



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

## 16.2.01 - SUPPORTO PER PROGETTI PILOTA E PER LO SVILUPPO DI NUOVI PRODOTTI, PRATICHE, PROCESSI E TECNOLOGIE NEL SETTORE AGRICOLO E AGROINDUSTRIALE

**DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE N. 2286/2021**

### FOCUS AREA 3A

**DOMANDA DI SOSTEGNO N. 5400150**

**DOMANDA DI PAGAMENTO N. 5719819**

Titolo Piano	Innovazione varietale a supporto della filiera produttiva dello zucchini tradizionale di bologna, mantenendo la tipicità e sostenibilità anche nell'era del cambiamento climatico  Acronimo: ZUCCHIN-BO
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	CONSORZIO SATIVA Società Cooperativa Agricola Sede: Via Calcinaro 2425, 47521 Cesena (FC)  P.IVA 01244650402

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18 MESI
Data inizio attività	01/04/2022
Data termine attività (includere eventuali proroghe già concesse)	31/01/2024

Relazione relativa al periodo di attività dal	01/04/2022	al 31/01/2024
Data rilascio relazione	20/03/2024	

Autore della relazione	Silvia Paolini		
telefono		email	<a href="mailto:silvia.paolini@astrainnovazione.it">silvia.paolini@astrainnovazione.it</a>

## RESPONSABILE DEL PROGETTO

PEC [elisabetta.baldassarri@pec.astrainnovazione.it](mailto:elisabetta.baldassarri@pec.astrainnovazione.it)

Ente di appartenenza: ASTRA Innovazione e Sviluppo

## RESPONSABILE SCIENTIFICO DEL PROGETTO

PEC: [sativa@arubapec.it](mailto:sativa@arubapec.it)

Ente di appartenenza: CONSORZIO SATIVA

## Sommario

1 - DESCRIZIONE DEL PROGETTO.....	4
1.1 - STATO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PROGETTO .....	5
2 - DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE.....	6
AZIONE 1 - ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE .....	6
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI .....	6
2.2 PERSONALE.....	9
2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI.....	9
AZIONE 2.1 - MIGLIORAMENTO GENETICO E COSTITUZIONE DI NUOVE VARIETÀ DI ZUCCHINO BOLOGNESE.....	10
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI .....	10
2.2 PERSONALE.....	73
2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI.....	73
AZIONE 2.2 - IDONEITA' ALLA LAVORAZIONE E CONSERVAZIONE E NUOVI PACKAGING.....	73
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI .....	73
2.2 PERSONALE.....	87
2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI.....	87
AZIONE 2.3 - CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA DEL PRODOTTO E ANALISI DI MERCATO.....	87
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI .....	87
2.2 PERSONALE.....	98
2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI.....	98
AZIONE 3 - DIVULGAZIONE.....	99
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI .....	99
2.2 PERSONALE.....	103
2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI.....	103
2.4 Spese per attività di divulgazione e disseminazione .....	104
3 - CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ.....	104
4 - ALTRE INFORMAZIONI.....	104
5 - CONSIDERAZIONI FINALI.....	104
6 - RELAZIONE TECNICA.....	105
RICADUTE SULLA FILIERA.....	109
INDICATORI DI RISULTATO.....	111

## **1 - DESCRIZIONE DEL PROGETTO**

### **Descrizione dello stato di avanzamento del Piano**

Il Beneficiario Consorzio Sativa ha dato avvio alle attività previste nel piano a partire dal 01 Aprile 2022. In generale tutte le attività sono state attivate e realizzate seguendo i protocolli presentati nel piano, e conseguentemente anche le spese previste sono state sostenute.

Gli obiettivi previsti sono stati raggiunti.

L'azione 1 - Esercizio della Cooperazione ha preso avvio sin da inizio progetto per la parte di Consorzio Sativa con la collaborazione del Consulente Ri.nova subito dopo la Determina di concessione in data 10 ottobre 2022 attraverso l'attivazione immediata da parte di Ri.Nova del progetto e l'affidamento degli incarichi ai consulenti come previsto da progetto.

L'azione 2.1 - Miglioramento genetico e costituzione di nuove varietà di zucchini bolognese è stata attivata immediatamente dopo la presentazione del progetto da Consorzio Sativa per la propria attività. Successivamente all'Istruttoria di concessione e all'attivazione del Piano si è proceduto all'avvio di tutte le attività dei consulenti AGROINNOVA e CREA-GB e Az. Agricola Marzaduri che hanno terminato le proprie attività in maniera soddisfacente nelle tempistiche del progetto;

L'azione 2.2 - Idoneità alla lavorazione e conservazione e nuovi packaging è stata attivata successivamente all'approvazione del Piano ed è stata portata avanti dai consulenti ASTRA Innovazione e Sviluppo e Consorzio Agribologna. Le attività si sono svolte prevalentemente nel 2023, successivamente all'individuazione delle prime varietà/ibridi selezionati;

L'azione 2.3 - Caratterizzazione qualitativa del prodotto e analisi di mercato è stata attivata successivamente all'approvazione del Piano ed è stata portata avanti dai consulenti ASTRA Innovazione e Sviluppo e Consorzio Agribologna. Le attività si sono svolte prevalentemente nel 2023, successivamente all'individuazione delle prime varietà/ibridi selezionati;

L'azione 3 - Divulgazione sulla divulgazione è stata attivata sin dalle prime fasi progetto ed ha visto sviluppare diverse iniziative che hanno incluso sia visite in campo che incontri tecnici, focus group e altri strumenti di informazione. Ri.Nova ha messo a disposizione del Gruppo Operativo il proprio Portale Internet, affinché le attività ed i risultati conseguiti nel presente Piano fossero facilmente fruibili dall'utenza. Il personale di Ri.Nova si è inoltre fatto carico di predisporre in lingua italiana e inglese, le modulistiche richieste per la presentazione del Piano al fine del collegamento alla Rete PEI-Agri.

Il Gruppo Beneficiario ha dato avvio alle attività complessivamente previste nel piano a partire dal 01 aprile 2022 al fine di poter procedere con le diverse attività e prove sin dalla campagna agraria 2022. Le attività dei consulenti hanno avuto avvio a partire dall'attivazione del piano 19 ottobre

2022 e sono state completate entro dicembre 2023 a cui è seguita una fase conclusiva legata alla realizzazione della relazione tecnica e rendicontazione completata il 30 novembre 2023.

### 1.1 - STATO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PROGETTO

Azione	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
1	Esercizio della cooperazione	1	1	21	21
2.1.1	Sviluppo di nuove linee di zucchini bolognese resistenti ai principali virus e patogeni target e adattabili alle condizioni micro-climatiche.	1	1	21	21
2.1.2	Valutazione tecnico-agronomica delle varietà-ibridi resistenti.	1	1	21	21
2.1.3	Caratterizzazione molecolare delle varietà sviluppate.	3	7	19	21
2.1.4	Analisi dati e individuazione delle proposte varietali.	3	3	21	21
2.2.1	Caratterizzazione varietale in relazione alla idoneità alla lavorazione e conservazione.	13	13	19	21
2.2.2	Analisi e individuazione di materiali e/o tipologie di confezionamento adatte alla commercializzazione con connotazione di produzioni tipiche del territorio bolognese.	7	13	19	21
2.3.1	Caratterizzazione qualitativa e sensoriale delle nuove varietà e accettazione del loro gusto da parte dei consumatori.	13	13	19	21
2.3.2	Analisi e individuazione di canali di vendita specifici per una produzione tipica di zucchini dell'areale bolognese.	13	13	19	21
3	Divulgazione	3	3	21	21

## 2 - DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE

### AZIONE 1 - ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE

#### 2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

##### DESCRIZIONE ATTIVITÀ

**Unità Operative:** Ri.Nova, Consorzio Sativa

RI.NOVA, su incarico di Sativa ed in collaborazione con la stessa, ha assunto il ruolo di coordinatore e gestore delle azioni del Piano proposto, pianificando e mettendo in atto tutte le iniziative necessarie a realizzare l'attività progettuale e conseguire i risultati previsti dal Piano stesso. RI.NOVA ha quindi avuto il compito di pianificare le attività previste nel Piano mettendo in atto tutte le iniziative necessarie alla realizzazione e al conseguimento dei risultati previsti. Per fare questo si è avvalso di proprio personale tecnico, amministrativo e di segreteria qualificato e dotato di esperienza pluriennale nel coordinamento tecnico-organizzativo di progetti di ricerca, sperimentazione e divulgazione a vari livelli, nonché nella gestione di comitati tecnici e gruppi di lavoro riguardanti i principali comparti produttivi. In particolare Stefania Delvecchio ha svolto il ruolo di Referente per RI.NOVA. Il Referente RI.NOVA si è rapportato con il Responsabile del Piano (ASTRA) e il Responsabile Scientifico (SATIVA), che hanno collaborato attivamente all'azione di coordinamento.

##### Attivazione del Gruppo Operativo

L'attivazione del piano è avvenuta con riunione convocata dal Responsabile del Piano (RP) in data 19/10/2022. La fase di attivazione del Piano ha riguardato sia gli aspetti formali e amministrativi, sia il consolidamento degli obiettivi con l'intero gruppo di referenti dei consulenti coinvolti a vario titolo nel Piano e la tempistica di svolgimento delle diverse azioni previste. In merito agli aspetti formali, con particolare riferimento alle attività del Piano e ai relativi costi ammessi, RI.NOVA, a RS e RP, ha verificato la congruenza dei budget approvati rispetto alle attività da svolgere. Con questo passaggio si è autorizzata l'attivazione del Piano. Una volta soddisfatti gli aspetti formali è stato pianificato con i referenti delle unità operative lo sviluppo delle singole attività, andando a indagare possibili criticità eventualmente emerse dalla presentazione del piano alla sua attivazione. Questa organizzazione è stata ritenuta funzionale a poter approfondire la discussione sui singoli aspetti da sviluppare data la cogenza dell'attivazione delle attività operative nelle fasi di campo. In questa sede, il Responsabile del Progetto ( – ASTRA) e il Responsabile Scientifico ( – Consorzio SATIVA) hanno riproposto i contenuti e gli obiettivi del Piano, al fine di avere la più ampia condivisione possibile delle informazioni e impostare le modalità di realizzazione delle azioni d'innovazione. Al suddetto incontri ne sono seguiti altri 4 lungo il corso del progetto (19/04/2023, 06/09/2023, 10/11/2023, 09/01/2024) oltre a numerosi ulteriori confronti via mail, telefono e/o in campo fra i consulenti, il RP e RS. In particolare durante tutto lo sviluppo del Piano RS ha mantenuto un contatto costante e diretto con i referenti delle unità operative legate alle azioni di miglioramento genetico ed indagine molecolare

(AGROINNOVA, CREA GB), mentre RP ha mantenuto rapporti costanti con le unità operative legate alle analisi qualitative ed indagine di mercato (AGRIBOLOGNA, ASTRA).

### **Costituzione del Comitato di Piano**

In occasione delle riunioni di attivazione si è anche proceduto alla costituzione del Comitato di Piano (CP) per la gestione e il funzionamento del Piano, che è così composto:

- RP, (ASTRA)
- RS, (SATIVA)
- Rappresentante di RI.NOVA:
- Rappresentante di AGROINNOVA:
- Rappresentante di CREA-GB:
- Rappresentante di ASTRA Laboratorio:
- Rappresentante di AGRIBOLOGNA:

### **Gestione del Piano**

Dalla data di attivazione il rappresentante di RI.NOVA in collaborazione con il Responsabile di Progetto, ha svolto una serie di attività funzionali a garantire la corretta applicazione di quanto contenuto nel Piano stesso, e in particolare:

- Il monitoraggio dello stato d'avanzamento dei lavori;
- La valutazione dei risultati in corso d'opera;
- L'analisi degli scostamenti, comparando i risultati intermedi raggiunti con quelli attesi;
- La definizione delle azioni correttive.

Il Rappresentante di RI.NOVA, in stretta collaborazione con il Responsabile di Progetto (RP) ed il Responsabile Scientifico (RS), si è occupato di pianificare una strategia di controllo circa il buon andamento delle attività del Piano, attraverso un sistema basato sull'individuazione delle fasi decisive, cioè momenti di verifica finalizzate al controllo del corretto stato di avanzamento lavori. Allo stesso modo, il RP e il RS si sono occupati di valutare i risultati/prodotti intermedi ottenuti in ciascuna fase. Tutto ciò agendo in coerenza con quanto indicato dalle procedure gestionali di RI.NOVA (v. Autocontrollo e Qualità).

### **Verifica dei materiali, strumenti e attrezzature impiegate in campo e in laboratorio**

A campione, il RP ha verificato la congruenza tra le caratteristiche dei materiali e prodotti impiegati dai partner, rispetto a quanto riportato nel Piano. A tal fine il RP ha eseguito alcune verifiche ispettive presso i partner, in coerenza con quanto indicato dalle procedure gestionali del Sistema Gestione Qualità di RI.NOVA.

### **Preparazione dei documenti per le domande di pagamento**

In occasione di questa domanda di pagamento, il RP e il RS hanno effettuato l'analisi dei risultati ottenuti, nonché l'analisi della loro conformità a quanto previsto dal Piano. In particolare, è stata verificata la completezza della documentazione relativa alle spese affrontate dai singoli soggetti operativi e raccolta la documentazione per la redazione del rendiconto tecnico ed economico.

### **Altre attività connesse alla gestione del Piano**

Oltre alle attività descritte in precedenza, RI.NOVA ha svolto una serie di attività di supporto al Piano, come le attività di interrelazione con la Regione Emilia-Romagna, l'assistenza tecnico-amministrativa al Beneficiario, le richieste di chiarimento.

RI.NOVA si è inoltre occupato dell'aggiornamento della Rete PEI-AGRI in riferimento al Piano, come richiesto dalla Regione, al fine di stimolare l'innovazione, tramite l'apposita modulistica presente sul sito.

### **Autocontrollo e Qualità**

Attraverso le Procedure Gestionali e le Istruzioni operative approntate nell'ambito del proprio Sistema Gestione Qualità, RI.NOVA ha lavorato al fine di garantire efficienza ed efficacia all'azione di esercizio della cooperazione, come segue:

- Requisiti, specificati nei protocolli tecnici, rispettati nei tempi e nelle modalità definite;
- Rispettati gli standard di riferimento individuati per il Piano;
- Garantita la soddisfazione del cliente tramite confronti diretti e comunicazioni scritte;
- Rispettate modalità e tempi di verifica in corso d'opera definiti per il Piano;
- Individuati i fornitori ritenuti più consoni per il perseguimento degli obiettivi.

La definizione delle procedure, attraverso le quali il RP e il rappresentante di RI.NOVA hanno effettuato il coordinamento e applicato le politiche di controllo di qualità, sono la logica conseguenza della struttura organizzativa di RI.NOVA. In particolare, sono state espletate le attività di seguito riassunte.

### **Attività di coordinamento**

Le procedure attraverso le quali si è concretizzato il coordinamento del Piano si sono sviluppate attraverso riunioni e colloqui periodici con il Responsabile Scientifico e con quelli delle Unità Operative coinvolte.

### **Attività di controllo**

La verifica periodica dell'attuazione progettuale si è realizzata secondo cadenze temporali come erano state individuate nella scheda progetto. Più in particolare è stata esercitata sia sul funzionamento operativo che sulla qualità dei risultati raggiunti; in particolare è stata condotta nell'ambito dei momenti sotto descritti:

- Verifiche dell'applicazione dei protocolli operativi in relazione a quanto riportato nella scheda progetto;
- Visite ai campi sperimentali e ai laboratori coinvolti nella conduzione delle specifiche attività.

Riscontro di non conformità e/o gestione di modifiche e varianti

Non si sono verificate situazioni difformi a quanto previsto dalla scheda progetto.

Tutte le attività svolte come previsto nella procedura specifica di processo sono registrate e archiviate nel fascicolo di progetto e certificate attraverso visite ispettive svolte dal Responsabile Gestione Qualità di RI.NOVA.

Il Sistema Qualità RI.NOVA, ovvero l'insieme di procedure, di misurazione e registrazione, di analisi e miglioramento e di gestione delle risorse, è monitorato mediante visite ispettive interne e verificato ogni 12 mesi da Ente Certificatore accreditato (DNV-GL).

### **GRADO DI RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI, SCOSTAMENTI RISPETTO AL PIANO DI LAVORO, CRITICITÀ**

Sull'azione 1 sono state sviluppate tutte le attività previste nel piano. Gli obiettivi sono stati raggiunti e non sono state rilevate criticità nella fase di cooperazione del Piano.

#### **2.2 PERSONALE**

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	Impiegato	Responsabile scientifico	44,43	40	1.776,50
	Impiegato	Supporto coordinamento	25,16	30	754,80
<b>Totale:</b>					<b>2.531,30</b>

#### **2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI**

##### **CONSULENZE – SOCIETÀ**

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Imp orto previ	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
RI.NOVA (RI.NOVA e ASTRA)		30.100,00	Coordinamento	30.100,00
<b>Totale:</b>				<b>30.100,00</b>

## AZIONE 2.1 - MIGLIORAMENTO GENETICO E COSTITUZIONE DI NUOVE VARIETÀ DI ZUCCHINO BOLOGNESE.

### 2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

#### DESCRIZIONE ATTIVITÀ

**Attività 2.1.1 - Sviluppo di nuove linee di zucchini bolognese resistenti ai principali virus e patogeni target e adattabili alle condizioni micro-climatiche.**

**Unità Operative:** CONSORZIO SATIVA, AGROINNOVA

**Obiettivi:** L'attività ha lo scopo di inserire nelle linee di bolognese le resistenze ai principali patogeni dello zucchini in modo tale da costituire linee che verranno utilizzate durante i piani di incrocio sperimentale e piramidare negli ibridi tutte le resistenze che ne consentano la coltivazione nei diversi cicli produttivi. Questa azione comprenderà sia attività di laboratorio che di campo e sarà il fulcro centrale per lo sviluppo delle future varietà.

#### PROVE DI LABORATORIO:

##### a) TEST DI RESISTENZA A VIROSI ZYMV-CMV-WMV:

###### Materiali e Metodi:

È stato applicato il protocollo di infezione messo a punto da Consorzio Sativa sulla base delle indicazioni presenti nel protocollo CPVO della specie *Cucumis sativus* L.

I ceppi virali utilizzati sono: DSMZ – 0416 per ZYMV, DSMZ – PV0474 per CMV, DSMZ – PV0394 per WMV.

Il protocollo utilizzato è già consolidato da anni e prevede le seguenti fasi operative:

1. Semina dei campioni in polistirolo con inseriti i testimoni resistenti e suscettibili;
2. L'infezione delle piante allo stadio di cotiledone con l'inoculo composto da buffer specifico, tessuto fogliare infetto e carborundum (foto 1-2);
3. lettura dei sintomi dopo 7-14-21 dpi;
4. classificazione delle piante in base ai sintomi manifestati in R1-R2-S3-S4;



Fotografia 1



Fotografia 2

**Classificazione delle piante secondo 4 classi di resistenza:**

- R1= resistenza assoluta, dopo l'inoculazione le foglie si presentano pulite, con un accrescimento regolare;
- R2= pianta resistente, che manifesta un accrescimento regolare, ma con qualche rottura di colore-puntino clorotico;
- S3= pianta suscettibile con decolorazioni, arricciamenti e deformazioni delle foglie;
- S4= pianta suscettibile, che arriccia le foglie, decolora e muore.

Score	Foto	Note
R		R1 - Piante completamente sane
R2		R2- Piante abbastanza sane con puntinature gialle poco abbondanti (<20%)

		
S3		S3- Piante arricciate e con puntinature gialle molto abbondanti sulla foglia (>30%)
S4		S4-Foglie con mosaico ben evidente

La prima semina per le infezioni in fitotrone è stata effettuata il 4 aprile 2022. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori.

La semina è stata replicata tre volte, una per ogni virus da testare, dove il seme delle linee era in quantitativi scarsi, soprattutto se i risultati erano già fissati e consolidati non sono state replicate le infezioni.

### **Risultati:**

#### TEST INFEZIONE ZYMV-WMV-CMV

#### PRIMA INFEZIONE PARENTALI GIAMBO IN BC 2022

In data 4/4/2022 sono state seminate 47 linee derivanti da incrocio e back cross con i due parentali ricorrenti di Giambo per introgredire nelle due linee la resistenza ai tre virus principali dello zucchini. Le piante sono state seminate in alveoli del 77 fori in tre repliche per accessione, ove era disponibile in seme, ed allevate in fitotrone fino allo stadio di cotiledone/prima foglia vera abbozzata. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori.

Dopo 7 giorni, l'11/5/2022 sono state inoculate con i tre virus.

#### SECONDA INFEZIONE PARENTALI GIAMBO IN BC 2022

In data 29/7/2022 per wmv e 5/8/2022 per zymv sono state seminate le 31 accessioni derivanti da Back cross di Giambo in doppio e scaglionate per ottimizzare gli spazi in fitotrone.

Non si è provveduto alla semina per il Cmv perché le linee erano stabili per questo gene.

Le linee sono state seminate in alveoli del 77 fori ed allevate in fitotrone fino allo stadio di cotiledone/prima foglia vera abbozzata. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori. Dopo 6-7 giorni, il 4/8/2022 e l'11/8/2022 sono state inoculate con i due virus.

Nel corso del 2023 si sono ripetuti presso il laboratorio di SATIVA 2 cicli di infezione per i virus ZYMV-CMV-WMV per stabilizzare ulteriormente le linee di Giambo derivanti da BC.

#### PRIMA INFEZIONE PARENTALI GIAMBO IN BC 2023

Nel 2023 sono state seminate 29 linee BC dei due parentali di Giambo per il primo ciclo Alac e sono state inoculate con i tre virus secondo questo piano di infezione: semina il 2/3/2023 ed infezione il 9/3/2023 con ZYMV, semina il 10/3/2023 con infezione il 16/3/2023 con wmv e semina il 16/3/2023 con infezione il 23/3/2023 con il CMV.

Le accessioni sono state seminate in alveoli del 77 fori in tre repliche per accessione, ove era disponibile il seme, ed allevate in fitotrone fino allo stadio di cotiledone/prima foglia vera abbozzata. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori.

Il piano di infezione è stato scaglionato in funzione dello spazio disponibile in cella.

#### SECONDA INFEZIONE PARENTALI GIAMBO IN BC 2023

Il 3/8/2023 è avvenuta la semina delle 21 accessioni dei parentali del giambo per la seconda infezione, il 9/8/2023 sono state inoculate con WMV e ZYMV.

La semina è avvenuta in alveoli del 77 fori in tre repliche per accessione, ove era disponibile il seme, ed allevate in fitotrone fino allo stadio di cotiledone/prima foglia vera abbozzata. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori.

#### TERZA INFEZIONE 2023 ZYMV-WMV-CMV su popolazione segregante di tipologia bolognese:

Sono state inoculate anche le 39 linee derivanti da segregazione di una tipologia bolognese per verificarne ulteriormente la resistenza ai tre virus: il 20/4/2023 sono state seminate ed il 27/4/2023 inoculate con CMV, il 23/5/2023 sono state inoculate ed il 29/5/2023 inoculate con ZYMV ed il 2/5/2023 sono state seminate ed inoculate il 10/5/2023 con wmv. Sono state seminate, ove disponibile il seme, 20-30 semi per numero in seminiera del 77 fori.

#### **Discussione dei risultati:**

Per quanto riguarda le resistenze alle virosi più comuni dello zucchini, ZYMV-CMV-WMV, a conclusione dei due anni e dei 4 cicli di inoculazione ed autofecondazione si è raggiunto un ottimo

livello di resistenza. Sui parentali di Giambo, in diversi livelli di back cross e autofecondazione, si è riusciti a stabilizzare le linee ed introgredire nella linea maschile la resistenza a ZYMV, mentre nella linea femminile la resistenza a CMV e WMV. Le piante inoculate in campo hanno manifestato nella maggior parte dei casi, completa assenza di sintomi, solo in alcune linee ancora si presentavano leggere decolorazioni puntiformi sulle foglie. Si è provveduto a stringere molto il numero di linee con una selezione molto restrittiva sia per il fattore resistenza che da un punto di vista fenotipico, eliminando ogni linea che non rispondeva appieno alla tipologia.

### **Conclusioni:**

I risultati sono stati molto positivi, perché le linee si sono confermate resistenti sia ai tre virus che ai principali funghi anche nelle diverse repliche ed areali. Ciò ha consentito di poterle utilizzare in piani di incrocio programmati.

Già a partire dal 2022 sono state valutate le diverse linee derivanti da BC con i parentali di Giambo per capire la loro attitudine combinatoria e cercare di direzionare il lavoro futuro, sia nella ricerca di un ibrido molto simile a Giambo ma che riesca ad allungare il ciclo produttivo durante l'estate grazie alle resistenze a virosi, che nella ricerca di nuovi materiali che combinino le resistenze a virosi a resistenze a oidio e peronospora ; nonché permettano di produrre ibridi che meglio di Giambo si collochino in un ciclo di coltivazione estivo-autunnale, per la coltivazione in pieno campo.

### **Prodotti:**

A conclusione del progetto possiamo dichiarare di aver ottenuto 11 linee stabili derivanti da back cross con la linea femminile di Giambo e 10 linee stabili derivanti da back cross con la linea maschile di Giambo. Queste linee mancano però di resistenza ad oidio e peronospora.

Si è poi cercato di caratterizzare anche una popolazione di bolognese che presenta una pianta più eretta ed assurgente di Giambo e con un frutto meno a botticella e un po' più clavato. Queste 39 linee oltre che per ZYMV-CMV-WMV sono state caratterizzate anche per resistenza ad oidio e peronospora sia in campo con inoculo naturale che in laboratorio presso AGROINNOVA.

Questo ha consentito di spaziare nei risultati rispetto a Giambo. È un'esigenza emersa durante il progetto perché ci si è resi conto che la pianta di Giambo può essere un limite, in particolare per il pieno campo; inoltre tali linee hanno manifestato una certa resistenza ad oidio e peronospora.

- b) **ToLCNDV:** In laboratorio si è cercato di isolare e purificare il virus reperito al sud in Calabria in un campo di zucchini. Prove di inoculazione e rimoltiplicazione sono state fatte su varietà sensibili di zucchini bolognese, ma la risposta all'inoculo non è risultata sufficientemente chiara e riproducibile. Si è pertanto deciso, visto che la popolazione segregante era ancora da costituire, di rimandare l'attività ed organizzare i test presso laboratori esterni per il 2024.
- c) **TEST DI RESISTENZA A *Fusarium solani* F. SP. *cucurbitae*:** l'attività è stata svolta presso i laboratori di AGROINNOVA per verificare e validare fonti di resistenza a questo fungo in collaborazione con SATIVA.

- d) **TEST DI RESISTENZA A *Phytophthora capsici***: i test di resistenza a questo patogeno sono stati sviluppati presso AGROINNOVA in collaborazione con SATIVA.
- e) **TEST DI RESISTENZA A PERONOSPORA (*Pseudoperonospora cubensis*) e OIDIO, mal bianco (*Podosphaera xanthii*)**: tali resistenze/tolleranze verranno rilevate sui materiali in campo e in laboratorio presso AGROINNOVA in collaborazione con SATIVA.

**Materiali e Metodi:**

Il materiale individuato e selezionato da Sativa è stato caratterizzato per la suscettibilità a patogeni critici in campo tra i quali gli agenti della peronospora (*Pseudoperonospora cubensis*) e del mal bianco (*Podosphaera xanthii*) e patogeni tellurici (*Phytophthora capsici* e *Fusarium solani f.sp. cucurbitae*) per la prosecuzione delle attività di miglioramento genetico.

Le prove sono state svolte in condizioni controllate in compartimenti di 64 m<sup>2</sup> di una serra in ferro-vetro alla temperatura compresa tra 20 e 30°C. Le prove sono state svolte in presenza di inoculazione artificiale di isolati selezionati dei patogeni oggetto di studio. Sono stati applicati protocolli messi a punto, a seconda della finalità dell'attività di miglioramento come riportato nei materiali e metodi descritti per ciascuna combinazione ospite-patogeno.

Sono stati condotti rilievi fitopatologici attribuendo la scala di gravità dei sintomi secondo quanto riportato in letteratura scientifica o in protocolli EPPO (EPPO 1/57 e PP 1/65).

Nel corso dei saggi, il materiale selezionato dalla ditta sementiera è stato confrontato con almeno una cultivar di zuccino di nota suscettibilità.

I risultati sono stati elaborati attribuendo una reazione di suscettibilità ai patogeni oggetto di studio rispetto al comportamento di riferimenti suscettibili e resistenti ai patogeni in studio. Al termine dei saggi Sativa ha prelevato il materiale selezionato per la prosecuzione dell'attività di miglioramento genetico. A partire dalle linee selezionate in base al livello di suscettibilità ai patogeni oggetto di studio e in base alle caratteristiche fenotipiche del materiale, sono stati avviati saggi sulle linee segreganti F2 risultate dall'attività di miglioramento genetico.

La selezione del materiale per la prosecuzione delle prove è stata effettuata in stretta collaborazione con Sativa.

Le prove sono state svolte in condizioni controllate in serra alla temperatura favorevole allo sviluppo dei patogeni riportati di seguito (Tabelle 1 e 2).

- *Phytophthora capsici* agente del marciume radicale e del colletto
- *Fusarium solani f. sp. cucurbitae*
- *Pseudoperonospora cubensis* agente di peronospora
- *Podosphaera xanthii* agente di mal bianco

Il numero di genotipi è stato concordato con l'Azienda in base all'esito dell'attività di miglioramento genetico (Tabelle 1 e 2).

*Tabella 1- Riepilogo delle informazioni relative ai saggi di suscettibilità*

Patogeno	Piante/linea*	Numero di genotipi	Inoculazione artificiale	Condizioni ambientali
----------	---------------	--------------------	--------------------------	-----------------------

<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	20-50	72	Nebulizzazione fogliare sospensione di conidi	Serra 20-30°C
<i>Podosphaera xanthii</i>	20-50	152	Nebulizzazione fogliare sospensione di conidi	Serra 20-30°C
<i>Phytophthora capsici</i>	20-50	5	Miscelazione al terreno della biomassa del	Serra 25-30°C
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>cucurbitae</i>	20-50	10	Immersione radicale in sospensione conidica del	Serra 25-30°C

Tabella 2 - Elenco delle prove condotte

Prova	Patogeno target	Data	Numero accessioni	Obiettivo
1	<i>Podosphaera xanthii</i>	6/10/2023	25	Selezione
2	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	6/10/2023	3	Validazione livello susceptibilità varietale linea 'resistente' e 'susceptibile'
3	<i>Phytophthora capsici</i>	6/10/2023	2	Validazione livello susceptibilità varietale linea 'resistente' e 'susceptibile'
4	<i>Podosphaera xanthii</i>	21/02/2023	32	Selezione
5	<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>	21/02/2023	10	Linee e ibridi interspecifici
6	<i>Phytophthora capsici</i>	4/4/2023	3	Validazione livello susceptibilità varietale linea 'resistente' e 'susceptibile'
7	<i>Podosphaera xanthii</i>	23/05/2023	23	Selezione
8	<i>Podosphaera xanthii</i>	7/09/2023	38	Selezione
9	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	7/09/2023	38	Selezione
10	<i>Podosphaera xanthii</i>	12/10/2023	34	IBRIDI SPERIMENTALI
11	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	12/10/2023	34	IBRIDI SPERIMENTALI

### **Patosistema zuccino-*Podosphaera xanthii***

Il materiale selezionato da Sativa (Tabella 2) è stato consegnato in contenitori alveolati e mantenuto presso il vivaio AGROINNOVA in condizioni controllate a 18-22°C. Le piante allo stadio della prima foglia vera sono state trapiantate in vasi (2 L o 12L) per costituire le unità sperimentali per ciascuna linea. La dimensione sperimentale era stabilita dal numero di piante disponibili (Figura 1).

Le prove sono state svolte in compartimenti di 64 m<sup>2</sup> di una serra ferro-vetro a temperature comprese tra 20-30°C in presenza dell'inoculazione artificiale del patogeno. Una popolazione di *Podosphaera xanthii* ottenuta da piante colpite in campo presso l'areale di Cesena (FC) è stata propagata su piante di zuccino porta inoculo e mantenuta in purezza in un'ambiente isolato della serra. L'inoculazione del patogeno è stata effettuata sulle piante alla 3-4° foglia nebulizzando la sospensione dei conidi alla concentrazione di 1x10<sup>4</sup> e 1x10<sup>5</sup> conidi/ml. Le piante erano mantenute in diversi compartimenti della serra. A partire dalla comparsa dei segni del patogeno sono stati

effettuati rilievi sulla diffusione (% foglie colpite) e gravità (% superficie fogliare colpita) degli attacchi del patogeno con una frequenza di 7-10 giorni. Per attribuire la gravità degli attacchi è stata impiegata una scala 0-5 secondo quanto riportato nel protocollo EPPO PP1/57 (3) (Figura 2). Al termine delle prove di durata variabile tra i 25 e 35 giorni dall'inoculazione del patogeno, l'Azienda ha prelevato le piante ritenute di interesse per la prosecuzione dell'attività di miglioramento (Figura 3).

Figura 1- Allestimento delle prove



Figura 2 - Gravità dei sintomi causati da *Podosphaera xanthii* su zucchini (EPPO PP1/57 -3)

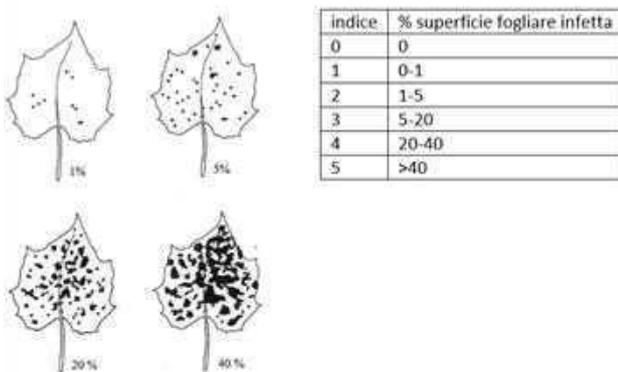


Figura 3 – Visione del saggio di suscettibilità a *P. xanthii* su diverse linee di zucchini



Nel corso della prima prova sono state saggiate 25 linee di zucchini tra cui linee di nota suscettibilità a costituire il riferimento suscettibile e resistente. Le piante sono state mantenute secondo un disegno sperimentale a blocchi randomizzati in due compartimenti della serra e sono state inoculate rispettivamente a  $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^5$  conidi/ml (Tabelle 3 e 4). Al termine delle prove è emerso un medio alta gravità degli attacchi del patogeno come evidenziato dai riferimenti suscettibili (IMO-100 tra 44 e 58). I riferimenti selezionati per la tolleranza al patogeno sono risultati parzialmente resistenti (IM 0-100 tra 21 e 25).

Tabella 3 – Gravità espressa come percentuale media di superficie fogliare colpita (IMO-100) da *P. xanthii* nel corso della prova (Inoculazione  $1 \times 10^4$  conidi/ml).

Siglato	Linea	03-nov	09-nov	15-nov	21-nov	REAZIONE*
Riferimento	Resistente	2,3	7,6	14,8	25,0	PR
Riferimento	Suscettibile	6,8	10,3	24,2	44,4	S
5303	CAMPIONE 1	13,2	26,3	23,3	36,0	MS
5304	CAMPIONE 2	7,0	22,7	31,6	46,0	S
5305	CAMPIONE 3	11,2	29,5	45,1	55,0	S
5306	CAMPIONE 4	4,2	16,4	26,1	36,0	MS
5307	CAMPIONE 5	1,3	12,3	10,9	22,0	PR
5308	CAMPIONE 6	3,9	11,3	23,9	29,0	PR
5309	CAMPIONE 7	17,1	29,2	20,9	33,0	MS
5310	CAMPIONE 8	5,2	10,2	17,9	25,0	PR
5311	CAMPIONE 9	13,6	19,5	24,0	37,0	MS
5312	CAMPIONE 10	3,4	3,8	8,4	36,0	MS
5313	CAMPIONE 11	1,4	13,6	11,7	17,0	PR
5314	CAMPIONE 12	0,3	10,2	9,9	15,0	PR
5315	CAMPIONE 13	18,6	22,3	47,9	56,0	S
5316	CAMPIONE 14	23,4	33,8	38,5	55,0	S
5317	CAMPIONE 15	1,3	6,5	15,6	21,0	PR
5318	CAMPIONE 16	7,8	14,2	14,1	29,0	PR

5319	CAMPIONE 17	26,3	35,1	47,7	58,0	S
5320	CAMPIONE 18	26,8	29,6	16,5	34,0	MS
5321	CAMPIONE 19	13,7	16,1	20,6	44,0	S
5322	CAMPIONE 20	17,5	22,2	49,4	53,0	S
5323	CAMPIONE 21	13,7	13,7	50,2	57,0	S
5324	CAMPIONE 22	22,8	10,2	39,5	59,0	S
5325	CAMPIONE 23	13,3	31,2	29,9	45,0	S
Riferimento	Resistente	1,7	10,2	15,9	21,0	R
Riferimento	Suscettibile	30,8	21,4	55,5	58,0	S

\*Reazione: Parzialmente resistente PR 10-30% superficie fogliare colpita; Mediamente suscettibile MS 31-40 % superficie fogliare colpita; Suscettibile S > 40% superficie fogliare colpita.

*Tabella 4 – Gravità espressa come percentuale media di superficie fogliare colpita (IMO-100) da P. xanthii nel corso della prova (Inoculazione  $1 \times 10^5$  conidi/ml).*

Siglato	Linea	03-nov	09-nov	15-nov	21-nov	REAZIONE*
Riferimento	Resistente	10,2	13,0	9,8	23,0	PR
Riferimento	Suscettibile	35,7	32,6	37,2	47,0	S
5303	CAMPIONE 1	35,4	20,0	25,9	38,0	MS
5304	CAMPIONE 2	35,6	33,8	43,1	56,0	S
5305	CAMPIONE 3	31,3	42,4	39,1	55,0	S
5306	CAMPIONE 4	18,7	18,8	25,7	37,0	MS
5307	CAMPIONE 5	25,0	9,8	10,6	36,0	MS
5308	CAMPIONE 6	14,3	23,6	17,5	29,3	PR
5309	CAMPIONE 7	9,5	10,3	14,9	32,0	MS
5310	CAMPIONE 8	10,3	9,6	10,1	37,0	MS
5311	CAMPIONE 9	16,3	15,8	10,2	28,0	PR
5312	CAMPIONE 10	3,3	3,8	11,9	38,0	MS
5313	CAMPIONE 11	14,3	13,1	8,6	21,3	PR
5314	CAMPIONE 12	18,4	19,1	8,5	29,3	PR
5315	CAMPIONE 13	44,3	22,8	45,4	54,0	S
5316	CAMPIONE 14	32,3	25,9	47,4	57,0	S
5317	CAMPIONE 15	8,4	11,7	9,4	25,2	PR
5318	CAMPIONE 16	23,3	13,9	10,8	35,0	MS
5319	CAMPIONE 17	33,0	33,7	32,0	56,0	S
5320	CAMPIONE 18	29,1	31,6	35,7	45,7	S
5321	CAMPIONE 19	12,7	14,4	32,3	42,3	S
5322	CAMPIONE 20	31,7	33,8	35,0	45,0	S
5323	CAMPIONE 21	8,3	8,8	24,9	39,6	S
5324	CAMPIONE 22	18,9	32,6	26,3	36,3	S
5325	CAMPIONE 23	34,0	24,0	21,6	41,6	S
Riferimento	Resistente	3,5	12,6	9,4	21,4	PR
Riferimento	Suscettibile	52,3	35,3	47,8	57,8	S

\*Reazione: Parzialmente resistente PR 10-30% superficie fogliare colpita; Mediamente suscettibile MS 31-40 % superficie fogliare colpita; Suscettibile S >40% superficie fogliare colpita.

I risultati al rilievo finale hanno evidenziato una reazione simile a quella dei riferimenti resistenti di parziale resistenza per le linee del campione 6, 11,12 e 17 indipendentemente dalla concentrazione di inoculazione. Risultati variabili di parziale resistenza sono stati osservati per le linee 5, 8,9 e 16.

Le piante di interesse sono state selezionate in base alla reazione e al fenotipo dall'azienda sementiera.

*Tabella 5 – Gravità degli attacchi di mal bianco espressa come percentuale media di superficie fogliare colpita (IMO-100) da P. xanthii in presenza di inoculazione artificiale a  $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^5$  conidi/ml al termine delle prove.*

Parcella	Linee	Prova 1		Prova 2	
		$1 \times 10^4$ conidi/ml	REAZIONE	$1 \times 10^5$ conidi/ml	REAZIONE

Riferimento	Resistente	25,0	PR	23,0	PR
Riferimento	Suscettibile	44,4	S	47,0	S
5303	CAMPIONE 1	36,0	MS	38,0	MS
5304	CAMPIONE 2	46,0	S	56,0	S
5305	CAMPIONE 3	55,0	S	55,0	S
5306	CAMPIONE 4	36,0	MS	37,0	MS
5307	CAMPIONE 5	22,0	PR	36,0	MS
5308	CAMPIONE 6	29,0	PR	29,3	PR
5309	CAMPIONE 7	33,0	MS	32,0	MS
5310	CAMPIONE 8	25,0	PR	37,0	MS
5311	CAMPIONE 9	37,0	MS	28,0	PR
5312	CAMPIONE 10	36,0	MS	38,0	MS
5313	CAMPIONE 11	17,0	PR	21,3	PR
5314	CAMPIONE 12	15,0	PR	29,3	PR
5315	CAMPIONE 13	56,0	S	54,0	S
5316	CAMPIONE 14	55,0	S	57,0	S
5317	CAMPIONE 15	21,0	PR	25,2	PR
5318	CAMPIONE 16	29,0	PR	35,0	MS
5319	CAMPIONE 17	58,0	S	56,0	S
5320	CAMPIONE 18	34,0	MS	45,7	S
5321	CAMPIONE 19	44,0	S	42,3	S
5322	CAMPIONE 20	53,0	S	45,0	S
5323	CAMPIONE 21	57,0	S	39,6	S
5324	CAMPIONE 22	59,0	S	36,3	S
5325	CAMPIONE 23	45,0	S	41,6	S
Riferimento	Resistente	21,0	R	21,4	PR
Riferimento	Suscettibile	58,0	S	57,8	S

\*Reazione: Parzialmente resistente PR 10-30% superficie fogliare colpita; Mediamente suscettibile MS 31-40 % superficie fogliare colpita; Suscettibile S >40% superficie fogliare colpita.

L'attività è proseguita saggiando 32 linee di zuccino tipologia bolognese in fase di miglioramento (Tabella 6). E' stato impiegato il medesimo protocollo precedentemente descritto.

**Tabella 6 – Elenco delle linee di zuccino saggiate.**

Parcelle	Test novembre	Parcelle	Varietà siglata	Lotto
		<b>1</b>	2023-CAMPIONE 1	22-304
5307 camp.5	R	<b>2</b>	2023-CAMPIONE 2	22-306
		<b>3</b>	2023-CAMPIONE 3	22-307
		<b>4</b>	2023-CAMPIONE 4	22-309
5308 camp.6	PR	<b>5</b>	2023-CAMPIONE 5	22-310/2
		<b>6</b>	2023-CAMPIONE 6	22-312/1
5310 camp.8	PR	<b>7</b>	2023-CAMPIONE 7	22-312/2
		<b>8</b>	2023-CAMPIONE 8	22-315
		<b>9</b>	2023-CAMPIONE 9	22-316/2
5311 camp.9	R	<b>10</b>	2023-CAMPIONE 10	22-324
5312 camp.10	R	<b>11</b>	2023-CAMPIONE 11	22-325
		<b>12</b>	2023-CAMPIONE 12	22-326
5313 camp.11	R	<b>13</b>	2023-CAMPIONE 13	22-331
5314 camp.12	R	<b>14</b>	2023-CAMPIONE 14	22-332

		<b>15</b>	2023-CAMPIONE 15	22-334
		<b>16</b>	2023-CAMPIONE 16	22-339/1
		<b>17</b>	2023-CAMPIONE 17	22-345
		<b>18</b>	2023-CAMPIONE 18	22-350
		<b>19</b>	2023-CAMPIONE 19	22-355
5317 camp.15	R	<b>20</b>	2023-CAMPIONE 20	22-356
5318 camp.16	R	<b>21</b>	2023-CAMPIONE 21	22-358/1
		<b>22</b>	2023-CAMPIONE 22	22-364
		<b>23</b>	2023-CAMPIONE 23	G144T0385F00
		<b>24</b>	2023-CAMPIONE 24	
		<b>25</b>	2023-CAMPIONE 25	
		<b>26</b>	2023-CAMPIONE 26	G070T0407F00
		<b>27</b>	2023-CAMPIONE 27	G144T0390F00
		<b>28</b>	2023-CAMPIONE 28	S9024
		<b>29</b>	2023-CAMPIONE 29	22-5102
		<b>30</b>	2023-CAMPIONE 30	22-5070/3
		<b>31</b>	2023-CAMPIONE 31	22-5107
		<b>32</b>	2023-CAMPIONE 32	22-5113

Sono state effettuate due prove mantenute in serra in due distinti compartimenti (cella 4 e cella 5) alla temperatura compresa tra 18-25°C. Sono state impiegate 4-8 piante/cultivar mantenute in vaso (2l). La suscettibilità a *P. xanthii* delle linee in saggio è stata valutata a confronto con una cultivar di nota suscettibilità (TS) e una dichiarata con resistenza intermedia (TR).

Le piante sono state inoculate alla terza foglia vera con la sospensione di  $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^5$  conidi/ml del patogeno. Nel corso dei rilievi sono state contate le foglie colpite (% foglie infette) ed è stata attribuita la gravità degli attacchi IM0-100. Al rilievo finale svolto 21 giorni dopo l'inoculazione artificiale (Tabella 7), l'Azienda ha prelevato le piante risultate più tolleranti per proseguire l'attività di miglioramento genetico. Le prove sono state svolte in presenza di condizioni favorevoli alla diffusione degli attacchi. Le prove hanno mostrato un andamento simile.

Seppur con variabilità tra le linee siglate in studio, in quanto le popolazioni sono segreganti F2, è emerso un livello di tolleranza comparabile al testimone 'parzialmente resistente' per le linee 6,7,8,9, 13 14, 20 (Tabelle 7 e 8).

Al rilievo finale del 4 aprile anche la cultivar di riferimento parzialmente resistenti ha mostrato una gravità degli attacchi compresa tra il 30 e 50% di superficie fogliare infetta.

L'azienda ha selezionato le piante e prelevato il materiale di interesse per la prosecuzione del miglioramento in base alla gravità degli attacchi stimata al rilievo finale (Tabella 8). Le piante sono state selezionate anche in base al fenotipo come in tabella 8.

Tabella 7 - Gravità degli attacchi di *P. xanthii* su zucchini tipologia Bolognese.  
 Dato espresso come % di superficie fogliare colpita (IMO-100) al rilievo del 28/03/2023

Codice	IM 0-100																			
	Prova 1- serra 4 (1x10 <sup>4</sup> conidi/ml)										Prova 2 – serra 5 (1x10 <sup>5</sup> conidi/ml)									
	A**	B	C	D	E	F	G	H	MEDIA	H	I	L	M	N	O	P	Q	R	Media	
1	44,2	62,0	36,9	48,2	64,1	59,2	61,9	56,5	54,1		65,6	61,9	60,0	70,9	58,4	81,3	30,3		61,2	
2	29,2	29,6	17,5	39,1	45,9	16,4	42,8	33,2	31,7		18,2	53,8	48,4	78,1	69,1	44,4		43,4	50,8	
3	17,8	36,4	44,2	57,4	58,6	35,5	18,8	45,5	39,3		77,5	46,3	67,5	69,1	61,6	31,3	88,1	28,1	58,7	
5	16,5	37,5	35,5	10,1	26,5	10,5	10,5	12,4	20,0	62,5	57,2	15,6		39,1	57,8	64,7	66,9		52,0	
6	0,2	0,2	0,5	0,0				0,6	0,3	14,1	8,4	9,1	14,1	10,6					11,3	
7	5,6	0,2	2,7	0,2	0,5	0,0	0,1	0,2	1,2		7,6	7,3	3,9	13,1	23,1	11,0	20,9	12,9	12,5	
8	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	0,1	0,2	0,0	0,1	3,8	7,6		24,7	10,9	6,3				10,7	
9	0,3	0,2	2,3	0,0	0,3	0,0	0,2	2,9	0,8		4,7	3,3	3,9	11,0	7,8	5,7	24,4		8,7	
10	11,2	7,5	12,9	20,5	11,4	11,4	3,9	13,9	11,6		9,2	9,4	29,7	36,1	18,2	20,9	39,1		23,2	
11	1,1	1,2	1,6						1,3	15,9	5,4	50,6							24,0	
12	1,6	1,2	22,7	6,4	2,5	1,1	1,2		4,6	13,8	7,6	8,4		9,6	24,7	33,4	10,0	2,1	13,7	
13	0,6	0,7	2,5	0,7	0,2	3,4	0,7	0,1	1,1		16,3	13,1	14,5	19,1	17,8	5,8	16,3	12,2	14,4	
14	7,4	1,6	1,6	2,2	4,0	2,7	3,4	2,4	3,2		12,4	17,8		14,7	18,4	5,8	14,7	11,6	13,6	
15	11,4	0,2	1,6	2,4	12,9	6,2	2,7	0,5	4,7		10,0	24,4	16,9	7,6	14,9	16,6	12,2	34,4	17,1	
16	24,2	11,1	29,6	2,8	33,2	13,8	34,3	35,5	23,1	45,9	44,1	52,5	0,0	80,3	26,3	33,4	50,9	73,3	45,2	
17	12,4	6,2	15,5	12,4	20,1	6,2	3,4	10,4	10,8		35,9	33,8	20,9	25,3	36,3	37,2	33,4	50,6	34,2	
18	11,2	13,4	26,5	6,8	10,1	26,5	17,5	11,1	15,4		35,0	20,6	26,3	38,1	40,6	31,0	10,0	61,9	32,9	
19	5,1	17,1	8,4	6,8	7,9	4,7			8,3	8,2	16,3	0,0	30,6	22,5	36,3				12,6	
20	1,7	2,8	2,4	2,9	1,7	11,1			3,8	13,9	18,4	10,9	6,0	27,5					8,5	
21	3,4	7,2	1,6	4,5	1,1	2,9	6,8		3,9	39,1	17,8	20,0	18,4	26,6	35,6	16,6			19,3	
22	6,7	18,3	9,9	5,6		3,9	1,2	1,6	6,8	24,1	12,6	24,1	46,9	35,4	44,7	33,4			24,6	
23	15,1	3,6	3,0	4,6	13,5	4,7	3,0	6,3	6,7		50,9	30,9	21,9	40,6	94,7	23,4	33,1	86,6	47,8	
24	8,5	1,7	3,5	1,6	7,9	4,5	4,0	1,6	4,2		15,9	45,3	19,1	43,4	60,9	23,1		55,6	37,6	
25	2,7	11,5	12,4	4,5	14,3	6,9	3,4	3,0	7,3		10,9	11,6	7,0	20,9	30,6	25,9	11,6	13,1	16,5	
26	15,2	16,9	5,6	1,7	25,5	43,8	15,5	0,0	15,5	18,2	10,8	7,8	20,9		36,3				21,7	
27	2,2	7,5	7,8	9,1	13,0	1,6	7,0	2,3	6,3		42,2	13,1	34,7	14,7	34,4	31,9	30,0	68,8	33,7	
28	26,4	16,9	22,9	5,0	26,4	9,6	18,8	8,9	16,9		47,8	60,9	38,8	53,4	59,7	51,7			52,1	
29	11,1	27,9	11,5	3,4	48,2	13,3	5,6	1,6	15,3		1,1	5,1	10,0	24,7	66,9	1,9	13,1		17,5	
30	5,6	19,5	0,4	30,1	5,0	3,9	1,7	1,7	8,5		9,2	8,0	17,2	47,5	16,6	13,5	15,3	16,9	18,0	
31	5,6	4,6	0,8	2,8	5,6	1,1	1,6	2,9	3,1	62,5	17,2	25,3	11,6	32,5	9,4	11,6	8,4	9,4	20,9	
32	12,5	5,7	9,7	4,6	15,1	7,5	9,2	3,5	8,5		48,4	21,0	16,9	18,8	27,9		65,9	16,3	26,9	
Riferimento suscettibile	23,5	28,2	23,5	17,3	25,2	53,9	16,1	23,5	26,4	60,9	72,2	57,5	97,2	44,4	20,9	72,2	70,9	68,4	62,7	
Riferimento parzialemente resistente	1,8	3,7	2,6	0,7	2,5	3,4	2,5	4,2	2,7	5,4	10,1	13,1	5,7	11,3	12,6	10,8		8,2	9,6	

\*\* a ciascuna lettera corrisponde ad una pianta.

Tabella 8 - Gravità degli attacchi di *P. xanthii* su zucchino tipologia Bolognese (Prova 1-serra 4 e prova 2 serra 5)  
Dato espresso come % di superficie fogliare colpita (IMO-100) al rilievo finale del 4/04/2023.

Codice	IM 0-100																	
	Prova 1- serra 4 (1x10 <sup>4</sup> conidi/ml)								Prova 2 – serra 5 (1x10 <sup>5</sup> conidi/ml)									
	A**	B	C	D	E	F	G	H	H	I	L	M	N	O	P	Q	R	
1	-*																	
2																		
3																		
5					25													
6	45	25	30					45		10	15	20						
7							20						15	15	15	10		
8	40		30	30		15		40	10			25	20	20				
9	35	30			20			35		10	20		30		15	25		
10	40						40	40								20		
11										15								
12					20		20										25	
13	40	40		30				40							25			
14	40	35				35	30	40		20							30	
15	35	35	25				10	35					15	20	30			
16			30			30												
17						40												
18																		
19	40	30						40										
20												10						
21																		
22																		
23																		
24							20									15		
25																		
26																		
27																		
28																		
29											20							
30																20		
31				25										15				
32																		
<b>Riferimento suscettibile</b>																		
<b>Riferimento parzialmente resistente</b>	50	50		50	30			50						20			20	

\*non sono riportati i valori rilevati su pianta con valori di gravità degli attacchi del patogeno superiori al 50 % di superficie fogliare colpita.

\*\* a ciascuna lettera corrisponde ad una pianta.

Con la prosecuzione delle attività, sono state saggiate 23 linee siglate di zucchini tipologia bolognese in fase di miglioramento.

La suscettibilità a *P. xanthii* delle linee in saggio è stata valutata a confronto con una cultivar di nota suscettibilità (TS) e una con resistenza intermedia (TR) come emerso dai saggi precedenti.

Le piante sono state mantenute in due compartimenti separati della serra (cella 1 e cella 4) alla temperatura di 25-30°C e inoculate alla terza foglia vera con la sospensione di  $1 \times 10^4$  conidi/ml del patogeno (8/06/2023). Nel corso dei rilievi sono contate le foglie colpite (% di foglie infette) ed è stata attribuita la gravità degli attacchi relativa alla percentuale di superficie fogliate colpita (IM 0-100).

Nel corso della prova sono state osservate su alcune linee (523-321-322-262-269) necrosi estese sui cotiledoni e sulle prime foglie vere. Sono stati condotti isolamenti ottenendo in modo ricorrente colonie ascrivibili ad *Alternaria* sp. (Figura 4).

Figura 4 – Necrosi fogliari su giovani piante di zucchini in prova



Al termine della prova l'azienda ha selezionato materiale di interesse anche dal punto di vista del fenotipo tra i codici delle piante mantenute in cella 4: 260H, 260D, 260E, 260B, 262D, 274D, 274E, 274G, 274L, 270C, 270D, 316B, 316D, 286I, 259F, 321°, 321B, 318C, 318D, 323°, 323C, 323D, 320° e cella 1: 260B, 260E, 260I, 261F, 261M, 262I, 270°, 270B, 270C, 270D, 316°, 316B, 316D, 316E, 316I, 316F, 286°, 286B, 286G, 286C, 259E, 321G, 287E, 326°, 251C (Tabella 9).

Tabella 9 - Gravità degli attacchi di *P. xanthii* su zucchini tipologia Bolognese (Prova 1-serra 4 e prova 2 serra 5) Dato espresso come % di superficie fogliare colpita al rilievo finale del 4/04/2023

codice	IM 0-100												% di superficie fogliare media	
	Cella 4						Cella 1							
	A*	B	C	D	E	F	G	H	I	L	M			
CAMPIONE 251	27,0	18,3	11,4	23,6	30,9	26,6	24,8	27,0	28,7	26,6			24,5	a**
CAMPIONE 259	20,9	26,0	20,9	33,5	20,7	31,9	21,1	22,1	-***				24,6	a
CAMPIONE 260	16,4	26,9	31,9	23,6	19,1	28,6	21,1	28,4	14,4	32,0			24,2	a
CAMPIONE 261	32,0	32,2	20,3	28,4	29,8	5,3	32,0	26,9	30,8	28,4	32,1		27,1	ab
CAMPIONE 262	29,8	31,9	26,6	23,6	26,9	23,3		36,5	21,0	28,3			27,5	ab
CAMPIONE 270	35,8	28,8	28,6	28,8									30,5	ab
CAMPIONE 274	23,2	31,2	31,2	13,3	31,7	30,9	26,2	27,2	32,7	29,1	28,0		27,7	ab
CAMPIONE 278	29,7	26,4	28,6	4,8	8,4	8,4	28,5	32,1	28,4	33,6			22,9	a
CAMPIONE 286	21,3	25,4	33,1	32,1	32,6	23,2	25,9	22,1	30,0				27,3	ab
CAMPIONE 287	33,2	27,0	28,4	34,3	23,5	23,6	23,3	22,1	36,9				28,0	ab
CAMPIONE 298	25,7	36,1	31,9	30,7	37,3	29,9	27,7	39,8	26,9	34,2	30,2		31,8	ab
CAMPIONE 308	33,0	30,1	28,7	34,1	38,3	22,4	26,6	28,4	26,6	18,3			28,7	ab
CAMPIONE 316	11,6	28,4	25,7	18,4	31,8	32,1	26,3	28,4	33,6				26,3	ab
CAMPIONE 317	15,6	17,6	32,6	35,8	28,6	27,3	33,6	23,6	30,8	35,1			28,0	ab
CAMPIONE 318	36,5	18,3	28,4	23,6	32,3	33,5	28,4	36,2	36,5				30,4	ab
CAMPIONE 319	28,7	24,8	22,6	30,8	32,4	35,7	32,7	27,0	23,6				28,7	ab
CAMPIONE 320	30,9	28,4	27,0	24,8	32,0	27,0	32,0	31,9	23,3	36,5	36,6		30,0	ab
CAMPIONE 321	29,4	32,4	23,6	18,3	23,3	18,3	23,3	26,5	16,6	32,4	32,4		25,1	ab
CAMPIONE 323	27,4	24,0	16,6	23,3	27,0	30,9	29,8	33,6	30,2				27,0	ab
CAMPIONE 324	32,7	38,1	47,9	31,7	44,4	28,8	26,5						35,7	b
CAMPIONE 325	28,6	36,9	21,1	27,0	30,9	28,6	29,8	32,0	27,0				29,1	ab
CAMPIONE 326	24,9	30,5	28,4	23,4	24,8	45,5	35,8	32,4	36,9				31,4	ab
CAMPIONE 329	28,7	25,2	29,6	38,3	26,5	36,9	29,1	29,8	32,3	32,7	29,4		30,8	ab

\* a ciascuna lettera corrisponde una pianta. \*\* Ai valori seguiti dalla stessa lettera non differiscono significativamente secondo il test di Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\*\* pianta non presente.

Con la prosecuzione delle attività, sono state saggiate 38 linee siglate impiegando il medesimo protocollo precedentemente descritto (Tabella 10, Figura 5).

*Tabella 10 - Elenco delle varietà sottoposte a saggio e origine.*

set-23	mag-23	mar-23	nov-22	Varietà	LOTTO	Lotto origine
6001				CAMPIONE SETTEMBRE 6001	23-255/1	22-305/1
6002	23-261			CAMPIONE SETTEMBRE 6002	23-261/1	22-311/1
6003		CAMP. 9		CAMPIONE SETTEMBRE 6003	23-264/1	22-316/2
6004				CAMPIONE SETTEMBRE 6004	23-265/2	22-317/1
6005				CAMPIONE SETTEMBRE 6005	23-267/2	22-319/2
6006				CAMPIONE SETTEMBRE 6006	23-268/1	22-322/1
6007	23-270	CAMP. 11	5312 camp.10	CAMPIONE SETTEMBRE 6007	23-270/1	22-325/1
6008		CAMP. 12		CAMPIONE SETTEMBRE 6008	23-271/1	22-326/1
6009		CAMP. 13		CAMPIONE SETTEMBRE 6009	23-273/2	22-331/1
6010	23-274	CAMP. 14	5314 camp.12	CAMPIONE SETTEMBRE 6010	23-274/1	22-332/1
6011	23-274	CAMP. 14	5314 camp.12	CAMPIONE SETTEMBRE 6011	23-274/2	22-332/1
6012				CAMPIONE SETTEMBRE 6012	23-275/1	22-333/1
6013	23-287	CAMP. 21	5318 camp.16	CAMPIONE SETTEMBRE 6013	23-287/1	22-358/1
6014		CAMP. 12		CAMPIONE SETTEMBRE 6014	23-12F	
6015		CAMP. 12		CAMPIONE SETTEMBRE 6015	23-12R	
6016				CAMPIONE SETTEMBRE 6016	23-270 X 23-297	
6017				CAMPIONE SETTEMBRE 6017	23-274 X 23-296	
6018				CAMPIONE SETTEMBRE 6018	23-287 X 23-294	
6019				CAMPIONE SETTEMBRE 6019	23-204 X 23-139	
6020				CAMPIONE SETTEMBRE 6020	23-139 X 23-204	
6021				CAMPIONE SETTEMBRE 6021	23-204 X 23-137	
6022				CAMPIONE SETTEMBRE 6022	23-194/1	
6023	23-308			CAMPIONE SETTEMBRE 6023	23-153/1	
6024				CAMPIONE SETTEMBRE 6024	23-156/1	
6025				CAMPIONE SETTEMBRE 6025	23-156/2	
6026				CAMPIONE SETTEMBRE 6026	23-157/1	
6027				CAMPIONE SETTEMBRE 6027	23-157/2	
6028				CAMPIONE SETTEMBRE 6028	23-158/2	
6029				CAMPIONE SETTEMBRE 6029	23-162/1	
6030				CAMPIONE SETTEMBRE 6030	23-164/1	
6031				CAMPIONE SETTEMBRE 6031	23-164/2	
6032				CAMPIONE SETTEMBRE 6032	23-167/1	
6033				CAMPIONE SETTEMBRE 6033	23-167/3	
6034				CAMPIONE SETTEMBRE 6034	23-168/1	
6035				CAMPIONE SETTEMBRE 6035	23-359	
6036				CAMPIONE SETTEMBRE 6036	23-360	
6037				CAMPIONE SETTEMBRE 6037	23-204/1	
6038				CAMPIONE SETTEMBRE 6038	23-204/2	

Al rilievo finale del 10/10/23 è emersa una elevata gravità degli attacchi del patogeno. Il riferimento parzialmente resistente ha mostrato una gravità degli attacchi del patogeno inferiore al 30% di superficie fogliare colpita. L'azienda ha selezionato piante dei codici 6004, 6007, 6008, 6012, 6014 (Tabella 11).

Tabella 11 - Gravità degli attacchi di *P. xanthii* su zucchini tipologia Bolognese (Prova 1-serra 4 e prova 2 serra 5) Dato espresso come % di superficie fogliare colpita al rilievo finale del 10/10/2023.

Codice	Cella 1								Cella 4								% superficie fogliare
	A**	B	C	D	E	F	G	H	I	L	M	N	O	P	Q	R	
6001	35	35	60	60	60	35	20	35	35	60	60	35	35	35	35	**	42,3
6002	20	35	35	35	35	20	35	20	35	60	35	20	20	20	20	20	29,1
6003	20	35	35	35	35	20	20	35	35	60	60	35	20	35			34,3
6004	20	60	60	20	20	60	35	35	35	35	35	20	20				35,0
6005	20	20	20	60	35	60	60	60	35	20	60	60					42,5
6006	20	60	60	60	35	35	60	35	35	60	35	60	35	35			44,6
6007	60	20	20	20	35	20	20	20	20	35	35	20	20	35	35		27,7
6008	20	20	60	35	35	35	20										32,1
6009	20	35	35	20	20	20	35	20	20	60	60						31,4
6010	35	35	35	20	60	35	35	35	60	35	20	60	20	60	60	60	41,6
6011	35	35	60	20	60	20	20	20	20	20	20	20	35	35	35	60	27,7
6012	35	35	20	20	60	20	20	20	20	2	60	20	20	20	20		26,1
6013	20	35	60	60	60	35	35	35	35	35	35	35	20	35	35		38,0
6014	20	20	60	20	20	20	35	35	35	20	20	20	35	35	60		30,3
6015	20	60	35	20	60	20	35	60	35	35	20	35	20	35	35		36,0
6016	60	60	60	60	35	60	35	60	20								50,0
6017	60	60	60	60	60	35	60	60	60	60	60	35	35	35	60		53,3
6018	60	35	60	60	60	35	60	35	60	35	60	60	60	60	60		53,3
6019	60	60	60	60	60	35	35	60	60	35	60	20	60	60	60	60	52,8
6020	60	60	60	60	60	35	60	60	60	60	35	60	60	60	60	60	56,9
6021	60	60	60	60	60	60	35	60	60	35	60	35	60	60	60	60	55,3
6022	60	60	60	60	60	60	60	60	20	35	60	35	60	60	60	60	54,4
6023	60	60	60	60	60	20	35	35	60	20	35	35	35	60	35	60	45,6
6024	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	35	60	60	60	60	58,4
6025	60	35	60	60	35	35	20	60	60	20	60	60	35	60	60	35	47,2
6026	20	35	60	35	60	2	60	60	60	60	60	35	60				46,7
6027	60	35	35	35	60	20	60	35	35	20	35	35	60	20	20	35	37,5
6028	60	35	35	35	20	60	35	60	60	35	60	60	35	35	60		45,7
6029	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	35	60	60	60	58,4
6030	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60,0
6031	60	60		60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	35	58,3
6032	60	60	60	60	60	60	20	60	60	60	60	60	60	60	60	60	57,5
6033																	n.s*
6034	60	35	60	60	60	60	60	60	35	60	35	60	60	60	60	60	55,3
6035	60	60	60	60	60	35	35	60	20	2	60	60	35	60			47,6
6036	60	60	35	60	35	35	60	35	35	60							47,5
6037	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60		60,0
6038	60	35	60	60	60	60	60	35	60	60	60	60	60	60	60		56,7
Riferimento suscettibile	60	60	60	60	35	35	60	60	60	60	60	60					55,8
Riferimento parzialmente resistente	20	20	35	35	20	20	20	20	20	20	35	20	20	35	35	20	24,7

\*non saggiato; \*\* a ciascuna lettera corrisponde una pianta.

\*\* In rosso dato assente per pianta non presente.

*Figura 5 – Visione della prova*



Con la prosecuzione delle attività, sono state saggiate 34 linee siglate ottenute dall'attività di progetto, secondo il protocollo precedentemente descritto inoculando *P. xanthii* alla concentrazione di  $1 \times 10^4$  conidi/ml. Il saggio è stato condotto in presenza di una elevata pressione di malattia.

Al termine del saggio (Tabella 12) è stata attribuita la gravità media di diffusione degli attacchi del patogeno per ciascun siglato evidenziando come complessivamente i codici 641, 629, 621, 673, 638 siano risultati costantemente interessati da una percentuale media di superficie fogliare inferiore al 35%.

*Tabella 12 - Gravità degli attacchi di P. xanthii su zucchini tipologia Bolognese. Dato espresso come % di superficie fogliare colpita (IMO-100).*

Codice siglato	IMO-100 nel corso dei rilievi		
	31-10-2023	09-11-2023	17-11-2023
641	10%	25%	35%
629	15%	25%	30%
601	15%	35%	45%
625	15%	30%	40%
622	15%	30%	40%
603	15%	35%	60%
617	15%	25%	50%
644	20%	50%	50%
621	20%	30%	35%
639	20%	25%	40%
775	20%	40%	55%
602	20%	25%	40%
673	20%	30%	35%
632	25%	40%	60%
623	25%	35%	50%
630	25%	35%	50%
770	25%	40%	50%
727	25%	30%	50%
702	30%	55%	60%
634	30%	50%	50%
755	30%	35%	40%
638	35%	35%	35%
646	35%	35%	50%
656	35%	60%	75%
774	35%	60%	70%
647	35%	45%	45%
627	35%	45%	50%
682	40%	60%	75%
604	40%	60%	60%
776	40%	70%	70%
752	40%	50%	70%
636	40%	55%	60%
756	50%	70%	80%
753	50%	65%	70%

### **Patosistema zucchino-*Pseudoperonospora cubensis***

Il materiale selezionato da Sativa (Tabella 2) è stato consegnato in contenitori alveolati e mantenuto presso il vivaio AGROINNOVA in condizioni controllate. Una popolazione di *Pseudoperonospora cubensis* ottenuta da piante colpite in campo presso l'areale di Cesena (FC) è stata propagata su piante porta inoculo e mantenuta in purezza (Figura 6).

Le piante sono state inoculate alla 5° foglia e sono state mantenute in serra ferro/vetro in presenza di temperature comprese tra 25-30°C e alta umidità relativa (85-90%) mantenuta grazie a un sistema di nebulizzazione o mediante la creazione di capannine con copertura con film in polietilene trasparente (Figura 7).

Nel corso della prima prova sono stati saggiati 38 siglati. Lo stesso materiale è stato saggiato anche nei confronti di *P. xanthii* (Tabella 11).

L'inoculazione del patogeno è stata effettuata sulle piante nebulizzando la sospensione degli sporangi del patogeno alla concentrazione di  $1 \times 10^4$ . A partire dalla comparsa dei segni dell'infezione sono stati effettuati rilievi sulla diffusione (% foglie colpite) e gravità (% superficie fogliare colpita) con la frequenza di 7-10 giorni. Per attribuire la gravità degli attacchi è stata impiegata una scala 0-5 secondo quanto riportato nel protocollo EPPO PP1/57 (3) (Figura 2).

Al termine delle prove l'Azienda ha prelevato le piante ritenute di interesse per la prosecuzione dell'attività di miglioramento.

*Figura 6 – Sintomi causati da Pseudoperonospora cubensis e visione della prova*



Tabella 13 – Selezione dei siglati di zucchini in base alla classe di suscettibilità a *Pseudoperonospora cubensis*.

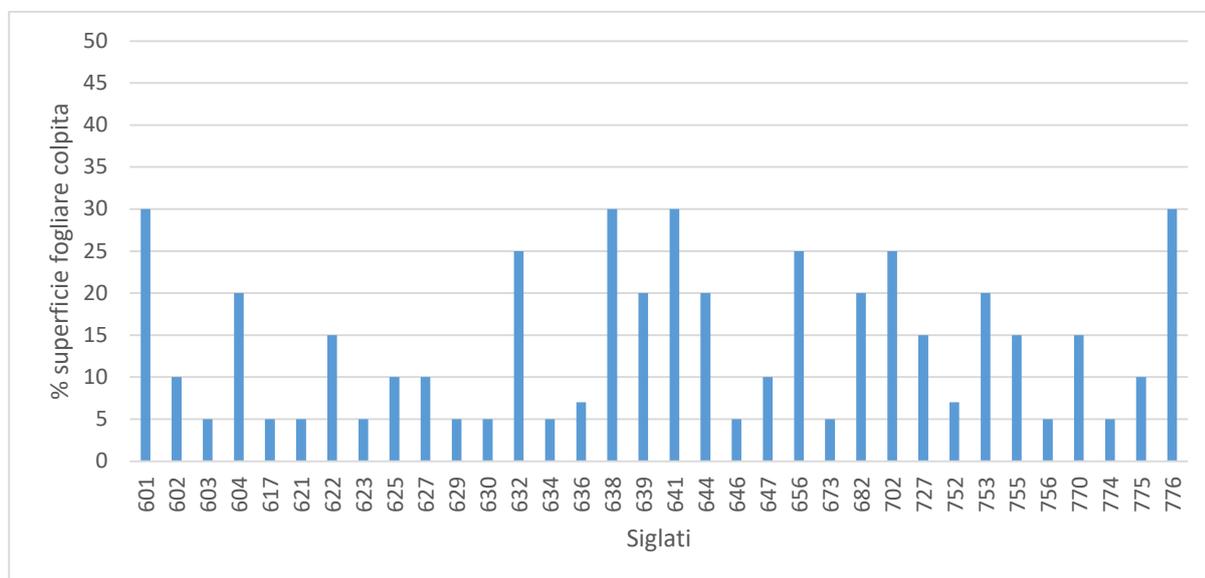
Codice siglato	Intervalli di gravità degli attacchi espressi come % di superficie fogliare colpita				
	0	10-25%	26-50%	51-75%	>75%
6001				x*	
6002			x		
6003					x
6004			x		
6005			x		
6006			x		
6007			x		
6008		x			
6009			x		
6010			x		
6011			x		
6012			x		
6013			x		
6014			x		
6015			x		
6016				x	
6017				x	
6018				x	
6019				x	
6020				x	
6021				x	
6022					x
6023					x
6024					x
6025				x	
6026					x
6027					x
6028				x	
6029				x	
6030				x	
6031				x	
6032					x
6034					x
6035				x	
6036					x
6037					x
6038					x
<b>Riferimento suscettibile</b>					x
<b>Riferimento Resistente</b>			x		

Al termine della prova, in presenza di una elevata pressione di malattia, il riferimento resistente è stato interessato da una gravità degli attacchi del patogeno compresa tra il 26 e il 50% di superficie fogliare colpita. I siglati 6002, 6004, 6005, 6006, 6007, 6009, 6010, 6011, 6012, 6013, 6014 e 6015 hanno mostrato una reazione di suscettibilità simile al riferimento resistente. Solo il siglato 6008 ha mostrato una suscettibilità a *P. cubensis* inferiore al riferimento resistente.

Al termine del saggio (Tabella 12) è stata attribuita la gravità media di diffusione degli attacchi del patogeno per ciascun siglato evidenziando come complessivamente i codici 641, 629, 621, 673, 638 siano risultati costantemente interessati da una percentuale media di superficie fogliare inferiore al 35%.

Con la prosecuzione delle attività sono state saggiate 34 linee siglate ottenute dall'attività di progetto (Figure 7 e 8), secondo il protocollo precedentemente descritto inoculando *P. cubensis* alla concentrazione di  $1 \times 10^4$  conidi/ml. Il saggio è stato condotto in presenza di una limitata pressione di malattia. I siglati 603, 617, 621, 623, 629, 630, 634, 646, 673, 756 e 774 sono stati interessati da una gravità degli attacchi del patogeno inferiore al 5% di superficie fogliare colpita. I siglati 602, 625, 627, 636, 647, 752 e 775 sono stati interessati da una gravità degli attacchi del patogeno uguale o inferiore al 10% di superficie fogliare colpita.

*Figura 7 - Gravità degli attacchi Pseudoperonospora cubensis su zucchini tipologia Bolognese. Dato espresso come % di superficie fogliare colpita al rilievo finale del 17/11/2023*



*Figura 8- Sintomi causati da Pseudoperonospora cubensis sulle piante in prova*



### *Phytophthora capsici*

**Verifica del comportamento di suscettibilità di genotipi di riferimento ‘resistente’ e ‘susceptibile’ e valutazione del comportamento di una popolazione segregante PC2 (dominante/recessiva- un gene/più geni).**

Nel corso della prima prova sono stati saggiati due siglati (PC1 e PC2) a confronto con cultivar di zucchini commerciali al fine di identificare il livello di suscettibilità di cultivar di riferimento resistente al patogeno secondo quanto riportato in letteratura scientifica.

Sono state impiegate vaschette della capacità di 10 l di terreno torboso precedentemente disinfestato a vapore. Il terreno è stato infestato con la biomassa dell’isolato PHC 1-3/16 di *Phytophthora capsici* precedentemente propagato su grano canapa e mantenuto 12 giorni in incubazione a 20°C in alternanza luce/buio. La biomassa del patogeno è stata miscelata al substrato torboso (1 g/l di terreno) 5 giorni prima del trapianto della coltura.

Ogni vaschetta costituiva l’unità sperimentale con 5 o 10 piante a vaschetta (Tabella 1, Figura 9).

Le piante sono state mantenute in serra alla temperatura compresa tra 20-25°C secondo un disegno a blocchi randomizzati. Le piante sono state irrigate secondo necessità.

A partire dai primi sintomi sono stati effettuati i rilievi contando ed eliminando le piante morte

Il calendario delle attività è riportato in tabella

I dati, espressi come numero di piante morte, sono stati sottoposti all’analisi della varianza Anova e al test di Tukey ( $p < 0,05$ ).

*Figura 9- Sintomi causati da Phytophthora capsici su zucchini nel corso della prova*



*Tabella 14 - Elenco di cultivar e siglati di zucchini in prova e descrizione della dimensione sperimentale*

<b>Codice</b>	<b>cv (ditta sementiera)</b>	<b>Numero piante in saggio</b>	<b>Unità sperimentale</b>	<b>Numero piante/vaschetta</b>
PC 1	Sativa	15	3	5 p.te/vaschetta
PC 2	Sativa	50	10	5 p.te/vaschetta
28/16	Bolognese (Four)	30	3	10 p.te/vaschetta

1/15	Genovese	30	3	10 p.te/vaschetta
8/16	Isotta	30	3	10 p.te/vaschetta
7/16	Ortano	30	3	10 p.te/vaschetta
4/18	Ferro R2	30	3	10 p.te/vaschetta

Tabella 15 - Percentuale di piante di zucchini morte da *Phytophthora capsici* al rilievo del 22/03/2023.

Codici	cv	% PIANTE MORTE										% media piante morte	
		A**	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
PC 1	-	40	20	20	***							26,7	a*
PC 2	-	100	100	80	60	60	80	60	60	40	80	72,0	b
28/16	Bolognese	90	70	60								73,3	b
1/15	Genovese	60	80	60								66,7	b
8/16	Isotta	60	60	50								56,7	ab
7/16	Ortano	100	90	90								93,3	b
4/18	Ferro R2	40	20	20								26,7	a

\*I valori seguiti dalla stessa lettera non differiscono significativamente secondo il test di Tukey.

\*\* Unità sperimentale 5 piante/vaso.

\*\*\* Non presente

I primi sintomi sono stati osservati il 9/03. Al rilievo finale del 22/03, il siglato PC1 risulta parzialmente resistente come l'ibrido interspecifico *C. maxima* x *C. moscata* (Ferro R2). L'azienda ha selezionato su base fenotipica le piante sopravvissute della popolazione segregante PC2.

L'azienda ha prelevato il materiale di interesse per proseguire l'attività di miglioramento.

Nel corso della seconda prova (Tabella) sono stati saggiati tre siglati a confronto con cultivar di zucchini commerciali e un ibrido interspecifico (Ferro R2).

Sativa ha consegnato n. 3 siglati il 4 aprile. La semina è stata avviata il 7 giugno. Il trapianto è stato effettuato su terreno torboso artificialmente inoculato con il patogeno alla concentrazione di 1 g di biomassa propagata su grano-canapa/l di substrato. Sono stati impiegati vasi della capacità di 12 L di substrato torboso, impiegando 5 piante/vaso a costituire l'unità sperimentale, saggiando complessivamente 60 piante per siglato. Coltivar commerciali sono state impiegate come riferimento. Le piante sono state mantenute in serra alla temperatura compresa tra 24-28°C. Sono stati effettuati rilievi a partire dalla comparsa dei sintomi contando ed eliminando le piante morte interessate da marciume delle radici e del colletto.

Tabella 16 - Elenco dei campioni di zucchini in saggio.

Codice/cv	Azienda	Numero piante	Numero vaschette	Numero piante/vaschetta
2023-1	Sativa	60	12*	5 p.te/vaschetta
2023-2	Sativa	60	12	5 p.te/vaschetta
2023-3	Sativa	60	12	5 p.te/vaschetta
Genovese	-	30	3	10 p.te/vaschetta
Isotta	-	30	3	10 p.te/vaschetta

Ortano	-	30	3	10 p.te/vaschetta
Ferro R2	-	30	3	10 p.te/vaschetta
Bolognese	Blumen	30	3	10 .te/vaschetta

\*Unità sperimentale 5 piante/vaschetta e 10 piante/vaso nel caso di cultivar commerciali

Al termine della prova (Tabella 17), in presenza di una elevata pressione di malattia come evidenziato da riferimenti suscettibili (cv Genovese, Ortano e Bolognese), l'ibrido interspecifico (Ferro) ha confermato una reazione di parziale resistenza al patogeno. Al termine del saggio è emersa una elevata variabilità di suscettibilità tra i genotipi dei siglati saggiate probabilmente in seguito alla segregazione della popolazione in fase di miglioramento. L'Azienda ha prelevato il materiale di interesse al fine di proseguire l'attività di miglioramento (Tabella 17).

Tabella 17 - Percentuale di piante di zuccino morte da *Phytophthora capsici* al rilievo finale.

Codice/cv	Azienda	% PIANTE MORTE												% media piante morte	
		A**	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M		
2023-1 -PC1	Sativa	20	60	60	80	20	20	40	100	80	0	60	60	50,0	p>0,05*
2023-2 -PC2	Sativa	80	40	0	0	40	100	40	20	40	20	40	100	43,3	
2023-3 -PC3	Sativa	20	60	0	40	80	80	60	60	100	60	20	100	56,7	
Genovese		100	80	80	-***									86,7	
Isotta		30	80	40										50,0	
Ortano		100	60	100										86,7	
Ferro R2		30	10	10										16,7	
Bolognese	Blumen	100	100	100										100,0	

\*I valori seguiti dalla stessa lettera non differiscono significativamente secondo il test di Tukey (p<0,05).

\*\* Unità sperimentale 5 piante/vaso.

\*\*\* Non presente

### ***Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae***

#### **Verifica della reazione di suscettibilità di genotipi di zuccino e di ibridi interspecifici nei confronti di *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*.**

Nel corso della prova sono stati saggiate 10 siglati a confronto con cultivar di zuccino commerciali e un ibrido interspecifico (Ferro R2). Nel corso del saggio è stato impiegato un isolato del patogeno della collezione AGROINNOVA.

L'inoculazione del patogeno è stata effettuata al trapianto per immersione radicale delle piante alla concentrazione di  $1 \times 10^5$  conidi/ml.

Sono stati impiegati vasi della capacità di 2 L di substrato torboso, impiegando 2 piante/vaso a costituire l'unità sperimentale, saggiando un numero variabile di piante per siglato a seconda della disponibilità. Cultivar commerciali sono state impiegate come riferimento.

Le piante sono state mantenute in serra alla temperatura compresa tra 26-30°C secondo un disegno a blocchi randomizzati. Sono stati effettuati rilievi a partire dalla comparsa dei sintomi contando ed eliminando le piante morte interessate da marciume delle radici e del colletto.

*Tabella 18- Elenco dei siglati impiegati nel saggio e dimensione sperimentale.*

Codice siglato	Varietà	N. piante	1 vaso=1 replicazione	Replicazioni
<b>101</b>	ISOTTA	16	2 piante/ vaso	8
<b>102</b>	LAGENARIA	11	2 piante/ vaso*	6
<b>103</b>	CAMPIONE 1	8	2 piante/ vaso	4
<b>104</b>	CAMPIONE 2	8	2 piante/ vaso	4
<b>105</b>	CAMPIONE 3	8	2 piante/ vaso	4
<b>106</b>	CAMPIONE 4	8	2 piante/ vaso	4
<b>107</b>	CAMPIONE 5	8	2 piante/ vaso	4
<b>108</b>	CAMPIONE 6	6	2 piante/ vaso	3
<b>109</b>	CAMPIONE 7	8	2 piante/ vaso	4
<b>110</b>	CAMPIONE 8	8	2 piante/ vaso	4
<b>28/16</b>	Bolognese	7	2 piante/ vaso*	4
<b>1/15</b>	Genovese	16	2 piante/ vaso	8
<b>8/16</b>	Isotta	16	2 piante/ vaso	8
<b>7/16</b>	Ortano	16	2 piante/ vaso	8
<b>4/18</b>	Ferro R2	16	2 piante/ vaso	8

Al termine della prova (Tabella 19), in presenza di una elevata pressione di malattia come evidenziato da riferimenti suscettibili (cv Genovese, Ortano, Isotta e Bolognese), l'ibrido interspecifico (Ferro) ha confermato una reazione di parziale resistenza al patogeno, mentre la 'lagenaria' è risultata resistente. Al termine del saggio è emersa una elevata variabilità di suscettibilità tra gli ibridi interspecifici saggiati.

*Figura 10 – Visione della prova nel patosistema zuccino-Fusarium solani f.sp. cucurbitae*



Tabella 19 - Suscettibilità di siglati di in saggio a *F. solani f. sp. cucurbitae* al rilievo finale del 2/05/2023

Codice	Varietà	% piante morte a vaso*								% piante morte	
		A	B	C	D	E	F	G	H		
101	ISOTTA	100	100	100	100	100	100	100	100	100,0	c
102	LAGENARIA	0	0	0	0	0	0			0,0	a
103	CAMPIONE 1	100	100	50	100					87,5	c
104	CAMPIONE 2	50	25	50	100					56,3	a-c
105	CAMPIONE 3	100	100	100	0					75,0	bc
106	CAMPIONE 4	100	50	100	50					75,0	bc
107	CAMPIONE 5	50	25	100	100					68,8	a-c
108	CAMPIONE 6	25	100	100	50					68,8	a-c
109	CAMPIONE 7	25	25	0	0					12,5	ab
110	CAMPIONE 8	25	50	25	0					25,0	b
Riferimento	Bolognese	100	100	100	100					100,0	c
Riferimento	Genovese	100	100	100	100	100	100	100	100	100,0	c
Riferimento	Isotta	100	100	100	100	100	100	100	100	100,0	c
Riferimento	Ortano	100	100	100	100	100	100	100	100	100,0	c
Riferimento ibrido interspecifico	Ferro R2	25	50	25	25	50	50	25	25	34,4	b

\*N.1 vaso= unità sperimentale costituita da 2 piante.

### Prodotti:

Per quanto riguarda i test di **resistenza ad oidio** (*Podosphaera xantii*) sono state saggiate 98 linee alcune in replica in diversi cicli di infezione per un totale di 115 test in vivo per le linee parentali.

Per quanto riguarda gli ibridi sperimentali, sono stati testati 34 ibridi in prova per valutarne la tolleranza.

Sono state ottenute 21 linee resistenti che sono state autofecondate su singola pianta resistente per raccogliere il seme con fissato il carattere.

Per gli ibridi sono stati individuati 10 ibridi che hanno una percentuale di superficie fogliare colpita da oidio inferiore al testimone di riferimento resistente.

Per quanto riguarda i test di **resistenza a peronospora** (*Pseudoperonospora cubensis*) sono state saggiate 38 linee ed è stata individuata una linea con percentuale di gravità al patogeno molto bassa (10-25%), mentre molte di esse, 12, hanno un percentuale di suscettibilità medio-bassa, ma comunque in linea col testimone resistente. Sono stati saggiati per peronospora anche 34 ibridi sperimentali, purtroppo la pressione fungina in questa prova non era molto alta, ma comunque anche in questo caso alcuni di essi hanno manifestato un'ottima tolleranza (11 varietà).

Per i test su *Phytophthora capsici* sono state saggiate 3 popolazioni in doppia replica. Le prove hanno permesso di isolare alcune piante all'interno della popolazione segregante e per due di queste è stato raccolto il seme della pianta autofecondata.

Infine per *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* sono stati saggiati 10 siglati per identificare possibili fonti di resistenza e si è confermato che il miglior genotipo per resistenza è la varietà lagenaria, un ibrido interspecifico di cetriolo e una varietà di *Cucurbita moschata*.

#### **PROVE DI CAMPO IN SERRA:**



##### **a) INTROGRESSIONE RESISTENZA ZYMV-CMV-WMV:**

Le linee testate in laboratorio sono state trapiantate in serra in blocchi ben separati per ZYMV, CMV, WMV.

##### **Materiali e metodi:**

Le piante in serra sono state allevate e selezionate ulteriormente per caratteristiche fenotipiche e di resistenza, infatti, nonostante risultassero dall'infezione in laboratorio, alcune di esse hanno manifestato successivamente sintomi di virosi e a mano a mano sono state rimosse. In ogni singola parcella sono state individuate ed autofecondate manualmente le piante migliori.

Il processo di autofecondazione implica le seguenti fasi:

1. chiusura dei fiori alla sera per evitare contaminazioni di polline dovute alla presenza di insetti;
2. impollinazione manuale il mattino successivo con il polline del fiore maschile si impollina il pistillo del fiore femminile;
3. Chiusura e marcatura del frutto con un nastro per permettere l'identificazione dei frutti autoimpollinati;

#### 4. Accrescimento del frutto a seguito della fecondazione.

Fase 1



Fase 2



Fase 3



Fase 4



Allo stesso tempo sono stati effettuati anche una serie di incroci sperimentali programmati sulla base delle resistenze e caratteristiche delle singole linee.

I frutti giunti a maturazione fisiologica del seme sono stati raccolti, cartellinati e trebbiati manualmente; dopo essere stati asciugati e pesati sono stati riseminati per un secondo ciclo di infezione e selezione.

Sulle medesime parcelle è stato effettuato uno screening di resistenza a infezione naturale a Oidio e Peronospora.

Qui di seguito le mappe di campo dei 4 cicli produttivi 2022-2023.

PRIMO CICLO 2022:



Le piante risultate resistenti ad ogni singolo virus sono state selezionate e trapiantate in serra il 26 aprile 2022.

La serra è stata suddivisa in quattro settori, in rosa sono le singole piante selezionate per resistenza a zymv, in blue sono le piante selezionate per resistenza a wmv, in verde le singole piante resistenti a CMV. Nelle file 6 e 7 sono state trapiantate le linee non inoculate per utilizzarle in piani di incrocio e caratterizzarle sulla base di marcatori fenotipici. Sulle parcelle sono stati presi i caratteri fenotipici legati alla pianta ed al frutto, in queste prime fasi si è focalizzata l'attenzione sul frutto, che fosse il più simile al parentale ricorrente, mentre i relativi alla pianta, quali portamento e lamina fogliare sono stati esaminati nel dettaglio durante il 2023.

- 27. Young fruit: main colour of skin (excluding colour of ribs or grooves)
- 26. Young fruit: general shape
- Fruit: size of stripes
- Frutto: lucentezza dell'epidermide
- 29. Only varieties with green colour of skin: intensity of green colour
- 30. Fruit: general shape (mature fruit)
- 46. Fruit: grooves
- 47. Fruit: depth of grooves
- 48. Fruit: ribs
- 49. Fruit: protrusion of ribs
- Fruit: stripes
- 57. Fruit: dots





#### POPOLAZIONE SEGREGANTE TIPOLOGIA BOLOGNESE:

Durante l'estate 2022 sono state trapiantate in pieno campo il 12/5/2022 60 linee sulla tipologia bolognese derivanti dalla segregazione di un ibrido. In pieno campo sono state valutate anche le resistenze in vivo ad oidio e peronospora in condizioni di inoculo naturali.

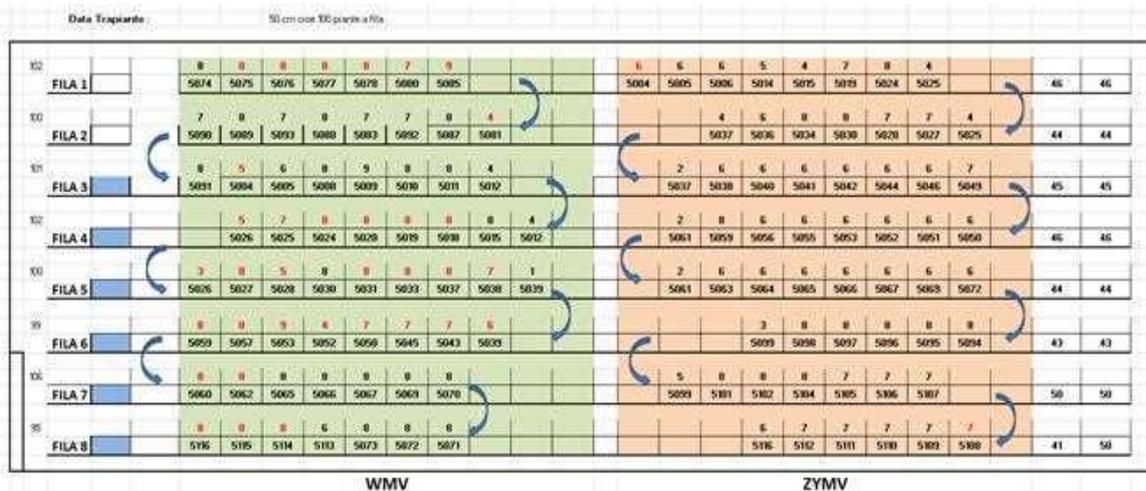
Sulla base delle caratteristiche fenotipiche si è provveduto a selezionare ed autofecondare su singola pianta.



#### SECONDO CICLO 2022

Le piante sono state infettate con i due virus il 29/7/2022 e 5/8/2022 e selezionate in base alla risposta; dopo circa 1 settimana- 10 giorni si è provveduto al trapianto in serra il 19/8/2022 delle singole piante resistenti, per accelerare i tempi di trapianto, le successive selezioni per resistenza sono state effettuate direttamente in serra.

Qui di seguito la mappa di campo:



Anche in questo ciclo culturale le linee sono state selezionate per resistenza e per caratteri fenotipici, sono state autofecondate e incrociate tra loro con un piano di incroci sperimentali per ottenere ibridi da valutare durante l'anno 2023. Sulle medesime parcelle è stato effettuato uno screening di resistenza a infezione naturale a Oidio e Peronospora.

### PRIMO CICLO SERRA 2023

Le linee sono state caratterizzate per resistenza e le singole piante resistenti sono state trapiantate il serra in due date distinte: piante resistenti a ZYMV il 23/3/2023 e piante resistenti a WMV il 29/3/2023. Di seguito la mappa di campo:



Si è provveduto come per il 2022 a selezionare in serra le singole piante per resistenza e caratteristiche fenotipiche e ad effettuare l'autoimpollinazione manuale delle singole piante. I frutti autofecondati sono stati raccolti a maturazione fisiologica del seme che è stato estratto manualmente, asciugato, catalogato e riseminato immediatamente per un secondo ciclo di selezione.

### SECONDO CICLO 2023

Il 22/8/2023 sono state trapiantate in serra le linee non inoculate, ma testate in laboratorio per resistenza a ZYMV e WMV. Infatti, per accelerare i tempi ed evitare ritardi nell'attecchimento

della pianta dovuti allo stress generato sulle piante dall'inoculazione in cella, sono state trapiantate piante non inoculate .

Di seguito la mappa di campo:

25 Lotti (max 60-90 piante a fila)											
31-9											
80	FILA 1	779	780	781	782	783	784	786	787	788	789
80	FILA 2			789	790	797	796	795	794	793	790
80	FILA 3	702	703	704	705	708	710	712	713	715	719
80	FILA 4			733	731	730	729	728	727	724	723
80	FILA 5	733	735	737	738	741	743	744	745	747	
80	FILA 6			759	758	757	756	755	755	752	749
80	FILA 7	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769
80	FILA 8			778	777	776	775	774	773	772	770

Le linee stabilizzate nell'ultimo ciclo del 2023 sono state caratterizzate da un punto di vista fenotipico per diversi caratteri, sia legati alla pianta che al frutto; alcuni caratteri sono quelli di riferimento del CPVO, altri sono caratteri individuati da sativa che reputiamo essenziali da un punto di vista agronomico e qualitativo, come la lucentezza del frutto o la qualità dei fiori maschili o la spinescenza del picciolo e la peluria nel frutto.

- Pianta: habitus
- Pianta: vigore
- Pianta: copertura fogliare
- Pianta: spinescenza foglie e fusto
- Pianta: spinescenza piccioli
- 12. Leaf blade: size
- 13. Leaf blade: incision
- 14. Leaf blade: intensity of green colour of upper surface
- 15. leaf blade: silvery patches
- 16. Leaf blade: relative area covered by silvery patches
- Fiore: Qualità del fiore
- Fiore, dimensione attacco florale (fiore femminile)
- Fiore, presenza fiori maschili



- 27. Young fruit: main colour of skin (excluding colour of ribs or grooves)
- 26. Young fruit: general shape
- Fruit: size of stripes
- Frutto: lucentezza dell'epidermide
- 29. Only varieties with green colour of skin: intensity of green colour
- 30. Fruit: general shape (mature fruit)
- 46. Fruit: grooves
- 47. Fruit: depth of grooves
- 48. Fruit: ribs
- 49. Fruit: protrusion of ribs
- Fruit: stripes
- 57. Fruit: dots
- 77. Seed: size
- 58. Fruit: size of main dots
- 64. Fruit: size of flower scar
- 65. Fruit: length of peduncle
- Diameter of peduncle
- 69. Ripe fruit: main colour of skin (excluding colour of mottles, patches, stripes, brands)
- 70. Ripe fruit: intensity of main colour of skin (only yellow and orange)



## **b) INTROGRESSIONE RESISTENZA A ToLCNDV:**

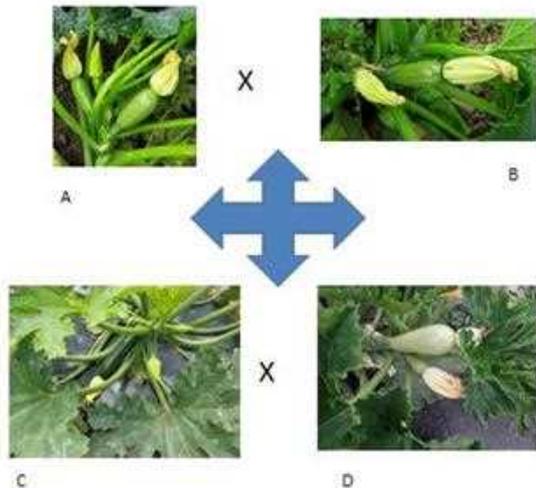
### **Materiali e metodi:**

Nel 2022 sono state identificate due fonti di resistenza affidabili per questa nuova virosi emergente.

Trattandosi di ibridi si è provveduto ad autofecondarli per generare una popolazione segregante e incrociarli con altri ibridi per creare una multiparental line population che consenta di inserire simultaneamente diversi geni in una medesima popolazione.

Sono state incrociate i seguenti ibridi:

- A) IBRIDO TIPOLOGIA GIAMBO derivante dall'incrocio di due linee in BC2F3 portatrici di geni di resistenza a ZYMV-CMV-WMV;
- B) IBRIDO TIPOLOGIA BOLOGNESE portatore di resistenze multiple a oidio e peonospora e pianta più eretta e vigorosa;
- C) IBRIDO TIPOLOGIA CILINDRICO SCURO portatrice di resistenza a ToLCNDV;
- D) IBRIDO TIPOLOGIA CLAVATO CREMA portatrice di resistenza a *Phytophthora capsici*.



### **Risultati:**

Questi materiali sono stati inter-incrociati tra loro nel 2022 e 2023 ed è stata ottenuta una popolazione segregante molto ampia da caratterizzare. La popolazione ottenuta tramite incroci manuali pianta a pianta è stata creata inter-incrociando a due a due gli ibridi nel 2022, mentre nel 2023 sono state seminate ed inter-incrociate 100 piante per ogni singolo incrocio a quattro vie.

### **Discussione e Conclusioni:**

È chiaro che una popolazione come questa in zucchini richiederà un notevole sforzo per essere caratterizzata e selezionata, ma altresì permetterà di velocizzare l'introggressione di un notevole numero di caratteri, alcuni dei quali anche complessi come controllo genico. Inoltre permetterà di far esplodere la variabilità intrinseca e di generare notevoli segregazioni. Occorrerà seminare e fenotipizzare per molteplici caratteri, soprattutto di resistenza, per concentrare la popolazione e ridurre il numero di individui già nei prossimi cicli produttivi.

### **c) VALUTAZIONE DELLE LINEE PER TOLLERANZA AD OIDIO E PERONOSPORA:**

#### **Materiali e metodi:**

Le linee del progetto sono state testate per resistenza ad oidio e peronospora in condizioni controllate presso AGROINNOVA ed in condizioni naturali presso Sativa.

Soprattutto con semine e trapianti estivi autunnali, si è potuto verificare direttamente in serra /campo la resistenza dei diversi materiali. Le prove sono state condotte evitando trattamenti anticrittogamici in modo da favorire la diffusione dei funghi. Alla fine di ogni ciclo di selezione le linee saranno valutate per resistenza a oidio e peronospora, la diffusione delle malattie sarà favorita dalla eliminazione dei trattamenti fungicidi e sviluppo dei patogeni presenti naturalmente, soprattutto nel ciclo estivo-autunnale.

Tale valutazione sarà semplicemente di PRESENZA/ASSENZA patogeno sulle foglie apicali per quanto riguarda l'oidio, mentre daremo una scala di suscettibilità da 1 a 5 per quanto riguarda la peronospora (1-assente/5- copertura fogliare 100%).



### **Discussione dei risultati:**

La resistenza ad oidio in campo a seguito di inoculazione si manifesta come una tolleranza e una risposta della pianta all'attacco fungino limitando la sua diffusione solo alle foglie basali. L'apice vegetativo risulta sano e l'accrescimento regolare.

Detto ciò sono state identificate delle linee nella popolazione segregante di bolognese che sono risultate altamente tolleranti, mentre nei parentali di Giambo derivanti da back cross solo una linea ha manifestato una tolleranza buona all'attacco fungino.

Per quanto riguarda la resistenza a peronospora, le linee derivanti da segregazione di bolognese e le linee derivanti da back cross di giambo sono state saggiate sia in ambiente controllato presso AGROINNOVA che in pieno campo in condizioni di inoculo naturale.

Anche in questo caso in periodo estivo ed autunnale si manifestano bene i sintomi su pianta e anche in questo caso si sono discriminate bene le linee tolleranti e quelle altamente suscettibili.

### **Conclusione:**

In campo si sono confermati e consolidati i risultati ottenuti presso AGROINNOVA in ambiente controllato, questo ha consentito di pianificare programmi di incrocio sperimentale orientati all'ottenimento di varietà con tutte le resistenze piramidate insieme.

### **Attività 2.1.2 - Valutazione tecnico-agronomica delle varietà-ibridi resistenti.**

**UNITA' OPERATIVA:** SATIVA, AGROINNOVA, società agricola MARZADURI.

**Obiettivi:** l'attività si pone come obiettivo la valutazione da un punto di vista agronomico e fenotipico degli ibridi prototipali sviluppati all'interno del progetto. Le valutazioni saranno effettuate sia in campo che in laboratorio e andranno a considerare tutti gli aspetti presi in esame, sia di resistenza che fenotipici. Di seguito sono descritte le modalità operative per raggiungere l'obiettivo.

### **Materiali e Metodi:**

PROVE DI LABORATORIO, VALUTAZIONE LIVELLO DI RESISTENZA A VIROSI.

È stato applicato il protocollo di infezione messo a punto da Consorzio Sativa analogo al test effettuato sulle linee.

I ceppi virali utilizzati sono: DSMZ – 0416 per ZYMV, DSMZ – PV0474 per CMV, DSMZ – PV0394 per WMV. Le fasi operative sono le medesime del test utilizzato per valutare la resistenza delle linee:

1. Semina dei campioni in polistirolo con inseriti i testimoni resistenti e suscettibili,
2. l'infezione delle piante allo stadio di cotiledone con l'inoculo composto da buffer specifico, tessuto fogliare infetto e carborundum (foto 1-2)
3. lettura dei sintomi dopo 7-14-21 dpi
4. classificazione delle piante in base ai sintomi manifestati in R1-R2-S3-S4

Classificazione delle piante secondo 4 classi di resistenza:

- R1= resistenza assoluta, dopo l'inoculazione le foglie si presentano pulite, con un accrescimento regolare.
- R2= pianta resistente, che manifesta un accrescimento regolare, ma con qualche rottura di colore-puntino clorotico.
- S3= pianta suscettibile con decolorazioni, arricciamenti e deformazioni delle foglie.
- S4= pianta suscettibile, che arriccias le foglie, decolora e muore.

I test sono stati effettuati sugli ibridi ove era disponibile il seme in quantitativi sufficienti.



SINTOMI di Cucumber Mosaic Virus



Sintomi di Watermelon Mosaic Virus



Sintomi di Zucchini Yellow Mosaic Virus

### **Risultati:**

I risultati di tali test hanno mostrato che nel 2022 ancora era presente una certa instabilità e variabilità dei materiali, dovuto ad una mancanza di omogeneità delle linee, che è stata superata nel 2023, quando le linee sono risultate stabili e omogenee per i caratteri di resistenza.

Gli ibridi derivati dall'incrocio delle linee BC di Giambo sono risultati tutti resistenti ai tre virus e questa resistenza si è manifestata anche in campo in entrambi i cicli colturali.

### **PROVE DI CAMPO, VALUTAZIONE FENOTIPICA DEGLI IBRIDI SPERIMENTALI:**

#### **1) PRIMA PROVA ALAC 2022**

In data 26/4/2022 sono stati seminati presso il vivaio Garattoni i primi 16 ibridi sperimentali, che erano stati prodotti l'anno precedente per valutare l'attitudine combinatoria delle linee, più tre testimoni di riferimento.

Le linee, essendo ad inizio progetto, ancora non risultavano stabili, ma manifestavano comunque un buon livello di uniformità. L'alveolo utilizzato era quello del 77 fori e ove disponibile sono stati seminati 33 semi per ibrido.

La germinazione degli ibridi sperimentali è stata ottimale, comunque sono state messe a dimora 10 piante per numero. Il trapianto è avvenuto il 12/5/2022.

I caratteri che sono stati valutati, essendo incroci tra linee BC di Giambo, sono stati quelli che contraddistinguono maggiormente la tipicità di questo ibrido.

Particolare attenzione è stata posta nella forma del frutto, a botticella, e nel colore del frutto, verde chiaro, ma non troppo.

In Alac purtroppo la pressione virale è scarsa e quindi a fatica si vedono sintomi di virosi sulle piante, ancor più essendo coltivate in un ciclo primaverile, che ne limita la diffusione.

I caratteri presi in considerazione, rispetto ai testimoni di riferimento, Giambo-Selezione bolognese – Shorouq, sono stati:

- Precocità di fioritura e primo frutto allegato
- Caratteri di pianta: portamento strisciante, vigoria della pianta e copertura fogliare, presenza di ricacci secondari, marezatura.
- Produttività

- Forma, colore e lucentezza del frutto.

Molte parcelle sono state eliminate perché presentavano notevoli ricacci, e di conseguenza sono state eliminate anche le linee parentali che manifestavano questo carattere.

Altri ibridi sono stati scartati perché troppo scuri.

E' apparsa molto interessante, almeno inizialmente, una forma più a botticella rispetto all'ibrido Giambo, che ricordava maggiormente la selezione.



## **2)PRIMA PROVA AZ. AGRICOLA MARZADURI 2022**

Durante l'annata 2022, presso l'azienda agricola Marzaduri è stata impostata una prova su ciclo estivo autunnale degli ibridi in prova.

Sono stati seminati in data 4/7/2022 22 ibridi più tre testimoni di riferimento.

Il trapianto è stato effettuato il 14/7/2022. Il numero di piante per parcella variava dalle 10 alle 50. Sono stati replicati i 10 ibridi che nel primo ciclo alac erano risultati più interessanti oltre che 12 ibridi nuovi che erano stati prodotti in serra durante il primo ciclo di prove.

L'areale bolognese manifesta una pressione notevole di virosi, oltre che un forte attacco di malattie fungine, quali oidio e peronospora; soprattutto in questo ciclo che incontra in piena produzione un clima con escursione termica elevata e forte umidità soprattutto in mattinata.

Diversi ibridi, anche se in laboratorio erano risultati tolleranti a virosi hanno manifestato i sintomi, soprattutto perché alcune linee utilizzate in questo primo ciclo manifestavano ancora variabilità per questi caratteri.



Sintomi di virosi nelle piante

#### **Risultati:**

Nonostante la presenza in alcune parcelle di questi sintomi virali, alcuni ibridi sono risultati molto interessanti da un punto di vista fenotipico, perché presentavano un frutto molto caratteristico per la tipologia e una precocità e produttività molto simile a Giambo. Inoltre rispetto a Giambo e alla selezione ante 70 presentavano un'ottima resistenza a virosi.



Sono stati individuati inizialmente 8 ibridi molto interessanti sul segmento Giambo, alla fine del ciclo colturale però questo numero è stato ridotto a 4 genotipi.

Il problema principale riscontrato in questo ciclo produttivo è stata l'assenza di resistenza ad oidio e peronospora, che risultano indispensabili per affrontare questi trapianti tardivi.

### **3)SECONDA PROVA ALAC 2022**

In data 28/7/2022 sono stati seminati in Alac 55 ibridi più i 3 testimoni di riferimento. Il trapianto è avvenuto in data 5/8/2023. Il sesto d'impianto è 1 x 1,40mt, irrigazione a manichetta e pacciamatura biodegradabile. Sono state messe a dimora 11 piante per parcella.

Nella lista sono stati inseriti tutti i materiali prodotti sia nel 2021 che nel 2022, per poter avere una visione globale del fenotipo e dell'attitudine combinatoria delle varie linee.

Molti di questi materiali erano gli stessi trapiantati nel bolognese presso l'azienda Marzaduri.

Nel Cesenate è inferiore la pressione virale, mentre molto bene si evidenziano le caratteristiche morfologiche della pianta, soprattutto la produzione di ricacci laterali.

Le parcelle sono state valutate attentamente per ridurre il numero di ibridi e linee da utilizzare.

Meno rilevante è stata la valutazione delle resistenze biotiche, che siano essere virali o fungine.

#### **Risultati:**

Sono stati individuati 4 ibridi con caratteristiche tipiche e simili a giambo che hanno risposto meglio in entrambe le località sia a fattori biotici che a caratteristiche qualitative e morfologiche della pianta e del frutto.



#### **4)PRIMA PROVA AZ. AGRICOLA MARZADURI 2023**

Durante l'annata 2023, presso l'azienda agricola Marzaduri è stata impostata una prova su ciclo primaverile anticipato in serra degli ibridi risultati più interessanti nel 2022 sul segmento Giambo.



La semina è stata effettuata in data 12 gennaio 2023 in alveoli del formato del 40 fori. Sono state seminate tre seminiere per numero per riuscire ad avere circa 100 piante disponibili per il trapianto.

I quattro numeri sono stati seminati insieme al testimone di riferimento Giambo.

La prova è stata impostata all'interno di una serra di produzione di Giambo, inserendo le parcelle in un settore, disponendo un numero di 100 piante per parcella a file parallele.

Il trapianto è avvenuto in data 10/2/2023. La stagione è stata caratterizzata da una primavera molto piovosa, ma le temperature sono state miti durante i primi mesi dell'anno.

Le piante hanno vegetato regolarmente, sono stati rilevati la precocità, la vigoria della pianta e la produttività. Inoltre sono stati prelevati i campioni dei frutti per effettuare i test organolettici sul frutto presso il laboratorio di Astra.



### Risultati:

Purtroppo la prova è stata in parte compromessa da un forte attacco di Fusarium che ha colpito questa zona della serra e molte piante nelle parcelle sono collassate. È comunque stato possibile fare delle valutazioni chiare sulla tipologia del frutto, come forma e colore, e sulla pianta, come vigoria, portamento e produttività.

Specialmente un ibrido è risultato interessante per la vigoria maggiore della pianta e la copertura fogliare, mantenendo inalterata la tipicità del frutto.

Il mercato di riferimento dell'azienda agricola Marzaduri è principalmente la vendita diretta, di zucchini sfuso. Quindi lo zucchini viene raccolto piuttosto piccolo, questo fattore è risultato importante perché permette di valutare positivamente anche forme più corte e clavate rispetto a Giambo, cosa che non andrebbe bene per un prodotto destinato al confezionamento, ove invece si prediligono forme un po' più cilindriche e allungate.





### **5)PRIMA PROVA ROVERSI 2023**

In data 24/5/2023 sono stati seminati a Budrio presso l'azienda agricola Roversi 42 ibridi più i 4 testimoni di riferimento. Il trapianto è avvenuto in data 7/6/2023.

A seguito dell'alluvione avventa a maggio 2023, si è dovuto posticipare il trapianto a giugno perché i campi erano allagati e non si è riusciti a lavorarli presto.

Si è deciso di trapiantare nell'areale del bolognese perché la prova è più significativa e la pressione virale e fungina molto alta. Gli ibridi sperimentali in queste condizioni hanno manifestato al massimo pregi e difetti.



La prova era inserita in un campo di produzione di bolognese dove era coltivata la varietà di riferimento shorouq. Questa varietà si presta molto a una coltivazione in pieno campo, per la vigoria estrema della pianta e la rusticità. Il frutto però si discosta dalla tipologia essendo più clavato e meno a botticella.

In questa prova, gli ibridi in esame erano tutti strettamente collegati a Giambo, derivando da back cross con le due linee parentali.

Di questi ibridi molti sono stati scartati perché troppo scuri di colorazione e alcuni perché presentavano un frutto troppo grosso e corto rispetto alle esigenze del mercato. La pianta si è manifestata più vigorosa di Giambo in molti ibridi sperimentali, ma il portamento è risultato sempre strisciante.

La resistenza a virosi è sicuramente maggiore di giambo, anche se alcuni di essi hanno presentato alcuni sintomi.

**Risultati:**

Tra le 42 parcelle sono state selezionate 10 parcelle come interessanti da rivedere.

Si è però confermata l'esigenza per il pieno campo di una pianta più eretta ed asurgente rispetto agli ibridi sulla tipologia Giambo. Inoltre la tolleranza ad oidio e peronospora è risultata fondamentale.

**6)SECONDA PROVA ROVERSI 2023**

In data 1/8/2023 sono stati seminati a Budrio presso l'azienda agricola Roversi 40 ibridi più i 4 testimoni di riferimento. Il trapianto è avvenuto in data 10/8/2023.



Sono state trapiantate 10 piante per numero, la prova era inserita all'interno di un campo di produzione di shorouq.

In valutazione c'erano i 10 ibridi risultati più interessanti nel primo ciclo colturale ed in più 30 ibridi nuovi risultanti dall'incrocio tra una delle due linee parentali di giambo, derivante da BC per inserimento resistenza a virosi, e altre linee derivanti dalla segregazione dell'ibrido tipologia bolognese con resistenza ad oidio e peronospora. Delle linee del bolognese sono state utilizzate quelle che dai primi test condotti da AGROINNOVA si erano confermate resistenti ad oidio.

Si è riscontrato in campo una maggiore resistenza ad oidio e peronospora, soprattutto in alcuni materiali. Però negli ibridi dove erano state utilizzate le linee maschili in BC di giambo, il frutto è risultato troppo allungato e sottile.

**Risultati:**

Si sono identificati due materiali interessanti e che potrebbero essere un giusto compromesso tra resistenze e tipicità.



## **7) PRIMA PROVA ALAC 2023**

In data 1/8/2023 sono stati seminati in Alac 40 ibridi più i 4 testimoni di riferimento. Il trapianto è avvenuto in data 11/8/2023. Il sesto d'impianto è 1 x 1,40mt, irrigazione a manichetta e pacciamatura biodegradabile. Sono state messe a dimora 11 piante per parcella.

Gli ibridi sono gli stessi trapiantati a Budrio.



Rispetto all'areale Bolognese la pressione virale e fungina è risultata inferiore, nonostante i trattamenti fungicidi siano stati azzerati.

Comunque a fine ciclo, verso metà ottobre anche in questa zona si è manifestata appieno la tolleranza o suscettibilità.



**Risultati:**

Anche in questa prova si sono confermati gli stessi ibridi individuati nell'areale di Bologna. Questi due materiali, indicati come siglati SAT 23-629 e SAT 23-630, si caratterizzano per avere una pianta più eretta e asurgente, precocità e produzione; frutto un po' più allungato rispetto a Giambo ma con la stessa colorazione e forma a botticella.



Questo è un ottimo punto di partenza per impostare prove più approfondite durante il 2024.

#### **Prodotti:**

Sono stati sviluppati 7 campi di selezione: 3 ALAC (22-23), 2 Marzaduri (22-23), 2 Roversi (23). Al termine dei diversi cicli produttivi sono stati identificati due ibridi interessanti per la coltivazione in pieno campo, che combinano resistenza a virosi, resistenza ad oidio e peronospora, pianta asurgente ed eretta che ne facilita la coltivazione e la raccolta, ma anche l'arieggiamento della pianta. Per la coltivazione in ciclo precoce in serra sono risultati interessanti 10 materiali che saranno oggetto di valutazione in ciclo precoce in serra nel 2024.

#### **Attività 2.1.3 - Caratterizzazione molecolare delle varietà sviluppate.**

**Unità Operative:** CREA-GB Montanaso Lombardo.

**Obiettivi:** l'attività si pone come obiettivo la caratterizzazione molecolare e la distanza genetica fra diverse accessioni di quelle oggetto di indagine.

#### **Materiali e Metodi:**

Le attività condotte dal consulente CREA-GB sede di Montanaso Lombardo hanno riguardato l'estrazione del DNA delle accessioni di zucchini fornite dal partner Sativa, i controlli di qualità del DNA estratto, la organizzazione del servizio di caratterizzazione molecolare mediante GBS e la elaborazione dei risultati ottenuti.

L'elenco delle accessioni, dettagliato in tabella 1, comprende 4 differenti varietà di zucchini (varietà Bolognese, parentali femminile e maschile dell'ibrido tradizionale GIAMBO e una linea R resistente a virus), due ibridi (ibrido tradizionale GIAMBO e ibrido commerciale Resistente), nonché piante appartenenti alle differenti progenie derivate dall'incrocio di queste diverse varietà. L'obiettivo era quello di impiegare i dati di genotipizzazione delle piante delle progenie per analisi comparative e filogenetiche al fine di evidenziare possibili relazioni di parentela o diversità tra loro e con le loro varietà di origine. Inoltre, si cercherà di identificare loci putativamente unici e caratteristici dei parentali o delle singole piante utili per lo sviluppo di marcatori molecolari utili alla identificazione varietale e per la valutazione della purezza del seme.

*Tabella 1: lista campioni. Per ogni campione, numero parcella, ID GBS, descrizione e codice identificativo progenie forniti dalla ditta Sativa sono indicati.*

<b>ZUCCHINO 2023</b>			
<b>SEMINA: 28/02/2023</b>			
<b>parcella</b>	<b>GBS sample</b>	<b>GBS CREA LODI</b>	
<b>1</b>	<b>#113</b>	<b>BOLOGNESE varietà ante 70</b>	<b>A9600</b>
<b>2</b>	<b>#114</b>	<b>BOLOGNESE varietà ante 70</b>	<b>A9600</b>
<b>3</b>	<b>#115</b>	<b>BOLOGNESE varietà ante 70</b>	<b>A9600</b>
<b>4</b>	<b>#116</b>	<b>GIAMBO ibrido tradizionale</b>	
<b>5</b>	<b>#117</b>	<b>GIAMBO ibrido tradizionale</b>	
<b>6</b>	<b>#118</b>	<b>GIAMBO ibrido tradizionale</b>	
<b>7</b>	<b>#119</b>	<b>linea femminile ibrido tradizionale</b>	<b>N9667</b>
<b>8</b>	<b>#120</b>	<b>linea femminile ibrido tradizionale</b>	<b>N9667</b>
<b>9</b>	<b>#121</b>	<b>linea maschile ibrido tradizionale</b>	<b>G9034</b>
<b>10</b>	<b>#122</b>	<b>linea maschile ibrido tradizionale</b>	<b>G9034</b>
<b>11</b>	<b>#123</b>	<b>ibrido commerciale resistente</b>	
<b>12</b>	<b>#124</b>	<b>ibrido commerciale resistente</b>	
<b>13</b>	<b>#125</b>	<b>ibrido commerciale resistente</b>	

14	#126	linea fonte di resistenza a virus	19-43/3
15	#127	linea fonte di resistenza a virus	19-43/3
16	#128	linea fonte di resistenza a virus	19-43/3
17	#129	LINEA PARENTALE 1 , <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese	18-538/1
18	#130	LINEA PARENTALE 2, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16)ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese	18-546/1
19	#131	LINEA PARENTALE 3 (deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5075
20	#132	LINEA PARENTALE 4 (deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5076
21	#133	LINEA PARENTALE 5 (deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5078
22	#134	LINEA PARENTALE 6(deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5080
23	#135	LINEA PARENTALE 7(deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5081
24	#136	LINEA PARENTALE 8(deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5083
25	#137	LINEA PARENTALE 9(deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5085
26	#138	LINEA PARENTALE 10(deriva da incrocio tra linea femminile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo)	22-5087

27	#139	LINEA PARENTALE 11(deriva da incrocio tra linea femminile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile gambo)	22-5088
28	#140	LINEA PARENTALE 12(deriva da incrocio tra linea femminile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile gambo)	22-5089
29	#141	LINEA PARENTALE 13(deriva da incrocio tra linea femminile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile gambo)	22-5091
30	#142	LINEA PARENTALE 14(deriva da incrocio tra linea femminile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile gambo)	22-5092
31	#143	LINEA PARENTALE 15(deriva da incrocio tra linea femminile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile gambo)	22-5093
32	#144	LINEA PARENTALE 16(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5094
33	#145	LINEA PARENTALE 17(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5095
34	#146	LINEA PARENTALE 18(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5096
35	#147	LINEA PARENTALE 19(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5097
36	#148	LINEA PARENTALE 20(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5098
37	#149	LINEA PARENTALE 21(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)	22-5099
38	#150	LINEA PARENTALE 22(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da	22-5102

		<b>diversi cicli di BC con linea maschile gambo)</b>	
<b>39</b>	<b>#151</b>	<b>LINEA PARENTALE 23(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)</b>	<b>22-5104</b>
<b>40</b>	<b>#152</b>	<b>LINEA PARENTALE 24(deriva da incrocio tra linea maschile gambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile gambo)</b>	<b>514N</b>
<b>41</b>	<b>#153</b>	<b>LINEA PARENTALE 25, non incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma derivano dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-306</b>
<b>42</b>	<b>#154</b>	<b>LINEA PARENTALE 26, altra tipologia</b>	<b>23-195</b>
<b>43</b>	<b>#155</b>	<b>LINEA PARENTALE 27, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-325</b>
<b>44</b>	<b>#156</b>	<b>LINEA PARENTALE 28, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-331</b>
<b>45</b>	<b>#157</b>	<b>LINEA PARENTALE 29, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-332</b>
<b>46</b>	<b>#158</b>	<b>LINEA PARENTALE 30, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-334</b>
<b>47</b>	<b>#159</b>	<b>LINEA PARENTALE 31, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-356</b>
<b>48</b>	<b>#160</b>	<b>LINEA PARENTALE 32, <u>non</u> incrociato con fonte di resistenza (14-15-16), ma deriva dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese</b>	<b>22-358/1</b>

Per ogni accessione, sono state prelevate le foglie da due piante ai fini della genotipizzazione di tipo high-throughput mediante un round di genotyping by sequencing (GBS).

Un pezzetto di foglia (lungo circa 2 cm) è stato campionato da ogni singola foglia per accessione e congelato in azoto liquido. Il materiale è poi stato unito e usato per estrarre il DNA. Il DNA, controllato per qualità mediante gel elettroforesi e quantificato mediante nanodrop, è stato poi inviato al provider del servizio di genotipizzazione che ha effettuato tutti i controlli di qualità e i sequenziamenti come riassunto nella figura 2.



Figura 2: pipeline di attività quality control + GBS.

### Analisi del controllo di qualità

Il controllo di qualità (QC) è stato eseguito su tutti i campioni di DNA. La quantità di DNA è stata misurata utilizzando il test Qubit dsDNA BR (ThermoFisher), mentre la purezza è stata controllata con il sistema Nanodrop (Thermo Fisher Scientific).

Tutti i campioni hanno soddisfatto i requisiti di quantità minima necessaria, ma una purezza variabile. In particolare, 18 campioni avevano un rapporto 260/230 non ottimale (figura 3) e, di questi, 16 campioni presentavano un'ombra di colore verde/giallo, indicativa di una possibile presenza di polifenoli. L'integrità del DNA dei campioni è stata comunque valutata per tutti i campioni utilizzando il Tape Station 4150 (Agilent Technologies) e ha mostrato un elevato numero di integrità del DNA (DIN) nell'intervallo 8-9,7.

## CAMPIONI ZUCCHINO – valutazione purezza e concentrazione

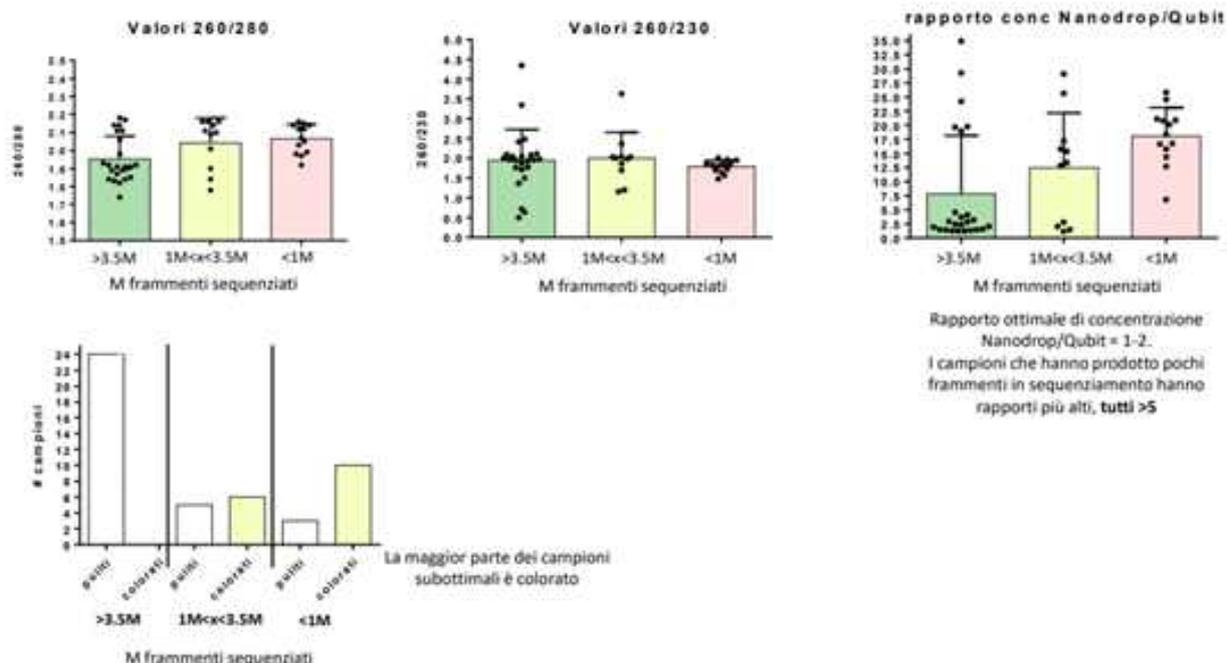


Figura 3: valutazione purezza e concentrazione campioni estratti.

### Preparazione della libreria e sequenziamento

200 ng di DNA sono stati digeriti con gli enzimi di restrizione MseI+TagaI (New England Biolabs Inc.). Gli adattatori di sequenziamento biotinilati sono stati legati e i campioni sono stati raggruppati in 2 pool di 24 campioni ciascuno. I pool sono stati purificati con un volume pari a 0,75x di AMPure XP Beads (Beckman Coulter) e poi i frammenti biotinilati sono stati catturati con le microsfere di streptavidina M270 (Invitrogen). Secondo le istruzioni del produttore. L'amplificazione PCR è stata eseguita sui frammenti catturati e le librerie ddRAD finali sono state generate dopo un passaggio di purificazione con volume 0,65x con microsfere AMPure XP (Beckman Coulter).

La qualità e la dimensione delle librerie ddRAD sono state valutate mediante analisi elettroforetica capillare con la stazione a nastro Agilent 4200 (Agilent). Le librerie sono state quantificate mediante PCR in tempo reale rispetto ad una curva standard con il KAPA Library Quantification Kit (KapaBiosystems, Wilmington, MA, USA).

## ZUCCHINO – prove digestione con enzimi restrizione

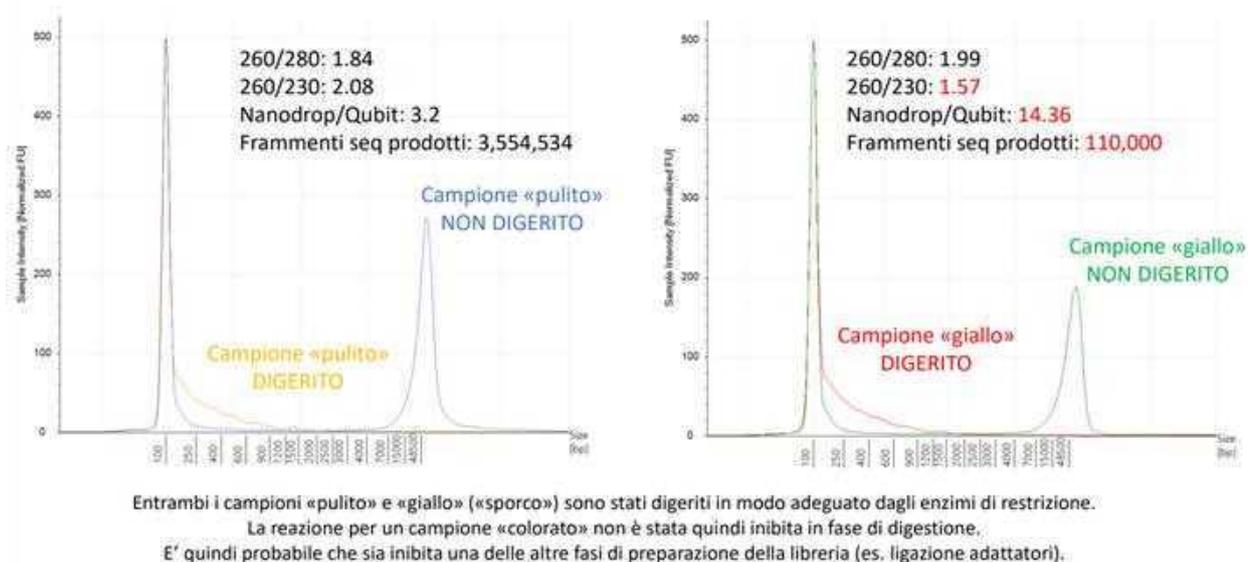


Figura 4: prove di digestione con enzimi di restrizione dei campioni

### Risultati del sequenziamento:

Due librerie multiplex (24 + 24 campioni) sono state raggruppate a concentrazione equimolare e sequenziate su una NovaSeq6000 (Illumina) in modalità 150PE generando 82,99 e 82,90 milioni di frammenti, rispettivamente. Le librerie in pool sono state demultiplexate utilizzando fgbio v1.3.0 sfruttando il codice a barre unico incorporato nei modelli sequenziati di ciascun campione. La procedura di demultiplexing ha generato in media 3,45 milioni di frammenti per campione (riassunti in Tabella2 e dettagliati in Tabella3). Alcuni campioni caratterizzati da un numero eccessivamente basso di reads sono stati sottoposti ad un ulteriore round di purificazione e sequenziamento.

Tabella 2: Statistiche sequenziamento illumina dei pool

NOME DEL POOL	FRAMMENTI SEQUENZIATI	NUMERO CAMPIONI	MEDIA FRAMMENTI SEQUENZIATI) PER CAMPIONE
Pool1_zucchino_ddRAD_Toppino	82,997,455	24	3,458,227
Pool2_zucchino_ddRAD_Toppino	82,909,458	24	3,454,561

Tabella 3: statistica di Illumina sequencing per campione.

Pool name	Sample ID	Barcode	Number of fragments (1° sequencing)	Number of fragments (1°+2° sequencing)
Pool1_zucchino_ddRAD_Toppino	113	GCATG	3,096,154	3,096,154
	114	AACCA	2,280,772	2,280,772
	115	CGATC	1,937,225	1,937,225
	116	TCGAT	5,184,209	5,184,209
	117	TGCAT	7,290,206	7,290,206
	118	CAACC	1,488,172	1,488,172
	119	GGTTG	5,169,516	5,169,516
	120	AAGGA	7,040,691	7,040,691
	121	AGCTA	10,442,540	10,442,540
	122	ACACA	4,700,829	4,700,829
	123	AATTA	5,054,138	5,054,138
	124	ACGGT	3,515,563	3,515,563
	125	ACTGG	6,195,479	6,195,479
	126	ACTTC	622,911	4,507,445
	127	ATACG	313,409	5,408,236
	128	ATGAG	3,953,954	3,953,954
	129	ATTAC	1,394,327	1,394,327
	130	CATAT	829,228	6,190,954
	131	CGAAT	242,602	4,336,064
	132	CGGCT	110,553	3,389,192
133	CGGTA	5,342,685	5,342,685	
134	CGTAC	491,499	3,566,048	
135	CGTCG	1,142,162	1,142,162	
136	CTGAT	5,158,631	5,158,631	

Pool2_zucchini_ddRAD_Toppino	137	GCATG	3,554,534	3,554,534
	138	AACCA	1,447,518	1,447,518
	139	CGATC	167,769	4,033,417
	140	TCGAT	5,464,572	5,464,572
	141	TGCAT	1,060,292	1,060,292
	142	CAACC	263,118	3,661,802
	143	GGTTG	1,307,575	1,307,575
	144	AAGGA	10,797,384	10,797,384
	145	AGCTA	80,311	3,917,214
	146	ACACA	7,579,413	7,579,413
	147	AATTA	4,550,508	4,550,508
	148	ACGGT	3,845,746	3,845,746
	149	ACTGG	6,441,283	6,441,283
	150	ACTTC	201,554	4,807,912
	151	ATACG	4,450,311	4,450,311
	152	ATGAG	11,069,012	11,069,012
	153	ATTAC	346,196	4,870,789
	154	CATAT	5,355,339	5,355,339
	155	CGAAT	4,631,847	4,631,847
	156	CGGCT	75,321	3,531,616
157	CGGTA	6,233,629	6,233,629	
158	CGTAC	127,423	5,688,997	
159	CGTCG	2,492,188	2,492,188	
160	CTGAT	1,366,615	1,366,615	

I dati grezzi di sequenziamento delle librerie possono essere scaricati al seguente indirizzo:

Login: GEN49\_Toppino\_GBS\_Zucchini

Password: aawojaim

URL: [http://ddlab.dbt.univr.it/%7ecentrogenomica/GEN49\\_Toppino\\_GBS\\_Zucchini](http://ddlab.dbt.univr.it/%7ecentrogenomica/GEN49_Toppino_GBS_Zucchini)

Le reads ottenute mediante l'analisi ddRAD sono state elaborate utilizzando il programma Stacks 2.62 ed il comando "process\_radtags" per filtrare le reads di bassa qualità utilizzando i parametri predefiniti in modo da mantenere solo quei marcatori che avevano una percentuale di dati mancanti e una MAF (minor allele frequency) inferiore o uguale al 5%.

I loci sono stati costruiti seguendo la pipeline "de novo" di Stack 2.62, cioè analizzando le reads con "ustacks" per identificare i tags e per identificare gli SNP di ogni individuo. Successivamente, è stato utilizzato "cstacks" per creare un catalogo completo di tutti i loci identificati con "ustacks" e "sstacks" per analizzare i loci di ciascun campione inclusi nel catalogo creato con "cstacks". Successivamente sono stati utilizzati i programmi "tsv2bam" e "gstacks" per incorporare le paired-end reads nei loci, assemblare i contig per ciascun locus e chiamare gli SNP.

Per ottenere informazioni sulle coordinate genomiche dei loci inclusi nel catalogo, l'analisi de novo è stata integrata con il genoma di riferimento di *C.pepo*: I loci inclusi nel catalogo creato con "gstacks" sono stati infatti successivamente mappati sulla sequenza di riferimento di *C.pepo*.

Un totale di più di 8000 marcatori SNP sono risultati affidabili e sono stati dunque mappati sul genoma di zuccino e utilizzati per effettuare le analisi filogenetiche per il confronto delle differenti accessioni.

Sono poi state effettuate:

1. Analisi delle diversità genetica mediante PCA e dendrogramma (mediante R)
2. Analisi della Distribuzione degli alleli unici, utili per discriminare le varietà
3. Lista degli alleli unici per campione: file supplementary 1 (populations.snps.filtered0.95.recode). è un file di testo con 5 colonne: le prime due indicano le coordinate genomiche dell'SNP, la terza indica se si tratta di un singleton o doubleton, la quarta l'allele e la quinta il campione che porta il polimorfismo.

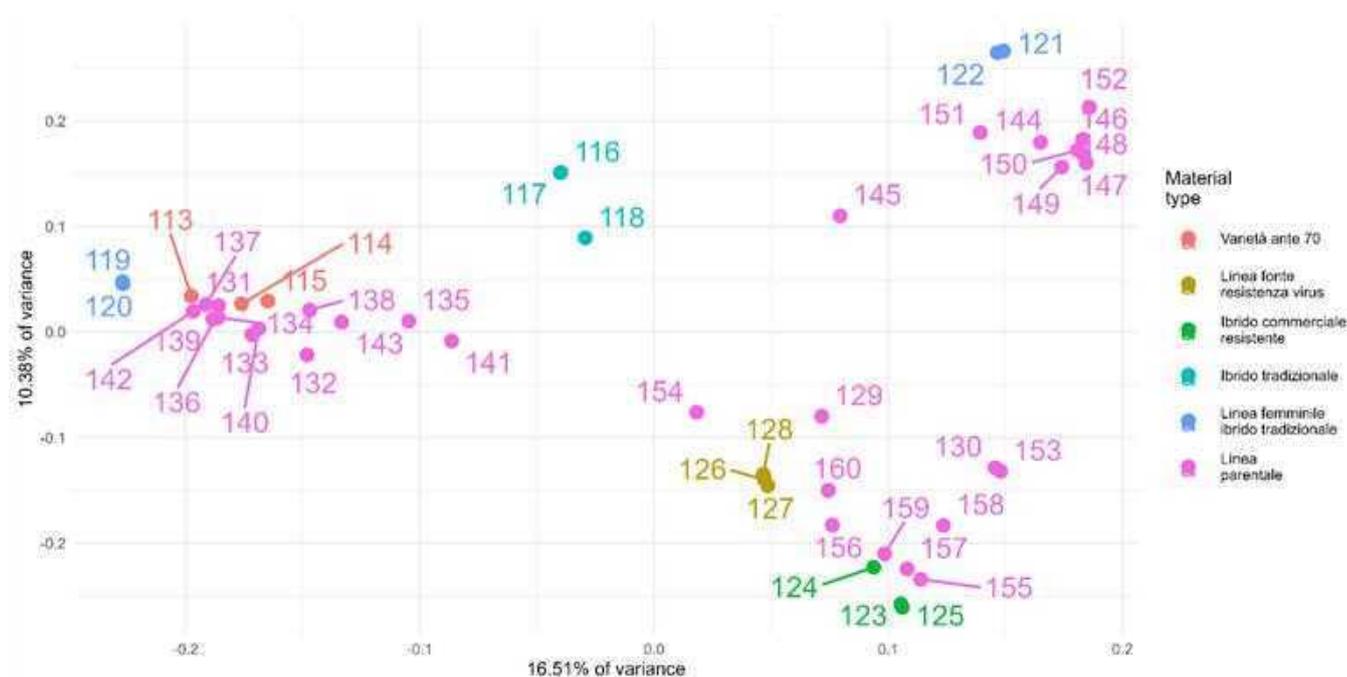


Fig 5. Principal Component Analysis (PCA) dei campioni sottoposti ad analisi GBS. Campioni appartenenti alla medesima varietà sono stati indicati nell'immagine con lo stesso colore.

I dati di genotipizzazione sono stati principalmente utilizzati per costruire una Principal Component Analysis (PCA-Fig2), che fornisce una rappresentazione della distribuzione spaziale dei campioni in base alle loro differenze genetiche, e che consente di valutare in modo molto efficace il grado di similitudine genetica tra i campioni.

## **Discussione:**

L'analisi dei dati ha innanzitutto permesso di rilevare una elevata omogeneità dei parentali utilizzati per ottenere i vari ibridi e le progenie, evidenziata dal fatto che i differenti campioni prelevati per ogni parentale (che nell'immagine 5 hanno la stessa colorazione) localizzano in posizione estremamente ravvicinata tra loro nel grafico e sono pertanto estremamente simili dal punto di vista genetico.

Nel centro della immagine si posizionano i tra campioni dell'ibrido Giambo (116-118, azzurro chiaro), che risultano equidistanti sia dal suo parentale femminile (119-120, blu) che da quello maschile (121 -122, blu). Il parentale femminile del Giambo si posiziona all'interno di un cluster in cui sono anche i tre campioni della varietà antica Bolognese (113-115, arancio) nonché le progenie che derivano da incrocio tra linea femminile Giambo e la fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea femminile giambo (131-143 fucsia). I campioni 135,138, 141 e 143 sembrano discostarsi lievemente da questo cluster, propendendo verso l'ibrido Giambo e la fonte di resistenza. Dall'altra parte, i campioni del parentale maschile di Giambo si collocano in un cluster che contiene anche le progenie 144-152, che derivano da incrocio tra linea maschile giambo e fonte di resistenza, seguito da diversi cicli di BC con linea maschile giambo. Anche in questo caso, il campione 154 si discosta maggiormente dal cluster propendendo verso la fonte di resistenza.

I campioni della fonte di resistenza R (126-128, giallo) si posizionano a poca distanza dal cluster che contiene sia le piante dell'Ibrido Resistente (123-125) che le progenie 129, 130, 153 e 155-160, tutti derivanti dalla segregazione di un unico ibrido tipologia bolognese. L'unico campione che si distingue dagli altri è il 154,

I dati molecolari sono stati poi utilizzati per costruire un dendrogramma (Fig. 6), un grafico in cui i campioni sono posizionati in base alla loro relazione filogenetica permettendo di ricostruire i rapporti di parentela tra i vari genotipi. Si può quindi evidenziare come il campione 154 in questa analisi viene collocato in un cluster insieme al parentale resistente a cui sembra essere più prossimo. I campioni di parentale R e ibrido R rimangono ben distinti tra loro, e collegati a un grosso cluster di campioni di progenie da ibrido tipologia bolognese e di Giambo.

Le progenie dell'incrocio tra maschio giambo e linea R clusterizzano tutte insieme con il maschio con l'unica eccezione del campione 145. Parimenti, le progenie dall'incrocio del parentale femminile di Giambo e la linea R clusterizzano insieme al parentale femminile, alla varietà bolognese, con l'eccezione delle linee 132 e 141.

L'ultimo cluster è costituito dall'ibrido Giambo.

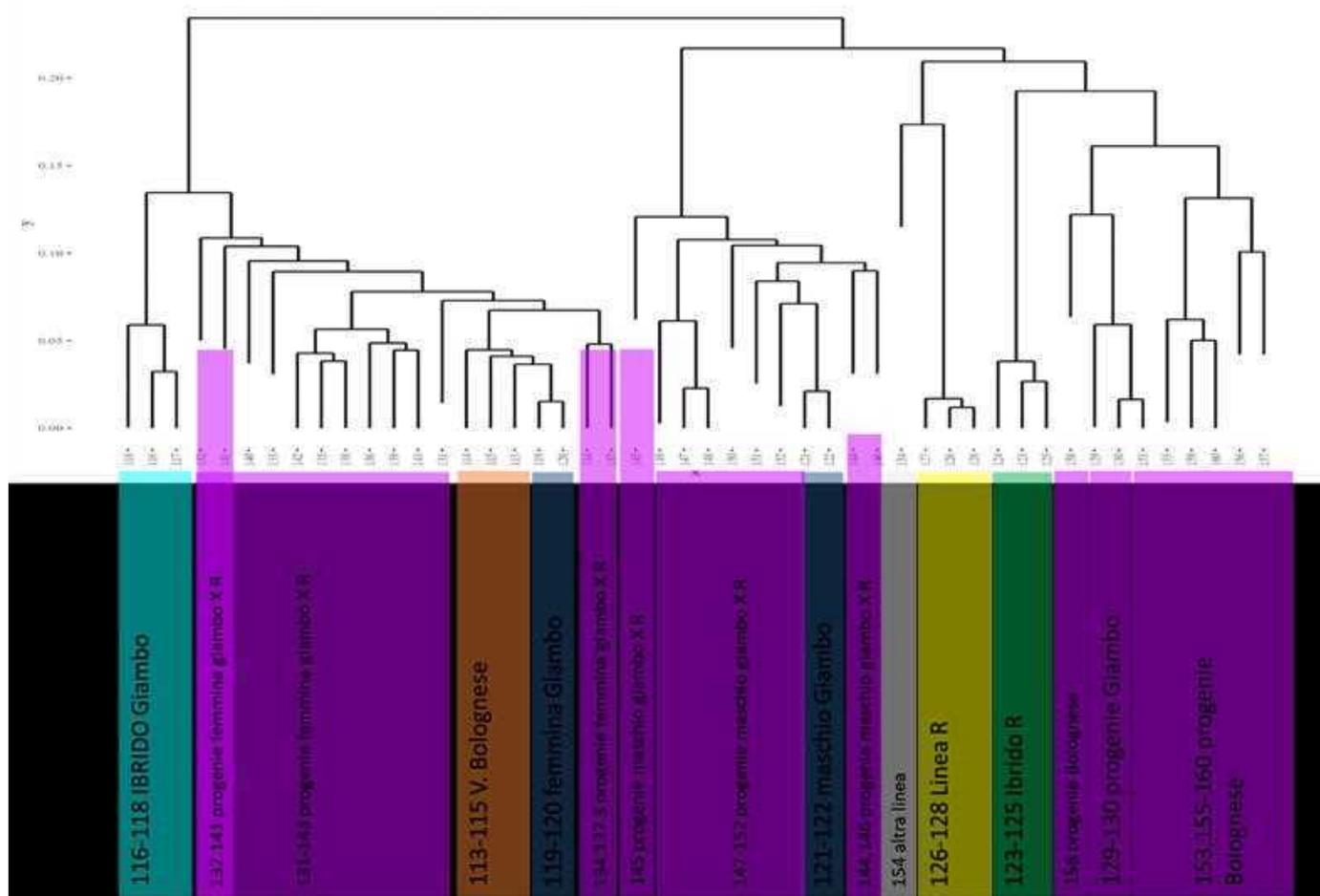


Figura 6: dendrogramma che rappresenta le relazioni di parentela tra i vari campioni.

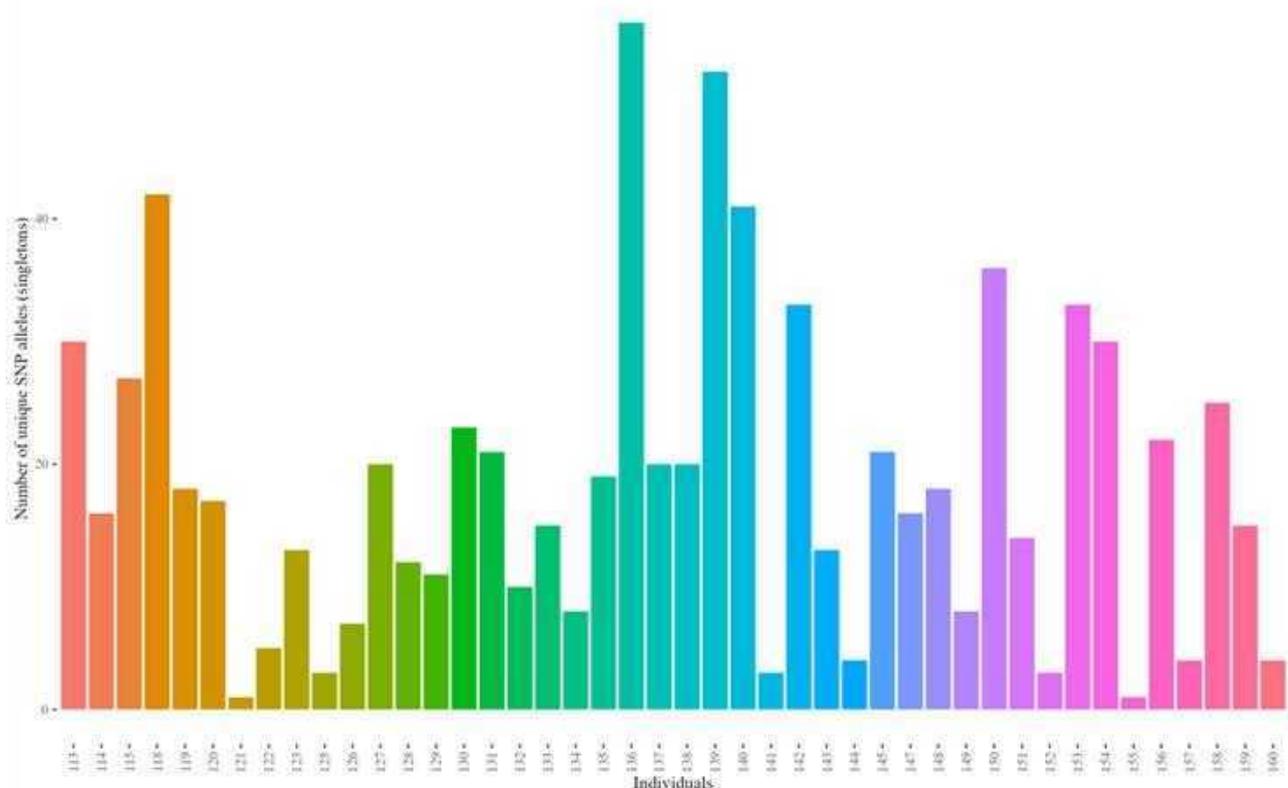
Una caratterizzazione più approfondita dei polimorfismi SNP identificati mediante l'analisi GBS nei singoli campioni ha permesso poi di individuare i polimorfismi SNPs caratteristici di ciascuna pianta, i cui conteggi riassuntivi sono rappresentati nella figura 7, che potranno essere di interesse al fine di individuare marcatori unici per la distinzione varietale.

Una ulteriore analisi è in corso, finalizzata alla individuazione e selezione di polimorfismi distintivi delle varie linee che possano essere poi utilizzati per lo sviluppo di marcatori molecolari, che potranno contribuire a distinguere in modo univoco le varie accessioni prese in considerazione e a creare un patentino molecolare per la loro migliore caratterizzazione. Il GBS ha un tasso di errore piuttosto alto, quindi se si vogliono utilizzare gli SNP identificati per la discriminazione varietale è opportuno ribadire che questi marcatori devono essere prima validati.

L'elenco completo di tutti i polimorfismi individuati, la loro localizzazione nel genoma di *Cucurbita pepo*, e il genotipo che lo possiede sono dettagliati nel supplementary file1

Considerato il ridotto numero di campioni in esame non è però stato possibile identificare regioni cromosomiche associate a tratti fenotipici caratteristici come la resistenza, per i quali

occorrerebbe screenare un numero decisamente più elevato di campioni e effettuare una analisi di associazione della distribuzione allelica con i dati di caratterizzazione fenotipica.



### Prodotti:

In questa attività di caratterizzazione si sono messi a confronto tutti gli attori del progetto dal punto di vista molecolare: varietà di bolognese antica, ibrido di bolognese tradizionale con le rispettive linee parentali, ibrido resistente coltivato nel bolognese nei cicli critici e 31 linee di breeding sviluppate nel progetto. Chiara è la distanza genetica tra le varietà antiche e l'ibrido resistente commercializzato. L'ibrido tradizionale giambo si interseca bene nella tradizione, così come molte linee di breeding sviluppate nel corso del progetto finanziato. Le relazioni tra i materiali esistenti permetteranno di direzionare le attività future in un'ottica del mantenimento delle caratteristiche tradizionali. Inoltre questi dati molecolari potranno essere utilizzati per sviluppare marker specifici per l'identificazione delle varietà.

### Attività 2.1.4 - Analisi dati e individuazione delle proposte varietali.

**Unità Operativa:** Consorzio Sativa

**Obiettivi:** La finalità di questa specifica attività è quella di andare a raccogliere, analizzare, raccordare, interpretare tutti i dati/prodotti risultanti dalle attività di miglioramento genetico e di caratterizzazione qualitativa sensoriale

#### **Materiali e Metodi:**

L'attività svolta ha comportato diversi intrecci operativi ed è stata molto articolata perché si lavorava in parallelo su due fronti, la costituzione di linee di breeding con introgredite le resistenze genetiche e la costituzione di ibridi sperimentali che è l'anello finale che precede la costituzione e l'iscrizione di nuove varietà.

Per fare ciò CONSORZIO SATIVA ha coinvolto nelle diverse fasi di sviluppo del progetto in sessioni congiunte tutti i consulenti coinvolti nel piano così come portatori di interesse esterni al piano al fine di condividere in maniera ampia i caratteri di selezione dello zucchini. Durante gli incontri tecnici di campo si è provveduto a prendere nota di tutti i suggerimenti/consigli derivanti dai tecnici e agricoltori facenti parte del progetto o esterni.

Infine l'analisi, l'approfondimento e l'interpretazione dei dati risultati dalle attività 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3 avvenuta durante l'intero sviluppo del progetto, ma particolarmente nel secondo semestre 2023 ha portato allo sviluppo di linee/materiali a diverso livello di stabilità:

- ✓ numerose linee di introgressione delle resistenze classiche, CMV-WMV-ZYMV
- ✓ Popolazione magic come punto di partenza per piramidare resistenze nuove (ToLCNDV) e velocizzare le varie operazioni di breeding creando nuova variabilità.
- ✓ Linee stabili con introgredite resistenze a funghi, quali oidio, peronospora.
- ✓ Popolazione segregante fonte di resistenza a Phytoftora capsici
- ✓ Identificazione fonte di resistenza a Fusarium solani

In parallelo sono stati sviluppati e prodotti diversi ibridi sperimentali tra i quali si sono individuati due ibridi interessanti per la coltivazione in pieno campo, che combinano resistenza a virosi, resistenza ad oidio e peronospora, pianta assurgente ed eretta che ne facilita la coltivazione e la raccolta, ma anche l'arieggiamento della pianta. Per la coltivazione in ciclo precoce in serra sono risultati interessanti 10 materiali che saranno oggetto di valutazione in ciclo precoce in serra nel 2024.

**Prodotti:** al termine dell'intera attività sono stati individuati 1-2 varietà/ibridi interessanti che dopo un ulteriore periodo di validazione verranno iscritte a registro

#### **GRADO DI RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI, SCOSTAMENTI RISPETTO AL PIANO DI LAVORO, CRITICITÀ**

Sull'azione 2.1 sono state sviluppate tutte le attività previste nel piano. Gli obiettivi sono stati raggiunti. Le principali criticità hanno riguardato la precoce decadenza degli impianti con gli ibridi in prova dovuti a importanti attacchi di patogeni. Rispetto a quanto pianificato è stato svolto 1 ciclo di Alac e 1 ciclo di Marzaduri presso l'azienda Agricola Roversi che per posizione garantiva condizioni migliori per il mantenimento del prodotto.

## 2.2 PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo totale
	OTD	Prove in campo	24,93	1030	21.219,12
	OTD	Prove in campo	17,91	976,5	17.393,82
	Impiegato	Assistant breeder	17,66	445	7.858,70
	Impiegato	Tecnico di campo	44,57	670	29.408,44
	OTD	Prove in campo	18,19	500	9.095,00
	Impiegato	Tecnico di laboratorio	25,16	514,5	12.944,82
	Impiegato	Responsabile genetista	44,43	960	42.626,83
	Impiegato	Tecnico di campo	30,57	653	19.892,07
	OTD	Tecnico di laboratorio	15,35	335	5.142,25
	OTD	Prove in campo	17,95	893	15.931,60
				<b>Totale:</b>	<b>181.512,65</b>

## 2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI

### CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo	
RI.NOVA (AGROINNOVA)		20.000,00	Prove in campo e in laboratorio	20.000,00	
RI.NOVA (CREA)		5.000,00	Analisi molecolari	5.000,00	
RI.NOVA (SOC. AGR. MARZADURI)		8.000,00	Supporto a prove di campo	8.000,00	
				<b>Totale:</b>	<b>33.000,00</b>

## AZIONE 2.2 - IDONEITA' ALLA LAVORAZIONE E CONSERVAZIONE E NUOVI PACKAGING.

### 2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

#### DESCRIZIONE ATTIVITÀ

#### Attività 2.2.1 – Caratterizzazione varietale in relazione alla idoneità alla lavorazione e conservazione

**Unità Operative:** ASTRA Innovazione e Sviluppo Laboratorio analisi qualitative sensoriali.

**Obiettivi:** l'attività ha lo scopo di caratterizzare il prodotto ottenuto dalle diverse varietà-ibridi in relazione alla propria attitudine alla tolleranza alla manipolazione, frigoconservazione ed alla conservazione in shelf life. Di seguito sono descritte le modalità operative per raggiungere l'obiettivo.

#### **Materiali e Metodi:**

Nell'ambito dell'attività sono state prese in esame diverse varietà in due periodi: uno primaverile a maggio in cui sono state analizzate 5 varietà denominate 1, 2, 3, 4 e 5 (varietà testimone Giambo)

e uno autunnale a ottobre in cui sono state esaminate 3 varietà denominate 601 (varietà testimone Shoruk), 629 e 630, per un totale di 8 varietà costituite da 6 ibridi selezionati dall'attività di miglioramento genetico e 2 testimoni di riferimento per la tipologia.

Al fine di valutare l'idoneità alla lavorazione e conservazione, i campioni sono stati consegnati al laboratorio in confezioni composte da un vassoio di cartone rosso brandizzato "Questo l'ho fatto io" chiuse con un film plastico e conservati per 7 giorni a temperatura refrigerata di  $4^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ . Le analisi e i controlli merceologici sono stati eseguiti aprendo una confezione per ogni varietà il primo giorno (T0), il quarto giorno a metà della prova (T3) e alla fine della conservazione (T6). Per il ciclo autunnale sono stati eseguiti solo i due controlli a inizio e fine del periodo di analisi (T0 e T6) per via della limitata disponibilità di prodotto.



*Figura 1. Confezione di zucchine con vassoio in cartone e film plastico*

A ogni rilievo sono state valutate l'integrità delle confezioni, la presenza di eventuale condensa, la freschezza generale delle zucchine e la presenza di eventuali difetti e alterazioni (macchie, ossidazioni, alterazioni del colore, disidratazione, muffe e marciumi) con report fotografico di tutti i dettagli. Inoltre, le confezioni sono state pesate a ogni rilievo per il calcolo del calo ponderale %. Su ogni zuccina è stato misurato in due punti il colore dell'epidermide con colorimetro Minolta in spazio di colore  $L^*a^*b^*$  (luminosità, tinta verde-rosso, tinta giallo-blu) e la durezza della polpa con Fruit Texture Analyser GÜSS e puntale di 8 mm.

Alla fine della conservazione (T6) è stata eseguita l'analisi sensoriale quantitativa descrittiva (QDA) ed edonistica in seguito a cottura a vapore per 20 minuti. Il campione è stato sottoposto ad un panel composto da 8-12 giudici addestrati utilizzando schede a scale strutturate a intervalli costanti crescenti da 1 a 9 (1-basso, 9-elevato) riportanti i principali parametri descrittivi tipici delle zucchine (Fig. 1). A completamento degli aspetti di cui sopra, è stato richiesto a ciascun giudice di esprimere un giudizio di gradimento edonistico, sempre su scala da 1 a 9, suddivisa sui seguenti aspetti: visivo, olfattivo, gustativo, strutturale e complessivo.

ASTRA		ANALISI SENSORIALE ZUCCHINA COTTA									
<b>VALUTAZIONI OLEATIVE</b>											
INTENSITA' ODORE DI ZUCCHINA (da poco intenso a molto intenso)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
ODORI PARTICOLARI (rifiuto, terra, fieno ecc.)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<b>PERCEZIONI CINESTETICHE</b>											
CROCCANTEZZA (da non croccante a molto croccante)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
CONSISTENZA (da tenera a molto coriacea)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
UMIDITA' (da asciutto a molto umido)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
GOMMOSITA' (da non gommoso a molto gommoso)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<b>SENSAZIONI GUSTOFATTIVE</b>											
DOLCE (da assente a molto elevata)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
SAPIDITA' (da assente a molto elevata)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
AMARO (da assente a molto elevata)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
AROMA DI ZUCCHINO (da assente a molto intenso)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
AROMI PARTICOLARI (rifiuto come, terra, ecc.)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<b>GIUDIZI EDONISTICI</b>											
GRADUOLEZZA VISIVA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
GRADUOLEZZA OLFATTIVA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
GRADUOLEZZA STRUTTURALE		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
GRADUOLEZZA GUSTATIVA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
GRADUOLEZZA COMPLESSIVA		1	2	3	4	5	6	7	8	9	

Figura 2. Scheda di analisi sensoriale per zuccchina cotta

I risultati dalle analisi strumentali e sensoriali sono stati analizzati tramite test della varianza (ANOVA) per valutare la presenza di differenze statisticamente significative ( $p < 0,05$ ) tra le diverse varietà usando il software Statgraphics Plus. La presenza di lettere diverse all'interno della stessa colonna della tabella e tra istogrammi indica una differenza statisticamente significativa tra campioni per lo stesso parametro considerato ( $p < 0,05$ ).

## Risultati e discussione:

### CICLO PRIMAVERILE

I rilievi visivi delle varietà primaverili 1, 2, 3, 4 e 5 (test) sono riportati nella figura 3. Nella durata complessiva della conservazione non è stata rilevata l'insorgenza di alterazioni, ingiallimenti o ossidazioni. L'aspetto resta fresco e il colore resta brillante fino al T6. La consistenza al tatto al T6 è lievemente meno compatta rispetto al T0 e al T3.

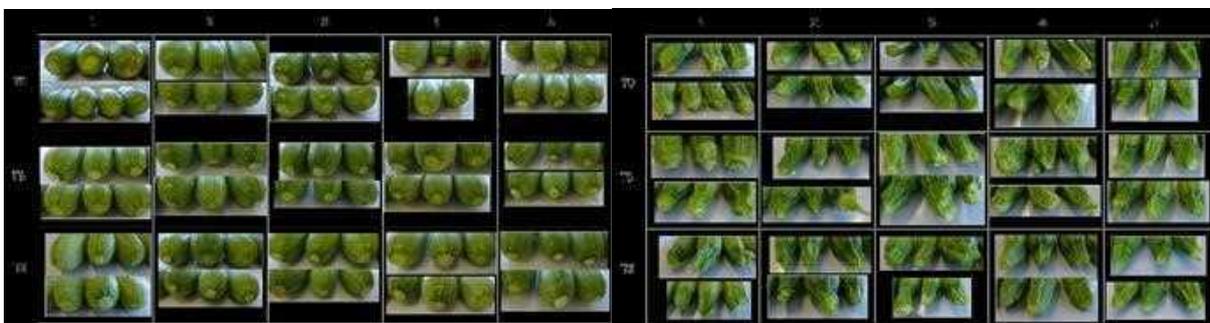
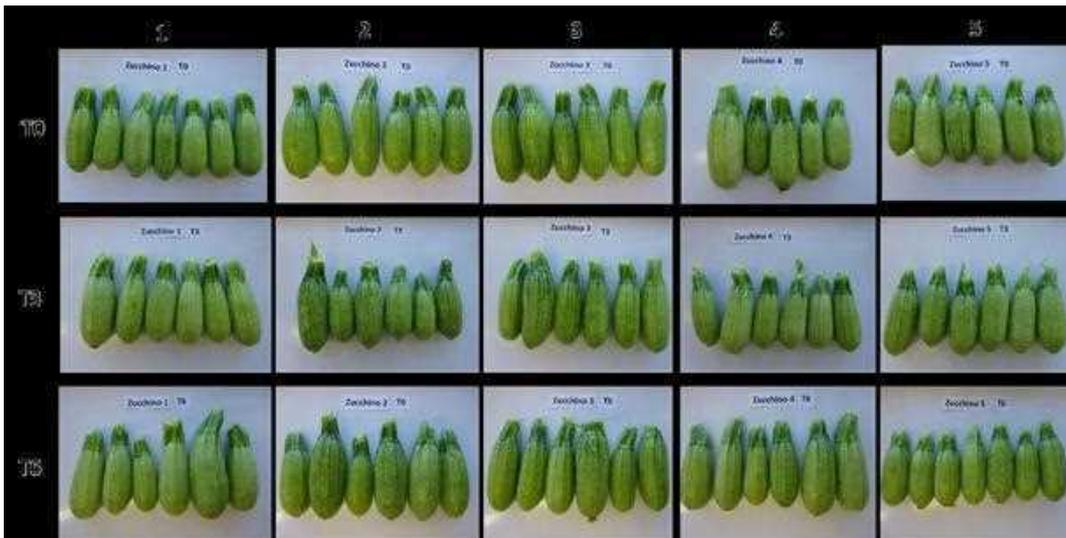


Figura 3. Rilievi visivi delle zucchine delle 5 varietà primaverili ai tre tempi di controllo (T0, T3 e T6) della conservazione

Al T3 all'interno delle confezioni di tutti i campioni è presente condensa che rende le zucchine umide al tatto. A causa della presenza di condensa i vassoi dei campioni 1 e 3 sono lievemente inumiditi in un angolo, quello del campione 2 presenta un lato un po' danneggiato e si rileva la presenza di goccioline sul fondo dei vassoi di tutti i campioni (Fig. 4).



Figura 4. Stato delle confezioni al T3

Anche al T6 al tatto le zucchine risultano umide per via della presenza di condensa nelle confezioni. Il vassoio del campione 2 è lievemente inumidito in un angolo e un po' danneggiato e si rileva la presenza di goccioline sul fondo dei vassoi di tutti i campioni.



Figura 5. Stato delle confezioni al T6

Il calo ponderale delle confezioni delle 5 varietà è simile: tra lo 0,5% e lo 0,6% al T3 e tra l'1,1% e l'1,2% al T6 (Tab.1).

Tabella 1. Calo ponderale % al T3 e al T6

% calo peso rispetto al T0	T3	T6
1	0,6	1,2
2	0,5	1,1
3	0,6	1,1
4	0,6	1,2
5	0,6	1,1

Considerando l'evoluzione della durezza della polpa (Fig. 6), il valore non varia in maniera rilevante nei due tempi di rilievo rispetto al T0 e non ci sono differenze significative tra gli andamenti delle 5 varietà.



Figura 6. Evoluzione della durezza della polpa

Per quanto riguarda l'evoluzione del colore dell'epidermide, si notano delle differenze tra varietà, in particolare nella componente della luminosità (L\*), che non sono statisticamente significative e sono probabilmente dovute dalla disomogeneità del colore delle zucchine all'interno di uno stesso campione.

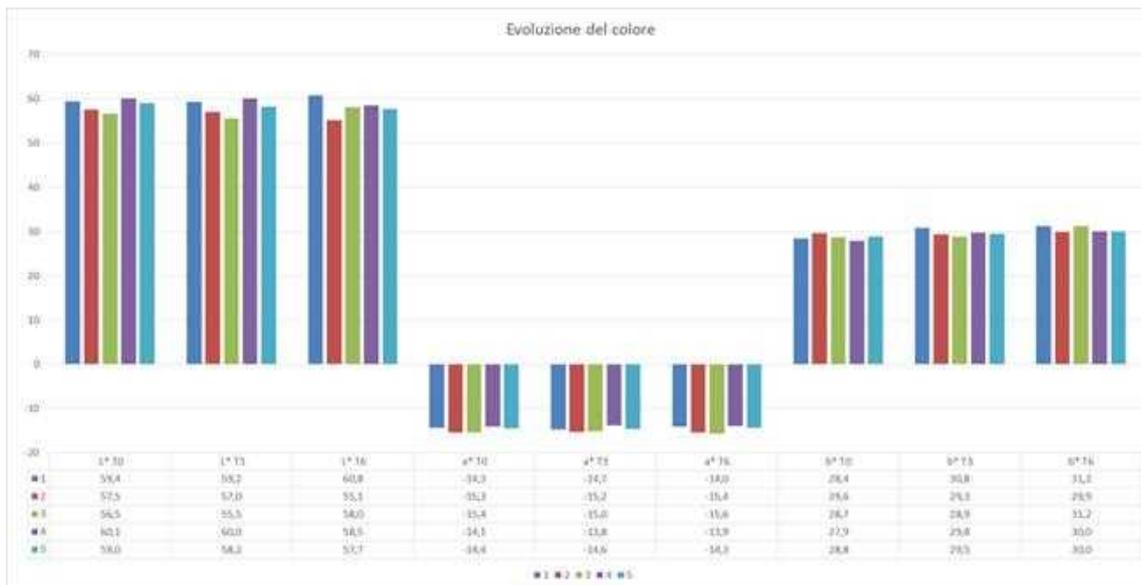


Figura 7. Evoluzione delle coordinate L\*a\*b\* relative del colore dell'epidermide. La presenza di lettere diverse indica una differenza statisticamente significativa tra campioni per il parametro considerato ( $p < 0.05$ ).

Le differenze tra le varietà emergono a livello sensoriale al T6. Tutti i campioni sono stati molto apprezzati nel loro complesso (punteggi da 7,1 a 7,4 su 9) e non ci sono differenze statisticamente significative nei punteggi di gradimento (Fig.8).

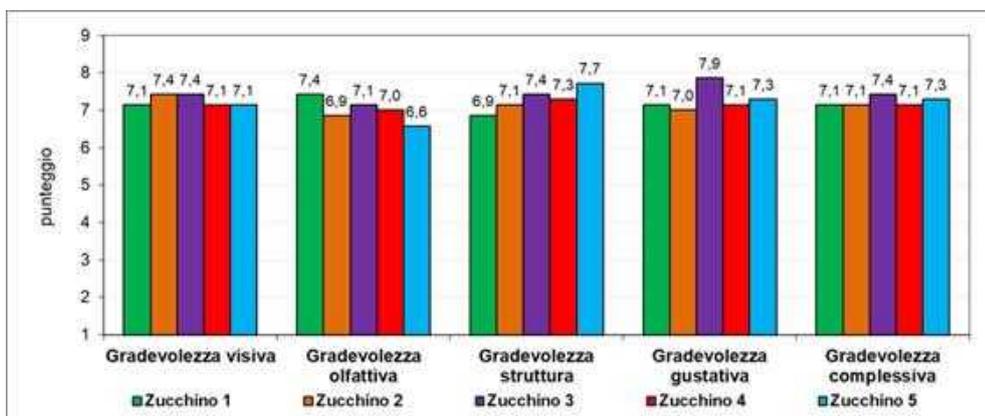


Figura 8. Istogramma dei giudizi di gradimento delle 5 varietà di zucchini conservate nel ciclo primaverile

Si possono però notare delle tendenze osservando il gradimento dei singoli aspetti. Il campione meno apprezzato a livello olfattivo è il 5 (test) che a livello sensoriale (Tab. 2) ha una minore intensità di odore tipico di zuccina e maggiori odori non tipici di fieno e legno. Quest'ultimo è anche il più gradito alla struttura: si può osservare che a livello sensoriale ha il valore di umidità percepita inferiore, quindi è il più asciutto, e il valore di consistenza alla masticazione maggiore (pur non essendo significative le differenze per quest'ultimo parametro). Dal punto di vista gustativo è maggiormente apprezzato il campione 3 (punteggio 7.9) che mostra a livello sensoriale il maggiore aroma di zuccina e la minore presenza di note aromatiche non tipiche. Osservando gli

aromi particolari si rileva che la varietà 1 e la 5 (test) presentano una maggiore intensità rispetto alle varietà 2, 3 e 4, evidenziando note non tipiche e erbacee non molto gradite.

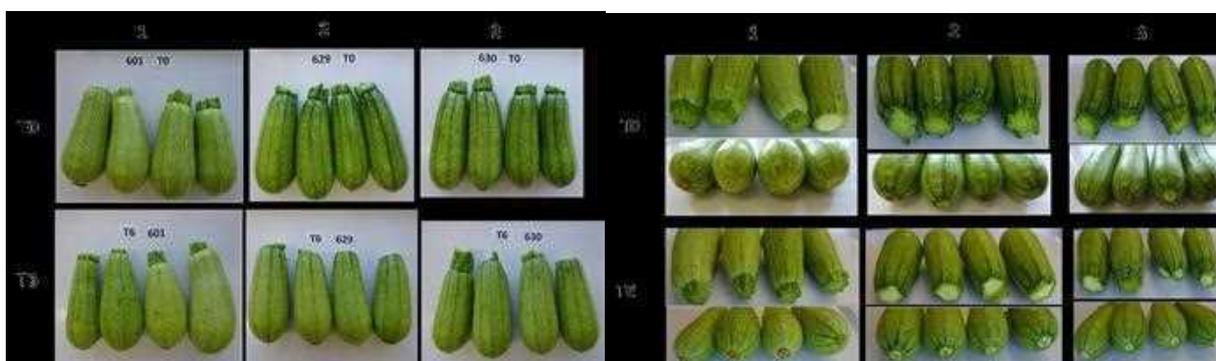
*Tabella 2. Punteggi sensoriali medi assegnati dal panel ai descrittori tipici dello zucchini per ogni varietà.*

4,57 <sup>b</sup>	6,14 <sup>a</sup>	1,57 <sup>b</sup>	6,14 <sup>a</sup>	5,43 <sup>b</sup>	
5,86 <sup>a</sup>	5,29 <sup>b</sup>	1,86 <sup>b</sup>	6,00 <sup>a</sup>	4,29 <sup>b</sup>	5,86 <sup>b</sup>
5,71 <sup>a</sup>	6,14 <sup>a</sup>	1,43 <sup>b</sup>			7,29 <sup>a</sup>
5,86 <sup>a</sup>	6,14 <sup>a</sup>		5,86 <sup>a</sup>		
4,57 <sup>b</sup>	5,29 <sup>b</sup>	3,71 <sup>a</sup>	4,57 <sup>b</sup>		5,71 <sup>b</sup>

## CICLO AUTUNNALE

Nel ciclo autunnale i rilievi sono stati eseguiti solo all'inizio e fine del periodo di analisi (T0 e T6) per via della limitata disponibilità di prodotto.

I rilievi visivi delle varietà autunnali 601 (test), 629 e 630 sono riportati nella figura 9. Nella durata complessiva della conservazione non è stata rilevata l'insorgenza di alterazioni, ingiallimenti o ossidazioni. L'aspetto resta fresco e il colore resta brillante fino al T6. La consistenza al tatto al T6 è lievemente meno compatta rispetto al T0.



*Figura 9. Rilievi visivi delle zucchine delle 3 varietà autunnali ai due tempi di controllo (T0 e T6) della conservazione*

Al T6 al tatto le zucchine risultano umide per via della presenza di condensa nelle confezioni, si rileva la presenza di goccioline sul fondo dei vassoi di tutti i campioni.



Figura 10. Condensa sul fondo delle confezioni al T6

Il calo ponderale delle confezioni al T6 delle 3 varietà è simile, tra lo 0,3% e lo 0,4% (Tab.3).

Tabella 3. Calo ponderale % al T6

% calo peso rispetto al T0	T6
<b>601</b>	<b>0,3</b>
<b>629</b>	<b>0,3</b>
<b>630</b>	<b>0,4</b>

Considerando l'evoluzione della durezza della polpa (Fig. 11), il valore non varia in maniera rilevante rispetto al T0 e non ci sono differenze significative tra gli andamenti delle 3 varietà.

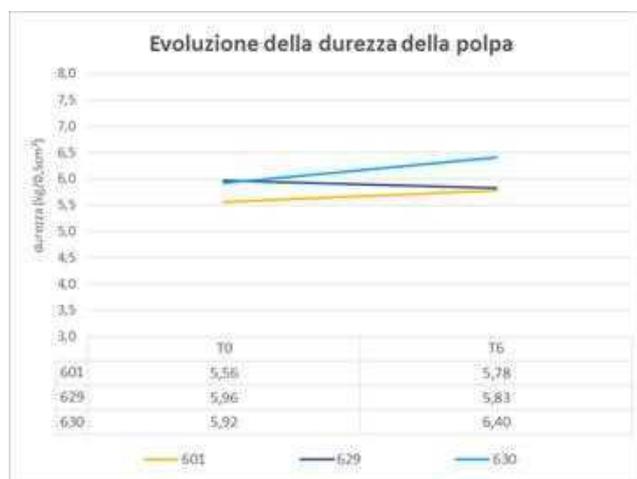


Figura 11. Evoluzione della durezza della polpa

Per quanto riguarda l'evoluzione del colore dell'epidermide, si notano delle differenze significative tra varietà nella componente della luminosità (L\*) al T0 a indicare che la 601 (test) è più chiara, che non si ripropongono al T6 (Fig. 12).

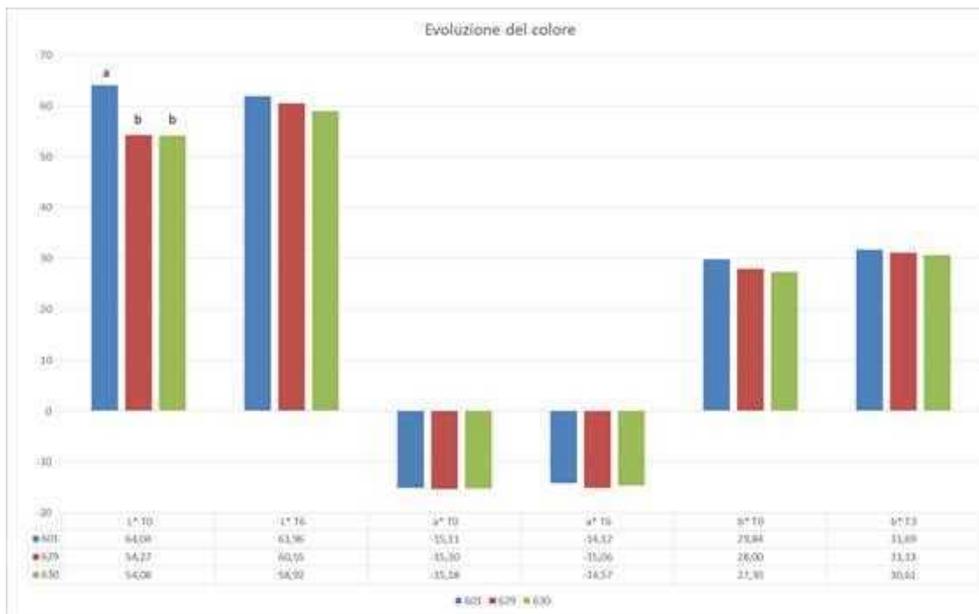


Figura 12. Evoluzione delle coordinate L\*a\*b\* relative del colore dell'epidermide. La presenza di lettere diverse indica una differenza statisticamente significativa tra campioni per il parametro considerato ( $p < 0.05$ ).

A livello sensoriale si rileva una tendenziale preferenza per la varietà 601 (test), in particolare a livello olfattivo, gustativo e complessivo (Fig. 13). Nella tabella 4 si può infatti osservare che quest'ultimo è il campione in cui sono stati percepiti meno aromi non tipici, al contrario del 629 e del 630 che presentano note di terroso e non tipiche non apprezzate dai giudici.

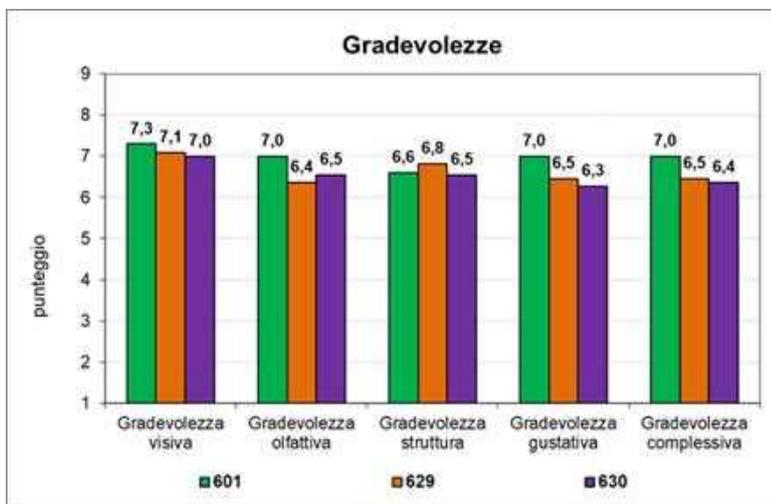


Figura 13. Istogramma dei giudizi di gradimento delle 3 varietà di zucchino conservate nel ciclo autunnale

Tabella 4. Punteggi sensoriali medi assegnati dal panel ai descrittori tipici dello zucchino per ogni varietà

	Intensità colore verde buccia	Intensità odore di zuccina	Odori particolari (erbaceo, terroso, fieno,	Crocantezza	Consistenza	Umidità	Gommosità	Dolce	Sapidità	Amaro	Aroma di zuccino	Aromi particolari (erbaceo cotto, terroso, ecc...)
601	4,80 <sup>b</sup>	6,30	2,80	2,30	3,00	6,60 <sup>ab</sup>	2,00	5,90 <sup>a</sup>	5,00 <sup>ab</sup>	1,60	6,10	1,70
629	5,64 <sup>a</sup>	5,82	2,09	2,45	3,27	5,91 <sup>b</sup>	2,00	5,45 <sup>a</sup>	5,27 <sup>a</sup>	2,00	5,73	2,27
630	5,45 <sup>ab</sup>	6,09	1,73	2,55	3,09	6,91 <sup>a</sup>	2,36	4,64 <sup>b</sup>	4,27 <sup>b</sup>	2,18	6,00	2,55

### Conclusioni:

Sia nel ciclo primaverile che in quello autunnale non ci sono differenze significative dal punto di vista delle caratteristiche merceologiche e dell'evoluzione della freschezza tra le diverse varietà.

Dopo conservazione si nota la tendenza in alcune varietà allo sviluppo di note aromatiche non tipiche e non molto gradite di erbaceo secco e terroso che non erano percepite all'assaggio del prodotto fresco (1 e 5 nel ciclo primaverile e 629 e 630 nel ciclo autunnale).

### Prodotti:

Sono state caratterizzate da un punto di vista merceologico e organolettico 6 varietà/ibridi in confronto a 2 testimoni selezionati dalle attività di miglioramento genetico e di selezione in campo (4 in periodo estivo e 2 periodo autunnale). Da un punto di vista merceologico e di evoluzione della freschezza le 6 varietà individuate si sono mostrate in tutto e per tutto simili ai testimoni in valutazione. Da un punto di vista organolettico le 2 varietà/ibridi autunnali hanno mostrato alcuni parametri organolettici leggermente diversi dal testimone, ma nel complesso gradevoli.

### **Attività 2.2.2 – Analisi e individuazione di materiali e/o tipologie di confezionamento adatte alla commercializzazione con connotazione di produzioni tipiche del territorio bolognese.**

**Unità Operative:** AGRIBOLOGNA.

**Obiettivi:** l'obiettivo dell'attività è quello di sviluppare un packaging mirato a cogliere le peculiarità di una produzione di zuccino tipica per il territorio bolognese che sia conforme alle esigenze di conservazione del prodotto, di sostenibilità ambientale ed alle preferenze del consumatore in termini di marketing.

### **Materiali e Metodi:**

Nell'ambito dello sviluppo del Piano di Innovazione, Consorzio Agribologna ha continuato le ricerche partite da diversi anni nell'ambito dello sviluppo di packaging sostenibili legati anche ad una comunicazione identitaria per la filiera di Ortofrutta fresca, sostenibile a tutela dei consumatori e del territorio, con particolare riferimento alla tipicità dello zuccino bolognese. La ricerca aveva due linee guida: la validazione del packaging sostenibile costituito da vassoio di cartone biodegradabile e film plastico sullo zuccino bolognese e la verifica dell'appeal che il marchio di comunicazione "Questo l'Ho fatto io", sviluppato da diversi anni da Consorzio Agribologna, ha su questo prodotto tipico.

Tra i valori fondamentali del Gruppo Agribologna c'è sicuramente il concetto di Filiera in tutte le sue declinazioni:

- Filiera controllata per tracciare, verificare, memorizzare tutti i processi e tutti i passaggi che il prodotto subisce nel suo percorso verso il consumatore finale.
- Filiera corta che assicura qualità costante, sicurezza alimentare, cultura del territorio, tracciabilità, con un rapporto diretto con il consumatore eliminando passaggi economicamente dispendiosi, favorendo la consegna di prodotti con giusta maturazione, freschi e garantiti da controlli fitosanitari accurati.
- Rintracciabilità di filiera che permette di ricostruire la storia del prodotto dalla raccolta sino al banco dei supermercati attraverso un sistema che utilizza le informazioni tracciate dalle singole aziende lungo tutta la filiera produttiva.

Da anni la cooperativa ha deciso di scegliere una modalità di confezionamento che potesse preservare l'ambiente introducendo per le sue linee di prodotti confezionati, un pack riciclabile e che potesse essere utilizzato per promuovere i suoi marchi, le informazioni sui prodotti e i soci.



## QUESTO L'HO FATTO IO

- Il progetto Questo l'ho fatto lo nasce nel 2017 con lo scopo di rendere a conoscenza i veri protagonisti della nostra filiera; i soci della cooperativa;
- Come: si è deciso e intrapreso una selezione di aziende che rispondevano con i loro prodotti, alle richieste della GDO e cercato un materiale per confezionare il prodotto che potesse essere usato come supporto per veicolare le informazioni sulla struttura della cooperativa, sul prodotto, sul processo produttivo ma soprattutto avere la possibilità di raffigurare il viso del socio produttore;
- Una Firma impegnativa da parte loro, perché voleva dire «metterci la faccia» ma anche motivo di orgoglio per il proprio prodotto esposto;
- Il materiale doveva avere anche la funzione di mantenere e proteggere il prodotto per tutta la sua naturale durata sui banchi della GDO; doveva altresì non inquinare l'ambiente; un materiale totalmente riciclabile e sostenibile;

- La carta e/o cartone è il materiale più adatto a questi scopi e l'unico che può corrispondere alle nostre esigenze di comunicazione e sostenibilità ambientale;

## LA COMUNICAZIONE SOSTENIBILE

- La possibilità di comunicare processi e Sistemi di produzione Agricoli sostenibili come la lotta integrata, procedimento adottato dai soci della cooperativa per la linea “Questo l’ho fatto io”, era un elemento fondamentale per informare il consumatore finale del nostro impegno per la sostenibilità ambientale, così da rafforzare quel rapporto di fiducia tra i consumatori e la cooperativa.
- Nel 2022, il rapporto dell’Osservatore Immagino (indicod) dichiara che il mercato Italia della GDO stima 3,3 miliardi di euro il sell out dei prodotti che evidenziano sulle proprie confezioni un metodo di produzione o allevamento in modo sostenibile, ha avuto un incremento del 1,9% sull’ anno precedente (periodo rilevato AT giugno 22 su AT giugno 21).
- Da notare però che il concetto di filiera ha un trend a valore positivo del + 8%

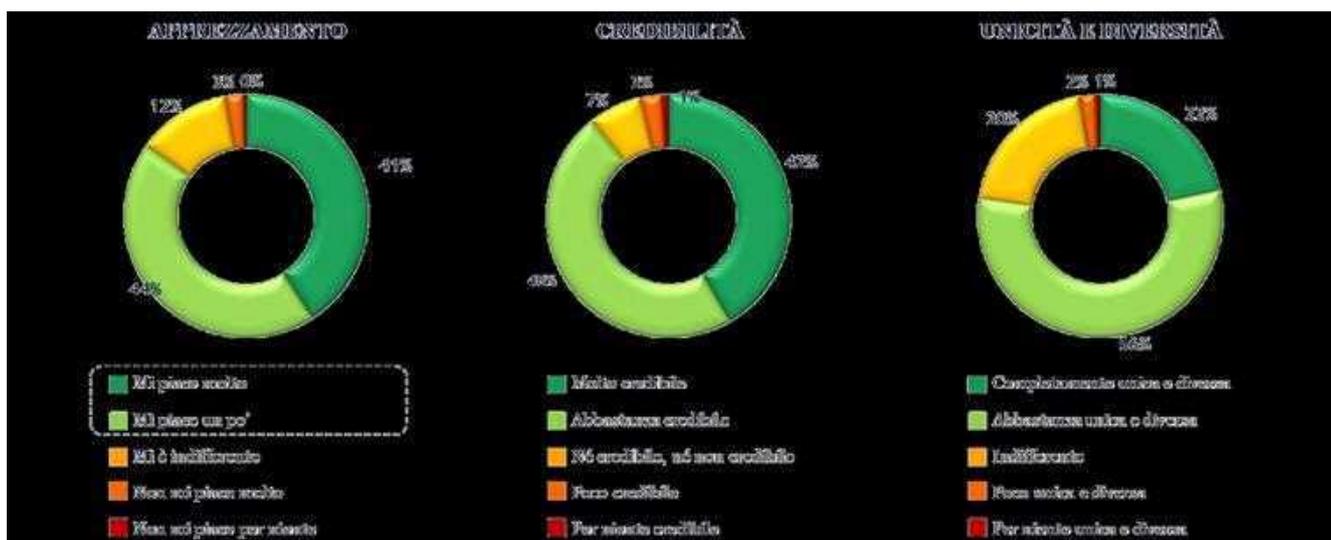


## LA COMUNICAZIONE DELLE SPECIALITÀ – LA ZUCCHINA CHIARA DI BOLOGNA

- La cooperativa vuole con questo importante Progetto di tutela, conservare e promuovere il principale prodotto coltivato dai soci della cooperativa rafforzando la propria identità territoriale verso gli stakeholder e i consumatori, creando valore alle aziende agricole socie e ai suoi prodotti
- Un progetto che tuteli con disciplinari di produzione, areali produttivi definiti, tipologie di colture specifiche accompagnando il Progetto di tutela con un marchio costruito e depositato che stampato su ogni confezione di prodotto evidenzi la volontà della cooperativa a preservare una realtà importante del territorio bolognese
- La ricerca di mercato sviluppata nell'attività 2.3.2 eseguita su 800 consumatori di zucchine conferma l'apprezzamento di tale progetto

La Zucchini Chiara di Bologna è generalmente apprezzata di più nelle regioni del centro Italia, area in cui si preferisce la zucchini chiara. L'unicità è riconosciuta principalmente dai consumatori attuali.





### Conclusioni:

- La scelta del pack riciclabile è sicuramente vincente e coerente con le scelte di posizionamento della cooperativa;
- IL materiale carta e/o cartone è il più idoneo per permettere una comunicazione efficace e riconoscibile nel tempo;
- Le indagini di conservazione in shelf-life dell'attività 2.2.1 mostrano come questo possa essere impiegato efficientemente per la conservazione dello zucchini bolognese;
- Il consumatore e i buyer confermano con i dati di sell out la che scelta del pack è vincente;
- In particolare la linea "Questo l'ho fatto io" è riconosciuta come un Progetto positivo, che rafforza anche con attività speciali come il marchio collettivo di tutela della Zucchini Chiara di Bologna prodotti e aziende agricole del territorio, creando valore all'intera filiera; Produzione e Distribuzione;

**Prodotti:** è stato validato l'utilizzo del packaging sostenibile costituito da cartone e film plastico sulle nuove varietà/ibridi di zucchini bolognese ed è stato verificato il gradimento da parte del consumatore di una campagna specifica e riconoscibile per questo prodotto tipico.

### GRADO DI RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI, SCOSTAMENTI RISPETTO AL PIANO DI LAVORO, CRITICITÀ

Sull'azione 2.2 sono state sviluppate tutte le attività previste nel piano. Gli obiettivi sono stati raggiunti. Le principali criticità hanno riguardato la scarsità di prodotto in periodo autunnale per le analisi dovute ad un deperimento precoce del campo prova, e quindi ad una riduzione del

prodotto disponibile per le analisi. Le analisi sono ugualmente state eseguite in shelf life escludendo un rilievo intermedio. I dati sono comunque da considerarsi attendibili e completi.

## 2.2 PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo
			<b>Totale:</b>	<b>0</b>

## 2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI

### CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
RI.NOVA (AGRIBOLOGNA)		8.000,00	Sviluppo di nuovi packaging	8.000,00
RI.NOVA (ASTRA)		8.400,00	Analisi di laboratorio	8.400,00
			<b>Totale:</b>	<b>16.400,00</b>

### AZIONE 2.3 - CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA DEL PRODOTTO E ANALISI DI MERCATO.

#### 2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

##### DESCRIZIONE ATTIVITÀ

#### Attività 2.3.1 – Caratterizzazione qualitativa e sensoriale delle nuove varietà e accettazione del loro gusto da parte dei consumatori.

**Unità Operative:** ASTRA Innovazione e Sviluppo Laboratorio analisi qualitative sensoriali.

**Obiettivi:** l'attività ha lo scopo di caratterizzare da un punto di vista qualitativo ed organolettico le nuove varietà sviluppate, tenendo in considerazione i gusti e le scelte operate dal consumatore e la sua propensione all'accettazione di un prodotto tipico e locale. Di seguito sono descritte le modalità operative per raggiungere l'obiettivo.

##### **Materiali e Metodi:**

Nell'ambito dell'attività sono state prese in esame diverse varietà in due periodi: uno primaverile a maggio in cui sono state analizzate 5 varietà denominate 1, 2, 3, 4 e 5 (varietà testimone Giambo) e uno autunnale a ottobre in cui sono state esaminate 3 varietà denominate 601 (varietà testimone shoruk), 629 e 630.

Per la caratterizzazione varietale sono state eseguite le seguenti analisi strumentali su 10 zucchine per varietà:

- Peso, calibro, altezza
- Durezza della polpa con Fruit Texture Analyser GÜSS e puntale di 8 mm;

- Colore della buccia con colorimetro Minolta - spazio L\* (Luminosità) a\* (tinta verde-rosso) b\* (tinta giallo-blu);
- Sostanza secca % per differenza di peso dopo essiccazione;
- RSR % con rifrattometro ottico.

Dopo cottura a vapore per 20 minuti è stata eseguita l'analisi sensoriale quantitativa descrittiva (QDA) ed edonistica su una parte rappresentativa di ogni campione. Il campione è stato sottoposto ad un panel composto da 8-12 giudici addestrati utilizzando schede a scale strutturate a intervalli costanti crescenti da 1 a 9 (1-basso, 9-elevato) riportanti i principali parametri descrittivi tipici delle zucchine (Fig. 1). A completamento degli aspetti di cui sopra, è stato richiesto a ciascun giudice di esprimere un giudizio di gradimento edonistico, sempre su scala da 1 a 9, suddivisa sui seguenti aspetti: visivo, olfattivo, gustativo, strutturale e complessivo.

I dati risultanti dalle analisi strumentali e sensoriali sono stati analizzati tramite test della varianza (ANOVA) per valutare la presenza di differenze statisticamente significative ( $p < 0,05$ ) tra le diverse varietà usando il software Statgraphics Plus. La presenza di lettere diverse all'interno della stessa colonna della tabella e tra istogrammi indica una differenza statisticamente significativa tra campioni per lo stesso parametro considerato ( $p < 0,05$ ).

## Risultati:

### CICLO PRIMAVERILE

Nella figura 14 si possono vedere le zucchine delle 5 varietà primaverili (1, 2, 3, 4 e 5 test) utilizzate per la caratterizzazione varietale.



Figura 14. Campioni in esame per la caratterizzazione varietale nel ciclo primaverile

Nella tabella 5 sono riportati i dati medi delle analisi strumentali eseguite su 10 zucchine per ogni varietà. Per quel che riguarda peso calibro e altezza si notano delle differenze tra i valori medi delle diverse varietà ma queste non sono statisticamente significative per via della grande disomogeneità delle zucchine all'interno di uno stesso campione. Prendendo in considerazione la sostanza secca non ci sono differenze statisticamente significative e il contenuto è comparabile tra

le cinque varietà. Le differenze sussistono per la durezza della polpa, per la quale emerge che la varietà 3 è significativamente meno consistente rispetto alle varietà 2 e 5 test, e per i valori di Luminosità secondo i quali le varietà 1 e 4 hanno un'epidermide più chiara rispetto alle varietà 2, 3 e 5 test. Si osserva, inoltre, che la varietà 3 ha un RSR% maggiore, comparabile alle varietà 1 e 2, mentre hanno un contenuto leggermente inferiore le varietà 4 e 5 test.

Tabella 5. Dati medi ottenuti dalle analisi strumentali sulle 5 varietà in esame

		60,65 <sup>a</sup>
	5,91 <sup>a</sup>	57,21 <sup>b</sup>
	5,16 <sup>b</sup>	54,59 <sup>b</sup>
		61,11 <sup>a</sup>
	5,95 <sup>a</sup>	56,94 <sup>b</sup>

I risultati dell'analisi sensoriale (Tab. 6) mostrano che all'assaggio del prodotto cotto non si ripropongono le stesse differenze osservate a livello analitico strumentale su prodotto crudo, infatti non ci sono differenze significative nella percezione del gusto dolce tra varietà e i parametri riguardanti la struttura non hanno correlazione con quelli analitici della durezza della polpa.

Tabella 6. Punteggi sensoriali medi assegnati dal panel ai descrittori tipici dello zucchini per ogni varietà

	Intensità colore verde buccia	Intensità odore di zucchini	Odori particolari (erbaceo, terroso, fieno, ecc ...)	Crocantezza	Consistenza	Umidità	Gommosità	Dolce	Sapido	Amaro	Aroma di zucchini	Aromi particolari (erbaceo cotto, terroso, ecc...)
Zucchini 1	4,86 <sup>b</sup>	5,00 <sup>b</sup>	1,29	1,86	2,43 <sup>b</sup>	5,86	1,43	6,66	4,71 <sup>ab</sup>	1,43	6,57 <sup>ab</sup>	1,43
Zucchini 2	6,14 <sup>a</sup>	5,57 <sup>ab</sup>	1,00	1,86	2,29 <sup>b</sup>	5,71	1,71	7,33	4,86 <sup>ab</sup>	1,14	7,00 <sup>ab</sup>	1,29
Zucchini 3	6,00 <sup>ab</sup>	6,57 <sup>a</sup>	1,43	2,00	2,71 <sup>ab</sup>	5,86	1,43	7,33	5,00 <sup>ab</sup>	1,14	6,29 <sup>b</sup>	2,00
Zucchini 4	5,14 <sup>ab</sup>	6,86 <sup>a</sup>	2,00	2,43	3,57 <sup>a</sup>	5,86	1,29	7,00	5,43 <sup>a</sup>	1,14	7,29 <sup>a</sup>	1,14
Zucchini 5	5,29 <sup>ab</sup>	6,00 <sup>ab</sup>	2,43	2,29	2,86 <sup>ab</sup>	5,57	1,71	6,66	4,29 <sup>b</sup>	1,14	7,00 <sup>ab</sup>	1,29

I campioni maggiormente graditi dal punto di vista complessivo (Fig. 15) sono le varietà 2,3 e 4 (punteggi 7,6, 7,4 e 8,0), soprattutto la 4 per via della struttura più consistente e dell'aroma tipico più elevato.

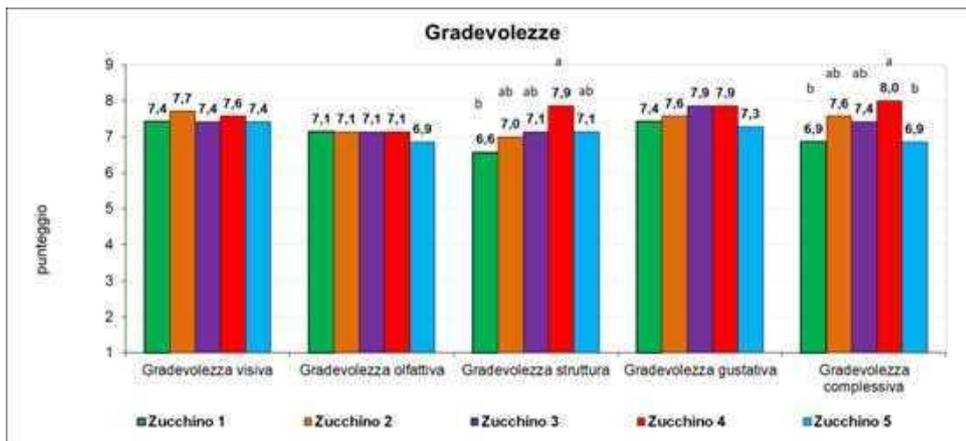


Figura 15. Istogramma dei giudizi di gradevolezza per la caratterizzazione delle varietà primaverili

### CICLO AUTUNNALE

Nella figura 16 si possono vedere le zucchine delle 3 varietà autunnali 601(test), 629 e 630 utilizzate per la caratterizzazione varietale.



Figura 16 Campioni in esame per la caratterizzazione varietale nel ciclo autunnale

Nella tabella 7 sono riportati i dati medi delle analisi strumentali: le uniche differenze statisticamente significative sono nei valori di Luminosità (L\*), secondo i quali la varietà 601 ha un'epidermide più chiara rispetto alla 630, mentre la 629 si pone a un livello intermedio, e di tinta gialla (+b\*), per cui la varietà 629 è più gialla rispetto le altre due. Per il resto dei parametri presi in considerazione i valori sono comparabili tra le cinque varietà.

Tabella 7 Dati medi ottenuti dalle analisi strumentali sulle 3 varietà in esame

	59,91 <sup>a</sup>	32,77 <sup>b</sup>
	52,40 <sup>b</sup>	38,20 <sup>a</sup>
		29,04 <sup>b</sup>

A livello sensoriale i campioni sono stati apprezzati in maniera simile nel loro complesso (Fig. 17) con giudizi tra discreto e buono (6,6, 6,5 e 6,4).

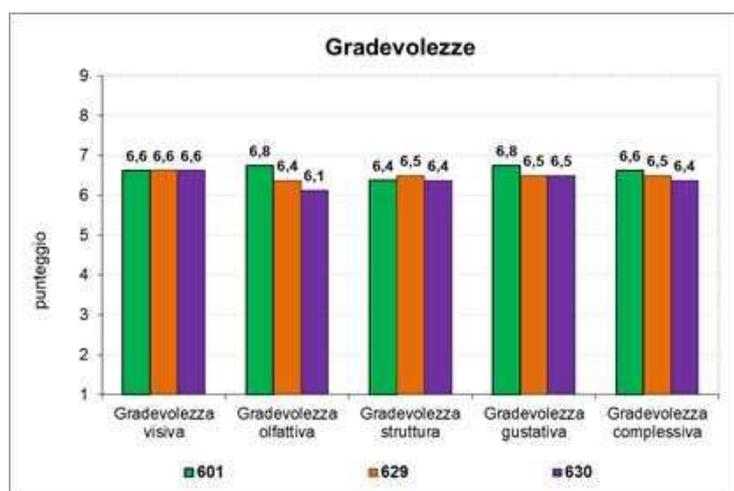


Figura 17. Istogramma dei giudizi di gradevolezza per la caratterizzazione delle varietà autunnali

Anche a livello sensoriale i valori assegnati ai descrittori dai giudici sono comparabili tra le tre varietà, ad esclusione dell'intensità dell'odore di zuccina, del dolce e dell'aroma tipico, per cui la varietà 629 ha ricevuto i punteggi minori.

Tabella 8. Punteggi sensoriali medi assegnati dal panel ai descrittori tipici dello zuccino per ogni varietà

	Intensità odore di zuccina	Odori particolari (erbaceo, terroso, fieno, ecc ...)	Crocantezza	Consistenza	Umidità	Gommosità	Dolce	Sapido	Amaro	Aroma di zuccino	Aromi particolari (erbaceo cotto, terroso, ecc...)
601	6,13 <sup>a</sup>	2,25	1,50	2,63	6,00	1,50	4,75 <sup>a</sup>	5,00	1,63	6,38 <sup>a</sup>	1,88
629	5,00 <sup>b</sup>	1,38	1,63	2,25	5,75	1,13	3,00 <sup>b</sup>	4,50	1,63	5,25 <sup>b</sup>	1,50
630	6,00 <sup>a</sup>	2,25	1,75	2,75	6,13	1,50	4,38 <sup>a</sup>	4,25	1,75	5,75 <sup>ab</sup>	2,13

### Conclusioni:

Sia nel ciclo primaverile che in quello autunnale non ci sono differenze sostanziali nei risultati ottenuti dalle analisi strumentali e chimico fisiche. A livello sensoriale si rilevano delle differenze in entrambi i periodi.

Nel ciclo primaverile i campioni maggiormente graditi dal punto di vista complessivo sono le varietà 2,3 e 4 (punteggi 7,6, 7,4 e 8,0), soprattutto la 4 per via della struttura più consistente e dell'aroma tipico più elevato.

Le tre varietà del ciclo autunnale sono comparabili per gradimento complessivo, pur evidenziando delle differenze a livello di intensità dell'odore di zuccina, del dolce e dell'aroma tipico, per cui la varietà 629 ha ricevuto i punteggi minori.

### Prodotti:

Sono state caratterizzate da un punto di vista analitico qualitativo sul prodotto fresco 6 varietà/ibridi in confronto a 2 testimoni selezionati dalle attività di miglioramento genetico e di selezione in campo (4 in periodo estivo e 2 periodo autunnale). Da un punto di vista analitico qualitativo le 6 varietà individuate si sono mostrate in tutto e per tutto simili ai testimoni in valutazione in entrambe i cicli. Da un punto di vista organolettico le 3 varietà/ibridi del ciclo primaverile sono risultati più gradevoli rispetto al testimone sul prodotto cotto. Per le due del periodo autunnale nessuna differenza significativa.

### **Attività 2.3.2 – Analisi e individuazione di canali di vendita specifici per una produzione tipica di zucchini dell’areale bolognese.**

**Unità Operative:** AGRIBOLOGNA.

**Obiettivi:** l’azione è volta a ricercare ed identificare un canale di vendita specifico per lo zucchini bolognese, anche identificato con il marchio collettivo Zucchini Chiara di Bologna, che valorizzi sia la tipicità che la tradizione del prodotto arrivando a nuovi consumatori.

#### **Materiali e Metodi:**

È stato somministrato un questionario di indagine per verificare l’attitudine degli acquirenti all’acquisto di frutta e verdura online con particolare riferimento ad un prodotto tipico quale la Zucchini tipica di Bologna.

#### **L’INDAGINE DI MERCATO**

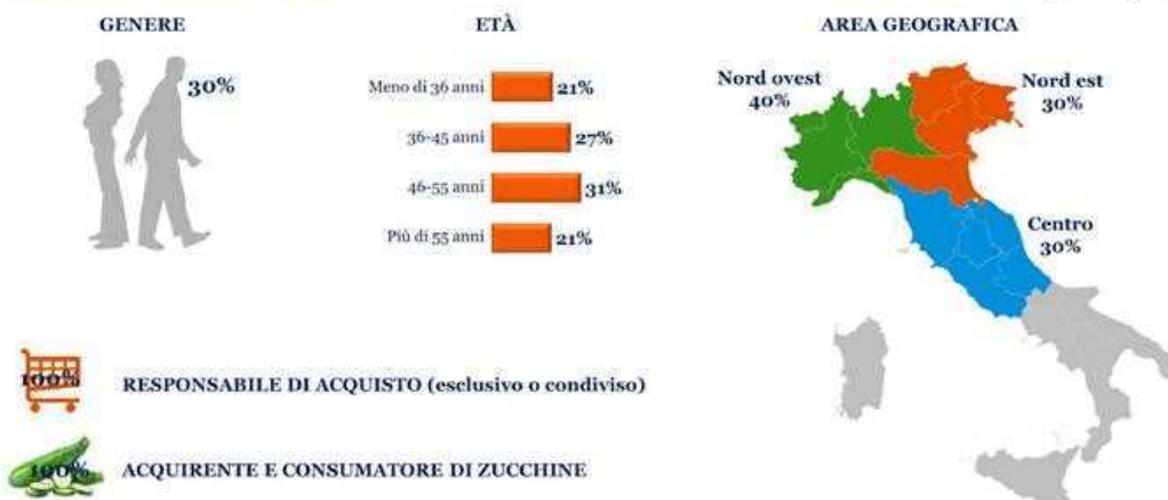
L’indagine è stata svolta utilizzando il metodo CA WI, ovvero Computer Assisted Web Interviewing. Si tratta di una metodologia di raccolta dei dati che si basa sulla compilazione di un questionario via web fornito attraverso un link. Il questionario è stato sottoposto a 800 consumatori e acquirenti di frutta e verdura, responsabili di acquisto del nucleo familiare. Le quote di intervistati sono da considerarsi rappresentative per sesso e fasce di età. Il questionario è strutturato con risposte a domanda chiusa della durata di circa 10 minuti.

Il periodo di interviste è andato dal 12/10/2023 al 18/10/2023.

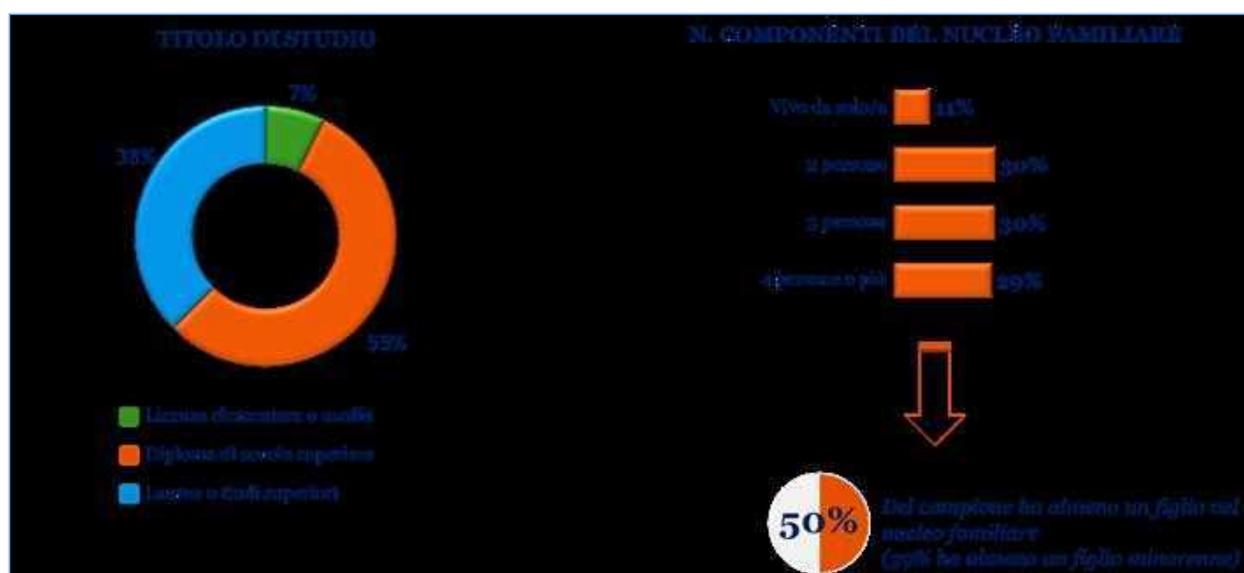
#### **IL CAMPIONE INTERVISTATO**

Il campione intervistato si componeva per il 70% da donne e 30% uomini, di età prevalente compresa fra i 36 e i 55 anni, con una prevalenza del 60% localizzati in nord Italia. Tutti si sono dichiarati responsabili degli acquisti e acquirenti di zucchini.

## IL CAMPIONE INTERVISTATO

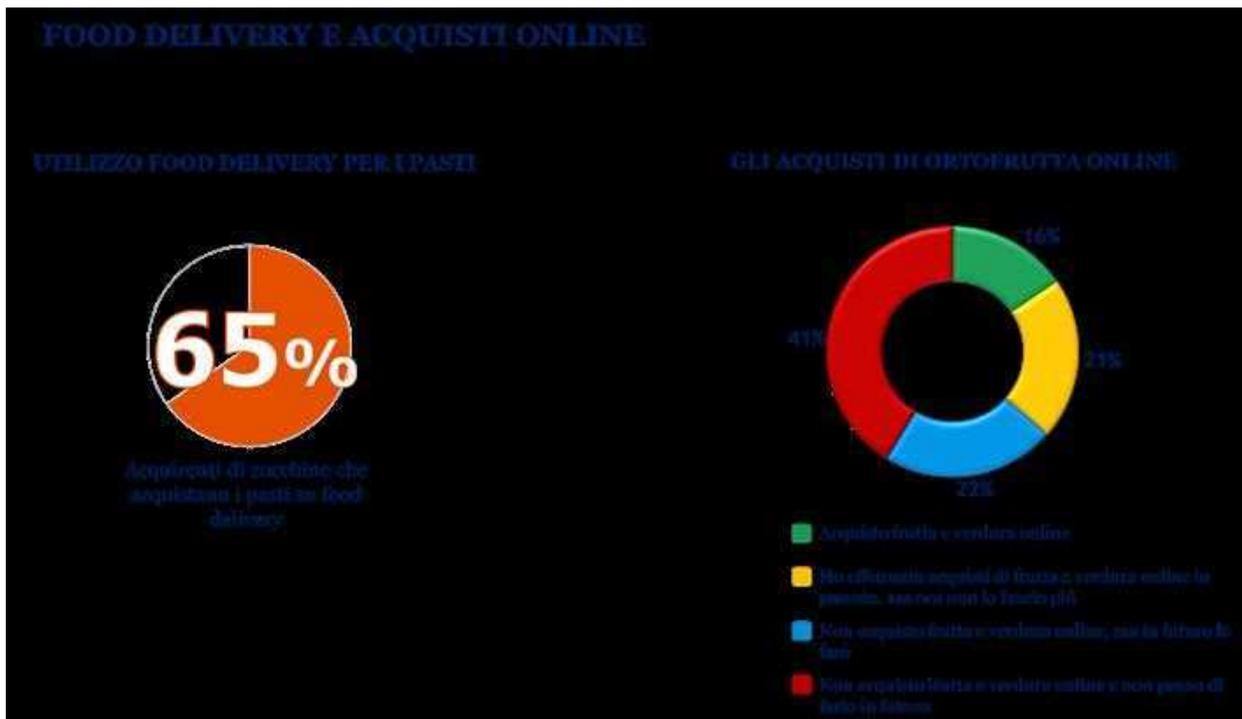


Il titolo di studi prevalente è il diploma di scuola superiore e la composizione prevalente del nucleo



famigliare è ad almeno 1 figlio.

Il 65% dichiara di usufruire di servizi di food delivery service e solo il 16% dichiara di utilizzare abitualmente canali online per l'acquisto di frutta e verdura fresca.

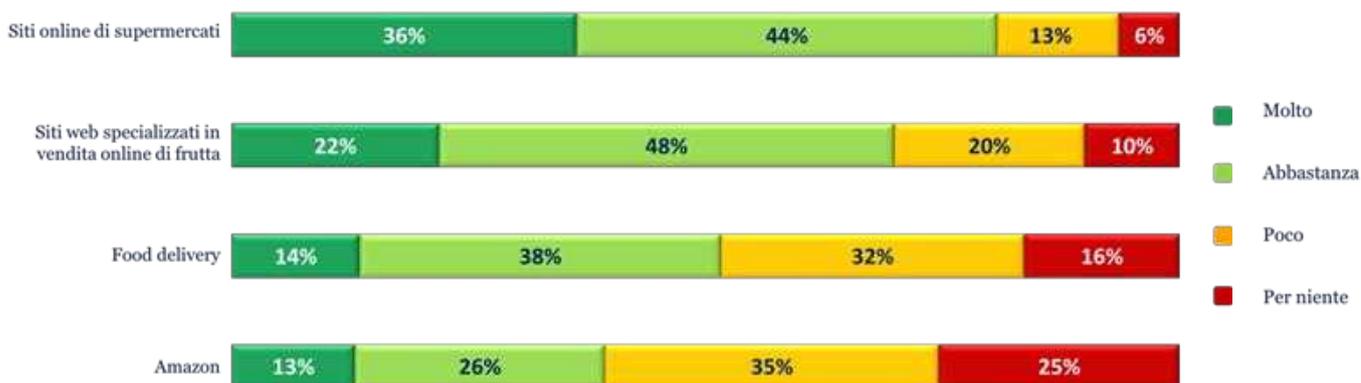


D8 Effettua acquisti online su siti di food delivery per i tuoi pranzi e/o cene?  
 D9 Hai mai acquistato frutta e verdura online?

### VALIDITÀ DEI RIVENDITORI ONLINE DI ORTOFRUTTA

In figura 1 vengono rappresentati i risultati rispetto al quesito su dove preferibilmente acquisterebbero frutta e verdura online.

Figura 1.



D10 Secondo lei, le seguenti piattaforme/siti web sono una valida alternativa agli acquisti di frutta e verdura nei canali tradizionali e/o supermercati?

## SITI DI ACQUISTO ORTOFRUTTA ONLINE

La figura 2 mostra i risultati rispetto all'attitudine dell'acquirente all'utilizzo di specifici canali di acquisto di prodotto fresco online.

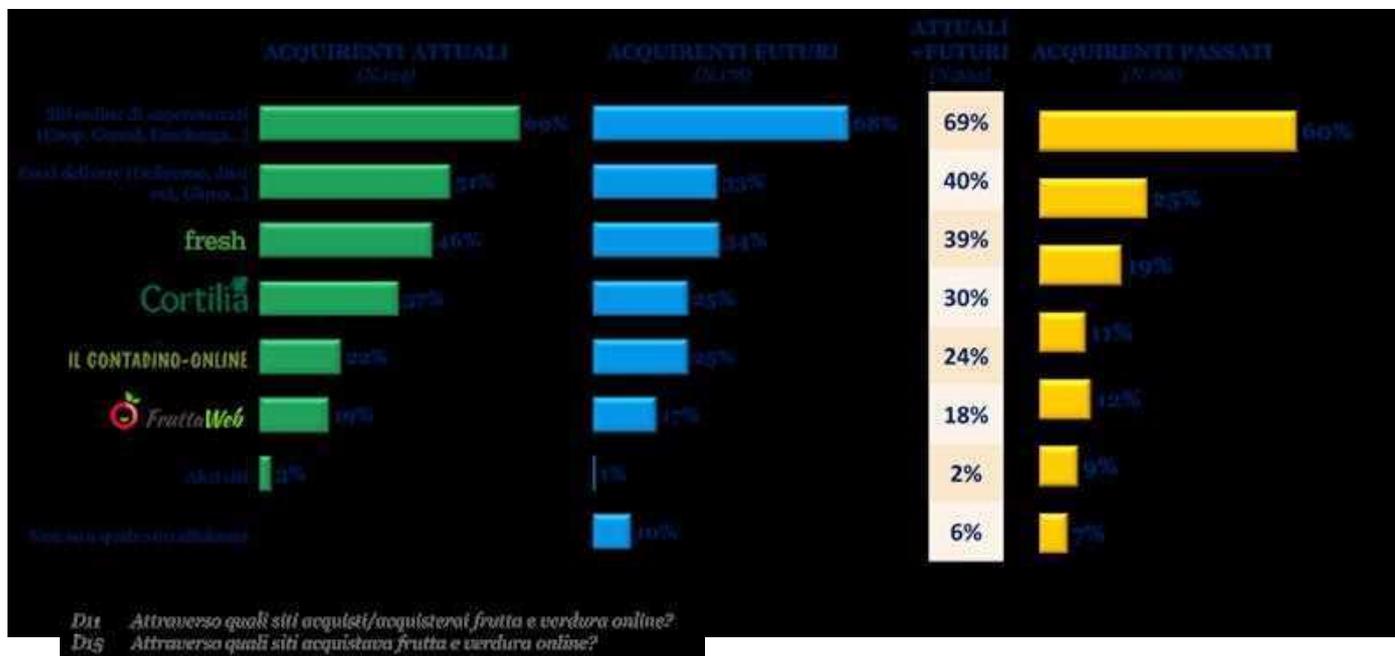


Figura 2.

## SODDISFAZIONE DEI CANALI ONLINE E FRENI AL FOOD DELIVERY

In Figura 3 è rappresentato il grado di soddisfazione dell'acquirente rispetto all'acquisto online.

Figura 3.



D14 Ha indicato che non acquista/non acquisterà frutta e verdura attraverso le piattaforme di Food Delivery. Per quali motivi?  
 D12 Quanto sei soddisfatto da 1 a 10 rispetto agli acquisti di frutta e verdura online?

## KEY DRIVER DEGLI ACQUISTI ONLINE

In Figura 4 vengono mostrate le motivazioni degli acquirenti rispetto all'acquisto online.

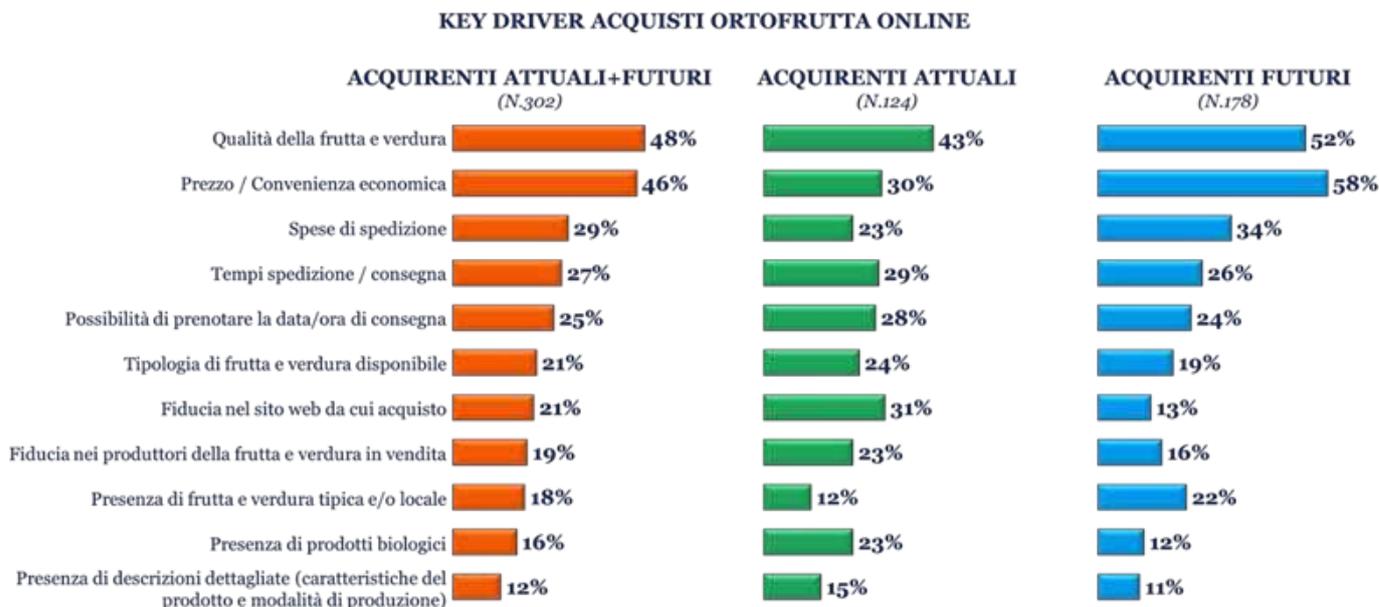


Figura 4.

## LA VENDITA SUI CANALI ONLINE PER LA ZUCCHINA CHIARA DI BOLOGNA

In figura 5 vengono riportati il risultato delle domande specifiche rivolte alla vendita della Zucchini Chiara di Bologna.

Figura 5.



D37 Presso quali rivenditori online vorrebbe acquistare la Zucchini Chiara di Bologna?  
 D38 Come vorrebbe acquistare la Zucchini Chiara di Bologna online?  
 D39 Ha indicato di non voler acquistare la Zucchini Chiara di Bologna online. Perché?



## IL CONCETTO DI PRODOTTO

La Zucchini Chiara di Bologna ha radici profonde nel territorio. La particolare combinazione di fattori produttivi, quali la capacità degli agricoltori, l'artigianalità di preparazione del prodotto e le caratteristiche climatiche, ha consentito a questa produzione di differenziarsi, diventando un prodotto di qualità e prestigio.

La zucchini chiara di Bologna si differenzia per la tipica forma a botticella e il colore verde chiaro con maculature biancastre.

La zona di produzione comprende esclusivamente il territorio di Bologna e provincia.

Da oggi è tutelata dal marchio collettivo, con l'obiettivo di salvaguardare la tipicità del prodotto e il territorio.

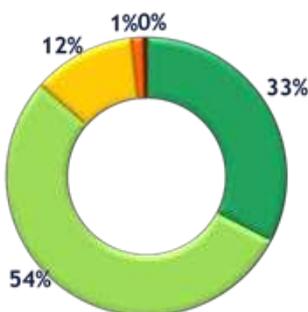
Il prodotto verrà commercializzato in vassoi di cartoncino o plastica riciclata da 500/600 gr.

## PROBABILITÀ DI ACQUISTO E LUOGO DI VENDITA

Infine in figura 6 vengono riportati i desiderata di acquisto rispetto alla Zucchini tipica di Bologna

Figura 6.

### PROBABILITÀ DI ACQUISTO



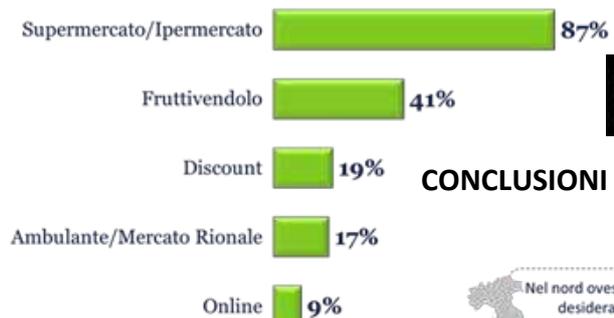
Sicuramente l'acquisterei  
 Probabilmente l'acquisterei  
 Non so se l'acquisterei  
 Probabilmente non l'acquisterei  
 Sicuramente non l'acquisterei

**86%**

Il 99% dei consumatori abituali di Zucchini Chiara di Bologna, confermano l'intenzione di acquistare la Zucchini Chiara di Bologna, le acquisterebbe al posto delle zucchini abituali.  
 L'intenzione scende al 75% per coloro che non la conoscono.

### LUOGO DI ACQUISTO DESIDERATO

(n.691)



## CONCLUSIONI

Nel nord ovest, il canale online è desiderato dal 13% dei consumatori di zucchini.

### PREVISIONE DI ACQUISTO

(n.691)



- La quota di acquirenti online di frutta e verdura è ampiamente inferiore a quella degli acquirenti di pranzi/cene su siti di food delivery (16% Vs 65%).
- Siti di supermercati e siti specializzati in frutta e verdura sono i canali che rassicurano maggiormente i clienti.
- I siti di food delivery hanno spazi di crescita ma, per il loro attuale posizionamento, nell’immaginario collettivo non sono considerati/conosciuti per la vendita di frutta e verdura,
- L’esperienza di acquisto della frutta e verdura online è positiva, con una completa soddisfazione (8.2/10);
- Gli aspetti chiave per l’acquisto online, oltre a qualità e prezzo, fanno riferimento alla spedizione: tempistiche, costi e possibilità di prenotare l’orario e data di consegna.

**Prodotti:** questionario di gradimento sottoposto a 800 consumatori. Identificazione dei siti di supermercati e siti specializzati in frutta e verdura come i canali che rassicurano maggiormente i clienti per l’acquisto di zucchini bolognese.

### **GRADO DI RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI, SCOSTAMENTI RISPETTO AL PIANO DI LAVORO, CRITICITÀ**

Sull’azione 2.3 sono state sviluppate tutte le attività previste nel piano. Gli obiettivi sono stati raggiunti e non sono state rilevate criticità nella fase di sviluppo delle attività previste dal Piano.

#### **2.2 PERSONALE**

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell’azione	Ore	Costo
			<b>Totale:</b>	<b>0</b>

#### **2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI**

##### **CONSULENZE – SOCIETÀ**

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
RI.NOVA (ASTRA)		3.000,00	Analisi di laboratorio	3.000,00
RI.NOVA (AGRIBOLOGNA)		8.000,00	Indagine di mercato	8.000,00
			<b>Totale:</b>	<b>11.000,00</b>

## AZIONE 3 - DIVULGAZIONE

### 2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

#### DESCRIZIONE ATTIVITÀ

**Unità Operative:** Ri.Nova, Consorzio Sativa

RI.NOVA, per conto del beneficiario Consorzio Sativa, ha messo in atto un piano di divulgazione che comprende interventi sia di tipo interpersonale che mediatico, tramite un'azione sinergica tra vari strumenti di comunicazione di seguito descritti.

In particolare sono state realizzate diverse azioni divulgative per contribuire a rendere concreto un collegamento funzionale tra innovazione, trasferimento e applicazione, al fine di stimolare un nuovo approccio tra tutti operatori del settore agricolo ed agroindustriale.

In relazione al target di riferimento, la sinergia operativa che si è venuta a determinare tra Ri.Nova e Consorzio Sativa è stata garanzia di massima diffusione dei risultati conseguiti. Ri.Nova, in accordo con la responsabile scientifica del Consorzio Sativa hanno organizzato e gestito diverse iniziative e azioni di divulgazione di seguito descritte.

#### Visite guidate

Sono state organizzate **n. 2 visite guidate** in campo come indicato in tabella 1 per promuovere le attività realizzate, per garantire una discussione critica e/o interagire in prima persona con i tecnici e ricercatori coinvolti nelle attività del Piano e per visionare direttamente le prove. La documentazione relativa alle locandine prodotte e diffuse e i fogli firma registrati in occasione delle diverse iniziative, è riportata in allegato (v. allegato Divulgazione).

Tab 1 - Visite guidate

Data	Titolo	Luogo
26/09/2023	Miglioramento genetico in zucchini, valutazione degli ibridi nell'areale bolognese	Attività realizzata presso l'Azienda Agricola Roversi in via San Donato – Budrio (BO)
28/09/2023	Miglioramento genetico in zucchini, valutazione degli ibridi sulla tipologia bolognese per la resistenza a virus	Attività realizzata presso ALAC Soc. Coop. in via Renato Medri Cesena (FC)

In tabella 2 sono riportate le foto effettuate durante le visite tecniche in campo nelle due località.

Tab 2 - Foto visite guidate.



Foto del 26/09/23



Foto del 26/09/23



Foto del 26/09/23



Foto del 26/09/23



Foto del 29/09/23



Foto del 29/09/23



Foto del 29/09/23

### Incontri tecnici

Sono stati organizzati **n. 2 incontri tecnici**: il primo si è svolto il a Bologna nel 2022 e il secondo a Cesena nel 2023 come indicato nella tabella 3. Gli incontri sono stati indirizzati in prevalenza ai tecnici e agricoltori soci del Consorzio interessate, sia direttamente che indirettamente, ai risultati del Piano, con l’obiettivo di portare le competenze e i risultati dell’innovazione il più possibile vicino agli utilizzatori finali: le imprese agricole. Nel corso degli incontri sono state illustrate le attività svolte e i principali risultati ottenuti nell’ambito del Piano. La documentazione relativa alle locandine prodotte e diffuse e i fogli firma registrati in occasione delle diverse iniziative, è riportata in allegato (v. allegato Divulgazione).

Tab 3 - Programma Incontri tecnici.

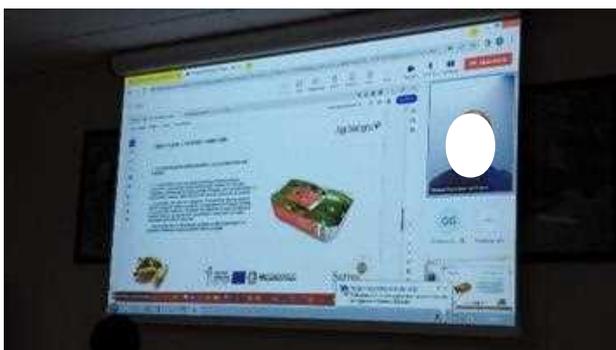
Data	Titolo	Luogo
25/08/2022	Incontro tecnico sul miglioramento genetico in zucchini valutazione degli ibridi sulla tipologia bolognese per la resistenza a virosi	Attività realizzata presso Società Agricola Marzaduri via Montananra17/2 – Castenaso (BO)
28/09/2023	Miglioramento genetico in zucchini, valutazione degli ibridi sulla tipologia bolognese per la resistenza a virosi	Attività realizzata presso ALAC Soc. Coop. in via Renato Medri Cesena (FC)

### Focus Group

È stato organizzato **un focus group** realizzato in data 19 gennaio 2024 presso la sede di C.A.C. a Cesena (FC) dal titolo *“Innovazione varietale a supporto della filiera produttiva dello zucchini tradizionale di Bologna, mantenendo la tipicità e sostenibilità anche nell’era del cambiamento*

*climatico*". In questa occasione, organizzato con il coinvolgimento dei soggetti coinvolti nel progetto, sono stati presentati il lavoro svolto e i principali risultati finali del progetto (**Allegato 1 – Presentazioni Risultati**). Questo focus group è stato uno strumento importante per l'acquisizione di riscontro riguardo ai risultati del progetto e fornire informazioni interessanti ai partecipanti. In tabella 4 alcune foto scattate durante il focus. La documentazione relativa alla locandina prodotta e diffusa e il foglio firma registrato in occasione dell'iniziativa, è riportata in allegato (v. allegato Divulgazione).

**Tab 4 - Foto focus group.**



### **Audiovisivo**

È stato realizzato **n. 1 audiovisivo** dedicato alla presentazione del progetto ZUCCHIN-BO della durata di circa 5 minuti. Tecnici RI.NOVA si sono occupati di individuare i referenti per le interviste, l'organizzazione, la definizione delle riprese filmate, la "traccia" degli argomenti da trattare e la verifica delle immagini. L'audiovisivo prodotto è pubblicato sulla pagina dedicata al progetto del portale RI.NOVA e su un canale dedicato sulla piattaforma Youtube dove può anche essere condiviso da altri utenti su siti, blog e social network, moltiplicando le possibilità di contatto con gli utenti.

### **Articolo tecnico**

È stato realizzato n.1 articolo tecnico dal titolo "Innovazione varietale a supporto della filiera produttiva dello zucchini tradizionale di bologna" che sarà pubblicato a marzo su sulla rivista Terra e vita e/o Colture Protette.

### **Comunicato stampa**

In data 04-12-2023 è stato redatto e inviato a diverse testate locali e nazionali, un **comunicato stampa dal titolo: “Buono, tenace e tipico: arriva il supper zucchini Bolognese”** con lo scopo di raggiungere un pubblico di natura generalista principalmente caratterizzato dai consumatori della filiera agroalimentare. In seguito alla pubblicazione del comunicato stata confezionata una relativa rassegna stampa (v. allegato Divulgazione).

## Portale RI.NOVA

RI.NOVA ha messo a disposizione il proprio portale Internet, affinché le attività ed i risultati conseguiti nel presente Piano siano facilmente identificabili e fruibili dall’utenza. All’interno del portale ([www.rinova.eu](http://www.rinova.eu)) è stata individuata una pagina link (<https://rinova.eu/it/progetti/zucchini-bo-innovazione-varietale-per-la-filiera-dello-zucchini>) dedicata al Piano, composta da una testata e da un dettaglio dove sono stati caricati tutti i dati essenziali del progetto gli aggiornamenti relativi alle attività condotte. Inoltre, attraverso un contatto continuo con il Responsabile di Progetto, un referente RI.NOVA ha proceduto all’aggiornamento della pagina con notizie, informazioni e materiale divulgativo ottenuti nell’ambito del Piano.

A tutte queste iniziative è stata data la massima diffusione attraverso il coinvolgimento delle aziende agricole socie di Ri.Nova, Consorzio Sativa.

Si riporta in **Allegato 2 Divulgazione** copia delle presenze agli incontri/visite/focus group e la rassegna stampa.

## GRADO DI RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI, SCOSTAMENTI RISPETTO AL PIANO DI LAVORO, CRITICITÀ

Tutti gli obiettivi di divulgazione sono stati raggiunti come da indicazione del Piano presentato.

### 2.2 PERSONALE

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell’azione	Costo orario	Ore	Costo
	Impiegato tecnico	Responsabile scientifico	44,43	85	3.774,10
<b>Totale:</b>					<b>3.774,10</b>

### 2.3 COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI

#### CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo previsto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
RI.NOVA		20.000,00	Piano di divulgazione	20.000,00
<b>Totale:</b>				<b>20.000,00</b>

## 2.4 Spese per attività di divulgazione e disseminazione

Fornitore	Descrizione	Costo
	<b>Totale:</b>	<b>0</b>

## 3 - CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ

Criticità tecniche scientifiche	tecnico-	Le principali criticità hanno riguardato la precoce decadenza degli impianti con gli ibridi in prova dovuti a importanti attacchi di patogeni. Laddove il risultato di selezione poteva essere compromesso si è provveduto a sviluppare un ulteriore campo prova. La mancanza di materiale per le analisi di laboratorio è stata gestita modificando il protocollo timing di rilievi in shelf life. Questa modifica non ha compromesso la validità dei risultati analitico qualitativi.
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)		Nessuna Criticità incontrata nella realizzazione dell'attività.
Criticità finanziarie		Nessuna Criticità incontrata nella realizzazione dell'attività.

## 4 - ALTRE INFORMAZIONI

Si allega alla presente rendicontazione comunicazione di variazione di personale afferente a Consorzio Sativa causa maternità. Il nuovo personale individuato a sostituzione è di pari capacità tecnico scientifica ed idoneo allo svolgimento delle attività individuate da progetto.

## 5 - CONSIDERAZIONI FINALI

Nessuna

## 6 - RELAZIONE TECNICA

### Attività 2.1.1 - Sviluppo di nuove linee di zucchini bolognese resistenti ai principali virus e patogeni.

Sono stati effettuate prove di laboratori e di campo per testare le resistenze ed inserirle nelle linee di zucchini bolognese, in particolare:

Laboratorio:

- a) TEST DI RESISTENZA A VIROSI ZYMV-CMV-WMV;
- b) TEST DI RESISTENZA A *Fusarium solani* F. SP. cucurbitae;
- c) TEST DI RESISTENZA A *Phytophthora capsici*;
- d) TEST DI RESISTENZA A PERONOSPORA (*Pseudoperonospora cubensis*) e OIDIO, mal bianco (*Podosphaera xanthii*);

Prove in serra:

- a) INTROGRESSIONE RESISTENZA ZYMV-CMV-WMV;
- b) INTROGRESSIONE RESISTENZA A ToLCNDV;
- c) VALUTAZIONE DELLE LINEE PER TOLLERANZA AD OIDIO E PERONOSPORA.

**Prodotti:** a conclusione del progetto possiamo dichiarare di aver ottenuto 11 linee stabili derivanti da back cross con la linea femminile di Giambo e 10 linee stabili derivanti da back cross con la linea maschile di Giambo. Queste linee mancano però di resistenza ad oidio e peronospora. Si è poi cercato di caratterizzare anche una popolazione di bolognese che presenta una pianta più eretta ed assurgente di Giambo e con un frutto meno a botticella e un po' più clavato. Queste 39 linee oltre che per ZYMV-CMV-WMV sono state caratterizzate anche per resistenza ad oidio e peronospora sia in campo con inoculo naturale che in laboratorio presso AGROINNOVA. Questo ha consentito di spaziare nei risultati rispetto a Giambo. È un'esigenza emersa durante il progetto perché ci si è resi conto che la pianta di Giambo può essere un limite, in particolare per il pieno campo; inoltre tali linee hanno manifestato una certa resistenza ad oidio e peronospora.

Per quanto riguarda i test di resistenza ad oidio (*Podosphaera xanthii*) sono state saggiate 98 linee alcune in replica in diversi cicli di infezione per un totale di 115 test in vivo per le linee parentali. Per quanto riguarda gli ibridi sperimentali, sono stati testati 34 ibridi in prova per valutarne la tolleranza. Sono state ottenute 21 linee resistenti che sono state autofecondate su singola pianta resistente per raccogliere il seme con fissato il carattere. Per gli ibridi sono stati individuati 10 ibridi che hanno una percentuale di superficie fogliare colpita da oidio inferiore al testimone di riferimento resistente.

Per quanto riguarda i test di resistenza a peronospora (*Pseudoperonospora cubensis*) sono state saggiate 38 linee ed è stata individuata una linea con percentuale di gravità al patogeno molto bassa (10-25%), mentre molte di esse, 12, hanno un percentuale di suscettibilità medio-bassa, ma comunque in linea col testimone resistente. Sono stati saggiati per peronospora anche 34 ibridi sperimentali, purtroppo la pressione fungina in questa prova non era molto alta, ma comunque

anche in questo caso alcuni di essi hanno manifestato un'ottima tolleranza (11 varietà). Per i test su *Phytophthora capsici* sono state saggiate 3 popolazioni in doppia replica. Le prove hanno permesso di isolare alcune piante all'interno della popolazione segregante e per due di queste è stato raccolto il seme della pianta autofecondata. Infine per *Fusarium solani f.sp. cucurbitae* sono stati saggiati 10 siglati per identificare possibili fonti di resistenza e si è confermato che il miglior genotipo per resistenza è la varietà lagenaria, un ibrido interspecifico di cetriolo e una varietà di *Cucurbita moschata*.

### **Attività 2.1.2 - Valutazione tecnico-agronomica delle varietà-ibridi resistenti.**

Sono state sviluppate 7 prove di campo per la valutazione fenotipica degli ibridi sperimentali:

- 1) PRIMA PROVA ALAC 2022
- 2) PRIMA PROVA AZ. AGRICOLA MARZADURI 2022
- 3) SECONDA PROVA ALAC 2022
- 4) PRIMA PROVA AZ. AGRICOLA MARZADURI 2023
- 5) PRIMA PROVA ROVERSI 2023
- 6) SECONDA PROVA ROVERSI 2023
- 7) PRIMA PROVA ALAC 2023

#### **Prodotti:**

Al termine dei diversi cicli produttivi sono stati identificati due ibridi interessanti per la coltivazione in pieno campo, che combinano resistenza a virusi, resistenza ad oidio e peronospora, pianta assurgente ed eretta che ne facilita la coltivazione e la raccolta, ma anche l'arieggiamento della pianta. Per la coltivazione in ciclo precoce in serra sono risultati interessanti 10 materiali che saranno oggetto di valutazione in ciclo precoce in serra nel 2024.

### **Attività 2.1.3 - Caratterizzazione molecolare delle varietà sviluppate.**

Le attività condotte dal consulente CREA-GB sede di Montanaso Lombardo hanno riguardato l'estrazione del DNA delle 48 accessioni di zucchini fornite dal partner Sativa, i controlli di qualità del DNA estratto, la organizzazione del servizio di caratterizzazione molecolare mediante GBS e la elaborazione dei risultati ottenuti.

#### **Prodotti:**

In questa attività di caratterizzazione si sono messi a confronto tutti gli attori del progetto dal punto di vista molecolare: varietà di bolognese antica, ibrido di bolognese tradizionale con le rispettive linee parentali, ibrido resistente coltivato nel bolognese nei cicli critici e 31 linee di breeding sviluppate nel progetto. Chiara è la distanza genetica tra le varietà antiche e l'ibrido resistente commercializzato. L'ibrido tradizionale giombo si interseca bene nella tradizione, così come molte linee di breeding sviluppate nel corso del progetto finanziato. Le relazioni tra i materiali esistenti permetteranno di direzionare le attività future in un'ottica del mantenimento delle caratteristiche tradizionali. Inoltre questi dati molecolari potranno essere utilizzati per sviluppare marker specifici per l'identificazione delle varietà.

#### **Attività 2.1.4 - Analisi dati e individuazione delle proposte varietali.**

L'attività svolta ha comportato diversi intrecci operativi ed è stata molto articolata perché si lavorava in parallelo su due fronti, la costituzione di linee di breeding con introgredite le resistenze genetiche e la costituzione di ibridi sperimentali che è l'anello finale che precede la costituzione e l'iscrizione di nuove varietà.

##### **Prodotti:**

Sono stati sviluppati e prodotti diversi ibridi sperimentali tra i quali si sono individuati 2 ibridi interessanti per la coltivazione in pieno campo di zucchini bolognese, che combinano resistenza a virosi, resistenza ad oidio e peronospora, pianta assurgente ed eretta che ne facilita la coltivazione e la raccolta, ma anche l'arieggiamento della pianta. Per la coltivazione in ciclo precoce in serra sono risultati interessanti 10 materiali che saranno oggetto di valutazione in ciclo precoce in serra nel 2024.

#### **Attività 2.2.1 – Caratterizzazione varietale in relazione alla idoneità alla lavorazione e conservazione**

Nell'ambito dell'attività sviluppata dal Laboratorio di ASTRA sono state prese in esame diverse varietà in due periodi: uno primaverile a maggio in cui sono state analizzate 5 varietà denominate 1, 2, 3, 4 e 5 (varietà testimone Giambo) e uno autunnale a ottobre in cui sono state esaminate 3 varietà denominate 601 (varietà testimone Shoruk), 629 e 630, per un totale di 8 varietà costituite da 6 ibridi selezionati dall'attività di miglioramento genetico e 2 testimoni di riferimento per la tipologia.

Al fine di valutare l'idoneità alla lavorazione e conservazione, i campioni sono stati consegnati al laboratorio in confezioni composte da un vassoio di cartone rosso brandizzato "Questo l'ho fatto io" chiuse con un film plastico e conservati per 7 giorni a temperatura refrigerata di  $4 \pm 1$  °C. Le analisi e i controlli merceologici sono stati eseguiti aprendo una confezione per ogni varietà il primo giorno (T0), il quarto giorno a metà della prova (T3) e alla fine della conservazione (T6). Per il ciclo autunnale sono stati eseguiti solo i due controlli a inizio e fine del periodo di analisi (T0 e T6) per via della limitata disponibilità di prodotto.

Alla fine della conservazione (T6) è stata eseguita l'analisi sensoriale quantitativa descrittiva (QDA) ed edonistica in seguito a cottura a vapore per 20 minuti. Il campione è stato sottoposto ad un panel composto da 8-12 giudici addestrati utilizzando schede a scale strutturate a intervalli costanti crescenti da 1 a 9 (1-basso, 9-elevato) riportanti i principali parametri descrittivi tipici delle zucchine.

##### **Prodotti:**

Sono state caratterizzate da un punto di vista merceologico e organolettico 6 varietà/ibridi in confronto a 2 testimoni selezionati dalle attività di miglioramento genetico e di selezione in campo (4 in periodo estivo e 2 periodo autunnale). Da un punto di vista merceologico e di evoluzione della freschezza le 6 varietà individuate si sono mostrate in tutto e per tutto simili ai testimoni in

valutazione. Da un punto di vista organolettico le 2 varietà/ibridi autunnali hanno mostrato alcuni parametri organolettici leggermente diversi dal testimone, ma nel complesso gradevoli.

### **Attività 2.2.2 – Analisi e individuazione di materiali e/o tipologie di confezionamento adatte alla commercializzazione con connotazione di produzioni tipiche del territorio bolognese.**

Nell'ambito dello sviluppo del Piano di Innovazione, Consorzio Agribologna ha continuato le ricerche partite da diversi anni nell'ambito dello sviluppo di packaging sostenibili legati anche ad una comunicazione identitaria per la filiera di Ortofrutta fresca, sostenibile a tutela dei consumatori e del territorio, con particolare riferimento alla tipicità dello zucchini bolognese. La ricerca aveva due linee guida: la validazione del packaging sostenibile costituito da vassoio di cartone biodegradabile e film plastico sullo zucchini bolognese e la verifica dell'appeal che il marchio di comunicazione "Questo l'Ho fatto io", sviluppato da diversi anni da Consorzio Agribologna, ha su questo prodotto tipico.

**Prodotti:** è stato validato, in collaborazione con l'attività 2.2.1, l'utilizzo del packaging sostenibile costituito da cartone e film plastico sulle nuove varietà/ibridi di zucchini bolognese che consente di mantenere la freschezza del prodotto e le caratteristiche merceologiche ed è stato verificato il gradimento da parte del consumatore di una campagna specifica e riconoscibile per questo prodotto tipico.

### **Attività 2.3.1 – Caratterizzazione qualitativa e sensoriale delle nuove varietà e accettazione del loro gusto da parte dei consumatori.**

Nell'ambito dell'attività sviluppata dal Laboratorio di ASTRA sono state prese in esame diverse varietà in due periodi: uno primaverile a maggio in cui sono state analizzate 5 varietà denominate 1, 2, 3, 4 e 5 (varietà testimone Giambo) e uno autunnale a ottobre in cui sono state esaminate 3 varietà denominate 601 (varietà testimone shoruk), 629 e 630.

Per la caratterizzazione varietale sono state eseguite le seguenti analisi strumentali su 10 zucchine per varietà:

- Peso, calibro, altezza
- Durezza della polpa con Fruit Texture Analyser GÜSS e puntale di 8 mm;
- Colore della buccia con colorimetro Minolta - spazio L\* (Luminosità) a\* (tinta verde-rosso) b\* (tinta giallo-blu);
- Sostanza secca % per differenza di peso dopo essiccazione;
- RSR % con rifrattometro ottico.

Dopo cottura a vapore per 20 minuti è stata eseguita l'analisi sensoriale quantitativa descrittiva (QDA) ed edonistica su una parte rappresentativa di ogni campione. Il campione è stato sottoposto ad un panel composto da 8-12 giudici addestrati utilizzando schede a scale strutturate a intervalli costanti crescenti da 1 a 9 (1-basso, 9-elevato) riportanti i principali parametri descrittivi tipici delle zucchine (Fig. 1). A completamento degli aspetti di cui sopra, è stato richiesto a ciascun giudice di esprimere un giudizio di gradimento edonistico, sempre su scala da 1 a 9, suddivisa sui seguenti aspetti: visivo, olfattivo, gustativo, strutturale e complessivo.

**Prodotti:**

Sono state caratterizzate da un punto di vista analitico qualitativo e organolettico sul prodotto fresco 6 varietà/ibridi in confronto a 2 testimoni selezionati dalle attività di miglioramento genetico e di selezione in campo (4 in periodo estivo e 2 periodo autunnale). Da un punto di vista analitico qualitativo le 6 varietà individuate si sono mostrate in tutto e per tutto simili ai testimoni in valutazione in entrambe i cicli. Da un punto di vista organolettico le 3 varietà/ibridi del ciclo primaverile sono risultati più gradevoli rispetto al testimone sul prodotto cotto. Per le due del periodo autunnale nessuna differenza significativa.

### **Attività 2.3.2 – Analisi e individuazione di canali di vendita specifici per una produzione tipica di zucchini dell'areale bolognese.**

È stato somministrato da parte di Consorzio Agribologna un questionario di indagine per verificare l'attitudine degli acquirenti all'acquisto di frutta e verdura online con particolare riferimento ad un prodotto tipico quale la Zucchina tipica di Bologna.

L'indagine è stata svolta utilizzando il metodo CA WI, ovvero Computer Assisted Web Interviewing. Si tratta di una metodologia di raccolta dei dati che si basa sulla compilazione di un questionario via web fornito attraverso un link. Il questionario è stato sottoposto a 800 consumatori e acquirenti di frutta e verdura, responsabili di acquisto del nucleo familiare. Le quote di intervistati sono da considerarsi rappresentative per sesso e fasce di età. Il questionario è strutturato con risposte a domanda chiusa della durata di circa 10 minuti. Il periodo di interviste è andato dal 12/10/2023 al 18/10/2023.

È stato rilevato che:

- La quota di acquirenti online di frutta e verdura è ampiamente inferiore a quella degli acquirenti di pranzi/cene su siti di food delivery (16% Vs 65%).
- Siti di supermercati e siti specializzati in frutta e verdura sono i canali che rassicurano maggiormente i clienti.
- I siti di food delivery hanno spazi di crescita ma, per il loro attuale posizionamento, nell'immaginario collettivo non sono considerati/conosciuti per la vendita di frutta e verdura,
- L'esperienza di acquisto della frutta e verdura online è positiva, con una completa soddisfazione (8.2/10);
- Gli aspetti chiave per l'acquisto online, oltre a qualità e prezzo, fanno riferimento alla spedizione: tempistiche, costi e possibilità di prenotare l'orario e data di consegna.

**Prodotti:** risultati di un questionario di gradimento sottoposto a 800 consumatori. Identificazione dei siti di supermercati e siti specializzati in frutta e verdura come i canali che rassicurano maggiormente i clienti per l'acquisto di zucchini bolognese. I consumatori riconoscono la tipicità dello zucchini bolognese e si mostrano propensi all'acquisto di questo prodotto.

### **RICADUTE SULLA FILIERA**

Le innovazioni validate dal presente piano hanno ricadute di carattere produttivo, economico, ambientale e sociale che coinvolgeranno l'intera filiera produttiva dello zucchini dal seme al mercato fresco:

- Produzione agricola: i due ibridi individuati derivanti dal processo di miglioramento genetico (con introgressione delle resistenze) e di selezione di campo, una volta stabilizzati e iscritti a registro rappresenteranno una ottima opportunità per gli agricoltori moltiplicatori di sementi e produttori di orticole di ridurre l'uso di presidi fitosanitari ed ampliare le superfici di coltivazione anche in condizioni climatiche non di stretta vocazionalità ed anche al di fuori delle produzioni integrate, rendendo più efficiente la coltivazione in biologico con possibilità di aumento delle superfici in questo settore. Si stima che una varietà resistente possa ridurre gli interventi di fitosanitari fungicidi sullo zucchini (prevalentemente impiegati per oidio e peronospora) dal 30% al 50%.

I due ibridi individuati, genereranno una maggiore competitività della coltura associata ad un minor rischio ambientale con ricaduta diretta nel comparto produttivo agricolo della regione Emilia-Romagna che annovera a livello nazionale le maggiori superfici investite a moltiplicazione di sementi ortive ed un discreto investimento in superfici di zucchini bolognese;

- Trasformazione: il progetto ha contribuito alla validazione del packaging biodegradabile in uso da Consorzio Agribologna costituito da confezione in cartone e biodegradabile a marchio "Questo l'ho fatto io" sullo zucchini bolognese e sugli ibridi proposti. I risultati positivi della sperimentazione hanno una ricaduta diretta sia sulla conservazione dei nuovi ibridi, che si è mostrata buona ed in linea con i principali prodotti commerciali garantendo al consumatore freschezza e qualità del prodotto, sia sull'impatto ambientale, utilizzando un packaging sostenibile che riduce del 50 % l'utilizzo di plastica in favore del cartone, che è anche ampiamente apprezzato dai consumatori.

- Commercio: i risultati dell'indagine mostrano come, nonostante la reticenza del consumatore medio all'acquisto di frutta e verdura online, quando il canale è rappresentato da una sigla della grande distribuzione, la propensione aumenta e aumenta anche la consapevolezza della specificità del prodotto zucchini bolognese. Questa informazione rappresenta un ottimo risultato, poiché spendibile per la promozione della filiera tipica dello zucchini bolognese anche su questi segmenti dell'e-commerce;

- Consumatore/Ambiente: il consumatore verrà tutelato da un punto di vista di salubrità del prodotto fresco considerando che le varietà resistenti garantiranno una riduzione di input fitosanitari e un minor rischio di contaminazione da residuo non ammesso in una coltura caratterizzata da raccolta continua che non permette lunghi tempi di carenza. La disponibilità di un prodotto sviluppato validato dall'analisi sensoriale e del gusto del consumatore stesso e gli studi di commercializzazione del prodotto hanno aumentato la tipizzazione del prodotto zucchini di bologna che viene ampiamente riconosciuto dai consumatori.

In generale vale la pena sottolineare che lo studio dei meccanismi di resistenza e l'inserimento di tali geni nello zucchini generati dal presente piano hanno una ricaduta sul sistema della ricerca e sperimentazione per future attività in quanto rappresentano un know how sfruttabile anche su altre tipologie in attività di miglioramento genetico che coprono altre nicchie.

Infine le collaborazioni sviluppate dal presente Piano, che hanno visti coinvolti tutti i principali attori della filiera dello zucchini tipico di bologna, hanno rafforzato enormemente il segmento a

livello regionale, gettando le basi per una qualificazione futura come prodotto tipico riconosciuto da Disciplinare.

## INDICATORI DI RISULTATO

Il piano ha individuato come indicatori di risultato misurabili, per le varie azioni di realizzazione, i seguenti parametri:

Azione	Indicatore di risultato/Risultato
1 Esercizio della cooperazione	<ul style="list-style-type: none"> <li>• E-mail organizzative e di confronto tra il Beneficiario e i diversi consulenti: circa 100</li> <li>• Contatto telefonico fra RS e RP: costante</li> <li>• Riunione di attivazione: n. 1</li> <li>• Riunioni di coordinamento progetto: n. 4</li> <li>• Redazione del documento di rendicontazione tecnica-economica finale: n. 1</li> </ul>
2.1 Miglioramento genetico e costituzione di nuove varietà	<p>Attività 2.1.1</p> <p>Numero di resistenze efficacemente inserite dal miglioramento genetico:</p> <p>Linee saggiate:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 167 testate per cmv-zymv-wmv (39 aggiunte durante il progetto). Di queste 22 sono risultate a fine progetto stabili e fenotipicamente interessanti come linee parentali</li> <li>• 98 linee testae per oidio e di queste 23 sono risultate tolleranti ed utilizzate in piani di breeding</li> <li>• 38 linee testate per pseudoperonospora e 13 sono risultate resistenti ed utilizzate in piani di breeding</li> <li>• Popolazione magic costituita da cui sono state ottenute 192 ibridi derivanti dall'interincrocio pe inserimento di resistenza a tolcndv</li> <li>• 3 popolazioni segreganti per resistenza a phytophthora capsici sono state saggiate e raccolto il seme dalle singole piante resistenti</li> </ul> <p>Attività 2.1.2</p> <p>Numero di linee-varietà-ibridi in valutazione:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 34 ibridi costituiti per resistenza a virosi e funghi tra cui sono stati identificati 10 ibridi resistenti sia a zymv-cmv e wmv che</li> </ul>

	<p>anche ad oidio e 11 ibridi resistenti sia a zymv-cmv e wmv che a pseudoperonospora. tra questi materiali sono stati valutati 2 ibridi interessanti nel target pieno campo e 10 da rivedere in serra in ciclo precoce.</p> <p>Attività 2.1.3</p> <p>Numero di accessioni caratterizzate e distanza genetica degli ibridi sviluppati nel progetto rispetto ai materiali tradizionali</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 31 linee di breeding sono state genotipizzate e messe a confronto con tutti gli attori del progetto dal punto di vista molecolare: varietà di bolognese antica, ibrido di bolognese tradizionale con le rispettive linee parentali, ibrido resistente coltivato nel bolognese nei cicli critici.</li> </ul> <p>Attività 2.1.4</p> <p>Numero varietà iscritte a registro:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ad oggi non sono ancora state iscritte a registro varietà commerciali ma 2 ibridi interessanti nel target pieno campo e 10 da rivedere in serra in ciclo precoce saranno oggetto di studio durante il 2024 per definire la/le varietà da iscrivere.</li> </ul>
<p>2.2 Idoneità alla lavorazione e trasformazione e nuovi packaging</p>	<p>Attività 2.2.1</p> <p>Numero di nuove varietà idonee alla lavorazione e conservazione: n. 6</p> <p>Attività 2.2.2</p> <p>Numero di packaging validati: n 1</p>
<p>2.3 analisi di mercato e caratterizzazione qualitativa del prodotto</p>	<p>Attività 2.3.1</p> <p>Numero di nuove varietà qualitativamente apprezzabili: n. 6</p> <p>Attività 2.3.2</p> <p>Numero di partecipanti al questionario: n. 800</p> <p>Numero di nuovi canali riscontrati: n. 1 preferenziale (canale online di vendita della grande distribuzione), diversi quelli indagati.</p>
<p>3 Divulgazione</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Articolo tecnico inerente i risultati del Piano: n. 1</li> <li>• Visite guidate: n. 2 (31 partecipanti totali)</li> <li>• Incontri tecnici: n. 2 (22 partecipanti totali)</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>• Audiovisivo dedicato al Piano: n. 1</li><li>• Comunicato stampa con relativa rassegna: n. 1 comunicato rilanciato da: 1 quotidiano, 3 agenzie stampa, 26 siti web italiani, 2 siti web stranieri</li><li>• Focus group: n 1 (22 partecipanti)</li><li>• Pagina web con le attività ed i risultati conseguiti nel presente Piano: n. 1</li></ul>
--	---

Data, 22 Marzo 2024

*Firme del Responsabile scientifico*

Chiara Milanesi



*Firma del legale rapp.te*

Tania Buda.