio dei due gruppi di vitelloni alimentati con i mangimi sperimentali.

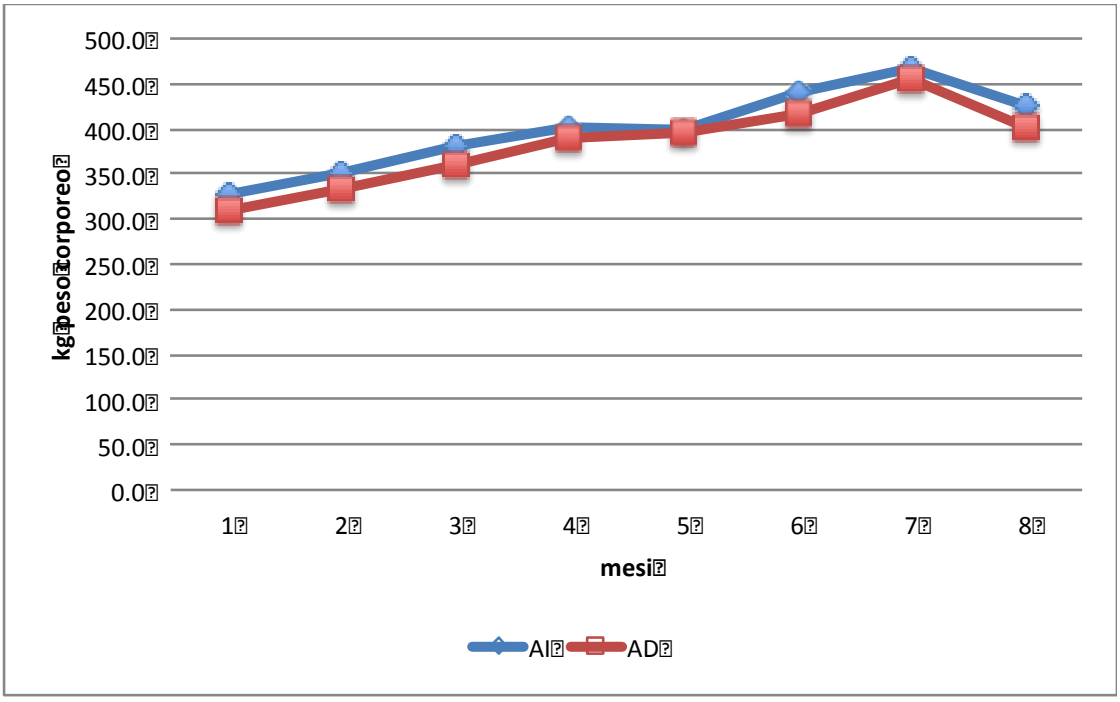
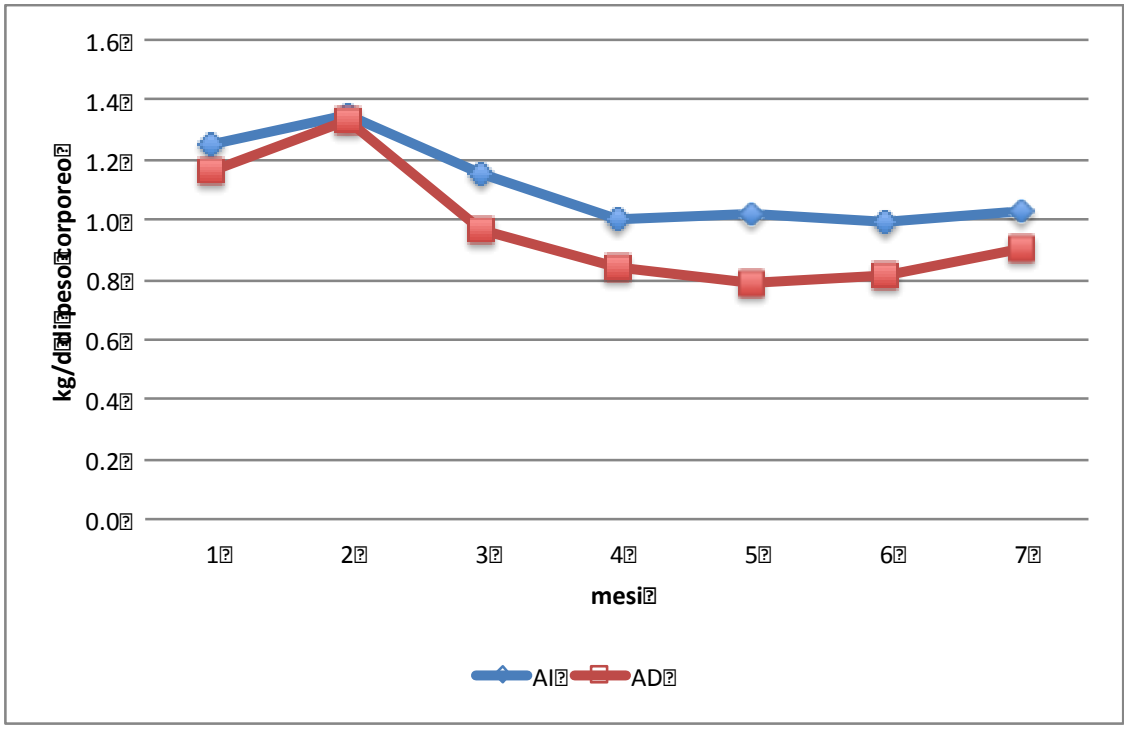


Figura 31: Andamento dei valori di incremento medio giornaliero (IMG) dei due gruppi di vitelloni alimentati con i mangimi sperimentali.



Conclusioni

In entrambi i test sperimentali i mangimi ottenuti dagli ingredienti provenienti dalla filiera si sono dimostrati efficaci negli ambiti di allevamento considerati ed è possibile pertanto ipotizzare un loro utilizzo nelle filiere zootecniche che riguardano l'allevamento ovino da latte e quello bovino da carne, cioè le due filiere più rappresentative della realtà zootecnica regionale, anche nel settore biologico. La collocazione geografica delle aziende aderenti al PIF facilita la commercializzazione delle materie prime per mangime provenienti dalla filiera, in quanto la provincia di Siena, assieme a quella di Grosseto, è rimasta un'area vocata sia per l'allevamento della pecora da latte sia per quello del bovino da carne. Le materie prime considerate nei test sperimentali, pertanto, potrebbero essere direttamente impiegate negli allevamenti limitrofi al centro di lavorazione delle granelle oppure ritirate da un mangimificio locale, come nel caso ipotizzato dal presente progetto. In entrambi i casi si avrebbe un notevole raccorciamento della filiera mangimistica con riflessi positivi sulla sostenibilità ambientale delle produzioni considerate.

Azione 6.1: predisposizione e diffusione di materiale divulgativo e materiale linee guida

È stato creato sul sito internet del CiRAA un link illustrativo delle tematiche del progetto (http://www.avanzi.unipi.it/ricerca/ricerca_news/documenti_ric_news/bioleg/bioleg.pd).
Durante l'Open day della Ricerca tenutosi a Pisa dal 10 all'11 aprile 2014 è stato esposto nello stand del CiRAA, per tutta la durata della manifestazione, un poster che illustrava gli obiettivi del progetto.

Figura 32 Open Day della Ricerca – Pisa, Aprile 2014.

In occasione delle giornate del 5 maggio (azienda Bordoni - Rapolano Terme) e del 4 giugno (CiRAA- Pisa) è stato predisposto il manifestino con il programma della giornata e il materiale informativo che è stato distribuito ai partecipanti. Presso il CiRAA un poster, posto in prossimità della prova di consociazione, ne illustrava le caratteristiche e il tipo di rilievi effettuati.

Per meglio illustrare le attività del progetto è stato realizzato un filmato dal titolo "Bioleg, diamo gambe all'agricoltura biologica" disponibile sul sito del CiRAA al seguente link:
http://www.avanzi.unipi.it/ricerca/ricerca_news/documenti_ric_news/bioleg/filmati/bioleg_filmato.avi

Sono stati inoltre redatte le *"Linee guida per l'ottimale utilizzo dei sottoprodotti della filiera delle leguminose da granella per l'alimentazione animale nell'ambito dell'allevamento biologico"* e le "*Linee guida per la coltivazione di leguminose e di cereali specifiche per il contesto produttivo della provincia di Siena"* entrambi disponibili al seguente link:
http://www.avanzi.unipi.it/ricerca/ricerca_news/documenti_ric_news/bioleg/linee_guida.pdf

Azione 6.2: organizzazione eventi pubblici

Il 5 maggio 2014 è stata organizzata, presso l'azienda Bordoni a Rapolano terme, una giornata di presentazione del progetto a carattere divulgativo. Nell'occasione sono stati illustrati sia gli obiettivi del PIF che della misura 124 ad esso legata. È stato inoltre possibile visitare anche le prove di collaudo sulle leguminose presenti presso l'azienda stessa. In particolare, per dar modo ai partecipanti della giornata di osservare le differenze tra i diversi sistemi di controllo, sono state messi in evidenza gli effetti della sarchiatura e della strigliatura sulle colture in comparazione con un testimone non trattato. Durante lo stesso evento è stato possibile visionare all'opera le macchine operatrici (erpice strigliatore e sarchiatrice di precisione) utilizzate per i trattamenti di controllo delle malerbe.
Per prendere visione degli interventi dei relatori:
http://www.avanzi.unipi.it/ricerca/ricerca_news/bioleg.htm

Il 4 giugno 2014 presso il CiRAA si è tenuto un incontro dal titolo "Agricoltura biologica e conservativa: problematiche a confronto" in cui sono state illustrate le caratteristiche della prova di collaudo sulla consociazione. Agli interventi è seguita una visita alla prova.
Per prendere visione della relazione tenuta nell'ambito della giornata:
http://www.avanzi.unipi.it/comunicazione/convegni/incontr_agricoltura_bio_e_conservativa_04_05_2014/giornata_agricoltura_bio_e_conservativa.htm

S. Piero a Grado, 28/01/2015

IL DIRETTORE