



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

VALUTAZIONE DI ASPETTI
QUALITATIVI DEL FRUMENTO DURO IN
COLTURA CONSOCIATA CON IL FAVINO
EVALUATION OF DURUM WHEAT
QUALITATIVE PARAMETERS IN MIXED
CROPPING WITH FABA BEAN

Studente:

MAIA MACIAS

Relatore:

PROF. STEFANO TAVOLETTI

Correlatore:

DOTT.SSA. ARIELE MERLETTI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

Alla mia famiglia,
i miei più grandi sostenitori

INDICE

ELENCO DELLE TABELLE	pag.6
ELENCO DELLE FIGURE	pag.7
CAPITOLO 1 INTRODUZIONE	pag.9
1.1 Storia e origine del grano	pag.9
1.2 Il frumento	pag.10
1.2.1 Caratteristiche e costituenti chimici della cariosside di frumento	pag.12
1.2.2 Apporto nutritivo del frumento	pag.15
1.2.3 Caratteristiche del frumento duro	pag.16
1.3 Miglioramento genetico del grano	pag.18
1.3.2 Il miglioramento genetico del frumento duro in Italia	pag.19
1.3.3 Tecniche utilizzate per il miglioramento genetico	pag.27
1.3.3.1 Incroci e selezione	pag.27
1.3.3.2 Mutagenesi	pag.28
1.3.3.3 Colture in vitro	pag.28
1.3.3.4 Marcatori molecolari e MAS	pag.29
1.3.3.5 Eterosi	pag.30
1.3.3.6 Transgenesi	pag.30
1.4 La qualità del grano	pag.31
1.4.1 Proteine della granella	pag.34
1.4.1.1 Proteine solubili	pag.35
1.4.1.2 Prolamine (proteine di riserva)	pag.35
1.4.1.2.1 Gliadine	pag.36
1.4.1.2.2 Glutenine	pag.36
1.4.1.2.3 Analisi genetica delle proteine di riserva	pag.38
1.4.1.2.4 Influenze ambientali sul contenuto proteico e composizione delle proteine di riserva	pag.42
1.4.1.3 Puroindoline e durezza della cariosside	pag.44

1.5 Prodotti di trasformazione del frumento duro	pag.46
1.5.1 Processo di trasformazione del frumento in sfarinati.....	pag.46
1.5.1.1 Pulitura	pag.47
1.5.1.2 Condizionamento.....	pag.47
1.5.1.3 Macinazione	pag.48
1.5.2. Processo di trasformazione degli sfarinati in pasta	pag.48
1.5.2.1 Tipologie di pasta	pag.52
1.5.3 Qualità della pasta	pag.55
1.5.3.1 Influenza della composizione proteica sulla qualità pastificatoria	pag.57
1.5.3.2 Influenza della durezza e della composizione proteica sulla qualità pastificatoria	pag.57
1.6 Le alternative per un futuro più sostenibile.....	pag.58
1.6.1 Le consociazioni	pag.59
1.6.2 Consociazioni e lotta contro le erbe infestanti	pag.62
1.7 Sistema di consociazione cereali e leguminose.....	pag.64
1.7.1 Considerazioni per le consociazioni di cereali e leguminose.....	pag.66
1.7.2 Ruolo della consociazione di cereali e leguminose sulla qualità del suolo.....	pag.67
1.7.2.1 Proprietà fisiche del suolo	pag.68
1.7.2.2 Proprietà chimiche del suolo	pag.68
1.7.2.3 Proprietà biologiche del suolo	pag.69
1.7.3 Gestione dell'azoto nelle consociazioni di cereali e leguminose.....	pag.69
1.7.4 Trasferimento di azoto nei sistemi di consociazione di cereali e leguminose	pag.71
1.8 Miglioramento genetico per i sistemi consociati.....	pag.72
CAPITOLO 2 SCOPO DELLA TESI	pag.76
CAPITOLO 3 MATERIALI E METODI.....	pag.77
CAPITOLO 4 RISULTATI E DISCUSSIONE.....	pag.87
4.1 Peso specifico della granella di frumento in coltura pura e in coltura consociata	pag.87
4.2 Contenuto proteico della granella di frumento in coltura pura e in coltura consociata.....	pag.90
4.3 Indice di glutine	pag.95

CAPITOLO 5 CONCLUSIONI.....	pag.97
5.1 Prospettive future	pag.97
RINGRAZIAMENTI.....	pag.99
BIBLIOGRAFIA.....	pag.100

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Peso specifico nella granella di frumento: risultati dell'ANOVA	pag.88
Tabella 2: Peso specifico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei tre blocchi	pag.88
Tabella 3: Peso specifico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei diversi Mix e colture pure con il test di Tuckey	pag.88
Tabella 4: Contenuto proteico della granella di frumento: risultati dell'ANOVA ...	pag.91
Tabella 5: Contenuto proteico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei quattro blocchi con il test di Tuckey	pag.91
Tabella 6: Contenuto proteico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei diversi Mix e colture pure con il test di Tuckey	pag.92
Tabella 7: Indice di Correlazione di Pearson tra il peso specifico ed il contenuto proteico della granella di frumento duro	pag.94

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Area della mezzaluna fertile	pag.9
Figura 2: Coltivazione del frumento nell'antico Egitto	pag.10
Figura 3: Alcuni delle principali specie di frumenti coltivati per l'alimentazione umana	pag.11
Figura 4: Struttura interna della cariosside di frumento	pag.12
Figura 5: Struttura della maglia glutinica al laboratorio e al microscopio elettronico	pag.14
Figura 6: Spiga di frumento tenero a sinistra e spiga di frumento duro a destra	pag.16
Figura 7: Spiga di grano della varietà Senatore Cappelli	pag.20
Figura 8: Confronto tra l'altezza del grano di un campo di frumento nel 1920 con uno attuale	pag.23
Figura 9: spighe di varietà di Grani antichi	pag.26
Figura 10: meccanismo di trasferimento del gene nella cellula ospite con plasmidi ingegnerizzati di <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	pag.31
Figura 11: costituenti del glutine e formazione della maglia glutinica.	pag.35
Figura 12: Gel di poliacrilammide a pH acido (A-PAGE) dei diversi tipi di gliadine di frumento	pag.36
Figura 13: struttura delle subunità gluteniniche	pag.37
Figura 14: differenziazione delle subunità gluteniniche HMW dalle LMW attraverso un'analisi di PCR.	pag.37
Figura 15: Modello ipotetico della struttura dei polimeri gluteninici	pag.39
Figura 16: Ponti disolfuro fra subunità gluteniniche.	pag.39
Figura 17: localizzazione cromosomica dei geni codificanti le diverse proteine di riserva del frumento.	pag.40
Figura 18: arrangiamento spaziale delle proteine del glutine.	pag.41
Figura 19: prodotti della macinazione	pag.46
Figura 20: Essiccamento della pasta a Gragnano agli inizi del ventesimo secolo ...	pag.49

Figura 21: passaggio dell'impasto attraverso le trafile.	pag.50
Figura 22: trafile per la produzione di tipologie diverse di pasta.	pag.50
Figura 23: schema del processo di pastificazione	pag.52
Figura 24: Mix delle 24 colture consociate	pag.77
Figura 25: Inframatic	pag.79
Figura 26: procedura per l'utilizzo dell'Inframatic	pag.79
Figura 27: cilindri e setacci del molino di laboratorio per la macinazione del grano duro	pag.80
Figura 28: pesata del campione da analizzare	pag.81
Figura 29: inserimento dei campioni nelle camere di lavaggio	pag.82
Figura 30: Camere di lavaggio e trasferimento dal setaccio a 88micron a 840micron	pag.82
Figura 31: Glutine dopo il primo e secondo lavaggio a sinistra e a destra rispettivamente	pag.83
Figura 32: Glutine secco	pag.83
Figura 33: Centrifuga dotata degli appositi setacci	pag.84
Figura 34: Disposizione del glutine nel setaccio per la centrifuga	pag.84
Figura 35: estrazione del glutine che è passato attraverso il setaccio	pag.85
Figura 36: Peso specifico delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Chiaro TL) e con il Prothabat69 (Prot69).....	pag.90
Figura 37: Contenuto proteico delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Chiaro TL) e Prothabat69 (Prot69)	pag.94
Figura 38: Correlazione tra il peso specifico della granella di frumento duro ed il contenuto proteico della granella di frumento duro	pag.95
Figura 39: Indice di glutine delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Chiaro TL) e Prothabat69 (Prot69)	pag.96

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 STORIA E ORIGINE DEL GRANO

Il grano, coltivato in Medio Oriente sin dalla nascita dell'agricoltura, oltre 10.000 anni fa, si è diffuso in tutto il mondo ed è diventato l'ingrediente chiave di molti alimenti fondamentali.

Il grano, appartiene alla famiglia delle *Graminacea* e al genere *Triticum* e insieme all'orzo è il cereale coltivato da più tempo, oggi copre il 16% del terreno coltivabile di tutto il pianeta. La sua versatilità gli permette di crescere in qualsiasi clima, dal livello del mare a quote superiori ai 1.220m. Si può conservare a lungo e si macina facilmente e per la maggior parte dei Paesi il grano è la più importante fonte di carboidrati, ma anche di proteine.

L'antenato selvatico del grano cresceva sul monte Karacadag, un vulcano della Turchia sudorientale. Qui, e in altre zone della Mezzaluna fertile, come la Siria, l'Iraq e la valle del Nilo, il grano fu coltivato per la prima volta attorno al 9500 a.C. ed era diverso dal tipo selvatico: aveva semi più grossi e scapi più forti, che si spezzavano facendo disperdere i semi durante la raccolta. La coltivazione di questo cereale ebbe un ruolo fondamentale nella rivoluzione agricola che vide gli uomini passare da cacciatori-raccoglitori ad agricoltori. Il grano raggiunse Cipro sin dal 9000a.C. e, dopo 3000 anni si diffuse in Grecia, Egitto e India, poi tra il 2500 e l'800 a.C. in Cina, Corea e Giappone. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)



Figura 1: Area della mezzaluna fertile

Alcune delle prime varietà dell'Europa occidentale furono rinvenute sulle Alpi svizzere in un ben conservato portavivande di legno di 4000 anni fa, contenenti grani di farro spelta (*Triticum spelta*) e farro dicocco (*T. dicoccon*). Il secondo, meglio noto nei Paesi occidentali come farro, era il cereale più diffuso nel mondo antico, e da esso deriva il grano duro (*T. durum*). Gli antichi Egizi, che coltivavano il grano ne trasformarono la farina da esso prodotto nel primo pane lievitato, mentre gli antichi Greci coltivavano più il farro. La rapida espansione dell'Impero romano si nutri di grano, portato da navi provenienti dalla Sardegna, dalla Sicilia e dall'Africa, e poi da terre conquistate anche più lontane come la Gran Bretagna. I romani furono i primi a distinguere fra grano "duro", ad alto contenuto di glutine, adatto per fare il pane, e grano "tenero", a basso contenuto di glutine, più indicato per dolci, biscotti torte e pasticceria. (Bacon, Black, Smith 2018)

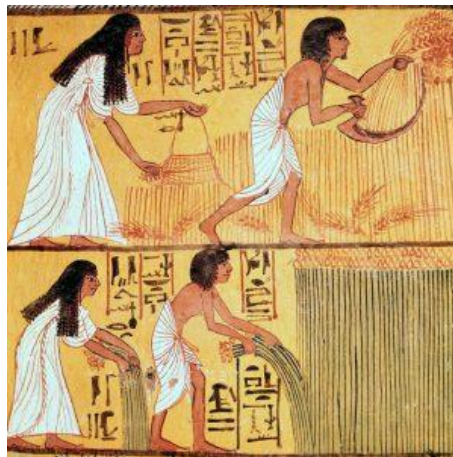


Figura 2: Coltivazione del frumento nell'antico Egitto

1.2 IL FRUMENTO

I frumenti comprendono circa una ventina di specie e sottospecie coltivate o selvatiche, strettamente imparentate tra loro ed appartenenti al genere *Triticum*. La recente storia evolutiva dei frumenti, basata su ibridazioni tra specie simili e successivo raddoppiamento del numero dei cromosomi, ha generato specie con diverso livello di ploidia.

Prendendo in considerazione i frumenti coltivati utilizzati per l'alimentazione umana, tra le specie diploidi troviamo il monococco (*Triticum monococcum*) che fu il primo frumento coltivato dall'uomo neolitico circa 10.000 anni fa, nella mezza luna fertile quando nacque l'agricoltura. Sono invece frumenti tetraploidi il farro (*Triticum turgidum* subspecie *dicoccum*), coltivato ai tempi degli antichi romani (dal termine farro deriva la parola farina), il frumento duro (*Triticum turgidum* subspecie *durum*) che sostituisce il farro a partire dalla fine dell'impero romano ed il *Triticum turgidum* subspecie *turanicum* (noto commercialmente con il nome di kamut® o di "grano khorasan"), una sottospecie molto simile al grano duro evolutasi nel territorio dell'attuale Iran. Infine, tra i frumenti esaploidi troviamo lo spelta (*T. spelta*) ed il frumento tenero (*Triticum aestivum*). Questa natura particolare dei genomi dei frumenti consente anche di creare nuove specie tramite incroci tra piante di specie distinte ma simili.

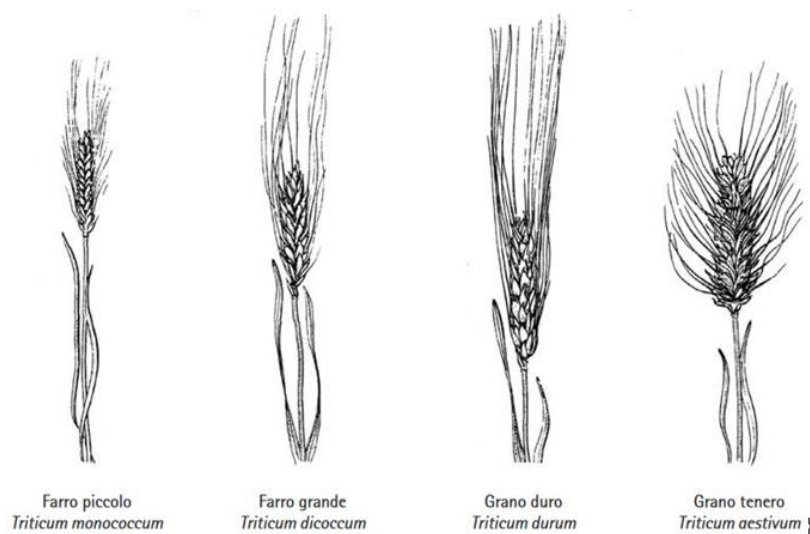


Figura 3: Alcuni delle principali specie di frumenti coltivati per l'alimentazione umana

I frumenti possono essere inoltre classificati a seconda dei loro semi, in frumenti vestiti, dove i semi si presentano alla raccolta avvolti dalle glume che devono essere tolte attraverso un processo di decorticatura prima di procedere alla macinazione per produrre farina; questo ad esempio è il caso del monococco, il farro e lo spelta. E in frumenti nudi, in cui le glume si separano spontaneamente dal seme in fase di raccolta come ad esempio il frumento duro, il frumento tenero, il *T. turanicum* ed il *Tritordeum*.

Per ciascuna delle specie coltivate inoltre sono presenti varietà cosiddette antiche (frumenti selezionati da ricercatori a partire dai primi del '900 sino agli anni '60) e varietà moderne (dagli anni '60 in poi). (L. Cattivelli, P. De Vita)

1.2.1 Caratteristiche e costituenti chimici della cariosside di frumento

I frumenti sono alla base dell'alimentazione del mondo occidentale da circa 10.000 anni. Questo straordinario successo del frumento è dipeso dalle sue caratteristiche tecnologiche e nutrizionali. La cariosside del frumento è un frutto secco indeiscente ellissoidale lungo circa 5-7 mm e largo 3-4 mm, nella spiga ne sono presenti dai 20 ai 60 esemplari circa. La cariosside consiste di un piccolo embrione (15-17% del peso totale) ospitato in una depressione a forma di scudo presente a un'estremità della cariosside stessa, di un grosso endosperma (75-83%) e di un rivestimento noto come pericarpo (8-10%). Quest'ultimo è composto da 6 strati di cellule morte che vengono rimossi durante la molitura e vanno a costituire la crusca. (L. Cattivelli, P. De Vita). (Zina Flagella 2006)

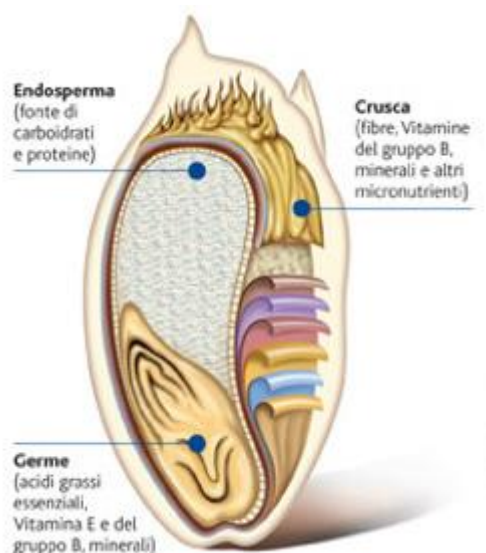


Figura 4: Struttura interna della cariosside di frumento

La crusca contiene anche lo strato più superficiale dell'endosperma o aleurone un singolo strato di cellule rettangolari ricche di proteine sotto forma di granuli e gran parte dei tessuti embrionali che vengono separati dal resto della cariosside perché contengono oli e grassi che possono facilmente irrancidire e alterare la qualità della farina.

Il colore della cariosside delle varietà commerciali di grano tenero e grano duro dipende dal colore dell'endosperma e/o del pericarpo e può variare da bianco avorio, crema, giallo, fino al rosso o al bruno.

Il peso medio della cariosside delle varietà commerciali è compreso tra 30 e 50 mg ma sono noti anche valori più alti e dipende principalmente dalla sua posizione nella spiga cariossidi più grandi al centro, più piccole all'apice; dalle condizioni ambientali di coltivazione come la temperatura, la disponibilità di acqua e nutrienti, o il tipo di terreno; e dalle caratteristiche genetiche della pianta madre.

La forma della cariosside può variare da lanceolata a quasi globulare e ciò influisce fortemente sulla quantità di farina che si ottiene con la molitura: per esempio, le cariossidi lunghe e sottili hanno basse rese in farina mentre quelle rotondeggianti hanno rese molto più elevate. (Pasquale Viggiani, 2009)

All'interno del chicco di grano, i componenti chimici non sono uniformemente distribuiti: il tegumento è ricco di cellulosa, pentosani e ceneri; il germe è ricco di proteine, lipidi, vitamine e ceneri. La parte interna o endosperma è costituita invece da amido in una matrice proteica e il contenuto in proteine diminuisce dalla periferia verso l'interno, non solo come quantità, ma anche come qualità. Infine, nel germe o nello strato aleuronico esterno si trova la maggior densità proteica della cariosside con un valore nutrizionale di conseguenza elevato.

L'endosperma amilaceo contiene, inoltre, piccole percentuali di lipidi, sostanze minerali, polisaccaridi non amidacei e composti fenolici a basso peso molecolare.

Lo strato più esterno dell'endosperma (aleurone), tutto il pericarpo e gran parte dell'embrione vengono separati dal resto della cariosside durante la molitura e finiscono nella frazione nota come crusca, che rappresenta circa il 14-20% della cariosside. Delle sostanze nutritive presenti nella cariosside intera, la crusca contiene il 19% delle proteine, l'86% della vitamina B3, il 50% della vitamina B5 (acido pantotenico), il 42% della vitamina B2 (riboflavina) e il 33% della vitamina B1, oltre a gran parte dei sali minerali. Tutte queste sostanze nutritive non vanno perse solo quando la crusca è macinata insieme all'endosperma per produrre farina integrale. (Pasquale Viggiani, 2009)

Tra i principali componenti nutrizionali dei frumenti troviamo quindi le fibre, l'amido e le proteine. La fibra è un componente nutrizionalmente importante per il suo ruolo nella regolazione di diverse funzioni fisiologiche dell'organismo umano, in particolare per il buon funzionamento del tratto gastrointestinale. La fibra dei cereali ha anche funzioni prebiotiche e i prodotti integrali derivati dai cereali possono contribuire al raggiungimento dei livelli di consumi di fibra raccomandati.

I prodotti integrali si caratterizzano inoltre per la presenza di composti bioattivi: si tratta di composti chimicamente eterogenei (polifenoli tra cui acidi fenolici, lignani, alchilresorcinoli, carotenoidi) dotati di attività antiossidante e/o antinfiammatoria, in grado di influenzare positivamente la salute contribuendo alla prevenzione o alla cura di diverse malattie cronico-degenerative. Va tuttavia osservato che i processi di prima e seconda trasformazione ed il metodo di utilizzo del prodotto da parte del consumatore influenzano la biodisponibilità di questi composti e quindi la loro reale efficacia nella salute umana. L'alimentazione a base di cereali raffinati infatti deve essere integrata con un adeguato consumo di frutta e ortaggi per assicurare un apporto di fibra sufficiente alle necessità del nostro intestino (20-25 g/die). (C.Cannella, N.Pogna, 2009). (L. Cattivelli, P. De Vita)

L'amido è il principale componente delle cariossidi di frumento e della farina e questo fa degli alimenti a base di frumento prodotti prevalentemente energetici.

Le proteine infine rivestono un ruolo primario nel successo alimentare dei frumenti. Molte delle caratteristiche organolettiche dei cibi a basi farina, quali la porosità dei biscotti, la sofficità del pane ed anche la tenacità della pasta al dente, sono dovute proprio alla particolare composizione delle proteine dei frumenti. (L. Cattivelli, P. De Vita)

Circa l'80% di tutte le proteine contenute in un seme di frumento sono rappresentate da gliadine e glutenine, due famiglie di proteine presenti nell'endosperma del seme. Quando gliadine e glutenine sono miscelate insieme in presenza di acqua generano una maglia proteica chiamata glutine.

Il glutine è una matrice proteica con proprietà uniche: è sia elastico che estensibile e queste caratteristiche variano a seconda della specifica composizione delle famiglie gliadiniche e gluteniniche presenti. Queste proprietà spiegano la capacità di un impasto di farina ed acqua di lievitare intrappolando l'anidride carbonica prodotta nella lievitazione e generando un prodotto più o meno soffice, ma anche la capacità di intrappolare granuli d'amido e trattenerli durante la cottura della pasta in acqua bollente, caratteristica che si traduce in una pasta al dente.

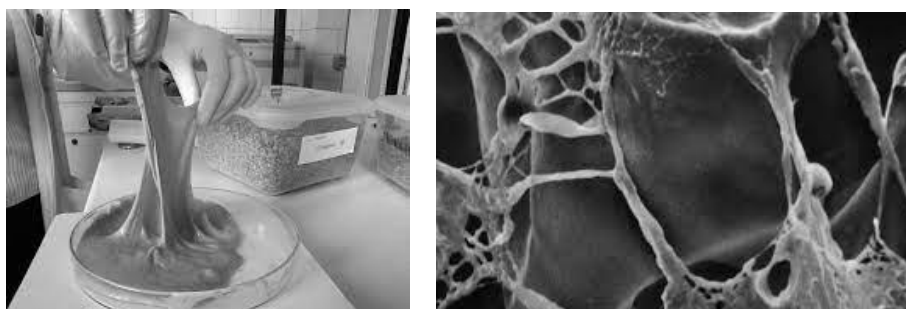


Figura 5: Struttura della maglia glutinica al laboratorio e al microscopio elettronico

Fra i venti aminoacidi che in diverse combinazioni costituiscono tutte le proteine, nove sono definiti essenziali per la nostra dieta: il nostro corpo non è in grado di sintetizzarli a partire da molecole più semplici e devono dunque essere assunti con la dieta, ingerendo e digerendo proteine di altri organismi, animali o piante. Dal punto di vista nutrizionale, le proteine del glutine sono deficitarie in alcuni aminoacidi essenziali (lisina ed in misura minore treonina e isoleucina) che tuttavia sono forniti dagli alimenti di solito consumati insieme ai prodotti a base di cereali, compensando quindi le carenze degli stessi. (L.Cattivelli, P.De Vita)

1.2.2 Apporto nutritivo del frumento

Nelle abitudini alimentari mediterranee il frumento soddisfa per circa 1/3 il fabbisogno giornaliero di energia e di proteine di un adulto (~2.400 kcal/die). Da un punto di vista nutrizionale la farina di grano è un alimento che fornisce circa 320 kcal/100 g, con un valore energetico che proviene per l'80% da carboidrati a lento assorbimento e per il 15% da proteine con un valore nutritivo non elevato (per la ridotta quantità di lisina e treonina). Scarso è invece il contributo da parte dei lipidi o grassi, soprattutto nelle farine raffinate. Il grano è un alimento di base che quindi necessita di essere abbinato ad altre fonti proteiche per il completamento delle potenzialità nutritive della frazione proteica.

Nelle civiltà che hanno utilizzato il grano o un altro cereale come alimento base si nota l'abbinamento dei cereali con le leguminose. Questa usanza tradizionale (pasta e fagioli, riso e soia, mais e arachidi) trova una spiegazione nella complementarità tra le composizioni amminoacidiche delle proteine di questi due alimenti: quelle del grano completano la loro carenza di lisina e treonina con il surplus di questi aminoacidi nelle proteine delle leguminose e queste ultime compensano la loro carenza in aminoacidi solforati (metionina e cisteina) con le proteine del grano. Questa complementarità è alla base della tradizione gastronomica mediterranea.

L'apporto nutritivo del frumento cambia in conseguenza del processo di raffinazione. Per migliorare la conservabilità delle farine, facilitare il loro utilizzo nelle produzioni alimentari e allontanare alcune sostanze non nutrienti presenti negli strati esterni del chicco di grano come fitati, tannini, le cariossidi del grano vengono raffinate mediante eliminazione delle parti esterne e del pericarpo (crusca). Ciò comporta anche la perdita di una parte del sottostante strato corticale del seme, aleurone e germe, con conseguente perdita parziale di un amminoacido essenziale quale il triptofano, che è particolarmente abbondante nelle proteine dello strato aleuronico.

Allo stesso tempo bisogna ricordare che il processo di raffinatura migliora però la conservabilità nel tempo e la sicurezza d'uso della farina rendendo questo processo nel complesso favorevole e quindi conveniente per la nostra salute. (C.Cannella, N.Pogna, 2007)

1.2.3 Caratteristiche del frumento duro

Il frumento (*Triticum spp.*) è una pianta annuale autoimpollinante, appartenente alla famiglia *Poaceae* (erbe), genere *Triticum*. I frumenti appartengono a sei specie del genere *Triticum* che presentano tutte un multiplo di una serie base di 7 differenti cromosomi (serie cromosomica aploide $n = x = 7$) nelle cellule gametiche, e due serie nelle cellule somatiche, (serie cromosomica diploide $2n = 2x = 14$).

Le differenti specie di frumenti formano, quindi, una serie poliploide basata sul set base di sette cromosomi ($x = 7$) e comprendono come detto in precedenza due specie diploidi ($2x = 14$), due specie tetraploidi ($4x = 28$) e due specie esaploidi ($6x = 42$). Le due specie con il più basso numero di cromosomi, *Triticum monococcum* e *Triticum urartu*, sono normalmente diploidi ($2n = 2x = 14$). Altre due specie, *Triticum turgidum* e *Triticum timopheevii*, sono tetraploidi ($2n = 4x = 28$). La specie di *Triticum* coltivata con il più alto numero di cromosomi è infine il frumento tenero (*Triticum aestivum*) che è esaploide ($2n = 6x = 42$).

I due gruppi principali di frumenti commerciali sono il frumento duro (*Triticum durum L.*) e il frumento tenero (*Triticum aestivum L.*).



Figura 6: Spiga di frumento tenero a sinistra e spiga di frumento duro a destra

Il *Triticum aestivum* è economicamente di gran lunga il più importante. La maggior parte delle sue moderne varietà appartiene alla ssp. (sottospecie) *aestivum* e viene generalmente denominato frumento tenero, la cui farina è la migliore per la lavorazione del pane.

Il frumento tenero comprende più di 20.000 cultivar che si sono adattate ad ambienti molto diversi e la sua coltivazione è diffusa in tutto il mondo.

Analogamente, il frumento tetraploide *T. turgidum*, e in particolare le varietà moderne appartenenti alla ssp. *durum* (frumento duro o frumento da pasta), è largamente coltivato in regioni relativamente semi-aride, come il bacino del Mediterraneo, l'India, la Russia, e alcune regioni con precipitazioni ridotte di Stati Uniti e Canada, per la trasformazione in semola.

Il termine tetraploide indica il fatto che esso origina da un'ibridazione interspecifica tra due specie selvatiche diffuse nella Mezzaluna Fertile (Iraq): *Triticum urartu* ($2n=14$, genomi AA) ed una specie ancora non accertata del genere *Aegilops* sezione *Sytopsis* con corredo cromosomico $2n=14$, genomi BB. L'ibrido spontaneo ha dato origine alla specie *Triticum dicoccoides* ($2n=28$, genomi AABB), il progenitore selvatico del grano duro da cui l'uomo neolitico ha domesticato il grano duro più o meno come lo conosciamo oggi.

Il grano duro è caratterizzato dal fatto di avere i semi liberi dalle glume, ovvero dagli involucri fiorali che li avvolgono. Il risultato è per mezzo della trebbiatura, questo grano rilascia seme libero da paglie.

Una caratteristica che distingue il grano duro dal grano tenero, è che a maturazione le cariossidi si presentano vetrose e non farinose. Questo è dovuto alla particolare composizione proteica del grano duro, che quindi dà prevalentemente semole e non farina.

Le proprietà delle proteine del grano duro fanno sì che le masse che si ottengono impastando le semole con acqua siano particolarmente indicate per la produzione di paste e oltre alla diffusissima pasta, molti alimenti mediterranei basati sul grano duro, come ad esempio il cuscus ed il bulgur.

Un attributo importante del grano è la sua adattabilità alle diverse condizioni climatiche. Sebbene coltivato principalmente in climi temperati (tra latitudini 30 ° e 60 ° nord e sud) con una temperatura ottimale di crescita di 25 ° C (temperature minime e massime di 3 ° C e 32 °C), può essere coltivato dall'interno dell'Artico cerchio ad altitudini più elevate vicino all'equatore e dal livello del mare fino a 3000 m sul livello del mare. In quanto tale, è una delle colture più coltivate con una stagione di crescita breve e una buona resa per unità di superficie.

Questi attributi rendono il grano una delle materie prime più importanti nel commercio internazionale. Attualmente, nel mondo vengono prodotte 749.467.531 tonnellate di grano all'anno essendo una delle più grandi colture alimentari in termini di superficie di coltivazione e produzione. (A. Blanco, 2009)

1.3 MIGLIORAMENTO GENETICO DEL GRANO

1.3.1 Storia del miglioramento genetico delle colture

Il miglioramento genetico delle diverse specie coltivate è iniziato con la domesticazione delle prime piante selvatiche circa 10.000 anni fa, quando i nostri antenati cacciatori-raccoglitori iniziarono a selezionare le migliori piante selvatiche e a coltivarle, portando così allo sviluppo di economie agricole e pastorali con il sorgere conseguentemente di società umane complesse. L'atto stesso della coltivazione e la continua scelta, da parte degli agricoltori, delle piante migliori ha comportato un processo continuo di modificazione dei genotipi, che ha conferito alle specie domesticate un adattamento alle condizioni dell'agricoltura.

Le popolazioni di specie prevalentemente autogame come il frumento che venivano coltivate molto prima che Mendel ponesse le basi scientifiche per la nascita della genetica e, quindi, del miglioramento genetico come scienza applicata, erano rappresentate dalle popolazioni naturali introdotte in coltivazione, caratterizzate da un ottimo adattamento all'ambiente in cui venivano coltivate. Le popolazioni naturali rappresentarono l'unico tipo di cultivar fino a circa 150-180 anni fa e vennero sostituite da cultivar basate su singole linee pure quando gli agricoltori più evoluti iniziarono ad isolarne i singoli componenti, costituendo le prime varietà a stretta base genetica. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

A partire da 10.000 anni fa, l'uomo ha quindi costantemente selezionato frumenti migliori, prima su basi totalmente empiriche e poi, a partire dai primi del '900, sfruttando le conoscenze genetiche e più recentemente quelle genomiche. Su basi empiriche l'uomo ha selezionato le forme coltivate differenziandole da quelle selvatiche (in quest'ultime i semi cadono dalla spiga una volta maturi, un carattere estremamente utile per la dispersione dei semi figli, ma che rende difficile la raccolta dei semi da parte dell'uomo) e successivamente ha preferito le forme nude, soprattutto se caratterizzate da semi grandi, per un'ovvia comodità in quanto i semi nudi non devono essere decorticati. (A. Blanco, 2009)

Negli ultimi 100 anni si è tuttavia assistito ad un intenso lavoro di miglioramento genetico che ha portato alla selezione dei frumenti moderni attraverso un susseguirsi di nuove varietà. La sostituzione delle popolazioni naturali con varietà basate sulla singola linea pura, fu indotta e giustificata dalle nuove esigenze di un ambiente agricolo e di un mercato in rapida evoluzione. La maggiore uniformità genetica con un unico genotipo altamente omozigote, delle varietà basate sulla singola linea pura rispetto alle vecchie popolazioni naturali, comportava infatti una maggiore uniformità fenotipica, molto vantaggiosa per lo svolgimento delle comuni pratiche agricole in una agricoltura dove il ricorso alla meccanizzazione era sempre più presente. Semi e piante uniformi agevolano infatti la meccanizzazione di operazioni come la semina e la raccolta, e rendeva più efficace e sicura l'applicazione di diserbanti, pesticidi e fertilizzanti. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

La maggiore uniformità contribuisce notevolmente ad aumentare il valore del prodotto, sia di quello conferito direttamente ad un consumatore, che considera anche l'aspetto estetico del quale l'uniformità rappresenta la caratteristica più importante, sia di quello destinato all'industria di trasformazione, per la quale un prodotto uniforme significa in genere un più efficiente utilizzo delle macchine per la lavorazione della materia prima e di conseguenza minori scarti. L'uniformità è infine una qualità da un punto di vista legale, nata dall'esigenza di poter distinguere inequivocabilmente tra le cultivar, nel momento in cui esiste una legislazione atta a garantire e difendere i diritti economici dei costitutori. Una varietà cosiddetta moderna deve infatti rispondere per legge ai requisiti di distinguibilità, uniformità, stabilità e valore agronomico superiore. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

1.3.2 Il miglioramento genetico del frumento duro in Italia

All'inizio del XX secolo erano presenti in Italia un gran numero di popolazioni locali di frumenti tetraploidi, prevalentemente coltivate nel Centro, nel Sud e nelle Isole, e prevalentemente destinate alla produzione di pani tipici locali o di minestre. Il *Triticum turgidum* subsp. *durum*, usato anche per la produzione di paste tipiche, era diffuso principalmente nelle aree aride e semiaride, mentre in aree ristrette, collinose o montagnose, venivano coltivati anche il *T. turgidum* subsp. *turgidum* ed il *T. turgidum* subsp. *dicoccum*, spesso insieme al diploide *T. monococcum* e all'esaploide *T. aestivum* subsp. *spelta*, per pane e minestre. Fu solo nella prima metà del XX secolo che l'utilizzazione di base delle due specie di grano duro e di grano tenero, si differenziò più nettamente: il grano duro per la pastificazione e il grano tenero per la panificazione.

Dalla fine del 1800 fino al 1920 circa, la coltivazione del frumento duro in Italia era basata sull'uso di un gran numero di popolazioni locali o landraces, che rappresentavano in quel periodo l'unico germoplasma disponibile. La superficie complessiva destinata al frumento duro era in questo periodo di circa 1,29 milioni di ha, pari al 27% della superficie totale destinata al frumento, e Sicilia e Sardegna erano le regioni con la maggiore superficie. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Il primo periodo del miglioramento genetico comportò una selezione genealogica da popolazioni locali ed esotiche e durò circa un trentennio, dagli anni '20 agli anni '50, e consistette quasi esclusivamente nella selezione genealogica di singole linee pure dalle landraces precedentemente coltivate, non solo italiane, ma anche siro-palestinesi e nord-africane. (N. Pogna, L. Gazza)

La cultivar Senatore Cappelli, rilasciata nel 1915 e ancora coltivata dopo quasi 90 anni, fu senz'altro la costituzione più importante di questo periodo, in cui arrivò a coprire fino al 60% della superficie italiana di frumento duro, per estendersi in seguito anche in altri paesi del Mediterraneo come la Turchia e la Spagna.

La cultivar Senatore Cappelli era caratterizzata da un'ampia adattabilità, un maggior numero di cariossidi per spiga (33-42) e per spighetta (1,8-2,2) rispetto alle precedenti popolazioni locali, ma soprattutto da un'ottima qualità della semola. I principali difetti erano per contro rappresentati da una notevole suscettibilità all'allettamento ed alle ruggini. In questo periodo il successo del S. Cappelli fece sì che la superficie destinata a questa cultivar divenisse superiore a quella occupata complessivamente da tutte le altre.

E in seguito fu ampiamente utilizzata per il miglioramento genetico, tanto che più dell'80% delle cultivar italiane registrate entro il 1987 avevano Cappelli nel loro pedigree.



Figura 7: Spiga di grano della varietà Senatore Cappelli

Alla fine della guerra, la produzione di grano duro in Italia era quantitativamente e qualitativamente insufficiente, le conseguenti rese limitate non stimolavano gli investimenti e le industrie molitorie e di pastificazione risolvevano i problemi di approvvigionamento miscelando i grani locali con grano duro americano, canadese o argentino.

Gli anni '50 e '60, furono poi caratterizzati dal ricorso ad incroci tra linee della sezione mediterranea, di provenienza nord-africana (essenzialmente S.Cappelli), e linee della sezione *syriaca* (Aziziah, Eiti, Sinai, Tripolino), più precoci e più basse, per la creazione di variabilità. Il precursore di questo nuovo corso del miglioramento genetico fu nuovamente Strampelli. L'incrocio tra tipi mediterranei e tipi siriaci ebbe in generale l'effetto di portare l'altezza al di sotto dei 120 cm migliorando la resistenza all'allettamento e di aumentare la precocità e quindi diminuire l'incidenza della stretta, di far scendere il rapporto 'paglia: granella' al di sotto dell'unità.

L'aumento di precocità ottenuto attraverso l'incrocio con i frumenti della sezione *syriaca*, rappresentò l'inizio di un progressivo aumento della precocità del frumento duro perseguito attraverso il miglioramento genetico, che ha fatto sì che, attualmente, le cultivar italiane si presentino in genere più precoci rispetto alle altre cultivar di frumento duro coltivate nelle aree Mediterranee.

Dalla riduzione in taglia che, apprezzata inizialmente soprattutto in relazione al suo effetto positivo sull'allettamento, comportò anche un primo aumento nell'harvest index (HI, indice di raccolta, rapporto tra peso della granella e peso totale), di fondamentale importanza nel miglioramento genetico del frumento duro.

Da metà anni '60 fino al 1973 si verificò un notevole lavoro di ibridazione interspecifica con frumenti teneri che venne utilizzata principalmente per ottenere frumenti duri con culmi più corti e robusti, o per aumentare il numero di fiori fertili per spigetta e vennero anche utilizzati come fonte di resistenze a patogeni, al freddo ed all'allettamento, e per aumentare la fertilità della spiga, con la costituzione di varietà caratterizzate da resa elevata e resistenza al freddo.

La nuova cultivar più importante di questo periodo in termini di diffusione in coltura è senz'altro Appulo che, iscritta nel Registro Varietale nel 1973, già l'anno successivo compare tra le prime quattro cultivar italiane più diffuse.

Nel quinquennio 1971/75 è evidente una espansione della superficie nazionale coltivata da frumento duro, che arriva a 1,6 milioni di ha (+ 16% rispetto al periodo 1961/65).

Parallelamente all'aumento di superficie totale, le rese medie nazionali arrivano a toccare, nel quinquennio '71/'75, le 1,9 t ha⁻¹, con un incremento di circa il 20% rispetto al precedente quinquennio. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Per il frumento, come per le maggiori colture, è stato soprattutto l'aumento dell'HI (indice di raccolta), ossia della proporzione di biomassa allocata nella granella, a determinare gli incrementi nelle rese. Gli aumenti in biomassa totale sono stati, al contrario, trascurabili, per cui l'aumento in HI è derivato da un ridotto investimento negli organi non raccolti, principalmente nei culmi. Questo spiega la stretta relazione che esiste nei cereali, tra la riduzione in altezza e l'HI. Prima del 1950 si utilizzavano per il frumento varietà alte circa 150 cm, con l'HI intorno al 30-35%, che competevano efficacemente con le infestanti, producevano molta paglia e potevano essere raccolte facilmente a mano. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Negli anni '60-'70, contemporaneamente alla produzione di fertilizzanti di sintesi che non potevano essere sfruttati appieno dalle varietà alte sulle quali causavano allettamento, vennero individuati un gruppo di major genes (*Rht*, reduced height) chiamati genericamente "dwarfing genes" (geni nanizzanti) in grado di ridurre l'altezza del culmo.

Nei frumenti duri l'introduzione della bassa taglia avvenne successivamente ai frumenti teneri, ed il dwarfing gene utilizzato fu il *Gai/Rht1* del frumento tenero giapponese Norin 10, localizzato sul cromosoma 4A, che conferisce insensibilità alle gibberelline (sostanze ormonali che stimolano l'accrescimento e la germinazione nei vegetali). L'effetto iniziale dell'introduzione dei dwarfing genes fu spesso negativo e fu necessaria la manipolazione del background genetico in cui questi geni venivano inseriti perché potessero esprimersi a pieno i vantaggi oggi ampiamente sfruttati. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

La riduzione dell'altezza del culmo ottenuta attraverso l'introduzione dei geni *Rht* è conseguenza di una riduzione nella lunghezza degli internodi, mentre il loro numero, e quindi a sua volta il numero di foglie, è rimasto invariato, evitando in questo modo una diminuzione della superficie fotosintetica e quindi della capacità di produrre assimilati. La riduzione in lunghezza è stata accompagnata a sua volta da una riduzione in peso dei culmi, che ha reso disponibile una certa quantità di assimilati per destinazioni alternative. Le destinazioni alternative possibili erano però molte ed in competizione tra loro: infatti gli assimilati potevano essere utilizzati per aumentare le dimensioni dell'infiorescenza, che solitamente si sviluppa contemporaneamente all'allungamento del culmo; potevano essere conservati come riserva per la successiva crescita delle cariossidi; oppure potevano essere usati per aumentare l'accestimento o la crescita delle radici. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Il successo dei dwarfing genes si è perciò verificato nel momento in cui il background genetico nel quale sono stati inseriti i geni è stato modificato attraverso la selezione dei genotipi in cui gli assimilati in eccesso venivano traslocati principalmente alla spiga, dove consentivano quindi la produzione di un numero più elevato di cariossidi a parità di numero di spighe. L'effetto dell'inserimento di questi geni è stato quindi quello di aumentare l'HI fino a valori prossimi al 50% a parità di biomassa totale, con un conseguente aumento delle rese. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)



Figura 8: Confronto tra l'altezza del grano di un campo di frumento nel 1920 con uno attuale.

La riduzione dell'altezza ha inoltre consentito di aumentare le concimazioni azotate e quindi la produzione di biomassa, senza incorrere nell'allettamento. In effetti, la minore competitività delle piante basse nei confronti delle infestanti è stata superata grazie al fatto che, nello stesso periodo, l'industria chimica rendeva disponibili numerosi erbicidi. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

A partire da incroci interspecifici con il frumento tenero giapponese 'Norin 10' a bassa taglia e con altri genotipi portatori dei geni per varie resistenze nascono agli inizi degli anni '70, varietà che grazie alla resistenza all'allettamento ed al maggior harvest index associato alla statura ridotta, e grazie alla resistenza alla ruggine nera ed all'oidio, consentirono il raggiungimento di livelli produttivi decisamente superiori a quelli delle precedenti costituzioni.

Nel decennio che va dal 1980 al 1990, il successo delle varietà appena costituite e le nuove disposizioni di legge contribuirono ad aumentare gli investimenti nel miglioramento del frumento duro.

Dopo il lavoro pionieristico di Strampelli infatti, Norman Borlaug, un genetista che lavorava presso il CIMMYT (un'istituzione di ricerca internazionale con sede in Messico) ha selezionato i frumenti moderni che hanno consentito di sollevare dalla fame molti paesi del centro-sud America e dell'Asia, un rinnovamento varietale che è stato definito come "rivoluzione verde". Il lavoro di Borlaug fu premiato con il premio Nobel per la Pace nel 1970. Questo portò alla costituzione di un gran numero di nuove varietà altamente produttive attraverso l'introduzione di nuovo germoplasma, prevalentemente dal CIMMYT e la ricombinazione dell'intero pool genico disponibile per i frumenti tetraploidi. (R. Motzo, F. Giunta, 2001) (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

Dal 1991 il lavoro di miglioramento genetico si è manifestato attraverso la continua iscrizione di nuove cultivar. Nel 1996 un gruppo di ricercatori ed operatori, sulla base dell'esperienza e dei dati riportati in letteratura, ha stabilito i parametri di qualità più importanti ai fini della pastificazione, ed il loro peso relativo nell'"indice globale" che viene utilizzato per la classificazione delle varietà di grano duro ai fini della concessione dell'aiuto supplementare. Tali parametri vengono monitorati sistematicamente dall'Unità di Studi sui Cereali dell'INRAN (Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione). (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Alla base di tutto il lavoro di miglioramento genetico c'era, e c'è tuttora, l'esigenza di aumentare la produzione per unità di superficie in un contesto sostenibile; va ricordato che senza l'incremento produttivo registrato nell'ultimo secolo oggi non ci sarebbe cibo per tutti. L'aumento della produzione agricola può essere ottenuto attraverso l'uso di migliori tecniche di coltivazione (inclusi l'uso di fertilizzanti e di agro farmaci) oppure attraverso la selezione di piante geneticamente più produttive.

Nel caso del frumento, l'enorme aumento produttivo registrato in Italia (la resa per ettaro è quantomeno triplicata dagli inizi del '900 ad oggi) e nel mondo è attribuibile per almeno il 50% al miglioramento genetico e nei prossimi decenni il ruolo del miglioramento genetico sarà anche maggiore.

Nel tempo sono state selezionate quindi piante più adatte all'ambiente italiano attraverso l'introduzione di fattori di precocità che consentono al frumento di maturare prima della calura estiva, evitando lo striminzimento delle cariossidi dovuto alla combinazione alta temperatura/siccità. I frumenti moderni sono più resistenti alle malattie, soprattutto fungine, una caratteristica che limita l'uso dei fitofarmaci e migliora la salubrità del prodotto e la sostenibilità della coltura.

Infine a parità di condizioni agronomiche, i frumenti moderni hanno un contenuto di proteine e di glutine inferiore a quello dei frumenti antichi, ma presentano un glutine con caratteristiche tecnologiche molto migliori e capace di rendere il pane più soffice e la pasta più al dente.

Le nuove varietà richiedono tecniche agronomiche più avanzate e queste reclamano nuove e migliori varietà, in un processo ciclico che porta ad un continuo e progressivo aumento della produzione unitaria delle colture e ad una più alta redditività dei fattori impiegati in agricoltura. Il miglioramento genetico riveste in questo processo un ruolo trainante. All'eccessiva uniformità raggiunta con il miglioramento genetico e così tanto ricercata dall'industria, sono associati anche aspetti negativi, soprattutto per quanto riguarda l'impatto di stress biotici ed abiotici, e l'erosione genetica. Le piante selvatiche raramente sono soggette ad attacchi epidemici da parte dei vari patogeni. Ospiti e patogeni in natura sopravvivono insieme in un equilibrio complesso che non vede nessuno dominare, grazie fondamentalmente alla eterogeneità genetica delle popolazioni naturali ed alla discontinuità nella distribuzione spaziale. Le agricolture evolute, a differenza delle agricolture primitive, oltre a restringere la base genetica delle popolazioni coltivate, diffondono popolazioni geneticamente omogenee su aree estese, creando degli habitat profondamente alterati sia per i patogeni che per l'ospite. In queste condizioni, lo sviluppo epidemico delle malattie viene quindi notevolmente favorito. (R. Motzo, F. Giunta, 2001)

Al giorno d'oggi si tende a sostituire le vecchie varietà geneticamente eterogenee con nuove varietà geneticamente omogenee che sono in numero tanto più ridotto quanto più sono buone e adattate. Questo processo, che comporta l'affermarsi di poche varietà e la scomparsa dalla coltivazione, in modo definitivo, delle popolazioni locali, prende il nome di erosione genetica. Ciò che è cambiato, cioè, nella transizione dal Neolitico al miglioramento genetico scientifico non è solo la natura della selezione, ma la natura ed il range della variabilità genetica. La base genetica ristretta per ciascuna specie e zona potrebbe condurre ad un rallentato progresso del miglioramento o alle suddette crisi patologiche e, a livello mondiale, alla diminuzione della variabilità genetica disponibile per far fronte a futuri cambiamenti della situazione biologica, climatica e socio-economica.

Per ribaltare la situazione attualmente si assiste ad un revival dei frumenti antichi, a cui si attribuiscono caratteristiche positive spesso in contrasto con i frumenti moderni.

Frumenti duri come Timilia o Russello (due popolazioni locali siciliane), Cappelli oppure frumenti teneri come Gentil Rosso o il Grano del miracolo (due popolazioni locali coltivate nell'800 nel centro e nord Italia) vengono rimessi in coltura e sempre più spesso si trovano in commercio prodotti realizzati con farine di questi grani antichi.



Figura 9: spighe di varietà di Grani antichi

A parità di condizioni agronomiche, i frumenti antichi, meno produttivi, hanno più proteine e più glutine rispetto ai frumenti moderni, tuttavia esiste una certa diversità genetica per cui singole varietà (sia moderne che antiche) possono scostarsi dalla tendenza generale. Un'importante differenza tra frumenti antichi e moderni risiede nella qualità del glutine, che nei frumenti moderni ha composizione e proprietà tecnologiche diverse da quelli dei frumenti antichi. Il miglioramento genetico ha determinato un aumento della forza del glutine, e la selezione di frumenti con glutine tenace è stata motivata dalle sempre maggior propensione del consumatore per pani soffici e paste sempre al dente.

A causa della loro bassa produttività (circa 1/3 di quella dei frumenti moderni), i frumenti antichi richiedono una superficie molto più estesa per produrre la stessa quantità di farina, e questo va contro i principi della sostenibilità ambientale. Per questi motivi i frumenti antichi dovrebbero essere considerati un'opportunità solo per le aree marginali (dove la differenza produttiva tra frumenti antichi e moderni è minore) e/o per produzioni di nicchia. Conservando in questo modo parte della variabilità genetica della specie. (R.Motzo, F. Giunta, S. Fois 2001)

1.3.3 Tecniche utilizzate per il miglioramento genetico

1.3.3.1 Incroci e selezione

Le metodologie utilizzate per la costituzione di nuove varietà variano in base ai sistemi riproduttivi delle diverse specie vegetali. In genere il lavoro di miglioramento genetico inizia con lo sfruttamento della variabilità iniziale; questa successivamente è destinata a ridursi con la selezione. Uno dei metodi per creare nuova variabilità è l'incrocio. Lo scopo dell'incrocio, e della successiva selezione, è quello di combinare in una singola varietà i geni favorevoli presenti in due o più differenti genotipi. Nel caso dei frumenti, i metodi maggiormente usati sono il metodo pedigree, la selezione ricorrente e il reincrocio.

Nel metodo pedigree i due genitori sono varietà agronomicamente valide ma con caratteri complementari in modo tale da consentire la selezione di una progenie che abbia integrato i caratteri positivi di entrambi i genitori. La fase di selezione può interessare diverse generazioni e, una volta raggiunto un ragionevole grado di uniformità dei caratteri di interesse, diventa necessario validare i materiali ottenuti in diversi ambienti e caratterizzare i genotipi per i principali caratteri qualitativi e quantitativi della produzione. Da ciascun programma si possono selezionare più varietà in grado di essere iscritte al registro varietale; di contro, la maggior parte degli incroci, normalmente, non produce varietà superiori.

La selezione ricorrente è un metodo usato nelle allogame ma ha dato buoni risultati anche nelle autogame. Attraverso l'incrocio, in tutte le combinazioni di diverse varietà o linee con caratteristiche di interesse è stato possibile eliminare blocchi di linkage e incorporare in genotipi superiori geni utili (stabilità produttiva, resistenza a stress biotici e abiotici) normalmente dispersi nella popolazione. La selezione è ciclica e la partenza di ogni ciclo è rappresentata dall'incrocio dei migliori genotipi selezionati alla fine del ciclo precedente. Così facendo si sposta la media della popolazione di partenza e si va avanti fino all'esaurimento della variabilità iniziale.

Infine, il metodo del reincrocio è adatto per dotare una varietà (genitore ricorrente) agronomicamente valida di nuovi caratteri a base genetica semplice presenti in un altro genotipo (genitore donatore). Le piante ibride ottenute dall'incrocio devono essere reincrociate al genitore ricorrente e si procede nelle generazioni successive in dipendenza della base genetica del carattere (dominante o recessivo), del fenotipo e della difficoltà di selezionare il genotipo ricombinante.

La disponibilità di marcatori molecolari agevola il raggiungimento dell'obiettivo. Il numero dei reincroci con il genitore ricorrente dipende dalla distanza genetica dei due genitori di partenza. Nel caso il donatore fosse un genotipo selvatico il numero degli incroci sarebbe maggiore. (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

1.3.3.2 Mutagenesi

La variabilità esistente in natura è stata generata da mutazioni spontanee o indotte. Le prime hanno una frequenza molto bassa, anche se alcuni geni mutano più frequentemente di altri. Le mutazioni, con la selezione, sono alla base dell'evoluzione e interessano anche il miglioramento genetico delle piante.

Le mutazioni possono essere recessive o dominanti e interessano il materiale ereditario a diversi livelli: genico, genomico e cromosomico. Possono essere utili o meno, e nella maggior parte dei casi causano una perdita di funzione che può portare alla morte della pianta. I materiali vegetali che possono essere trattati sono di vario tipo (semi, gameti e organi di propagazione vegetativa). L'identificazione, l'isolamento e la valutazione dei mutanti indotti richiedono molta esperienza e i materiali ottenuti possono essere selezionati direttamente per costituire nuove varietà o possono essere incrociati con materiali genetici già esistenti per introdurre in questi i caratteri generati col trattamento. (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

1.3.3.3 Colture in vitro

Le tecnologie avanzate operano prevalentemente ai livelli cellulare e molecolare. Il primo si è sviluppato sulla considerazione che cellule singole, protoplasti e parti di pianta, in vitro, in opportune condizioni possono rigenerare nuove piante. L'uso pratico delle colture in vitro ha portato alla scoperta della totipotenza della cellula vegetale, all'ottenimento di piante aploidi da microspore, alla rigenerazione di piante da protoplasti. Nelle graminacee gli espianti che vengono più frequentemente utilizzati sono gli embrioni immaturi o maturi e le giovani infiorescenze. Il comportamento in vitro dipende dalla specie ma anche dal genotipo.

Per moltiplicare rapidamente le cellule di una pianta si possono usare le colture di cellule che vengono disperse in un terreno di coltura liquido. Per le applicazioni pratiche è evidente che sono di interesse solo le colture che hanno conservato la capacità di rigenerare.

Le colture in vitro possono essere utilizzate nel miglioramento genetico per il recupero di embrioni di ibridi interspecifici, per la conservazione del germoplasma, per l'ottenimento di piante omozigoti da antere, per sfruttare la variazione somaclonale e la mutagenesi in vitro o per la selezione di linee cellulari tra altri utilizzi. (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

1.3.3.4 Marcatori molecolari e MAS (selezione assistita con marcatori molecolari)

L'enorme sviluppo della genetica molecolare registrato nell'ultimo decennio ha reso disponibili nuove tecnologie, che permettono di rendere più veloce ed efficace la costituzione di nuove varietà. Un marcatore molecolare è un frammento di DNA che contraddistingue con la sua presenza un individuo, in modo inequivocabile. Caratteristica dei marcatori molecolari, perciò, è quella di non essere riferibili all'attività di specifici geni ma di rilevare direttamente le differenze (polimorfismi) nella sequenza nucleotidica del DNA, polimorfismi che possono essere dovuti a inserzioni, delezioni, traslocazioni, mutazioni puntiformi, e così via.

I marcatori RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) permettono di rilevare polimorfismi per la lunghezza dei frammenti di restrizione ottenuti dalla digestione del DNA mediante enzimi di restrizione, valutandone le differenze nel peso molecolare. Essendo codominanti, sono particolarmente adatti per la costruzione di mappe genetiche.

I marcatori RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) prevedono l'uso di corti primer che possano riconoscere più siti di appaiamento e rilevarne così delle differenze nella sequenza nucleotidica. Sono marcatori dominanti; infatti il locus eterozigote per il sito di attacco del primer produce una sola banda, così come il locus omozigote. Si tratta perciò di un polimorfismo qualitativo: presenza contro assenza della banda.

I marcatori AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) consentono di rilevare polimorfismi per la lunghezza di frammenti di restrizione amplificati, cioè si basano sull'amplificazione selettiva di frammenti di DNA derivanti da DNA genomico digerito con specifici enzimi di restrizione. Sono prevalentemente dominanti.

I marcatori SNP (Single Nucleotide Polymorphism) consentono di mettere in evidenza polimorfismi riconducibili a differenze per singoli nucleotidi. Per la rilevazione dei marcatori SNP sono disponibili diverse tecniche. Una delle strategie più comunemente usate consiste nell'amplificare con primer idonei specifiche regioni dei geni di interesse in diversi genotipi e nel sequenziare i prodotti di amplificazione e allinearli per evidenziare le differenze dovute a mutazioni puntiformi (inserzioni, delezioni, sostituzioni). È inoltre possibile effettuare una ricerca di SNPs in silico, cioè confrontando un'ampia quantità di sequenze EST (Expressed Sequence Tag) e/o cloni genomici da varietà differenti e raccolti in banche dati pubbliche. Data la frequenza con cui avvengono le mutazioni puntiformi, gli SNPs sono considerati i marcatori con il più alto potenziale di polimorfismo genomico rilevabile e, grazie ad altri vantaggi quali la codominanza e l'elevata ripetibilità, sono considerati la classe di marcatori del futuro, con diverse possibili applicazioni in campo vegetale.

I marcatori SSR (Simple Sequence Repeat) sono sequenze di DNA che consistono di corte unità da 1 a 6 bp ripetute in tandem. L'importanza e il valore di questi marcatori derivano dal fatto che sono di natura multiallelica, si trasmettono in modo codominante, sono relativamente abbondanti e ben distribuiti nel genoma e sono semplici da evidenziare. Si utilizza infatti una reazione PCR con una coppia di primer specifici di 16-18 bp definisce il locus. Tali marcatori presentano notevoli vantaggi: necessità di una piccola quantità di DNA per l'analisi (0,05 µg), semplicità e rapidità di utilizzo, bassi costi, grande affidabilità e riproducibilità, nonché un alto livello di polimorfismo. Tutte queste caratteristiche rendono i marcatori SSR adatti in agricoltura all'identificazione varietale e alla selezione assistita da marcatori molecolari.

L'utilità dei marcatori molecolari nel miglioramento genetico è basata sulla presenza di associazione fra marcatore e geni di interesse; tali associazioni permettono di seguire la segregazione del gene in questione verificando la presenza del marcatore. In tal modo la selezione per i caratteri desiderati è su base genotipica e non più fenotipica, e pertanto può essere aumentata l'efficienza del lavoro di selezione, per esempio, nell'analisi dell'espressione dei geni che codificano per caratteri quantitativi (QTL) e nel recupero del genotipo del parentale ricorrente nei programmi di reincrocio. (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

1.3.3.5 Eterosi

L'utilizzazione dell'eterosi nel miglioramento genetico delle piante è uno dei contributi più significativi della genetica applicata alle piante. L'eterosi indica il miglioramento delle caratteristiche fenotipiche di un ibrido rispetto ai suoi genitori. Un ibrido si ottiene incrociando due linee ibride o due linee pure. Le basi teoriche per spiegare il vigore ibrido sono diverse: ad esempio i genitori dell'incrocio sono dotati di diversi alleli dominanti con effetto favorevole, che verrebbero a compensare, a seguito dell'incrocio, le rispettive deficienze; mai è stata ottenuta una linea pura con un vigore simile all'ibrido, a dimostrazione che questa teoria da sola non spiega il fenomeno. Un'altra ipotesi, che non esclude la prima, considera il vantaggio di un eterozigote rispetto agli omozigoti anche dominanti. Un'ulteriore ipotesi riguarda l'interazione genica, che è maggiore in un ibrido rispetto a una linea pura. La produzione di un seme ibrido è più onerosa rispetto a una semplice moltiplicazione in purezza di una varietà e ciò ha di fatto limitato l'uso di questa tecnica nelle autogame quando il vantaggio produttivo non compensa il maggior costo del seme ibrido. (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

1.3.3.6 Transgenesi

Nel corso dell'evoluzione naturale alcuni organismi si sono scambiati segmenti di DNA. Questo processo è raro, ma i biologi molecolari delle piante utilizzano lo stesso meccanismo per produrre un transgenico. Una pianta transgenica è quindi una pianta nella quale sono state introdotte una o più copie di geni provenienti da altri organismi o dalla stessa specie dopo opportune modifiche. Un gene si caratterizza in base a quando, dove e come si esprime e un'alterazione del suo naturale destino può essere vantaggiosamente sfruttata per migliorare caratteri più o meno complessi. Il trasferimento del gene nella cellula ospite può avvenire mediante plasmidi ingegnerizzati di *Agrobacterium tumefaciens* oppure con metodi chimico-fisici (assunzione diretta del DNA, microiniezione, impiego di microproiettili). Le applicazioni del transgenico più frequentemente riportate riguardano la resistenza agli erbicidi e ai parassiti (insetti, virus, batteri, funghi) e la manipolazione delle sostanze di riserva, della fotosintesi, della fissazione dell'azoto. La tecnologia consente di ottenere nuove varietà in modo più preciso e rapido e di approfondire le conoscenze sulla biologia delle piante. (N.Di Fonzo, A. Mastrangelo, 2009). (Z. Šramková, E. Gregová, 2009) (N. Pogna, G. Boggini, 2009)

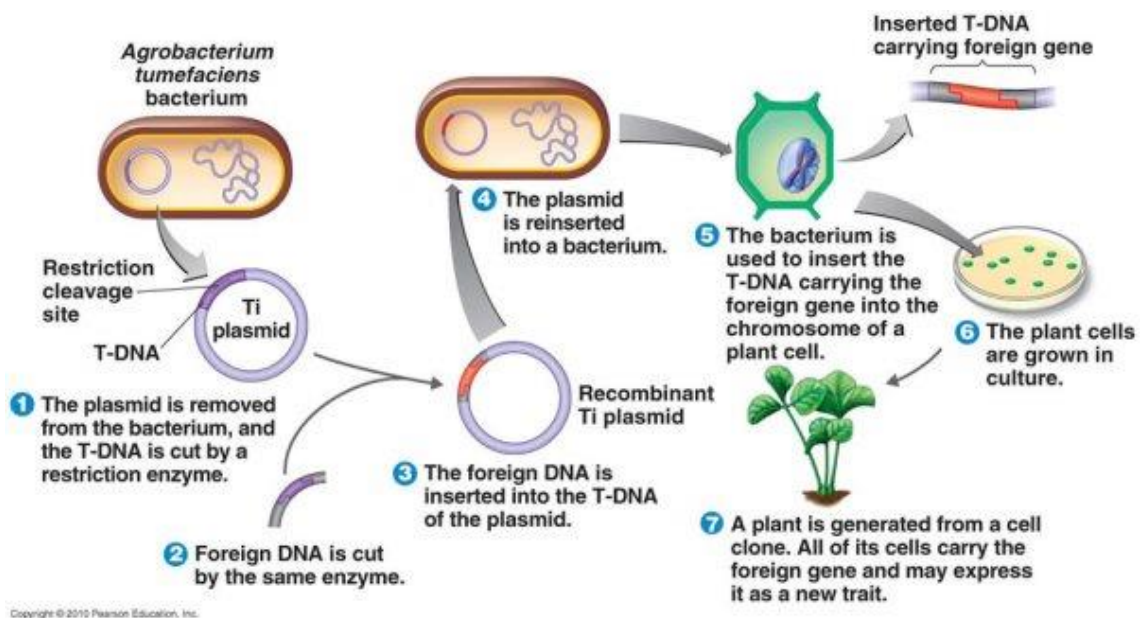


Figura 10: meccanismo di trasferimento del gene nella cellula ospite con plasmidi ingegnerizzati di *Agrobacterium tumefaciens*.

1.4 LA QUALITÀ DEL GRANO

Nell'ambito delle produzioni agricole possono essere considerati diversi aspetti per definire il concetto di qualità, che può comprendere aspetti tecnologici, sanitari e funzionali. La complessità nel definire la qualità e gli aspetti da considerare per ottenere una valutazione globale dell'alimento, rendono la valutazione molto complicata. Per anni il miglioramento genetico, e le tecniche agronomiche, sono stati orientati nel definire parametri legati alle caratteristiche produttive e tecnologiche, ignorando quasi del tutto gli aspetti legati alla nutrizione. Oggi con le nuove tecnologie di analisi è possibile valutare molto più integralmente un prodotto ottenuto dall'attività agricola, considerando tutti quei metaboliti secondari che sono spesso responsabili del sapore, dell'odore e delle qualità funzionali di un alimento. Quindi è possibile orientare il miglioramento genetico e le tecniche agronomiche, per ottenere il giusto compromesso tra gli aspetti produttivi, tecnologici, sanitari e di qualità alimentare e funzionale, per ottenere prodotti nel rispetto dell'ambiente e dell'organismo che se ne nutre.

La fame e la malnutrizione sono tra i problemi più devastanti che affliggono gran parte della popolazione mondiale. Il valore nutritivo del grano è estremamente importante in quanto occupa un posto importante tra le poche specie coltivate ampiamente coltivate come fonti alimentari di base. (S. Benedettelli, G. Dinelli, 2011)

L'importanza del grano è principalmente dovuta al fatto che il suo seme può essere macinato in farina o semola, che costituiscono gli ingredienti di base del pane e di altri prodotti da forno, nonché della pasta, e quindi rappresenta la principale fonte di nutrienti, alla maggior parte della popolazione mondiale. Tuttavia, il contenuto totale o la concentrazione assoluta di un dato nutriente in un alimento non è sempre un indicatore affidabile della sua qualità nutritiva utile, perché non tutti i nutrienti vengono assorbiti.

La crescente comprensione del controllo molecolare e genetico di vari aspetti della crescita e dello sviluppo delle piante, ha permesso di migliorare la qualità e la quantità di proteine, amido, oli e il contenuto di vitamine, amminoacidi essenziali, minerali e altri componenti salutari di colture come riso, mais e soia. Sebbene non sia stato svolto molto lavoro di questa natura sul grano il futuro per il miglioramento della qualità di questa coltura si basa su questi aspetti. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

Per il grano è di fondamentale importanza la qualità delle proteine che si basa sulla loro composizione amminoacidica (in particolare sul loro contenuto relativo di amminoacidi essenziali) e sulla loro digeribilità.

Pertanto, le proteine di alta qualità sono quelle che sono facilmente digeribili e contengono gli aminoacidi essenziali in quantità che corrispondono alle esigenze umane. La carenza di alcuni aminoacidi riduce la disponibilità di altri presenti in abbondanza.

In generale, le proteine dei cereali sono a basso contenuto di lisina, triptofano e treonina. A causa di questa carenza, questi aminoacidi essenziali (EAA) diventano gli aminoacidi limitanti nei cereali. È quindi di importanza economica e nutrizionale migliorare gli EAA nelle proteine vegetali. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

In passato, genetisti e allevatori di piante hanno compiuto molti sforzi per migliorare la qualità delle proteine vegetali. Mutazioni naturali come il mais e l'orzo ad alto contenuto di lisina sono state identificate e sviluppate in genotipi d'élite. Sfortunatamente, caratteristiche indesiderabili come una maggiore suscettibilità a malattie e parassiti e rese inferiori sono state associate a queste mutazioni. La correlazione tra qualità nutritiva e resa è stata un problema serio nel corso degli anni, poiché i due fattori sembrano essere correlati negativamente. (Z. Flagella 2006)

Per la maggior parte degli usi tradizionali, la qualità del grano deriva principalmente da due caratteristiche correlate: durezza del grano e contenuto proteico. La durezza del grano è una caratteristica ereditabile, ma può essere fortemente influenzata da condizioni meteorologiche anormali come piogge eccessive durante il periodo di raccolta. Il contenuto di proteine è debolmente ereditabile e fortemente dipendente da fattori ambientali come l'azoto del suolo disponibile e l'umidità durante la stagione di crescita. Inoltre risulta di fondamentale importanza considerare che ogni uso finale richiede caratteristiche specifiche della componente proteica per ottenere un prodotto di qualità. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

Le cultivar di grano duro hanno la consistenza del grano più duro e di solito sono ad alto contenuto proteico. Sono particolarmente adatti alla produzione di pasta a causa del loro grano altamente vetroso (elevata resa di macinazione della semola), combinazione unica di proteine di conservazione per una buona qualità di cottura della pasta e alto contenuto di pigmento giallo richiesto per l'aspetto attraente del prodotto cotto. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

Molti studi sono stati condotti per definire come gli interventi agricoli e di miglioramento genetico possono influire sulle qualità tecnologiche dei cereali. Nel frumento è di particolare importanza la quantità e la qualità delle proteine di riserva, responsabili delle qualità reologiche delle farine.

Il frumento tenero è utilizzato prevalentemente per la produzione di pane e biscotti, mentre il frumento duro è destinato prevalentemente alla produzione di pasta.

Questa differenziazione non è sempre valida, si può infatti ottenere dell'ottimo pane anche da alcune varietà di frumento duro e della pasta dal frumento tenero con l'aggiunta di uova come legante.

La durezza della cariosside è conseguenza del modo in cui le diverse componenti di essa cariosside risultano impacchettate all'interno delle cellule della cariosside. È spesso riportata come la forza necessaria a rompere la cariosside e ridurla in fini particelle (farina e semola). La durezza della cariosside sembra essere influenzata dalla presenza di alcune proteine, le friabiline. Quando queste proteine si trovano associate ai granuli di amido, come nel frumento tenero, si ha una riduzione della durezza della cariosside; mentre se non sono associate, come nel frumento duro, si ha una cariosside dura. (Z. Šramková, E. Gregová, E. Šturdík, 2009)

1.4.1 Proteine della granella

L'attitudine alla pastificazione del grano dipende principalmente dalle proteine. La quantità e la struttura delle proteine contenute nella cariosside del grano sono i fattori principali che determinano l'attitudine delle farine e delle semole a fornire un buon pane o una buona pasta. Dalle proteine dipende anche il valore nutrizionale del frumento. Il contenuto proteico della granella di frumento varia mediamente tra 11 e 14%, ma si possono osservare valori superiori del 3-4%.

Il contenuto proteico medio del grano duro è generalmente superiore di un punto percentuale rispetto a quello del grano tenero. Il contenuto in proteine è influenzato fortemente dalle condizioni di coltivazione (qualità e struttura del terreno, clima, disponibilità d'acqua e di sostanze nutritive) e pertanto è un parametro che dipende dalle pratiche agronomiche (concimazioni, diserbo, irrigazione). Inoltre il contenuto proteico tende a diminuire quando cresce la produzione, cioè contenuto proteico e resa sono inversamente proporzionali. Tuttavia il contenuto proteico è anche un carattere ereditario, che dipende per circa il 50% dalla costituzione genetica (genotipo) della pianta.

Fin dall'inizio del secolo scorso, le proteine del grano sono state classificate in 4 gruppi: albumine e globuline (dette anche proteine solubili), gliadine e glutenine (dette anche prolamine).

1.4.1.1 Proteine solubili

Costituiscono complessivamente il 15-20% delle proteine totali, sono solubili in acqua (albumine) o soluzioni saline (globuline) e comprendono un centinaio di proteine diverse, soprattutto enzimi (per esempio amilasi e proteasi per la degradazione rispettivamente dell'amido e delle proteine dell'endosperma durante il processo di germinazione del seme), inibitori di enzimi ma anche proteine non enzimatiche di particolare interesse tecnologico. Queste proteine sono contenute prevalentemente nell'aleurone e nel germe e hanno un contenuto elevato in lisina rispetto alle altre proteine della cariosside. (N. Pogna, L. Gazza).

1.4.1.2 Prolamine (proteine di riserva)

Questo è il termine con cui vengono chiamate collettivamente le gliadine e le glutenine, per mettere in evidenza il fatto che esse contengono un'elevata percentuale degli aminoacidi prol(in) e (glut)amina. Le gliadine (solubili in soluzioni alcoliche) e le glutenine (solubili in soluzioni diluite acide o alcaline) sono contenute nell'endosperma e costituiscono le proteine di riserva utilizzate dall'embrione durante la germinazione.

Esse rappresentano circa l'80% delle proteine totali della cariosside e formano il glutine che può essere rappresentato come una "maglia" con proprietà visco-elastiche (che derivano da entrambe le componenti proteiche le gliadine globulari contribuiscono alla viscosità mentre le glutenine allungate conferiscono proprietà elastiche) e di ritenzione del gas (CO₂) prodotto dalla fermentazione, fondamentali per il processo di lievitazione. (D. Peressini, 2017)

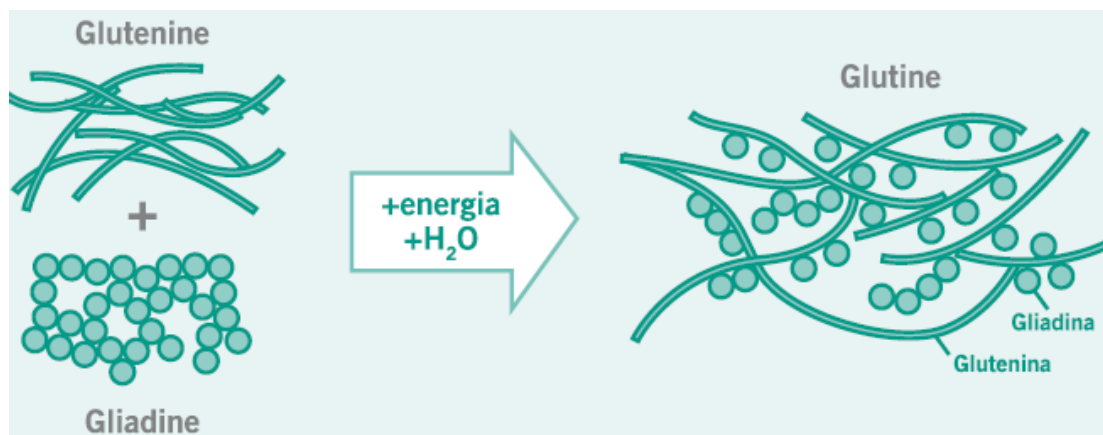


Figura 11: costituenti del glutine e formazione della maglia glutinica.

1.4.1.2.1 Gliadine

Sono proteine semplici e globulari che conferiscono viscosità (resistenza allo scorrimento) al glutine. Esse comprendono una cinquantina di proteine diverse che possono essere separate utilizzando particolari tecniche di elettroforesi. Ogni varietà coltivata di grano tenero o grano duro produce una propria “famiglia” di gliadine e può essere riconosciuta e distinta dalle altre varietà in base al proprio diagramma elettroforetico. Le gliadine rappresentano il 40% circa delle proteine dell’endosperma e sono particolarmente povere di lisina (0,5%). Inoltre, sono le principali responsabili della tossicità del grano per le persone affette da celiachia. (N. Pogna, L. Gazza)

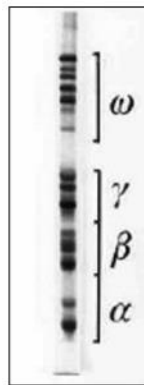


Figura 12: Gel di poliacrilammide a pH acido (A-PAGE) dei diversi tipi di gliadine di frumento

1.4.1.2.2 Glutenine

Rappresentano circa il 40% delle proteine dell’endosperma, ma a differenza delle gliadine formano grandi polimeri (i più grandi polimeri proteici noti in natura) legandosi tra loro a formare una rete tridimensionale estremamente eterogenea.

I componenti di questa rete sono distinti in un piccolo gruppo di subunità ad alto peso molecolare (subunità gluteniniche HMW, il 10% circa delle proteine dell’endosperma) e un gruppo più numeroso di subunità a basso peso molecolare (LMW, 30% circa). Le subunità HMW (ogni varietà di grano contiene da 3 a 5 proteine di questo tipo) hanno una struttura a spirale simile a quella dell’elastina presente nei tessuti connettivi dei mammiferi, che conferisce proprietà elastiche alle arterie e ai legamenti.

Le subunità HMW sono le principali responsabili delle proprietà elastiche del glutine e influiscono soprattutto sulla resistenza alla trazione degli impasti, mentre le subunità LMW (20-30 proteine per varietà) influiscono sia sull'elasticità sia sull'estensibilità del glutine e degli impasti.

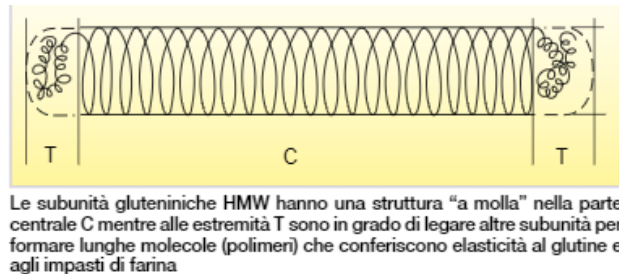


Figura 13: struttura delle subunità gluteniniche

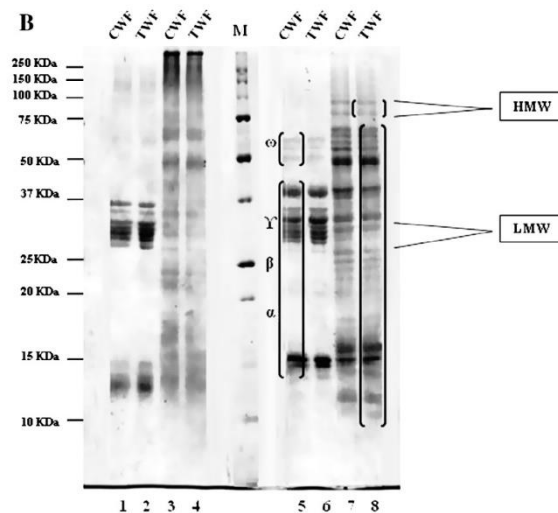


Figura 14: differenziazione delle subunità gluteniniche HMW dalle LMW attraverso un'analisi di PCR.

La presenza di particolari subunità HMW e LMW rende alcune varietà di grano tenero particolarmente adatte a produrre pane. Altre subunità LMW o HMW danno alla pasta una buona resistenza alla cottura e una bassa collosità, altre ancora rendono le farine meglio adatte alla produzione di biscotti.

Gli studi genetici e tecnologici condotti nell'ultimo decennio dello scorso secolo hanno permesso di identificare e classificare le subunità HMW e LMW in base ai loro effetti sulle proprietà viscoelastiche degli impasti, assegnando a esse dei punteggi qualitativi.

Anche le subunità gluteniniche sono povere di lisina e alcune di esse sono tossiche per i celiaci e sono coinvolte nelle reazioni allergiche che alcuni pazienti manifestano dopo ingestione o inalazione di farine.

La composizione delle proteine di riserva è il più importante fattore qualitativo del grano e costituiscono la parte preponderante del glutine. Le proprietà reologiche degli impasti di grano duro dipendono soprattutto dalle caratteristiche di elasticità ed estensibilità del glutine.

1.4.1.2.3 Analisi genetica delle proteine di riserva

Le subunità gluteniniche LMW e HMW come detto precedentemente sono presenti nell'endosperma sotto forma di grandi polimeri ramificati nei quali le subunità sono legate tra loro da ponti disolfuro in corrispondenza dei residui cisteinici. Il ruolo svolto da queste subunità deriva dalla loro capacità di dare origine a polimeri di dimensioni variabili attraverso la formazione di ponti disolfuro intermolecolari. La presenza di alcune subunità HMW e LMW è infatti risultata strettamente correlata con la formazione di polimeri gluteninici di grandi dimensioni rispetto a quelli formati da altre subunità. Alla luce di queste scoperte, l'approccio genetico al miglioramento qualitativo del grano deve mirare alla manipolazione del numero, della struttura e dell'espressione dei geni che codificano per le subunità gluteniniche in modo da incrementare la quantità di polimeri gluteninici di grandi dimensioni.

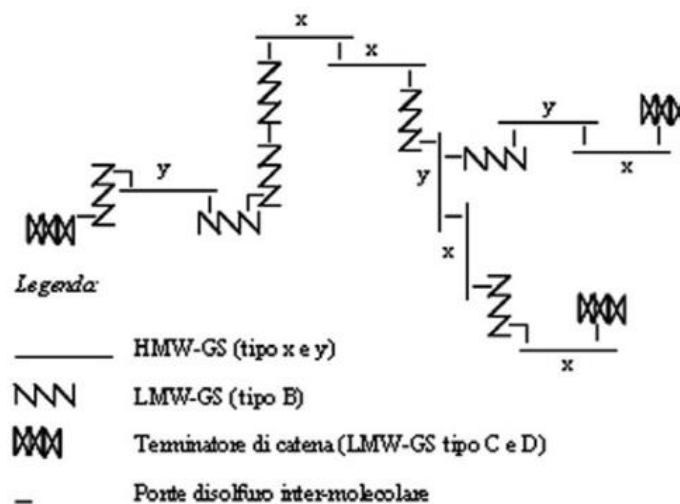


Figura 15: Modello ipotetico della struttura dei polimeri gluteninici

Grossi polimeri si possono ottenere attraverso l'aumento del numero di geni gluteninici attivi, l'aumento della loro efficienza di trascrizione e traduzione, oppure attraverso l'incremento della capacità delle subunità di formare ponti disolfuro intermolecolari. Come noto, il glutine di grano duro rispetto a quello di grano tenero mostra una elevata tenacità e una ridotta estensibilità.

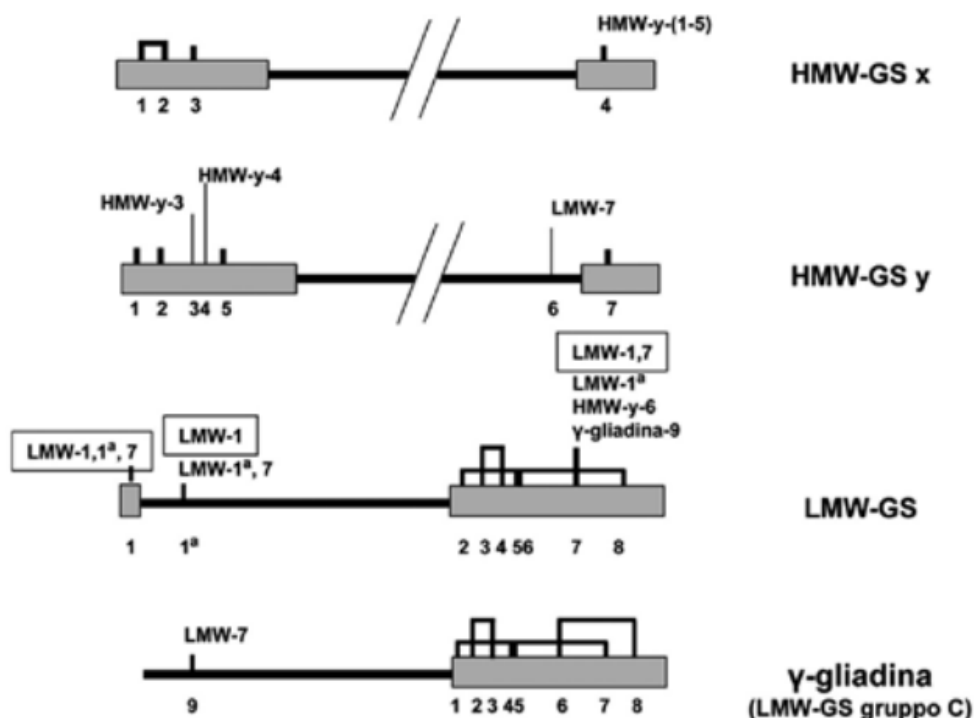


Figura 16: Ponti disolfuro fra subunità gluteniniche.

I geni che controllano la sintesi delle proteine di riserva sono localizzati sui cromosomi 1 e 6 di tutti i genomi presenti nel frumento (A e B nel frumento duro e A, B e D nel frumento tenero). I geni predisposti per la sintesi delle glutenine ad alto peso molecolare (HMW) e quelle a basso peso molecolare (LMW); sono: Glu-A1, Glu-B1 e Glu-D1 per le HMW e Glu-A3, Glu-B3 e Glu-D3 per le LMW. La frazione delle glutenine ad alto peso molecolare HMW è stata associata alla forza dell'impasto e quindi alle qualità panificatorie delle farine, mentre la frazione a basso peso molecolare LMW determina le qualità viscoelastiche dell'impasto.

Le gliadine, in base alla loro mobilità elettroforetica, sono state suddivise in a, b, g e w gliadine. Le frazioni g e w sono codificate da geni Gli-A1 e Gli-B1 e Gli-D1 localizzati sui bracci corti dei cromosomi 1 dei genomi A, B e D (A1S, B1S e D1S); mentre le frazioni a e b sono codificate da geni Gli-A2, Gli-B2 e Gli-D2 localizzati sui bracci corti dei cromosomi 6 di tutti e tre i genomi del frumento tenero e dei due genomi nel frumento duro. (N. Pogna, L. Gazza)

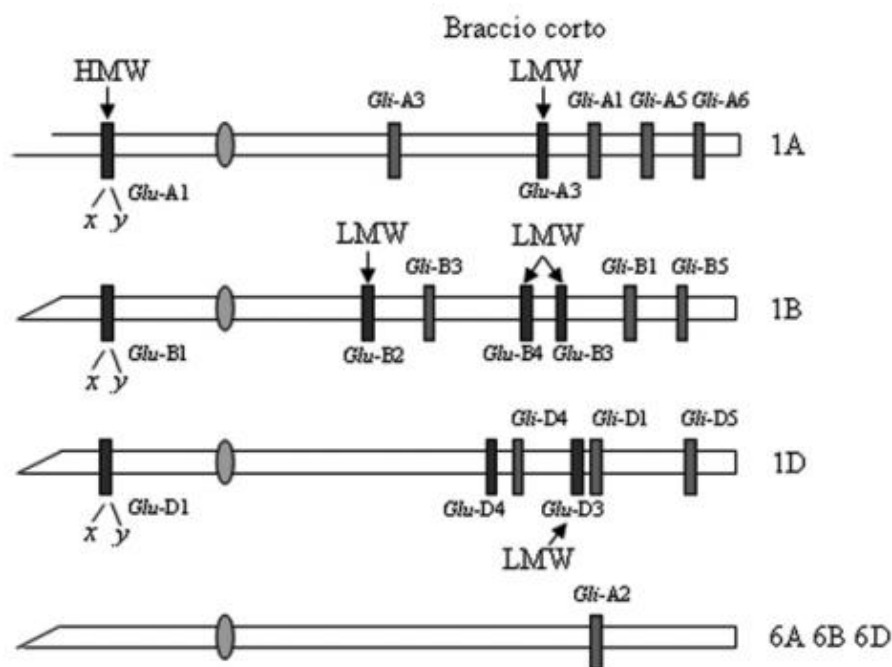


Figura 17: localizzazione cromosomica dei geni codificanti le diverse proteine di riserva del frumento. I loci indicati dalle sigle HMW o LMW codificano rispettivamente per le subunità gluteniniche ad alto e basso peso molecolare; tutti gli altri loci sono relativi alle gliadine.

Nel frumento duro è stata trovata un'associazione tra due alleli della frazione g e precisamente la componente g-45 associata positivamente con la buona qualità del glutine e la g-42 associata con le qualità negative del glutine. Questa associazione comunque non dipende direttamente dalle componenti gliadiniche ma dal fatto che queste due varianti sono codificate da geni Gli-B1 associati geneticamente con il locus Glu-B3 che presenta alleli delle LMW direttamente responsabili della qualità del glutine. (Zina Flagella, 2006) (C. Brites1, J. M. Carrillo, 2000) (N. Pogna, L. Gazza)

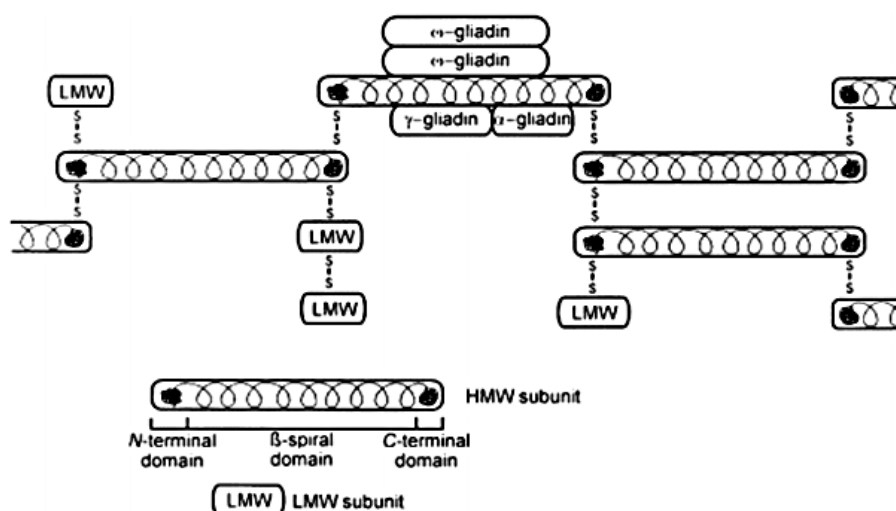


Figura 18: disposizione spaziale delle proteine del glutine.

Esiste una vasta serie di forme alleliche per ciascun locus gliadinico, per un totale di alcune decine di alleli. Altri loci gliadinici minori (Gli-A3, Gli-B3, Gli-A5, Gli-B5 e Gli-A6) sono stati recentemente individuati nei bracci corti dei cromosomi 1A e 1B. Anche i geni che codificano per le subunità gluteniniche sono portati dai cromosomi 1A e 1B. In particolare, quelli che codificano per le subunità HMW risiedono nei loci Glu-A1 e Glu-B1 nei bracci lunghi dei suddetti cromosomi, mentre quelli che controllano la sintesi delle subunità LMW stanno nei loci Glu-A3 e Glu-B3 nei bracci corti degli stessi cromosomi, nelle strette vicinanze dei loci gliadinici Gli-A1 e Gli-B1. Il locus Glu-A3 codifica per una o due subunità LMW mentre il locus Glu-B3 codifica per sette od otto subunità LMW. Le tecniche di elettroforesi bidimensionale moderne dimostrano che ad entrambi i loci esiste un esteso polimorfismo allelico. Alcune subunità HMW e LMW svolgono un importante ruolo nel determinare le proprietà funzionali del glutine e, di conseguenza, la qualità panificatoria del grano duro. (N. Pogna, L. Gazza)

Per ciò che riguarda il grano duro, la variabilità allelica per le subunità HMW è piuttosto limitata rispetto a quella di grano tenero, anche perché mancano o sono rare le proteine codificate dal locus Glu-A1. Tuttavia è stato osservato che le subunità 7+8 danno un glutine più forte delle subunità 6+8 e 20 e ciò è in accordo con l'osservazione che le migliori varietà italiane di grano duro contengono queste subunità. Dal punto di vista del miglioramento genetico è importante osservare che gli effetti delle subunità HMW e LMW sulla elasticità ed estensibilità degli impasti sono additivi.

Recentemente sono state sviluppate linee di grano duro che contengono proteine di riserva codificate dal cromosoma 1D di grano tenero. Ciò è stato possibile utilizzando la varietà di grano tenero Perzivan-2, la quale possiede una traslocazione cromosomica spontanea in cui un segmento del cromosoma 1D è portato dal cromosoma 1A. Dal ripetuto reincrocio di questa varietà con varietà di grano duro sono state ottenute linee tetraploidi che possiedono i loci Gli-D1 e Glu-D3 e mostrano un significativo incremento di estensibilità del glutine. Inoltre utilizzando tecniche di ingegneria cromosomica sono state prodotte linee di grano duro contenenti le subunità HMW 5 + 10 codificate dal locus Glu-D1 di grano tenero. (D. Peressini, 2017)

È quindi possibile migliorare la qualità panificatoria del grano duro intervenendo sulla composizione proteica ed introducendo specifiche proteine normalmente assenti in questa specie.

1.4.1.2.4 Influenze ambientali sul contenuto proteico e composizione delle proteine di riserva

Sia il contenuto in proteine che la qualità del glutine sono fattori determinanti per la qualità tecnologica dell'impasto. Per quanto riguarda il contenuto proteico, si ha una netta prevalenza degli effetti ambientali rispetto alla componente genetica, al contrario, si verifica un maggiore contributo della componente genetica rispetto a quella ambientale per la qualità del glutine. Le principali e più indagate condizioni ambientali in grado di condizionare il tenore e la composizione proteica sono le concimazioni azotata e solfatica, la temperatura ed il regime idrico. (Z. Flagella 2006)

È noto che la concimazione azotata riveste un ruolo chiave nel miglioramento delle caratteristiche tecnologiche della granella. È stato, infatti, riportato un miglioramento degli indici tecnologici W alveografico (indice di forza dato dall'energia necessaria a gonfiare la bolla di impasto fino al punto di rottura) e di sedimentazione in SDS (indica il volume di sedimento ottenuto, sotto specifiche condizioni, da una sospensione di un campione di farina in una soluzione di acido lattico e sodio dodecil solfato) associato, però, ad una riduzione del rapporto P/L (rapporto tra tenacità ed estensibilità dell'impasto). La concimazione azotata determina un incremento del contenuto proteico. Questo è ascrivibile ad un incremento del contenuto in gliadine e glutenine, più marcato per le gliadine, il che comporta un aumento del rapporto gliadine/glutenine.

Con l'incremento della concimazione azotata, infatti, aumenta il rapporto fra i contenuti di azoto e zolfo, il che implica un maggior contenuto in gliadine (a minor contenuto in zolfo) rispetto alle glutenine (a maggior contenuto in zolfo). Più controversi, invece, sono i risultati riportati in letteratura sul rapporto fra HMW e LMW che è risultato aumentare o rimanere invariato all'aumentare della disponibilità di azoto, usando Reverse Phase HPLC, è stato condotto uno studio quantitativo sull'effetto del fertilizzante azotato sulle componenti gliadiniche e gluteniniche in 13 varietà di frumento tenero. All'aumentare della concimazione aumentava la percentuale di proteine del 44-68%. C'erano incrementi di 2-3 volte della quantità di ω -gliadine per milligrammo di farina ed incrementi del 56-101% di HMW, mentre pochi cambiamenti erano osservati in α e γ -gliadine e LMW come percentuale sul totale. Sebbene il contenuto totale di albumine e globuline sembri non variare con la concimazione azotata, non ci sono studi che verifichino la variazione di componenti singole. (Z. Flagella 2006)

Anche l'apporto di zolfo può influenzare significativamente la composizione proteica e la qualità tecnologica della granella. Il rischio di carenza di zolfo per le colture agrarie è cresciuto considerevolmente negli ultimi anni a causa dei cambiamenti verificatisi nella gestione degli ecosistemi agricoli.

Una carenza in zolfo può determinare una riorganizzazione della sintesi proteica nella granella. La carenza di zolfo durante la granigione è stata associata ad alterazioni nei rapporti fra gruppi di proteine di riserva. È stato dimostrato mediante gel elettroforesi, che in condizioni di carenza di zolfo, si verifica un corrispondente decremento delle LMW, delle gliadine ricche in zolfo (α e γ) e di alcune proteine metaboliche, mentre il contenuto relativo di HMW e di ω -gliadine aumenta. Questa alterazione della composizione proteica comporta un incremento nella forza dell'impasto. Recentemente si è osservato anche un incremento del rapporto fra gliadine e glutenine in condizioni di carenza di zolfo.

Per il frumento duro la disponibilità di zolfo può essere cruciale ai fini della qualità del prodotto anche relativamente al numero ed alla distribuzione dei legami disolfuro intermolecolari ed alla presenza di residui cisteinici come potenziali siti di legame. È stata riscontrata, infatti, una correlazione significativa fra la qualità di cottura della pasta ed il contenuto in ponti disolfuro e gruppi sulfidrilici delle glutenine ricche in zolfo. (M. A. De Santis, M. M. Giuliani, 2017)

Alcuni enzimi quali tioredoxina reduttasi e disolfuro isomerasi sembrano essere responsabili dello stato redox dei gruppi SH delle proteine del glutine da cui dipende il livello di aggregazione delle stesse. La nutrizione solfatica influenza la dinamica delle forme di glutatione nella granella modificando il grado di polimerizzazione delle proteine di riserva e, di conseguenza, le proprietà reologiche dell'impasto. Uno studio condotto anche mediante un approccio proteomico ha messo in luce che le risposte alla concimazione solfatica sono significative soprattutto ad elevate concimazioni azotate, quindi in sistemi ad agricoltura intensiva. (Z. Flagella, 2006)

Per quanto riguarda invece gli effetti della temperatura sulla composizione delle proteine di riserva sono complessi e possono variare con il genotipo. Le alte temperature durante la granigione sono responsabili di un incremento del tenore proteico, l'elevata temperatura, infatti, può ridurre l'accumulo di carboidrati in misura maggiore rispetto all'accumulo di azoto. Contestualmente la velocità di rilocalizzazione dell'azoto dalle parti vegetative della pianta alla granella aumenta in condizioni di elevata temperatura. Infine, il tasso di sintesi proteica è stimolato dall'aumento della temperatura, determinando così un più elevato tenore proteico.

Relativamente alla qualità proteica, invece, è stato riscontrato che temperature comprese fra i 30 ed i 35 °C possono determinare un miglioramento delle caratteristiche tecnologiche del frumento, mentre temperature superiori a 35° possono provocare un indebolimento della forza e tenacità del glutine. Sono stati individuati due meccanismi per spiegare lo scadimento qualitativo del glutine: un decremento del rapporto glutenine/gliadine a causa dell'inducibilità da elevate temperature dei geni deputati alla sintesi delle gliadine ed una alterazione nella composizione della frazione polimerica dovuta ad una riduzione della quantità relativa di aggregati a più elevato peso molecolare.

Negli ambienti mediterranei lo stress idrico, spesso associato ad elevata temperatura nella seconda metà del ciclo biologico, è uno dei principali fattori in grado di condizionare la quantità e la qualità della produzione del frumento duro. (Z. Flagella, 2006)

1.4.1.3 Puroindoline e durezza della cariosside

Un altro importante aspetto qualitativo è dato dalla durezza della cariosside che ha una notevole influenza sulla resa in farina e sulla qualità panificatoria del grano tenero. Infatti, la durezza della cariosside dipende da una coppia di proteine solubili (globuline) note come puroindoline. Queste proteine sono assenti nel grano duro, la cui cariosside è sempre estremamente dura. Le farine ottenute da varietà tenere contengono granuli d'amido integri o poco danneggiati e pertanto richiedono meno acqua per sviluppare un impasto ottimale.

Al contrario, le farine prodotte da varietà a granella dura sono più grossolane e contengono granuli d'amido più o meno gravemente frantumati che assorbono molta acqua durante la formazione dell'impasto. In questi granuli d'amido le puroindoline sono molto scarse o assenti a causa di mutazioni che hanno alterato la loro struttura e la loro capacità di legarsi all'amido. (N. Pogna, L. Gazza)

La possibilità di aumentare il contenuto proteico della granella del grano duro mediante il miglioramento genetico tradizionale appare ancora oggi ostacolata dalla forte influenza dell'ambiente, e dalla correlazione negativa resa/proteine delle varietà moderne. Per cui a fronte del grande successo conseguito in termini di produttività si associa una riduzione di concentrazione di proteine nella granella che richiede un aumento della integrazione di azoto sotto forma di fertilizzanti. Questo non significa, tuttavia, che il contenuto proteico non possa essere aumentato e/o controllato con un'oculata scelta varietale ed un'adeguata tecnica colturale.

La relazione negativa tra resa e proteine, infatti, è simile per la maggior parte delle varietà di grano duro, se coltivate nelle stesse condizioni di disponibilità di azoto. Tuttavia, alcune varietà mostrano deviazioni riproducibili da questo rapporto, per cui l'elevata resa può essere combinata con un elevato contenuto proteico della granella. È necessario considerare, inoltre, il marcato effetto che le condizioni meteorologiche hanno sul livello di proteine della granella, essendo questa una variabile imprevedibile.

Annualmente, la percentuale di proteine nella granella può oscillare tra l'8 ed il 18% in funzione della località, delle precipitazioni e della tecnica colturale adottata. (P. De Vita e N. Pecchioni, 2016)

La localizzazione cromosomica dei geni che controllano caratteri come il contenuto proteico è difficile da determinare. I geni che influiscono su questo carattere sono localizzati su tutti i cromosomi, e questa localizzazione può cambiare a seconda delle diverse varietà. Attualmente sono disponibili numerosi modelli matematici e software da utilizzare nell'analisi dei rapporti di concatenazione tra geni marcatori e geni che controllano il contenuto proteico.

Numerosi dati genetici sono stati ottenuti utilizzando le tecniche molecolari basate sul polimorfismo dei frammenti di restrizione, sui Random Amplified Polymorphic DNA o gli Amplified Fragment Length Polymorphism in alcuni cereali come il mais ed il riso. Sfortunatamente per ora queste tecniche hanno dato scarsi risultati nel grano.

Il fattore principale che causa variabilità nella qualità tecnologica di una singola varietà di grano è il contenuto proteico.

Infatti, le diverse varietà di grano e la materia prima da esse derivata possono presentare differenze significative nella composizione proteica e, in particolare, nei rapporti tra le frazioni proteiche che costituiscono il glutine. (N. Pogna, L. Gazza)

1.5 PRODOTTI DI TRASFORMAZIONE DEL FRUMENTO DURO

Il frumento duro costituisce la principale materia prima per la produzione di pasta, couscous, e burghul a partire dagli sfarinati o dalle semole. Le caratteristiche qualitative della granella di frumento duro sono specifiche e riflettono le caratteristiche varietali e le condizioni di coltivazione. La qualità del frumento duro infatti influenza direttamente la qualità dei prodotti trasformati. Risulta, perciò, necessario raggiungere livelli soglia di qualità per ottenere proprietà di trasformazione e di cottura idonee per la preparazione dei diversi prodotti di trasformazione.

L'utilizzo di varietà di elevata qualità è un prerequisito nei Paesi produttori, specialmente per quelli che competono sul mercato d'esportazione. Tratti qualitativi economicamente importanti (vitrosità, durezza, colore giallo, quantità e qualità delle proteine) sono sotto controllo genetico, ma possono essere anche modificati da fattori climatici ed agronomici. (Zina Flagella 2006)

1.5.1 Processo di trasformazione del frumento in sfarinati

Il passaggio fondamentale della trasformazione del frumento in sfarinati è la macinazione e ha come obiettivo principale quello di separare l'albumine amilaceo della cariosside dalle parti periferiche cercando di ottenere il migliore rendimento possibile. Principale prodotto della macinazione del frumento duro sono le semole, mentre del frumento tenero sono le farine.

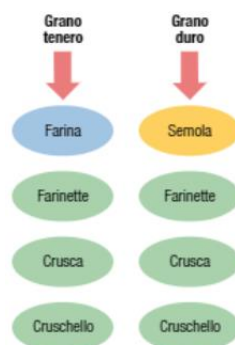


Figura 19: prodotti della macinazione

La trasformazione del frumento in sfarinati prevede tre fasi fondamentali: la pulitura del grano, il condizionamento e la macinazione vera e propria.

1.5.1.1 Pulitura

Ha lo scopo di allontanare il materiale estraneo di natura minerale o vegetale. È di fondamentale importanza e deve essere condotta con una cura particolare, in quanto può influenzare la qualità dei prodotti semilavorati e finiti. I diversi sistemi di pulitura adottati sono muniti di dispositivi comuni come quello di aspirazione per eliminare le impurità più leggere, quello di calibrazione per separare grani grossi da semi estranei di piccole dimensioni, spazzole per pulire la superficie del chicco e infine un dispositivo spietratore e separatore magnetico. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

1.5.1.2 Condizionamento

È la fase in cui il grano viene bagnato con una sufficiente quantità di acqua, per facilitare il distacco dei tegumenti esterni dalla mandorla farinosa e la rottura della stessa. Questa fase ha lo scopo di ammorbidire l'involucro per evitarne la frammentazione e favorirne il distacco, di ridurre inoltre la durezza dell'albume per facilitarne la trasformazione in sfarinati e di ottenere un grado di danneggiamento dell'amido ottimale per le diverse destinazioni d'uso. Il condizionamento è influenzato dalla quantità di acqua aggiunta, dalla temperatura del trattamento e dalla durata del riposo del grano. Dall'idratazione iniziale il grano viene portato al 16-17% di umidità, con un tempo di riposo che oscilla dalle 12 alle 48 ore. La durata del riposo è definita sulla base dell'umidità iniziale del grano e del grado di maggiore o minore friabilità della mandorla. La quantità di acqua richiesta e i tempi del processo saranno diversi a seconda della durezza della cariosside iniziale, di conseguenza grani appartenenti a diverse classi di durezza dovrebbero preferibilmente essere macinati separatamente per ottimizzare il processo di molitura. Per questo motivo il parametro della durezza delle cariossidi viene sempre più preso in considerazione nelle transazioni commerciali e nello stoccaggio dei grani. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

1.5.1.3 Macinazione

È costituita da due azioni: la frammentazione o dissociazione delle cariossidi e la separazione dei costituenti. La prima operazione, detta di rottura, permette di dissociare la mandorla centrale e i rivestimenti esterni, di frazionare le semole vestite e di ridurre la mandorla in farina; la seconda assicura invece la separazione della crusca e dei rivestimenti sulla base della granulometria e delle loro proprietà fisiche.

L'apparecchiatura attualmente utilizzata per la macinazione del frumento è il laminatoio a cilindri che è costituito normalmente da coppie di cilindri che trasformano i chicchi di grano in sfarinati con azioni di rottura, svestimento e rimacina. I laminatoi di rottura hanno la funzione di rompere e di schiacciare i chicchi di grano, e di staccare più o meno completamente la mandorla, che si frantuma, dai rivestimenti, che vengono rimossi sotto forma di crusca.

L'operazione di rottura deve essere condotta gradualmente, per evitare l'eccessiva frantumazione delle parti cruscali che altrimenti diventerebbero di difficile separazione. Ogni operazione di rottura è seguita da un'operazione di separazione per setacciamento che permette di classificare i prodotti prima di inviarli sui cilindri successivi. Nel caso della macinazione del frumento duro, le semole ottenute si separano dai frammenti cruscali ancora attaccati alle particelle di semola mediante la semolatrice, costituita da setacci inclinati sottoposti a movimento oscillatorio e da un sistema di aspirazione che permette di separare le particelle sulla base delle loro proprietà come la forma, la taglia e la densità. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

1.5.2. Processo di trasformazione degli sfarinati in pasta

L'origine della pasta ha le sue radici nell'antichità, quando l'uomo imparò a lavorare il grano macinato a impastarlo con acqua e a spianarlo in impasti sottili che poi venivano cotti. Le prime indicazioni documentate dell'esistenza di qualcosa di simile alla pasta risalgono alla civiltà greca, dove con il termine loganon veniva indicato un foglio piatto e grande di pasta che veniva tagliato poi a strisce.

Furono comunque gli arabi a essiccare per primi la pasta, allo scopo di utilizzarla nelle loro peregrinazioni. Il più antico documento ritrovato sulla pasta, così come la intendiamo attualmente, è del geografo arabo Al-Idrisi (1154) e le prime testimonianze sulla produzione di pasta secca fanno attribuire a Trapani (Palermo), quindi alla Sicilia, l'avvio della cultura della pasta in Italia. Nel X secolo, durante la dominazione normanna, la Sicilia produceva sicuramente pasta in forma di fili essiccata al sole e la distribuiva anche in altre zone meridionali.

Nel XIII secolo, invece esistono indicazioni che in Liguria si produceva e commercializzava pasta secca. È solo verso il 1600 a Napoli che si avvia in modo consistente l'introduzione della pasta nella cultura italiana e nel consumo popolare. Nella metà del 1800 l'industrializzazione della pasta lungo la costa napoletana è significativa.

È stata l'introduzione dell'essiccamento artificiale o in ambienti condizionati però a determinare una svolta importante nella produzione di pasta in tutte le regioni d'Italia e con il conseguente passaggio dallo stadio artigianale a quello industriale. L'arte della pasta in Italia poi si è sviluppata nel tempo in tutte le culture locali regionali arricchendosi di nuove forme.

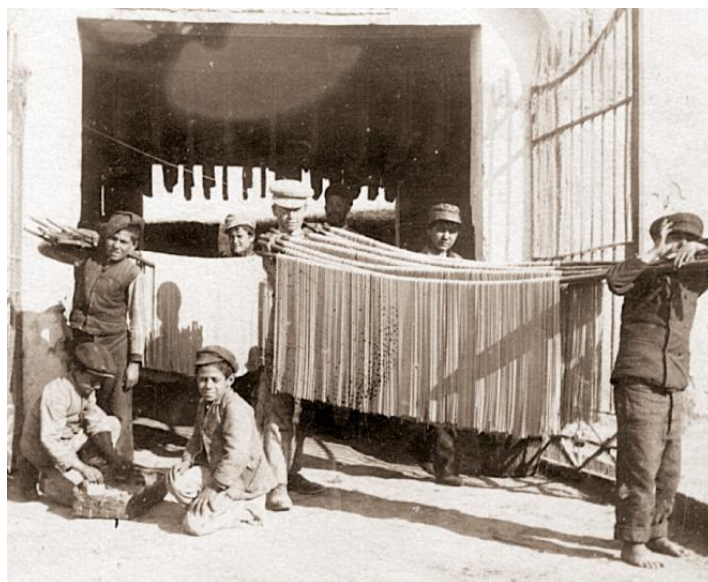


Figura 20: Essiccamento della pasta a Gragnano agli inizi del ventesimo secolo

In Italia al giorno d'oggi la coltivazione del grano duro si estende su una superficie di circa 1,3-1,4 milioni di ettari e a livello dei Paesi comunitari partecipa con la più alta incidenza culturale (superiore al 50%). In termini di produzione l'Italia supera i 4 milioni di tonnellate di prodotto rappresentando infatti oltre il 50% della produzione totale europea. (P. De Vita, N. Pecchioni, 2020)

La diffusione della pasta è in gran parte dovuta alla sua straordinaria versatilità, oltre che alla sua semplicità, che la rende idonea a essere utilizzata con una gran varietà di condimenti, da quelli più semplici a quelli più elaborati. I formati di pasta (secca e fresca) attualmente consumati in Italia sono oltre 300.

La pasta è costituita da due soli ingredienti: semola e acqua e nel processo di pastificazione la semola è idratata e miscelata in modo da formare un impasto che viene prima compresso e poi spinto, mediante una vite senza fine, in un canale di estrusione dal quale poi esce passando attraverso una trafila, dopo di che l'estruso viene tagliato ed essiccato. All'inizio del processo, quando la semola viene a contatto con acqua, si ha l'idratazione dei componenti di base della semola stessa (proteine e amido), e la formazione del reticolo glutinico che costituisce la struttura dell'impasto e che racchiude nelle proprie maglie le particelle di amido rigonfie. (Zina Flagella 2006)

L'impasto viene fatto passare attraverso le trafile che conferiscono alla pasta la forma voluta. Le trafile possono essere in bronzo o in teflon; quelle in bronzo conferiscono alla pasta una superficie più ruvida e meno omogenea, di colore meno brillante, ma che trattiene meglio il condimento, quelle in teflon invece assicurano una superficie della pasta liscia, regolare e di colore più brillante.

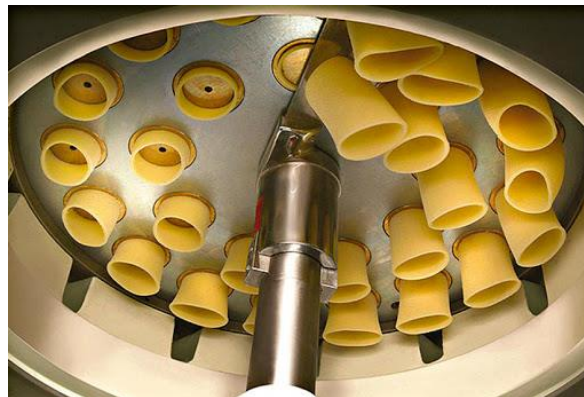


Figura 21: passaggio dell'impasto attraverso le trafile.

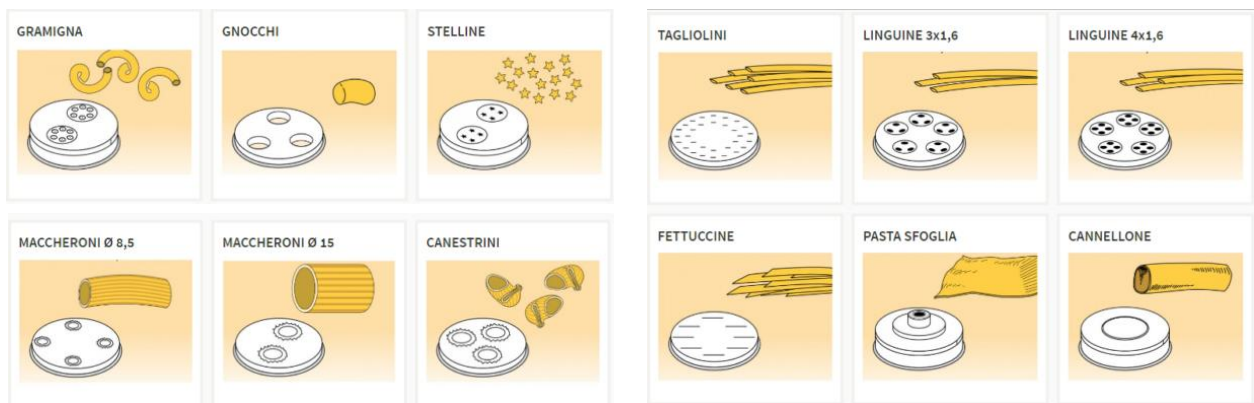


Figura 22: trafile per la produzione di tipologie diverse di pasta.

All'uscita dalla trafila la pasta presenta un contenuto di umidità di circa il 30%, che deve essere allontanata fino ad ottenere un'umidità massima fissata per legge del 12,5%. L'essiccamento rappresenta una fase molto delicata nel processo di fabbricazione delle paste e deve essere condotto in maniera controllata al fine di assicurare l'eliminazione dell'umidità anche dalle parti più interne e non solo dalle zone superficiali.

La prima fase dell'essiccamento è nota con il termine di incartamento e corrisponde all'allontanamento dell'umidità dagli strati superficiali, che induriscono; segue poi il rinvenimento con il riequilibrio dell'umidità su tutta la superficie del prodotto e infine l'essiccamento finale. Le condizioni del ciclo di essiccamento possono variare per temperatura, tempo e umidità e vanno scelte anche in funzione del formato di pasta.

Generalmente sono due le tipologie fondamentali di essiccamento: a basse e ad alte temperature. Le basse temperature rappresentano le condizioni tradizionalmente applicate fin dall'origine nell'essiccamento della pasta con temperature intorno ai 40°C; attualmente i cicli a bassa temperatura adottati arrivano anche fino a circa 55-60°C.

Con il termine alte temperature si intendono invece cicli che prevedono il raggiungimento di temperature al di sopra dei 75-80 °C. Mentre con le basse temperature il ciclo di essiccamento procede con condizioni invariate dall'inizio alla fine, con le alte temperature le condizioni sono molto più variabili e influenzano profondamente il prodotto finale. I tempi di essiccamento con l'impiego delle alte temperature risultano inoltre notevolmente abbreviati ad esempio, per gli spaghetti ci vogliono circa 5-6 ore, anziché 18-20 necessari invece per l'essiccamento a basse temperature. Oltre alla riduzione dei tempi, le alte temperature hanno un effetto significativo anche sulla qualità del prodotto finito, determinandone una migliore tenuta alla cottura. (Zina Flagella 2006)

A bassa temperatura, l'essiccamento può essere considerato una semplice operazione fisica di allontanamento dell'acqua, mentre quello ad alta temperatura è un'operazione "attiva" che determina una profonda trasformazione delle proprietà chimico-fisiche degli impasti. Le proteine del glutine con le alte temperature subiscono infatti un processo di coagulazione durante la fase di essiccamento, con conseguente irrigidimento del reticolo proteico che impedisce ai granuli di amido di rigonfiarsi eccessivamente e di fuoriuscire durante la cottura della pasta.



Figura 23: schema del processo di pastificazione

In Italia la pasta può essere fabbricata a partire esclusivamente da frumento duro. La libera circolazione dei prodotti tra i Paesi dell’Unione Europea rende comunque possibile la circolazione di pasta prodotta anche in altri Paesi a base di frumento tenero o di miscele di frumento duro e tenero e la materia prima deve essere chiaramente indicata in etichetta. Dal punto di vista legale (legge 580/67 e successive modifiche), si definisce pasta di semola di grano duro e pasta di semolato di grano duro “il prodotto ottenuto dalla trafilazione, laminazione e conseguente essiccamento di impasti preparati esclusivamente con semola e semolati di grano duro e acqua. (M. Grazia D’Egidio, M. Carcea, 2013)

1.5.2.1 Tipologie di pasta

L’industria di pastificazione produce quantitativi di pasta differenti in base alla tipologia del prodotto e la produzione maggiore è rivolta alla pasta secca di semola, che detiene un ruolo leader in ambito sia nazionale che estero, rappresentando circa il 90% della produzione totale annua. (Zina Flagella 2006)

Pasta secca di semola

Come detto precedentemente, il ciclo produttivo della pasta secca consiste essenzialmente nel miscelare semola di grano duro e acqua, l’impasto ottenuto viene poi portato al giusto grado di omogeneità e viene spinto nella trafilatura e poi essiccato per eliminare l’acqua in eccesso. La pasta destinata al commercio deve rispettare i limiti di legge per specifiche caratteristiche (umidità, proteine, ceneri, acidità). Per la pasta secca si possono fare grandi suddivisioni per forma e dimensione: pasta lunga, pasta corta, pastina per minestra, e un’ulteriore grande ripartizione in pasta liscia e pasta rigata.

All'interno della categoria paste lunghe sono poi possibili ulteriori raggruppamenti in base alla sezione: paste a sezione cilindrica (piena come nel caso degli spaghetti o forata come nei bucatini, perciatelli), paste a sezione rettangolare (tagliatelle, taglierini, fettuccine) e paste a sezione ellittica o lenticolare (linguine, trenette). Questa notevole varietà di forme è conferita al prodotto dalla fase di trafilazione visto che la trafila possiede specifiche caratteristiche per ogni formato di pasta e sono i fori della trafila a conferire le forme peculiari all'impasto. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

Pasta secca all'uovo

In base alla normativa vigente nel nostro Paese, la pasta secca all'uovo può essere prodotta esclusivamente con semola di grano duro, alla quale si devono aggiungere almeno quattro uova di gallina, prive di guscio, per un peso non inferiore a 200 grammi di uovo per ogni chilogrammo di semola. Le uova possono essere sostituite da una corrispondente quantità di ovoprodotto liquido fabbricato unicamente con uova intere di gallina e rispondente a precisi dispositivi di legge (decreto n. 65, 4 febbraio 1993). Inoltre la pasta all'uovo messa in vendita non deve superare i valori previsti dalla normativa per determinati parametri qualitativi (umidità, ceneri, proteine, acidità, estratto etereo, steroli) e deve essere messa in commercio con la sola denominazione di pasta all'uovo.

Nel ciclo produttivo di questi alimenti la presenza dell'uovo comporta un'attenzione particolare agli aspetti igienico-sanitari, che vanno tenuti sotto controllo sia nei processi di lavorazione dell'uovo stesso, sia durante il processo di produzione della pasta. La pasta durante l'essiccazione è sottoposta a temperature di essiccamento inferiori di 10-15°C rispetto a quelle della pasta di sola semola.

Un altro aspetto fondamentale per le caratteristiche qualitative della pasta all'uovo è la qualità dell'uovo. Per tradizione l'industria italiana utilizza uova di qualità superiore, provenienti da galline allevate correttamente in termini di spazio e condizioni igienico-sanitarie, e alimentate con mangimi selezionati contenenti pigmenti naturali; pertanto, durante la lavorazione non è necessaria l'aggiunta di pigmenti naturali o artificiali come avviene in altri Paesi. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

Pasta secca farcita

Questa tipologia di prodotto è rappresentata ad esempio da ravioli, cappelletti o tortellini, ed è presente sul mercato con quantitativi più limitati rispetto alle categorie precedenti. Tradizionalmente la produzione di queste paste avveniva a livello casalingo e, quando si è avviata la produzione industriale essa ha praticamente riprodotto su larga scala la preparazione manuale, dalla scelta del ripieno alla sfoglia.

Infatti le tortellinatrici sono provviste di appositi strumenti che dosano il ripieno e lo avvolgono nella sfoglia simulando il movimento delle mani. La produzione industriale tramite idonei processi di pastorizzazione ed essiccamento assicura prodotti ripieni secchi igienicamente sicuri che, rispetto alla preparazione casalinga, possono essere conservati per un tempo maggiore di circa 4 mesi. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

Pasta fresca

La cucina italiana presenta un'ampia gamma di prodotti di pasta fresca ripiena e non come ad esempio ravioli, agnolotti, tortelli, trofie, orecchiette, gnocchetti sardi, tagliatelle, cavatelli. Sono di pasta fresca la maggior parte delle paste "tipiche", che rappresentano le specialità regionali, con l'utilizzo di semola di grano duro, metà semola e metà farina bianca, farina integrale, farina di grano saraceno. Gli esempi sono numerosissimi: pizzoccheri-Lombardia in particolare Valtellina, trofie e corzetti-Liguria, testaroli-Toscana, pisarei e garganelli-Emilia Romagna, strangozzi-Umbria, orecchiette-Puglia, strozzapreti-Basilicata, maccheroni inferrettati-Calabria, cavatiddi-Sicilia, malloreddus-Sardegna.

Per la produzione delle paste fresche la legge prevede le stesse normative delle precedenti tipologie, eccetto per l'umidità, l'acidità (che non deve superare il limite di 7) e la possibilità di usare farina di grano tenero. I dispositivi di legge sono inoltre differenti per le paste fresche in vendita allo stato sfuso rispetto a quelle messe in commercio in appositi imballaggi preconfezionati, soprattutto per quanto riguarda la durata commerciale del prodotto che, nel caso delle paste sfuse, non può essere superiore a cinque giorni dalla data di produzione. Nel caso delle paste preconfezionate, per le quali la normativa ammette un tenore di umidità non inferiore al 24%, è previsto invece un trattamento termico equivalente almeno alla pastorizzazione che permette una maggiore conservazione che ne consente poi anche la vendita in posti più lontani. In entrambi i casi la conservazione di questi prodotti, dalla produzione alla vendita, va fatta a temperatura non superiore a 4 °C. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

Paste speciali

Negli ultimi anni si sta assistendo a una crescente diffusione di questo tipo di pasta, in grado di soddisfare le sempre maggiori esigenze del consumatore in termini di novità e di gusto. Vengono identificate come "speciali" le paste alimentari prodotte con semola di grano duro e contenenti ingredienti alimentari diversi dagli sfarinati di grano tenero.

In questi prodotti nell'impasto sono ammessi ingredienti come ad esempio il malto, glutine, germe di grano, proteine idrosolubili del latte, verdure, prodotti ortofrutticoli e loro derivati, funghi eduli e tartufi, aromi naturali, spezie, piante o parti di piante aromatiche commestibili. Generalmente questi ingredienti vengono aggiunti o per migliorare la qualità in cottura della pasta oppure per incrementare il suo valore nutrizionale e anche per differenziare il prodotto per sapore e/o colore.

Le paste speciali devono essere vendute con la denominazione di pasta di semola di grano duro, specificando l'ingrediente utilizzato e, nel caso di più ingredienti, quello o quelli caratterizzanti il prodotto. Oltre alle norme igienico-sanitarie previste per la pasta secca, le paste speciali contenenti uovo devono rispondere anche ai requisiti previsti dalla normativa specifica per la pasta all'uovo. In questa categoria sono incluse anche le paste integrali o arricchite di altri cereali. Il decreto legge n. 111 del 27/1/1992 ne regola la produzione. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009) (A. Puzzi, 2017)

1.5.3 Qualità della pasta

La qualità della pasta in Paesi tradizionalmente consumatori, come l'Italia, è data soprattutto dalla sua tenuta in cottura. Tale caratteristica dipende dalla tessitura della pasta, cioè dall'insieme delle caratteristiche geometriche e dalla composizione fisico-chimica, e viene generalmente espressa da tre parametri: collosità, nervo e ammassamento.

La collosità è la patina superficiale aderente sulla superficie della pasta dopo la cottura; essa a sua volta influenza anche le caratteristiche di scioltezza o ammassamento della pasta. Il nervo rappresenta invece la resistenza della pasta allo schiacciamento e alla masticazione. La qualità in cottura di una pasta è legata essenzialmente alle caratteristiche della materia prima principalmente per quanto riguarda il contenuto in proteine e la qualità del glutine e inoltre anche alle condizioni del processo produttivo. Essa è ulteriormente influenzata dalle condizioni di cottura, in particolare dal rapporto acqua-pasta e dai tempi di cottura. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

Sempre a fini qualitativi, vengono presi in considerazione altri parametri come l'aspetto e il colore, importanti però più da un punto di vista estetico e commerciale. L'aspetto della pasta è dato dalla tessitura superficiale ed è negativamente influenzato dalla presenza di puntature e fessurazioni. Le fessurazioni si producono sulla superficie della pasta secca a causa di una non perfetta conduzione o di eventi negativi nella fase di essiccamento.

Le puntature invece hanno diverse origini: se di colore bianco, sono dovute a insufficiente idratazione nella fase di mescolamento; se brune sono dovute invece a insufficiente purificazione delle semole nella fase di macinazione e quindi alla presenza di particelle di crusca; se di colore nero sono dovute a impurità e difetti del grano, come la presenza di semi estranei o attaccati da parassiti.

La tessitura superficiale della pasta può essere inoltre rugosa o liscia ed è determinata come detto in precedenza essenzialmente dal tipo di trafila utilizzato nella fabbricazione (bronzo o teflon). Il colore di una pasta dipende dalla quantità di pigmenti carotenoidi presenti nella semola e dai fenomeni ossidativi che avvengono ad opera di enzimi endogeni come ad esempio la lipossigenasi nel corso del processo di pastificazione. (M. G. D'Egidio, M. Corbellini, 2009)

La qualità del prodotto finito è quindi strettamente dipendente dalla qualità della granella che ha portato negli ultimi anni le aziende cerealicole a dover garantire standard qualitativi adeguati a mantenere un appropriato livello di competitività sul mercato. Il contenuto proteico della granella rappresenta il principale parametro merceologico e tecnologico del grano duro a cui si riferiscono, infatti mercati e le industrie di trasformazione.

In Italia, il contenuto di proteine nella pasta, per legge, non può essere inferiore al 10,5%. Le proteine (ed in particolare il glutine) assicurano la consistenza e la minore fuoriuscita di amido durante la fase di cottura della pasta, mantenendo più a lungo la stessa cottura ed eliminando “l'effetto colla” nel piatto, oltre ad essere importanti sotto il profilo nutrizionale. A livello internazionale i mercati hanno introdotto dei valori minimi e massimi di contenuto proteico da rispettare per entrare a far parte di apposite classi di commercializzazione con incentivi vari a seconda della classe di appartenenza.

Gli standard di qualità sono definiti attraverso l'utilizzo di test oggettivi, come il peso ettolitrico, la quantità minima di granelli vitrei, i limiti massimi di materiale estraneo e di granelli spezzati, e test visivi per i fattori associati all'aspetto esteriore della granella non facilmente quantificabili, come il danno da freddo.

Il contenuto proteico è ritenuto il principale fattore responsabile della qualità della pasta, ma questo carattere, da solo, non è sufficiente a spiegare le differenze qualitative tra varietà diverse. Le proprietà reologiche degli impasti di frumento, infatti, sono legate in modo importante anche alle caratteristiche fisico-chimiche delle proteine costituenti il glutine. In particolare sono le proteine di riserva come già detto in precedenza a conferire le proprietà di elasticità e tenacità alla semola e quindi di tenuta alla cottura alla pasta.

Diversi studi condotti su questo argomento hanno dimostrato che mentre la quantità di proteine è largamente influenzata dagli effetti ambientali, la qualità del glutine è principalmente determinata dalla componente genetica. In ogni caso, la varietà esprime al meglio il suo potenziale produttivo e qualitativo solo se coltivata in un contesto agronomico adeguato. (Zina Flagella 2006)

1.5.3.1 Influenza della composizione proteica sulla qualità pastificatoria

La tenuta alla cottura e la collosità della pasta, così come il volume del pane, dipendono sia dalla quantità sia dalla qualità delle proteine contenute nella cariosside, soprattutto quelle di riserva. Nel caso della pasta si ritiene che le proteine di buona qualità siano in grado di incapsulare fermamente i granuli di amido, proteggendoli dalla solubilizzazione durante la cottura della pasta, aumentando così la consistenza del prodotto e riducendo la collosità dovuta alla degradazione dell'amido.

Se la qualità pastificatoria di una varietà di grano dipende in larga misura dalla quantità percentuale di proteine contenute nella sua cariosside, è altrettanto evidente che varietà diverse di grano, a parità di contenuto proteico, possono dare farine con una qualità tecnologica molto diversa, a dimostrazione del fatto che la struttura delle prolamine è altrettanto importante della loro qualità.

È attualmente noto che la presenza di un gruppo di subunità gluteniniche LMW, note come LMW di tipo 2, è una condizione necessaria affinché una varietà di grano duro abbia una buona qualità pastificatoria, mentre in presenza delle LMW di tipo 1 la qualità è gravemente compromessa. Attualmente si conoscono gli effetti delle principali proteine di riserva sulla qualità tecnologica del glutine di grano tenero e di grano duro e la loro gerarchia qualitativa, semplificando e aumentando così l'efficienza dei programmi di miglioramento genetico. (Zina Flagella, 2006) (M. A. De Santis, M. M. Giuliani, 2017)

1.5.3.2 Influenza della durezza e della composizione proteica sulla qualità pastificatoria

Le varietà a cariosside dura, rispetto a quelle a cariosside soffice, richiedono più acqua, tempi più lunghi di condizionamento (fase di assorbimento dell'acqua che si aggiunge alla granella prima di macinarla) e maggior energia per dare una farina ottimale. La durezza è determinata da due geni che producono due proteine dette friabiline note come puroindolina A e puroindolina B. Queste proteine si legano ai granuli di amido dell'endosperma e rendono la cariosside friabile.

Quando mancano, come nel caso del grano duro, o subiscono delle mutazioni spontanee che impediscono o riducono il loro legame con l'amido, la cariosside presenta una tessitura dura o molto dura.

Le conoscenze sui geni che codificano per le friabiline e per particolari proprietà chimiche di queste proteine come la loro capacità di legarsi alle membrane cellulari o di legare i lipidi e il fatto di avere proprietà emulsionanti, sono piuttosto approfondite e consentono di prevedere e modulare la tessitura delle cariossidi delle nuove varietà ottenute nei programmi di miglioramento genetico. Inoltre, queste proteine sono particolarmente interessanti per le loro proprietà antibatteriche e antifungine. È già in corso un programma di miglioramento genetico che mira a introdurre i geni per le friabiline anche nel grano duro, che ne è privo a seguito di mutazioni avvenute migliaia di anni fa. (Zina Flagella, 2006)

1.6 LE ALTERNATIVE PER UN FUTURO PIU SOSTENIBILE

La produzione di grano si stima che dovrà essere raddoppiata entro il 2025 per soddisfare la crescente domanda mondiale e le esigenze future. Questo aumento deve essere ottenuto però migliorando la produttività su terreni già coltivati e non utilizzando nuovi terreni distruggendo foreste o praterie. È improbabile che tali aumenti significativi della resa possano essere raggiunti solo attraverso i metodi di allevamento assistiti da marcatori tradizionali o anche di recente sviluppo, perché né il germoplasma del grano né i suoi parenti stretti possono contenere l'ampia varietà di geni che sarebbero necessari per soddisfare le esigenze future. Pertanto, è necessario trovare nuovi metodi e approcci per integrare geni utili di qualsiasi organismo per ottenere le rese straordinarie che sarebbero necessarie per soddisfare le esigenze future, e le notevoli perdite aggiuntive attribuite a fattori abiotici, nonché al deterioramento post-raccolta durante lo stoccaggio. (Z. Šramková, E. Gregová, 2009)

Risulta quindi di fondamentale importanza il miglioramento della capacità fisiologica e la sua efficienza fotosintetica con l'utilizzo dei nutrienti al fine di ottenere rese più elevate. Inoltre, considerando il fatto che il numero di persone malnutrite da micronutrienti è in aumento, il miglioramento della qualità nutrizionale del grano come coltura di base è di fondamentale importanza.

L'agricoltura deve utilizzare le tecnologie e gli input scientifici sviluppati nel corso dei decenni per affrontare questa sfida per nutrire la popolazione in rapida crescita, garantire la sicurezza alimentare sostenendo il suolo e l'ambiente è una grande sfida.

Il livello di produttività delle colture dovrebbe essere ulteriormente aumentato senza deteriorare la fertilità del suolo, l'ambiente e la qualità del cibo. Il raggiungimento di una maggiore diversità vegetale all'interno di un ecosistema agricolo è necessario per lo sviluppo sostenibile. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

Una possibile soluzione per risolvere molti dei problemi che si verificheranno a partire dall'aumento della popolazione mondiale è data dai sistemi di consociazione. La consociazione consente guadagni di rendimento reali senza un aumento degli input, o una maggiore stabilità del rendimento con input diminuiti, la consociazione potrebbe infatti essere una via per ottenere un'intensificazione sostenibile delle colture. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

1.6.1 Le consociazioni

La consociazione è il sistema di coltivazione simultanea di due o più colture sulla stessa area di terreno con una disposizione delle file definita. È una pratica antica, collocata ai margini di una agricoltura moderna dominata da vaste aree di monoculture ad alto rendimento che consumano risorse. Tuttavia, la consociazione può essere un mezzo per affrontare alcuni dei principali problemi associati all'agricoltura moderna, compresa la resa moderata, l'accumulo di parassiti e patogeni, il degrado del suolo e il deterioramento ambientale, contribuendo così a fornire un'agricoltura sostenibile e produttiva. (J. Layek, T. Mitran, 2018) (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

La consociazione è comune, in particolare nei paesi con elevate quantità di agricoltura di sussistenza e basse quantità di meccanizzazione agricola. La consociazione è spesso intrapresa da agricoltori che praticano l'agricoltura a basso input e a basso rendimento su piccoli appezzamenti di terreno. I sistemi di consociazione coinvolgono due o più specie di colture o genotipi che crescono insieme e coesistono per un certo periodo. Per questo motivo è molto importante garantire che le colture non siano in concorrenza tra loro per lo spazio, l'umidità, i nutrienti e la radiazione solare. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

Le consociazioni possono essere suddivise in consociazioni miste dove vengono coltivate contemporaneamente due o più colture senza alcuna disposizione o con una disposizione distinta limitata; consociate a staffetta piantando un secondo raccolto prima che il primo raccolto sia maturo e infine consociate a strisce coltivando due o più colture contemporaneamente a strisce, consentendo interazioni colturali e coltivazioni indipendenti. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

Rispetto alle loro monoculture, è stato verificato che le colture consociate forniscano controllo dei parassiti, rese simili con input ridotti, mitigazione dell'inquinamento e rese di cibo o foraggio aggregate maggiori o più stabili per unità di area. Diversi studi hanno infatti dimostrato che la consociazione potrebbe aiutare a risparmiare il 23% del terreno utilizzato e produrre il 33% in più del prodotto coltivato. (J. Gan, 2017) Non tutti i sistemi di consociazione però forniscono vantaggi in termini di tutte le metriche possibili, i risultati dipendono generalmente dalla specie, dal rapporto di semina e dalle condizioni di crescita specifiche.

È stato inoltre dimostrato da diversi studi che nei sistemi di consociazioni di una leguminosa con un cereale si ottiene una resa in granella più alta e più stabile rispetto alla resa media della coltura pura, si ha inoltre una maggiore concentrazione di proteine nel cereale rispetto alla coltura pura e infine si verifica anche un migliore uso delle risorse abiotiche in base alla complementarità delle specie. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

Infatti, quando i benefici della consociazione si verificano, si ha uno sfruttamento più completo delle risorse, come la radiazione solare, l'acqua, il suolo e i fertilizzanti, ma anche dalle interazioni benefiche del vicinato e in alcuni casi dalla copertura continua del suolo. (J.Layek, T.Mitran, 2018).

Risulta di fondamentale importanza cercare di comprendere i processi e i meccanismi alla base delle consociazioni e dell'efficienza nell'uso delle risorse nei sistemi consociati per poter sfruttare questa tecnica nel modo più efficiente. Nel 79% degli esperimenti sulla biodiversità, la produzione di biomassa in sistemi di specie diversificate era, in media, 1,7 volte superiore rispetto alla monocultura. Una maggiore biodiversità può aumentare la produttività e altre funzioni dell'ecosistema attraverso effetti di selezione e complementarità.

Gli effetti di selezione determinano che le specie dominanti aumentano le rese nei sistemi consociati rispetto alle rese attese. Gli effetti di complementarità invece si verificano quando le piante consociate con tratti complementari interagiscono positivamente per aumentare la produttività, consentendo alle miscele di produrre più del previsto delle loro corrispondenti monoculture.

Il concetto di limitazione delle risorse suggerisce che la produzione agricola è determinata dalla mancanza di una singola risorsa critica detto fattore limitante. Questo è comune nei sistemi poveri di risorse, ma può verificarsi anche nei sistemi agricoli ottimizzati. Se in un sistema di coltivazione aumenta la disponibilità di una risorsa limitante, la resa dovrebbe di conseguenza aumentare.

Fattori limitanti comuni sono la luce, l'acqua, l'ossigeno, la temperatura o uno qualsiasi dei 14 elementi minerali essenziali. In molti sistemi agricoli, i fattori limitanti sono dati ad esempio dall'azoto, il fosforo o la disponibilità di acqua, mentre la durata della stagione del raccolto è spesso limitata dalla luce diurna e dalle temperature estreme. La produzione agricola sul 70% dei terreni agricoli mondiali può essere ulteriormente limitata dalla fitodisponibilità di ferro, zinco e rame su terreni alcalini e calcarei, o dalle tossicità di alluminio o manganese su terreni acidi. La consociazione è in grado di aumentare la fitodisponibilità e l'acquisizione di risorse limitanti. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014).

I tratti fisiologici richiesti dalle colture per massimizzare l'acquisizione delle risorse sono identici nei sistemi di consociazione e monocoltura. La sfida dei sistemi di consociazione è quella di trovare il modo migliore per combinare i tratti di diverse piante per migliorare le prestazioni complessive del sistema. Gli aspetti da considerare sono innumerevoli come ad esempio le interazioni tra le piante per la luce, le temperature ottimali e lo spazio o le interazioni sotterranee, comprese le interazioni complementari tra piante coltivate e biota del suolo. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

Nei casi in cui l'acqua è la principale limitazione, la consociazione spesso aumenta la disponibilità di acqua o l'uso efficiente della risorsa disponibile, favorendo un miglioramento dell'acquisizione di acqua attraverso distribuzioni complementari delle radici delle colture del sistema consociato. Utilizzando colture con architetture di radici complementari che fanno l'uso più efficace della pioggia e l'acqua immagazzinata nel profilo del suolo l'acqua che in monocoltura era il fattore limitante in un sistema consociato può non esserlo più. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

La facilitazione, la condivisione delle risorse e la complementarità di nicchia consentono ai sistemi consociati di produrre più delle loro monocolture corrispondenti. Alcune interazioni positive possono essere associate a particolari tipi di suolo (terreni acidi o alcalini e calcarei) e se presenti possono essere a sua volta interazioni forti o deboli.

La facilitazione si ottiene combinando piante che aumentano la fitodisponibilità di acqua, fosforo o micronutrienti come ad esempio: ferro, zinco, rame oppure che aumentano l'azoto a disposizione del sistema attraverso un processo di azoto fissazione; o attraverso l'attrazione di organismi benefici, come nemici naturali e impollinatori, la deterrenza di parassiti e agenti patogeni e la soppressione delle erbe infestanti. Le interazioni positive tra le radici delle piante possono a sua volta fornire protezione contro le tossicità minerali nei terreni salini, sodici o metalliferi. (R. W. Brooker, H. G. Jones, 2014)

La condivisione delle risorse può essere influenzata da reti fungine micorriziche comuni o il riciclaggio dei nutrienti attraverso la senescenza fogliare e il turnover delle radici. La complementarità di nicchia, che consente lo sfruttamento massimo della luce e delle risorse del suolo, è osservata tra specie con architetture a germogli corti e alti contrastanti, o architetture a radici basse e profonde.

Le consociazioni hanno come obiettivo quello di praticare un'agricoltura di tipo sostenibile. Tra i diversi vantaggi presenti nei sistemi di consociazione, si ha inoltre un miglioramento della biodiversità dell'ecosistema poiché le colture componenti forniscono un habitat adatto per un numero di insetti e organismi del suolo che altrimenti non sarebbero presenti in una situazione di monocoltura. (R. W Brooker, E. Paterson, 2014)

1.6.2 Consociazioni e lotta contro le erbe infestanti

Il concetto di erba infestante è relativo, infatti possono essere definite in diversi modi: Secondo la European Weed Research Society (Società Europea di Malerbologia), “infestante è qualunque specie di pianta che interferisce con gli obiettivi e le esigenze umane”. Le piante infestanti vengono definite anche come “piante adattate ad ambienti antropogeni, dove interferiscono con le attività, la salute e i desideri degli uomini”. Oppure anche come “piante la cui utilità non è stata ancora scoperta” infatti basta considerare che alcune specie che si comportano da malerbe in molte parti del mondo possono essere considerate piante utili in un'altra parte del globo. Infine, una definizione più agronomica definisce le infestanti come “piante che nascono dove non dovrebbero” e soprattutto che è “in grado di diminuire il potenziale quali-quantitativo delle colture”. Delle circa 200.000 specie di piante diffuse nel mondo, sono considerate responsabili di azioni negative nei confronti delle colture solo 250; di queste, il 68% circa rientra in 12 famiglie botaniche e in particolare poco meno del 40% sono graminacee e composite.

I danni determinati dalle erbe infestanti sono dovuti essenzialmente alla competizione e, talvolta, all'allelapatia. Riguardo alla competizione, questa è la maniera più classica che le malerbe hanno per provocare un danneggiamento della coltura: in pratica, queste sottraggono uno o più fattori produttivi quali l'acqua, la luce, gli elementi nutritivi e lo spazio vitale al grano; di conseguenza il frumento finisce per vedere diminuita più o meno consistentemente la propria potenzialità produttiva e qualitativa. (D. Suraci)

Relativamente al fattore acqua, le infestanti riducono le riserve di umidità del suolo e aumentano la possibilità di stress da siccità.

La luce, sottratta alla coltura da una cospicua presenza di infestanti, invece, influenza, oltre che il tasso di crescita, anche l'altezza delle piante, che si presentano eziolate e con culmi, di diametro minore e più suscettibili all'allettamento.

L'allelopatia, invece, consiste nel fatto che alcune specie di malerbe sono in grado di produrre e diffondere nel terreno delle sostanze denominate allelopatiche, in grado di influenzare negativamente le piante di grano, riducendone l'accrescimento e la produttività. Tra le specie di malerbe capaci di danneggiare il grano mediante l'allelopatia, vi sono ad esempio *l'Agrostemma githago* (gittaione comune) e la *Portulaca oleracea* (porcellana comune).

La presenza di malerbe può inoltre contribuire direttamente o indirettamente alla formazione di sostanze tossiche, denominate micotossine, prodotte da vari patogeni fungini. L'entità dei danni dipende, oltre che dalle malerbe che invadono i seminati di grano, dall'entità della loro infestazione.

Oltre ai danni quantitativi, la presenza di erbe infestanti nel frumento può determinare effetti negativi sulla qualità della produzione, influenzando in maniera più o meno rilevante una o più delle caratteristiche merceologiche della granella. I danni qualitativi più frequenti sono rappresentati dalla produzione di cariossidi striminzite, che presentano un minore peso ettolitrico e di conseguenza una resa alla macinazione più bassa. Si verifica inoltre la possibilità di un peggioramento dei prodotti sfarinati, se i semi delle infestanti vengono moliti insieme alle cariossidi di frumento, con la conseguenza che sia la farina sia la semola assumerebbero un sapore amaro inaccettabile, rendendo la produzione non commerciabile. Si ha anche la formazione di sostanze tossiche per la salute umana in grado di generare gravi disturbi al sistema nervoso e a quello circolatorio. Inoltre, la presenza di erbe infestanti può favorire lo sviluppo di funghi patogeni, come quelli appartenenti al genere *Aspergillus* e *Penicillium*, in grado di produrre micotossine contaminanti della granella. Infine, alcune specie infestanti possono inquinare la semente di grano, avendo caratteristiche morfologiche e ponderali simili come ad esempio la stessa grandezza e stesso peso dei semi di grano, fino al punto di rendere non più commerciabile la semente stessa.

Si stima che le perdite effettive di raccolto a livello mondiale per la produttività del grano dovute alle erbe infestanti siano del 12,3%, ma fino al 23,9% senza protezione delle colture. Con l'uso diffuso e a lungo termine di erbicidi e il fatto che il grano ha un unico meccanismo naturale per degradare gli erbicidi, molte delle erbe infestanti più nocive che si trovano nei campi di grano hanno sviluppato nel tempo resistenze agli erbicidi selettivi comunemente usati.

La resistenza ai principi attivi degli erbicidi come può esserne un esempio il glifosato però comporta l'utilizzo smisurato di questi prodotti nelle aree coltivate con conseguente contaminazione delle falde acquifere e degli ambienti circostanti.

I sistemi di consociazione riescono a controllare in modo più efficace lo sviluppo delle erbe infestanti rispetto alle colture pure. Con le consociazioni si cerca di riprodurre una associazione naturale nella quale gli elementi costitutivi devono presentare caratteristiche tali da limitare al massimo la competizione. Con la riduzione dei fenomeni competitivi interspecifici ed intraspecifici all'interno della consociazione, l'effetto di contenimento che il gruppo di consociate manifesta nei confronti delle erbe infestanti è più marcato. La diminuzione della competizione permette infatti di consociare in microambienti molto vicini fra loro lasciando poco spazio all'inserimento di malerbe.

È necessario tener conto in sede preliminare, dell'ambiente in cui si opera perché l'introduzione di specie, varietà ed ecotipi non idonei farebbe fallire in partenza l'obiettivo di una consociazione equilibrata e stabile nel tempo. Nella scelta dei componenti si dovranno valutare le attitudini associative, indispensabili per rendere più difficile l'istallazione delle specie indesiderate, ma soprattutto per limitare al massimo i fenomeni competitivi che porterebbero una o più specie del sistema a prevalere sulle altre.

Non meno importante è la scelta di specie, varietà ed ecotipi che presentino buona longevità, precocità una buona attitudine alla disseminazione o al ricaccio vegetativo dopo il taglio, tutti elementi indispensabili per evitare il formarsi di vuoti ecologici che potrebbero essere occupati dalle erbe infestanti o da altri componenti del sistema, allontanandolo dal rapporto di equilibrio prestabilito. Inoltre, il mantenimento dell'equilibrio consociativo non può prescindere dall'applicazione di una corretta tecnica colturale. In tale contesto assumono notevole importanza anche l'epoca, la frequenza e la modalità di utilizzazione del prato. (P. Montemurro, 2009)

1.7 SISTEMA DI CONSOCIAZIONE CEREALI E LEGUMINOSE

Nei sistemi di consociazione con un apporto di azoto limitato, le leguminose possono aumentare la produttività agricola. Le leguminose sono fondamentali in molti sistemi di consociazione. Una maggiore disponibilità di azoto nelle consociazioni di leguminose si verifica perché la competizione per l'azoto del suolo dalle leguminose è più debole che da altre piante, oppure la componente non leguminosa ottiene ulteriore azoto da quello rilasciato dalle leguminose nel suolo o tramite funghi micorrizici.

Sebbene possa esserci una generale carenza di informazioni sulle circostanze in cui la leguminosa trasferisce l'azoto a piante non leguminose, (specialmente la componente azotata che è derivato dall'aria) le leguminose possono contribuire anche ad aumentare un 15% il contenuto di azoto di un cereale consociato. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

Sebbene il sistema di consociazione cereali e leguminose sia stato reso popolare come assicurazione contro il fallimento del raccolto per monoculture in condizioni di pioggia, l'obiettivo principale della consociazione è quello di garantire una produzione migliore e sostenibile.

La consociazione di leguminose con cereali è quindi comune nelle aree pluviali del mondo. Dato i numerosi vantaggi le consociazioni sono molto popolari nelle aree dei piccoli agricoltori. La consociazione di cereali e leguminose migliora la conservazione del suolo, soffoca le erbe infestanti, fornisce l'ancoraggio alle colture, fornisce forza e cura dei mangimi e può espandere il tasso di proteine grezze e la resa proteica.

Generalmente, i cereali sono colture che esauriscono i nutrienti e li assorbono dagli strati superiori del suolo. La leguminosa, essendo in grado di fissare l'azoto atmosferico nel suolo, migliora la sua fertilità aumentando la disponibilità dei nutrienti limitati all'interno del suolo. Inoltre, le leguminose aiutano ad assorbire i nutrienti dagli strati più profondi del suolo grazie al loro robusto apparato radicale. La consociazione di cereali e leguminose ha un ruolo importante per l'agricoltura di sussistenza e fornisce colture alimentari diversificate sia nei paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo, in particolare nelle aree con strutture di irrigazione limitate.

La consociazione di cereali e leguminose mira a produrre una resa maggiore da un'area unitaria facendo un uso ottimale di tutte le risorse disponibili che non potrebbero essere utilizzate da una singola coltura. È importante però garantire che le colture componenti non siano in concorrenza tra loro per lo spazio, la radiazione solare e i nutrienti. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

I ricercatori hanno riportato un significativo miglioramento della produttività nei sistemi consociati oltre alla fornitura di cibo diversificato. Le leguminose possono controllare il calo della produttività del sistema di coltivazione a base di cereali, migliorando l'ambiente chimico, biologico e fisico del suolo.

La consociazione di cereali e leguminose ha un ruolo fondamentale nell'aumento della concentrazione proteica del cereale rispetto alla sua coltura pura ed è stato dimostrato che aumenta la resa di grano nell'agricoltura biologica.

Le consociazioni possono infatti contribuire all'ottenimento di rese stabili nell'agricoltura biologica e nei sistemi a bassa disponibilità di azoto. Nella maggior parte dei casi, il cereale consociato è più produttivo della leguminosa consociata indipendentemente dalla strategia di coltivazione. È stato infatti correlato all'aumento della resa del cereale una riduzione della produzione di leguminosa e questo sta a segnalare un compromesso tra le due colture del sistema consociato dove ci sarà una cultura dominante e una dominata. La dominanza del cereale è data dalla sua competitività nel sistema consociato indipendentemente dalla strategia di coltivazione (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

I cereali e le leguminose differiscono ampiamente per i loro modelli di radicazione, per questo motivo, la loro consociazione aumenta l'assorbimento di acqua e la traspirazione e riduce la perdita di acqua dal suolo per evaporazione o percolazione profonda. Con una maggiore copertura fogliare nel sistema consociato, la traspirazione rende il microclima più fresco, che aiuta a ridurre la temperatura del suolo e l'evaporazione associata. È molto significativo quando il contenuto di umidità nel suolo è limitato in quanto viene utilizzata una maggiore quantità di acqua disponibile nelle colture consociate rispetto alla monocoltura. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

La consociazione di leguminose con cereali fornisce un ampio spazio per ridurre al minimo l'impatto negativo dello stress da umidità negli anni con piogge scarse e l'umidità in eccesso durante gli anni con piogge intense. Il diverso modello di radicazione, il modello di crescita, le differenze nel fabbisogno di nutrienti, la durata del raccolto, ecc. Tendono a conferire loro un certo grado di capacità di crescere bene anche in condizioni di stress.

Una miscela di due o più colture spesso fornirà una migliore copertura del suolo e ridurrà la crescita di erbe infestanti, il ruscellamento e la perdita di suolo e sostanze nutritive. Visto che le colture componenti un sistema consociato differiscono nella loro capacità competitiva, possono utilizzare le risorse disponibili di acqua, nutrienti e radiazioni solari in modo più efficiente e convertirli per quanto riguarda la biomassa o la produttività delle colture. Ci sono molteplici fattori, che possono influenzare le prestazioni dei sistemi consociati. In generale, la concorrenza nella consociazione è minore per le colture componenti di specie diverse e la produttività è più alta rispetto alla miscela della stessa specie. (J.Layek, T.Mitran, 2018). (G. Tosti, M. Guiducci, 2010)

1.7.1 Considerazioni per le consociazioni di cereali e leguminose

Per la riuscita della consociazione cereali e leguminose, è di fondamentale importanza considerare alcuni aspetti: per prima cosa, il periodo di picco delle richieste di nutrienti delle colture componenti non dovrebbe essere sovrapposto.

Inoltre occorre considerare che ci dovrebbe essere una concorrenza minima per la luce tra le colture componenti. Poiché tutte le piante utilizzano le stesse risorse di luce, acqua, sostanze nutritive, ecc., C'è competizione all'interno e tra le specie per queste risorse. Quando la coltura non leguminosa o cerealicola in un sistema consociato è di natura relativamente competitiva per l'utilizzo di N inorganico del suolo, la leguminosa si basa principalmente sul N fissato biologicamente. La combinazione sarà ottimale se le colture di cereali (più alte) sono piante che amano il sole e le leguminose consociate (altezza più bassa) sono piante tolleranti all'ombra.

Da considerare anche che la complementarità dovrebbe esistere tra le colture componenti per l'utilizzo delle risorse di crescita sia nel tempo che nello spazio. La relazione più importante tra cereali e leguminose è la complementarità nell'uso dell'azoto, considerando che le leguminose hanno la capacità di utilizzare l'azoto atmosferico, mentre le colture cerealicole associate dipendono principalmente dall'azoto provenienti dal suolo. Ai cereali vengono condivise anche alcune parti dell'azoto fissato dalle leguminose; quindi c'è più complementarità e minore competizione per l'azoto per le colture associate.

Infine, dovrebbe esserci una differenza di maturità per le colture componenti di almeno 30 giorni per una concorrenza minima nelle consociazioni. Quando cereali e leguminose vengono coltivati come intercalazioni in un sistema consociato, ciascuno di essi dovrebbe avere uno spazio sufficiente per massimizzare l'uso delle risorse disponibili, in modo che ci sia una concorrenza minima tra di loro. Affinché il sistema di consociazione cereali e leguminose abbia successo, è necessario prendersi cura della disposizione spaziale, della densità delle piante e della maturità delle colture componenti. (J.Layek, T.Mitran, 2018)

1.7.2 Ruolo della consociazione di cereali e leguminose sulla qualità del suolo

Le leguminose sono note per la loro capacità di ripristinare la fertilità del suolo. Radicamento profondo, fissazione dell'azoto, capacità di distacco delle foglie e mobilizzazione dei nutrienti insolubili del suolo sono alcune delle caratteristiche uniche delle leguminose. Migliorando l'ambiente chimico, biologico e fisico del suolo, le leguminose possono controllare l'andamento decrescente della produttività del sistema continuo cereale-cereale. L'inclusione delle leguminose nel sistema intensivo a base di cereali è di per sé un componente del sistema integrato di approvvigionamento di nutrienti vegetali. Per questi motivi, le leguminose sono diventate una valida alternativa per migliorare la salute del suolo e preservare le risorse naturali e la sostenibilità agricola. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

1.7.2.1 Proprietà fisiche del suolo

Il sistema di consociazione cereali e leguminose è comune tra i piccoli coltivatori a causa della capacità delle leguminose di adattarsi alla disgregazione del suolo e al declino della salute del suolo. Gli scopi essenziali dei piccoli agricoltori sono l'adattabilità, l'amplificazione dei benefici, la possibilità di ridurre al minimo il rischio contro la perdita completa del raccolto, la conservazione del suolo, il controllo delle infestanti e la gestione integrata dei nutrienti. L'accessibilità dell'acqua è una delle componenti essenziali che determinano la redditività nelle strutture di consociazione di leguminose da granella. Il miglioramento dell'efficienza nell'uso dell'acqua nei quadri consociati espande gli impieghi di diverse risorse ed è stato riconosciuto il risparmio idrico in larga misura grazie alla copertura del fogliame precoce e alla maggiore area fogliare.

La consociazione di colture diversificate controlla la disintegrazione del suolo controllando le gocce di precipitazione che colpiscono direttamente la superficie del suolo e la possibile sigillatura dei pori superficiali, aumenta l'infiltrazione dell'acqua e riduce il volume di deflusso. Le colture di leguminose inoltre migliorano la materia organica del suolo che bilancia gli aggregati del suolo, rende il suolo facilmente coltivabile e aumenta la circolazione dell'aria, la ritenzione idrica del suolo e i limiti di tamponamento.

Gli stretti rapporti C/N dei residui di leguminose da granella inoltre accelerano la decomposizione della materia organica del suolo e migliorano il materiale organico del suolo. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

1.7.2.2 Proprietà chimiche del suolo

L'aumento dell'assorbimento di nutrienti nei sistemi consociati può avvenire nello spazio e nel tempo. L'assunzione di nutrienti nello spazio può essere aumentata attraverso l'espansione della massa radicale, mentre il vantaggio temporale di un maggiore assorbimento di nutrienti si verifica quando non c'è sincronizzazione nella domanda di nutrienti da parte delle colture consociate. Le colture di leguminose possono modificare il pH del suolo e rendere buone condizioni su piccola scala per l'accessibilità dei nutrienti ai cereali. Poiché le leguminose acquisiscono una parte maggiore del loro fabbisogno di N dall'aria come N biatomico anziché dal suolo come NO₃, il loro effetto netto è quello di abbassare il pH del terreno. Sebbene i residui di leguminose causino l'immobilizzazione parziale di N, beneficiano dello stato nutritivo del suolo espandendo la materia organica di essa se utilizzati come parte della consociazione a lungo termine.

La materia organica del suolo migliora le proprietà fisico-chimiche e biologiche del terreno che possono diminuire la disintegrazione dello stesso e aumentare la disponibilità di acqua e nutrienti, perché una parte del loro prerequisito di azoto è soddisfatta dalla fissazione dell'azoto. Le leguminose utilizzano meno azoto dal suolo rispetto ai cereali, e in questo modo conservano l'azoto inorganico per la coltura consociata non leguminosa. Nonostante ciò, il risparmio di azoto non è sempre vero poiché, in alcuni casi, le leguminose possono assorbire una quantità significativamente maggiore di N inorganico del suolo rispetto a colture non leguminose equivalenti. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

1.7.2.3 Proprietà biologiche del suolo

Come detto in precedenza, è noto che le leguminose arricchiscono il suolo fornendo azoto nel terreno attraverso la fissazione di azoto dall'atmosfera mediante il processo di fissazione biologica dell'azoto, specialmente quando il fertilizzante azotato è limitato. La misura di azoto regolata dalla parte di leguminose nella consociazione si basa sui tipi di leguminose, la morfologia della coltura, la densità delle piante di intercalazioni, il tipo di pratiche colturali e l'aggressività delle colture componenti.

Gli studi hanno riportato che i non leguminosi correlati potrebbero trarre vantaggio dallo scambio di azoto delle leguminose. Si ritiene che questo scambio di N avvenga per scarico delle radici, N drenato dalle foglie, caduta delle foglie e escrementi faunistici se presenti nel quadro di consociazione.

Le leguminose sono anche note per migliorare l'ambiente microbico nel suolo. Rilasciano nel suolo una parte del nitrato inutilizzato fissato tramite fissazione simbiotica dell'azoto. Inoltre, i composti organici a basso peso molecolare vengono rilasciati nel suolo come essudati. Questo funge da substrato per i microrganismi del suolo con conseguente accumulo della popolazione di microbi del suolo. Le leguminose da granella possono quindi fornire ottime condizioni naturali per la crescita e lo sviluppo dei microrganismi del suolo.

La biomassa microbica del suolo è la parte attiva del suolo che include microrganismi e parassiti vitali, tra cui la microfauna del suolo. Le colture di leguminose da granella aumentano la presenza di una serie di enzimi come la deidrogenasi, l'ureasi, la proteasi, la fosfatasi e β -reazioni della glucosidasi fondamentali per la salute del terreno. (J.Layek, T.Mitran, 2018)

1.7.3 Gestione dell'azoto nelle consociazioni di cereali e leguminose

Tra i principali nutrienti, l'azoto è molto importante per la crescita dei cereali. L'azoto è un costituente essenziale della clorofilla e conferisce un colore verde alle foglie.

La maggiore disponibilità di nutrienti soprattutto di azoto, nella fase iniziale, aiuta ad acquisire un netto vantaggio rispetto ad altri trattamenti rispetto alla crescita. L'applicazione di azoto aiuta anche la pianta a fare una crescita rapida e uno sviluppo vigoroso per quanto riguarda la radice e il peso secco del germoglio. L'offerta di azoto in quantità adeguate e nella forma disponibile ha un alto grado di correlazione positiva con la produttività delle colture.

La variazione del tasso di cambio dell'anidride carbonica fogliare è fortemente associata al contenuto di azoto fogliare. Quando una coltura cerealicola viene coltivata in consociazione con una leguminosa, il cereale come detto precedentemente può trarre vantaggio dal trasferimento diretto di azoto dalla leguminosa attraverso la fissazione biologica dell'azoto. Poiché le leguminose hanno la capacità di adattarsi a diversi modelli di coltivazione e fissare l'azoto dall'atmosfera nel suolo, possono offrire opportunità per aumentare la produttività del sistema di consociazione. Ciò può essere dovuto al miglioramento della fertilità del suolo attraverso l'apporto di azoto biologicamente fissato. Poiché le leguminose sono spesso trascurate a causa della loro minore capacità di resa e suscettibilità a parassiti e malattie, la stabilità della produttività e la redditività attraverso la consociazione possono aiutare a rendere più attraente la coltivazione delle leguminose.

I sistemi di consociazione localizzati con colture cerealicole adeguate andranno a rafforzare la sua coltivazione in diversi agro ambienti ottenendo l'aumento della produttività complessiva, la stabilità della produzione per un periodo, il miglioramento delle condizioni del suolo, l'interruzione della perpetuazione dei cicli di parassiti e malattie o i problemi delle infestanti, tutti aspetti che possono essere efficacemente raggiunti attraverso i nuovi sistemi innovativi di consociazione cereali e leguminose.

La quantità di azoto atmosferica fissato da organismi del suolo non simbiotici varia a seconda dei tipi di suolo, della materia organica presente e dal pH del suolo. L'azoto gioca un ruolo molto significativo nella produzione delle colture e il tasso appropriato di N promuove la crescita vigorosa delle piante e rese più elevate.

Soddisfare la domanda di azoto dei cereali è fondamentale per ottenere una resa redditizia e una concentrazione di proteine del grano adatta per i processi di trasformazione ai fini di ottenere dei prodotti finiti di qualità. I cereali sono generalmente delle colture che richiedono elevati livelli di azoto non solo nei sistemi di coltivazione convenzionali ma anche nei sistemi organici che utilizzano quantità considerevoli di sostanze organiche come ad esempio il letame animale. Nei sistemi a basso apporto di azoto, la limitazione della risorsa azotata rende difficile il raggiungimento della concentrazione proteica del grano richiesta dalle industrie agroalimentari per la produzione di pane o di pasta.

Al fine di evitare una consistenza poco vitrea del chicco di grano che lo rende inadatto alla produzione di semola di alta qualità è necessario aumentare la quantità di azoto.

Diversi studi hanno dimostrato che la concentrazione proteica del cereale consociato è quasi sempre maggiore di quella rispettiva nella coltura pura con una media dell'11,1% contro il 9,8% nella coltura pura. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

La quantità di fertilizzante da applicare in un sistema di consociazione di cereali varia a seconda del sito e dei tipi di colture che la compongono. I diversi tipi di fabbisogno di N per la consociazione di cereali e leguminose possono essere segnalati a causa della differenza di nutrienti disponibili nel suolo, dei tipi di intercalazioni coltivate e del loro livello di produttività in tutto il mondo. (J. Layek, T. Mitran, 2018)

Il miglioramento della concentrazione proteica del cereale consociato può essere spiegato da un aumento della quantità di azoto minerale disponibile per chilogrammo di cereale prodotto con una minore produzione di granella del cereale consociato rispetto alla coltura pura. Oppure può essere dovuto da un migliore adattamento tra il fabbisogno di azoto del cereale e la disponibilità di azoto minerale del suolo. L'effetto della consociazione sulla concentrazione proteica del grano è dovuto fondamentalmente a una maggiore disponibilità di azoto nel suolo per il cereale nelle consociazioni rispetto alla monocoltura. Questo è il risultato di una bassa competitività delle leguminose per l'azoto minerale rispetto ai cereali. È stato infatti dimostrato che la quantità di azoto disponibile per chilogrammo di grano per il cereale consociato è maggiore di quella del cereale in coltura pura. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

Aumentare il contenuto proteico di una coltura non è semplice, un aumento delle somministrazioni di N ad esempio si tradurrà spesso in un maggiore accumulo di sostanza secca con un conseguente aumento della biomassa vegetativa e della resa in granella senza però andare ad aumentare necessariamente il contenuto proteico del grano. Pertanto, nelle colture consociate di cereali e leguminose l'aumento della disponibilità di azoto per il cereale in combinazione con la concorrenza con la leguminosa per fattori come la luce e l'acqua può comportare un aumento relativamente maggiore del contenuto proteico del frumento rispetto alla produzione di sostanza secca. Le interazioni competitive tra le due specie inducono risposte fisiologiche che hanno quindi il potenziale per modificare i parametri di qualità del grano. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

1.7.4 Trasferimento di azoto nei sistemi di consociazione di cereali e leguminose

Nei sistemi consociati di cereali e leguminose le due specie utilizzano l'azoto minerale del suolo e l'azoto atmosferico in modo complementare.

Durante la crescita iniziale delle leguminose dipendono dalle riserve di azoto minerale del suolo e competono con il grano attraverso l'assorbimento delle radici. Il vantaggio competitivo può essere determinato dalla differenza nella velocità di avanzamento del fronte di radicazione e le diverse esigenze dall'inizio della crescita.

Nelle prime fasi di crescita, la condivisione dell'azoto minerale dal suolo sarà determinata dalle differenze di profondità di radicazione in condizioni di bassa disponibilità di azoto e dalle differenze nelle richieste di azoto tra le due specie. Di conseguenza, il cereale sarà favorito nelle prime fasi a causa di una crescita più rapida e quindi di una maggiore competitività interspecifica per l'azoto inorganico del suolo rispetto alle leguminose. Questo porta a una rapida diminuzione della quantità di azoto minerale disponibile nello strato superficiale del suolo dove avviene la fissazione simbiotica, che costringe la leguminosa a fare affidamento sulla fissazione dell'azoto atmosferico. Questo comporta una maggior percentuale di azoto ottenuto dall'atmosfera da parte della leguminosa in un sistema consociato rispetto alla coltura pura. In questo modo quasi tutto l'azoto disponibile nel suolo viene utilizzato dal cereale consociato che non è capace di assorbire l'azoto anche dall'atmosfera. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

Quindi, quando cereali e leguminose vengono coltivati in un sistema consociato, l'assorbimento di azoto da parte del cereale migliora grazie al trasferimento di azoto biologicamente fissato dalla leguminosa. Sebbene i cereali consociati con le leguminose ottengono una certa quantità di azoto, potrebbe non essere sufficiente per la sua resa ottimale. Tuttavia, le informazioni riguardanti la quantità di azoto trasferito ai cereali consociati da leguminose associate e la dose ottimale di azoto nel sistema di consociazione cereali e leguminose sono molto scarse. (J.Layek, T.Mitran, 2018)

1.8 MIGLIORAMENTO GENETICO PER I SISTEMI CONSOCIATI

I maggiori cambiamenti nell'agricoltura intensiva negli ultimi 20 anni sono stati resi possibili dagli sviluppi dell'ingegneria genetica. L'applicazione di sistemi di precisione, la lavorazione ridotta e l'uso di colture geneticamente modificate e tolleranti agli erbicidi sono stati tutti guidati dall'industria e hanno comportato dei chiari vantaggi economici. Mentre generalmente gli obiettivi erano l'aumento della resa e del profitto, alcune innovazioni come la lavorazione minima hanno ottenuto benefici per la sostenibilità del suolo.

Tuttavia, la concentrazione di questa tecnologia sulle monoculture ha, in molte regioni, diminuito o negato i benefici originari, ad esempio attraverso la rapida evoluzione della resistenza agli erbicidi nelle erbe infestanti causata da una bassa diversità di pratiche colturali. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

Finora, solo una piccola percentuale di aziende agricole intensive su larga scala utilizza la consociazione come pratica standard. La meccanizzazione nelle consociazioni è tuttavia possibile ed è forse meglio dimostrata nei sistemi a base di leguminose. Lo sviluppo di nuove macchine in grado di coltivare, diserbare e raccogliere su piccole scale spaziali e in configurazioni complesse è necessario per incoraggiare la diffusione della consociazione senza maggiori richieste di manodopera. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

Sono inoltre necessari ulteriori studi per esplorare il potenziale delle consociazioni per fornire dati concreti rispetto alla produzione agricola, al miglioramento della qualità del suolo e dell'acqua, al miglioramento del paesaggio, al controllo dei parassiti e la mitigazione dei cambiamenti climatici. L'approccio ai servizi ecosistemici potrebbero andare a sottolineare che le consociazioni sono potenzialmente capaci di raggiungere la sicurezza alimentare con ridotti input antropici e un minore impatto ambientale.

Dal punto di vista ecologico, i processi che avvengono nei sistemi consociati sono dati da interazioni negative di competizione, parassitismo e amensalismo e interazioni positive di mutualismo e complementarità. La competizione si verifica quando una specie modifica negativamente l'ambiente di un'altra ad esempio, con l'ombreggiatura o l'estrazione di una risorsa limitante. La complementarità si verifica invece quando le specie consociate non sono in competizione per le stesse risorse nel tempo o nello spazio o per una sostanza chimica consentendo un uso più efficiente delle risorse ambientali. La complementarità comporta quindi un vantaggio complessivo per le colture consociate nella resa in granella, nel peso secco e nella qualità della granella. Possono anche esserci delle interazioni di facilitazione quando una modificazione dell'ambiente risulta vantaggiosa per almeno uno delle due specie del sistema consociato ad esempio l'effetto barriera contro la diffusione di una malattia. Per comprendere le interazioni tra le specie, gli ecologi hanno studiato a lungo l'ecologia dei sistemi agricoli. (L. Bedoussac, E. Journet, 2015)

La selezione e il miglioramento genetico delle piante offrono due possibili approcci per migliorare i sistemi di consociazione che, fino ad oggi, sono stati raramente presi in considerazione.

Il primo è selezionare specie di colture e / o combinazioni di cultivar con tratti che da una parte massimizzano le interazioni positive e dall'altra riducono al minimo le interazioni negative. Il secondo approccio consiste nell'allevamento specifico per combinazioni di tratti desiderabili. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

Si può verificare in certi casi che l'ideotipo richiesto per una particolare coltura sia diverso per la monocoltura e la consociazione. Questo succede perché nella monocoltura, i tratti della coltura scelta sfruttano l'ambiente esclusivamente per quella singola coltura e si concentrano sull'aumento della disponibilità e dell'acquisizione di risorse limitanti. Al contrario, i tratti di un componente di una coltura consociata sono quelli che ottimizzano la complementarità o la facilitazione e in questo caso i tratti possono essere combinati da colture diverse per superare i limiti delle risorse, i requisiti di risorse per ogni coltura possono quindi essere separati temporalmente e il ciclo delle risorse può essere ottimizzato durante la stagione di crescita. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

Gli studi sull'interazione con gli organismi del suolo hanno anche evidenziato la possibilità di migliorare i sistemi di consociazione. Meccanismi specifici, come il trasporto di sostanze allelochimiche attraverso reti micorriziche comuni, che possono agire come "autostrade" che collegano direttamente le piante sotto terra, consentono la segnalazione sistemica tra le popolazioni vegetali e la consegna allelochimica diretta alle piante bersaglio. L'aumento della diversità delle piante aiuta a mantenere la diversità degli organismi del suolo e questo porta a un aumento della produttività delle piante. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

L'agricoltura in monocoltura mira a un ambiente omogeneo a livello di pianta, e incoraggia la germinazione uniforme in un campo. Ma piccole variazioni nella microtopografia possono avere impatti importanti creando nicchie strettamente integrate ma distinte, che a loro volta possono consentire la coesistenza delle specie nei sistemi colturali. Bisogna inoltre considerare che la variazione di soli pochi centimetri in elevazione crea grandi differenze nelle caratteristiche di drenaggio che possono predominare sugli attributi fisici generali del suolo per creare regioni più secche e umide. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

La consociazione può essere quindi indesiderabile quando è richiesto un singolo prodotto standardizzato e potrebbe mancare di economie di scala per la gestione del lavoro e del tempo. Inoltre il sistema di consociazione non è stato generalmente considerato adatto alla meccanizzazione in un sistema di agricoltura intensiva. Di conseguenza, e nonostante i suoi potenziali benefici, la consociazione deve affrontare un'enorme concorrenza da parte dell'agricoltura monocoltura intensiva su larga scala.

Pertanto, per garantire la loro diffusione e consentire un'intensificazione agricola sostenibile, i sistemi di consociazione devono essere ottimizzati per migliorare l'efficienza nell'uso delle risorse e la resa delle colture simultaneamente.

Gli studi sulla consociazione possono pertanto dirci molto sulla complementarità di nicchia e di tratti, su come combinazioni di tratti differenti possono influenzare il funzionamento e la sostenibilità del sistema e su come questi effetti possono variare a seconda del contesto ambientale. (R. W Brooker, E. Paterson, 2014)

CAPITOLO 2

SCOPO DELLA TESI

In seguito alle considerazioni enunciate nella parte introduttiva, lo scopo degli esperimenti riportati in questa tesi è stato quello di andare ad effettuare un'analisi comparativo della componente proteica e nello specifico delle caratteristiche del glutine di 12 varietà di grano duro coltivate in un sistema di consociazione con 4 varietà diverse di favino rispetto alla componente proteica delle rispettive specie di grano duro esaminate in un sistema di monocoltura.

In particolare in questo studio sono state analizzate come le modificazioni della componente proteica della materia prima vanno a incidere nel processo di lavorazione del prodotto finito dalla macinazione del grano in semola alla produzione della pasta.

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI

3.1 Materiali vegetali e disegno sperimentale

La prova sperimentale di consociazione tra frumento duro (*Triticum durum*) e favino (*Vicia faba minor*) è stata effettuata presso il Centro di Ricerca e Servizio Azienda Agraria “Pasquale Rosati” dell’Università Politecnica delle Marche nell’anno 2020 ed ha riguardato dodici varietà di frumento duro in combinazione con due varietà di favino. Per il cereale sono state scelte le varietà: Achille, Antalis, Aureo, Claudio, Marco Aurelio, Natur, Nazzareno, Odisseo, Rangodur, San Carlo, Svevo, Tirex. Queste varietà sono caratterizzate da differenti precocità nella spigatura e nella maturazione, differenti produttività e parametri qualitativi della granella. Per il favino sono state scelte le varietà Chiaro di Torre Lama (ChTL) e Prothabat69 (Prot69). Ciascuna varietà di frumento duro è stata consociata con entrambe le varietà di favino e sono state così ottenute 24 colture consociate (Mix) che sono state messe a confronto con le rispettive colture pure sia di frumento duro che di favino. I Mix ottenuti sono stati denominati secondo lo schema che segue:

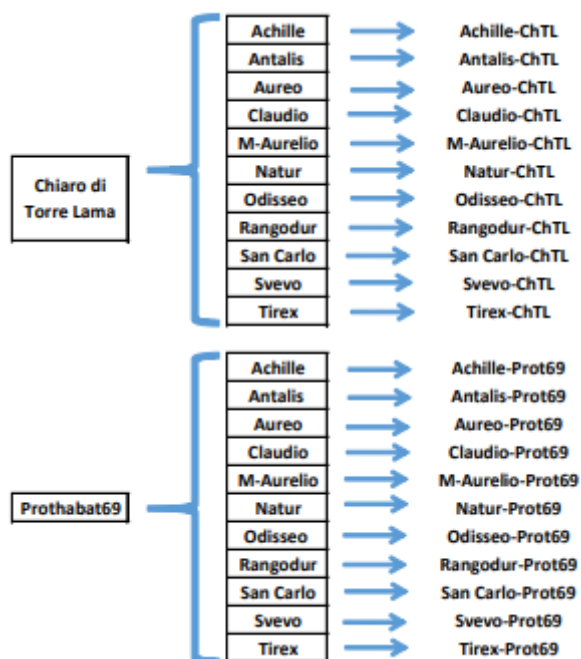


Figura 24: Mix delle 24 colture consociate

La prova di campo è stata eseguita utilizzando un disegno sperimentale a Blocchi Randomizzati Completi con 4 repliche e parcelle di 6 m² con 38 trattamenti: 24 consociazioni, e 14 colture pure. Per le colture pure la densità di semina utilizzata è stata di 350 semi germinabili/m² per il frumento duro e di 45 semi germinabili/m² per il favino. Nelle consociazioni il cereale è stato inserito al 50% della fittezza di semina della coltura pura (175 semi germinabili/m²), mentre la leguminosa al 65% della coltura pura (30 semi germinabili/m²).

3.2 Gestione della prova in campo

La prova è stata seminata il 22/01/2020 sui terreni dell'Azienda Agraria didattica sperimentale "Pasquale Rosati" dell'Università Politecnica delle Marche. È stata effettuata una concimazione con urea (46% N) distribuendo 180 e 90 kg ha⁻¹ di azoto alle colture pure ed alle colture consociate, rispettivamente. Non è stato effettuato diserbo chimico ma è stata eseguita una valutazione visiva del livello di erbe infestanti presenti nelle colture pure e consociate. Tuttavia, durante la prima fase del ciclo colturale, è stato effettuato un diserbo manuale a cadenza quasi settimanale, per estirpare le piantine di *Cirsium arvense* (nota infestante del frumento), in quanto questa specie, essendo molto aggressiva, avrebbe potuto compromettere il normale andamento della prova.

La raccolta delle singole parcelle è stata effettuata il 14 Luglio 2020 con mietitrebbia parcellare Wintersteiger-Delta. Successivamente la granella prodotta dalle colture consociate è stata sottoposta a vagliatura manuale allo scopo di separare la granella di frumento duro dal seme di favino. Una volta separati e puliti i semi delle due specie è stato prelevato un campione di granella di frumento duro di 800 grammi per le analisi sul peso specifico e sul contenuto proteico. Successivamente sono stati riuniti i quattro campioni corrispondenti allo stesso Mix o coltura pura e ne sono stati prelevati 200 grammi per le analisi sull'indice di glutine. I dati sull'indice di glutine sono quindi da considerare come la media dei quattro blocchi. Le analisi sono state eseguite presso il Cermis (Centro Ricerche per il Miglioramento vegetale). Le procedure utilizzate per le analisi sono descritte nei seguenti paragrafi: 3.3, 3.4.

3.3 Umidità, peso specifico e contenuto proteico

I campioni da analizzare sono stati sottoposti a una serie di misurazioni automatiche attraverso l'utilizzo dell'Inframatic per il calcolo dell'umidità, del peso specifico e del contenuto proteico. Le misurazioni effettuate si basano sull'utilizzo di un monocromatore a scansione e sulla trasmittanza in un intervallo di lunghezze d'onda di 570-1100 nm.

Attraverso i valori ottenuti da queste analisi è stata calcolata successivamente la quantità di acqua necessaria per il condizionamento del grano duro prima del processo di macinazione. Il tempo per effettuare la misurazione varia dai 25 ai 50 secondi a campione a seconda del parametro da misurare.



Figura 25: Inframatic



Figura 26: procedura per l'utilizzo dell'Inframatic

Il peso specifico corrisponde al peso dell'unità di volume e si calcola attraverso il rapporto tra il peso di un corpo e il suo volume. Per la realizzazione di questa misurazione sono stati impiegati 600ml di campione che vengono direttamente inseriti nello strumento.

Il contenuto di umidità è invece definito dalla perdita di peso, espressa in percentuale, subita dal prodotto nelle condizioni alle quali si effettua l'analisi. Il contenuto in umidità risulta di fondamentale importanza per le procedure di condizionamento successive e per le condizioni di stoccaggio adeguate a impedire delle alterazioni sul prodotto.

Per quanto riguarda il contenuto proteico invece è di fondamentale importanza per tutte le possibili trasformazioni che deve subire la materia prima analizzata e viene calcolato su un campione di 400ml.

Una volta ottenuti i risultati delle analisi per l'umidità, il peso specifico e il contenuto proteico è stata calcolata l'acqua necessaria per il condizionamento. Il processo di condizionamento del grano duro deve avvenire 18 ore prima della macinazione che comporterà la trasformazione delle cariossidi in sfarinati, più precisamente per quanto riguarda il grano duro, in semole.

Il condizionamento è un processo di reidratazione delle cariossidi in modo artificiale che risulta fondamentale per la macinazione. L'assorbimento dell'acqua da parte del chicco è importante per far ammorbidire i tegumenti e facilitare la separazione dell'endosperma dalla parte corticale e consente inoltre il mantenimento costante e controllato dell'umidità e della temperatura durante il processo di macinazione.

Durante il condizionamento è inoltre necessario monitorare l'umidità del cereale dato che, per quanto riguarda il grano duro, un eccessivo assorbimento di acqua potrebbe andare ad alterare la struttura dell'amido e a rovinare la qualità della macinazione.

Per la macinazione è stato utilizzato un apposito molino da laboratorio munito di cilindri per aprire la cariosside, distaccare il più possibile l'endosperma dalla parte corticale e lasciare la parte corticale sotto forma di scaglie larghe e piatte.

Una volta effettuata la rottura della cariosside e la rimacina è stata effettuata la setacciatura, ovvero la separazione delle semole dalle parti più grossolane e dalla crusca, attraverso l'utilizzo di appositi setacci con maglie di diversa grandezza.



Figura 27: cilindri e setacci del molino di laboratorio per la macinazione del grano duro

Dalla fase di macinazione è stata ottenuta la semola come prodotto principale più i prodotti secondari dati principalmente dalla crusca. (*ITALMOPA Associazione Industriali Mugnai d'Italia*, 2019)

3.4 Metodi reologici

I metodi reologici sono dati da una serie di analisi eseguite simulando, con l'apposita strumentazione il comportamento degli sfarinati durante i processi di lavorazione, dovuto all'azione dei costituenti principali del frumento specialmente le proteine e l'amido e delle loro interazioni.

La quantità e qualità delle proteine costituenti il glutine sono i fattori fondamentali che influenzano le caratteristiche tecnologiche e reologiche degli sfarinati di frumento ed in particolare le proprietà visco-elastiche degli impasti da esse ottenute, quali l'estensibilità, l'elasticità e la loro forza. Pertanto la determinazione quantitativa e la valutazione della qualità del glutine rappresentano parametri importanti nella caratterizzazione del frumento.

3.4.1 Determinazione del contenuto in glutine

La determinazione del contenuto in glutine di sfarinati di frumento duro per questo lavoro è stata effettuata attraverso sistemi automatici relativi al metodo UNI N.10690 09/1997. Lo scopo di queste analisi è stato quello di determinare la quantità di glutine in sfarinati di frumento duro. Come riportato nell'introduzione nel paragrafo 1.2.1 il glutine è costituito da proteine non solubili in acqua, essenzialmente glutenine e gliadine, il principio del metodo di analisi si basa su queste caratteristiche. Il metodo per determinare la quantità di glutine prevede infatti la preparazione di un impasto ed il suo successivo lavaggio con una soluzione tampone con la conseguente separazione del glutine dall'amido e dalle proteine solubili. Lo strumento utilizzato per la procedura è stato il Glutomatic.

Per la procedura analitica sono stati pesati 10g di campione in duplicato previamente macinato con le procedure riportate nel paragrafo 3.1 e sono stati posti nelle camere di lavaggio con un setaccio di 88micron.



Figura 28: pesata del campione da analizzare



Figura 29: inserimento dei campioni nelle camere di lavaggio

Sono poi stati aggiunti 4,9ml di soluzione tampone (pH 5,95) preparata con 490ml di acqua e NaCl al 2%. Una volta inserite le camere di lavaggio nell'apposita sede è stata avviata l'analisi premendo il tasto "start". L'analisi per il grano duro prevede un primo lavaggio di due minuti con la prima camera impastatrice (setaccio 88micron) e un secondo lavaggio di 3 minuti con una seconda camera avente un setaccio a maglie più grandi di 840 micron.



Figura 30: Camere di lavaggio e trasferimento dal setaccio a 88micron a 840micron



Figura 31: Glutine dopo il primo e secondo lavaggio a sinistra e a destra rispettivamente

Durante le fasi di lavaggio la componente amidacea e la componente proteica idrosolubile vengono separate e raccolte in appositi beaker sottostanti le camere di lavaggio, dalla componente proteica non idrosolubile che costituisce il glutine.

Allo scadere del tempo dopo il secondo lavaggio il glutine che si è formato è stato pesato e attraverso un'apposita formula è stata calcolata la quantità in percentuale di glutine umido tal quale.

$$\% \text{ di glutine umido t.q.} = \frac{g \text{ estratti} \cdot 100}{g \text{ iniziali}}$$

Il campione di glutine estratto secondo la procedura suindicata, è stato opportunamente asciugato dall'acqua in eccesso e poi collocato in una piastra riscaldante per 4 minuti a 150 °C. Allo scadere del tempo il glutine secco ottenuto è stato pesato e ed è stata calcolata la percentuale di glutine sul tal quale con la seguente formula:

$$g \text{ estratti} \times 100/g \text{ iniziali}$$



Figura 32: Glutine secco

3.4.2 Determinazione dell'indice di glutine (glutenindex)

Lo scopo di questa analisi è stato quello di valutare la qualità del glutine presente nei campioni da analizzare. Il metodo si basa sull'utilizzo del glutine umido estratto come riportato nel paragrafo 3.2.1 che è stato poi centrifugato per forzare il passaggio del glutine attraverso un'apposita griglia in condizioni predefinite. È stata in seguito misurata la quantità di glutine rimasta sopra la griglia rispetto alla quantità iniziale.



Figura 33: Centrifuga dotata degli appositi setacci



Figura 34: Disposizione del glutine nel setaccio per la centrifuga

La procedura analitica prevede la centrifugazione del glutine umido per un minuto a 6000rpm. Al termine del processo, è stato tolto l'alloggio dalla centrifuga ed è stata pesata prima la parte di glutine che è passata attraverso le maglie del setaccio e successivamente è stata pesata la parte restante.



Figura 35: estrazione del glutine che è passato attraverso il setaccio

Il valore del gluten index viene calcolato con la seguente formula:

$$\text{gluten index} = \frac{g_{\text{rimasti}}}{g_{\text{totali}}} \cdot 100$$

Il valore dell'indice di glutine indica la qualità del glutine per mezzo di una scala di valori che va da zero (qualità scadente) fino a 100 (qualità eccellente) e viene espressa con un numero intero. Se il glutine è molto debole, può passare totalmente attraverso la griglia, e in questo caso l'indice di glutine sarà prossimo a zero; viceversa, se il glutine è di ottima qualità non ci sarà passaggio attraverso la griglia e l'indice di glutine sarà prossimo a 100.

3.5 Analisi statistica dei dati

Peso specifico e Contenuto proteico della granella di frumento sono stati rilevati su ciascuna parcella ed i dati sono stati analizzati mediante Analisi della Varianza (ANOVA) e confronti multipli tra le medie. Questi ultimi sono stati analizzati con il Test HSD di Tuckey (Honestly Significant Difference). Il software utilizzato è stato Jmp 11.0. Avendo utilizzato un disegno sperimentale a Blocchi Randomizzati, le fonti principali di variazione sono risultate i "Blocchi" e le "Colture". È stata inoltre calcolata la correlazione tra i dati del peso specifico e del contenuto proteico mediante l'indice di correlazione di Pearson, con il software Past.

Per quanto riguarda i dati sull'indice di glutine non sono state effettuate le analisi su tutte le parcelle, per cui i dati presentati nel capitolo 4 corrispondono alla media dei quattro blocchi e sono da considerare dati preliminari per sviluppare futuri ulteriori approfondimenti mirati alla valutazione dell'andamento dei parametri qualitativi in consociazione.

CAPITOLO 4

RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Peso specifico della granella di frumento in coltura pura e in coltura consociata.

I risultati dell'Analisi della Varianza (Tabella 1) sul peso specifico della granella di frumento hanno messo in evidenza la significatività della fonte di variazione "tra Blocchi", a conferma degli effetti ambientali di una possibile disformità del terreno sul peso specifico della granella di frumento. I confronti multipli tra le medie del peso specifico nei diversi blocchi mostrano una differenza significativa tra il blocco 1, il blocco 2 e 3 ed il blocco 4: il blocco 2 e 3 non sono significativamente diversi tra loro (Tabella 2). L'andamento dei diversi pesi specifici nei diversi blocchi evidenzia che la differenza tra i vari pesi specifici segue la pendenza del terreno, essendo la prova messa a dimora su un appezzamento basso-collinare; il blocco 1 infatti era il blocco situato a monte, mentre il blocco 4 era quello situato più a valle. Più nel dettaglio il peso specifico è aumentato di circa due unità scendendo verso la parte più bassa dell'appezzamento.

L'ANOVA ha inoltre evidenziato come significativa la fonte di variazione "tra Colture" (Tabella 1). I confronti multipli tra le medie hanno mostrato differenze significative tra le diverse varietà e in alcuni casi differenze significative anche tra le colture pure e le consociazioni della stessa varietà di frumento duro (Tabella 3). Queste varietà sono: Achille che in coltura pura ha dato un peso specifico significativamente maggiore rispetto a quello ottenuto in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (ma non con il Prothabat69), così come avviene per le varietà SanCarlo e Aureo. Per tutte le varietà invece non vi è differenza significativa tra la coltura pure e la consociazione con il Prothabat69.

Le varietà con il peso specifico più alto sono state Claudio e Antalis, quelle con i pesi specifici più bassi MarcoAurelio, Odisseo e Natur.

Tabella 1: Peso specifico nella granella di frumento: risultati dell'ANOVA

Fonti di Variazione	g.l. ¹	Devianza	Varianza	F	P²
Blocchi	3	62,99	20,99667	27,31	<0,0001*
Colture	35	791,17	22,60486	29,4	<0,0001*
Errore	105	80,7	0,768571		

1 g.l.= gradi di libertà

2 P= p-value: i p-value asteriscati indicano la significatività statistica della fonte di variazione

Tabella 2: Peso specifico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei tre blocchi

Blocco	Specific Weight¹
B11	78,41 c
B12	79,61 b
B13	79,57 b
B14	80,24 a

1 Le medie che non hanno lettere in comune sono significativamente differenti

Tabella 3. Peso specifico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei diversi Mix e colture pure con il test di Tuckey

Colture	Specific Weight¹	
Claudio	83,57	a
Claudio-Prot69	83,35	ab
Antalis-Prot69	82,6	abc
Claudio-Chtl	82,5	abc
Antalis	82,4	abcd
Antalis-Chtl	82,3	abcd
Achille	82,15	abcd
Nazzareno	81,42	abcde
Tirex	81,4	abcde
Achille-Prot69	81,12	bcde
SanCarlo	80,9	cdef
Nazzareno-Prot69	80,75	cdef
Nazzareno-Chtl	80,42	cdefg
Svevo	80,3	cdefg
Svevo-Prot69	80,05	defgh
Rangodur	79,97	defgh
Tirex-Prot69	79,55	efghi
Achille-Chtl	79,47	efghi
Aureo	79,45	efghi
Svevo-Chtl	79,37	efghi
Rangodur-Prot69	79,27	efghij
Tirex-Chtl	79,27	efghij
Odisseo	78,57	fghijk
SanCarlo-Prot69	78,5	fghijk
Natur	78,47	fghijk
Rangodur-Chtl	78,3	ghijk
Aureo-Prot69	77,82	hijkl
SanCarlo-Chtl	77,82	hijkl
Natur-Chtl	77,52	ijkl
Odisseo-Prot69	77,32	ijkl
Odisseo-Chtl	76,87	jklm
M-Aurelio	76,8	klm
Natur-Prot69	76,52	jklm
Aureo-Chtl	75,7	lmn
M-Aurelio-Chtl	74,77	mn
M-Aurelio-Prot69	73,97	n

1 Le medie che non hanno lettere in comune sono significativamente differenti

I risultati quindi ci fanno comprendere che in alcuni casi la consociazione ed in particolare la varietà di favino con cui viene consociato un determinato frumento possono influenzare il peso specifico e queste informazioni, integrate con i risultati produttivi vanno opportunamente prese in considerazione nella scelta del più adeguato Mix in base agli obiettivi prefissati.

Il grafico in Figura 1 mostra i pesi specifici della granella di frumento duro ottenuta dalla coltura pura e dalle due colture consociate (con Chiaro di Torre e Prothabat69) per tutte le dodici varietà.

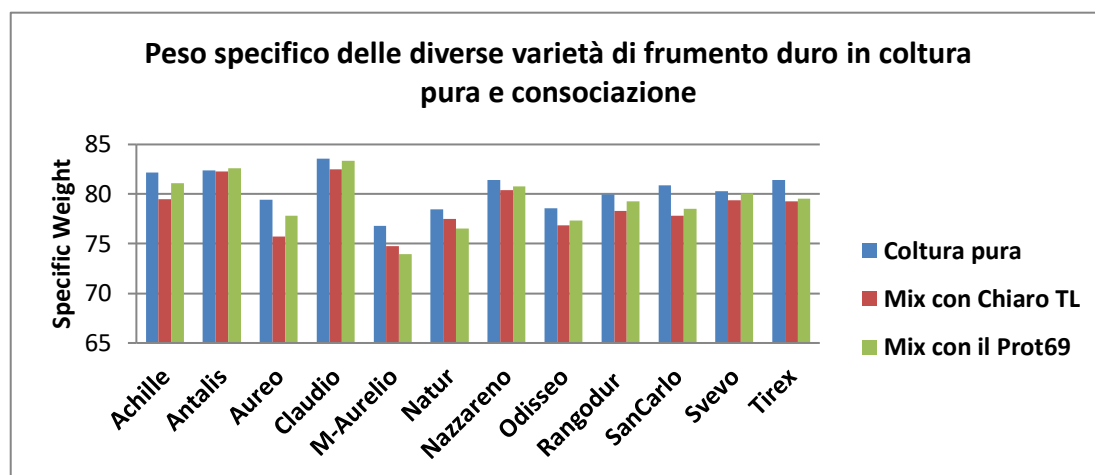


Figura36: Peso specifico delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Charo TL) e con il Prothabat69 (Prot69)

4.2 Contenuto proteico della granella di frumento in coltura pura e in coltura consociata

L'Analisi della Varianza sul contenuto proteico della granella di frumento mostra come significative entrambi le fonti di variazione: "tra Blocchi" e "tra Colture" (Tabella 4).

I confronti multipli tra le medie nei quattro blocchi, in questo caso hanno messo in evidenza che solamente il contenuto proteico del blocco 1 risulta significativamente differente dagli altri tre. In particolare questo mostra un contenuto proteico maggiore (Tabella 5). Il contenuto proteico ottenuto in questo blocco corrisponde al valore più basso di peso specifico del frumento duro ottenuto nello stesso blocco.

Tabella 4: Contenuto proteico della granella di frumento: risultati dell'ANOVA

Fonti di Variazione	g.l. ¹	Devianza	Varianza	F	P ²
Blocchi	3	2,22	0,74	8,36	<0,0001*
Colture	35	137,94	3,68	44,46	<0,0001*
Errore	105	9,3	0,089		

1 g.l.= gradi di libertà

2 P= p-value: i p-value asteriscati indicano la significatività statistica della fonte di variazione

Tabella 5: Contenuto proteico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei quattro blocchi con il test di Tuckey

Blocco	Specific Weight¹
B11	14,56 a
B12	14,33 b
B13	14,31 b
B14	14,23 b

1 Le medie che non hanno lettere in comune sono significativamente differenti

I confronti multipli tra le medie del contenuto proteico nei diversi Mix hanno messo in evidenza differenze significative tra le diverse varietà e in alcuni casi tra coltura pure e consociata della stessa varietà (Tabella 6). Nel caso della varietà Aureo vi è una differenza significativa tra la consociazione con il Chiaro di Torre Lama e quella con il Prothabat69. Nella prima il Frumento duro risulta avere un contenuto proteico maggiore della seconda. E quest'ultima combinazione a sua volta risulta dare un contenuto in proteine statisticamente maggiore di quello ottenuto in coltura pura. Per la varietà SanCarlo vi è una differenza significativa tra i due Mix e la coltura pura: il contenuto proteico in consociazione risulta statisticamente maggiore. Da notare che per queste due varietà il peso specifico della granella tra uno dei due Mix e cioè quello con il Chiaro di Torre Lama è risultato significativamente minore di quello ottenuto in coltura pura.

Ciò potrebbe indicare che sebbene il contenuto proteico del frumento sia un carattere dovuto molto alla genetica, la consociazione potrebbe essere comunque un aspetto che va ad influenzare il peso specifico della granella ed insieme a questo anche il contenuto proteico e conseguentemente ci si aspetta un diverso contenuto in amido. La varietà Chiaro di Torre Lama è tra le due di favino più competitiva in consociazione e ciò potrebbe influenzare il frumento in termini produttivi, ma anche qualitativi.

In questo caso anche per altre varietà vi è una differenza significativa tra la consociazione e la coltura pura. Queste varietà in entrambi i Mix o solo quello con il Chiaro di Torre Lama hanno dato un contenuto proteico maggiore di quello ottenuto in coltura pura e sono: Antalis, Tirex, Odisseo, Rangodur e Natur.

La varietà con il contenuto proteico maggiore è risultata Aureo, varietà già notoriamente caratterizzata da un contenuto proteico della granella elevato.

Tabella 6: Contenuto proteico della granella di frumento: confronti multipli tra le medie nei diversi Mix e colture pure con il test di Tuckey

Colture	Specific Weight¹	
Aureo-Chtl	17,47	a
Aureo-Prot69	16,47	b
M-Aurelio-Prot69	15,55	c
Aureo	15,5	cd
SanCarlo-Chtl	15,42	cd
SanCarlo-Prot69	15,4	cd
M-Aurelio-Chtl	15,15	cde
Svevo-Chtl	15,02	cdef
Svevo-Prot69	14,85	cdefg
Nazzareno-Chtl	14,82	cdefg
Nazzareno-Prot69	14,82	cdefg
M-Aurelio	14,7	defgh
Claudio-Chtl	14,52	efghi
Natur-Chtl	14,4	efghij
Natur-Prot69	14,4	efghij
Nazzareno	14,35	efghij
Claudio-Prot69	14,35	efghij
Odisseo-Chtl	14,32	efghij
Rangodur-Chtl	14,3	fghijk
Svevo	14,2	fghijk
Tirex-Chtl	14,2	fghijk
Tirex-Prot69	14,17	ghijk
SanCarlo	14,1	ghijk
Odisseo-Prot69	14,07	ghijk
Rangodur-Prot69	13,95	hijkl
Claudio	13,77	ijklm
Achille-Chtl	13,67	jklm
Antalis-Chtl	13,65	jklm
Antalis-Prot69	13,65	jklm
Odisseo	13,47	klmn
Natur	13,22	lmn
Achille-Prot69	13,2	lmn
Rangodur	13,05	mn
Achille	13,02	mn
Tirex	12,97	mn
Antalis	12,8	n

1 Le medie che non hanno lettere in comune sono significativamente differenti

I risultati vanno a confermare l'importanza nella messa a punto di un sistema di consociazione di un'attenta analisi integrata delle produzioni e dei parametri qualitativi.

Il grafico in Figura 2 mostra il contenuto proteico della granella di frumento duro ottenuta dalla coltura pura e dalle due colture consociate (con Chiaro di Torre e Prothabat69) per tutte le dodici varietà.

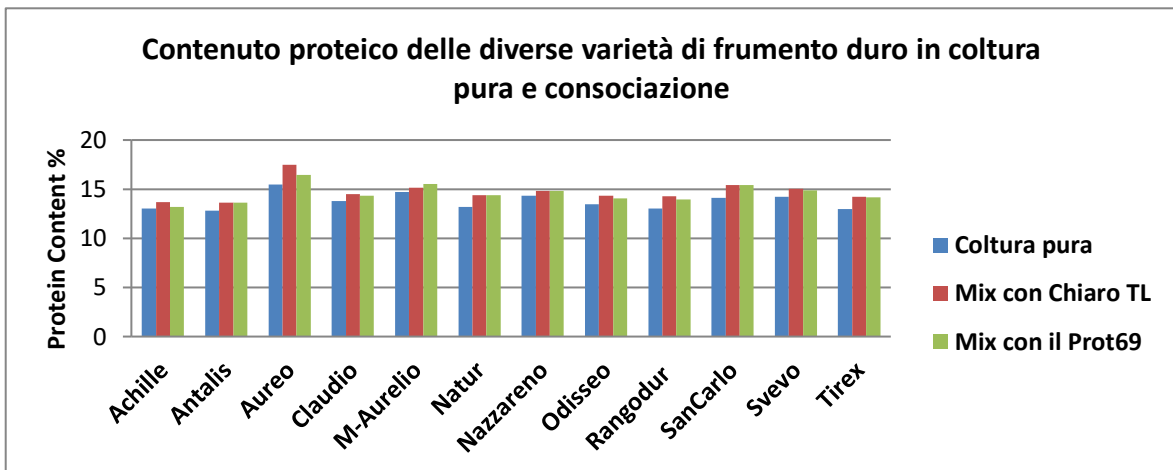


Figura 37: Contenuto proteico delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Chiaro TL) e Prothabat69 (Prot69)

L'indice di correlazione di Pearson (Tabella 7) con un valore di -0,54 mette in evidenza una correlazione negativa tra il contenuto proteico ed il peso specifico, come si evince anche dai grafici in Figura 3. Il contenuto proteico è un parametro

Tabella 7: Indice di Correlazione di Pearson tra il peso specifico ed il contenuto proteico della granella di frumento duro

	Specific Weight	Protein content
Specific Weight		0,0005153**
Protein content	-0,5497*	

*Valore dell'Indice di correlazione di Pearson

** p-value associato all'indice di correlazione di Pearson

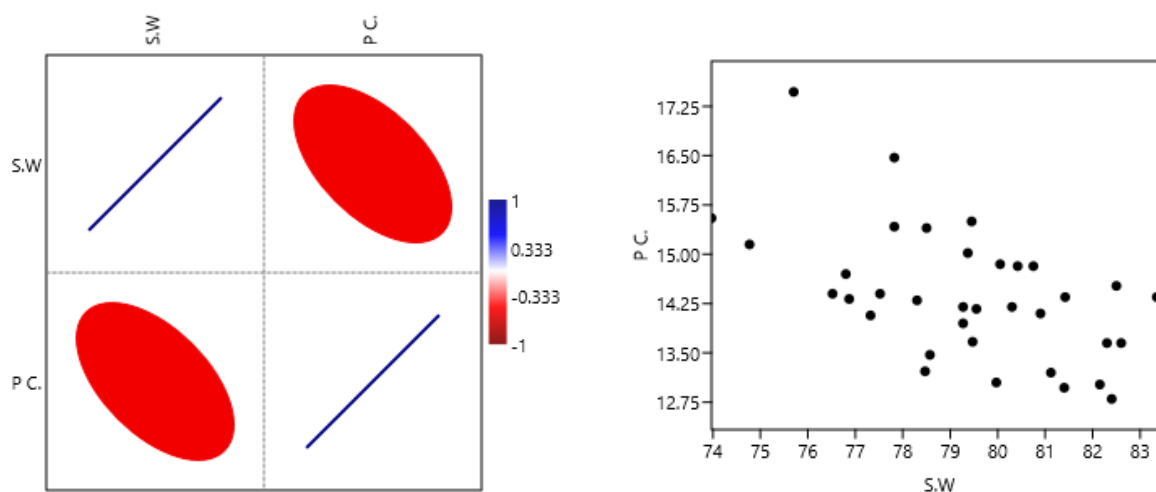


Figura 38: Correlazione tra il peso specifico della granella di frumento duro ed il contenuto proteico della granella di frumento duro

4.3 Indice di glutine

Il grafico in Figura 38 mostra i risultati delle analisi sull'indice di glutine della granella di frumento duro delle diverse varietà in coltura pura e nelle due consociazioni (con il Chiaro di Torre Lama e Prothabat69).

Le varietà che mostrano un indice di glutine più elevato sono Aureo, Antalis e Achille.

È interessante notare il diverso andamento di questo parametro qualitativo per le diverse varietà testate: sebbene analisi più dettagliate siano necessarie per indagare su questo aspetto, in alcune varietà il valore % dell'indice di glutine sembra diminuire nelle consociazioni mentre per altre sembra aumentare passando dalla coltura pura ai Mix. Queste varietà sono Natur, Nazzareno, Odisseo e SanCarlo. Per quest'ultima varietà, che in consociazione ha fornito un peso specifico significativamente minore nel Mix con il Chiaro di Torre Lama e un contenuto proteico significativamente maggiore in entrambi i Mix si evidenzia un indice di glutine che potrebbe essere migliorato dall'utilizzo della consociazione (92,39 nel Mix con il Prothabat69 contro 87,34 in coltura pura). Il Marco-Aurelio, che non mostra differenze significative nel peso specifico tra la coltura pura e quella consociata sembrerebbe migliorare il suo indice di glutine in consociazione con il favino (95,99 come media dei due Mix contro 91,17 in coltura pura). Per altre varietà invece l'indice di glutine sembra diminuito: è il caso della varietà Claudio con un indice di glutine di 75 in consociazione e 80 in coltura pura. Per altre sembra rimanere più o meno costante.

Valori dell'indice di glutine sopra 85 sono da considerare soddisfacenti e indicanti un glutine di qualità ed essendo un parametro strettamente legato alla genetica della varietà utilizzata, per molte delle varietà testate sebbene si riscontri una leggera diminuzione dell'indice di glutine questa potrebbe non comportare eccessivi peggioramenti nell'attitudine alla trasformazione della granella in quanto si tratta di pochi punti % (1-2 punti%).

Sebbene sia necessario e fondamentale approfondire ulteriormente questo aspetto, il diverso comportamento delle dodici varietà in relazione a questo parametro qualitativo va a conferma del fatto che la consociazione può influenzare i parametri qualitativi della granella di frumento, per alcune varietà i parametri qualitativi potrebbero essere ottenuti analoghi parametri qualitativi e buoni con minori input.

Per cui sono necessarie ulteriori ricerche, analisi ed approfondimenti nella valutazione del Mix più adeguato dal punto di vista varietale sia per quanto riguarda il favino, sia per quanto riguarda il frumento duro.

La consociazione potrebbe essere quindi una valida soluzione per ottenere, ottimizzando le giuste densità di semina e scegliendo le giuste varietà di favino e frumento duro, un miglioramento dei parametri qualitativi di questo cereale, soprattutto in quei sistemi a basso input dove spesso la nutrizione azotata necessaria per raggiungere contenuti proteici adeguati, risulta limitante.

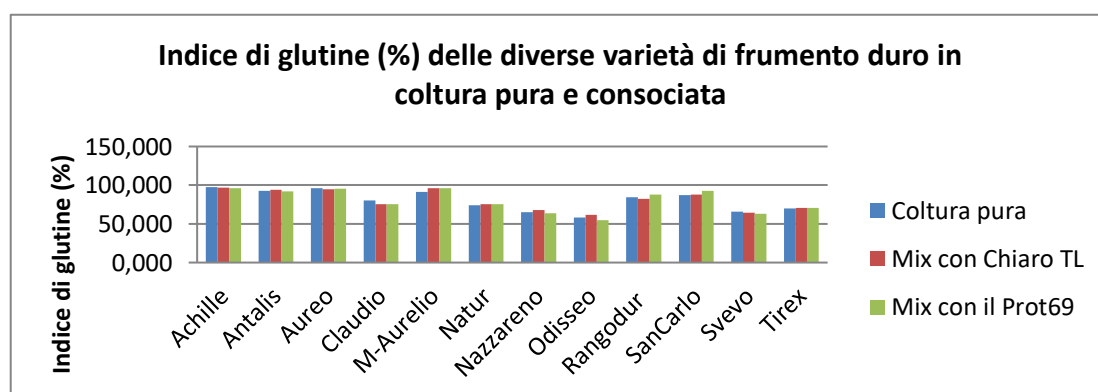


Figura 39: Indice di glutine delle diverse varietà di frumento duro in coltura pura e in consociazione con il Chiaro di Torre Lama (Chiaro TL) e Prothabat69 (Prot69)

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

I risultati della presente tesi hanno confermato i vantaggi ottenibili dalla consociazione tra cereali e leguminose in particolare sul contenuto proteico della granella di frumento, hanno inoltre messo in evidenza la necessità di valutare le varietà più idonee in base agli obiettivi stabiliti. Infine, ulteriori ricerche ed approfondimenti sono necessari per valutare l'attitudine alla consociazione delle diverse varietà e potrebbe essere possibile trovare la giusta combinazione di favino e frumento che riesca a valorizzare qualitativamente il cereale consociato, in quanto in alcuni casi la consociazione potrebbe essere un metodo per ottenere buoni parametri qualitativi con un basso input e quindi in quei sistemi dove l'azoto può essere limitante quali l'agricoltura biologica.

I risultati ottenuti vanno quindi integrati con i dati delle produzioni ottenuti all'interno delle consociazioni per potere valutare il giusto Mix che renda possibile ottenere dall'utilizzo di questa pratica un incremento della resa relativamente alla superficie utilizzata ed un contenuto proteico maggiore associato a buoni parametri qualitativi. I sistemi di consociazione necessitano di un'attenta valutazione tesa ad un'ottimizzazione della tecnica culturale in quanto vanno valutati macchinari e costi delle operazioni colturali, prima fra tutti la separazione dei semi. Tutto questo va quindi supportato da apposite filiere in grado di valorizzare la sostenibilità della pratica utilizzata e quindi delle produzioni ottenute

5.1 Prospettive future

Sebbene la storia della consociazione sia molto antica, riceve pochissima attenzione da ricercatori, agricoltori e responsabili politici come un modo per l'agricoltura sostenibile di fornire cibo diversificato. La ricerca partecipativa sul campo degli agricoltori che coinvolge agricoltori piccoli e marginali, collaboratori esterni e altre parti interessate correlate è assolutamente necessaria per creare consapevolezza sul ruolo delle leguminose nella fissazione dell'azoto oltre a sostenere la produttività e migliorare la qualità del suolo e la redditività economica. C'è anche la necessità di sviluppare varietà, macchinari e metodologie di ricerca specificatamente adottate per i sistemi di consociazione, in modo che possa essere popolare non solo per l'agricoltura contadina ma per l'agricoltura commerciale. (J.Layek, T.Mitran, 2018)

Bisogna inoltre considerare che le varietà monocoltura d'élite, se valutate utilizzando criteri rilevanti per i sistemi di consociazione, potrebbero avere combinazioni non ottimali di tratti per la consociazione. Come primo passo verso la valutazione dei genotipi per la consociazione, il germoplasma diversificato delle colture principali potrebbe essere sperimentato in sistemi di colture consociate e monocolture per identificare i tratti che forniscono resa / qualità favorevoli in uno o entrambi i sistemi. Infine, le complesse interazioni che guidano l'acquisizione e la distribuzione delle risorse in sistemi consociati potrebbero essere meglio comprese attraverso la modellazione basata sulle risorse per esplorare come i tratti specifici possono essere ottimizzati per la complementarità. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

I sistemi di consociazione hanno sicuramente il potenziale per aumentare la sostenibilità a lungo termine della produzione alimentare con bassi input in molte parti del mondo. Sebbene alcuni dei meccanismi mediante i quali forniscono benefici siano compresi, esiste ancora un notevole potenziale per migliorare i sistemi di consociazione per ottenere una maggiore resa con gli stessi input, o una resa sostenuta con input ridotti sulla base di nuove conoscenze sia ecologiche che agronomia. (R. W. Brooker, H. G Jones, 2014)

A breve termine, l'approccio più diretto risulta essere semplicemente quello di sperimentare nuove combinazioni di colture per sfruttare meccanismi benefici che sono già stati identificati, come possono essere nuove combinazioni di cereali e leguminose. Sono anche possibili rapidi miglioramenti attraverso lo sviluppo di nuove pratiche agronomiche, inclusa la meccanizzazione dei sistemi di consociazione e una migliore gestione dei nutrienti, ma ancora una volta tali sforzi possono essere portati avanti utilizzando le conoscenze esistenti e gli approcci sperimentali. In un arco di tempo più lungo, è probabile che aumentare l'efficienza nell'uso delle risorse delle consociazioni attraverso la selezione delle piante sia l'opzione più efficace.

RINGRAZIAMENTI

A conclusione di questo elaborato, vorrei dedicare questo spazio a chi, con dedizione e pazienza, ha contribuito alla realizzazione di questa tesi.

Ringrazio specialmente il mio relatore Stefano Tavoletti, che mi ha dato l'opportunità di lavorare al suo fianco in questo progetto, e che ha saputo guidarmi e seguirmi, con la sua infinita disponibilità fin dalla scelta dell'argomento.

Un ringraziamento particolare va anche al mio correlatore Ariele Merletti che con la sua innata gentilezza e dolcezza mi ha seguita, passo dopo passo, in questo percorso, la ringrazio per i suoi preziosi consigli e per avermi suggerito puntualmente le giuste modifiche da apportare alla mia tesi.

Ringrazio di cuore la mia famiglia, i miei più grandi sostenitori senza dei quali non sarei riuscita a raggiungere questo obiettivo. Ringrazio la mia mamma Patricia che mi ha sempre permesso di seguire i miei sogni e che seppur distante mi è sempre stata vicina in ogni traguardo raggiunto. Mio padre Enrique che mi ha saputo accompagnare e consigliare con saggezza nei momenti di difficoltà. Ringrazio mia nonna Gladys che con la sua immensa dolcezza mi ha saputo dare la forza per raggiungere questa meta. E infine mia sorella Sira e mio fratello Iago senza dei quali non sarei quella che sono e che hanno dato alla distanza che ci separa la forza di unirli.

Ringrazio anche il mio ragazzo Luca che in questo percorso mi è stato sempre accanto con amore e pazienza prendendo i miei traguardi come suoi e che mi ha supportata e accompagnata in ogni passo aiutandomi ogni giorno a tirare fuori il meglio di me.

Ringrazio infine tutti i miei amici che ormai sono diventati la mia famiglia che mi sostengono e incoraggiano da sempre in ogni mia esperienza. Ringrazio particolarmente Riccardo che con pazienza mi ha permesso di seguire le lezioni da diverse parti del mondo ed Emi la migliore compagna di avventure che mi poteva capitare, un'amica sincera e leale che ha saputo accettarmi e rispettarli in ogni momento.

Questa tesi rappresenta il termine di un bellissimo percorso pieno di sfide ed emozioni che mi ha fatto crescere come persona. Rappresenta un punto di arrivo e contemporaneamente un punto di partenza per le prossime esperienze che mi riserverà il futuro.

BIBLIOGRAFIA

- D. Peressini (2017) “Valutazione della qualità tecnologica del frumento mediante indici reologici di tipo fondamentale” *Bollettino Panta Rei* 17:5-13
- P. Viggiani (2009) “Il grano. Botanica. Caratteristiche botaniche”, “s.d.”, Script
- M. G. D'Egidio, et al. (2009) “Il grano. Trasformazione”, “s.d.”, Script
- M. G. D'Egidio, M. Corbellini (2009) “Il grano. Macinazione”, “s.d.”, Script
- N. Pogna, et al. (2009) “Il grano. Genetica e miglioramento”, “s.d.”, Script
- A. Blanco (2009) “Il grano. Origine ed evoluzione”, “s.d.”, Script
- P. Montemurro (2009) “Il grano. Gestione delle malerbe”, “s.d.”, Script
- C. Cannella, N. Pogna (2009) “Il grano. Aspetti nutrizionali”, “s.d.”, Script
- N. Pogna, L. Gazza “s.d.” “Genotipi di grano duro ad elevata qualità panificatoria: risultati e prospettive Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura.”
- Michele Monti, et al. (2019) “Cereal/grain legume intercropping in rotation with durum wheat in crop/livestock production systems for Mediterranean farming system” *Field Crops Research, Volume 240*
- P. De Vita, N. Pecchioni (2020) “La qualità del grano italiano, con particolare riferimento al contenuto proteico”
- R. W. Brooker et al. (2015) “Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology.” *New Phytol*, 206: 107-117
- Z. Flagella (2006) “Qualità nutrizionale e tecnologica del frumento duro.” *Ital. J. Agron.*
- G. Tosti, M. Guiducci (2010) “Durum wheat–faba bean temporary intercropping: Effects on nitrogen supply and wheat quality” *European Journal of Agronomy, Volume 33*
- R. Motzo (2001) “Evoluzione varietale e qualità in frumento duro (*Triticum turgidum* subsp. durum): dalle vecchie popolazioni alle attuali cultivar” *nota 1154/4135*
- Z. Šramková, et al. (2009) “Genetic improvement of wheat- a review” *Bratislava, SK-812*
37
- L. Cattivelli, “s.d.”, “Il frumento, la principale fonte alimentare dell’umanità”
- M. A. De Santis, et al. “Differences in gluten protein composition between old and modern durum wheat genotypes in relation to 20th century breeding in Italy” *European Journal of Agronomy, Volume 87, 2017*
- S. Benedettelli, G. Dinelli “s.d.” “Miglioramento degli standard qualitativi delle produzioni dei seminativi”

- J. Bacon, et al. (2018) “The story of food “, London, Dorling Kindersley Limited
- A. Puzzi (2017) “Pasta. Le forme del grano” “s.l.”, Slow Food
- C. Brites, J.M. Carrillo (2000) “Inheritance of Gliadin and Glutenin Proteins in Four Durum Wheat Crosses” *Cereal research communications* 28, 239–246
- J. E. Dexter, R. R. Matsuo (1976) “The spaghetti making quality of developing durum wheats”
- J. Layek et al. (2018) “Cereal+Legume Intercropping: An Option for Improving Productivity and Sustaining Soil Health” *Legumes for Soil Health and Sustainable Management, Springer, Singapore*
- M. Olivier, et al. (2018) “The new Green Revolution: Sustainable intensification of agriculture by intercropping” *Science of The Total Environment, Volume 615*
- A. Ceriotti, et al. (2009) “L'endosperma di frumento: una fabbrica per l'assemblaggio di macromolecole proteiche” *Georgofili: quaderni. 2009 - III, 2009*
- D. G. Calò, et al. (2002) “Contenuto proteico del grano e variabili agronomiche: un'analisi statistica.” *Statistica, 62(3), 501–513*
- L. Bedoussac, et al. (2015) “Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review” *Agronomy for Sustainable Development volume 35*
- D.Suraci (1987) “Metodi non chimici contro erbe infestanti” *L'Informatore Agrario* 2013)
- M.G. D'Egidio, M. Carcea (2013) “Molini d'Italia, I metodi analitici per la misura della qualità dei cereali”
- “Manuale guida di corretta prassi igienica e Haccp nell'industria molitoria.” (2019), *ITALMOPA Associazione Industriali Mugnai d'Italia*
- “Manuale di corretta prassi igienica per il settore artigianale della pasta alimentare” (1998)