



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

**AVVISI PUBBLICI REGIONALI DI ATTUAZIONE PER L'ANNO 2015 DEL TIPO DI OPERAZIONE 16.1.01 "GRUPPI OPERATIVI DEL PEI PER LA PRODUTTIVITÀ E LA SOSTENIBILITÀ DELL'AGRICOLTURA" FOCUS AREA 2A, 4B, 4C, 5A E 5E
DGR N. 2268 DEL 28 DICEMBRE 2015**

RELAZIONE TECNICA FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO 5005168

DOMANDA DI PAGAMENTO 5085396

FOCUS AREA: 2 A

Titolo Piano	APPEN.BIO: DALL'APPENNINO CIBO PER LA SALUTE
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	ALCE NERO SPA
Elenco partner del Gruppo Operativo	<ul style="list-style-type: none"> - ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA Dipartimento Scienze Agrarie (membro effettivo) - ARTEMIS SRL (membro effettivo) - LA CARTIERA DEI BENANDANTI S.S. SOCIETA' AGRICOLA (membro effettivo) - AZIENDA AGRICOLA MORARA ANDREA (membro effettivo) - AZIENDA AGRICOLA SAN GIULIANO DI FRATTINI FEDERICA (membro effettivo) - G.A.L. APPENNINO BOLOGNESE S.C.A R.L. (membro associato)

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	36
Data inizio attività	SETTEMBRE 2016
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	GENNAIO 2020
Relazione relativa al periodo di attività dal	dal 01/09/2016 al 31/12/2019
Data rilascio relazione	31/01/2020

Autore della relazione	CLAUDIA VENTURI - ALCE NERO SPA		
telefono		e-mail	c.venturi@alcenero.it

Sommario

1 -	DESCRIZIONE DELLO STATO DI AVANZAMENTO DEL PIANO	3
1.1	STATO DI AVANZAMENTO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PIANO	4
2 -	DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE	5
2.1	ATTIVITÀ E RISULTATI	5
2.2	PERSONALE	19
2.3	TRASFERTE	25
2.4	MATERIALE CONSUMABILE	25
2.5	SPESE PER MATERIALE DUREVOLE E ATTREZZATURE	25
2.6	MATERIALI E LAVORAZIONI DIRETTAMENTE IMPUTABILI ALLA REALIZZAZIONE DEI PROTOTIPI	26
2.7	ATTIVITÀ DI FORMAZIONE	26
2.8	COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI	27
3 -	CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ	28
4 -	ALTRE INFORMAZIONI	28
5 -	CONSIDERAZIONI FINALI	29
6 -	RELAZIONE TECNICA	29

1 - Descrizione dello stato di avanzamento del Piano

Descrivere brevemente il quadro di insieme relativo alla realizzazione del piano. Richiamare eventuali richieste di modifiche inviate agli organi Regionali ed apportate al progetto.

- L'obiettivo generale del progetto è contribuire a una stabile redditività delle aziende agricole e alla valorizzazione dei territori dell'Appennino Bolognese favorendo produzioni ad alto valore aggiunto, di tipo salutistico. Il progetto nel suo insieme si è concluso in modo coerente con gli obiettivi, allo stato attuale alcune attività, sono state revisionate da quello che in pianificazione progettuale erano state stimate, sia per alcuni tempi che per le risorse che si sono rese necessarie al perseguimento degli obiettivi progettuali.

- Alce Nero ha accettato il finanziamento il 19/08/2016 indicando poi nel progetto la partenza Settembre 2016. Le attività sono state effettivamente avviate con la costituzione del GOI in ATS, avvenuta dal Notaio il 21/09/2016. All'avvio della prima azione si è reso necessario predisporre una variante al progetto per rimodulare alcuni ruoli nel progetto. La variante è stata presentata in data 07/03/2017 contenente le modifiche

nonché della gestione tecnica di progetti di ricerca. Entrambe le variazioni hanno inciso sui costi di personale di Alce Nero, riducendo il budget ad essi dedicato. Inoltre, Alce Nero per il completamento delle azioni di sperimentazione sul latte ha rilevato la necessità di coinvolgere un ulteriore fornitore scientifico, attraverso un laboratorio accreditato di analisi specifiche sul latte facente capo all'Università degli studi di Perugia. E' stato sottoscritto un incarico, al di fuori dei costi previsti dal progetto al Prof. Francesco Galli Professore associato del DIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE MED/49 - SCIENZE TECNICHE DIETETICHE APPLICATE di UNIPG, che è intervenuto per realizzare le prove sul latte, campionato dalle aziende prescelte e coordinate dal Dott. Alessandro Fantini, Veterinario Presidente della società Italiana di Buiatria, già coinvolto quale coach per la gestione della stalla, in APPEN.BIO.

Tutte le azioni sono state concluse con risultati positivi e nel pieno raggiungimento degli obiettivi previsti.

In sintesi possiamo riassumere quanto segue:

L'azione n.1 e l'azione n.2 sono concluse: è stato redatto uno studio di fattibilità che riassume l'analisi organizzativa realizzata e sono state realizzate le fotografie sia sul fronte latte che cereali.

L'azione 3, relativa alla sperimentazione, grazie alla proroga dei tempi di completamento del piano si è effettuata la sperimentazione anche per la terza annata agraria effettuando così ulteriori prove e analisi, che hanno permesso di ottenere dati più ampi e completi.

L'azione 4 è stata completata sulla base dei dati completi previsti come output dell'azione 3, ottenendo un'armonizzazione delle linee guida e l'elaborazione del modello.

Nell'attività di divulgazione sono state realizzate diverse iniziative, come già nella relazione intermedia abbiamo segnalato che per esigenze organizzative il fornitore NOUVELLE è stato sostituito dall'azienda EIKON; tale sostituzione non ha inciso sui costi, che anzi hanno subito una lieve diminuzione.

Le attività e i costi di seguito descritti fanno riferimento al periodo **01/09/2016 – 31/12/2019** si procede con il rendiconto a saldo, vengono di seguito esplicitati i costi riferiti alle attività svolte da tutti i partner ricomprendendo anche quelli esposti nel stato di avanzamento lavori intermedio.

1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano

Indicare per ciascuna azione il mese di inizio dell'attività originariamente previsto nella proposta ed il mese effettivo di inizio, indicare analogamente il mese previsto ed effettivo di termine delle attività. Indicare il numero del mese, ad es.: 1, 2, ... considerando che il mese di inizio delle attività è il mese 1. Non indicare il mese di calendario.

Azione	Unità aziendale responsabile	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
Esercizio della Cooperazione	Alce Nero Spa	Governo Progetto	1	1	36	36
Azioni 1	Artemis Srl	Studi preliminari	1	1	12	12
Azioni 2	Alce Nero Spa	Fotogrammi attuali	1	1	28	28
Azioni 3	UNIBO – cereali ALCENERO (UNIPG) - latte	Sperimentazione	7	7	28	28
Azioni 4	Alce Nero Spa	Armonizzazione linee guida ed elaborazione modello	15	15	36	36
Divulgazione	Alce Nero Spa	Trasferimento risultati e reti	1	1	36	36
Formazione	Artemis Srl	Coaching aziendale	8	24	36	36

2 - Descrizione per singola azione

2.1 Attività e risultati

Azione	ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE
Unità aziendale responsabile	Alce Nero Spa
Descrizione delle attività	<p>Alce Nero svolge il ruolo di mandatario dell'ATS e capofila del GOI, ha attivato, pur nella parziale sovrapposizione dei gruppi di lavoro, DUE COMITATI SCIENTIFICI per macro tema: cereali e latte, e un COMITATO TECNICO GESTIONALE.</p> <p><u>Il Comitato Tecnico Gestionale</u>, con funzioni strategiche, operative e di ricerca per l'esercizio della cooperazione, si è riunito più volte nel corso dei 2 anni (15 settembre 2016, 10 maggio 2017 - 11 settembre 2017 – 11 maggio 2018 - 6 novembre 2018- 7 marzo 2019).</p> <p>Il COMITATO TECNICO GESTIONALE è composto da un referente nominato da ciascun partner effettivo e associato, da ogni subcontraente referente per aspetti tecnici rilevanti. È stato coordinato dal referente nominato dal Capofila, il Presidente di Alce Nero Dott. Lucio Cavazzoni, fino a gennaio 2018; il referente attuale è la dott.ssa Palmira Giuliana Ragusa.</p> <p>Da Marzo 2017 è entrata in forza come Coordinatore tecnico del Progetto la dott.ssa Roberta Centonze, che ha condotto i tavoli tecnici e ha tenuto i rapporti con la <u>rete PEI AGR</u> insieme ad Artemis srl, Sara Bosi per UNIBO, Marco Storchi e Ferdinando Giannone per il Policlinico Sant'Orsola, ed i referenti dei due comitati scientifici e i referenti delle aziende agricole.</p> <p>Il <u>Comitato Scientifico per i cereali</u> è composto da esperti del gruppo dell'UNIBO, coordinati dal Prof. Dinelli che è responsabile dell'attività in campo presso le tre aziende coinvolte e per le analisi laboratoriali di identificazione delle caratteristiche dei cereali sia in granello che trasformati.</p> <p>Il <u>Comitato Scientifico per il latte</u> è composto dal Prof. Franco Berrino per la Grande Via, Prof. Francesco Galli per UNIPG e dal dott. Alessandro Fantini Veterinario Presidente della società Italiana di Buiatria, già coinvolto quale coach per la gestione della stalla.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p>Lo scopo di questa attività è quello di realizzare una forma organizzata di cooperazione allo scopo di progettare, sviluppare e realizzare le innovazioni previste nel piano. Grazie al costante ed efficace confronto tra i Partner del progetto e i Comitati attivati, tale obiettivo è stato pienamente raggiunto.</p> <p>Nei primi mesi di avvio del progetto, si è resa necessaria una variante al piano di innovazione: è stata modificata la posizione contrattuale del Prof Franco Berrino, non più con contratto di collaborazione personale, ma prestazione di consulenza dall'Associazione La Grande Via ed è stata inserita nel team di progetto il Project Manager Dott.ssa Roberta Centonze agronomo ed economista agrario esperto di progettazione e gestione di sistemi territoriali. Entrambe le variazioni hanno inciso sui costi di personale di Alce Nero, riducendo il budget ad essi dedicato.</p> <p>Durante lo svolgimento delle attività, i Comitati hanno evidenziato la necessità di coinvolgere, nelle azioni di sperimentazione sul latte, un ulteriore <u>fornitore scientifico</u>, attraverso un laboratorio accreditato di analisi specifiche sul latte facente capo all'Università degli studi di Perugia. E' stato pertanto sottoscritto un incarico con l'Università di Perugia nella persona del Prof. Francesco Galli per la stesura del protocollo e la realizzazione delle analisi sul latte fieno, in collaborazione con il Prof. Franco Berrino (AZIONE 3). Tale costo aggiuntivo, non previsto dal progetto approvato, rimane totalmente a carico di Alce Nero e non verrà pertanto rendicontato.</p> <p>I Comitati si sono anche occupati di rimodulare, a seguito delle risultanze dei dati di ricerca, le attività da svolgere per il raggiungimento degli obiettivi prefissati dal progetto, andando talvolta ad integrare/dettagliare in maniera più analitica le attività affidate ai diversi Partner/fornitori coinvolti.</p> <p>Ad esempio, con il fornitore incaricato alla divulgazione (EIKON che sostituisce NOUVELLE), sono state definite nel dettaglio le attività da svolgersi nell'ambito della comunicazione e con</p>

	<p>il Policlinico Sant'Orsola sono state specificate le attività per la validazione dei risultati della ricerca, rispetto alla lavorabilità e palatabilità dei prodotti di Appenbio (AZIONE 3).</p> <p>E' stata inoltre valutata la possibilità di creare sinergie con la mensa del Policlinico, che si è mostrato interessato ad investigare alcuni effetti di una dieta di qualità per i propri pazienti.</p> <p>Tali aggiustamenti, da considerarsi ordinari per un'attività in cui gli sviluppi di una ricerca sono in continua evoluzione, hanno permesso di qualificare maggiormente il tipo di risultato ottenuto/da ottenere.</p>
Attività ancora da realizzare	

Azione	Azioni 1 –STUDI NECESSARI ALLA REALIZZAZIONE DEL PIANO
Unità aziendale responsabile	ARTEMIS SRL
Descrizione delle attività	<p>I tecnici di Artemis, Dott.ssa Giorgia Guidi PhD e Dott. Andrea Sapignoli, hanno realizzato una preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese; al termine di questa analisi è stato possibile redigere uno studio di fattibilità quale supporto alle valutazioni relative all'opportunità di adottare le scelte d'innovazione individuate nel piano del GO che hanno supportato anche le scelte del coordinamento condotto dal personale di Alce Nero.</p> <p>Le fonti informative a cui si è attinto per la realizzazione del documento sono state:</p> <ul style="list-style-type: none"> - interviste alle aziende agricole partecipanti alle azioni di sperimentazione; - documentazione bibliografica: STRATEGIA SVILUPPO LOCALE 2014-2020 GAL Appennino Bolognese, ANALISI DELL'AGRICOLTURA NELL'APPENNINO BOLOGNESE a cura del GAL Appennino Bolognese, Schede descrittive "PER UN BIODISTRETTO DELL'APPENNINO BOLOGNESE". <p>L'analisi è stata realizzata in tre momenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> - fase preliminare (ex ante) - e successivamente in due momenti (in itinere) <p>L'analisi mostra le seguenti principali considerazioni:</p> <p>La modesta densità di imprese nei diversi comparti di attività penalizza soprattutto le zone più prossime al crinale, specie in termini di addetti. La sperequazione in termini di imprese e anche di addetti è meno penalizzante per le zone alte per quanto riguarda le <u>attività agricole che restano evidentemente un caposaldo della tenuta economica del territorio.</u></p> <p>Inizialmente, è stata presa in esame l'agricoltura nell'Appennino bolognese e le attività agricole che operano in questo territorio (situazione ex ante progetto d'innovazione) e queste le tendenze che si sono configurate:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>declino</u>: continua, anche se con ritmi naturalmente più lenti, la progressiva erosione del tipo di azienda che per decenni ha caratterizzato l'area tra gli anni '30 e gli anni '80 del XX secolo; l'invecchiamento degli addetti e le scarse possibilità di sostituzione, l'insufficiente dimensione territoriale rispetto ai condizionamenti geomorfologici e climatici, la ridotta propensione all'introduzione di innovazioni tecnologiche e di mercato, hanno progressivamente eroso il numero di aziende e in parte selezionato i terreni da mettere a cultura; 2. <u>innovazione e rilancio</u>: il rilancio ha seguito fondamentalmente due strade, a volte anche in contemporanea: l'aumento della dimensione aziendale con un equilibrio tra strumentazione tecnica aziendale (immobili, macchinari, ecc.) e SAU lavorata oppure la strada della innovazione: di prodotto o di mercato. <p>Il calo di aziende, capi allevati, SAU è stato forte nell'area montana dell'Appennino bolognese, mentre di intensità minore si è manifestato nell'area collinare.</p> <p>Al progressivo ridursi di numero delle stalle tradizionali (che ha coinvolto anche aree interessate da filiere considerate un tempo forti come quella del Parmigiano-Reggiano) <u>si è visto una tenuta delle stalle specializzate attestate su prodotti di qualità (latte alimentare e carni).</u> Il problema di queste strutture appare quello del rischio di isolamento e di non</p>

riuscire (anche a causa delle elevate soglie di entrata) a fare sistema e avere intensi effetti diffusivi.

Rispetto alla fascia collinare, l'area montana non gode della presenza di produzioni o filiere forti e strutturate ad un livello adeguato. Quello che per la collina è il ruolo svolto dal vitivinicolo o dal frutticolo estivo (albicocco, ciliegio, ecc.), in montagna non è presente. Le aziende che rimangono operative e hanno successo, cercano e praticano colture o allevamenti in cui la qualità e il rapporto diretto con gli utilizzatori finali (non solo il consumo, ma anche la ristorazione o la trasformazione di qualità) sono le strategie vincenti.

La multifunzionalità, che per l'area montana e i terreni meno vocati alle colture di punta della collina potrebbero essere le strategie più indicate, sono poco praticate e con questo oltre ad una integrazione dei redditi agricoli si perde (o non si ottimizza) una grande risorsa che il settore agricolo può offrire sul fronte della difesa idrogeologica e della sicurezza: il governo del territorio.

Nell'area montana la superficie delle aziende agricole è scesa sotto il 30% della superficie territoriale dei comuni montani e questo è un problema che incide sulla capacità di presidio: idrogeologico, vegetazionale, faunistico e della sicurezza personale. Nello specifico, per quanto riguarda le colture erbacee l'area di riferimento presenta due gruppi di colture dominanti: le colture cerealicole (24% della SAU) e le colture foraggere (28% delle colture erbacee). Se consideriamo anche il gruppo dei terreni non in rotazione, ma senza copertura arborea (Prati permanenti, terreni a riposo, ecc. che rappresentano un altro 20% della SAU), oltre il 70% della superficie è interessato da colture semplici e a scarso apporto di mezzi tecnici (concimi e fertilizzanti). Entrando nel dettaglio del territorio le cose appaiono molto diverse tra montagna e collina: il gruppo dei cereali rappresenta il 13% della SAU nei comuni montani e il 17% in quelli collinari (28% nei comuni non ricompresi interamente).

Infine, nella situazione ex ante non risultavano ancora molto diffuse le colture biologiche: Nel complesso le praticavano 53 aziende nell'area montana e 155 tra i comuni collinari interamente compresi nell'area oggetto d'analisi. Le colture più diffuse tra le aziende erano i cereali (23 az. in montagna e 76 in collina), i fruttiferi (17 in montagna e 89 in collina), la Vite (3 in montagna e 56 in collina) e i prati permanenti e i pascoli (17 in montagna e 40 in collina). Non sono numeri elevati, ma un buon nucleo di aziende orientata al biologico è presente. In termini di superficie si tratta di ca. 3700 ha dei quali la maggior parte sono prati permanenti e pascoli (1272 ha), seguiti dai cereali (1156 ha) e dai fruttiferi (528 ha). La distribuzione territoriale vede prevalere nettamente gli ambiti collinari, mentre in quelli montani le superfici a biologico sono solo 500 ha circa. Ridotto il peso delle superfici in conversione (poco meno di 70 ha).

Partendo da questa analisi ex ante si sono poi condotte delle interviste agli imprenditori delle n. 3 aziende agricole partecipanti al GO in veste di partner effettivi (La Cartiera dei Benandanti s.s, Agricola Morara Andrea, Azienda Agricola Podere San Giuliano di Frattini Federica) volte ad indagare la loro propensione a collaborare attivamente alla realizzazione del progetto, nonché ad approfondire la rispondenza della loro struttura aziendale con gli elementi richiesti per la sperimentazione del modello APPEN.BIO.

Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate

Il principale output dell'azione 1 è stata la redazione di uno studio/report di fattibilità che riassume l'analisi organizzativa realizzata dai tecnici di Artemis. Lo studio conferma la coerenza tra le finalità principali del Progetto e quelle tracciate dalle Filiere agricole e territoriali analizzate. Di seguito si riportano le principali:

- Conferire maggiore valore aggiunto alle produzioni locali con particolare attenzione alla creazione di filiere produttive agricole di antiche varietà, anche autoctone. I grani "antichi", per esempio, hanno un grande riscontro sia tra i consumatori, grazie al loro valore nutrizionale, che nell'agroindustria per la molitura e la trasformazione;
- Supporto alla competitività delle aziende agricole dell'Appennino Bolognese con le opportunità offerte dal biologico (attualmente supportato dal PSR e valorizzato dal mercato) e l'agro-bio-diversità. Produzione e consumo locale di queste produzioni per aumentare il legame e l'identificazione del territorio;
- Progetti in grado di stimolare azioni innovative e qualificanti del tessuto rurale produttivo in termini di recupero delle tradizioni, dell'identità locale e caratterizzazione specifica fondata sugli usi e costumi dell'Appennino Bolognese;
- Le produzioni biologiche considerate come tutte quelle produzioni volte al recupero delle tradizioni e delle produzioni tipiche e caratterizzanti per il territorio di riferimento;
- Filiera di qualità, che non solo produce, trasforma e vende, ma che raccorda tra loro le attività e i bisogni di agricoltori, cittadini, associazioni, pubbliche amministrazioni e altri

stakeholder e, nel farlo, tiene al centro dei suoi obiettivi la sostenibilità sociale, ecologica ed economica, creando un "sistema" circolare e resiliente.

Infine dall'analisi sono emersi una serie di elementi che confermano la possibilità di adottare le scelte d'innovazione individuate nel piano del GO sia a livello delle aziende agricole del territorio di riferimento che delle imprese agricole partecipanti effettivi. Di seguito i principali emersi:

- alta percentuale di agricoltura biologica;
- presenza di numerose zone caratterizzate dalla presenza di Aree Protette ed aree a bassa antropizzazione;
- sistema produttivo locale a spiccata vocazione agricola nel quale sono significative: la coltivazione, l'allevamento, la trasformazione e la preparazione alimentare e industriale di prodotti biologici conformemente alla normativa europea, nazionale e regionale;
- tutela delle produzioni e delle metodologie colturali, d'allevamento e di trasformazione tipiche locali da parte delle amministrazioni pubbliche;
- intensa attività di concertazione e condivisione della filosofia di base da parte di tutto il tessuto socio-economico ed istituzionale del territorio oggetto di analisi;
- avvio di una progettualità per la creazione di un BIODISTRETTO dell'Appennino Bolognese che si basa sulla volontà di rendere il territorio collinare-montano competitivo, attrattivo e fruibile, attraverso la realizzazione di un sistema di sviluppo integrato, fondato sulla promozione di un turismo sostenibile e la valorizzazione delle filiere agroalimentari di qualità interconnesse in un unicum progettuale capace di generare una circolarità economica in grado di ottenere risultati duraturi e autogeneranti. In particolare, i Biodistretti consentono di promuovere il modello biologico nell'ambito di uno sviluppo rurale etico, equo e solidale, valorizzando i prodotti naturali e tipici insieme al loro territorio d'origine, contribuendo ad uno sviluppo economico e turistico fondato sul rispetto e la valorizzazione delle risorse locali.

Per concludere, gli obiettivi dell'azione 1 sono stati raggiunti; infatti l'analisi conferma la fattibilità di trasferimento dei risultati del Piano alle imprese agricole coinvolte e di realizzabilità dal punto di vista tecnico, organizzativo-gestionale e sociale per poi passare, una volta verificati i risultati della ricerca, alla loro riproducibilità su larga scala, creando un modello imprenditoriale equilibrato di "start up agricola" che applichi in azienda le linee guida definite durante i test condotti in campo nelle successive azioni.

Attività ancora da realizzare

Azione	Azioni 2 FOTOGRAFIA DELL'ESISTENTE SIA SUL FRONTE CEREALI CHE LATTE																																																																																																				
Unità aziendale responsabile	ALCE NERO																																																																																																				
Descrizione delle attività	<p>CEREALI: Come descritto nell'idea progettuale, i genotipi che meglio si prestano a sistemi agronomici a basso input, sono le accessioni di antica costituzione, ovvero genotipi non soggetti a ripetuti programmi di miglioramento genetico e quindi dotati di un'ampia variabilità genetica. Si tratta inoltre di genotipi con habitus non nano, rustici e maggiormente competitivi nei confronti delle infestanti. Al fine di identificare le accessioni/varietà antiche maggiormente adatte ad areali pedo-collinari, si è proceduto ad una ricerca bibliografica, volta alla raccolta delle principali informazioni relative alle caratteristiche agronomiche (Banca dati della Biodiversità del Veneto) e nutrizionali (Di Silvestro <i>et al.</i>, 2012) e ad osservazioni specifiche condotte sul Campo Catalogo dell'Università di Bologna. In tabella sono riportate le caratteristiche raccolte per le varietà selezionate come idonee all'attività progettuale.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Varietà</th> <th>Mutico/Aristato</th> <th>Suscettibilità all'allettamento</th> <th>Suscettibilità oidio/ruggine</th> <th colspan="2">Suscettibilità al freddo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Abbondanza</td> <td>M</td> <td>molto basso</td> <td>molto basso</td> <td colspan="2">molto basso</td> </tr> <tr> <td>Andriolo</td> <td>A</td> <td>molto basso</td> <td>molto basso</td> <td colspan="2">--</td> </tr> <tr> <td>Autonomia A</td> <td>M</td> <td>molto basso</td> <td>molto basso</td> <td colspan="2">molto basso</td> </tr> <tr> <td>Benco</td> <td>M</td> <td>molto basso</td> <td>basso/molto basso</td> <td colspan="2">basso</td> </tr> <tr> <td>Canove</td> <td>M</td> <td>intermedio</td> <td>basso/molto basso</td> <td colspan="2">basso</td> </tr> <tr> <td>Gamba di ferro</td> <td>M</td> <td>alto</td> <td>basso</td> <td colspan="2">basso</td> </tr> <tr> <td>Funo</td> <td>A</td> <td>molto bassa</td> <td>molto basso</td> <td colspan="2">molto basso</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Varietà</th> <th>Mutico/Aristato</th> <th>Contenuto proteico (g/100g)</th> <th>% glutine</th> <th>Composti nutraceutici</th> <th>Colore della granella</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Abbondanza</td> <td>M</td> <td>9.7</td> <td>7.1</td> <td>--</td> <td>marrone chiaro</td> </tr> <tr> <td>Andriolo</td> <td>A</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>marrone chiaro</td> </tr> <tr> <td>Autonomia A</td> <td>M</td> <td>8.2</td> <td>6.1</td> <td>elevato contenuto in fibra</td> <td>marrone chiaro</td> </tr> <tr> <td>Benco</td> <td>M</td> <td>15.1</td> <td>12.1</td> <td>elevato contenuto in flavonoidi</td> <td>giallo ambrato</td> </tr> <tr> <td>Canove</td> <td>M</td> <td>15.2</td> <td>14.2</td> <td>elevato contenuto in lipidi</td> <td>marrone chiaro</td> </tr> <tr> <td>Gamba di Ferro</td> <td>M</td> <td>12</td> <td>8.5</td> <td>--</td> <td>marrone chiaro</td> </tr> <tr> <td>Funo</td> <td>A</td> <td>11.4</td> <td>8.6</td> <td>--</td> <td>rosso intenso</td> </tr> </tbody> </table> <p>Inoltre, all'interno del progetto, sono state effettuate valutazioni in termini sia agronomici che nutrizionali, delle accessioni seminate in purezza e/o in miscugli. In particolare, sono stati inseriti nella sperimentazione un miscuglio di frumenti teneri (ottenuto dal mix delle 7 varietà), un miscuglio di frumenti monococco e la popolazione VIRGO.</p> <p>LATTE: In questa fase di lavoro, la fotografia dell'esistente ha riguardato sia l'evoluzione normativa a livello europeo, che il coinvolgimento di esperti del latte che come indicato sono stati individuati nel pull di docenti dell'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PERUGIA</p>					Varietà	Mutico/Aristato	Suscettibilità all'allettamento	Suscettibilità oidio/ruggine	Suscettibilità al freddo		Abbondanza	M	molto basso	molto basso	molto basso		Andriolo	A	molto basso	molto basso	--		Autonomia A	M	molto basso	molto basso	molto basso		Benco	M	molto basso	basso/molto basso	basso		Canove	M	intermedio	basso/molto basso	basso		Gamba di ferro	M	alto	basso	basso		Funo	A	molto bassa	molto basso	molto basso		Varietà	Mutico/Aristato	Contenuto proteico (g/100g)	% glutine	Composti nutraceutici	Colore della granella	Abbondanza	M	9.7	7.1	--	marrone chiaro	Andriolo	A				marrone chiaro	Autonomia A	M	8.2	6.1	elevato contenuto in fibra	marrone chiaro	Benco	M	15.1	12.1	elevato contenuto in flavonoidi	giallo ambrato	Canove	M	15.2	14.2	elevato contenuto in lipidi	marrone chiaro	Gamba di Ferro	M	12	8.5	--	marrone chiaro	Funo	A	11.4	8.6	--	rosso intenso
Varietà	Mutico/Aristato	Suscettibilità all'allettamento	Suscettibilità oidio/ruggine	Suscettibilità al freddo																																																																																																	
Abbondanza	M	molto basso	molto basso	molto basso																																																																																																	
Andriolo	A	molto basso	molto basso	--																																																																																																	
Autonomia A	M	molto basso	molto basso	molto basso																																																																																																	
Benco	M	molto basso	basso/molto basso	basso																																																																																																	
Canove	M	intermedio	basso/molto basso	basso																																																																																																	
Gamba di ferro	M	alto	basso	basso																																																																																																	
Funo	A	molto bassa	molto basso	molto basso																																																																																																	
Varietà	Mutico/Aristato	Contenuto proteico (g/100g)	% glutine	Composti nutraceutici	Colore della granella																																																																																																
Abbondanza	M	9.7	7.1	--	marrone chiaro																																																																																																
Andriolo	A				marrone chiaro																																																																																																
Autonomia A	M	8.2	6.1	elevato contenuto in fibra	marrone chiaro																																																																																																
Benco	M	15.1	12.1	elevato contenuto in flavonoidi	giallo ambrato																																																																																																
Canove	M	15.2	14.2	elevato contenuto in lipidi	marrone chiaro																																																																																																
Gamba di Ferro	M	12	8.5	--	marrone chiaro																																																																																																
Funo	A	11.4	8.6	--	rosso intenso																																																																																																

(Dott.ssa Marta Piroddi, Dott. Bartolomeo Sebastiani, Prof. Francesco Galli, Dottoressa Milena Villarini, Dott. Francesco Acito).

Premesso che dalla presentazione del progetto APPENBio ad oggi, l'evoluzione normativa per il latte fieno ha visto l'iscrizione nel registro delle Specialità Tradizionali Garantite europeo della denominazione "Heumilch", "Haymilk", "Latte fieno", "Lait de foin", "Leche de heno" e la registrazione in ambito Unione Europea ai sensi del Regolamento (EU) n°1151/2012 relativo ai regimi di qualità dei prodotti agricoli alimentari con il Regolamento di esecuzione (UE) n°304/2016 (2 Marzo 2016). Il MIPAAF ha approvato con il DM 41 51 del 7 marzo 2017 il piano di controllo relativo alla STG "latte fieno". Il termine specialità tradizionale garantita, meglio noto con l'acronimo STG, è un marchio di origine introdotto dalla Unione Europea volto a tutelare produzioni che siano caratterizzate da composizioni o metodi di produzione tradizionali, certificazione, disciplinata dal regolamento CE n. 509/2006 (che sostituisce il precedente n. 2082/92).

Il latte iscritto a questa STG può essere destinato per ogni uso alimentare come fresco, UHT, yogurt e formaggi per cui in questi prodotti andrà indicato sull'etichetta la dizione **"con latte fieno"**.

La ricerca ha elaborato un protocollo condiviso a novembre 2017, riportato negli approfondimenti, dove sono indicate:

- Le razze scelte per le prove che sono state: Pezzata Rossa, Bruna, Bruna Alpina, Jersey, Frisona, Meticcia.

- Le prove di campo "dose-risposta" per titolare il CLA a seguito di piani alimentari opportunamente approntati, come segue:

1. Allevamento/i di razza Frisona di alto potenziale genetico (PFT > 1000) di bovine in lattazione alimentate con insilati (insilato di mais e pastone integrale di mais) e alta percentuale di concentrati (rapporto foraggi/concentrati 40:60) con dieta unica ossia non differenziata per livello produttivo e giorni di lattazione; ubicati, con queste caratteristiche, sia nel Centro Italia che nel Nord. Stalle che partecipano ai controlli funzionali per cui dotate di numerose informazioni. I prelievi fatti coincidere con il giorno in cui viene effettuato il controllo funzionale. In queste condizioni si prevede che il pH ruminale sia mediamente < 5.90 per cui propedeutico alla formazione ruminale di LPS.

2. Allevamento/i di razza frisona alimentate con diete a ridotto utilizzo di concentrati (75:25) e dove non si utilizzano insilati, iscritti ai controlli funzionali conferenti il latte oggi utilizzato per lo yogurt Alce Nero.

3. Allevamento/i di bovine meticce o razze meno selezionate come la Grigia Alpina o meticce con le caratteristiche sopra descritte.

Nel corso della realizzazione del progetto APPEN.BIO, è stata valutata la possibilità di creare sinergie con la mensa del Policlinico Sant'Orsola, che si è mostrato interessato ad investigare alcuni effetti di una dieta di qualità per i propri pazienti.

Tale attività è risultata perfettamente allineata con l'obiettivo principale di APPEN.BIO, ovvero "restituire valore e competitività ai territori dell'appennino, non sulla base della loro possibile produttività quantitativa bensì su quella di tipo salutistico".

A tale riguardo, sono risultati di particolare interesse i risultati ottenuti con il miscuglio di monococco, che si è contraddistinto, nel corso della prima annata agraria, per un elevato contenuto proteico. Le proteine del monococco, inoltre, contengono un glutine più fragile e dunque più digeribile e meno allergenico rispetto al grano duro e tenero (Gianfrani et al., 2015). Inoltre, da un'indagine bibliografica condotta, è risultato che il monococco contiene concentrazioni superiori di caroteni (beta- e alfa-carotene, luteina, zeaxantina) rispetto ai frumenti moderni, e si caratterizza per un elevato contenuto in microelementi, in particolare ferro, calcio, potassio, magnesio.

Tali caratteristiche, rendono il monococco un cereale con caratteristiche uniche, e potrebbe svolgere una funzione importante nella dieta di alcune classi di pazienti con esigenze nutrizionali particolari, quali ad esempio, i pazienti disfacici e i pazienti in ri-alimentazione post chirurgica.

Per raggiungere tale obiettivo, il GO APPEN.BIO ha pianificato alcune attività aggiuntive (totalmente a carico di Alce Nero), sfruttando le competenze dei propri partner, ed in particolare:

- effettuare analisi più dettagliate sul profilo nutrizionale del monococco;
- verificare se le lavorazioni a cui viene sottoposta la granella (decorticazione, semi-decorticazione o perlatura), e le caratteristiche delle farine (0 e 1), conservano il profilo nutrizionale originale;
- valutare insieme al personale della mensa del Policlinico Sant'Orsola, la lavorabilità della "semola" di monococco;
- valutare il gradimento del prodotto preparato da parte dei pazienti.

<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p>L'obiettivo dell'azione è stato raggiunto e i dati elaborati sono stati utilizzati per progettare e definire al meglio la fase successiva di sperimentazione. Si evidenziano i seguenti aspetti specifici:</p> <p>Cereali: La ricerca bibliografica effettuata e la disponibilità di un numero molto ampio di accessioni da valutare, ci ha permesso di effettuare un'attività di selezione approfondita e completa, tenendo in considerazione non solo gli aspetti agronomici ma anche quelli nutrizionali e nutraceutici. La scarsa quantità di seme, conservata presso l'Università di Bologna per scopi didattici e di ricerca, ha determinato la necessità di effettuare prove agronomiche su parcelle di dimensioni ridotte per l'annata agraria (2016/2017).</p> <p><i>VEDI ALLEGATO "AZIONE 2_CEREALI fotografia esistente"</i></p> <p>Latte: Il piano di lavoro è stato elaborato in collaborazione tra L'Università di Perugia nella persona del Prof. Francesco Galli, il Prof. Franco Berrino e il Dott. Alessandro Fantini. La creazione del gruppo di lavoro e la predisposizione dei protocolli di ricerca, nonché l'identificazione degli allevamenti da campionare ha richiesto alcuni mesi in più rispetto al cronoprogramma originario.</p> <p><i>VEDI ALLEGATO "AZIONE 2_LATTE fotografia esistente"</i></p>
<p>Attività ancora da realizzare</p>	

<p>Azione</p>	<p>Azione 3 SPERIMENTAZIONE: ANALISI IN CAMPO E ANALISI IN ALLEVAMENTO/ LABORATORIO</p>
<p>Unità aziendale responsabile</p>	<p>UNIBO UNIPG</p>
<p>Descrizione delle attività</p>	<p>CEREALI ANALISI IN CAMPO:</p> <p>Come descritto nell'idea progettuale, sono state realizzate prove parcellari in pieno campo in tre aziende situate nell'appennino bolognese. Le 7 varietà selezionate (Andriolo; Abbondanza; Autonomia A; Benco; Canove; Funo; Gamba di Ferro) sono state allevate sia in purezza (7 parcelle) che in miscuglio (1 parcellone), al fine di valutare entrambe le condizioni di crescita. In ciascuna azienda è stato anche inserito il miscuglio VIRGO, studiato per diversi anni dall'Università di Bologna e noto per le ottime caratteristiche nutrizionali e nutraceutiche, di cui non sono disponibili dati sperimentali in zone collinari. Infine, in ciascuna azienda è stato anche inserito un miscuglio di monocolto, derivante da accessioni disponibili presso il campo catalogo dell'Università di Bologna, e un parcellone di Farro della Garfagnana (dicocco).</p> <p>Attraverso l'osservazione visiva in campo durante la crescita delle piante sono stati individuati: l'altezzamento, l'altezza della pianta, la lunghezza della spiga, il livello delle infestanti e l'incidenza dei patogeni. Inoltre sono stati raccolti i dati sulle precipitazioni, temperature medie, massime e minime nel corso della stagione di crescita del frumento, registrate dalle stazioni meteorologiche dell'Agenzia Regionale per la Prevenzione, l'Ambiente e l'Energia.</p> <p>Alla raccolta, le piante si presentavano in ottime condizioni, con una bassa/nulla incidenza di patogeni e buon contenimento delle infestanti (vedi foto).</p> <div data-bbox="451 1473 1396 1944" style="text-align: center;"> </div> <p style="text-align: center;">LA CARTIERA a.a. 2016/2017</p>

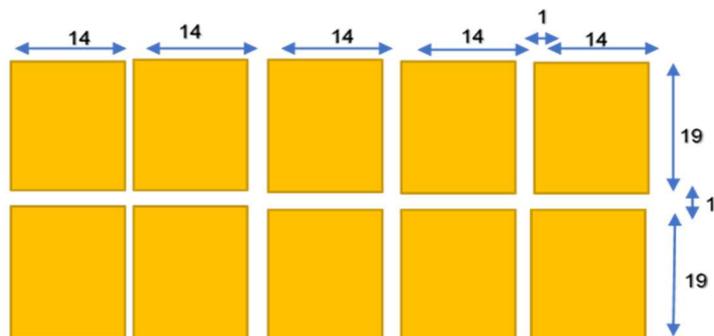


AZIENDA AGRICOLA MORARA ANDREA a.a.2016/2017

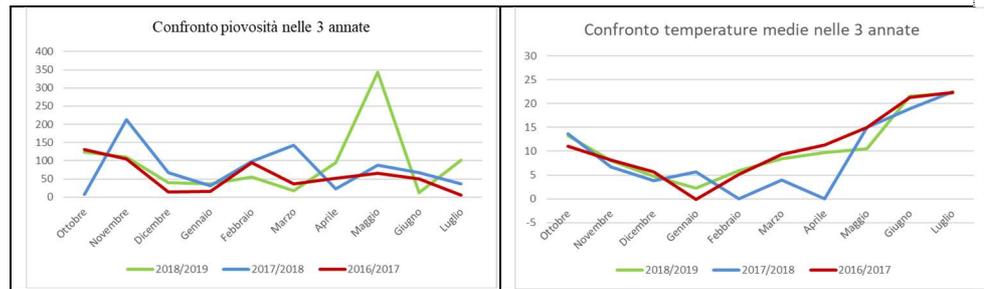


PODERE SAN GIULIANO a.a. 2016/17

La superficie di tutte le parcelle è stata di dimensioni pari a 19 x 14 metri, come illustrato nella figura 9.



Per quanto riguarda l'annata agraria 2017/18, le prove sono state realizzate su parcelle di dimensioni superiori, potendo in questo caso disporre di un quantitativo di seme superiore. Complessivamente, la piovosità cumulata nel periodo tra ottobre e luglio è stata più alta rispetto a quella della stagione precedente mentre le temperature sono risultate in linea con la prima stagione di coltivazione, ma con valori estremi più contenuti. Infine, nella terza annualità (2018/2019), la piovosità cumulata è risultata di 936,6 mm di pioggia distribuiti in gran parte durante il mese di maggio (35% dei mm di pioggia registrati).



Dai rilievi agronomici sono emerse buone rese produttive, se consideriamo che le prove sono state realizzate in agricoltura biologica, senza l'apporto di sostanza organica aggiuntiva. I valori medi più elevati di resa produttiva si sono osservati nella seconda annata agraria (3,03 t/ha) mentre i valori più bassi durante la I annata (2,08 t/ha).

Le rese più alte sono state raggiunte da Benco (3,29 t/ha) e dalla popolazione Appenbio (3,21 t/ha), mentre le più basse dal Mix farri (1,49 t/ha).

Similmente anche i parametri merceologici (peso mille semi e peso ettolitrico) hanno mostrato lo stesso andamento. Va evidenziato che nella seconda annata agraria si sono osservati anche i valori più elevati di allettamento, confermando nuovamente che tale fenomeno, non rappresenta una criticità per i frumenti antichi, in quanto molto spesso, avviene a maturazione già completata della cariosside. Infine, dal punto di vista della presenza e incidenza di patogeni, i campi sperimentali sono apparsi sempre vigorosi e non stentati, con effetti estremamente contenuti, se non del tutto trascurabili.

Le analisi di laboratorio sono state effettuate su tutti i campioni derivanti dalle tre annate agrarie, ovvero macinando la granella ottenuta dalla prova con un mulino da laboratorio con macine in pietra, ottenendo una farina integrale che è stata poi analizzata per la determinazione di amido totale, lipidi, proteine, fibra alimentare solubili, insolubile e totale, polifenoli, flavonoidi e attività antiossidante (saggio FRAP).

Per quanto riguarda gli aspetti nutrizionali, tutti i genotipi hanno mostrato alti valori in contenuto proteico e fibra; il contenuto in composti fenolici ha invece mostrato differenze significative tra i genotipi presi in esame. Infine, il mix Farri si è distinto per il più elevato contenuto in proteina (16,23 g/100g), fibra solubile (5,26 g/100g), flavonoidi free (109,98 mg/100g) e bound (50,89 mg/100g), confermando un profilo nutrizionale e nutraceutico di ottima qualità.

RILIEVI IN CAMPO ED ANALISI (COMPARTO LATTIERO CASEARIO)

Premesso che l'obiettivo della sperimentazione sul latte è stato quello di verificare se esistono differenze significative in alcuni parametri nel latte di massa (pool di quello munto alla sera al mattino) tra gli allevamenti di bovine da latte classificati come intensivi e dove si fa uso d'insilati con quelli dove si fa uso di pascolo (primavera-estate) e di fieno (autunno-inverno) e ridotte quantità di concentrati.

Solo alcune stalle coinvolte nella sperimentazione (gruppo altoatesino e di Verona) al momento del prelievo erano in possesso della certificazione STG "latte fieno".

Tutti gli allevamenti partecipano al piano di selezione nazionale coordinato dall'Associazione Italiana Allevatori per cui sono disponibili dati genetici, produttivi, riproduttivi e sanitari.

Di tutte le aziende è disponibile il piano alimentare e i dati dell'Associazione Italiana Allevatori (sintetico collettivo). Il ruolo del Dott. Alessandro Fantini, già coinvolto nel progetto come formatore è stato quello di prelevare i campioni del latte di massa, raccogliere dati anamnestici e supportare il laboratorio di Perugia nella verifica dei risultati analitici (plausibilità).

E' stato effettuato un set di campioni, nel periodo compreso tra aprile e luglio 2018 e gli allevamenti interessati sono stati:

1. Fattoria di Vaira (Petacciato CB): biodinamica, solo razza bruno alpina, non certificata "latte fieno", alimentazione a base di fieno/erba e una quota ridottissima (kg2) di concentrati composti di soli cereali (grano, orzo e triticale) e quindi senza soia.
2. Allevamenti della Lessinia (zona di montagna in provincia di Verona). Si tratta di tre allevamenti (Campara, Piombini e Gaiga) biologici in fase di certificazione "latte fieno" che praticano il medesimo sistema di alimentazione ossia erba/fieno + due mangimi industriali biologici nella quantità massima di kg 5/capo/die. Tutti e tre conferiscono il latte a Tonon.
3. Allevamento Cervati: grande allevamento intensivo (400 vacche in mungitura) ad alta produzione con dieta tradizionale a base di insilato di mais ed un alta quantità di concentrati

ubicato nella provincia di Brescia. Cervati produce il latte e il siero innesto per Auricchio. Allevamento di sole frisone. Non biologico.

4. Trevifarm di Rossano veneto (VI). Allevamento di alta produzione con insilato di mais e alta quantità di concentrati ma di razza Bruno alpina. Non biologico.

5. Azienda Galbarti Alessandro (Zone - BS) di brune alpine ad elevata produzione ma ubicata in montagna. Non biologica.

6. Azienda La Cartiera dei Benandanti di Luca Berti (Bertinoro -BO), Allevamento di bovine di razza frisona , biologico e partecipante del progetto AppenBio. Ora possiede un robot di mungitura.

7. Campionamento avvenuto a metà Luglio del Latte di tre aziende altoatesine (Peer Franz-Stoker Heinz-Mila) che producono latte biologico "latte fieno" utilizzato da Mila per produrre lo yogurt commercializzato da Alce Nero a suo marchio. Allevamenti che al momento del prelievo utilizzano una considerevole quantità d'erba polifita e il colore giallo del latte ne è la testimonianza inequivocabile.

Le analisi effettuate hanno lo scopo di valutare alcune caratteristiche bromatologiche e nutrizionali (lipidico, ormonale e vitaminico) nonché i markers di infiammazione (citochine) e alcuni effetti biologici del latte prodotto da vacche nutrite prevalentemente con foraggio (eventualmente integrato con meno del 25% di cereali) [latte da fieno] e le sue possibili implicazioni sulla salute umana, confrontandolo con il latte da vacche nutrite prevalentemente con insilati e concentrati [latte convenzionale].

Parallelamente alle attività di sperimentazione in campo è stata valutata la possibilità di creare un'ulteriore sinergia con la mensa del Policlinico Sant'Orsola con lo scopo di investigare alcuni effetti di una dieta di qualità per i propri pazienti.

Il Policlinico Sant'Orsola, si è adoperato infatti per pianificare una sperimentazione volta a valutare operativamente i prodotti APPEN.BIO da inserire nella preparazioni alimentari della cucina del Policlinico Sant'Orsola (AOSP.BO), a partire dai cereali, nello specifico:

- quali materie prime
- quali passaggi per ottenere prodotti semilavorati
- in che quantità e tempi
- secondo quali procedure.

Il farro monocollo è ritenuto di interesse per il contenuto nutrizionale, per diversi target: per i pazienti disfagici, per i pazienti in ri-alimentazione post chirurgica e per il target universale di tutti coloro che accedono alla mensa del Policlinico.

Le possibili lavorazioni per le farine sono: integrale macinata a tutto corpo o decorticata macinata a pietra o a cilindri.

Sono da definire i trattamenti a cui sottoporre la granella per ottenere decorticato, semi-decorticato o perlato, quali farine scegliere se tra 0 e 1. Questa specifica attività, non prevista dal progetto, è stata totalmente a carico di Alce Nero che ne sostiene integralmente i costi, ma ha conferito al progetto di innovazione un considerevole valore aggiunto.

Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate

CEREALI: Lo studio nasce con lo scopo di individuare valide possibilità di reddito per le aree interne e montane della regione. Le coltivazioni biologiche di frumenti antichi e del farro monocollo, che risultano avere buone capacità di adattamento a territori marginali, possono infatti rappresentare una valida risorsa per restituire competitività alle aree appenniniche.

Le prove sperimentali si sono svolte in tre diverse località dell'ambiente pedocollinare e alta collina della provincia di Bologna, quali La Cartiera dei Benandanti, l'Az. Agr. Morara Andrea e il Podere San Giuliano, nelle annate agrarie 2016/17- 2017/18 e 2018/19.

CRITICITA' AGRONOMICHE a.a. 2016/2017

Cereali: Sono state riscontrate, in un numero esiguo di parcelle, alcune criticità, legate soprattutto alla presenza di unguati e a problemi di germinazione del seme, da ricondurre ad una non ottimale lavorazione del terreno in fase di semina.



Complessivamente, le prove sono state portate a compimento, raccogliendo quantitativi di seme sufficienti per le analisi e per la semina della II annata agraria, durante la quale le superfici della prova parcellare sono state incrementate.

Le prove effettuate hanno messo a confronto 7 genotipi di grano tenero di antica costituzione, sia in purezza che in popolazioni varietali (le popolazioni "Mix Virgo" e "Appen.Bio"), ed una popolazione di farro Monococco (Mix Farri).

Nel corso della sperimentazione, sono stati eseguiti rilievi in campo allo scopo di valutare l'eventuale presenza di patogeni, assegnando punteggi di incidenza e gravità delle malattie. Successivamente, in fase

Obiettivo principale della sperimentazione è stato quello di valutare le performance agronomiche e nutrizionali delle accessioni oggetto di studio. Dall'analisi dei dati agronomici sono emerse una bassa incidenza delle infestanti e dei patogeni. In termini di rese produttive, le popolazioni "Mix Virgo" e "Appen.Bio", insieme alle accessioni Benco e Canove, hanno fatto registrare i risultati migliori. Da evidenziare gli ottimi valori raggiunti sia in termini di contenuto proteico, che in termini di peso ettolitrico. Per quanto concerne i parametri nutrizionali invece, Mix Farri ha mostrato il più alto contenuto proteico (16.23 g/100 g), lipidico (4.92 g/100 g) e in flavonoidi (175.22 mg/100 g).

Sono state fatte per tutte le tre annate le analisi di Laboratorio sulle principali componenti nutrizionali e nutraceutiche: UNIBO ha proposto di svolgere il seguente elenco di analisi: contenuto proteico, % glutine, test di sedimentazione, fibra (IDF/SDF/TDF), Amido (totale/amilosio/amilopectina), Polifenoli e flavonoidi, attività antiossidante contenuto in ceneri.

LATTE: Obiettivi dello studio APPENBIO-LATTE è stato quello di verificare se la concentrazione di ormoni sessuali nel latte da fieno è effettivamente inferiore rispetto al latte da allevamento intensivo, come suggerito dallo studio preliminare. Chiarire i meccanismi, in particolare l'influenza della dieta e del periodo di gestazione.

Si è riusciti con un parziale rilevamento di ottenere un profilo ormonale e diversi indicatori di qualità alimentare nel latte fieno. La misurazione di ormoni steroidei nel latte vaccino può fornire indicazioni sia sulla qualità alimentare di questo prodotto, sia sullo stato di salute e sui processi fisiopatologici dell'apparato riproduttivo dell'animale. In questo progetto abbiamo confrontato latte da vacche nutrite prevalentemente con:

- foraggio (eventualmente integrato con meno del 25% di cereali) [latte fieno, n = 8];
- insilati e concentrati [latte convenzionale, n = 3].

Le misure effettuate includevano: quadro ormonale (ormoni steroidei e IGF-1), vitamina E e alcune citochine infiammatorie. Nello studio erano indagati anche gli effetti biologici (in vitro) del siero di latte.

I risultati indicano livelli di β -estradiolo mediamente più bassi nei campioni di latte fieno rispetto a quelli di latte convenzionale. La stessa differenza era osservata per il β -estradiolo che era più basso in 6 delle 8 stalle che producevano latte fieno rispetto al convenzionale. I livelli di estrone erano tendenzialmente più alti nel latte fieno e lo stesso valeva per l'estriolo, anche se le differenze tra varie stalle in questo caso erano minime. In 7 su 8 campioni di latte fieno i livelli di progesterone erano superiori a quelli dei campioni di latte convenzionale. I livelli di testosterone nel latte convenzionale erano mediamente più elevati rispetto a quelli del latte fieno. I risultati sui livelli ormonali erano confermati anche dopo correzione per il contenuto in grassi dei campioni saggiati.

I livelli di citochine infiammatorie e IGF-1 erano simili nei due tipi di latte esaminato con una lieve tendenza all'aumento delle citochine nei campioni di latte fieno. Le prove biologiche in vitro non mostravano differenze significative tra i due gruppi di campioni saggiati. I livelli dell'indicatore nutrizionale vitamina E sono più alti in 6 su 8 campioni di latte fieno rispetto ai valori osservati nel latte convenzionale. Ciò suggerisce un impatto della tipologia di alimentazione sullo stato nutrizionale e sul benessere dell'animale (la vitamina E è il principale

antiossidante lipidico dei tessuti), e quindi sulla qualità nutrizionale dell'alimento destinato al consumo umano.

In conclusione, i campioni di latte fieno mostravano livelli tendenzialmente più bassi sia di estradiolo sia di testosterone rispetto al latte convenzionale e questo risultato potrebbe indicare una qualità elevata del prodotto per quanto concerne il profilo di rischio che questi ormoni determinano nel caso di alcune tumori e anche di altri aspetti della salute umana, quali ad esempio alcuni disturbi delle funzioni gonadiche di ambo i sessi.

Va comunque precisato che questo è solo uno studio preliminare e quindi queste conclusioni vanno avvalorate da ulteriori verifiche. Infatti, sono necessarie altre misure su una casistica più ampia, al fine di ottenere valutazioni statistiche attendibili nel confronto tra latte fieno e latte convenzionale. Potrebbero essere anche interessanti misure della frazione libera degli ormoni steroidei in quanto maggiormente responsabili dell'attività biologica degli stessi. Inoltre, la conferma dei risultati sul migliore profilo nutrizionale del latte fieno in confronto al latte convenzionale (contenuto vitaminico e di altri fattori lipidici essenziali) potrà essere importante al fine di aggiungere valore al prodotto e alle definizioni delle sue proprietà salutistiche.

Sperimentazione:

Rispetto alla mensa del Policlinico Sant'Orsola, una volta ottenute le analisi da UNIBO e quelle dell'UNIP, sono state organizzate forniture per la sperimentazione dei prodotti AppenBio: con riferimento ai due focus:

1. cereali (farro monococco, farina e chicchi);
2. latte (yogurt latte fieno);

Lo scopo è stato la valutazione dell'eventuale impatto dei prodotti in termini di adeguatezza nutrizionale, accettazione visivo-organolettica e di gradimento complessivo del paziente.

Relativamente ai processi di lavorazione dei prodotti in questione (nello specifico farro monococco in chicchi, farina di farro monococco e yogurt latte fieno), compresa la manipolazione nei locali della cucina del policlinico e la distribuzione nei reparti, si ritiene non siano necessari particolari accorgimenti e siano, dunque, paragonabili a quelli dei prodotti standard di categoria simile utilizzati ad oggi. Le caratteristiche nutrizionali in tutte e tre le casistiche analizzate risultano nettamente migliori rispetto ai prodotti utilizzati abitualmente e riuscirebbero a garantire così, nell'eventualità di un'effettiva introduzione in sostituzione di prodotti standard, un valido sostegno per i pazienti. Il target di pazienti selezionato è rappresentato da quelli per i quali determinate attenzioni organolettico-nutrizionali costituirebbero un valido supporto considerata la loro situazione di fragilità (sarcopenia, malnutrizione in ambito geriatrico, oncologico e riabilitativo).

Il ritorno sensoriale e l'indice di apprezzamento generale della farina di farro monococco (trasformata in semolino e dunque a sostituzione del semolino classico fatto con semola di grano duro) ha avuto dei risultati nettamente migliori rispetto alla granella di farro monococco che, per questioni visive, di sapore e di masticabilità non è stata gradita dalla maggior parte dei tester.

Lo yogurt da latte fieno, servito bianco intero e previa spiegazione (la quasi totalità dei pazienti non conosceva la tipologia di prodotto), è stato molto apprezzato dalla maggior parte dei tester.

Attività ancora da realizzare

Azione	Azione 4 ARMONIZZAZIONE DELLE LINEE GUIDA E STESURA DEL MODELLO "APPENBIO"
Unità aziendale responsabile	ALCE NERO SPA
Descrizione delle attività	<p>APPEN.BIO insiste su un territorio, quello della valle dell'Idice caratterizzato da un tessuto imprenditoriale e sociale propenso a sperimentare nuovi modelli di business e di consumo. APPEN.BIO si propone di costruire un modello imprenditoriale di agricoltura e di allevamento equilibrato e riproducibile, in grado di intercettare un nuovo tipo di consumatore fortemente attento alla propria salute e quella che deriva dai cibi, nonché alle conseguenze ambientali dell'agricoltura che li determina.</p> <p>Da marzo 2017, il "GAL Appennino Bolognese, partner associato di APPEN.BIO, ha organizzato nel corso del progetto alcune riunioni sul Biodistretto, coinvolgendo diversi attori del territorio con riferimento all'azione "Azione N° 19C1 Sviluppo e innovazione delle filiere di sistemi produttivi locali – Bio-Distretto dell'Appennino Bolognese" per cui sviluppare una progettualità unitaria tra operatori agricoli per promuovere filiere produttive strutturate capaci di attivare economie di scala e attirare flussi di persone e reddito.</p> <p>L'obiettivo si articola operativamente in 3 punti:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Incentivare le nuove tecnologie e l'ammodernamento delle imprese agricole ed extra-agricole, per migliorare l'efficienza economica ambientale e sociale; - Qualificare e valorizzare le competenze locali in ambito di gestione del territorio; - Qualificare le produzioni attraverso il recupero di specie autoctone di particolare valore locale e mediante l'implementazione di processi di produzione innovativi sostenibili. <p>Come "Biodistretto dell'Appennino Bolognese" si immagina una filiera di qualità, che non solo produce, trasforma e vende, ma che raccorda tra loro le attività e i bisogni di agricoltori, cittadini, operatori turistici, associazioni e pubbliche amministrazioni. La sostenibilità economica sarà fornita dalla filiera corta ottimizzando i passaggi produttivi e migliorando le opportunità di vendita.</p> <p>I consumatori privilegiati dei prodotti della filiera corta saranno le attività commerciali, gli agriturismi, le mense scolastiche, gli ospedali e gli enti pubblici del territorio di riferimento.</p> <p>Alce Nero ha partecipato sin dai primi incontri alla riflessione sul modello produttivo territoriale, mettendo a disposizione l'esperienza di APPEN.BIO come possibile caso di studio da sviluppare sinergicamente al progetto del Biodistretto.</p> <p>Le aziende partner mirano a una diversificazione e ricollocazione produttiva, facendo proprie tecnica e cultivar in merito a produzioni agricole con una finalità salutistica, gusto e criteri di sostenibilità compresi. APPEN.BIO sperimenta percorsi innovativi, ma integrati di relazione ed avvicinamento fra agricoltori e distributori.</p> <p>Gli imprenditori delle 3 aziende agricole partecipanti al GO in veste di partner effettivi (La Cartiera dei Benandanti s.s, Az. Agricola Morara Andrea, Az. Agr. Podere San Giuliano di Frattini Federica) sono stati sollecitati a proporre specifiche attività per realizzare il nuovo modello di business proposto in APPENBIO, rispondenti alle caratteristiche e alle ambizioni di ciascuna; analizzando ancora a livello qualitativo le opportunità di creazione di una filiera corta ad alto valore aggiunto, sul territorio. Sono emerse la possibilità di attivare un piccolo caseificio per i prodotti a base di latte fieno, presso la Cartiera dei Benandanti; la possibilità di arricchire l'orto con specie autoctone e servire piatti esclusivi presso l'agriturismo del Podere San Giuliano.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p>Il modello APPEN.BIO è stato illustrato come nucleo di biodistretto sia negli incontri organizzati dal GAL, nonché nei workshop internazionali EIP; in una logica di follow up, parte del progetto APPEN.BIO potrebbe dare origine a un progetto sulla filiera corta sul territorio, (misura 16.1- 3°).</p> <p>Appenbio rappresenta senza dubbio un modello di filiera molto vicino al concetto di Biodistretto.</p> <p>Uno degli elementi vincenti fin dall'inizio dello sviluppo dell'iter progettuale di Appenbio è stata la capacità di mettere insieme un gruppo di lavoro fortemente motivato e consapevole di quanto un cibo di qualità non possa che derivare da una materia prima di qualità, trattata con tecniche adatte e radicata in ambienti e suoli sani.</p> <p>In tal senso Appenbio è stato modello concreto di inclusività e multidisciplinarietà: ognuno dei partner ha potuto esprimere, attraverso il proprio contributo, non solo la vicinanza al</p>

	<p>valore di un reale cibo per la salute ma ha anche potuto declinare la propria peculiare visione (tecnica ma anche frutto dell'esperienza e commerciale vista la presenza di Alce Nero) consentendo di veicolare attraverso le sperimentazioni effettuate dei contenuti altamente specializzati e innovativi sia nell'approccio pratico che in quello scientifico.</p> <p>Ciascuno dei Partner ha contribuito attivamente alla realizzazione del progetto mettendo in campo le proprie specifiche conoscenze e ancor prima le proprie istanze e aspettative con l'obiettivo comune di valorizzare il capitale del territorio e i suoi elementi naturali e tecnici. In tal senso il coordinamento di Alce Nero è risultato strategico poiché ha permesso di includere le diverse istanze sotto il comune denominatore dell'agricoltura biologica e del suo contributo allo sviluppo sostenibile di un territorio.</p> <p>Alcune difficoltà sono state riscontrate nell'ambito del filone latte soprattutto considerando che la natura delle analisi ha richiesto il contributo di aziende esterne al partneriato di Appenbio per poter effettuare valutazioni comparative. Oltre a ciò si riscontra in generale una certa "chiusura" del mondo dell'allevamento probabilmente derivante dalle forti pressioni settoriali su prezzi e quantità e dal posizionamento storicamente marginale all'interno della filiera.</p> <p>L'allevamento biologico in tal senso si propone come una alternativa anche se i requisiti volontari aggiuntivi (nell'ottica ad esempio dell'adesione al disciplinare del latte fieno STG) si scontrano con alcune difficoltà legate ad esempio alla conformazione stessa del territorio, alle sue tradizioni e alla cultura che, specialmente su aziende di piccole dimensioni, si confermano fattori fortemente influenzanti.</p> <p>A livello generale, il modello di filiera designato nell'ambito del progetto Appenbio ha risentito della mancanza di un partner trasformatore che avrebbe potuto rappresentare il fattore di decisiva connessione tra le esigenze della produzione primaria e quelle della distribuzione commerciale, evidenziandone i reciproci impatti. Inoltre dimensione, capacità e organizzazione dell'impresa di trasformazione condizionano fortemente la scelta della categoria di prodotto finito da commercializzare, il prezzo e la scelta del canale di distribuzione più adatto.</p> <p>In questa fase, anche se solo a livello esplorativo, sono state prese in considerazione alcune aziende di trasformazione del territorio potenzialmente interessanti per la trasformazione delle materie prime Appenbio nell'ottica di sviluppo futuro di una gamma di prodotti simbolo del progetto.</p>
Attività ancora da realizzare	

Azione	DIVULGAZIONE
Unità aziendale responsabile	ALCE NERO SPA
Descrizione delle attività	<p>Si elencano le attività previste e relativa realizzazione:</p> <ul style="list-style-type: none"> A. Realizzazione del logo e dell'immagine coordinata del progetto e strategia di digital storytelling; B. Ideazione e realizzazione di un sito internet dedicato al progetto che accoglierà tutti gli stati di avanzamento fino a fine progetto; C. Creazione di un video di presentazione del progetto. D. Realizzazione di un'area dedicata al progetto sul sito alcenero.com E. Progettazione grafica e impaginazione di materiale divulgativo (tecnico e informativo). <p>Ad oggi sono stati realizzati:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Evento di presentazione del GOI "Appenbio" come esperienze di successo della programmazione della Regione Emilia Romagna –PSR Modena 4 Giugno 2018 – DIALOGHI SULLE POLITICHE DI COESIONE:LE NUOVE PROSPETTIVE LE SFIDE DEI TERRITORI (Vedi Locandina Allegata); ✓ Evento PSR presso lo stand Regione Emilia Romagna al SANA a Bologna 11 settembre 2018 con presentazione dei risultati preliminari di APPENBIO;

	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Evento in regione Emilia Romagna il giorno 8 ottobre 2018 (allegata locandina e presentazione di APPENBIO); ✓ Evento organizzato dal GAL Appennino Bolognese per la presentazione del progetto "Studio di fattibilità per un Biodistretto dell'Appennino Bolognese 14 gennaio 2019 presso la Regione Emilia-Romagna - in Bologna (in allegato locandina) ✓ Creazione di LOGO, Coordinato integrato per materiale divulgativo, video di presentazione e sito Web di progetto: http://www.appenbio.eu/, ✓ Implementazione di uno spazio nel sito Istituzionale di Alce Nero e in quello degli altri partner. <p>Uno sviluppo ulteriore del Progetto APPENBIO è rappresentato dal progetto SMARTCHAIN H2020 del cui Kick off svolto a Stoccarda il 17/18 ottobre 2018.</p> <p>Il 25 novembre 2019 si è svolto il Convegno divulgativo presso la sede della Regione Emilia-Romagna, sala XX Maggio, Terza Torre, Viale della Fiera 8.</p> <p>L'evento è stato comunicato ai media, alla stampa e al pubblico vasto attraverso tutti i canali digitali e cartacei. I relatori che sono intervenuti e che hanno dettagliato e presentato il progetto sono stati: Erika Marrone, di Alce Nero, Giovanni Dinelli, professore dell'Università di Bologna, Franco Berrino, dell'Associazione La Grande Via, Francesco Galli, dell'Università di Perugia, Marco Storchi, del Policlinico Sant'Orsola, Tiberio Rabboni, del GAL, Simona Caselli, Assessore all'agricoltura della Regione E-R, Luca Berti, della Cartiera dei Benandanti, Andrea Morara dell'Azienda Agricola Morara, Federica Frattini, del Podere San Giuliano. E' stata inoltre data diffusione alle aziende agricole dell'Appennino tramite le varie iniziative che il GAL ha proposto sul territorio.</p> <p>Gli abstract, le presentazioni e la registrazione dell'evento sono disponibili presso la Regione E-R.</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p>Le attività di comunicazione sono state svolte pienamente, pertanto sono stati raggiunti gli obiettivi prefissati.</p>
<p>Attività ancora da realizzare</p>	

<p>Azione</p>	<p>FORMAZIONE</p>
<p>Unità aziendale responsabile</p>	<p>ARTEMIS SRL</p>

<p>Descrizione delle attività</p>	<p>Le attività previste di coaching sono state avviate nel mese di ottobre 2018 nelle 3 aziende agricole partecipanti: La cartiera dei Benandanti per la parte di allevamento con il veterinario Alessandro Fantini, e le Aziende Agricole Morara e San Giuliano per la parte dei cereali con l'agronomo Marco Rusconi.</p> <p>Tutte le attività di coaching hanno l'obiettivo di trasferire i risultati del Piano di Innovazione "APPEN.BIO".</p> <p>E' stato realizzato tutta l'attività di coaching prevista e completato anche il Follow up dell'attività di trasferimento con tutti e tre gli all'agricoltore o all'allevatore per l'applicazione delle nuove tecniche emerse dalle linee guida.</p> <p>Dalle valutazioni al gradimento i risultati sono stati molto positivi.</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p>L'attività è stata completata e gli obiettivi raggiunti fino alla definizione delle linee guida, che sono state alla base del trasferimento.</p>
<p>Attività ancora da realizzare</p>	

2.2 Personale

Elencare il personale impegnato, il cui costo è portato a rendiconto, descrivendo sinteticamente l'attività svolta. Non includere le consulenze specialistiche, che devono essere descritte a parte.

AZIONE: ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE			INTERMEDIA		SALDO	
Cognome e nome	Mansione/qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo	Ore	Costo
		Esercizio della cooperazione: coordinamento monitoraggio	48	€ 2.557,92	10	€ 530,60
		Esercizio della cooperazione: monitoraggio finanziario e rendicontuale	146	€ 3.400,00	20	€ 717,20
		Esercizio della cooperazione: coordinamento pubbliche relazioni istituzionali	102	€ 4.736,08	22	€ 861,30
Totale:			296	€ 10.694,00	52	€ 2.109,10

Nota 1: Si segnala che i costi orari sono stati equiparati a quelli dell'anno 2017, in quanto non ci sono state variazioni che possano incidere in negativo sul costo.

Si specifica inoltre che in fase di progettazione, infatti, erano stati inseriti costi orari, riferiti all'anno 2015, più bassi rispetto a quelli reali calcolati con il criterio previsto da bando, pertanto il costo che sostiene Alce Nero risulta nettamente superiore a quello previsto in fase di presentazione del progetto.

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM-UNIBO ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE			INTERMEDIA		SALDO	
Cognome e nome	Mansione/qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo	Ore	Costo
		Partecipazione alle attività di coordinamento del progetto	51	€ 2.763,69	21	€ 1.137,99
		Partecipazione alle attività di coordinamento di progetto	13	€ 250,51	14	€ 441,98
Totale:			64	€ 3.014,20	35	€ 1.579,97

BENEFICIARIO: ARTEMIS SRL ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE			INTERMEDIA		SALDO	
Cognome e nome	Mansione/Qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo	Ore	Costo
		Partecipazione alle attività di coordinamento del progetto	262	€ 7.136,88	120	€ 3.268,80
Totale:			262	€ 7.136,88	120	€ 3.268,80

AZIONE 1 – STUDI NECESSARI ALLA REALIZZAZIONE DEL PIANO

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA AZIONE 1			INTERMEDIA		SALDO	
		AZIONE 1: Preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese per il piano di fattibilità	188	€ 4.803,80		
		AZIONE 1: Preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese per il piano di fattibilità	234	€ 4.914,16		
		AZIONE 1: Preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese per il piano di fattibilità	188	€ 9.758,84		
Totale:			610	€ 19.476,80	0	

BENEFICIARIO: ARTEMIS SRL STUDI NECESSARI ALLA REALIZZAZIONE			INTERMEDIA		SALDO	
Cognome e nome	Mansione/Qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo	Ore	Costo
		Preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese per il piano di fattibilità	416	€ 5.219,84		
		Preliminare analisi organizzativa delle aziende agricole localizzate nel territorio dell'Appennino Bolognese per il piano di fattibilità	198	€ 5.393,52		
Totale:			614	€ 10.613,36	0	€ -

AZIONE 2 – FOTOGRAFIA DELL'ESISTENTE SIA SUL FRONTE CEREALI CHE LATTE

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA AZIONE 2			INTERMEDIA		SALDO	
		AZIONE 2: Mappatura dell'esistente sia sul fronte cereali che latte	104	€ 5.568,16		
		AZIONE 2: Mappatura dell'esistente sia sul fronte cereali che latte	220	€ 4.902,60		
		AZIONE 2: Mappatura dell'esistente sia sul fronte cereali che latte	152	€ 4.125,28		
Totale:			476	€ 14.596,04	0	

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM-UNIBO AZIONE 2			INTERMEDIA		SALDO	
		Messa a punto di miscugli innovativi di frumento tenero e farro per adattamento al suolo e al clima dell'Appennino Emiliano. Selezione di varietà e costituzione di miscugli	99	€ 5.364,81		€ -
Totale:			99	€ 5.364,81	0	

AZIONE 3 – SPERIMENTAZIONE: ANALISI IN CAMPO E ANALISI IN ALLEVAMENTO/ LABORATORIO

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA AZIONE 3		INTERMEDIA		SALDO	
	AZIONE 3: Pianificazione ed organizzazione attività di sperimentazione relative alle analisi in campo e allevamento, studi di	168	€ 4.559,52	48	€ 1.302,72
	AZIONE 3 :Pianificazione ed organizzazione attività di sperimentazione relative alle analisi in campo e allevamento, studi di	80	€ 3.189,60	72	€ 2.870,64
Totale:		248	€ 7.749,12	120	€ 4.173,36

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM-UNIBO AZIONE 3		INTERMEDIA		SALDO	
	Pianificazione e messa a punto delle analisi di laboratorio	158	€ 8.562,02	227	€ 12.301,13
	Analisi di laboratorio	162	€ 3.121,74	185	€ 5.840,45
	Pianificazione e messa a punto delle analisi di laboratorio; realizzazione delle analisi di laboratorio	1934	€ 26.534,48	795	€ 10.939,20
Totale:		2254	€ 38.218,24	1207	€ 29.080,78

AZIONE 4 – ARMONIZZAZIONE DELLE LINEE GUIDA E STESURA DEL MODELLO “APPENBIO”

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA AZIONE 4		INTERMEDIA		SALDO	
	AZIONE 4: Armonizzazione delle linee guida del Modello Appembio	16	€ 626,40	60	€ 2.349,00
	AZIONE 4: Armonizzazione delle linee guida del Modello Appembio	80	€ 4.528,00	48	€ 2.716,80
Totale:		96	€ 5.154,40	108	€ 5.065,80

BENEFICIARIO: ARTEMIS SRL AZIONE 4		INTERMEDIA		SALDO	
	Armonizzazione delle linee guida del progetto Appen.bio	104	€ 1.314,56	192	€ 2.426,88
	Armonizzazione delle linee guida del progetto Appen.bio	92	€ 2.506,08	48	€ 1.307,52
Totale:			€ 3.820,64	240	€ 3.734,40

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM-UNIBO AZIONE 4		INTERMEDIA		SALDO	
	Armonizzazione delle linee guida del progetto Appen.bio	57	€ 3.088,83		€ -
Totale:		57	€ 3.088,83	0	€ -

AZIONE: DIVULGAZIONE

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA DIVULGAZIONE		INTERMEDIA		SALDO	
	Divulgazione	76	€ 2.104,00	76	€ 4.301,60
	Divulgazione	32	€ 851,20	194	€ 7.595,10
	Divulgazione	96	€ 5.212,64	180	€ 4.788,00
Totale:		204	€ 8.167,84	450	€ 16.684,70

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM-UNIBO DIVULGAZIONE		INTERMEDIA		SALDO	
	Divulgazione	99	€ 5.364,81		€ -
	Divulgazione	17	€ 327,59		€ -
Totale:		116	€ 5.692,40	0	€ -

2.3 Trasferte

AZIONE 3 – SPERIMENTAZIONE: ANALISI IN CAMPO E ANALISI IN ALLEVAMENTO/ LABORATORIO

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA DIPARTIMENTO SCIENZE AGRARIE

Cognome e Nome	Descrizione	Costo
	Rilievi Progetto a Monghidoro	€ 32,84
	Rilievi in campo e prelievo campioni presso l'azienda "La cartiera dei benandanti" (Monghidoro); Azienda Agraria A. Morara (Monterenzio) e Podere "Santa Croce" (Argelato)	€ 41,62
	Raccolta prove presso "La cartiera dei benandanti" (Monghidoro); Azienda Agraria A. Morara (Monterenzio) e Podere "Santa Croce" (Argelato)	€ 48,85
	Raccolta prove presso "La cartiera dei benandanti" Monghidoro (BO)	€ 26,13
	Rilievi in azienda	€ 29,46
	Semina presso l'azienda "La cartiera dei benandanti" (Monghidoro)	€ 44,79
	Semina presso Azienda Morara	€ 45,32
	Semina presso l'azienda "La cartiera dei benandanti" (Monghidoro)	€ 17,35
	Semina presso l'azienda "La cartiera dei benandanti" (Monghidoro)	€ 17,35
	Azienda Agraria A. Morara (Monterenzio) per semina su campo sperimentale	€ 21,00
	Azienda Agraria A. Morara (Monterenzio) per semina su campo sperimentale	€ 21,00
Totale INTERMEDIA:		€ 345,71

Cognome e Nome	Descrizione	Costo
	Partecipazione evento	€ 69,00
	Raccolta presso azienda Ca' de Fiori	€ 49,82
	Semina	€ 24,32
Totale SALDO:		€143,14

2.4 Materiale consumabile

AZIONE 3 – SPERIMENTAZIONE: ANALISI IN CAMPO E ANALISI IN ALLEVAMENTO/ LABORATORIO

BENEFICIARIO: ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA Dipartimento Scienze Agrarie

Fornitore	Descrizione materiale	Costo
ROMER LAB DIAGNOSTIC GMBH	Acquisto materiale di laboratorio (Agraquant)	1.280,00
Totale Intermedia:		1.280,00

Fornitore	Descrizione materiale	Costo
Life technologies Italia	Materiale laboratorio	€419,25
Life technologies Italia	Materiale laboratorio	€913,75
Life technologies Italia	Materiale laboratorio	€774,50
Di Giovanni S.R.L.	Materiale laboratorio	€1.002,26
Totale SALDO:		€4.404,45

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

Fornitore	Descrizione dell'attrezzatura	Costo
	Totale:	

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Fornitore	Descrizione	Costo
	Totale:	

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

Le attività sono state completate tutte le attività previste dai tre cataloghi verdi nelle seguenti aziende:

Azienda partecipante	CUAA	N° proposta e Titolo proposta inserita nel catalogo verde	Costo Unitario	
LA CARTIERA DEI BENANDANTI S.S. SOCIETA' AGRICOLA	02490280373	PROPOSTA N° 5005420 Titolo "Tecniche di allevamento dei bovini da latte nell'Appennino bolognese per la produzione di latte biologico ad alto valore nutrizionale salutistico"	€. 1.984,00	
AZIENDA AGRICOLA MORARA ANDREA	MRRNDR67E30A944T	PROPOSTA N° 5005099 Titolo "Tecniche di coltivazione di frumento tenero e farro nell' Appennino bolognese per la produzione di sfarinati ad alto valore salutistico"	€. 1.984,00	
AZIENDA AGRICOLA SAN GIULIANO DI FRATTINI FEDERICA	FRTFRC75S50A944D	PROPOSTA N°5005099 Titolo "Tecniche di coltivazione di frumento tenero e farro nell' Appennino bolognese per la produzione di sfarinati ad alto valore salutistico"	€. 1.984,00	

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA			Rend. Intermedia	Saldo
Nominativo del consulente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo	Costo
	€. 10.000	Azione Eserc. Cooperazione	€ 7.000,00	€ 3.100,00
		Resp. Aspetti operativi e progettuali		
	€. 10.000	Azione 2	€ 3.000,00	€ 7.100,00
		Analisi Fotografia dell'esistente		
	€. 10.000	Azione 4		€ 10.200,00
		Stesura Modello Appenbio		
Totale:			€ 10.000,00	€ 20.400,00

CONSULENZE – SOCIETÀ

BENEFICIARIO: ALCE NERO SPA					
Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Rend. Intermedia	Saldo
				Costo	Costo
Nouvelle SRL		€. 20.000	Divulgazione	€ 7.000,00	
EIKON SRL			Divulgazione		€ 8.300,00
Associazione La Grande Via		€. 5.000	Esercizio della Cooperazione Resp. Scientifico latte e derivati	€ 2.000,00	€ 3.000,00
Associazione La Grande Via		€. 25.000	Azione 2 Referente per fotografia dell'esistente latte	€ 12.000,00	€ 13.000,00
Associazione La Grande Via		€. 10.000	Azione 3 Referente per sperimentazione latte	€ 6.000,00	€ 4.000,00
Associazione La Grande Via		€. 20.000	Azione 4 Referente per sperimentazione latte		€ 20.000,00
Totale:				€ 27.000,00	€ 48.300,00

BENEFICIARIO: ARTEMIS SRL

Ragione sociale della società di CONSULENZA	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	INTERMEDIA Costo	SALDO Costo
Policlinico S. Orsola Malpighi		2.500	Azi one Eserc. Cooperazione Comitato Tecnico Scientifico	3.000	
Policlinico S. Orsola Malpighi		10.000	Azi one 1 Analisi per implementazione progetto	10.000	
Policlinico S. Orsola Malpighi		9.500	Azi one 2 Analisi per implementazione progetto	4.000	5.500
Policlinico S. Orsola Malpighi		3.000	Azi one 4 Analisi per implementazione progetto	0	2.500
Totale:				17.000	8.000

3 - Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività

Lunghezza max 1 pagina

Criticità tecnico-scientifiche	<p>Per il completamento delle azioni di sperimentazione sul latte si è rilevata la necessità di coinvolgere un ulteriore <u>fornitore scientifico</u>, attraverso un laboratorio accreditato di analisi specifiche sul latte facente capo all'Università degli studi di Perugia. Per questo è stato sottoscritto un incarico, al di fuori dei costi previsti dal progetto al Prof. Francesco Galli Professore associato del DIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE MED/49 - SCIENZE TECNICHE DIETETICHE APPLICATE di UNIPG, che è intervenuto per realizzare le prove sul latte.</p>
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	<p>Si sono incontrate CRITICITA' AGRONOMICHE nella fase di sperimentazione. Per la parte relativa ai Cereali, sono state riscontrate, in un numero esiguo di parcelle, alcune criticità, legate soprattutto alla presenza di ungulati e a problemi di germinazione del seme. Anche per questo è emersa la necessità di utilizzare anche la terza annata agraria per effettuare ulteriori prove e analisi, che permetteranno di ottenere dati più ampi e completi, a garanzia di una maggiore validazione dei dati di ricerca.</p> <p>La scelta di utilizzare la terza annata agraria comporterà uno slittamento delle attività previste.</p>
Criticità finanziarie	<p>In fase di progettazione, erano stati inseriti costi orari, riferiti all'anno 2015, più bassi rispetto a quelli reali calcolati con il criterio previsto da bando, pertanto a consuntivo il costo che sostiene Alce Nero risulta nettamente superiore a quello previsto in fase di presentazione del progetto.</p>

4 - Altre informazioni

Riportare in questa sezione eventuali altri contenuti tecnici non descritti nelle sezioni precedenti

5 - Considerazioni finali

Riportare qui ogni considerazione che si ritiene utile inviare all'Amministrazione, inclusi suggerimenti sulle modalità per migliorare l'efficienza del processo di presentazione, valutazione e gestione di proposte da cofinanziare

6 - Relazione tecnica

DA COMPILARE SOLO IN CASO DI RELAZIONE FINALE

Descrivere le attività complessivamente effettuate, nonché i risultati innovativi e i prodotti che caratterizzano il Piano e le potenziali ricadute in ambito produttivo e territoriale

L'insieme delle conoscenze tecniche sviluppate e via via acquisite nell'ambito **del progetto AppenBio** costituisce la conferma di un'assunzione di base: i concetti di **qualità alimentare** e di **cibo per la salute** sono strettamente correlati **all'origine** del prodotto.

Con origine, in tal senso, si intende non solo il **distretto territoriale di provenienza**, ma anche il **complesso dei fattori ambientali** che caratterizzano un determinato territorio e che, quindi, condizionano fortemente le tecniche agronomiche e di allevamento, oltre alla composizione degli alimenti stessi.

La **valorizzazione di un territorio** non può prescindere, quindi, dalla valutazione delle sue caratteristiche: la spinta innovativa ed evolutiva che oggi più che mai deve connotare l'agricoltura (in particolare quella biologica) deve necessariamente fare i conti con la "tradizione" e con la selezione di metodi e tecniche che tengano conto delle peculiarità delle aziende che su quel territorio insistono.

Il **know how** che è stato acquisito su entrambe le linee di azione, latte fieno e cereali, si è concretizzato attraverso azioni differenti tra loro.

In particolare, sul **filone cereali** è stato possibile sperimentare una popolazione **di grano tenero** e un miscuglio di **farro monococco** che attualmente sono oggetto, da parte di Alce Nero, di approfondimenti per esplorare le possibilità di una loro collocazione sul mercato. Le valutazioni analitiche effettuate confermano il **potenziale nutraceutico** di queste materie prime e le **linee guida agronomiche** sviluppate risultano di facile applicazione ed attuazione, replicabili senza particolari criticità anche in altre aree geografiche e su altre filiere già parte del sistema agroalimentare di Alce Nero. D'altronde, le sperimentazioni sono state effettuate su specie e varietà particolarmente adattabili a condizioni pedoclimatiche differenti.

Sul **filone latte**, l'assunzione iniziale che la **qualità di questo alimento**, in termini di componenti (positivi e negativi), fosse influenzata dall'**habitat delle vacche** e dalla **loro alimentazione** è stata confermata, contribuendo ad un'ipotesi di rilancio sul mercato di prodotti a base di latte vaccino, fortemente messi in discussione dalla comunità scientifica negli ultimi anni.

In entrambi i casi è emersa una **stretta interdipendenza** tra un cibo con componenti funzionali di rilievo e il "sistema" in cui questo stesso cibo è stato ottenuto: i campioni di latte provenienti da stalle ad allevamento non intensivo sembrerebbero avere sia un **migliore profilo degli ormoni steroidei** presi in esame, sia un **più basso tenore di estradiolo e testosterone**, che potrebbero deporre a favore di un minore rischio tumorale.

Tuttavia, nel **caso del latte**, la stesura e l'applicazione di linee guida generalmente applicabili si è rivelata non percorribile per ragioni diverse legate alle **specificità del territorio**, alla **disponibilità di pascoli**, al **clima**, alle differenti percezioni del significato di **benessere animale** da parte dell'allevatore, alla variazione intrinseca delle **caratteristiche del latte**.

Sarebbe inoltre necessaria un'adeguata valutazione statistica dei dati di laboratorio e quindi una casistica più ampia e organizzata in casi omogenei per avvalorare ulteriormente le conclusioni a cui si è pervenuti.

L'avanzamento in tale direzione richiederebbe tuttavia uno sforzo in termini economici che in questa fase di mercato Alce Nero ha ritenuto non sostenibile economicamente e commercialmente.

Al contrario, come accennato sopra, sul filone dei cereali si ritiene di avere proposto un modello di avanguardia rispetto ad una possibile collocazione dei prodotti sul mercato.

L'**innovazione**, in tal senso, è stata rappresentata dal rapporto instaurato con il **Policlinico Sant'Orsola** e dalla **sperimentazione** su piccola scala di alcuni dei prodotti (sia a base latte che a base cereali) presso la mensa ospedaliera, a beneficio di alcune categorie di pazienti. In particolare di quelli aventi necessità di alimenti ad alta densità nutritiva e facilmente accettabili da un punto di vista organolettico. Per i dettagli si rimanda al report tecnico del Sant'Orsola.

Questa sperimentazione rappresenta una **vera e propria avanguardia** verso il paradigma di una **filiera di qualità e di un reale cibo per la salute** che possa entrare a far parte del menù di pazienti ospedalieri che necessitano di alimenti energetici e con un buon livello proteico, senza ricorrere necessariamente a preparazioni industriali di origine animale.

Anche in questo caso, il **limite** allo sviluppo concreto è stato rappresentato **dall'assenza di un'azienda di trasformazione** in grado di processare il semilavorato *farina* in prodotti finiti differenti, con packaging e formati adatti e somministrabili in diverse occasioni di consumo.

Rispetto all'azione relativa al latte fieno, la somministrazione ha avuto ad oggetto lo yogurt con "Latte Fieno STG" biologico Alce Nero. Tuttavia, come riportato sopra, non è stato possibile estendere lo studio analitico ai benefici del latte fieno ai prodotti derivati, come lo yogurt.

Di sicuro, lo **sviluppo di una linea di prodotti** che mettano a frutto le sperimentazioni effettuate in ambito AppenBio rappresenterebbe l'ideale prosecuzione del progetto e la realizzazione dell'obiettivo ultimo di **valorizzare il territorio** anche in termini di redditività. Anche per questo motivo Alce Nero sta valutando, in particolare sul farro monococco e sul miscuglio di grani teneri, **i possibili output produttivi e i canali di commercializzazione** più adatti. È ipotizzabile che prodotti ad alto valore aggiunto come questi (e probabilmente in quantità limitate) si prestino particolarmente bene a canali diretti tra cui l'e-commerce, dove, la chance di un rapporto diretto con il consumatore consentirebbe anche uno storytelling efficace.

D'altra parte il modello di AppenBio e la collaborazione con il Policlinico Sant'Orsola è stato proposto nell'ambito del progetto europeo *SmartChain* come modello di filiera corta e di qualità.

Nell'ottica di sviluppo di un'ipotetica gamma, inoltre, un elemento fondamentale da tenere in considerazione per la valorizzazione dei prodotti è rappresentato dai **limiti legali attualmente vigenti** in termini di informazione (in particolare nutrizionale) al consumatore. Il **potenziale nutraceutico** dei prodotti sperimentati infatti non può, allo stato attuale, essere trasferito in nessun modo al consumatore (su etichette o altri supporti promozionali) a meno di non incorrere in sanzioni, stante l'attuale **normativa sull'etichettatura**.

Questa circostanza rappresenta un **limite importante** alla valorizzazione del progetto che ci auguriamo possa essere supportata da un intervento delle Istituzioni attraverso la valutazione di un possibile sistema di deroghe, se non altro quando l'informazione sia, come in questo caso, supportata da approfondimenti di elevato livello tecnico e scientifico.

Alleghiamo:

- **Relazione TECNICA Cereali**
- **Relazione TECNICA Latte**

Data 31/01/2020

IL LEGALE RAPPRESENTANTE

RENDICONTO TECNICO 'APPEN.BIO: CIBO PER LA SALUTE' - CEREALI

1. I GENOTIPI

Sono state scelte varietà di antica costituzione in base sia alla capacità produttiva in areali simili a quelli del progetto, sia per il loro valore nutrizionale e nutraceutico. La loro ampia base genetica favorisce l'adattamento ad ambienti pedoclimatici marginali, come l'Appennino emiliano, e a sistemi produttivi a basso input, come i sistemi di agricoltura biologica. Sono stati coltivati sia genotipi "in purezza" (singolarmente) che sottoforma di popolazione evolutiva (simultaneamente nella medesima parcella), in modo tale da poter valutare le diverse possibili dinamiche di crescita.

Inoltre, è stato coltivato e analizzato anche un miscuglio di genotipi di farro monococco, selezionati in una fase preliminare, sulla base delle caratteristiche agronomiche e nutrizionali della granella (come l'attività antiossidante). Per la sua capacità di adattamento a situazioni di bassa fertilità, e la rusticità nei confronti delle avversità biotiche e abiotiche, il farro monococco potrebbe risultare una valida alternativa colturale per le aziende agricole di collina e di montagna che operano in zone marginali. Inoltre, le sue caratteristiche nutrizionali potrebbero essere sfruttate per la creazione di una filiera locale incentrata sulla produzione di alimenti funzionali, sempre di maggiore interesse presso i consumatori finali.

Le cultivar e le popolazioni impiegate nella sperimentazione sono state:

Autonomia A:

Cultivar a taglia alta, si distingue da Autonomia B (taglia media) solo per l'altezza. Frutto dell'incrocio Frassineto x Mentana, realizzato ad opera di Mario Michahelles; la collina appenninica dell'Italia centrale rappresenta ancora oggi una delle zone migliori per la sua coltivazione. Il suo ciclo è medio precoce e manifesta un forte accostamento. È una pianta rustica, resistente ad inverni anche particolarmente rigidi e agli attacchi di ruggini; il suo ciclo medio-precoce gli consente di sfuggire alla stretta e, per via della sua suscettibilità all'allettamento, si adatta meglio a terreni marginali. La spiga è mutica e leggermente allungata, con spighe sporgenti e leggermente divaricate di color paglierino chiaro. La cariosside di colore rossiccio fornisce una farina con buone caratteristiche molitorie (Tanno, 2006)

Andriolo:

Ecotipo a taglia medio alta (circa 138 cm), che si adatta molto bene su terreni a bassa fertilità come quelli tipici dell'ambiente collinare e di montagna. Le sue origini sono sconosciute, anche se molto probabilmente ottenuto a seguito di una selezione operata sulla varietà Terricchio (Ghiselli *et al.*, 2016). Moderatamente resistente all'allettamento, ha una maturazione medio-tardiva. Il colore chiaro della spiga aristata e della granella è uno dei maggiori caratteri distintivi di Andriolo (Ghiselli *et al.*, 2016). La produttività, rispetto alle altre varietà a taglia alta, in regime biologico risultata mediamente inferiore; d'altra parte, a livello nutraceutico presenta una discreta ricchezza in composti fenolici ed una elevata attività antiossidante.

Canove:

Cultivar locale a taglia media (circa 124 cm), coltivata fino ai primi decenni del '900 nell'altopiano di Asiago. Pianta di media precocità, poco resistente all'allettamento anche in terreni marginali. La spiga è mutica, fusiforme e il colore del seme è bruno chiaro. Granella con spiccate caratteristiche nutrizionali anche rispetto ad altri grani antichi (<http://biodiversita.provincia.vicenza.it>).

Popolazione Bioadapt:

Popolazione composta inizialmente da cinque varietà antiche di frumento tenero: Andriolo, Inallettabile, Verna, Gentil Rosso e Frassineto. Tale popolazione è stata sviluppata nell'ambito di un progetto promosso dalla regione Emilia Romagna, denominato "VIRGO", sviluppato e conclusosi con successo nel triennio 2013-2015. L'obiettivo era sperimentare all'interno di sistemi biologici o a basso input la creazione di una filiera corta per la produzione di pane avente elevate qualità nutrizionali e salutistiche.

Benco:

Ecotipo di frumento tenero, tipico del Veneto, a taglia medio alta (circa 135 cm). Caratterizzato da una discreta resistenza all'allettamento, al freddo e alle malattie come ruggini ed oidio; la spiga è mutica ed oblunga, il colore delle glume è bianco, il seme di colore giallo ambrato assume una forma allungata (<http://biodiversita.provincia.vicenza.it>).

Gamba di ferro:

Ecotipo a taglia medio alta (circa 140 cm), tipicamente coltivato nell'Appennino Tosco-Emiliano fino alla prima metà del XX secolo. Si adatta bene ad ambienti di alta collina, con una buona resistenza all'allettamento. La spiga quadrata e di colore rossastro e l'elevata produttività sono i principali caratteri distintivi.

Abbondanza:

Ottenuta intorno al 1950, dal costituente Michahelles, incrociando Autonomia x Fontarronco. Fin da subito ha riscosso un discreto successo grazie alle rese abbastanza elevate per l'epoca e le ottime caratteristiche molitorie e panificatore. Sensibile all'allettamento, ma molto rustica verso alcuni stress ambientali come il freddo, la neve e molte malattie. La spiga è mutica, di color paglierino chiaro e di forma allungata, con spighe saldamente inserite nel rachide; la cariosside invece è di colore rossiccio (Tanno, 2006).

Funo:

Ha taglia medio-bassa, ed è il risultato dell'incrocio tra 210 x Damiano ad opera dell'Istituto di Allevamento Vegetale di Bologna, realizzato intorno agli anni '50. Gli areali più adatti alla sua coltivazione sono le pianure e la medio collina fertile del Centro-Nord. Permette di ottenere delle discrete produzioni anche se a maturazione è soggetta alla sgranatura. La spiga è compatta ed eretta, di colore paglierino chiaro, con reste corte ed aperte; la cariosside invece si presenta rossiccia all'esterno e molto farinosa all'interno. La farina ottenuta dalla macinazione di questo frumento ha caratteristiche qualitative mediocri (Tanno, 2006).

Popolazione Appen. Bio:

Questa popolazione è stata recentemente costituita presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie di Bologna per analizzare gli effetti delle interazioni di genotipi allevati in miscuglio in regime di agricoltura biologica e in areali di alta collina e montagna e per osservare come l'ambiente nel tempo possa influenzare la variabilità genotipica della popolazione. Per la costituzione del miscuglio sono state inizialmente utilizzate in parti uguali le varietà in purezza studiate nel presente lavoro.

Mix Farri:

Popolazione di accessioni di monococco, recuperate e conservate presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari di Bologna. Oltre ad analizzare gli effetti delle interazioni tra genotipi diversi, sono ancora in fase di studio le diverse caratteristiche agronomiche e nutrizionali rispetto ai frumenti teneri antichi.

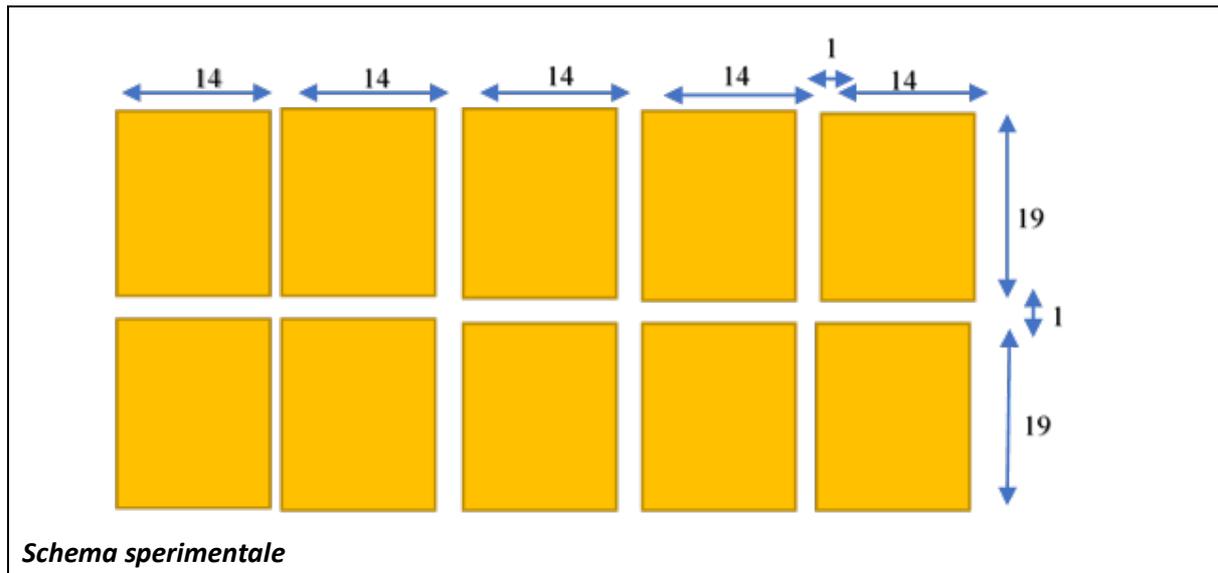
2. MATERIALI E METODI

La prova agronomica ha riguardato 7 genotipi di frumento tenero, due popolazioni evolutive di grano tenero e una popolazione di farro monococco.

Lo stesso schema sperimentale è stato impostato per tre annate agrarie (2016/2017 - 2017/2018 - 2018/2019), in tre aziende agricole situate nell'ambiente appenninico, quali: azienda Agricola Morara Andrea, Azienda Agricola La Cartiera dei Benandanti, Azienda Agricola Podere San Giuliano.

Sono state coltivate parcelle per tutte le cultivar in purezza e le popolazioni secondo uno schema sperimentale a randomizzazione completa, applicando le comuni pratiche agronomiche della coltivazione biologica del frumento uniformemente per tutte le parcelle.

La superficie di tutte le parcelle è stata di dimensioni pari a 19 x 14 metri, come illustrato nella figura.



In tutte le annate, attraverso un'osservazione visiva, sono stati monitorati i seguenti parametri: l'allettamento (in percentuale rispetto alla totalità della parcella), l'altezza della pianta (in cm misurando la distanza tra la superficie del terreno e l'apice della spiga), la lunghezza della spiga (in cm misurando la distanza tra la spighetta più basale e quella più distale), la presenza delle infestanti (stimando la percentuale di superficie totale della parcella occupata da malerbe), l'incidenza dei patogeni (stimata su una scala da 0-10; dove 0 rappresenta assenza di incidenza e 10 assenza di produzione) e la gravità delle malattie fungine (stimata su una scala da 0-10; dove 0 rappresenta assenza di malattia e 10 assenza di produzione).

Inoltre, sono stati raccolti i dati sulle precipitazioni, temperature medie, massime e minime nel corso della stagione di crescita del frumento, registrate presso la stazione meteorologica di Casoli di Romagna dell'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale e l'Energia.

2.1 Determinazioni analitiche dei macronutrienti e dei composti funzionali

Per quantificare le differenti componenti nutrizionali e funzionali sono state effettuate delle analisi presso il laboratorio di Fisiologia Vegetale dell'Università di Bologna. La granella raccolta da ogni parcella è stata successivamente macinata, tramite un mulino a pietra da laboratorio, per ottenere farina integrale. Ciascuna analisi è stata effettuata impiegando due repliche di campo, per ogni parcella.

Per i risultati delle repliche è stata calcolata la media, considerando un coefficiente di variazione accettabile quando al di sotto della soglia del 20 %.

Tutte le analisi di laboratorio sono state eseguite attendendosi ai metodi ufficiali dell'*Association of Official Analytical Chemists* (AOAC INTERNATIONAL) ed i metodi di analisi approvati dall'*American Association of Cereal Chemists* (AACC Intl.).

2.1.1. Lipidi

Il contenuto totale di lipidi delle farine è stato quantificato seguendo la metodologia di Freibauer (Folch et al., 1957), adattato ai cereali seguendo il metodo ufficiale AOAC.

Per ciascun campione di farina (500 mg), i lipidi sono stati estratti con 10 ml di una soluzione di Cloroformio-Metanolo in rapporto 2:1 (v/v), all'interno di tubi Falcon della capacità di 50 ml; in seguito i campioni sono stati posti in agitazione per 20 minuti a 140 rpm (rotazioni per minuto) e in seguito centrifugati per 10 minuti a 10000 rpm. Alla fine della centrifugazione, utilizzando l'imbuto di Buchner, è stato prelevato il surnatante e filtrato. Il filtrato poi è stato lasciato evaporare sotto cappa chimica in becher da 50 ml, in precedenza tarati. Infine, la quantità di lipidi è stata ottenuta sottraendo al peso lordo del becher dopo l'evaporazione quello della tara iniziale; il peso netto ricavato dalla differenza è stato espresso in percentuale (g/100g di farina).

2.1.2. Amido totale

L'amido totale è stato stimato attraverso l'utilizzo della tecnologia NIR (Near Infrared Reflectance – Grain Analyzer, FOSS).

2.1.3 Fibra alimentare

La determinazione del contenuto in fibre insolubili (IDF), solubili (SDF) e totali (TDF), presente in ogni campione di farina, è stata effettuata utilizzando il kit di analisi "Total Dietary Fiber" prodotto da Megazyme (Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland), in conformità ai metodi ufficiali AACC 32-05 e AACC 32-21, basati su processi enzimatici/gravimetrici. Il metodo si basa sulla digestione sequenziale di 1 g di farina ad elevata temperatura (60-100°C), grazie agli enzimi α -amilasi termostabile, proteasi ed amiloglicosidasi (in sequenza), in modo tale da rimuovere residui di proteine ed amido. In seguito, è stata separata la prima frazione fibrosa IDF, filtrando la soluzione acquosa con uno strato tricalcico (celite), precedentemente preparato sul fondo di crogioli, mentre la soluzione percolata è stata successivamente addizionata con etanolo 96 % (v/v) caldo, facendo precipitare le componenti solubili. La seconda frazione SDF viene anch'essa filtrata con lo strato tricalcico precedentemente preparato sul fondo di crogioli. Infine, entrambe le frazioni sono state poste in stufa per l'essiccazione e quantificate; la differenza tra il peso lordo e la tara dei crogioli risulta essere la massa fibrosa trattenuta dallo strato tricalcico.

Il valore totale di fibra (TDF) è stato ottenuto sommando le due frazioni IDF e SDF, al netto del quantitativo in ceneri espresso in peso e del residuo proteico ancora legato alla fibra, in modo tale da ottenere il valore reale di TDF.

2.1.4. Proteine

La frazione proteica presente in ciascun campione è stata espressa in percentuale sul peso secco e determinata attraverso l'analisi Kjeldahl, in conformità con i metodi AOAC e AACC (AA.VV., 2003). Questo metodo definisce il contenuto in azoto all'interno delle sostanze organiche e inorganiche. Il metodo è caratterizzato da tre differenti fasi: mineralizzazione, distillazione dell'ammoniaca e sua quantificazione; al termine dei suddetti passaggi è stata effettuata la moltiplicazione della percentuale di azoto ricavata per il coefficiente 5,83 ($\% N \times 5,83 = \% \text{proteine}$), permettendo così di quantificare il contenuto proteico della granella.

2.1.5. Polifenoli

L'estrazione dei polifenoli liberi e legati, è stata effettuata secondo una metodica descritta da Dinelli et al. (2009). Si parte con 1 g di farina trattato con etanolo 80 % (v/v) freddo per disciogliere i composti fenolici liberi. In seguito, la miscela è stata agitata e centrifugata per semplificare il prelievo del surnatante dal "pellet" (frazione solida rimanente). Quest'ultimo successivamente è stato trattato con soluzioni alcaline e acide, per estrarre le forme fenoliche legate. Il surnatante di entrambe le frazioni fenoliche è stato fatto evaporare sotto cappa a flusso laminare; al termine di questa fase, per poter essere analizzati e conservati a -20°C, gli estratti dei polifenoli liberi sono stati risospesi in 10 ml di metanolo 80% (v/v), mentre quelli dei polifenoli legati in 10 ml di metanolo 100% (v/v).

La determinazione quantitativa dei polifenoli totali è stata condotta mediante una tecnica colorimetrica che impiega il reagente di Folin-Ciocalteu, come viene illustrato da Singleton *et al.* (2009). Un'aliquota di ciascun estratto fenolico è diluita in 1,60 ml di acqua distillata e in seguito ossidata tramite l'aggiunta di 0,1 ml del reagente di Folin-Ciocalteu; dopo un'incubazione di 5 minuti viene somministrato al campione una soluzione di carbonato di sodio. Al termine di una successiva incubazione di due ore, al buio e a temperatura ambiente, si procede alla misura dell'assorbanza a 765 nm tramite spettrofotometro della soluzione ottenuta, di colore blu.

I composti fenolici di ogni campione, sono stati espressi in milligrammi di acido gallico equivalente in 100 g di farina, determinati attraverso una curva di calibrazione, creata utilizzando i valori di assorbanza a 765 nm di soluzioni a diverse concentrazioni di acido gallico, un acido fenolico impiegato come "standard". Sommando infine il contenuto in polifenoli liberi e legati, si ottiene la quantità di polifenoli totale del campione.

2.1.6. Flavonoidi

Sugli stessi estratti ottenuti per i polifenoli viene effettuata la determinazione dei flavonoidi liberi e legati, utilizzando il metodo descritto da Adom *et al.*, (2003). Un'aliquota del campione è stata diluita in acqua distillata; successivamente viene condotta una reazione con nitrito di sodio e cloruro di alluminio esaidrato per ottenere un complesso flavonoidi-alluminio. Si blocca poi la reazione con l'aggiunta di una soluzione di idrossido di sodio ed immediatamente si effettua la lettura dell'assorbanza a 510 nm della soluzione finale, tramite spettrofotometro.

Come per i polifenoli, la determinazione del contenuto di flavonoidi liberi e legati è stata ottenuta attraverso una curva di calibrazione, realizzata attraverso valori di assorbanza a 510 nm di soluzioni a differenti concentrazioni di catechina, un flavonoide incolore impiegato come "standard". I flavonoidi totali per ciascun campione sono stati determinati sommando il contenuto di flavonoidi liberi e legati.

2.1.7. Attività antiossidante

Gli stessi estratti dei composti fenolici descritti in precedenza sono stati utilizzati per definire l'attività antiossidante dei campioni di farina. È stato adottato il saggio "Ferric Reducing Antioxidant Potential" (FRAP) (Benzie e Strain, 1996).

Si tratta di un test basato sulla capacità dei composti antiossidanti di legarsi agli ioni ferrici (Fe^{3+}), determinando una riduzione a ioni ferrosi (Fe^{2+}), tramite la cessione di elettroni allo ione ferrico. Tale saggio è stato originariamente ideato per la determinazione del potere riducente del plasma, poi in seguito è stato adattato per saggiare composti puri e matrici complesse, come gli estratti fenolici delle farine. Tale metodica prevede di miscelare 20 μ l di estratto di polifenoli liberi, 20 μ l di estratto di polifenoli legati, 40 μ l di metanolo all'80 % e 2,4 ml di reagente FRAP all'interno di cuvette. Il reagente FRAP è una miscela composta da una soluzione buffer acetato 300 mM (mmol/l) con pH 3,6, una soluzione 10 mM di 2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine" (TPTZ) (in HCl 40 mM) e una soluzione 20 mM di cloruro ferrico esaidrato, in una proporzione di 10:1:1 (v/v). In seguito ad un'incubazione di sessanta minuti al buio e a temperatura ambiente, si procede con la lettura dell'assorbanza a 593 nm attraverso lo spettrofotometro. I valori ottenuti vengono poi confrontati con quelli delle soluzioni standard a concentrazioni note (da 0 a 1500 μ mol/l) di solfato di ferro eptaidrato ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) in acqua, utilizzati per la costruzione delle curve di taratura, che esprimono la concentrazione di ioni Fe^{2+} in funzione del valore di assorbanza misurato allo spettrofotometro.

Il quantitativo di composti antiossidanti e la loro attività riducente determina il diverso livello di ioni Fe^{3+} e Fe^{2+} complessati a TPTZ, determinando anche la diversa assorbanza dei campioni. Confrontando le assorbanze dei campioni con i valori standard della curva di taratura è possibile quantificare la concentrazione degli ioni ferro che sono stati ridotti ed avere una stima della capacità antiossidante prettamente chimica presente in ciascun campione di farina analizzato.

In generale, si può prevedere un maggior livello di complessi Fe^{2+} -TPTZ quando i valori di assorbanza a 593 nm sono maggiori e pertanto, la presenza di composti antiossidanti con un'azione riducente risulta essere maggiore. I valori ottenuti con il saggio dell'attività antiossidante FRAP vengono espressi in mmol Fe^{2+} /100 g di farina integrale.

2.2. Saggi *in vitro*

2.2.1 Attività anti-infiammatoria

Per gli studi *in vitro* è stato scelto di utilizzare la linea di cellule epiteliali derivanti dal colon Caco2 (ATCC, clone HTB37), invece della linea NCM460 (come precedentemente indicato), perché le cellule Caco2 sono quelle che meglio riflettono il fenotipo del tessuto epiteliale intestinale *in vitro* (Natoli M et al., 2012; Ceriotti and Meloni 2014). Le cellule Caco2 sono state coltivate in terreno di base DMEM arricchito con il 10% di siero fetale bovino (FBS) e 1% di penicillina-streptomicina.

Saggio di tossicità (MTT assay): Prima di studiare il potenziale anti-infiammatorio dei polifenoli estratti presi in esame, è stato necessario verificare che il modello cellulare utilizzato fosse quello corretto, mediante il test di tossicità sulle cellule intestinali Caco2. In particolare, le cellule sono state seminate nel loro terreno di coltura in una piastra multiwell da 96 pozzetti alla concentrazione di 10.000 cellule/pozzetto. Per ogni trattamento sono stati seminati 6 pozzetti e ogni esperimento è stato ripetuto 3 volte. 24 ore dopo la semina, alle cellule è stato cambiato il terreno e sono stati aggiunti i polifenoli alla concentrazione di 2.5ug GAE/ml estratti da 10 varietà di frumento coltivate. 4 ore dopo il trattamento è stato aggiunto l'LPS alla concentrazione di 1mg/ml. L'acido ferulico (FA) è stato utilizzato come controllo della attività dei polifenoli estratti, mentre come controllo negativo è stato utilizzato l'LPS da solo. 24 ore dopo il trattamento, è stato eseguito il saggio MTT. Brevemente: alle cellule è stato tolto il terreno e aggiunta la soluzione MTT (1mg/ml in DMEM, Life Technologies) a 37°C per 2 ore. Il colorante al formazano è poi stato solubilizzato mediante l'utilizzo di isopropanolo ed analizzato mediante uno spettrofotometro a scansione alla lunghezza d'onda di 570 nm. I risultati ottenuti come O.D. (valore di assorbanza) sono stati espressi come percentuale rispetto al controllo non trattato.

Quantificazione delle molecole infiammatorie IL8 e PGE2 : Sulla base di prove preliminari effettuate in laboratorio, è stato possibile verificare come l'espressione o meno di molecole infiammatorie in un modello cellulare fosse più facilmente identificabile quando si combinano in una cocoltura le cellule epiteliali intestinali Caco2 insieme ad una linea di cellule appartenenti al sistema immunitario. Per questo motivo è stato scelto di coltivare insieme le cellule Caco2 e la linea cellulare di monociti umana U937 (ATCC CRL-1593.2). Le cellule Caco2 sono state seminate nel loro terreno di coltura in una piastra multiwell da 24 pozzetti insieme alle cellule U937 alla concentrazione di 100.000 cellule/pozzetto rispettivamente. 24 ore dopo la semina, alle cellule sono stati aggiunti i polifenoli alla concentrazione di 2.5ug GAE/ml estratti da 10 varietà di frumento coltivate e, 4 ore dopo il pre-trattamento, è stato aggiunto l'LPS alla concentrazione di 1mg/ml. 24 ore dopo il trattamento, è stato raccolto il surnatante, centrifugato a 1200 rpm per 20 minuti ed è stato eseguito il saggio ELISA per la quantificazione dell'IL8, mediante l'utilizzo del kit Human IL-8 (4A Biotech Co.®) e della prostaglandina PGE2, mediante l'utilizzo del kit Human PGE2 ELISA Kit (FineTest®). Ogni esperimento è stato ripetuto 3 volte e i risultati ottenuti come O.D. (valore di assorbanza) sono stati espressi come pg/ml.

Quantificazione della percentuale di Macrofagi CD11 positivi: Le cellule Caco2 sono state seminate nel loro terreno di coltura in chamberslide da 4 pozzetti insieme alle cellule U937 alla concentrazione di 100.000 cellule/pozzetto rispettivamente. 24 ore dopo la semina, alle cellule sono stati aggiunti i polifenoli alla concentrazione di 2.5ug GAE/ml estratti da 10 varietà di frumento coltivate e, 4 ore dopo il pre-trattamento, è stato aggiunto l'LPS alla concentrazione di 1mg/ml. 24 ore dopo il trattamento, è stato tolto il terreno, i campioni sono stati fissati con etanolo 70% per 10 minuti @ RT e si è proceduto mediante la colorazione di immunocitochimica utilizzando l'anticorpo primario CD11b (GeneTex) e il Fast Red come cromogeno (ScyTek Laboratories). Le cellule positive al marker CD11b sono state contate in 10 campi per ogni trattamento e sono state espresse come % di cellule positive alla colorazione.

2.2.2. Attività pro-infiammatoria:

E' noto che le proteine del glutine possono indurre l'insorgenza di intolleranze alimentari a livello intestinale. L'attività pro-infiammatoria del materiale oggetto è stata valutata *in vitro* mediante lo studio degli effetti tossici sulle cellule intestinali, il dosaggio dei marcatori dell'infiammazione,

interleuchina 8 (IL8) e delle prostaglandine 2 (PGE-2) e mediante la quantificazione dei macrofagi (CD11b). Anche per lo studio dell'attività pro-infiammatoria delle proteine, come per quella anti-infiammatoria, è stato scelto di utilizzare la linea di cellule epiteliali derivanti dal colon Caco2 (ATCC, clone HTB37), invece della linea NCM460 (come precedentemente indicato).

Saggio di tossicità (MTT assay): Prima di studiare il potenziale pro-infiammatorio delle proteine estratte dalle varietà prese in esame, è stato necessario verificare che il modello cellulare utilizzato fosse quello corretto, mediante il test di tossicità sulle cellule intestinali Caco2. In particolare, le cellule sono state seminate nel loro terreno di coltura in una piastra multiwell da 96 pozzetti alla concentrazione di 10.000 cellule/pozzetto. Per ogni trattamento sono stati seminati 6 pozzetti e ogni esperimento è stato ripetuto 3 volte. 24 ore dopo la semina, alle cellule è stato cambiato il terreno e sono state aggiunte le proteine estratte alla concentrazione di 40ug/ml estratte dalle 10 varietà di frumento coltivate e l'LPS è stato utilizzato alla concentrazione di 1mg/ml come controllo positivo dell'effetto infiammatorio. 24 ore dopo il trattamento, è stato eseguito il saggio MTT. Brevemente: alle cellule è stato tolto il terreno e aggiunta la soluzione MTT (1mg/ml in DMEM, Life Technologies) a 37°C per 2 ore. Il colorante al formazano è poi stato solubilizzato mediante l'utilizzo di isopropanolo ed analizzato mediante uno spettrofotometro a scansione alla lunghezza d'onda di 570 nm. I risultati ottenuti come O.D. (valore di assorbanza) sono stati espressi come percentuale rispetto al controllo non trattato.

Quantificazione delle molecole infiammatorie IL8 e PGE2 :Le cellule Caco2 sono state seminate nel loro terreno di coltura in una piastra multiwell da 24 pozzetti insieme alle cellule U937 alla concentrazione di 100.000 cellule/pozzetto rispettivamente. 24 ore dopo la semina, alle cellule sono state aggiunte le proteine alla concentrazione di 40ug/ml estratte dalle 10 varietà di frumento coltivate e l'LPS è stato utilizzato alla concentrazione di 1mg/ml come controllo positivo dell'effetto infiammatorio. 24 ore dopo il trattamento, è stato raccolto il surnatante, centrifugato a 1200 rpm per 20 minuti ed è stato eseguito il saggio ELISA per la quantificazione dell'IL8, mediante l'utilizzo del kit Human IL-8 (4A Biotech Co.®) e della prostaglandina PGE2, mediante l'utilizzo del kit Human PGE2 ELISA Kit (FineTest®). Ogni esperimento è stato ripetuto 3 volte e i risultati ottenuti come O.D. (valore di assorbanza) sono stati espressi come pg/ml della citochina analizzata.

Quantificazione della percentuale di Macrofagi CD11 positivi: Le cellule Caco2 sono state seminate nel loro terreno di coltura in chamberslide da 4 pozzetti insieme alle cellule U937 alla concentrazione di 100.000 cellule/pozzetto rispettivamente. 24 ore dopo la semina, alle cellule sono state aggiunte le proteine estratte dalle varietà di frumento analizzate alla concentrazione di 40ug/ml e l'LPS è stato utilizzato alla concentrazione di 1mg/ml come controllo positivo dell'effetto infiammatorio. 24 ore dopo il trattamento, è stato tolto il terreno, i campioni sono stati fissati con etanolo 70% per 10 minuti @ RT e si è proceduto mediante la colorazione di immunocitochimica utilizzando l'anticorpo primario CD11b (GeneTex) e il Fast Red come cromogeno (ScyTek Laboratories). Le cellule positive al marker CD11b sono state contate in 10 campi per ogni trattamento e sono state espresse come % di cellule positive alla colorazione.

2.3. Analisi statistica

I dati raccolti agronomici e nutrizionali sono stati elaborati statisticamente tramite l'Analisi della Varianza (ANOVA) a due vie; per ognuno dei parametri analizzati è stata studiata la significatività dell'effetto del genotipo e della stagione di crescita, come anche dell'interazione tra questi fattori indipendenti. La significatività delle differenze tra le medie (riscontrata nell'ANOVA), per ogni genotipo ed anno è stata determinata utilizzando il test statistico di Student-Newman-Keuls, con $P < 0.05$. Al fine di evidenziare possibili correlazioni tra i diversi parametri analizzati, specialmente tra quelli nutrizionali, è stato calcolato (tra i differenti parametri) il *Pearson Product Moment Correlation Coefficient* (r), che esprime il grado di correlazione lineare tra due variabili indipendenti, considerandolo significativo per valori di $P < 0.05$.

3. RISULTATI

3.1 Dati meteorologici

Dall'ultimo rapporto della World Meteorological Organization, presentato alla COP25, emerge che le temperature medie tra il 2015 e il 2019 sono state le più alte mai registrate (<https://public.wmo.int/en>).

2016	Ottobre	Novembre	Dicembre					
Piuvosità (mm)	131,0	105,2	15,0					
T.min mensile (°C)	8,6	6,0	3,3					
T.max mensile (°C)	13,75	10,58	8,0					
T.media mensile (°C)	11,0	8,1	5,6					
Giorni Piovosi	20	18	9					
2017	Gennaio	Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Totali
Piuvosità (mm)	16,2	95,2	35,8	52,0	66,4	49,8	6,0	572,6
T.min mensile (°C)	-2,4	3,0	6,3	7,7	11,8	17,8	18,6	8,0
T.max mensile (°C)	2,6	7,4	12,6	15,0	18,5	25,1	26,6	14,0
T.media mensile (°C)	-0,1	5,1	9,4	11,3	15,0	21,3	22,4	10,9
Giorni Piovosi	5	13	7	12	9	6	2	101

Tabella 1- Temperature e precipitazioni registrate durante il ciclo del frumento nell'annata 2016/2017

Il cambiamento delle temperature è accompagnato da una progressiva tropicalizzazione del clima, con il moltiplicarsi di eventi estremi che hanno provocato, solo nel 2018, danni per 1,5 miliardi di euro all'agricoltura secondo Coldiretti (<https://www.coldiretti.it/to-do/clima-2018-lanno-piu-caldo-della-pianeta>). L'eccezionalità degli eventi atmosferici si manifesta con una elevata frequenza di eventi estremi con sfasamenti stagionali, precipitazioni brevi ed intense e rapido passaggio dal maltempo al sole, rendendo sempre più complicate le pratiche agronomiche.

Si può notare che, come riportato in tabella n.1, nella stagione 2016/2017 l'apporto idrico degli eventi piovosi è stato di 572,6 mm distribuiti su 101 giorni di pioggia; per quanto riguarda le temperature, la minima media mensile più bassa è stata di -2,4°C e la massima di 26,6°C, le temperature medie mensili sono risultate comprese tra -0,1 e 22,4 °C. Analizzando i dati con l'ausilio del diagramma di Bagnouls-Gausson (figura 1), non si osservano periodi di criticità, in termini di disponibilità idrica, durante tutto il ciclo di coltivazione del frumento, escludendo il mese di luglio (ovvero periodi in cui le precipitazioni sono inferiori al potenziale evapo-traspirativo); sono visualizzabili nel diagramma come le aree in cui la curva delle precipitazioni scende al di sotto di quella delle temperature medie.

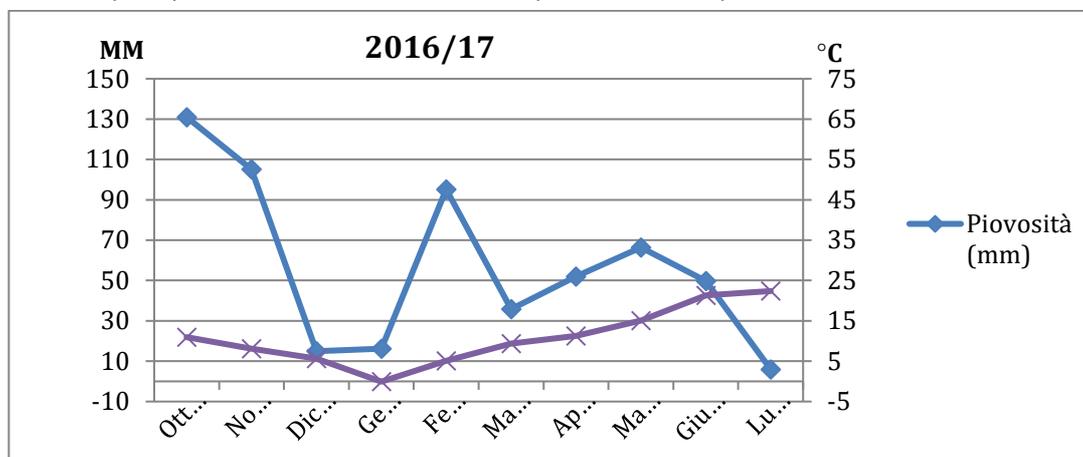


Figura 1 - Diagramma di Bagnouls-Gausson riferito alla stagione 2016/17

Nella stagione successiva (2017/18) la piovosità cumulata nel periodo tra ottobre e luglio è stata più alta rispetto a quella della stagione precedente e pari a 774,6mm, caduta in 126 giorni di pioggia.

2017	Ottobre	Novembre	Dicembre						Totale
Piovosità (mm)	6,8	213,2	68,0						
T.min mensile (°C)	10,7	5,0	1,4						
T.max mensile (°C)	17,0	9,2	6,3						
T.media mensile (°C)	13,7	6,7	3,8						
Giorni Piovosi	9	14	16						
2018	Gennaio	Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Totale	
Piovosità (mm)	31,6	97,6	142,6	23,4	87,4	67,2	36,8	774,6	
T.min mensile (°C)	3,3	-1,6	1,7	9,8	12,3	15,5	18,9	7,7	
T.max mensile (°C)	7,9	1,9	6,7	16,1	18,1	22,3	26,3	13,2	
T.media mensile (°C)	5,6	0	4,0	12,8	15,0	18,9	22,5	10,3	
Giorni Piovosi	12	17	19	12	14	5	8	126	

Tabella 2- Temperature e precipitazioni registrate durante il ciclo del frumento nell'annata 2017/2018.

La distribuzione degli eventi piovosi durante le stagioni non è stata però omogenea, in quanto solo nel mese di novembre sono caduti più del 25% di mm di pioggia registrati in tutto il periodo. Le temperature sono risultate in linea alla prima stagione di coltivazione, ma con valori estremi più contenuti; la minima, registrata nel mese di febbraio pari a -1,6°C e la massima del mese di luglio pari mediamente a 26,3°C; le temperature medie invece sono risultate comprese tra 0 e 22,5°C. Analizzando i dati con l'ausilio del diagramma di Bagnouls-Gaussen (figura 2), non si osservano periodi di criticità, in termini di disponibilità idrica, durante tutto il ciclo di coltivazione del frumento.

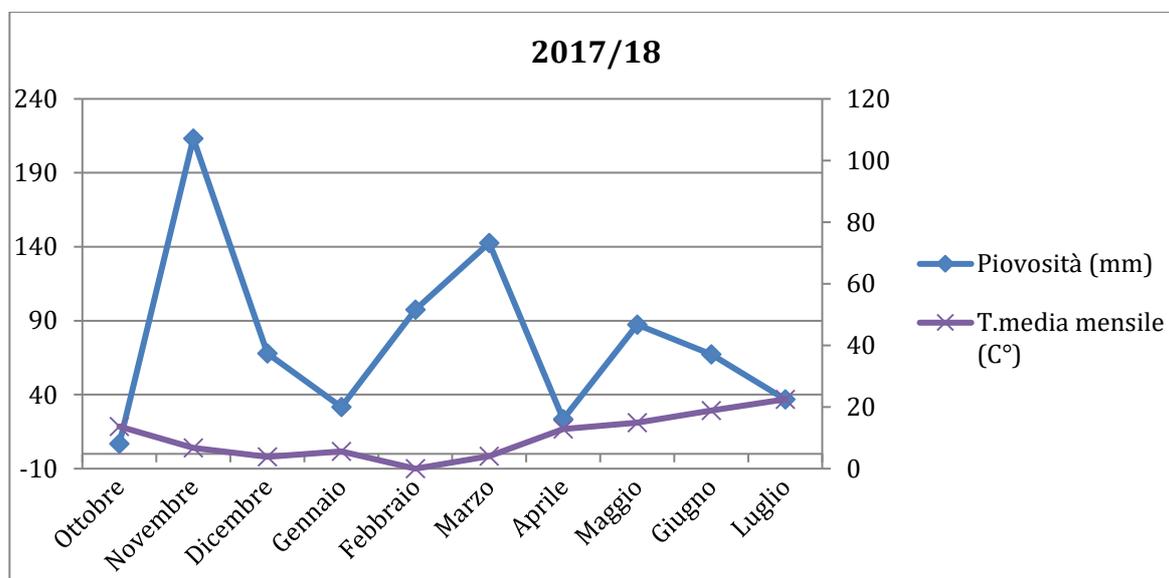


Figura 2- Diagramma di Bagnouls-Gaussen riferito alla stagione 2017/18

Come si può notare nella tabella 3, nella annata 2018/2019 la piovosità cumulata è di 936,6 mm di pioggia distribuiti in 110 giorni. Tale apporto idrico derivante dalle piogge risulta essere quello più alto registrato nei tre anni di sperimentazione. Anche per il terzo anno di sperimentazione la

distribuzione degli eventi piovosi durante le stagioni non è stata omogenea, in quanto solo nel mese di maggio sono caduti più del 35% dei mm di pioggia registrati in tutto il periodo.

2018	Ottobre	Novembre	Dicembre					
Piovosità (mm)	123,6	111	40,2					
T.min mensile (°C)	10,7	6,3	2,1					
T. max mensile (°C)	16,1	10,2	7,3					
T.media mensile (°C)	13,1	8	4,7					
Giorni Piovosi	12	18	9					
2019	Gennaio	Febbraio	Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Ott-luglio
Piovosità (mm)	36,6	54,8	18	95,2	342,8	13,2	101,2	936,6
T.min mensile (°C)	0,2	2,9	4,8	7	7,8	18,2	18,7	7,8
T. max mensile (°C)	4,6	9	12	12,6	13,4	24,6	25,4	13,6
T.media mensile (°C)	2,1	5,9	8,4	9,6	10,4	21,4	22,3	10,5
Giorni Piovosi	10	7	6	15	22	1	10	110

Tabella 3- Temperature e precipitazioni registrate durante il ciclo del frumento nell'annata 2018/19.

Anche nel terzo anno le temperature sono risultate in linea alle prime due stagioni di coltivazione, ma con valori estremi ancora più contenuti; a differenza degli altri anni non si sono mai registrate temperature inferiori allo zero: la minima, registrata nel mese di gennaio pari a 0,2°C e la massima del mese di luglio pari mediamente a 25,4°C. Le temperature medie invece sono risultate comprese tra 2,1 e 22,3°C. Analizzando i dati con l'ausilio del diagramma di Bagnouls-Gaussen (figura 3), non si osservano periodi di criticità, in termini di disponibilità idrica, durante tutto il ciclo di coltivazione del frumento, tranne per il mese di giugno (le precipitazioni sono inferiori al potenziale evapotraspirativo). Questi periodi sono visualizzabili nel diagramma come le aree in cui la curva delle precipitazioni scende al di sotto di quella delle temperature medie.

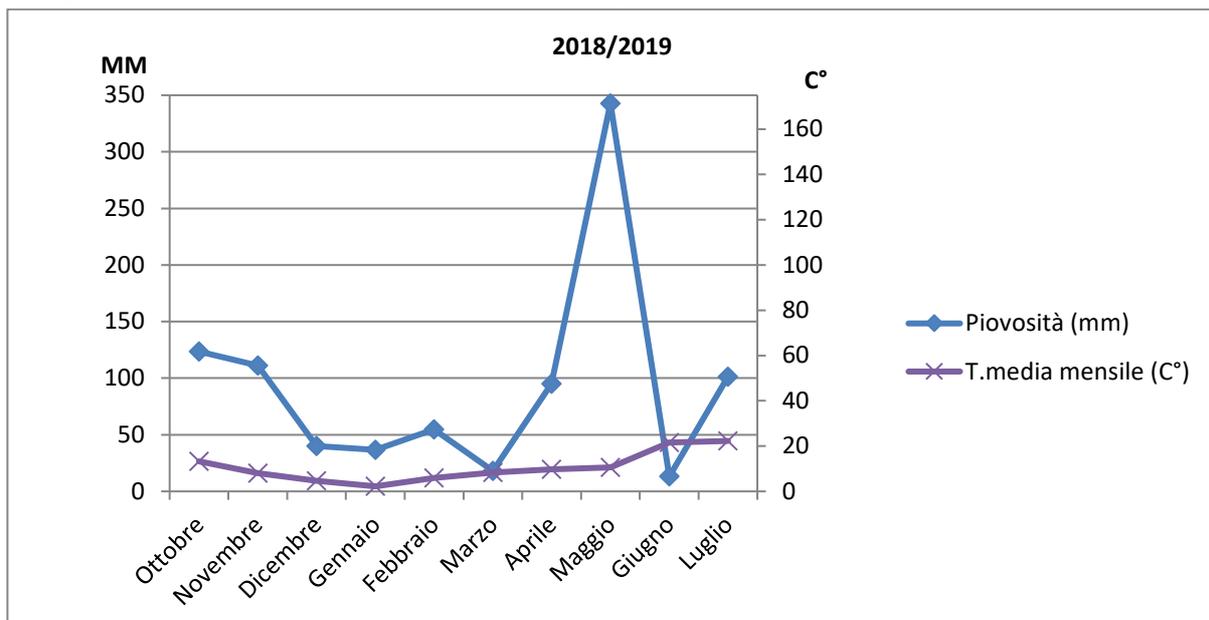


Figura 3- Diagramma di Bagnouls-Gaussen riferito alla stagione 2018/19

Analizzando nel loro insieme i dati meteorologici rilevati nelle tre diverse annate agrarie, si può notare come nell'annata 2018/19 si sia avuta la piovosità cumulata totale nettamente maggiore rispetto ai due anni precedenti.

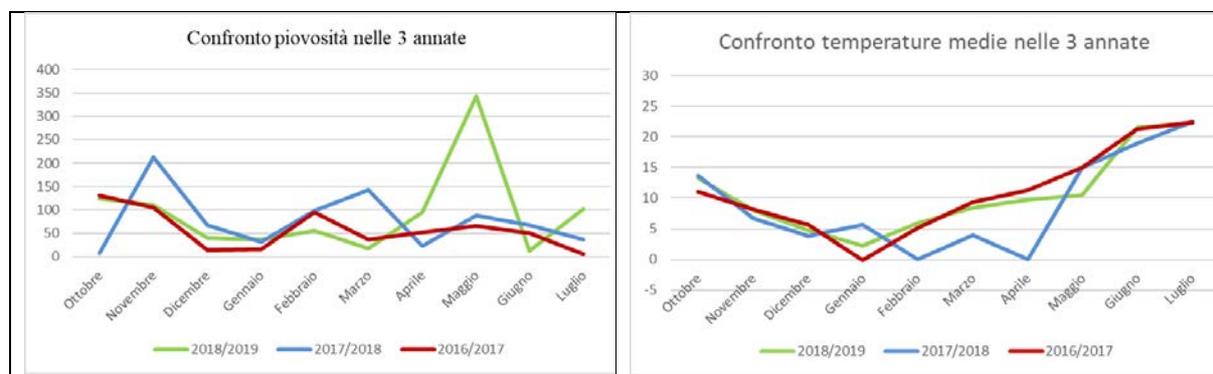


Figura 4: Confronto delle precipitazioni cumulate e delle temperature medie osservate nelle 3 annate agrarie di prova.

Nello specifico il primo anno di sperimentazione (2016/2017) è risultato quello con la piovosità cumulata e con un numero di giorni piovosi inferiore rispetto agli altri anni. Il primo anno però dimostra una distribuzione delle piogge più uniforme durante tutto il ciclo vegeto-riproduttivo del frumento, garantendo complessivamente un'adeguata disponibilità di acqua fino alla fase di maturazione della granella. Nel secondo e terzo anno le piogge in termini quantitativi sono state più abbondanti ma con una distribuzione non omogenea. Per l'annata 2017/2018, infatti, più del 50% dei mm registrati sono caduti nei mesi di novembre e marzo alternandosi a mesi carenti di eventi piovosi, quasi del tutto siccitosi e molto al di sotto delle medie stagionali, come gennaio e aprile. Per l'annata 2018/2019 quasi il 40% delle precipitazioni complessive si sono concentrate nel mese di maggio, con scarsissime precipitazioni nei mesi, come marzo, in cui di solito sono più abbondanti.

Per quanto riguarda le temperature, esse hanno avuto un andamento molto simile nelle annate 2016/2017 e 2018/2019. In particolare, quest'ultima annata è risultata essere quelle con le temperature medie più elevate in assoluto rispetto ai due anni precedenti, soprattutto da marzo in poi. Il 2017/2018, invece, ha registrato delle temperature medie notevolmente più basse rispetto agli altri due anni, in particolare nel periodo tra febbraio e aprile, per poi raggiungere livelli termici simili alle altre due annate da maggio in poi. Per tutte e tre le annate il mese più caldo è stato luglio mentre le temperature medie più basse per il 2016/2017 e per il 2018/2019 si sono registrate in gennaio, per il 2017/2018 si sono registrate in febbraio.

3.2. Parametri agronomici

Come precedentemente accennato, per ogni parcella sono state individuate due aree di 1 m² ciascuna. Su tali aree sono stati effettuati tutti i rilievi agronomici di campo riportati di seguito (altezza pianta, lunghezza spiga, % allettamento) ed infine è stata raccolta la granella per determinare le rese, peso 1000 semi, peso ettolitrico e successivamente tutte le analisi nutrizionali, precedute da una macinazione della granella con mulino a pietra.

	RESA (t/Ha)	PESO 1000 SEMI (g)	PESO ETTOLITRICO (kg/hl)	H PIANTA (cm)	L SPIGA (cm)	ALLETTAMENTO (%)
ANNO	**	**	***	**	***	ns
2016/17	2,08 (c)	42,05 (b)	80,59 (b)	119,42(a)	11,04(a)	20,92
2017/18	3,03 (a)	46,80 (a)	82,11 (a)	114,29(b)	9,07(b)	36,71
2018/19	2,61 (b)	44,83 (a)	77,85 (c)	113,36(b)	8,82(b)	34,17
GENOTIPO	**	***	***	**	***	ns
Abbondanza	2,31 (b)	45,58 (bc)	81,95 (ab)	95,31(e)	9,31(de)	12,78
Andriolo	2,76 (ab)	45,74 (bc)	81,76 (a)	118,76(c)	9,82(cd)	27,22
Autonomia A	2,64 (ab)	47,08 (bc)	82,04 (a)	109,03(d)	8,70(ef)	32,36
Benco	3,29 (a)	53,36 (a)	80,54 (abcd)	119,00(c)	10,34(bc)	34,17
Canove	2,81 (ab)	44,82 (bc)	79,31 (cd)	110,46(d)	8,96(ef)	38,06
Funo	2,92 (ab)	43,29 (c)	80,09 (bcd)	96,82(e)	8,36(fg)	12,22
Gamba Di Ferro	2,82 (ab)	48,74 (abc)	79,02 (d)	136,89(a)	12,10(a)	31,67
Pop. Appen.Bio	3,21 (a)	46,75 (bc)	80,78 (abc)	125,90(b)	10,41(bc)	35,56
Pop. Bioadapt	2,88 (ab)	50,01 (ab)	80,05 (ab)	126,16(b)	10,79(b)	27,50
Mix Farri	1,49 (c)	29,50 (d)	81,47 (bcd)	113,79(d)	7,70(g)	54,44
GxA	ns	**	**	**	*	n,s,

Tabella 4. I valori indicati da lettere diverse sono significativamente differenti (ns = Non significativo, * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$)

La resa in granella nella prova si è statisticamente differenziata nelle tre annate agrarie: nel 2016/17 è stata ottenuta una produzione media pari a 2,08 t/ha, mentre nella seconda è risultata la più alta in assoluto ed è stata pari a 3,03 t/ha. Analizzando i dati riassunti in tabella 4 si nota come i genotipi abbiano inciso significativamente sulla resa. In particolare, la popolazione di farri (1,49 t/ha) e Abbondanza (2,31 t/ha), sono risultate accessioni con rese statisticamente più basse rispetto alle altre otto varietà oggetto di studio; per esempio, Benco è riuscito a raggiungere le 3,29 t/ha.

L'interazione tra annata agraria e genotipo non è risultata statisticamente significativa (tabella 4).

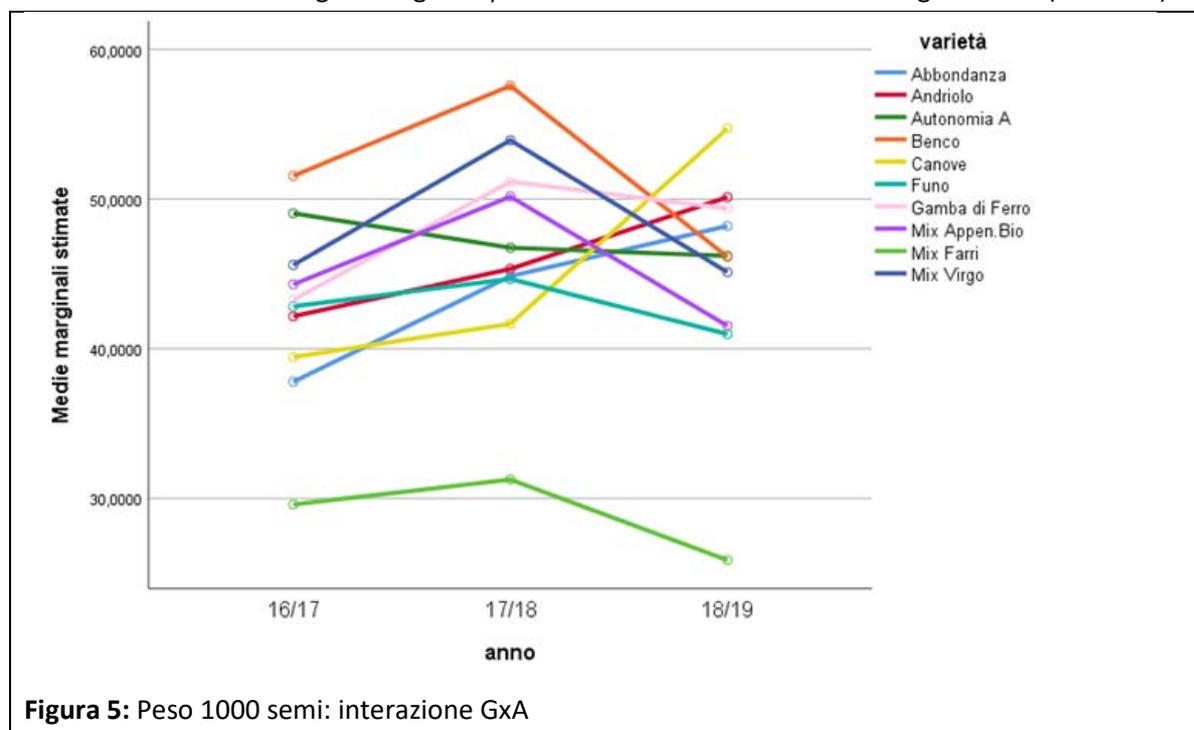


Figura 5: Peso 1000 semi: interazione GxA

Per quanto riguarda il peso 1000 semi, esso risulta essere statisticamente influenzato da entrambi i due fattori indipendenti presi in esame e riportati in tabella 4. Le condizioni climatiche, più piovose, dell'annata agraria 2017/18 e 2018/19 hanno influenzato positivamente questo parametro (rispettivamente 46,80 g e 44,83 g), rispetto alla stagione 2016/17 in cui il valore ottenuto è stato di 42,05g. Si possono evidenziare Benco (53,36 g), Bioadapt (50,01 g) e Gamba di Ferro (48,74 g) tra i valori più alti, mentre Mix farri tra i valori più bassi (29,50 g). L'interazione fra i due fattori (anno e varietà) è risultata statisticamente significativa (Figura 5).

Il peso ettolitrico nelle tre stagioni di coltivazione si è differenziato statisticamente. Nella stagione 2016/17 la media dei valori di tutte le varietà oggetto di studio è stata pari a 80,59 kg/hl; nell'annata successiva è risultato di 82,11 kg/hl, mentre nel terzo anno si è registrato il valore più basso, pari a 77,85 kg/hl. Anche i genotipi si sono differenziati tra loro: le migliori performance sono state ottenute da Autonomia A (82,04 Kg/hl), a seguire Abbondanza (81,95 Kg/hl), Andriolo (81,76 Kg/hl) e Appenbio (80,78 Kg/hl), mentre per Gamba Di Ferro (79,02 Kg/hl) sono stati misurati i risultati peggiori. A livello statistico è risultata altamente significativa l'interazione tra l'anno e genotipo, come si può osservare in tabella 4.

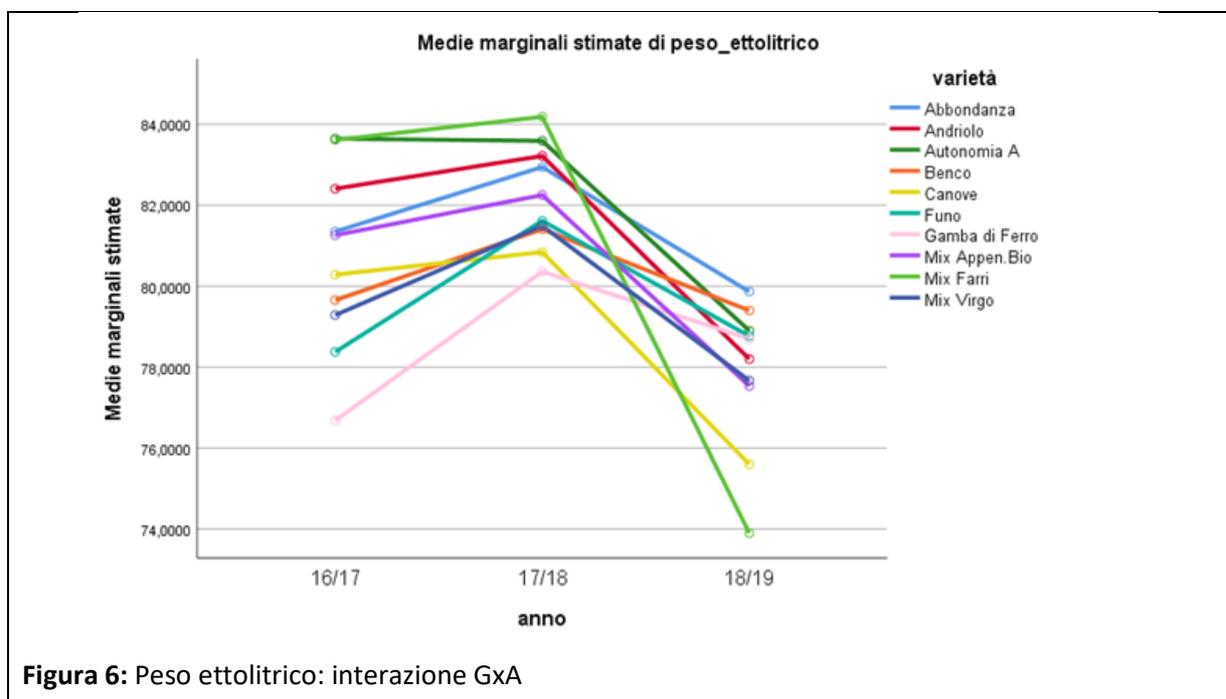
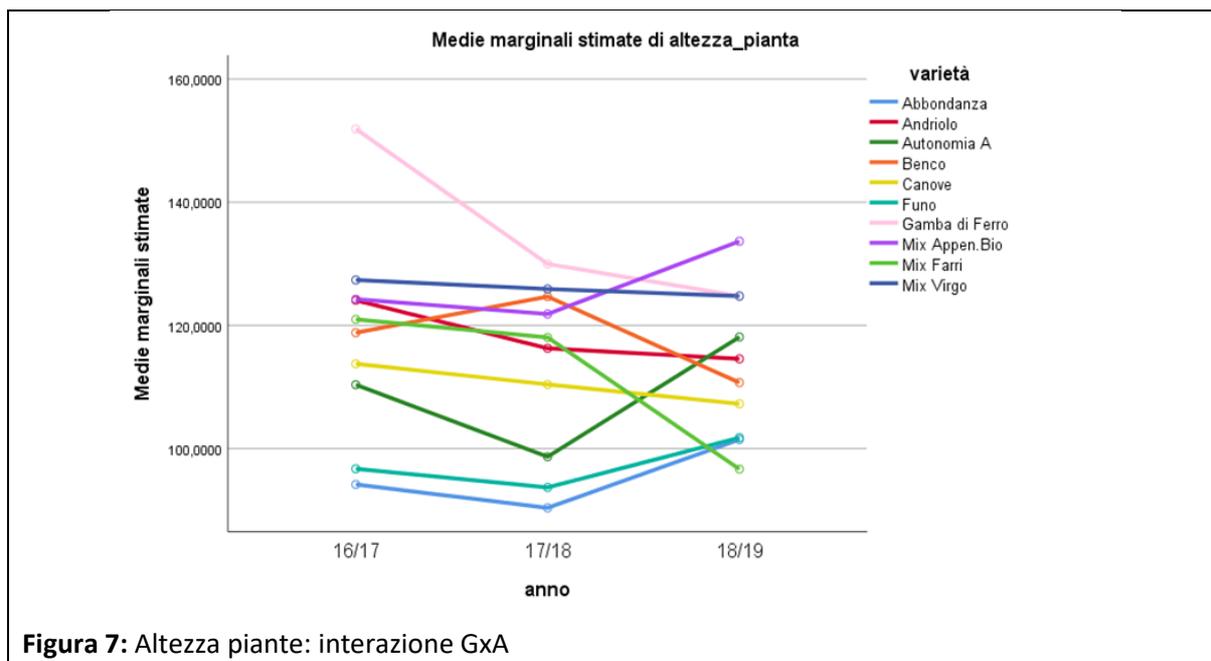
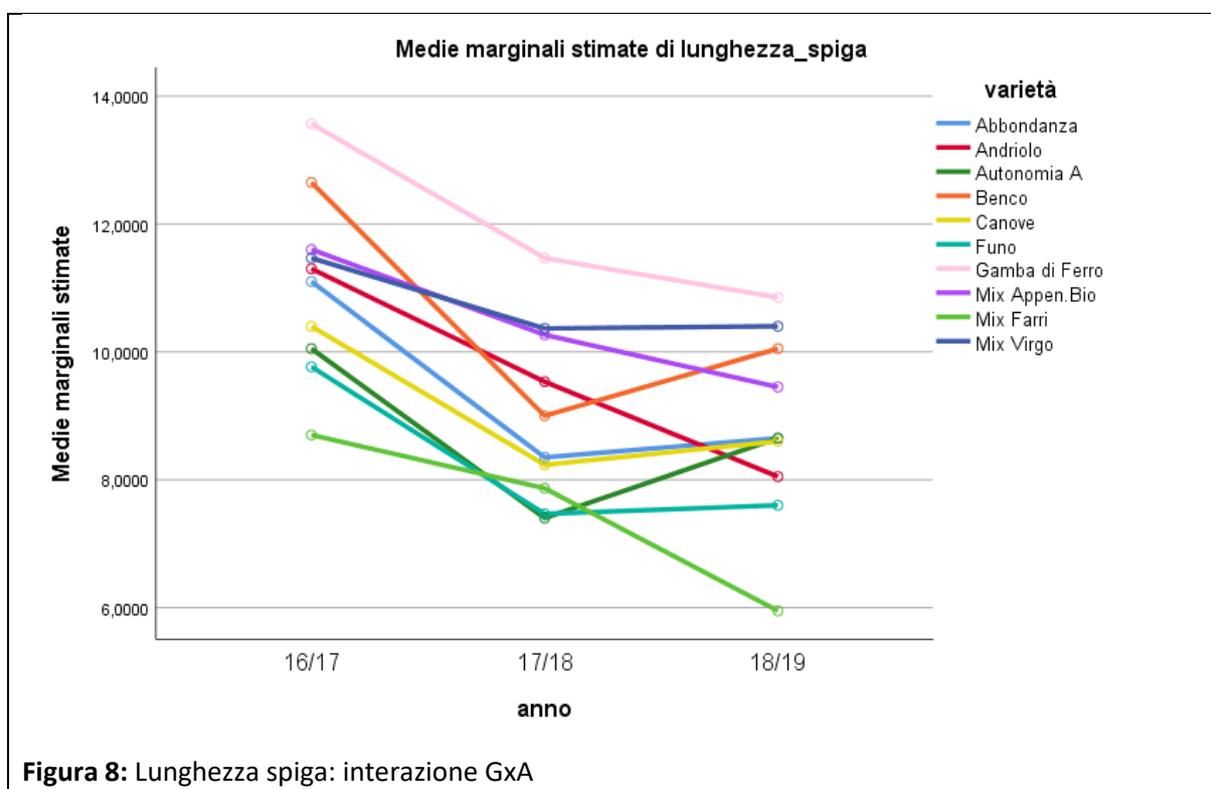


Figura 6: Peso ettolitrico: interazione GxA

In base ai dati rilevati in campo prima della raccolta, il parametro altezza pianta è stato significativamente influenzato da tutti i fattori considerati, cioè anno e genotipo. Nella prima annata agraria l'altezza media delle piante è risultata maggiore rispetto agli altri anni ed è stata pari a 119,42 cm; nel secondo e terzo anno, invece, è risultata rispettivamente di 114,29cm e di 113,36. Il comportamento delle varietà per il parametro preso in esame è stato molto eterogeneo, con altezze che variano da 136,89cm di Gamba Di Ferro a 95,31cm di Abbondanza. L'interazione tra l'annata agraria e il genotipo è risultata significativa come è possibile osservare nella figura 7.



Il parametro lunghezza della spiga ha registrato effetti statisticamente significativi del fattore anno e del fattore genotipo. La stagione 2016/17 ha favorito maggiormente l'allungamento della spiga, raggiungendo un valore medio pari a 11,04 cm; nelle annate successive il valore medio misurato è stato rispettivamente di 9,07 e di 8,82. Analizzando il fattore "varietà", le spighe di maggiori dimensioni si sono ottenute nel genotipo Gamba Di Ferro (12,10 cm) mentre quelle di minori dimensioni sono state ottenute in Funo (8,36 cm). Il mix Farri ha raggiunto un valore medio per la lunghezza della spiga di 7,70 cm. L'interazione tra i due fattori, anno e genotipo, è risultata significativa (figura 8).



Infine, dall'analisi statistica è emerso che i fattori anno e genotipo non hanno influenzato in maniera significativa la percentuale di allettamento. Questo risultato verrà discusso meglio successivamente nel capitolo "discussioni". Possiamo comunque affermare che le condizioni migliori si sono verificate nell'annata 2016/17, con una percentuale di allettamento pari al 20.92%, mentre nella stagione 2017/18 e 2018/2019 la percentuale è stata rispettivamente 36.71% e 34.17%. Per quanto riguarda il genotipo, si può osservare come la popolazione di farri sia risultata in questa sperimentazione altamente suscettibile all'allettamento (54.44%); tra i frumenti invece la maggiore tendenza ad allettare è stata rilevata per: Canove, Mix Appen.Bio e Benco, che hanno fatto registrare indici tra il 34 e il 38%. Tra le accessioni che si sono distinte positivamente ci sono Abbondanza e Funo, con un indice di allettamento tra il 12 e il 13%. Inoltre, come si può vedere in tabella 4, l'interazione tra i fattori anno e genotipo non è risultata significativa.

Anche per quanto riguarda il peso 1000 semi, l'annata 2017/18 ha fatto riscontrare i risultati migliori. Evidentemente, come per la resa, le condizioni climatiche di quell'annata hanno favorito questo parametro. Inoltre, oltre all'effetto della stagionalità si può attribuire un notevole peso anche all'effetto del genotipo su questo parametro. A tal proposito Benco ha riportato i valori più alti di peso mille semi, mentre il mix Farri quelli più bassi.

Il peso ettolitrico dei frumenti non è correlato con le rese come riportato in letteratura (Angelini 2007). Osservando i dati riportati in tabella 4, i valori più elevati anche per il peso ettolitrico sono stati riscontrati nella stagione 2017/18. I valori più bassi, invece, sono stati osservati nella stagione 2018/19 per il peso ettolitrico e nella stagione 2016/2017 per quanto riguarda le rese.

Il minor valore di peso ettolitrico dell'ultima annata può essere spiegato dalle condizioni climatiche di quell'anno, in cui, rispetto agli altri anni, un abbondante quantità di precipitazioni si è riversata nell'ultima fase del ciclo biologico del frumento, andando a favorire lo sviluppo di patogeni e conseguentemente una riduzione della qualità delle cariossidi e quindi del peso ettolitrico. A tal proposito, è stata riscontrata una correlazione negativa tra peso ettolitrico e volume di precipitazioni caduto tra aprile e luglio ($r = -0,438$; $P < 0,01$). Considerando l'annata e considerando il fatto che comunque si tratta di genotipi di antica costituzione, in cui in genere si misurano pesi ettolitrici inferiori rispetto alle varietà moderne, i risultati ottenuti possono essere ritenuti molto soddisfacenti. Inoltre, paragonando i valori ottenuti in questo studio con quelli ottenuti per alcune delle stesse varietà coltivate in pianura, i cui risultati sono riportati in letteratura (Di Silvestro *et al.*, 2012), si può notare come probabilmente le condizioni ambientali di collina, più limitanti, favoriscano nelle varietà antiche un aumento del peso ettolitrico, confermando la loro grande rusticità ed adattabilità a condizioni di coltivazione più marginali e limitanti. Tra le varietà, Autonomia A ha riportato il valore di peso ettolitrico medio più elevato 82,04 Kg/hl (ma in linea con valori riportati in letteratura, Brandolini *et al.*, 2008).

L'altezza delle piante di frumento, insieme alla produttività, è sempre stato uno dei parametri agronomici di maggiore interesse per i programmi di miglioramento genetico, per la costituzione di varietà moderne a taglia sempre più bassa e resistenti all'allettamento (Tellerini, 2017). Nell'annata 2016/17 l'altezza media delle piante è stata di circa 5-6 cm maggiore rispetto all'altezza media delle annate 2017/18 e 2018/19. Probabilmente, il minor volume di precipitazioni del primo anno ha stimolato la crescita delle piante. Per quanto riguarda le varietà, sono state riscontrate molte differenze: le altezze medie delle varietà Abbondanza, Andriolo, Autonomia A, Canove e Funo sono risultate inferiori rispetto ai dati riportati in letteratura (Migliorini *et al.*, 2018; Di Silvestro *et al.*, 2012), facendo ipotizzare che la coltivazione in zone collinari e la presenza di infestanti abbia influito sull'altezza, mentre la taglia media di Gamba Di Ferro (136,89 cm) è apparsa sopra la media (Migliorini *et al.*, 2018; Di Silvestro *et al.*, 2011).

L'altezza della pianta in questa prova è risultata correlata positivamente alla lunghezza della spiga ($r = 0,430$; $P < 0,001$), in linea con quanto riportato in letteratura (Migliorini *et al.*, 2018). A sua volta però, la lunghezza della spiga non risulta però statisticamente correlata alla resa, a differenza di quanto riportato in letteratura. Alcuni studi, infatti, hanno evidenziato che per le accessioni moderne, ad una lunghezza della spiga minore corrisponde anche un numero di spighe per unità di superficie

maggiore con di conseguenza un aumento delle produzioni e un portamento della spiga più compatto e maggiormente resistente alla sgranatura. Tale conformazione, però, rende la spiga più suscettibile all'attacco dei patogeni, a causa di un microclima più umido e meno ventilato tra le glume, rispetto ad un portamento più spargolo (Benedettelli *et. al.*, 2013). Le differenze evidenziate in tabella 5 tra le diverse annate agrarie e i diversi genotipi sono da attribuire a cause del tutto simili a quelle rilevate per l'altezza della pianta, essendo due caratteri altamente correlati tra loro e condizionati sia dal genotipo che dalla stagione.

Diversamente da quanto riportato in letteratura (Tellerini, 2017), in questo studio non si è evidenziata una correlazione tra l'altezza della pianta e la percentuale di allettamento. L'allettamento è un fenomeno negativo poiché rende più complicate alcune pratiche agronomiche (in particolare la raccolta), aumentando il rischio di perdite o di contaminazione del prodotto con terra. Se il frumento risulta allettato è necessario raccogliere non appena la granella è matura, per evitare prematuri rischi di germinazione del seme in campo. Inoltre, allettamenti precoci possono limitare la crescita e lo sviluppo della cariosside, compromettendone sia la qualità che la quantità della granella (Baldoni e Giardini, 2010). Dalle analisi statistiche effettuate in questo studio la percentuale di allettamento non è risultata essere influenzata dai fattori genotipo e anno. Questo risultato può essere spiegato dal fatto che nell'ultimo anno, in una delle due località in cui si è effettuata la prova, per via di un'intensa grandinata, si sono riscontrati valori di allettamento molto elevati (anche del 100%), mentre nell'altra località, seppur vicina, la percentuale di allettamento è stata molto bassa, poiché non colpita da questa intensa grandinata. Questa notevole differenza tra i risultati ottenuti tra le due località, che costituivano due repliche dello stesso schema sperimentale, sono andati ad influenzare la significatività dell'analisi statistica. Detto questo, è appropriato affermare che la percentuale di allettamento minore si è registrata durante il primo anno, in cui le condizioni climatiche più siccitose, soprattutto nella fase finale del ciclo di sviluppo del frumento, hanno maggiormente sfavorito questo fenomeno. Infatti, come si può notare nella figura 13, la piovosità cumulata nel periodo compreso tra aprile e luglio nella stagione 2016/17 è stata di circa 174,2 mm di pioggia, caduti in circa 29 giorni, mentre nello stesso periodo, per la stagione 2017/18 e per quella 2018/19 l'accumulo complessivo è stato pari rispettivamente a 214,8 mm caduti in 39giorni e 552,4 mm caduti in 48giorni. Come si può intuire, la massa dell'acqua che si deposita sul frumento durante le perturbazioni, a volte sommata anche a fenomeni ventosi di medio-alta intensità, sollecita l'equilibrio meccanico del culmo, a volte sovraccaricato da stress atmosferici violenti, che nella peggiore delle ipotesi fanno coricare la pianta al suolo. Il risultato ottenuto dal mix Farri è in linea con quanto affermato in letteratura sulla fragilità del culmo di monococco rispetto ai frumenti. I dati osservabili in tabella 5, inoltre, non mostrano correlazioni significative tra l'allettamento e la resa, confermando che per le accessioni antiche l'allettamento si realizza nella gran parte dei casi in uno stadio avanzato del ciclo biologico e per questo non interferisce con le fasi di riempimento e maturazione della cariosside.

In base ai dati rilevati in campo, la percentuale di infestanti nel campo è risultata maggiore e statisticamente differente nell'ultima annata agraria rispetto alle prime due. Infatti, nel terzo anno la percentuale media di infestanti è stata del 34,67%, mentre nel primo e secondo anno è stata rispettivamente del 15,13% e del 12,39% (tabella 5). Non risultano differenze significative per quanto riguarda le varietà. Tra le specie infestanti più ricorrenti si possono segnalare *Papaver rhoeas* L., *Avena fatua* L., *Convolvulus* spp. L., *Matricaria chamomilla* L. e *Trifolium* spp. L.. Infine, non è stata riscontrata nessuna interazione significativa tra il fattore genotipo ed anno.

L'incidenza delle malattie e la loro gravità sono state misurate su una scala da 0 a 10. Come si può notare dalla tabella 6, risultano statisticamente significativi tutti i fattori considerati (anno e genotipo), nel determinare la presenza di patogeni del frumento. Nell'annata 2016/17 i livelli d' infezioni sono stati quasi nulli (0,42/10), di conseguenza anche la gravità dei patogeni non è stata rilevante (0,08/10). Nella stagione successiva (2017/18), l'incidenza media dei patogeni sulle piante è stata leggermente più elevata (0,68/10), così come la loro gravità (0,20/10), ma tali differenze rispetto al primo anno non sono risultate statisticamente significative. Durante il terzo anno (2018/19), a causa delle diverse

condizioni meteorologiche, l'incidenza media dei patogeni sulle piante (1,73/10), così come la loro gravità (0,7/10), seppur mantenendosi a livelli molto bassi, è risultata più marcata rispetto alle prime due stagioni agrarie. In generale, tutti i genotipi si sono dimostrati scarsamente suscettibili agli attacchi dei patogeni.

	INFESTANTI (%)	INCIDENZA PATOGENI (0-10)	GRAVITA' PATOGENI (0-10)
ANNO	**	**	**
2016/17	15,13 (b)	0,42 (b)	0,08
2017/18	12,39 (b)	0,57 (b)	0,14
2018/19	34,67 (a)	1,73 (a)	0,70
GENOTIPO	ns	*	*
Abbondanza	25,00	1,63 (a)	0,75 (ab)
Andriolo	16,17	0,83 (ab)	0,17 (ab)
Autonomia A	20,00	1,67 (a)	0,89 (a)
Benco	12,27	1,09 (ab)	0,18 (ab)
Canove	18,55	0,73 (ab)	0,36 (ab)
Funò	21,67	1,17 (a)	0,33 (ab)
Gamba Di Ferro	17,50	0,58 (ab)	0,25 (ab)
Pop. Appen.Bio	18,18	0,55 (ab)	0,00 (b)
Bioadapt	18,09	0,73 (ab)	0,18 (ab)
Mix. Farri	17,92	0,08 (b)	0,00 (b)
GxA	ns	ns	ns

Tabella 5. I valori indicati da lettere diverse sono significativamente differenti (ns = Non significativo, *= P<0.05, **= P < 0.01, *** = P < 0.001).

Tra tutti, va evidenziato il risultato ottenuto dal mix Farri (0,08/10), che come si ipotizzava, ha dimostrato di essere il genotipo meno suscettibile ai patogeni. Le interazioni tra i fattori anno e genotipo, sia per quanto riguarda l'incidenza che la gravità dei patogeni, non sono risultate statisticamente significative (tabella 5).

Un altro parametro molto importante per colture che crescono in agricoltura biologica è la percentuale di infestanti e come queste eventualmente possano aver influito su alcune caratteristiche agronomiche e nutrizionali della coltura. In questa prova, la percentuale media maggiore di infestanti si è avuta durante il terzo anno (34,67%). Questo probabilmente è dovuto alla maggior quantità di precipitazioni cadute in quell'annata agraria, che ha determinato una maggiore percentuale di allettamento e di conseguenza una maggiore possibilità di sviluppo per le infestanti. Tale ipotesi è confermata dall'analisi statistica, che ha evidenziato una correlazione significativa tra il livello di infestanti e la percentuale di allettamento ($r = 0,538$; $P < 0,01$). Per questo parametro, in questa prova, si sono evidenziate alcune correlazioni statisticamente significative; la prima riguarda la correlazione negativa tra resa e livello di infestanti ($r = -0,366$; $P < 0,01$). Tale dato suggerisce che il frumento compete con le malerbe in termini di disponibilità di elementi nutritivi e di spazi di crescita; inoltre, alla luce anche di quanto emerge dalla correlazione statisticamente significativa rilevata tra il contenuto in polifenoli totali (in particolare la frazione "libera") e la percentuale di infestanti ($r = 0,505$; $P < 0,01$), è ipotizzabile un aumento dell'attività del metabolismo secondario a discapito di quello primario. A conferma di questo si nota anche una "debole" correlazione negativa tra livello di infestanti e peso ettolitrico ($r = 0,337$; $P < 0,01$).

Infine, è stata valutata su una scala da 0-10 l'incidenza dei patogeni e la loro gravità. Nonostante l'andamento climatico di alcune annate (in particolare 2018/19) potesse risultare molto favorevole allo sviluppo di patogeni in condizioni di coltivazione con bassi input produttivi, l'incidenza di patogeni riscontrata è sempre stata molto bassa. Nei tre anni di coltivazione, infatti, le malattie rilevate non hanno inciso negativamente su nessun parametro agronomico e nutrizionale. Il regime di agricoltura

biologica e le pratiche agronomiche che prevedevano l'utilizzo di bassi input produttivi hanno esaltato la rusticità di tutti i genotipi oggetto di studio della prova, dimostrando come, la grande variabilità genetica delle cultivar di antica costituzione può risultare utile sia per la loro coltivazione diretta in regime di agricoltura biologica, sia come base genetica di partenza per nuovi programmi di breeding (Dinelli *et al.*, 2009; Di Loreto *et al.*, 2018).

È interessante sottolineare che le popolazioni presenti in questo studio, in particolar modo il mix Farri, siano tra i genotipi che abbiano reagito meglio all'attacco dei patogeni, facendo registrare i valori più bassi di "incidenza" e "gravità patogeni". Probabilmente, rispetto alle varietà in purezza, la più grande diversità genetica presente al loro interno ha maggiormente ostacolato la proliferazione e diffusione del patogeno. Questa capacità diviene di enorme interesse nei sistemi agricoli che fanno uno scarso o nullo utilizzo di input chimici. Nel complesso, considerando solo i parametri agronomici analizzati, Mix farri ha riportato risultati in linea con quanto riportato in letteratura, dimostrando anche in questo studio una grande adattabilità alle aree marginali ed una elevata resistenza a stress biotici e abiotici. Anche le varietà di frumento si sono adattate bene al regime di agricoltura biologica ottenendo in alcuni casi risultati interessanti. Per le popolazioni Bioadapt e Appen.Bio si possono senz'altro ritenere soddisfacenti i livelli di resa e la bassa incidenza dei patogeni ed in linea generale, confrontandoli con le altre varietà in purezza, si osserva che non si sono mai discostati troppo dalle medie di tutti i parametri agronomici esaminati; la coltivazione di miscugli e popolazioni evolutive è molto interessante per la loro predisposizione ad adattarsi all'ambiente nel quale vengono introdotte; inoltre, grazie alla presenza al loro interno di maggiore diversità genetica, tali popolazioni continueranno a modificarsi e selezionarsi in modo naturale, permettendogli di adattarsi anche ai repentini cambiamenti climatici. Quest'ultimo fattore risulta di particolare interesse vista l'alta imprevedibilità dell'andamento climatico per i prossimi anni e dal momento che le selezioni classiche sono tendenzialmente meno adattative rispetto a quelle del miscuglio.

Va evidenziato in particolare il genotipo Abbondanza, che ha mostrato valori di resa e altezza della pianta sempre significativamente sotto la media e registrando, insieme a Funo ed Autonomia A, la più alta incidenza di patogeni. Per quanto riguarda la varietà Abbondanza, pur adattandosi bene a regimi di agricoltura a bassi input produttivi, è ipotizzabile che possa beneficiare di concimazioni organiche, con il fine di aumentarne la produttività.

3.3. Caratteristiche nutrizionali e nutraceutiche

Come precedentemente descritto, sui campioni di granella prelevati da ogni singola parcella è stata effettuata la quantificazione dei principali macronutrienti che costituiscono la granella di frumento.

Come riportato in tabella 6, per quanto riguarda le proteine sono state riscontrate differenze altamente significative, in funzione di entrambi i fattori (varietà ed anno).

	PROTEINE (g/100g)	AMIDO (g/100g)	LIPIDI (g/100g)	FIBRA TOTALE (g/100g)	FIBRA SOLUBILE (g/100g)	FIBRA INSOLUBILE (g/100g)
ANNO	**	ns	**	**	**	**
2016/17	14,34 (a)	57,74	5,20 (a)	21,16 (a)	4,99 (a)	16,17 (a)
2017/18	13,34 (b)	57,83	3,44 (b)	19,31 (b)	4,02 (b)	15,29 (b)
2018/19	14,55 (a)	57,54	2,84 (c)	21,24 (a)	4,72 (a)	16,52 (a)
GENOTIPO	**	**	**	**	**	**
Abbondanza	13,39 (b)	58,54 (ab)	3,56 (b)	21,56 (ab)	4,56 (bc)	17,00 (a)
Andriolo	13,63 (b)	57,80 (ab)	3,50 (b)	19,40 (c)	4,22 (bc)	15,19 (b)
Autonomia A	13,58 (b)	58,17 (ab)	3,98 (b)	20,25 (abc)	4,36 (bc)	15,89 (ab)

Benco	14,00 (b)	58,00 (ab)	3,80 (b)	20,39 (abc)	4,39 (bc)	15,99 (ab)
Canove	13,43 (b)	58,81 (a)	3,83 (b)	20,55 (abc)	4,53 (bc)	16,01 (ab)
Funò	13,62 (b)	58,58 (ab)	3,85 (b)	19,91 (c)	4,06 (c)	15,85 (ab)
Gamba Di Ferro	13,41 (b)	57,59 (b)	4,07 (b)	21,71 (a)	4,94 (ab)	16,77 (a)
Pop. Appen.Bio	14,01(b)	57,64 (ab)	3,84 (b)	20,18 (bc)	4,44 (bc)	15,74 (ab)
Bioadapt	14,13 (b)	57,81 (ab)	4,12 (b)	20,48 (abc)	4,49 (bc)	15,99 (ab)
Mix. Farri	16,23 (a)	54,90 (c)	4,84 (a)	19,98 (c)	5,26 (a)	14,73 (b)
GxA	**	ns	*	*	ns	**

Tabella 6. I valori indicati da lettere diverse sono significativamente differenti (ns = Non significativo, *= P<0.05, **= P < 0.01, *** = P< 0.001).

Complessivamente, nell'annata agraria 2016/17 il contenuto proteico medio era pari a 14,34 g/100g, subendo una riduzione nella seconda annata agraria in cui è risultato di 13.34 g/100g, per poi risalire al terzo anno a valori simili al primo (14,55 g/100g). Per quanto riguarda le varietà, il contenuto proteico più alto è risultato quello del mix farri (16,23 g/100g); mentre per tutti gli altri genotipi si è misurato un contenuto proteico abbastanza simile che oscilla tra i 13,39 g/100g di Abbondanza e i 14,13 g/100g di Bioadapt. Inoltre, l'interazione tra i fattori anno e genotipo è risultata altamente significativa (figura 9).

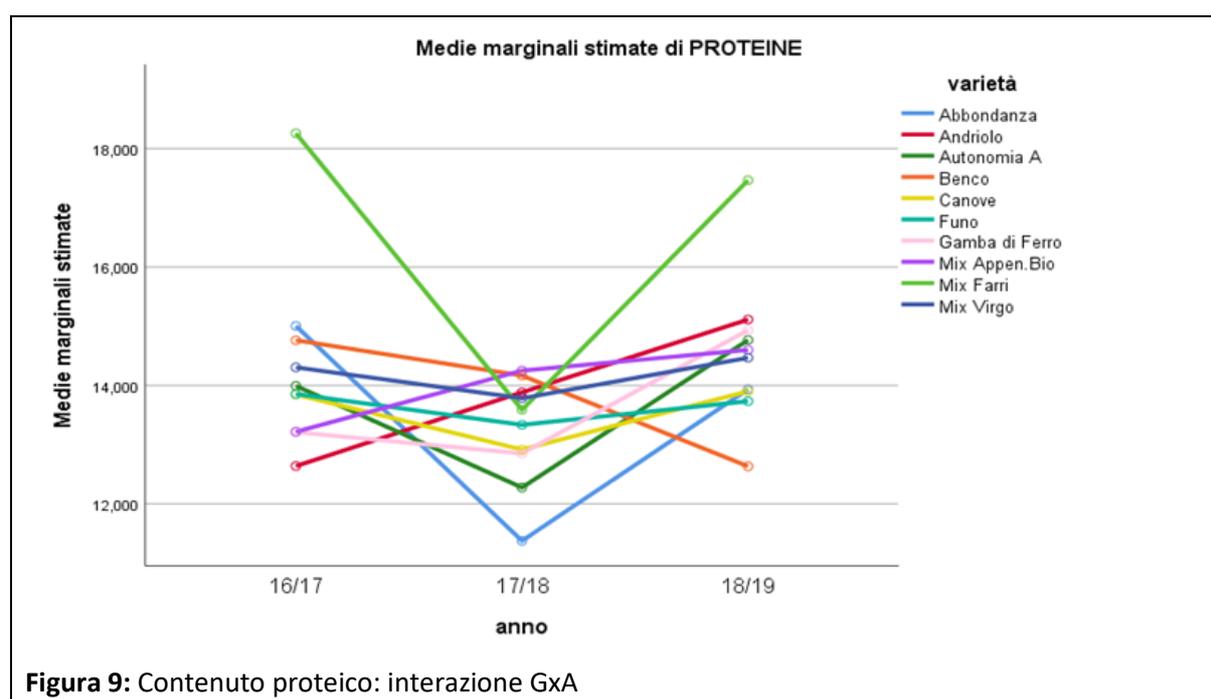


Figura 9: Contenuto proteico: interazione GxA

Nella determinazione del contenuto in amido non sono state evidenziate differenze significative tra le tre annate agrarie, mentre per quanto riguarda i genotipi abbiamo delle differenze significative (Tabella 6).Le varietà di frumento tenero che si sono distinte per il contenuto massimo e minimo di amido sono state rispettivamente Canove (58,81 g/100 g) e Gamba di Ferro (57,59 g/100 g).Tutte le altre varietà di tenero non hanno riportato differenze significative tra loro, mostrando un contenuto in amido che oscilla tra 57,64 g/100 g e 58,58 g/100 g. Il mix Farri ha fatto registrare il valore più basso in assoluto tra tutte le varietà (54,90 g/100 g).

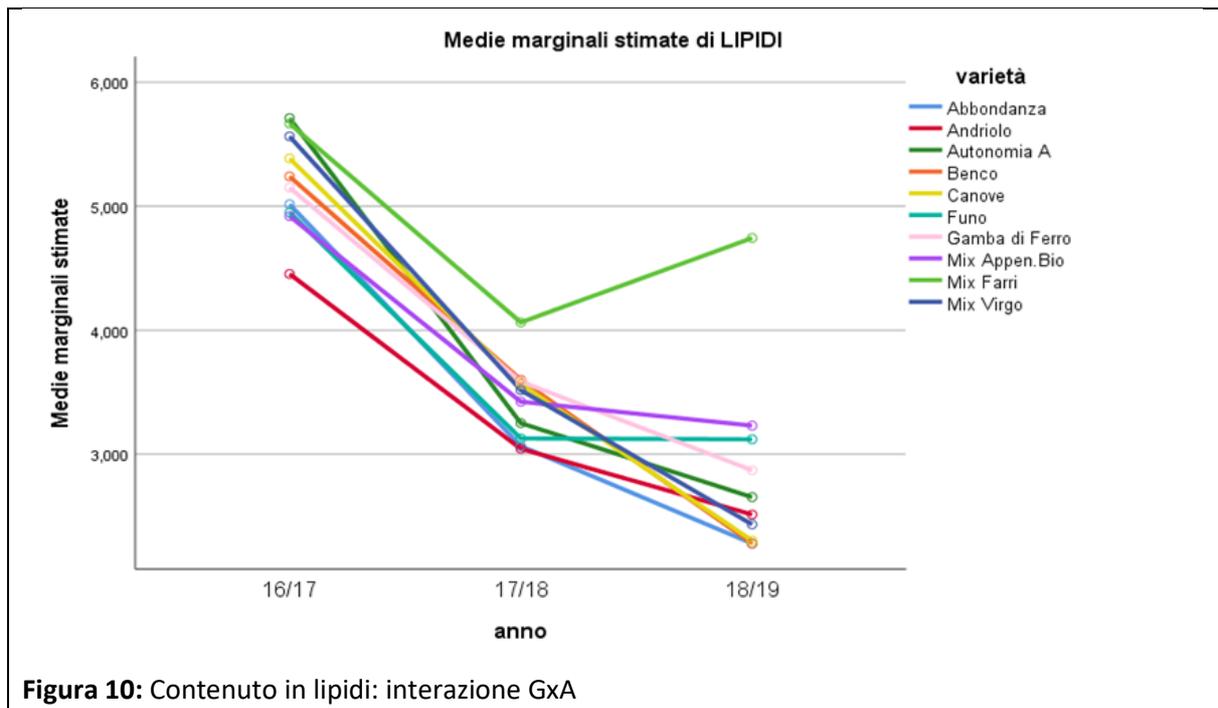


Figura 10: Contenuto in lipidi: interazione GxA

Per quanto concerne il contenuto di lipidi, l'analisi statistica ha rilevato differenze significative tra gli anni e tra i genotipi. Nel primo anno il contenuto medio di lipidi è stato il più alto (5,20 g/100 g), seguito dal secondo (3,44 g/100g) e infine dal terzo (2,44 g/100g). La popolazione di farri è risultata essere il campione con il contenuto lipidico più alto (4,84 g/100 g), mentre le varietà di frumento hanno riportato valori di contenuto lipidico simile, che oscilla tra 4,12g/100g di Bioadapt e 3,50 g/100 g di Andriolo.

Il contenuto dei principali elementi nutritivi della cariosside (minerali, proteine, lipidi, vitamine e composti antiossidanti), oltre che dal genotipo, è notevolmente influenzato dall'ambiente (pratiche agronomiche, fertilità, clima, patogeni, ecc...). Sicuramente il contenuto proteico è uno dei principali parametri nutrizionali che viene misurato al momento della raccolta del frumento. Infatti, in base al contenuto proteico si va a determinare la classe di commercializzazione più appropriata del prodotto. Come più volte confermato dalla letteratura scientifica, il contenuto proteico dal punto di vista quantitativo tra frumenti antichi e moderni è sostanzialmente simile. Quello che cambia invece è la struttura del glutine, che si presenta più compatta ed organizzata nei moderni e più disgregata negli antichi. Questa diversa organizzazione si riflette sulla qualità tecnologica delle farine ottenute. È infatti noto che le varietà moderne garantiscono una qualità tecnologica molto alta ($W = 200-350$), soprattutto se supportate durante la coltivazione da una notevole quantità di input (ad es. fertilizzazioni azotate), mentre nelle varietà antiche difficilmente si arriva a superare un W pari a 80 (De Santis *et al.*, 2017; Shewry e Hey, 2015). Inoltre, secondo alcuni studi pubblicati in letteratura, sembra che tale diversa organizzazione della maglia glutinica, oltre ad influenzare la qualità tecnologica delle farine, abbia determinato un aumento delle intolleranze e/o delle difficoltà nella digestione (Shewry e Hey, 2015). Nonostante questa ipotesi non sia stata ancora univocamente dimostrata (altri lavori pubblicati in letteratura, sostengono che non vi siano differenze tra i due tipi di glutine), l'interesse del consumatore nei confronti dei frumenti antichi è aumentato per via delle confermate maggiori caratteristiche nutrizionali ed antiossidanti (Dinelli *et al.*, 2009).

Nel presente studio il contenuto proteico della granella sembra subire in maniera significativa l'effetto di entrambi i fattori presi in considerazione, cioè l'anno e il genotipo.

Anche se non è stata trovata una correlazione statistica negativa significativa tra le rese e il contenuto proteico, come spesso riportato in bibliografia (De Santis *et al.*, 2017), il differente contenuto proteico tra le tre annate agrarie può essere almeno in parte associato alla resa; infatti, come si può notare

facendo un confronto tra la tabella 4 e la tabella 7, il contenuto proteico medio più basso tra le tre annate lo si è ottenuto nell'anno in cui si è misurata una resa media più alta, ovvero nell'annata agraria 2017/18. Un'altra correlazione che spesso è riportata in letteratura, invece, mette in relazione l'andamento del clima (precipitazioni e temperature) con il contenuto proteico. Infatti, secondo diversi studi, all'aumentare delle temperature e con scarse e non frequenti precipitazioni l'accumulo delle proteine nella granella è favorito (Arzani e Ashraf, 2017). Da questo punto di vista, i risultati in tabella 7 non confermano questo, dato che paradossalmente il contenuto proteico maggiore è stato ottenuto nell'annata agraria con il livello di precipitazioni maggiore.

Osservando nel dettaglio i singoli genotipi, i maggiori contenuti proteici sono stati osservati, come ci si aspettava, per le popolazioni di farro (16,23 g/100 g), che sono risultati nettamente superiori rispetto alle altre accessioni oggetto di studio, ma in linea con quanto riportato in letteratura (Brandolini *et al.*, 2008). Il fatto che il farro abbia ottenuto dei valori in proteina in linea con quanto riportato in letteratura dimostra la sua grande adattabilità a condizioni di coltivazione limitanti. Per quanto riguarda le accessioni di frumento, entrambe le popolazioni insieme a Benco, hanno mostrato i contenuti proteici più elevati, anche se dall'analisi statistica non risultano significative le differenze in contenuto proteico tra i vari genotipi di frumento tenero.

Per quanto riguarda l'amido si è osservata un'influenza statisticamente significativa solo per il fattore genotipo. Il farro monococco, essendo una specie con diverso grado di ploidia, si è differenziato maggiormente, assumendo il valore più basso di amido rispetto alle accessioni di frumento. Dall'analisi statistica inoltre è risultata una correlazione negativa significativa tra il contenuto in amido e il contenuto in proteine ($r = -0,636$; $P < 0,01$).

Come è possibile osservare in tabella 7 il contenuto lipidico è stato influenzato dalle diverse condizioni meteorologiche nelle diverse annate agrarie. Infatti, si osserva che il contenuto lipidico sia risultato nettamente superiore nella prima annata agraria, caratterizzata da una primavera poco piovosa e più asciutta rispetto alle stagioni 2017/18 e 2018/19. Viceversa, nella terza annata agraria, in cui si è misurato il volume di precipitazioni massimo nei tre anni, il contenuto medio di lipidi è risultato nettamente più basso. A tal proposito dall'analisi statistica è risultata una correlazione significativa tra il contenuto in lipidi e le precipitazioni cumulate tra aprile e luglio ($r = -0,738$; $P < 0,01$). Tra le varietà, invece, i valori significativamente più alti sono stati osservati solo per la popolazione di farri, mentre le altre accessioni di frumento hanno riportato valori simili, o comunque con differenze non significative tra loro. Tra queste comunque Gamba di Ferro e Bioadapt hanno fatto registrare i valori più alti.

Analizzando i dati riportati in tabella 6, il contenuto in fibra totale (TDF), insolubile (IDF) e solubile (SDF) risulta significativamente influenzato da tutti i fattori esaminati (anno e genotipo). Il contenuto in TDF è stato simile nella prima annata agraria (21,16 g/100g) e nella terza annata (21,24g/100g), mentre è risultato statisticamente più basso durante il secondo anno (19,31 g/100g). Lo stesso si può affermare per il contenuto in SDF e IDF (Tabella 6). Per quanto riguarda i genotipi il contenuto più alto in TDF si è misurato rispettivamente in Gamba di Ferro (21,71 g/100g), Abbondanza (20,56 g/100g), Canove (20,55g/100g), Bioadapt (20,48 g/100g) e Benco (20,39 g/100g). Il mix Farri si contraddistingue per i valori più bassi di TDF e IDF (19,98 g/100g e 14,73 g/100g) mentre presenta i valori più alti di fibra solubile (5,26 g/100g). Per lo stesso parametro la varietà Funo presenta i valori medi più bassi (4,06 g/100g). Per quanto riguarda la fibra insolubile (IDF) si sono distinte la varietà Abbondanza (17g/100g) e Gamba di Ferro (16,77 g/100g). Sia per TDF che per IDF è risultata significativa l'interazione tra i fattori genotipo e anno (figure 10 e 11).

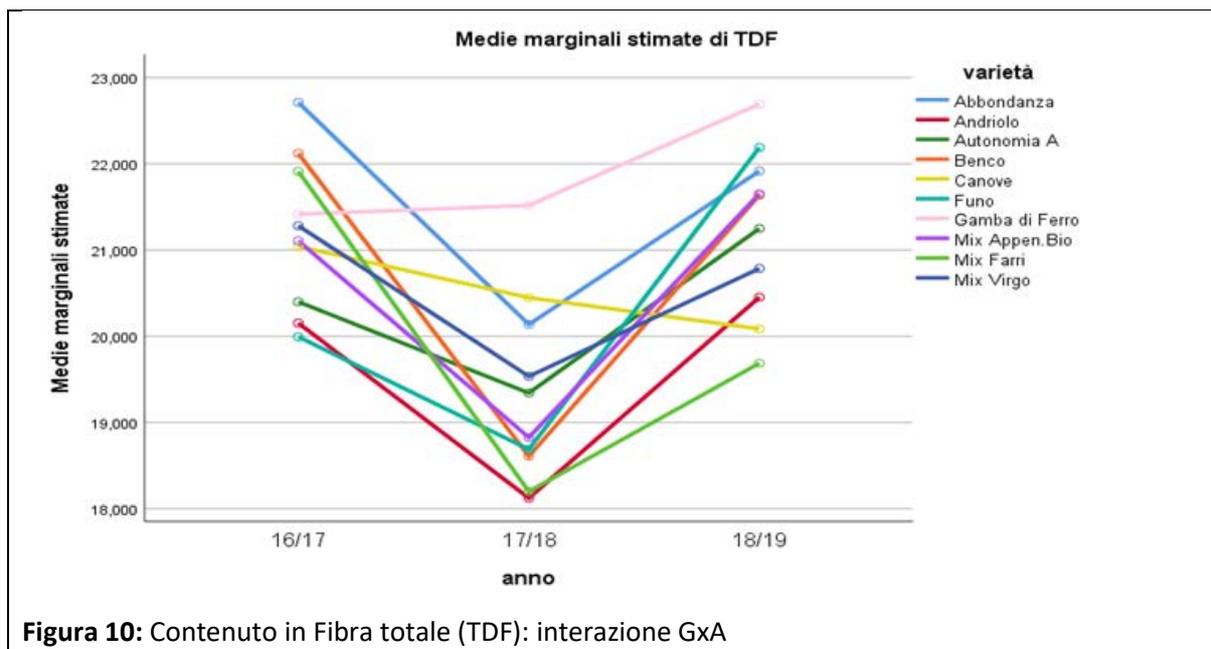


Figura 10: Contenuto in Fibra totale (TDF): interazione GxA

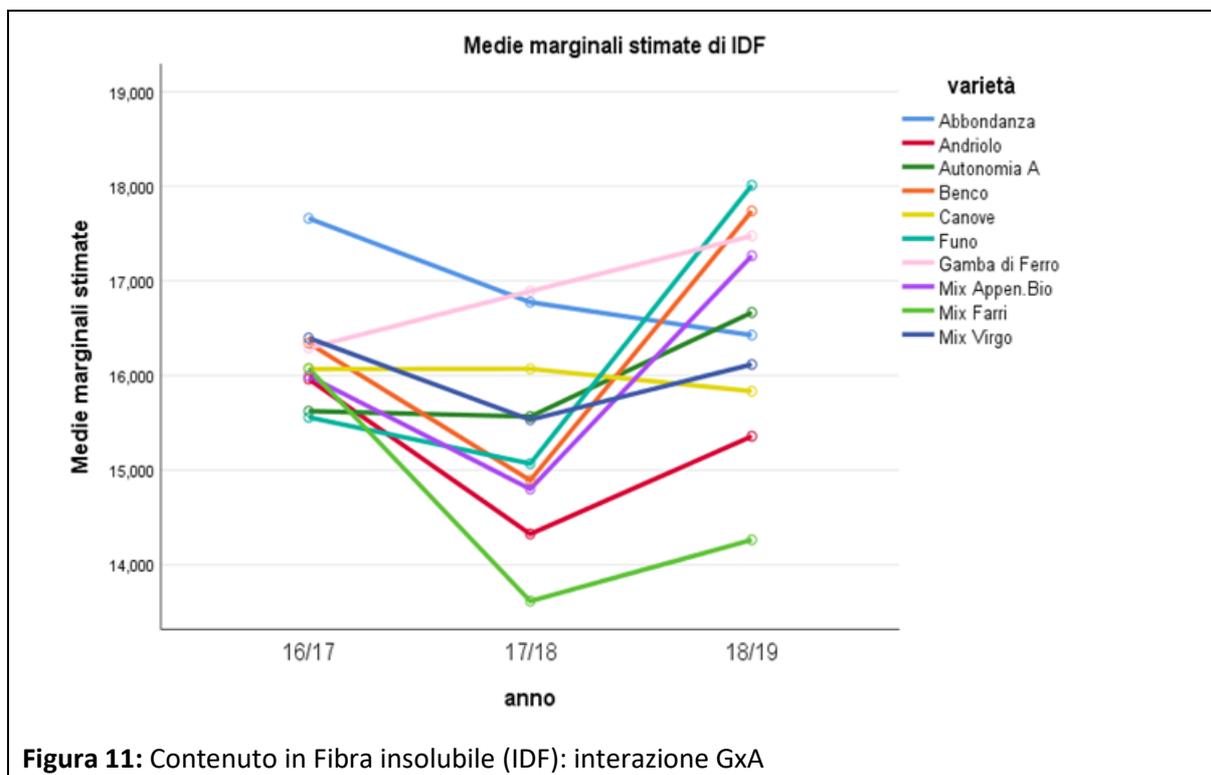


Figura 11: Contenuto in Fibra insolubile (IDF): interazione GxA

Data la sua importanza nell'alimentazione, anche la componente della fibra è stata oggetto di studio di questa sperimentazione. La fibra alimentare, infatti, seppur con un valore nutritivo molto modesto (2 kcal/gr di fibra), in quanto l'intestino dell'uomo non possiede enzimi abili nel degradarla se non in piccole quantità, esplica un'azione benefica molto importante (Dinu, 2018). Come evidenziato da numerosi studi, un'alimentazione ricca in fibre contrasta l'insorgenza di alcune patologie cronicodegenerative come l'obesità, patologie cardio-vascolari, alcuni tipi di neoplasie, in particolare tumore al colon, e diabete. Tra gli effetti fisiologici più importanti esercitati dalla fibra, vi è un effetto sulla sazietà (rallentamento dello svuotamento gastrico) (Slavin, 2004).

Naturalmente, la percentuale di fibra alimentare delle farine di frumento dipende dal loro grado di raffinazione. In una farina integrale, ad esempio, possiamo avere fino al 9% in più di fibra. Da questo dato è facile comprendere l'importanza di un'alimentazione a base di prodotti integrali (Scalfi e Montagnese, 2010).

La fibra totale (TDF) può essere scomposta in due frazioni: la componente insolubile (IDF), che si trova principalmente nella crusca e la frazione solubile (SDF), principalmente costituita da amido resistente, β -glucani ed arabinoxilani.

Dai risultati dell'analisi statistica, le due componenti IDF e SDF sembrano essere state significativamente influenzate dai fattori anno e genotipo.

Per quanto riguarda la stagione di crescita si osserva per le fibre, così come visto in parte per le proteine, un comportamento opposto alla resa. Infatti, i contenuti maggiori in IDF e SDF, e di conseguenza in TDF, si sono osservati nelle annate agrarie con rese più basse e viceversa. In generale, i dati riportati in tabella 7 risultano leggermente più alti rispetto a quelli indicati in letteratura per i frumenti allevati in sistemi di agricoltura biologica (Arzani *et al.*, 2017). Probabilmente, le tecniche agronomiche impiegate nella prova, i genotipi testati e le condizioni ambientali di crescita hanno favorito l'accumulo nei tegumenti della cariosside dei composti che costituiscono il residuo IDF e SDF.

Come confermato da diversi studi esiste una correlazione positiva tra particolari condizioni di stress abiotico (ad es. temperature elevate) e particolari meccanismi di difesa della pianta, che determinano un inspessimento della parete cellulare e un aumento dei tegumenti esterni (Shewry *et al.*, 2010).

Per quanto riguarda il fattore genotipo, sono state evidenziate differenze significative. In particolare il mix Farri si contraddistingue per i valori più alti di fibra solubile (SDF), mentre presenta i valori più bassi di TDF e IDF. Per questi ultimi due parametri i valori più alti sono stati registrati per Gamba di Ferro e Abbondanza.

In generale, i dati rilevati sono stati più alti rispetto a quelli riportati in ricerche svolte da Dinelli *et al.*, (2013) e Di Silvestro *et al.*, (2011), dove i frumenti sono stati coltivati sempre in regime di agricoltura biologica ma in pianura, quindi in condizioni meno stressanti.

In uno studio condotto da Scalfi e Montagnese (2010) è stata studiata la qualità nutrizionale di farine integrali ottenute da frumenti antichi rispetto a farine ricavate da frumenti moderni; dal confronto è emerso che nei primi il contenuto in fibra era più alto e la percentuale amilacea più bassa mentre nei secondi l'andamento era diametralmente opposto. Molto probabilmente queste differenze sono dovute ad una diversa dimensione delle cariossidi, che risulta essere una delle componenti principali nel determinare le rese. Spesso infatti la dimensione della granella dei frumenti antichi assume dimensioni più piccole e ristrette rispetto ad una cariosside media di frumenti moderni, determinando quindi nelle farine una maggiore concentrazione degli elementi fibrosi.

Il contenuto in polifenoli totali (TP) non si differenzia statisticamente nelle tre diverse annate, oscillando tra 255,63 e 262,26 mg/100g. Anche il fattore genotipo non è risultato significativo nello spiegare le differenze tra le diverse varietà, in cui si sono misurati valori che oscillano tra i 240,25 e i 274,08 mg/100g. Inoltre, non è risultata nessuna interazione significativa tra i due fattori anno e genotipo.

Il contenuto in polifenoli free (FP) è risultato significativo per l'effetto dell'annualità. Nell'annata 2016/17 si è osservato un contenuto medio in polifenoli free di 143,55 mg/100 g; nel 2017/18 il valore è diminuito a 116,76 mg/100g, mentre nel terzo anno è risultato di 132,92 mg/100g. Non risulta invece significativo l'effetto del genotipo, in cui si sono misurati valori che oscillavano tra 117,82 e 141,97 mg/100g. Inoltre non è risultata significativa l'interazione tra i due fattori considerati, cioè anno e genotipo.

I polifenoli bound (BP) invece mostrano differenze altamente significative per tutti i fattori presi in esame (annata agraria e genotipo). Dal punto di vista dell'influenza che ha avuto l'annata agraria, si osserva un andamento opposto rispetto al contenuto in polifenoli free, in quanto per il primo anno di

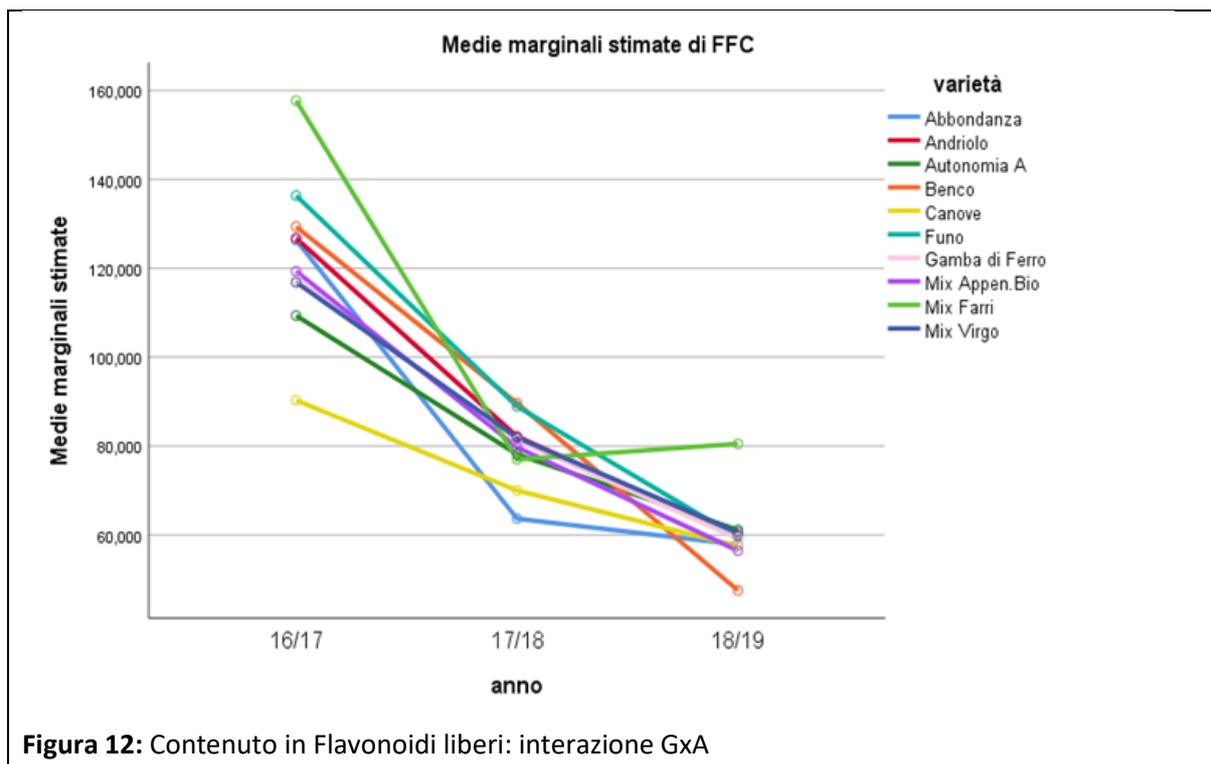
sperimentazione la media in polifenoli bound è stata di 112,07 mg/100 g, per poi crescere nella stagione 2017/18 a 137,24 mg/100g e diminuire nuovamente nella stagione 2018/19 a 127,70 mg/100g. Tra le varietà con i valori più alti in BP abbiamo Abbondanza (134,14 mg/100 g), Canove (131,81 mg/100g), Andriolo (131,58 mg/100 g), Gamba Di Ferro (130,67 mg/100 g) e Bioadapt (130,33 mg/100 g). Il contenuto più basso è stato misurato in Autonomia A (117,02 mg/100g) e mix Farri (107,37 mg/100g). L'interazione tra genotipo e anno non è risultata statisticamente significativa.

	POLIFENOLI (mg/100g)			FLAVONOIDI (mg/100g)			FRAP
	TOTALI	LIBERI	LEGATI	TOTALI	LIBERI	LEGATI	(mmol/100 g)
ANNO	ns	**	**	**	**	**	**
2016/17	255,63	143,55 (a)	112,07 (c)	151,51 (a)	124,59 (a)	26,91 (c)	0,86 (b)
2017/18	254,00	116,76 (c)	137,24 (a)	123,43 (b)	79,85 (b)	43,58 (a)	1,02 (a)
2018/19	262,26	132,92 (b)	127,70 (b)	91,04 (c)	60,01 (c)	31,04 (b)	0,83 (b)
GENOTIPO	ns	ns	**	**	*	**	**
Abbondanza	252,64	117,82	134,14 (a)	116,78 (bcd)	84,85 (bc)	31,93 (b)	0,96 (a)
Andriolo	258,98	126,64	131,58 (ab)	129,65 (bc)	95,54 (ab)	34,11 (b)	0,97 (a)
Autonomia A	240,25	123,12	117,02 (bc)	112,61 (cd)	84,85 (bc)	27,76 (b)	0,81 (b)
Benco	249,09	130,91	117,84 (bc)	123,60(bcd)	92,15 (bc)	31,44 (b)	0,84 (b)
Canove	256,82	125,25	131,81 (ab)	106,75 (d)	73,36 (c)	33,39 (b)	0,98 (a)
Funo	266,61	138,20	128,76 (ab)	135,36 (b)	101,99 (ab)	33,36 (b)	0,93 (a)
Gamba Di Ferro	262,96	131,73	130,67 (ab)	126,81(bcd)	91,41 (bc)	35,40 (b)	0,98 (a)
Pop. Appen.Bio	256,19	126,91	129,34 (ab)	116,74(bcd)	86,54 (bc)	30,20 (b)	0,94 (a)
Bioadapt	274,08	141,97	130,33 (ab)	126,21(bcd)	91,61 (bc)	34,60 (b)	0,94 (a)
Mix. Farri	240,30	133,00	107,37 (c)	160,87 (a)	109,98 (a)	50,89 (a)	0,81 (b)
GxA	ns	ns	ns	ns	*	**	ns

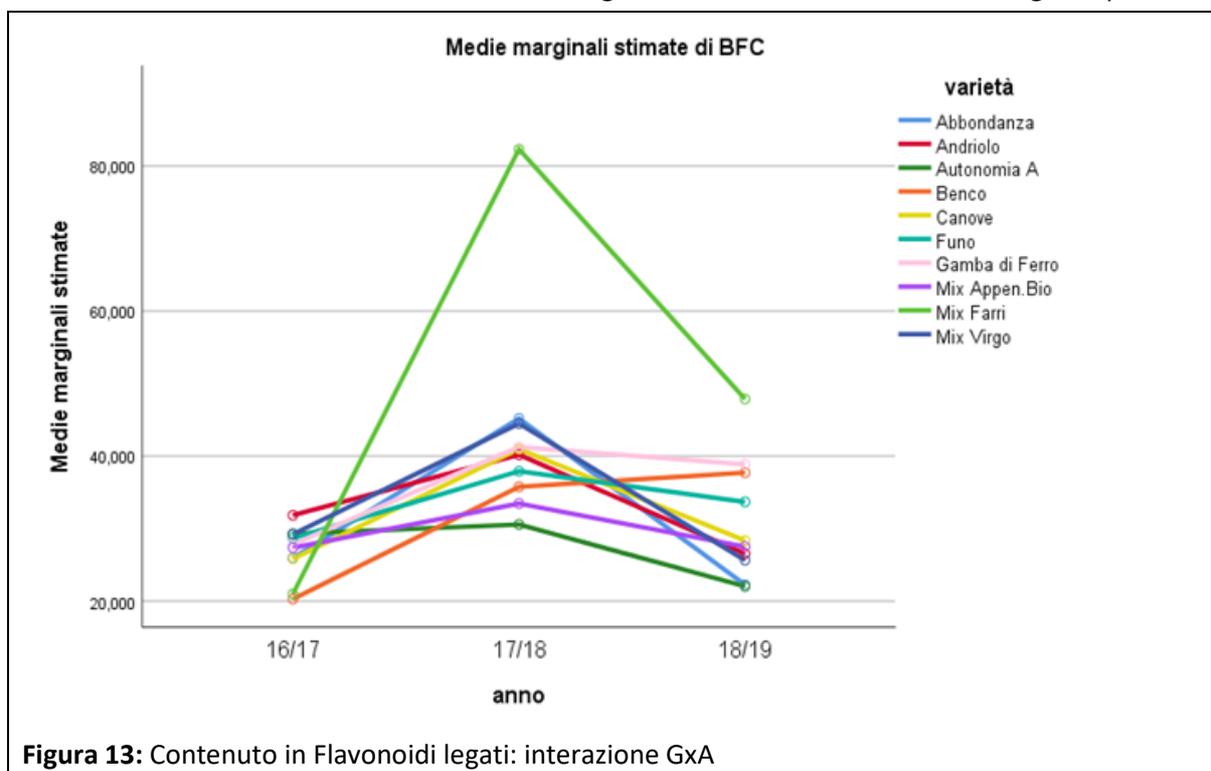
Tabella 7. I valori indicati da lettere diverse sono significativamente differenti (ns = Non significativo, * = P<0.05, ** = P < 0.01, *** = P< 0.001).

I flavonoidi totali (TF) presentano differenze significative per effetto dell'annata e per effetto della varietà. Per quanto riguarda l'anno, nella stagione 2016/17 il contenuto medio in TF è di 151,51 mg/100g, mentre diminuisce nella stagione successiva a 123,43 mg/100g, per arrivare al terzo anno a 91,04 mg/100g. Tra le varietà con un elevato contenuto in flavonoidi si segnala il Mix Farri (160,87 mg/100g), che si discosta nettamente dai valori dei frumenti, in cui il contenuto maggiore si è misurato in Funo (135,36 mg/100g), seguito da Andriolo (129,65 mg/100 g), Gamba Di Ferro (126,81 mg/100 g) e Bioadapt (126,21 mg/100 g). Il contenuto più basso è stato misurato in Canove (106,75 mg/100g). Non è stata riscontrata nessuna interazione significativa tra i fattori anno e genotipo.

Come mostrato in tabella, i flavonoidi liberi (FF) si sono altamente diversificati nei tre anni di coltivazione. Nella prima annata agraria il valore medio è stato di 124,59 mg/100 g; nella seconda stagione 2017/18 il valore medio si è ridotto notevolmente ed è stato pari a 79,85 mg/100g; nel terzo anno il valore medio di FF si è ridotto ulteriormente fino ad arrivare a 60,01 mg/100g. Anche il fattore genotipo ha influito notevolmente sul contenuto di FF. Il genotipo che si è distinto nettamente rispetto agli altri è stato Mix Farri (109,98 mg/100 g). Tra i frumenti, invece, si sono distinti Funo (101,99 mg/100 g) e Andriolo (95,54 mg/100g). Il contenuto minore è stato riscontrato in Canove (73,36 mg/100g). In questo caso, l'interazione varietà per genotipo è risultata significativa (figura 12).



Analizzando i flavonoidi bound (BF) si osserva che entrambi i fattori presi in considerazione (anno e varietà) influiscono significativamente sul loro contenuto. Nel primo anno il contenuto medio era pari a 26,91 mg/100 g, per poi risultare quasi il doppio nel secondo anno (43,58 mg/100g) ed infine ridursi a 31,04 mg/100g nel terzo anno. Per quanto concerne i genotipi, come per il contenuto di FF, anche per i BF la popolazione di farri si discosta nettamente dai frumenti (50,89 mg/100 g). Tra i frumenti, invece, il contenuto di BF è stato simile, ed è oscillato tra 27,76 di Autonomia A e i 35,40 mg/100g di Gamba di Ferro. Dall'analisi statistica è risultata significativa l'interazione tra l'anno e genotipo.



L'analisi statistica ha rilevato differenze significative tra i valori medi delle tre annate agrarie; in particolare nella stagione 2017/18 l'attività antiossidante media è risultata pari a 1,02 mmol Fe²⁺/100 g, il 16% in più rispetto al primo anno e il 19% in più rispetto al terzo. Primo e terzo anno non hanno riportato differenze significative tra di loro. Anche le varietà si sono distinte statisticamente tra loro: i valori ottenuti di potenziale antiossidante delle farine (FRAP) oscillano da un massimo di 0,98 mmol Fe²⁺/100 g di farina integrale, misurato per il genotipo Gamba di Ferro e Canove, ad un minimo di 0,81 mmol Fe²⁺/100 g, per la pop. di Farri e per Autonomia A. Inoltre, l'interazione tra l'anno e genotipo non è risultata statisticamente significativa.

Anche i polifenoli contribuiscono a mantenere in salute le cellule umane. Svolgono un'azione di contrasto nei confronti dei radicali liberi, che modificano il naturale metabolismo cellulare, determinano reazioni a catena di ossidazione e possono portare alla prematura morte cellulare. I polifenoli svolgono un ruolo di protezione verso agenti esterni, agendo da antinfiammatori e antivirali; regolano inoltre l'assorbimento e l'immagazzinamento del colesterolo nel sangue (Dinelli *et al.*, 2011).

Nel frumento i polifenoli sono la classe più rappresentativa di antiossidanti ed esercitano un'azione strategica di difesa nei confronti di stress biotici e abiotici. Rappresentano una delle principali classi di composti del metabolismo secondario dei cereali e comprendono un'ampia gamma di sostanze molto diverse tra loro (Gotti *et al.*, 2018).

Tali composti sono presenti nella granella in una forma libera (FREE) oppure legati ai composti come saccaridi e acidi organici (BOUND).

Analizzando i risultati ottenuti si può osservare come le condizioni meteo nel corso del 2° e 3° anno della prova (elevata piovosità nel periodo tra aprile e luglio), abbiano favorito l'accumulo della componente «legata»; viceversa, le condizioni meteo osservate nel corso del 1°anno (temperature elevate e piovosità contenuta), sembrano favorire l'accumulo della componente «libera». A tal proposito, l'analisi statistica ha evidenziato una correlazione significativa negativa tra il numero di giorni di pioggia da aprile a luglio e la componente «libera» dei polifenoli ($r = 0, -610$; $P < 0.01$). Inoltre, dato questo comportamento opposto delle due frazioni, il fattore anno in base all'analisi statistica effettuata non sembra avere un effetto significativo sul contenuto totale di polifenoli.

Per quanto riguarda il genotipo, come evidenziato da altri studi (Di Silvestro *et al.*, 2016), si nota una significatività di questo fattore sulla componente legata dei polifenoli. A tal proposito, il genotipo che ha mostrato un contenuto significativamente più alto di polifenoli bound è stato Abbondanza.

Inoltre, per quanto riguarda il contenuto totale di polifenoli, non sono state riscontrate differenze significative tra i vari genotipi oggetto di questo studio. Probabilmente il diverso genotipo influenza verosimilmente la sintesi quanti-qualitativa di polifenoli nella forma legata, ma a livello di polifenoli totali, vi sono altre componenti (ambientali) che incidono maggiormente sul loro contenuto. In sostanza, i diversi genotipi potrebbero non differenziarsi particolarmente per le vie di sintesi e le modalità di produzione dei polifenoli free, producendone in quantità non statisticamente differenti.

Nel complesso, i dati rilevati sono stati leggermente più bassi rispetto a quelli riportati in ricerche svolte da Dinelli *et al.*, (2009) e Di Loreto *et al.*, (2018), dove i frumenti sono stati coltivati sempre in regime di agricoltura biologica ma in pianura, quindi in condizioni meno limitanti.

Oltre ai polifenoli sono stati quantificati anche i flavonoidi, che sono una classe di composti chimici appartenenti ai polifenoli, i quali conferiscono spesso aromi e sapori al prodotto; inoltre, svolgono importanti funzioni antiossidanti ed antinfiammatorie nell'organismo umano (Di Gioia *et al.*, 2014).

La presenza dei flavonoidi nei tre anni si è statisticamente differenziata: i flavonoidi free (FF) sono risultati maggiori nella prima annata agraria (2016/17), in cui il volume di precipitazioni è stato inferiore alla media stagionale, rispetto alle annate agrarie successive (2017/18 e 2018/19), in cui il volume di precipitazione è stato in linea, o poco maggiore, con la media stagionale tipica di quelli areali. Per i flavonoidi bound (BF) si è verificato un andamento opposto. Dunque anche per i flavonoidi, come per i polifenoli, si osserva un maggior accumulo della frazione libera negli anni con minori

precipitazioni e viceversa. A tal proposito l'analisi statistica ha evidenziato una correlazione negativa significativa tra il contenuto in FF e la piovosità cumulata nel periodo tra aprile e luglio ($r = -0,624$; $P < 0,01$). Per quanto riguarda i singoli genotipi, sono state riscontrate differenze statisticamente significative. In particolare, il mix Farri si caratterizza per il maggior contenuto in flavonoidi free e bound e di conseguenza di flavonoidi totali (TF).

Per quanto riguarda il contenuto in flavonoidi totali (TF), si osserva un andamento analogo a quello dei FF, in quanto rappresentano la maggior parte dei flavonoidi totali; tra questi due ultimi parametri è stata evidenziata una correlazione altamente significativa ($r = 0,898$; $P < 0,01$). Nello specifico i FF sono risultati altamente correlati con la componente lipidica ($r = 0,719$; $P < 0,01$). Questo probabilmente è spiegato dal fatto che all'aumentare della componente lipidica, che oltre a costituire le membrane cellulari e una delle principali riserve energetiche dell'embrione, è necessario un aumento di tutte quelle sostanze antiossidanti che ne ostacolano i processi di ossidazione. I valori medi di TF ottenuti in questo studio sono in linea con quelli riportati in letteratura (Falcinelli *et al.*, 2018; Dinelli *et al.*, 2011), anch'essi realizzati su frumenti antichi in regime di agricoltura biologica.

Infine, sulle farine ottenute da ogni singolo genotipo nelle diverse annate agrarie è stata misurata l'attività antiossidante tramite il test FRAP. Tale test misura l'attività chelante dell'estratto fenolico che determina la riduzione e la stabilizzazione dei metalli di transizione (in particolare di ioni Fe^{2+}) (Di Loreto *et al.*, 2018). I valori medi ottenuti nella prova evidenziano un'attività antiossidante statisticamente maggiore per le farine ottenute nel secondo anno (2017/18) rispetto agli altri due.

Alla luce anche della correlazione negativa significativa che è emersa fra il FRAP e la pioggia cumulata nei mesi tra aprile e luglio ($r = -0,431$; $P < 0,01$), si può dedurre che l'attività antiossidante non sia stimolata dalle precipitazioni primaverili. Sempre in relazione all'andamento stagionale, è stata osservata anche un'altra correlazione tra le temperature minime registrate nel periodo compreso nei mesi di aprile-luglio e il FRAP ($r = 0,529$; $P < 0,01$), evidenziando come ad una diminuzione delle temperature minime diminuisca anche l'attività antiossidante.

Per quanto riguarda i singoli genotipi, emerge una certa significatività di questo fattore nello spiegare i diversi valori di attività antiossidante. Nello specifico, i valori più bassi sono stati ottenuti da Benco, Autonomia A e mix Farri. Gli altri genotipi hanno mostrato valori più alti e con differenze non statisticamente significative tra loro.

In generale, i valori di attività antiossidante ottenuti in questa prova risultano leggermente inferiori rispetto ad altri studi simili sui frumenti antichi nelle stesse condizioni agronomiche (Di Loreto *et al.*, 2018).

Sono state inoltre osservate delle correlazioni altamente significative del FRAP con BPC ($r = 0,754$; $P < 0,01$) e del FRAP con TPC ($r = 0,489$; $P < 0,01$), suggerendo un aumento dell'attività antiossidante all'aumentare dei polifenoli bound e totali.

Osservando le correlazioni si può affermare che in questo studio l'attività antiossidante FRAP risulta maggiormente influenzata dalla "componente legata" ed in particolare, maggiormente dai polifenoli legati (BP).

Per quanto riguarda il mix Farri sono stati ottenuti per i vari parametri risultati in linea con quanto riportato in letteratura (Brandolini *et al.*, 2008), mentre i frumenti hanno mostrato caratteri interessanti con differenze tra le varietà significative.

3.4 Saggi *in vitro*

3.4.1 Attività anti-infiammatoria

L'infiammazione gioca un ruolo determinante nello sviluppo e nell'esito di numerose patologie (cardiovascolari, neuro-degenerative, autoimmuni, tumorali). Tali infiammazioni sono associabili a marcatori dell'infiammazione che svolgono prevalentemente un'azione di attivazione e regolazione delle cellule infiammatorie.

Dal test di tossicità in Figura 14 si è potuto osservare come l'LPS da solo riduca in modo significativo la proliferazione delle cellule Caco2 rispetto al controllo non trattato. Il pre-trattamento con i polifenoli presi in esame è risultato proteggere le cellule intestinali dalla tossicità indotta dal trattamento con l'LPS in quasi tutti i casi presi in considerazione. In particolare, i polifenoli estratti dalle varietà Abbondanza, Mix_Virgo, Andriolo, Autonomia_A e Funo hanno mostrato avere un effetto positivo sulla proliferazione delle cellule, anche maggiore rispetto al controllo. I polifenoli ottenuti dalle varietà Gamba di Ferro e Mix_Appenbio hanno riportato la proliferazione uguale al controllo non trattato. Infine, Benco, Canove e Mix_Farri non hanno mostrato avere un effetto protettivo significativo rispetto al solo trattamento con l'LPS.

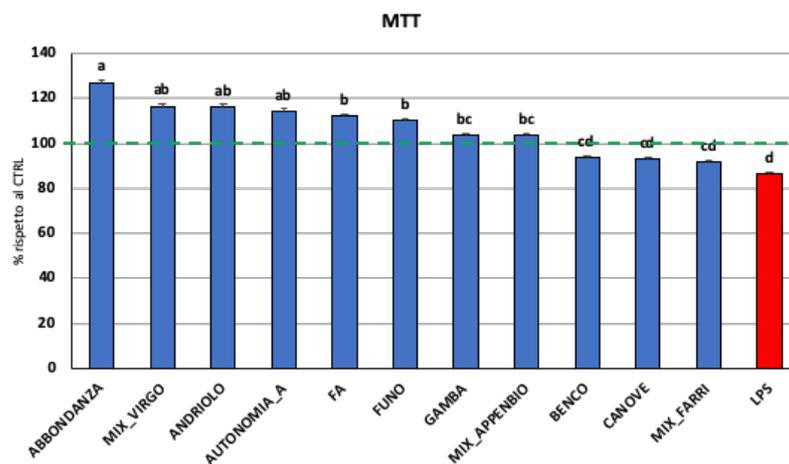


Figura 14: Test di tossicità dei polifenoli estratti dalle 10 varietà di frumento. I risultati stati espressi come percentuale rispetto al controllo non trattato (CTRL). Come controllo negativo è stato utilizzato LPS da solo.

La Figura 15 mostra come il trattamento con l'LPS da solo induca il rilascio della interleuchina IL8 da parte delle cellule analizzate significativamente maggiore rispetto a quanto avviene nel controllo non trattato. Il pretrattamento con i polifenoli estratti dalle varietà Funo, Andriolo e Gamba di Ferro non prevengono in modo significativo il rilascio della interleuchina, rispetto al trattamento con l'LPS da solo. I polifenoli estratti, invece, dalle varietà Mix_Virgo, Benco, Canove, Mix_Appenbio, Abbondanza, Autonomia_A e Mix_Farri inibiscono il rilascio della interleuchina 8 in modo significativo rispetto al solo trattamento con l'LPS. L'acido Ferulico, utilizzato come controllo, inibisce completamente il rilascio della IL8, non mostrando differenze significative rispetto al controllo non trattato.

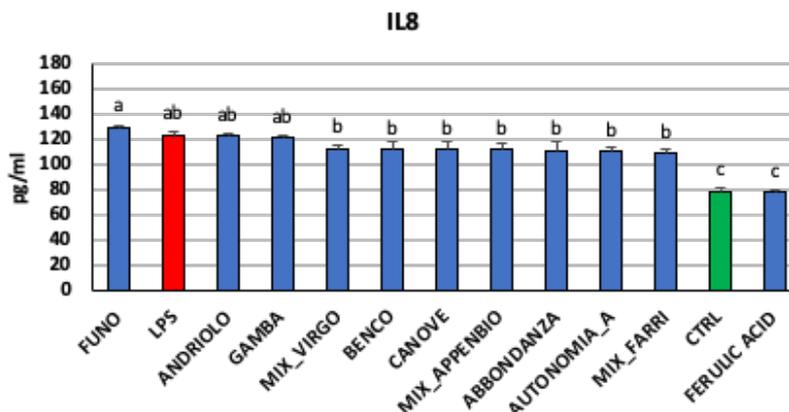


Figura 15: Quantificazione del rilascio dell'IL8. I risultati stati espressi come pg/ml di IL8. Come controlli sono stati utilizzati il controllo non trattato (CTRL) e il campione trattato con solo LPS.

Per quanto riguarda il rilascio della PGE2 (Figura 16), non si sono osservate molte differenze significative tra i diversi trattamenti. Il trattamento con l'LPS da solo induce un significativo aumento

della PGE2 rispetto al controllo non trattato. Il pre-trattamento con i polifenoli ottenuti dalle varietà Andriolo e Benco risultano ridurre in modo significativo il rilascio della citochina rispetto al trattamento con l'LPS da solo. Non si osservano grandi differenze tra gli altri trattamenti, che risultano comportarsi in modo analogo a quanto osservato dal solo trattamento con l'LPS.

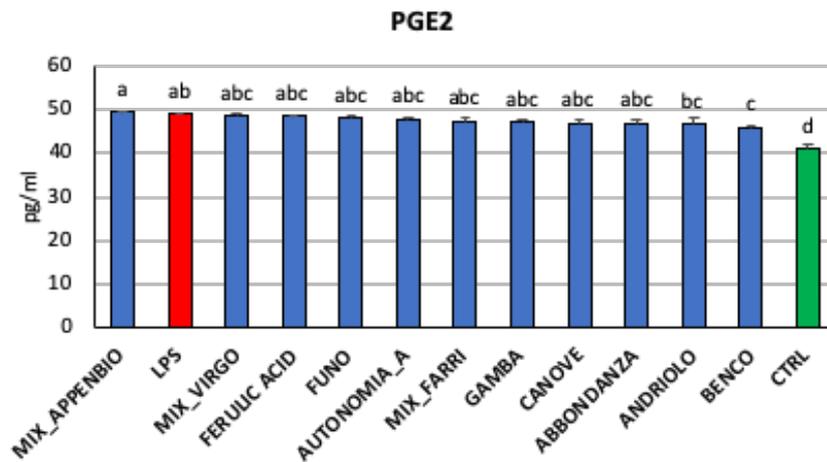


Figura 16: Quantificazione del rilascio della citochina PGE2. I risultati stati espressi come pg/ml di PGE2. Come controlli sono stati utilizzati il controllo non trattato (CTRL) e il campione trattato con solo LPS.

Dalla quantificazione delle cellule CD11b positive (Figura 17), si è potuto osservare come l'LPS da solo induca un significativo aumento del numero dei macrofagi, rispetto a quanto osservato nel controllo non trattato. I polifenoli estratti dalle varietà Canove, Gamba di Ferro, Abbondanza, Mix Virgo, Funo, Mix Appenbio, Autonomia A riducono la formazione del numero dei macrofagi rispetto al solo trattamento con l'LPS, mentre un effetto meno evidente è risultato dal trattamento con i polifenoli estratti dalle varietà: Andriolo, Mix Farri e Benco.

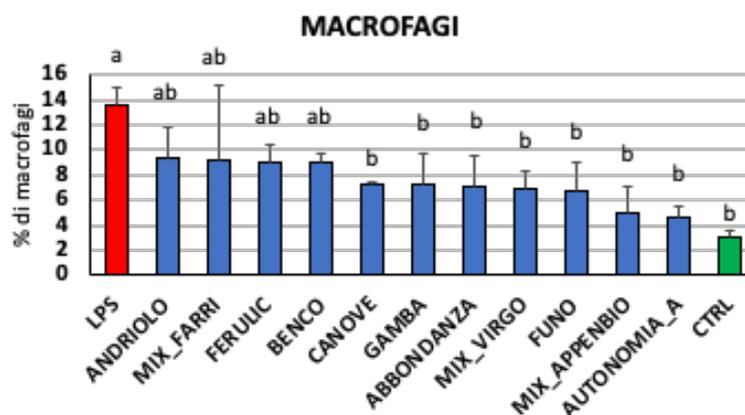


Figura 17: Quantificazione dei macrofagi (CD11b). Le cellule positive al marker CD11b sono state espresse come % di cellule positive alla colorazione.

3.4.2 Attività pro-infiammatoria

Dal test di tossicità in Figura 18, si è potuto osservare come l'LPS da solo riduca in modo significativo la proliferazione delle cellule Caco2 rispetto al controllo non trattato. Le proteine estratte hanno mostrato effetti diversi sulla proliferazione delle cellule Caco2. In particolare, le proteine estratte dalle varietà Canove, Funo e Andriolo non hanno mostrato avere un effetto tossico sulla proliferazione delle cellule. Le proteine estratte dalle varietà Abbondanza, Gamba di Ferro e Benco hanno mostrato un effetto tossico molto simile a quello indotto dall'LPS, mentre le proteine estratte dalle varietà

Mix_Appenbio, Mix_Farri, Mix_Virgo e Atonomia_A risultano ridurre la proliferazione delle cellule in modo significativo anche rispetto all'LPS.

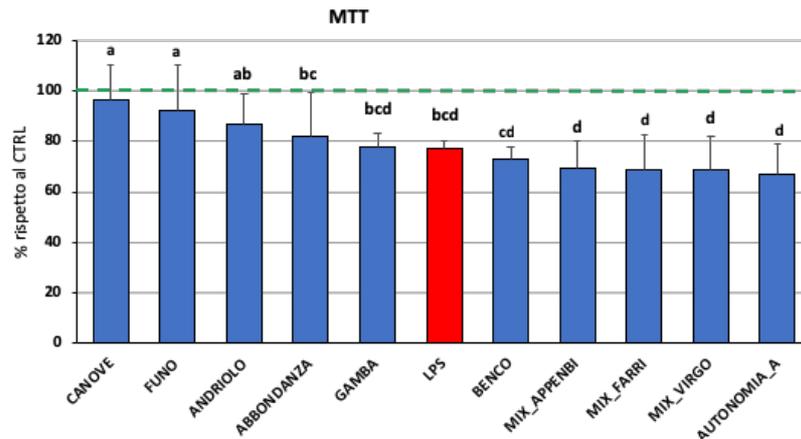


Figura 18. Test di tossicità delle proteine estratte dalle 10 varietà di frumento. I risultati sono stati espressi come percentuale rispetto al controllo non trattato (CTRL).

La Figura 19 mostra come il trattamento con l'LPS da solo induca il rilascio della interleuchina IL8 da parte delle cellule analizzate significativamente maggiore rispetto a quanto avviene nel controllo non trattato. Il trattamento con le proteine estratte dalle varietà di frumento analizzate inducono sempre un significativo aumento dell'IL8 rispetto a quanto osservato nel controllo non trattato. Si distinguono le proteine estratte dal Mix_Farri, che inducono un rilascio maggiore della citochina rispetto alle altre varietà, e, dall'altra parte, le proteine estratte dalla varietà Mix_Virgo in grado di indurre la minor quantità di citochina IL8 nelle cellule analizzate.

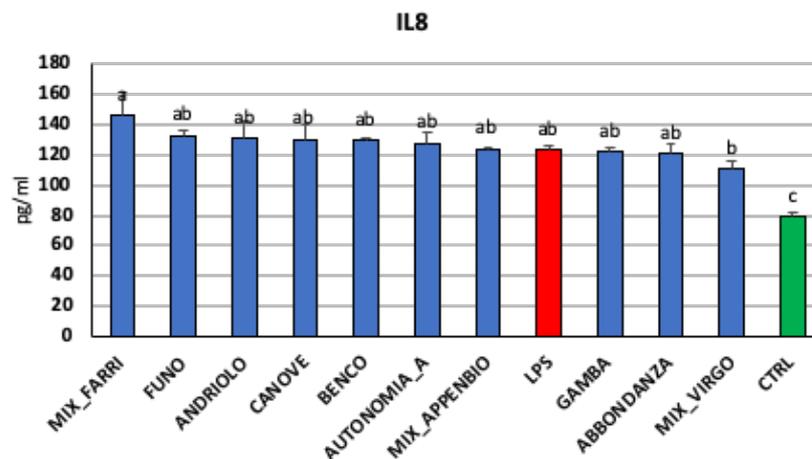


Figura 19. Quantificazione del rilascio dell'IL8. I risultati sono stati espressi come pg/ml di IL8. Come controllo è stato utilizzato il campione non trattato (CTRL).

Per quanto riguarda il rilascio della PGE2 (Figura 20), non si sono osservate molte differenze significative tra i diversi trattamenti. Il trattamento con l'LPS da solo induce un significativo aumento della PGE2 rispetto al controllo non trattato, che risulta essere significativamente uguale alla quantità di PGE2 indotta dal trattamento con le proteine estratte da tutte le varietà di frumento oggetto di studio.

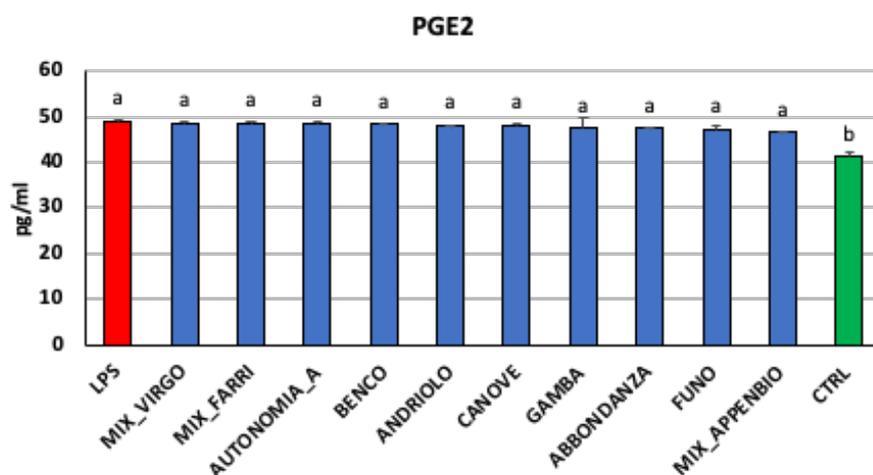


Figura 20. Quantificazione del rilascio della citochina PGE2. I risultati stati espressi come pg/ml di PGE2. Come controllo è stato utilizzato il campione non trattato (CTRL)

Dalla quantificazione delle cellule CD11b positive (Figura 21), si è potuto osservare come l'LPS da solo induca un significativo aumento del numero dei macrofagi, rispetto a quanto osservato nel controllo non trattato. Le proteine estratte dalle varietà Benco, Abbondanza, Andriolo, Canove, Funo e Autonomia_A inducono la formazione di un maggiore numero di macrofagi rispetto alle proteine estratte dalle varietà Mix_Farri, Mix_Virgo, Gamba di Ferro e Mix_Appenbio.

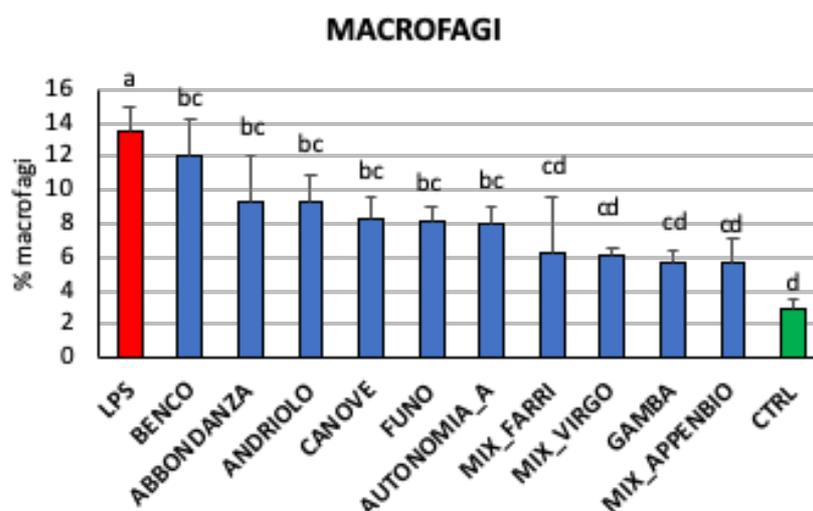


Figura 21. Quantificazione dei macrofagi (CD11b). Le cellule positive al marker CD11b sono state quantificate e espresse come % di cellule positive alla colorazione.

3.4.3 Potenziale infiammatorio

La valutazione del potenziale infiammatorio del materiale oggetto di studio è stata ottenuta operando la sommatoria tra il potere anti-infiammatorio e quello pro-infiammatorio rispettivamente degli estratti fenolici e proteici sulle cellule Caco2. In particolare, i potenziali anti- e pro-infiammatori sono stati calcolati facendo la somma dei valori ottenuti dall'analisi del potenziale tossico sulla proliferazione cellulare delle cellule (MTT), del dosaggio della IL8 e delle prostaglandine 2 (PGE-2) e dalla quantificazione del numero dei macrofagi attivati (CD11b) ottenuti dalla cocultura delle cellule Caco2 con le cellule immunitarie U937. Il valore del potenziale infiammatorio tanto più è elevato, tanto minore risulta l'effetto pro-infiammatorio della frazione proteica e maggiore l'effetto anti-infiammatorio dei polifenoli.

Nel complesso, tutte le 10 varietà di frumento analizzate hanno mostrato come il potenziale anti-infiammatorio dei polifenoli prevalga sul potenziale pro-infiammatorio della componente proteica. Tuttavia, è stato possibile dividere le varietà studiate in tre gruppi. Il primo gruppo, comprendente Mix_Appenbio, Mix_Virgo, Autonomia_A e Gamba di Ferro, caratterizzato dal potenziale infiammatorio più alto (maggiore di 2.5), il secondo gruppo comprendente Abbondanza, Funo, Canove e Andriolo con potenziale infiammatorio compreso tra 2 e 2.5, ed il terzo gruppo, comprendente Mix_Farri e Benco, caratterizzato dal potenziale infiammatorio più basso tra le varietà analizzate, compreso tra 1.5 e 2.

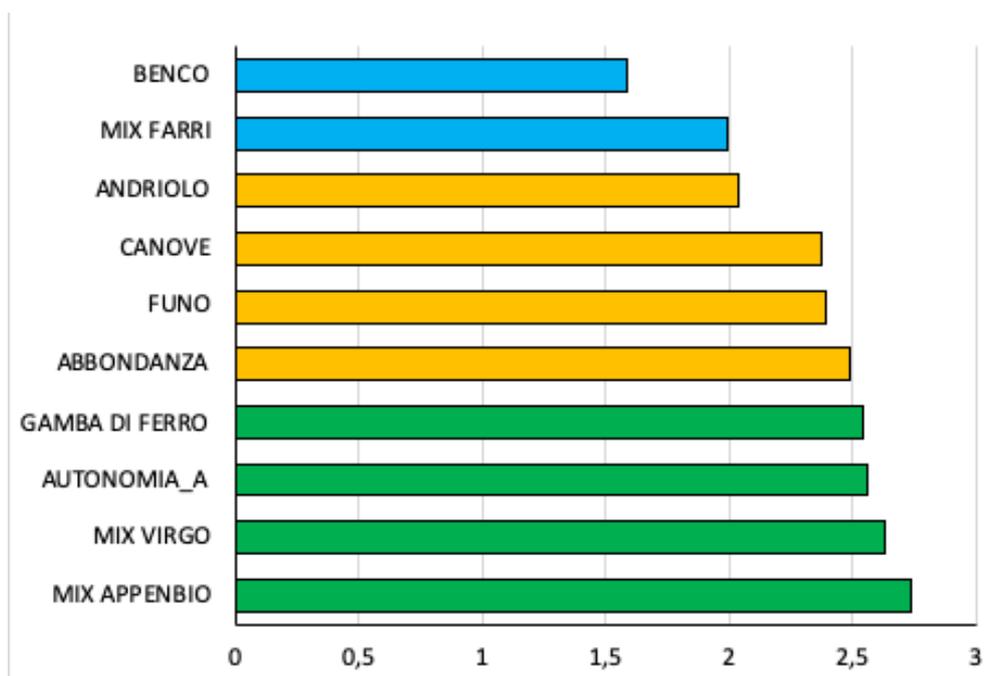


Figura 22. Potenziale infiammatorio.

6. CONCLUSIONI

Analizzando i risultati ottenuti in questa sperimentazione, si osserva che quasi tutti i parametri agronomici e nutrizionali oggetto di studio subiscono l'influenza, in alcuni casi anche importante, di almeno uno dei due fattori considerati, ovvero l'annata e il genotipo.

Analizzando il primo fattore, l'annata 2016/17 è stata quella in cui si è misurato il volume di precipitazioni minore dell'intera sperimentazione. La quantità di pioggia caduta, inoltre, è stata molto minore rispetto alla media storica dell'areale preso in considerazione. Tali differenze nelle condizioni meteorologiche hanno determinato delle differenti performance produttive tra le diverse annate agrarie. Nella prima annata agraria si sono registrate le rese più basse e l'altezza media delle piante maggiore. Per quanto riguarda l'allettamento, anche se dall'analisi statistica non sembrerebbe essere significativamente influenzato dal fattore anno, per motivi già affrontati nel capitolo delle discussioni, si osserva un aumento di questo fenomeno nelle ultime due annate per via delle maggiori precipitazioni nella parte finale del ciclo di crescita. Nonostante questo, nei tre anni si è comunque osservata una bassa incidenza dell'allettamento.

Dall'analisi dei risultati ottenuti nei diversi anni, si può notare come la piovosità cumulata e la sua distribuzione nel periodo tra maggio e luglio influenzino notevolmente i parametri più importanti legati alle performance produttive e quindi la resa (Baldoni e Giardini, 2010).

A tal proposito si nota che nella terza annata, caratterizzata da una notevole quantità di pioggia caduta nel periodo maggio-luglio, vi è stata una percentuale maggiore di infestanti presenti nel campo e una maggiore incidenza di patogeni, come anche un peso ettolitrico più basso. In ogni caso però, per questi tre parametri, non stati osservati valori critici, anzi, considerando l'andamento dell'annata

particolarmente favorevole ai patogeni e considerando l'impossibilità di intervenire con trattamenti chimici, si sono ottenuti ottimi risultati, mettendo in luce la grande rusticità e adattabilità delle varietà antiche alle condizioni di coltivazione più limitanti e ai repentini cambiamenti climatici a cui stiamo andando incontro.

Andando infine ad analizzare i singoli genotipi, si osserva che i valori ottenuti per il mix Farri sono stati in linea con quanto già riportato in letteratura per il farro monococco (Brandolini *et al.*, 2008).

Tra i parametri più significativi si è evidenziata la percentuale di allettamento, pari circa al 54% del campo, che in alcuni casi rende difficoltosa la raccolta, e la resa media, pari a 1.49 t/ha.

Le popolazioni Boadapt e Appen.Bio hanno ottenuto, per quasi tutti i parametri agronomici considerati, valori in linea con le altre varietà coltivate in purezza. Scendendo nel dettaglio, si nota che tali popolazioni abbiano riportato per il parametro "incidenza patogeni" e in misura maggiore per il parametro "gravità patogeni", valori più bassi rispetto alle altre varietà di frumento tenero. Questo conferma come la più ampia biodiversità che costituisce tali popolazioni determina una maggior resilienza a questo tipo di avversità. Inoltre, la possibilità di queste popolazioni di evolversi permetterà la continua e costante selezione dei genotipi più adatti alle particolari condizioni di uno specifico areale e sistema agricolo.

Il genotipo Abbondanza invece, ha mostrato valori di resa, altezza della pianta e allettamento significativamente minori rispetto agli altri genotipi, facendo registrare inoltre il livello di erbe infestanti più alto. Caratteristiche simili sono state osservate anche per Funo, ad eccezione del parametro resa, che non è risultato statisticamente diverso dalle altre varietà di frumento tenero.

Funo ed Abbondanza, rispetto alle altre accessioni di antica costituzione, sono genotipi selezionati in un momento storico più recente; è ipotizzabile dunque che in condizioni pedo-climatiche meno limitanti e con l'eventuale impiego di concimazioni organiche possano migliorare ulteriormente alcuni parametri agronomici, come ad esempio la resa.

L'ottima rusticità delle varietà di antica costituzione è confermata anche dal fatto che nel presente studio l'incidenza dei patogeni non ha compromesso nessuna caratteristica agronomica e nutrizionale considerata.

Così come per i caratteri agronomici, anche per quelli nutrizionali sono state osservate delle differenze significative dovute all'annata agraria e al genotipo.

Il fattore anno si è dimostrato altamente significativo per tutti i parametri analizzati, ad esclusione del contenuto in polifenoli totali.

A tal proposito è interessante notare come il contenuto totale in fibra segua lo stesso andamento del contenuto proteico, opposto invece a quanto osservato per resa e amido.

Inoltre, si è osservato che le condizioni di elevata piovosità hanno favorito l'accumulo della componente «legata», sia per i polifenoli che per i flavonoidi; viceversa, le condizioni di temperature più elevate e piovosità contenuta hanno favorito l'accumulo della componente «libera», sia per i polifenoli che per i flavonoidi. In particolare, l'attività antiossidante FRAP, risulta maggiormente influenzata dalla componente «legata», ed in particolare dai polifenoli legati.

Analizzando i singoli genotipi, il Mix farri si differenzia per l'elevato contenuto in proteina, in fibra solubile, in lipidi e l'elevato contenuto in flavonoidi free e bound, confermando le sue peculiarità nutrizionali rispetto al frumento tenero. Per quanto riguarda i frumenti teneri, tutte le varietà in prova presentano ottimi valori in contenuto proteico e fibra ed inoltre un alto contenuto in composti fenolici, con differenze tra varietà non significative e/o contenute.

In conclusione, possiamo affermare che le varietà di antica costituzione oggetto di studio nel presente elaborato si sono rivelate estremamente adatte ad essere coltivate in condizioni agronomiche limitanti, come quelle delle aree marginali collinari, facendo ottenere per alcuni dei parametri agronomici considerati, come ad esempio il peso ettolitrico, valori anche più alti delle stesse varietà, coltivate in pianura. Complessivamente per tutti i genotipi si è riscontrata una bassa incidenza di patogeni. Questo è stato osservato in particolar modo per le popolazioni di frumento e di monococco,

la cui più ampia base genetica ha maggiormente ostacolato la proliferazione e diffusione delle malattie, confermando come questo materiale genetico possa essere molto interessante, soprattutto per i sistemi agricoli che non fanno uso di input chimici, sia per la coltivazione diretta, sia come materiale di partenza per un miglioramento genetico specifico per l'agricoltura biologica delle aree marginali.

Un altro aspetto agronomico molto interessante che è stato osservato è la bassa incidenza di allettamento e soprattutto la sua scarsa influenza sulle rese che, considerando la coltivazione in biologico, senza l'apporto di concimazioni organiche aggiuntive, si sono rivelate buone.

Per tutti questi motivi le varietà di antica costituzione ed in particolar modo le popolazioni da loro costituite, rappresentano ad oggi una scelta tecnica adatta per chi vuole coltivare cereali in condizioni limitanti, come quelle delle aree marginali collinari.

Oltre agli aspetti agronomici vantaggiosi dimostrati per queste particolari condizioni di coltivazione, tali varietà risultano molto interessanti anche per alcune caratteristiche nutrizionali, che in alcuni casi sono risultate essere stimolate dalle condizioni di coltivazione più limitanti, tipiche della collina (come ad esempio le fibre). In particolar modo, si sono osservati complessivamente degli ottimi valori in contenuto proteico e fibre ed un'ottima composizione in composti fenolici, per tutte le varietà di frumento tenero. Il mix Farri ha mostrato per molti dei parametri nutrizionali considerati i valori più interessanti, come ad esempio il più alto contenuto proteico (vicino a quello dei legumi), la più elevata percentuale di fibra solubile e flavonoidi free e bound.

Tutti questi aspetti nutrizionali, sia per i frumenti teneri che per il monococco, se correttamente valorizzati, potrebbero apportare un valore aggiunto ai prodotti derivanti dalle coltivazioni in aree marginali. La coltivazione di queste varietà di antica costituzione, dunque, grazie alle loro particolari caratteristiche agronomiche e nutrizionali, potrebbe migliorare il reddito degli agricoltori delle aree marginali critiche, che troppo spesso sono soggette a forti problemi di sviluppo economico e sociale, aggravati anche da situazioni non sempre favorevoli da un punto di vista pedoclimatico.

Lo sviluppo di filiere locali in grado di valorizzare il prodotto finale e i suoi derivati, aumenterebbe la competitività dell'agricoltura di queste aree rispetto ad altri sistemi agricoli ed inoltre andrebbe a disincentivare i fenomeni di abbandono dei terreni, contribuendo alla cura e al presidio del territorio.

Bibliografia

- AA.VV., (2003), *Food energy – methods of analysis and conversion factors*, FAO Food and Nutrition Paper 77, (2003), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, pp. 7-9.
- Adom K.K., Sorrells M.E., Liu R.H., (2003), *Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 2003, pp. 7825–7834.
- Arzani A., Ashraf, M., (2017), *Cultivated ancient wheats (Triticum spp.): a potential source of health-beneficial food products*, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), pp. 477-488.
- Baldoni R., Giardini L., (2010), *Coltivazioni erbacee*, Patron Editore pp. 33-107
- Benedettelli S., Ghiselli L., Martinelli T., (2013), “Pane nuovo e pane antico: evoluzione delle varietà di grano, della tecnica molitoria e panificatoria”, in: Amministrazione Provinciale di Siena (ed.), a cura di: Castioni F., Moretti R., 2013, *Pane nuovo da grani antichi. Evoluzione delle varietà di grano, della tecnica molitoria e panificatoria*, Amministrazione Provinciale di Siena, pp. 21-50
- Benzie I.F., Strain J.J., (1996), *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power: the FRAP assay*, Analytical Biochemistry, 239, 1996, pp. 70–76
- Brandolini A., Hidalgo A., Moscaritolo S., (2008), *Chemical composition and pasting properties of Einkorn (Triticum monococcum L. subsp. monococcum) whole meal flour*, Journal of Cereal Science 47, pp. 599-609
- Brandolini A., Hidalgo A., Pogna N., Geminati R., (2008), *Progetto MonICA – Monococco per l’Innovazione Cerealicola ed Alimentare*, Quaderni della ricerca, n°95 – ottobre 2008, Regione Lombardia, pp. 4-18.
- De Santis M. A., Giuliani M. M., Giuzio L., De Vita, P., Lovegrove A., Shewry, P. R., Flagella, Z., (2017), *Differences in gluten protein composition between old and modern durum wheat genotypes in relation to 20th century breeding in Italy*. European journal of agronomy, 87, pp. 19-29.
- Di Gioia D., Strahsburger E., Lopez de Lacey A. M., Bregola V., Marotti I., Aloisio I., Biavati B., Dinelli G., (2014), *Flavonoid bioconversion in Bifidobacterium pseudocatenulatum B7003: a potential probiotic strain for functional food development*, Journal of Functional Foods, 7, pp. 671-679.
- Di Loreto A., Bosi, S., Montero L., Bregola V., Marotti I., Sferrazza R. E., Cifuentes, A. (2018). *Determination of phenolic compounds in ancient and modern durum wheat genotypes*, Electrophoresis, 39(15), pp. 2001-2010
- Di Silvestro R., Marotti I., Bosi S., Bregola V., Segura Carretero A., Sedej I., Mandic A., Sakac M, Benedettelli S., Dinelli G., (2012), *Health-promoting phytochemicals of Italian common wheat varieties grown under low-input agricultural management*, Journal of the Science of Food and Agriculture 92, pp. 2800–2810
- Cerriotti L., Meloni M (2014). *La valutazione dell’assorbimento intestinale in vitro*. L’integratore nutrizionale, 17 (3).
- Dinelli G., (2011), *Pane della salute: progetto di filiera corta per la valorizzazione di antiche accessioni di frumento tenero*, Università di Bologna, pp. 10-36.
- Dinelli G., Segura-Carretero A., Di Silvestro R., Marotti I., Arráez-Román D., Benedettelli S., Ghiselli L., Fernández-Gutiérrez A., (2011) *Profiles of phenolic compounds in modern and old common wheat varieties determined by liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry*. J. of Chromatogr. A 1218: 7670–7681.
- Dinelli G., Marotti I., Di Silvestro R., Bosi S., Bregola V., Accorsi M., Di Loreto A., Benedettelli S., Ghiselli L., Catizone P., (2013), *Agronomic, nutritional and nutraceutical aspects of durum wheat (Triticum durum Desf.) cultivars under low input agricultural management*, Italian Journal of Agronomy, 2013, volume 8:e12, pp. 85-89.
- Dinelli G., Segura Carretero A., Di Silvestro R., Marotti I., Fu S., Benedettelli S., Gutiérrez A., (2009), *Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 1216, 2009, pp. 7229-7240
- Dinelli G., Marotti I., Bosi S., Benedettelli S., Ghiselli L., Cortacero-Ramírez S., Carrasco-Pancorbo A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., (2007), *Lignan profile in seeds of modern and old Italian soft wheat (Triticum aestivum L.) cultivars as revealed by CE-MS analyses*. In Electrophoresis 2007, vol. 28
- Dinu M., Whittaker A., Pagliai G., Benedettelli S., Sofi F., (2018), *Ancient wheat species and human health: Biochemical and clinical implications*, The Journal of nutritional biochemistry, 52, pp.1-9
- Falcinelli, B., Calzuola, I., Gliarelli, L., Torricelli, R., Polegri, L., Vizioli, V., Marsili, V., (2018), *Phenolic content and antioxidant activity of wholegrain breads from modern and old wheat (Triticum aestivum L.) cultivars and ancestors enriched with wheat sprout powder*, Italian Journal of Agronomy, pp. 297-302.

- Folch J., Lees M., Stanley G. H. S., (1957), *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*, Journal of Biological Chemistry, 1957, 226, pp. 497-509
- Freibauer A, Rounsevell MDA, Smith P, Verhagen J (2004) *Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe*. Geoderma 122:1–23.
- Ghiselli L., Eleonora R., Whittaker A., Dinelli G., Baglio A., Andrenelli L., Benedettelli S., (2016), *Nutritional characteristics of ancient Tuscan varieties of Triticum aestivum L.*, Italian Journal of Agronomy, 11, pp 237-245.
- Gotti R., Amadesi E., Fiori J., Bosi S., Bregola V., Marotti I., Dinelli G., (2018), *Differentiation of modern and ancient varieties of common wheat by quantitative capillary electrophoretic profile of phenolic acids*. Journal of Chromatography A, 1532, pp. 208-215.
- Leoncini E., Prata C., Malaguti M., Marotti I., Segura-Carretero A., Catizone P., Dinelli G., Hrelia S., (2012) *Phytochemical Profile and Nutraceutical Value of Old and Modern Common Wheat Cultivars* PLoS ONE 7:e45997. doi:10.1371/journal.pone.0045997.
- Migliorini P., Torri L., Whittaker A., Moschini V., Benedettelli S., Masoero G. (2018), *Old and new common wheat (Triticum aestivum L.) varieties in organic zero-input: connecting agronomic, microorganism, phytochemical and bread sensory characteristics*, Journal of Food, Agriculture & Environment, 16(2), pp. 22-27
- Natoli M., Leoni BD., D'Agnano I, Zucco F, Felsani A (2012). *Good Caco-2 cell culture practices*. Toxicology in Vitro; 26, pp. 1243–1246
- Scalfi L., Montagnese C., (2010), *Cereali integrali, fibra alimentare da cereale quadro lipidemico*, Nutrizione Umana e Dietetica, Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università degli Studi Federico II, Napoli, pp. 1-5.
- Shewry P. R., Hey S., (2015), *Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components?*, Journal of Cereal Science, 65, pp. 236-243
- Shewry P. R., Piironen V., Lampi A. M., Edelmann M., Kariluoto S., Nurmi T., Åman, P., (2010), *The HEALTHGRAIN wheat diversity screen: effects of genotype and environment on phytochemicals and dietary fiber components*, J. Agric. Food Chem., 58 (17), pp. 9291–9298.
- Tanno Michele (2006), *Grano e Civiltà Rurale del Molise*, Studio Emme, pp. 7-150.
- Tellarini S., (2017), *Grani e gente*, Stilgraf, pp.25-140, 70-84

Profilo ormonale e indicatori di qualità alimentare nel latte fieno

Francesco Galli

*Laboratorio di Biochimica Clinica e Nutrizione Umana
Unità di Lipidomica*



Cattedra di Dietologia

*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche
Università degli Studi di Perugia*



Society for Free Radical Research



PROS.t



SANTORSOLA



eikon





Progetto Latte Fieno APPEN.BIO



Soggetti/Enti coinvolti:

- ALCE NERO SpA
- LA GRANDE VIA APS
- Dott. Alessandro Fantini – (referente Medico veterinario del progetto)
- UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PERUGIA (Ente di ricerca)
 - Dott.ssa Marta Piroddi
 - Dott. Bartolomeo Sebastiani
 - Prof. Francesco Galli



SANT'ORSOLA



EDISON

Artemis

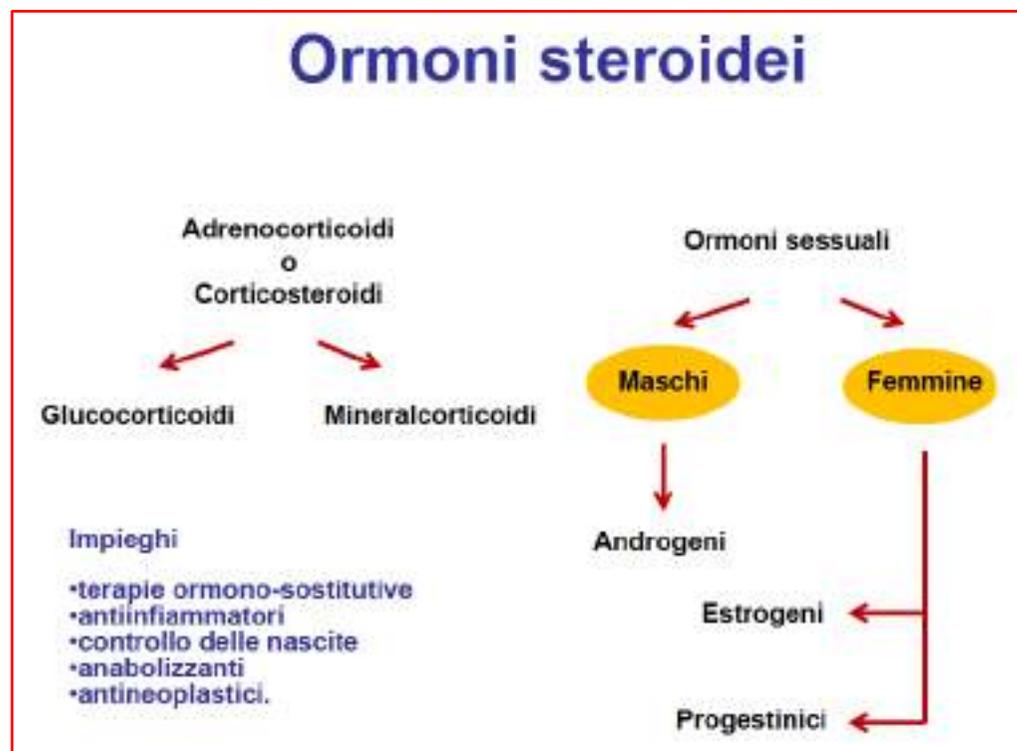
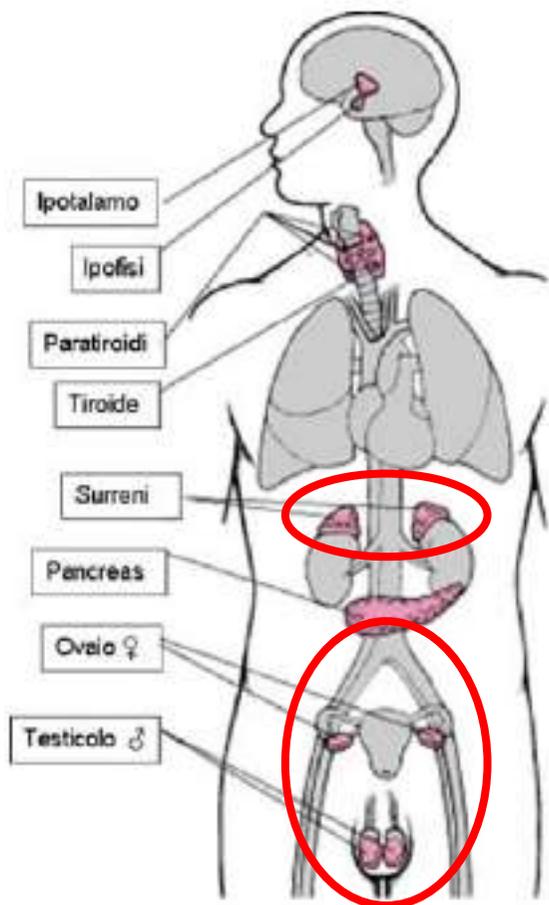
eikon



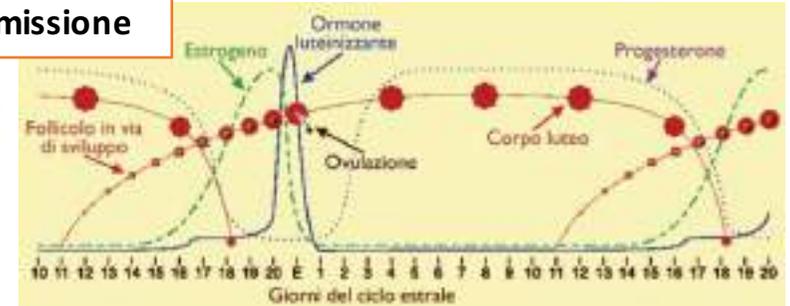
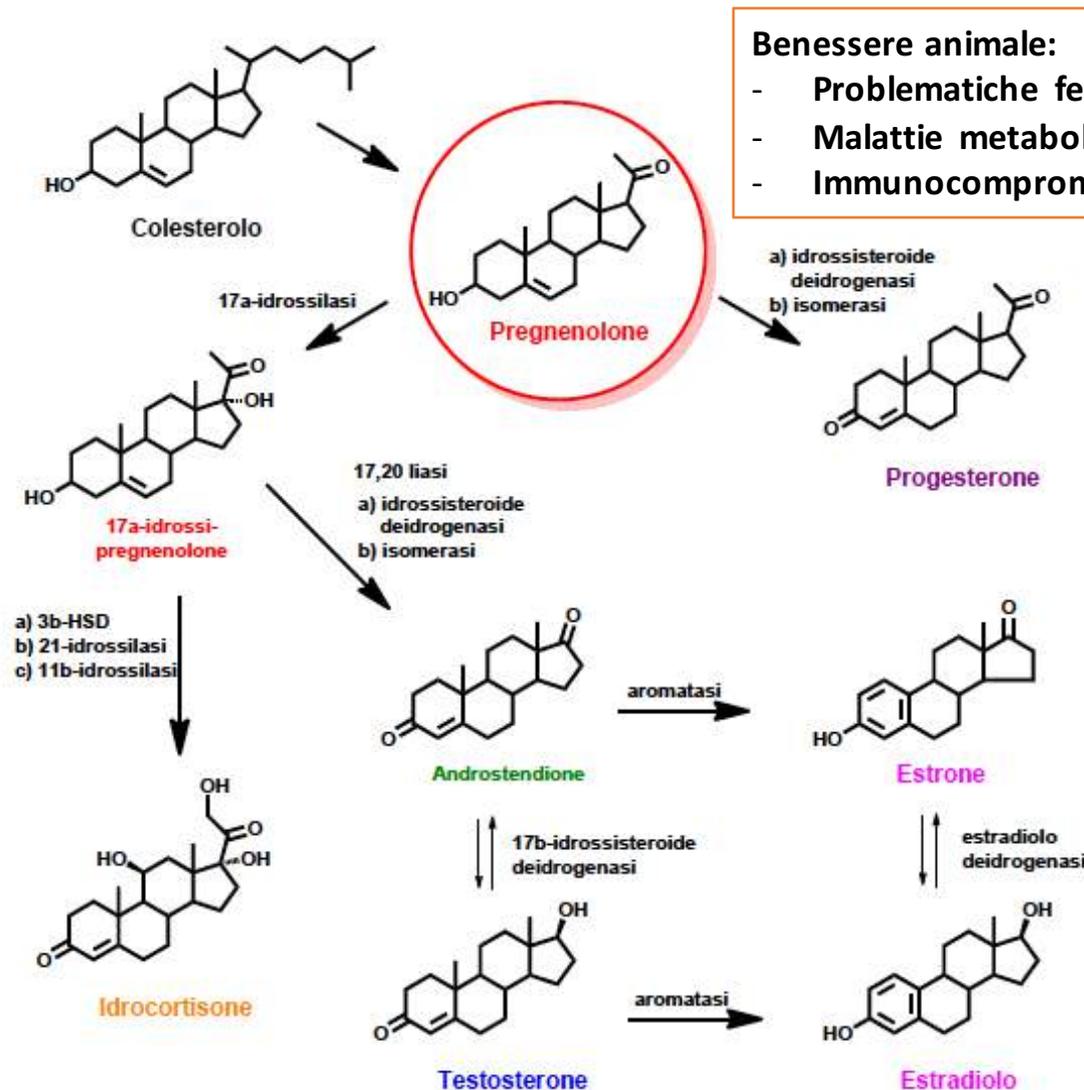
Programma di Sviluppo Rurale



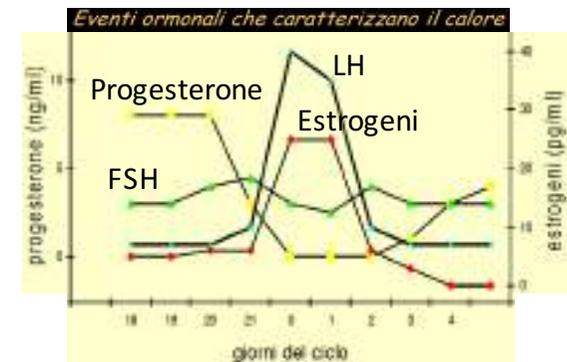
IL SISTEMA ENDOCRINO E GLI ORMONI STEROIDEI



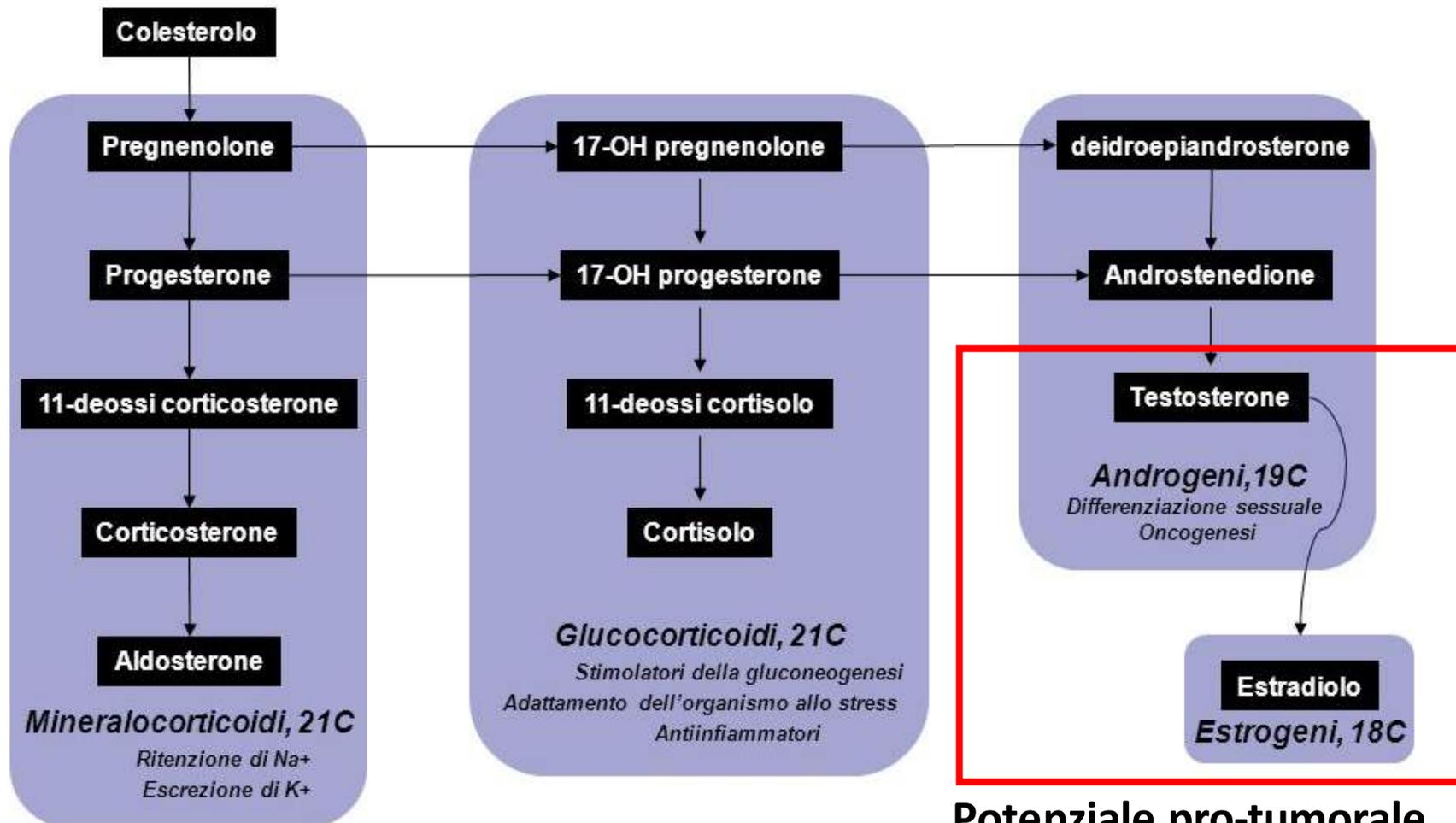
Biosintesi e funzione degli ormoni steroidei



Fantini A. (ruminantia.it)



Biosintesi e funzioni degli ormoni steroidei

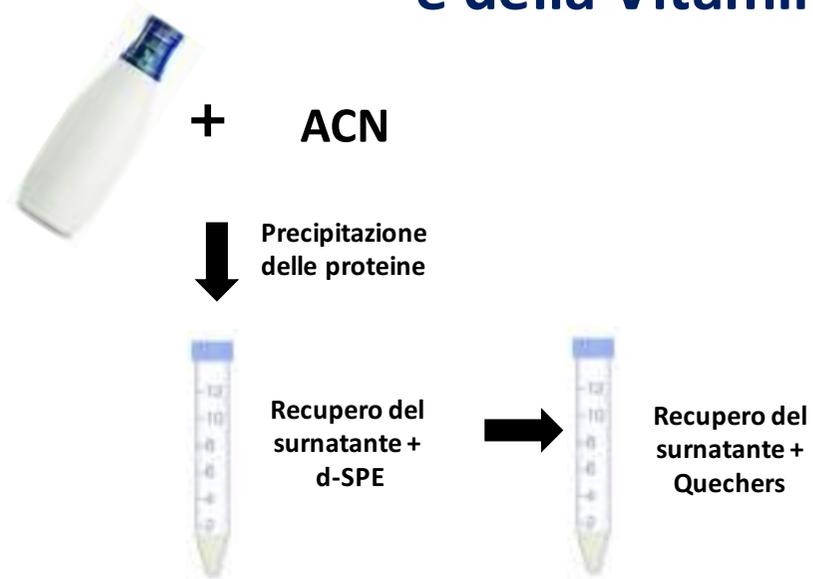


Potenziale pro-tumorale

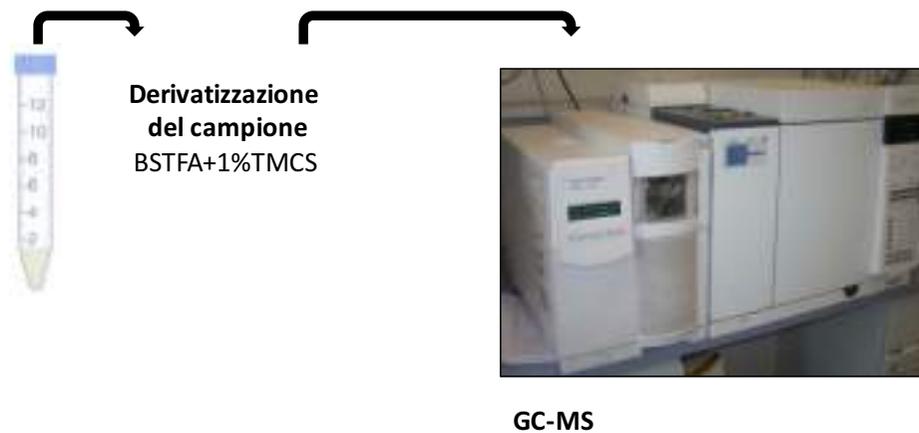
(sesso ed età-dipendente, interazione con altri fattori di rischio: IGF-1 e agenti infiammatori)

- Indicatori del benessere animale
- Fattori di rischio per la salute umana

Protocollo di estrazione e analisi degli ormoni e della Vitamine E



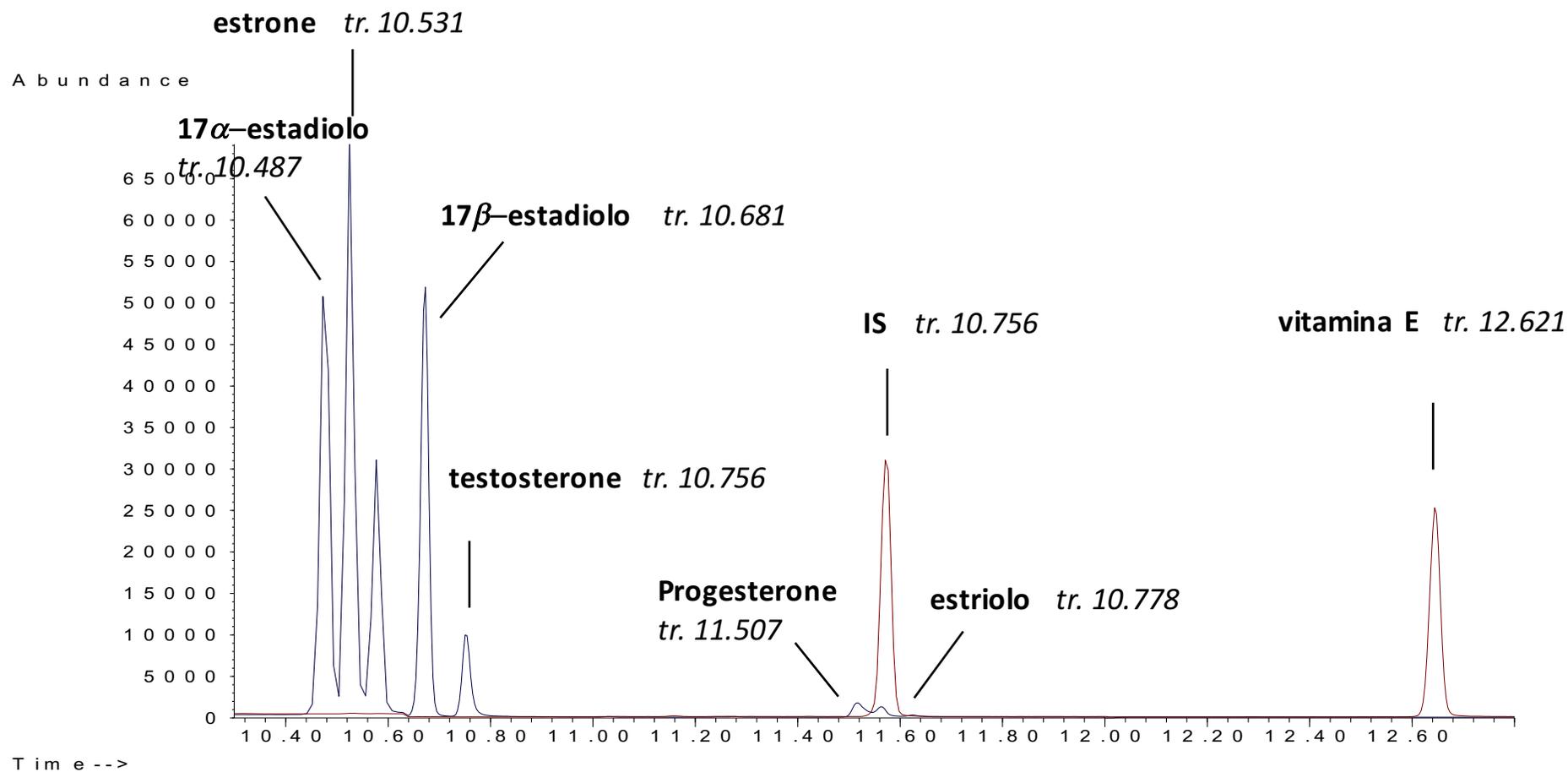
Analisi del campione allo Spettrometro di Massa:



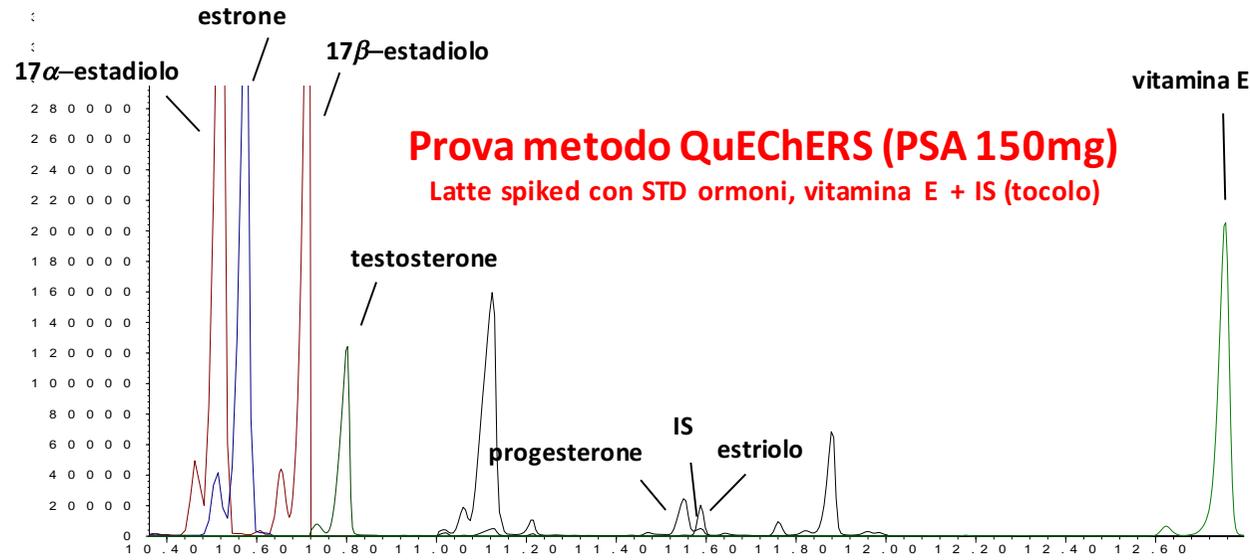
Metodo:
Diluizione isotopica
(utilizzo di standard
analitici deuterati)

*Referente di progetto per metodi analitici:
Dott. Bartolomeo Sebastiani*

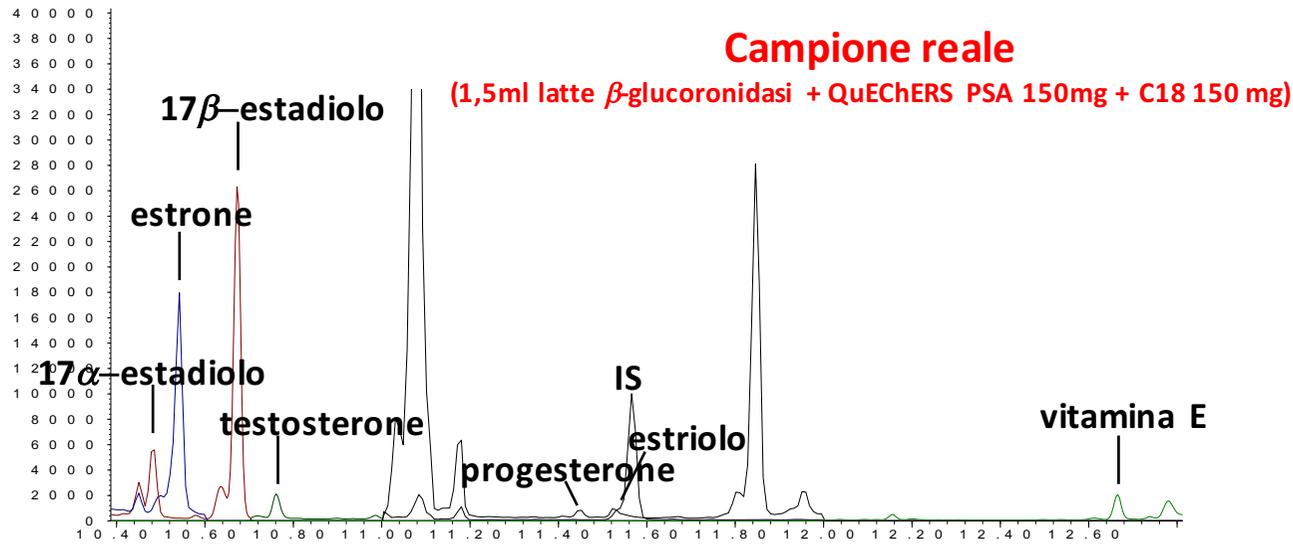
STD ORMONI e Vitamina E + Internal Standard (Tocolo)



Abundance



Abundance



Time -->

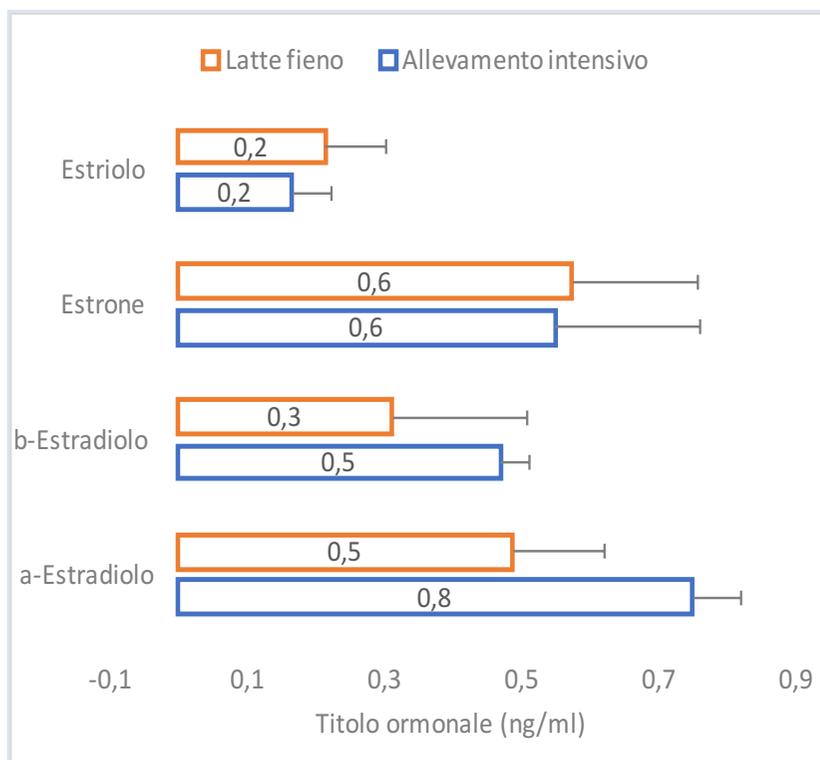


Table IIa. Oestrogens concentrations measured in milk ($n=12$).

Analytes	Mean concentration (ng l^{-1}) \pm standard deviation	Minimum (ng l^{-1})	Maximum (ng l^{-1})	Conjugates (%)
Oestrone	152.8 ± 60.0	75.8	277.5	96
α -Oestradiol	39.4 ± 10.7	28.0	63.6	94
β -Oestradiol	23.0 ± 12.6	9.8	44.3	84

F. Courant et al., *Food Additives and Contaminants*, 2007

RISULTATI



(esclusa stalla Cervati)

17 β -Estradiolo :
(Goyon A et al. 2016)

4 - 342 ng/L (96% coniugato)

Nostri dati (intervallo α -Estradiolo e β -Estradiolo):

100 - 800 ng/L

Estrone :

< 5 - 2.181 ng/L (90% coniugato)

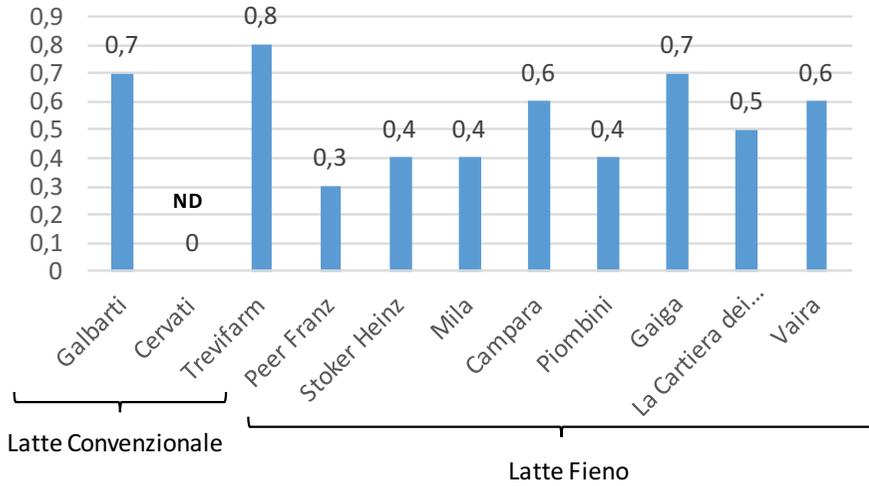
Goyon A ET AL Food Additives & Contaminants 2016); è soggetto a grosse variazioni.

Malekinejad et al. (2006) vengono riportate concentrazioni di 7,9, 452 e 1.266 ng/L rispettivamente al primo, secondo e terzo trimestre di gestazione.

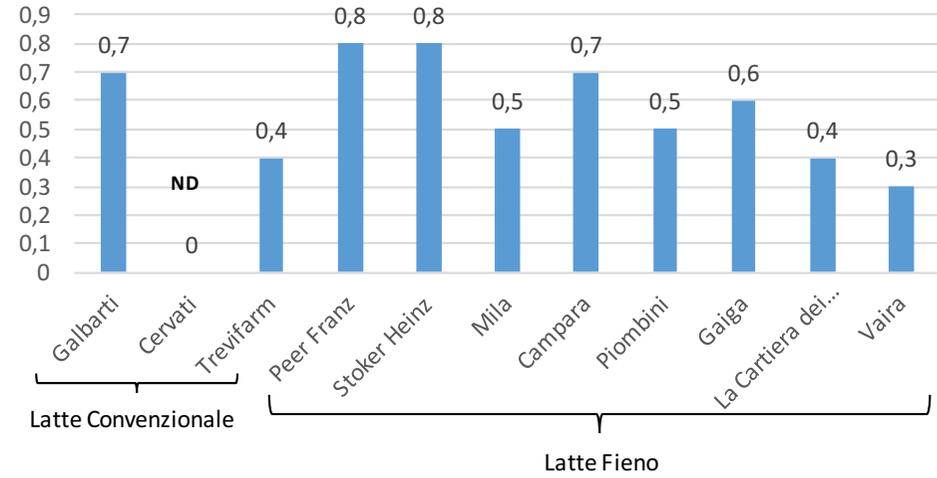
Nostri dati (intervallo):

300 - 800 ng/L

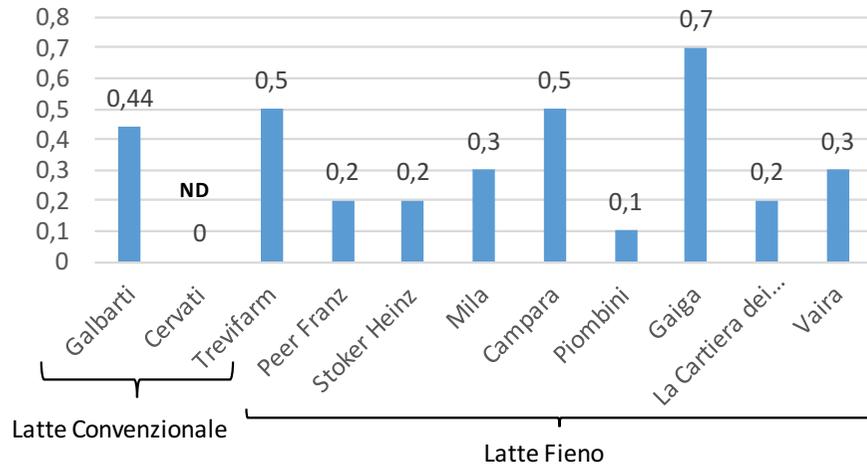
a-Estradiolo ng/ml



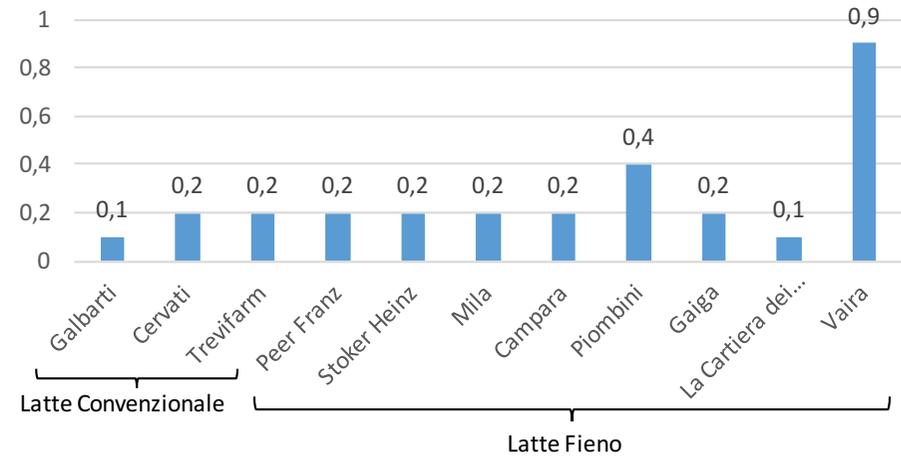
Estrone ng/ml



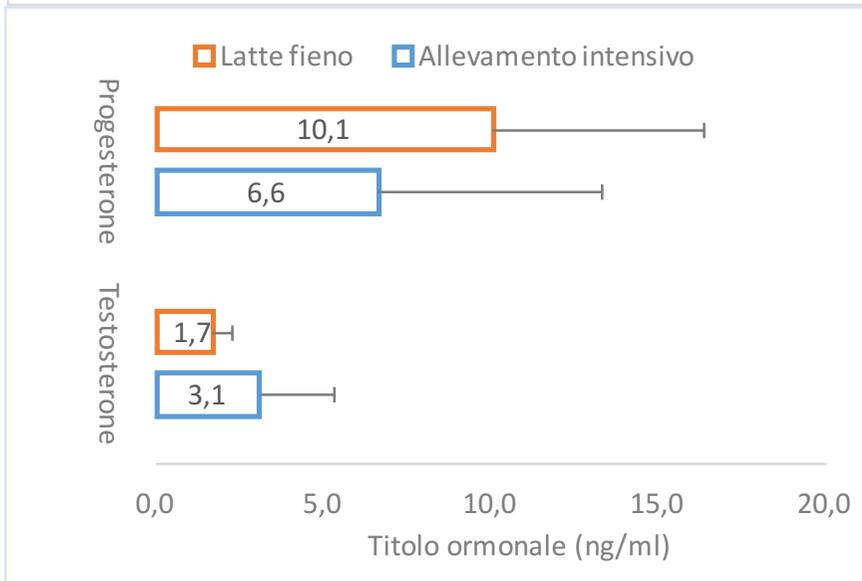
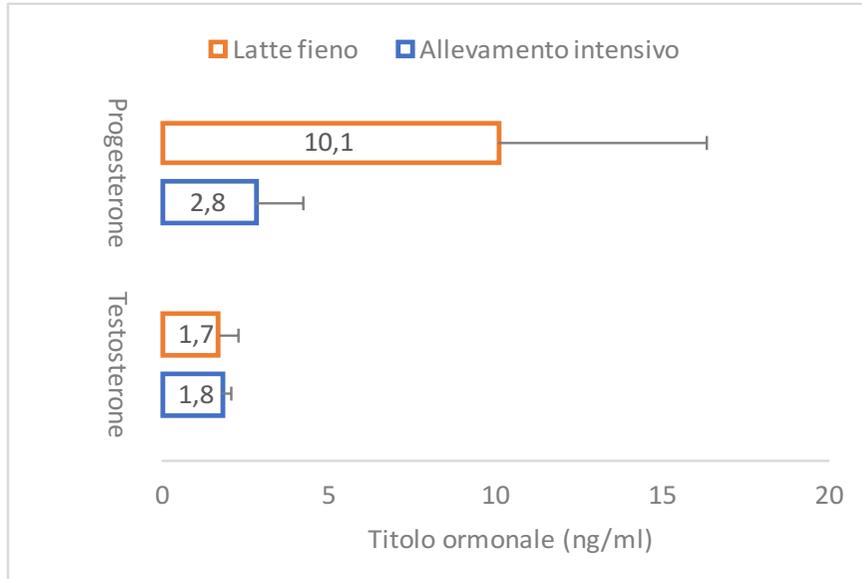
b-Estradiolo ng/ml



Estriolo ng/ml



(esclusa stalla Cervati)



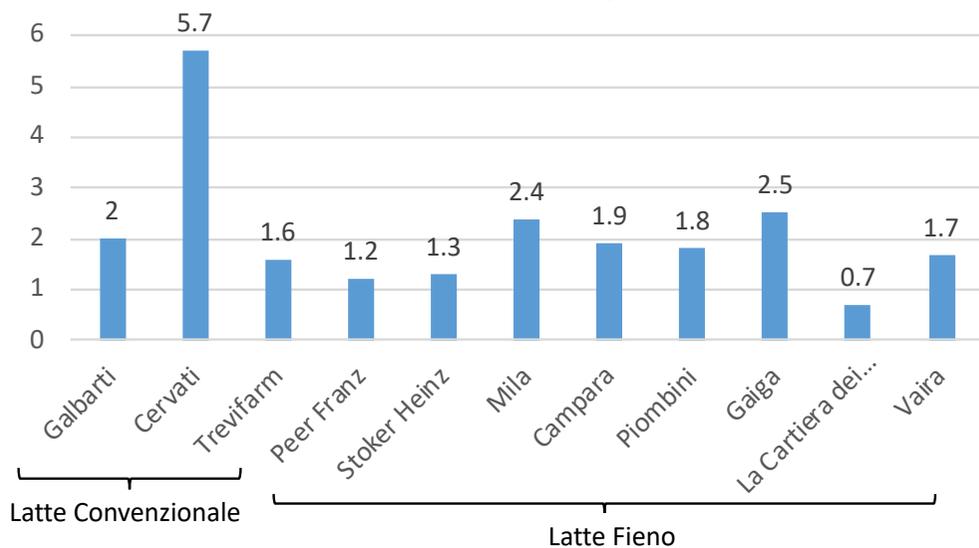
Progesterone: 82 - 15.500 ng/L
(Yang et al. 2009; Farke et al. 2011; Regal et al. 2012; Wielogorska et al. 2015)

Nostri dati: 1.800 – 19.600 ng/L

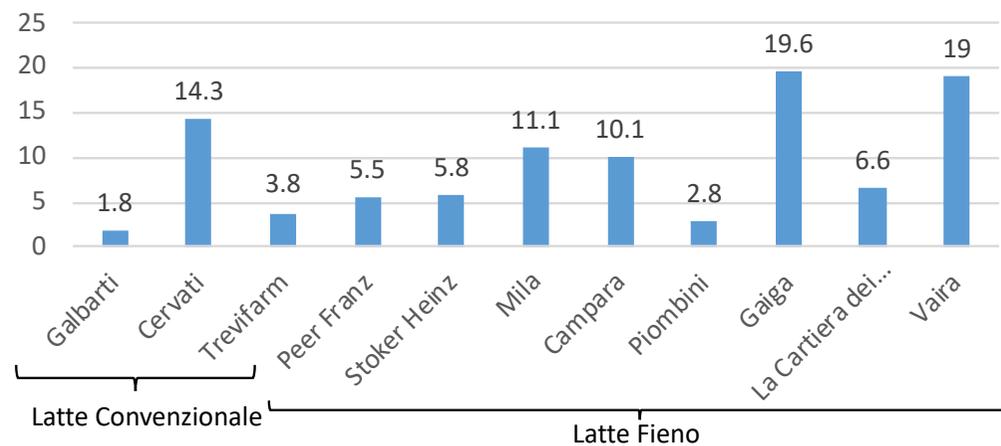
Testosterone : 3 - 520 ng/L (50-70% coniugato)
(Courant et al. 2007a; Courant et al. 2008; Yang et al. 2009; Regal et al. 2012)

Nostri dati: 700 – 5.700 ng/L

Testosterone ng/ml



Progesterone ng/ml



Livelli di ormoni steroidei nel latte riportati in letteratura

Table IIb. Free androgens concentrations measured in milk (17β -testosterone concentrations are not described because only total 17β -testosterone was quantified in milk samples).

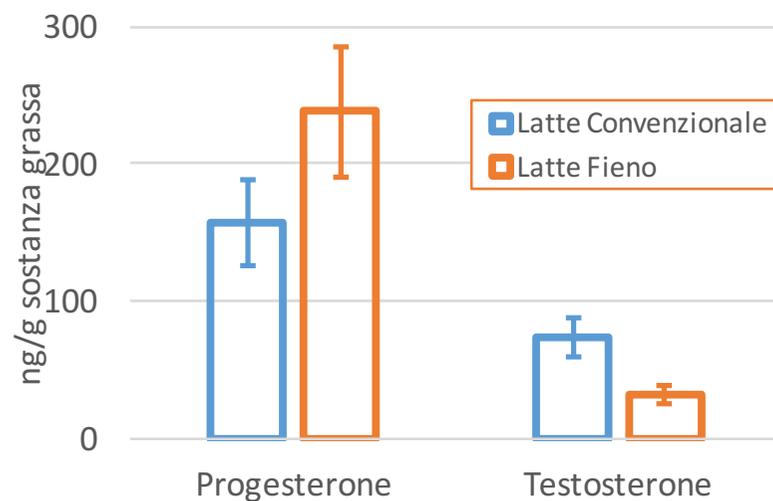
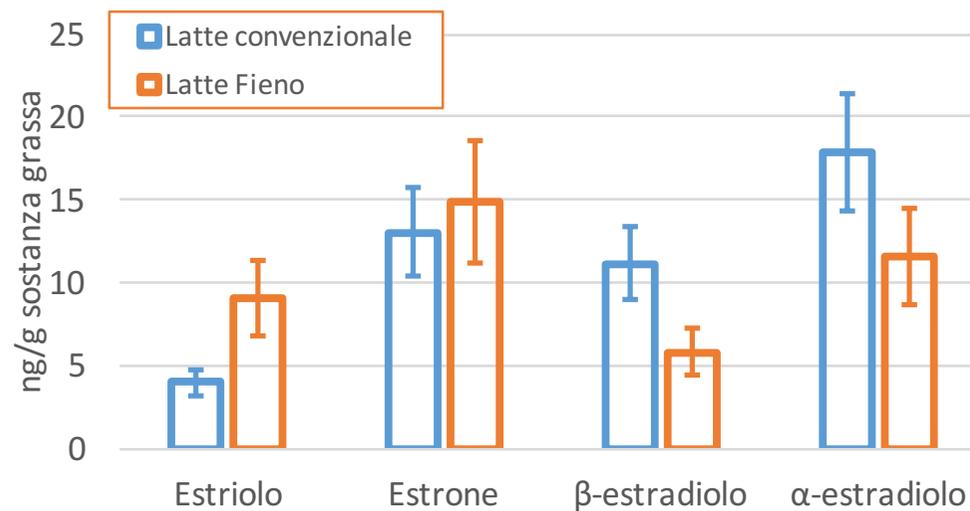
Type of milk	n	Dehydroepiandrosterone (ngl ⁻¹)			α -Testosterone (ngl ⁻¹)			4-Androstenedione (ngl ⁻¹)		
		Mean \pm SD	Minimum	Maximum	Mean \pm SD	Minimum	Maximum	Mean \pm SD	Minimum	Maximum
Whole	4	65.4 \pm 22.4	38.28	91.71	78.1 \pm 21.8	46.51	94.86	934.3 \pm 270.9	593.92	1218.9
Half-skimmed	5	52.7 \pm 18.0	36.48	67.19	51.3 \pm 17.0	40.88	77.67	533.8 \pm 101.4	453.89	676.15
Skimmed	3	34.0 \pm 12.4	20.85	52.54	31.8 \pm 3.6	27.46	36.01	296.3 \pm 86.5	191.56	400.62

F. Courant et al., *Food Additives and Contaminants*, 2007

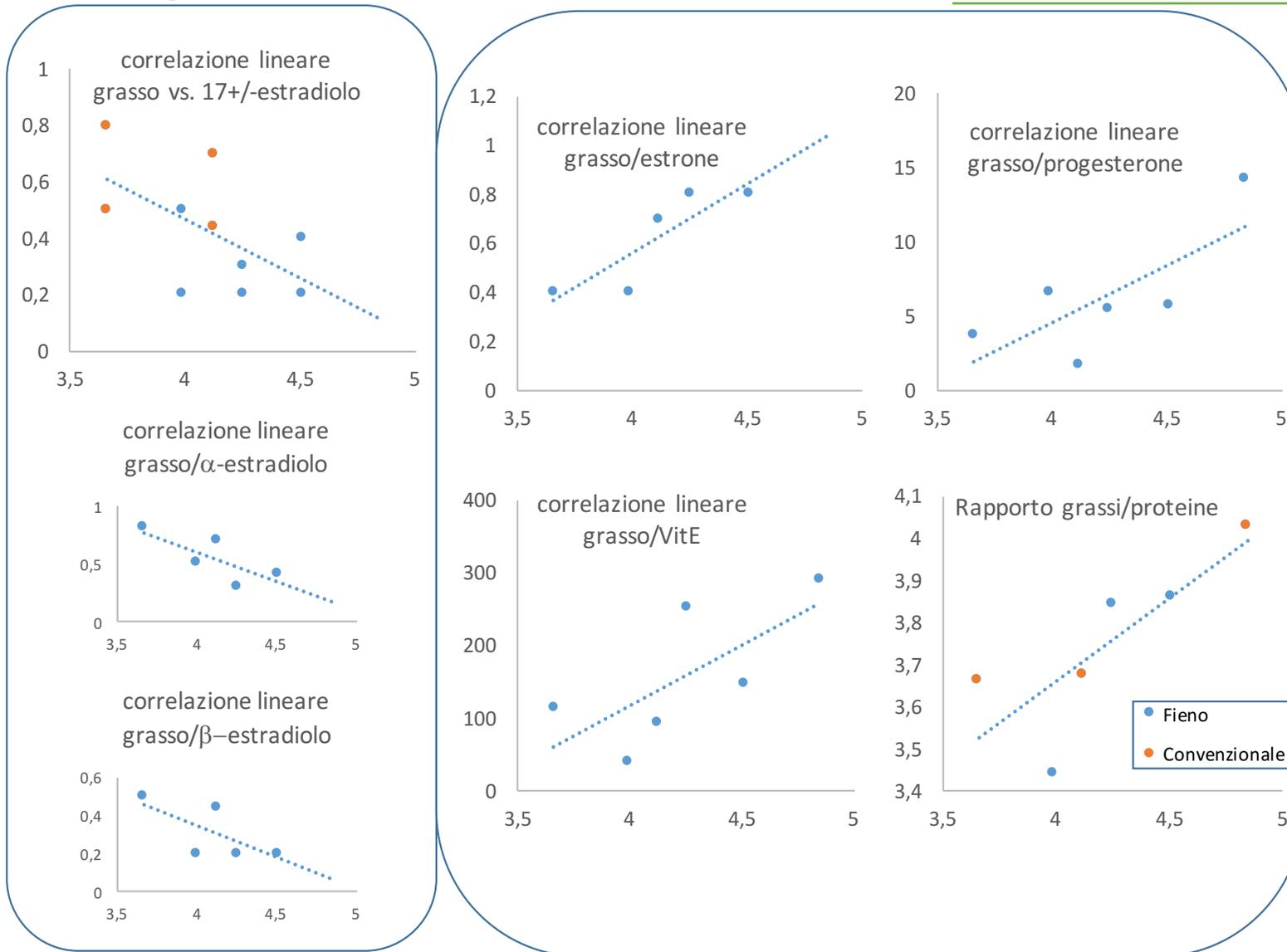
		estrogens					
		free estrone	free β -estradiol	free α -estradiol	estrone	β -estradiol	α -estradiol
whole milk	no. of quantified samples	8	8	8	8	8	7
	mean	14.1	3.0	1.2	187.1	13.5	31.7
	median	13.4	2.8	0.9	184.2	10.1	31.0
	min	5.1	1.3	0.0	115.7	8.0	25.1
	max	22.4	7.0	3.3	260.4	25.1	43.1
	SD	5.6	1.8	1.1	45.4	7.5	6.4
	% conjugates				93	81	96
half skim milk	no. of quantified samples	16	16	16	17	17	17
	mean	7.2	2.6	1.4	141.1	13.0	30.1
	median	6.8	1.7	1.2	141.5	8.3	31.8
	min	2.5	0.8	0.0	77.5	5.5	19.6
	max	12.3	10.7	3.7	243.1	44.3	39.9
	SD	3.3	2.7	1.0	50.6	11.4	6.9
	% conjugates				94	79	95
skim milk	no. of quantified samples	12	12	12	12	12	12
	mean	6.0	1.5	1.2	207.2	16.6	40.3
	median	6.1	1.6	0.9	208.6	10.7	37.2
	min	1.2	0.5	0.1	58.5	5.7	23.3
	max	12.3	2.6	3.4	397.2	64.6	63.6
	SD	3.1	0.6	1.0	122.7	17.7	12.7
	% conjugates				96	87	97

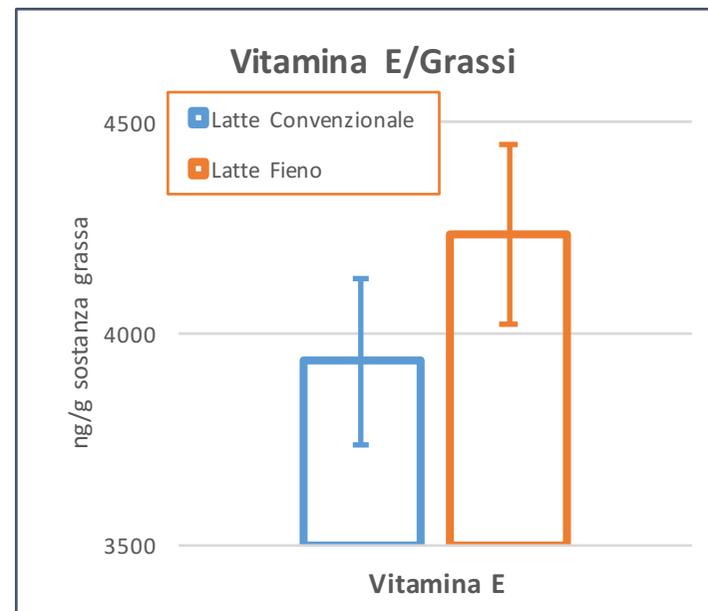
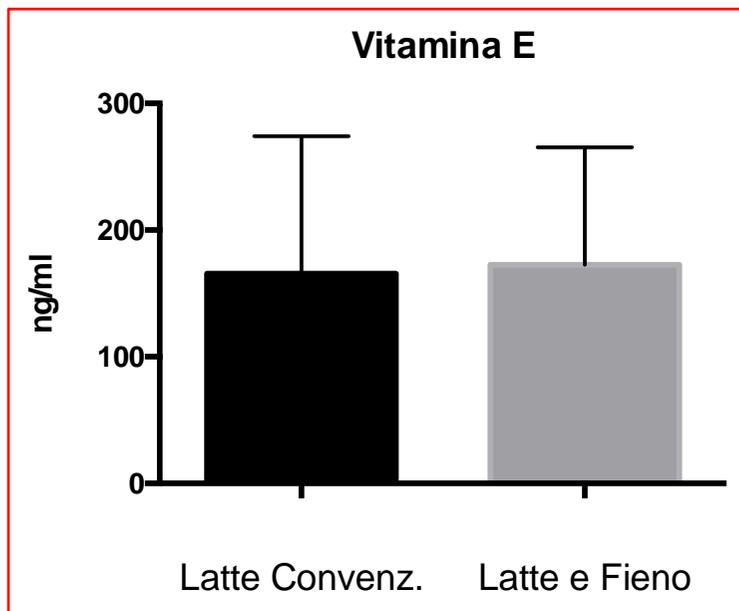
F. Courant et al *J. Agric. Food Chem.* 2008

Correzione dei livelli ormonali per il contenuto in grassi

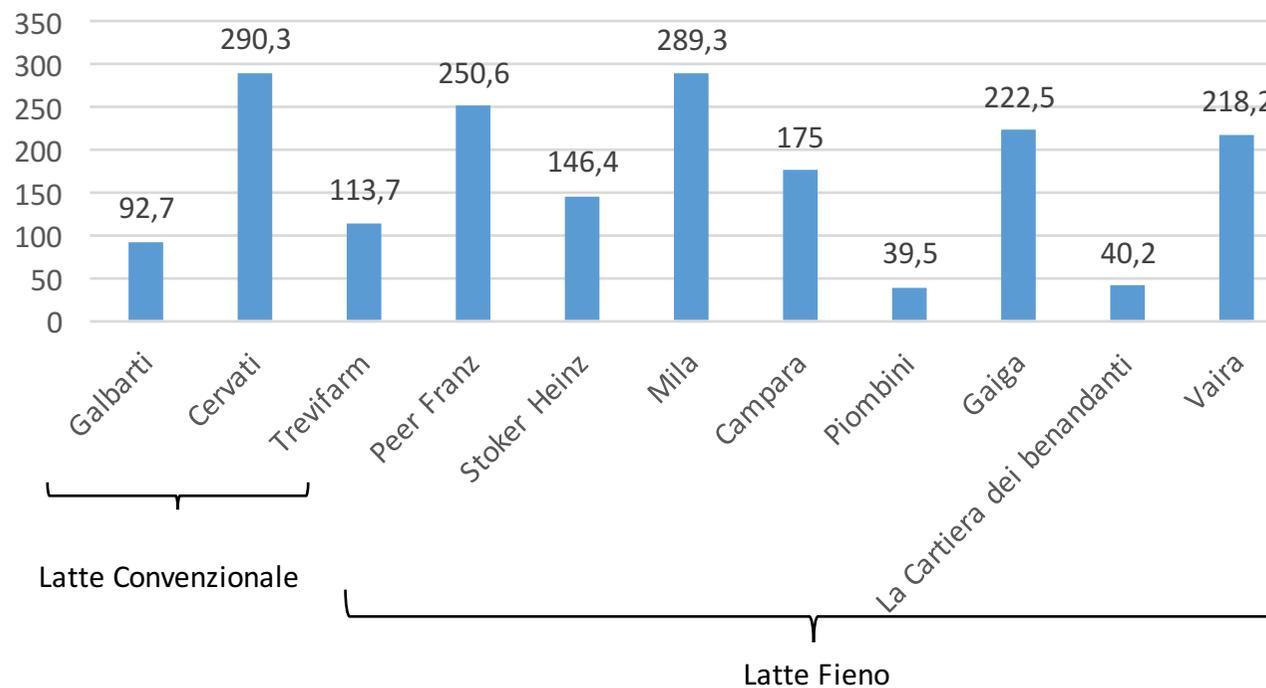


Correzione dei livelli ormonali per il contenuto in grassi

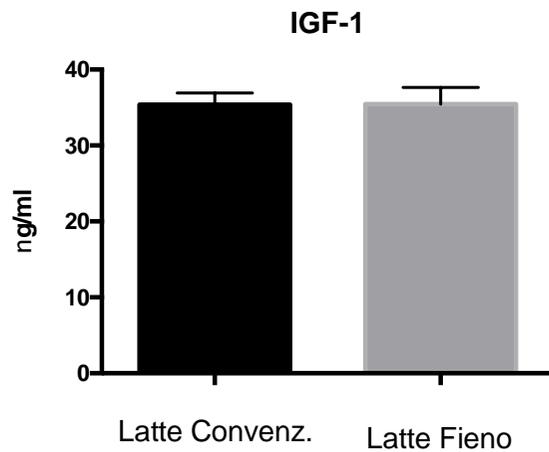
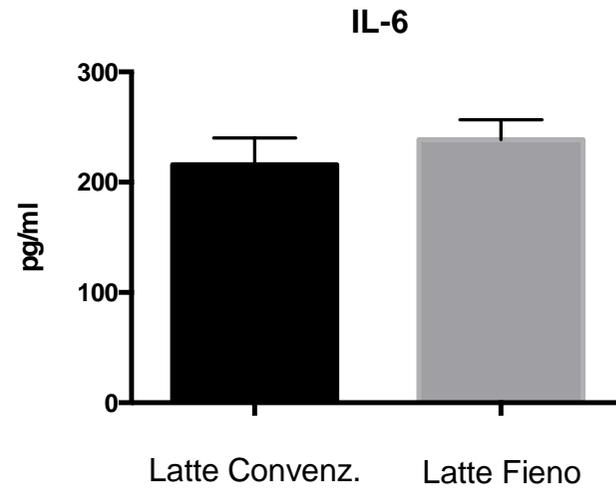
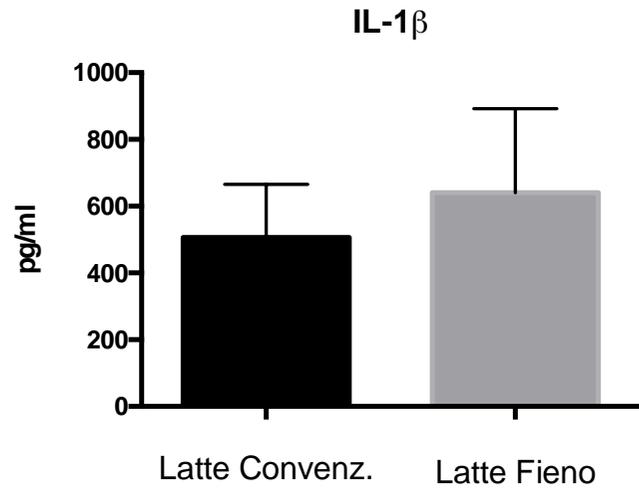




Vitamina E ng/ml



Citochine e IGF-1



Valori riportati in letteratura per l'ormone IGF-1

Species	IGF-I (ng/ml)	IGF-II (ng/ml)	Sampling	Method	Reference
Cattle	1000-3000		Colostrum		[39]
	10-50		Milk		
	190-233	207-216	Colostrum	RIA	[30]
	4-10	2-6	w2 and w7		
	248-1850		Colostrum	ELISA	[27]
	27-101		5h milking		
	312	187	Colostrum	RIA	[35]
	~300		Colostrum	TR-IMFA	[36]
	7		d6		
< 5	32	Milk	RIA	[35]	
< 5	40	MR	RIA	[35]	

Meyera Z ET AL Growth Hormone & IGF Research 35 (2017) 1-7

CONCLUSIONI

- I campioni di latte fieno mostrano livelli di **a-estradiolo**, **b-estradiolo** e **testosterone** più bassi (fattori di rischio).
- livelli di **estrone**, **estriolo** e in particolare di **progesterone** erano tendenzialmente più alti.
- I livelli di **citochine infiammatorie** e **IGF-1** erano simili nei due tipi di latte.
- Le prove biologiche in vitro non mostravano differenze significative.
- Tendenza a mostrare livelli più elevati di **vitamina E** (qualità nutrizionale del prodotto).
- Studio preliminare – ampliare la casistica.