

Piano di Sviluppo Rurale per l'Umbria 2007/2013 – Asse 1 – Misura 1.2.4
“Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nei
settori agricolo e alimentare ed in quello forestale”

“La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui”

ACRONIMO: **Pro.No.s.t.i.co. in Umbria**

<http://www.parco3a.org/progetti/la-coltivazione-del-noce-da-frutto-in-umbria-per-l>



Rapporto finale

27 Settembre 2014 – 26 Novembre 2015

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Dott.ssa Maria Emilia Malvolti
CNR-Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)

Capitolo	Titolo	Pagina
	RATIONALE	3
1	OBIETTIVO PROGETTUALE	4
2	PARTENARIATO	4
3	ARTICOLAZIONE PROGETTUALE	5
4	SINTESI DELLE AZIONI SVOLTE, DEI RISULTATI OTTENUTI E APPLICAZIONI	6
	Azione 1 Individuazione ed innesto, su portainnesto franco di origine, italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale	6
	Azione 2 Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni per la messa a dimora delle piante	7
	Azione 3 Pratiche colturali e gestione degli impianti	8
	Azione 4 Test genetici di varietà/cultivar commerciali di noce da frutto e di individui selezionati	9
	<i>4 a Campionamento di foglie su piante destinate all'allestimento delle due piantagioni</i>	9
	<i>4 b Test genetici del materiale campionato per differenziare le cultivar e verificare l'identità clonale entro ciascuna (Genotipizzazione con marcatori molecolari neutrali microsatelliti)</i>	10
	<i>4 c Rilevamento caratteri morfologici delle piante nei due siti di impianto "A" Casalina e "B" UmbraFlor</i>	11
	<i>4 d Infezione artificiale con conidi di Gnomonia leptostyla degli individui di ciascuna cultivar e dei genotipi</i>	12
	<i>4 e Osservazione/verifica attecchimento malattia sulle diverse piante</i>	14
	<i>4 f Campionamento genotipi colpiti dalla malattia e controlli non infettati (cloni medesime cultivar/genotipi presenti negli impianti)</i>	14
	<i>4 g Test molecolari per la resistenza/suscettibilità all'antracnosi con marcatori molecolari funzionali (NBS Profiling approach)</i>	15
	Azione 5 Divulgazione dei risultati e attività dimostrative	16
	Azione 6 Attività di gestione del partenariato, amministrativa e di rendicontazione	17
	<i>6 a Coordinamento e gestione del partenariato</i>	17
	<i>6 b Gestione amministrativa e rendicontazione</i>	18
5	CRONOGRAMMA ATTIVITA'	20
6	CONCLUSIONI E PROSPETTIVE	21

ALLEGATI	
1	Agr. Moreno MORALDI (CNR-IBAF)
2	UMBRAFLO, Azienda vivaistica regionale
3	Fondazione per l'istruzione agraria in Perugia (FIA-PG)
4	Dott.ssa PhD Paola POLLEGIONI (CNR-IBAF)
5	Dott.ssa PhD Alessandra BELISARIO, CREA-PAV (CNR IBAF)
6	Dott.ssa Emanuela SCHIAFFELLA (CNR IBAF)
7	3A -Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria

RAZIONALE

Il progetto “La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui coltivati” Acronimo “Pro.No.s.t.i.co. in Umbria”, finanziato dal Piano di Sviluppo Rurale per l’Umbria 2007/2013 – Asse 1 – Misura 1.2.4 “Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nei settori agricolo e alimentare ed in quello forestale”, è nato sia dall’esigenza di diversificare le colture agricole in Umbria, in accordo con la nuova politica agricola comune (PAC), sia per aiutare gli agricoltori ad affrontare meglio le sfide nel mercato nel rispetto dell’ambiente e della qualità del prodotto.

In questi ultimi anni si registra una crescente richiesta di frutta secca a livello internazionale mentre la produzione italiana risulta inadeguata perfino a soddisfare il fabbisogno interno. Questo è dimostrato dalle statistiche degli ultimi anni che pongono l’Italia tra i principali Paesi consumatori ed al contempo importatori di frutta secca al mondo. Per quanto riguarda la noce, i dati FAO 2014 mostrano che la produzione mondiale di noci in guscio, di circa 3.000.000 t/anno (media 2008-12), è concentrata in Cina, Iran e Stati Uniti (rispettivamente 43,7%, 14,7% e 14,2% dell’intero prodotto); la restante quota è suddivisa tra Turchia (6%), Messico (3%), Ucraina (3%) e Francia (1%). L’Italia, che oggi si posiziona al diciottesimo posto nella classifica mondiale con 12.000 t/anno su una superficie di 4.400 ha (media 2008-12), negli anni ’70 produceva circa 80.000 t/anno di noci. In accordo con il trend “frutta secca”, il consumo di noci mondiale tra il 2007 ed il 2011 è aumentato del 29,5% (statistiche dell’International Nut & Dried Fruit Council). In Italia vengono consumate ogni anno più di 40.000 t di noci in guscio o sgusciate con una tendenza di consumo in continuo aumento (+58,3% dal 2000 al 2010, Istat 2012). La produzione, inadeguata a soddisfare il fabbisogno interno è deficitaria di circa 26.500 t tra noci in guscio e sgusciate; l’importazione da Francia, Stati Uniti, Cile, Argentina, Australia, ha un costo stimato di 114 Ml di dollari/anno (53% di incremento dal 2007 al 2011).

Quindi, in base all’analisi attenta dei mercati attuali e futuri, anche considerando le molte problematiche che interessano alcune coltivazioni tradizionali (cerealicole e frutticole), scegliere di orientarsi verso impianti di frutta in guscio come la noce, nel rispetto della vocazionalità dei territori e dell’impatto ambientale con un occhio all’innovazione, può essere un approccio vincente per lo sviluppo rurale in Umbria.

Perché la noce ?

Il noce era una pianta tradizionale della civiltà contadina in Umbria dove veniva coltivato per il frutto e a fine turno per il legno. Questo tipo di gestione tuttavia oggi non è più sostenibile a causa della bassa resa produttiva e della qualità del frutto troppo eterogenea. Oggi, per soddisfare le leggi del mercato, il frutto di noce deve essere di qualità, cioè di pezzatura regolare, guscio sottile e gusto gradevole del gheriglio. Inoltre deve conservare proprietà nutraceutiche e salutistiche (acidi

grassi polinsaturi) che, a causa di una conservazione errata delle le noci, con l'ossidazione si possono alterare. Un prodotto adatto ai mutati gusti dei consumatori si ottiene con la coltivazione specializzata di cultivar selezionate, in ambienti pedoclimatici idonei, limitando quanto possibile la distanza tra luogo di produzione e di immediata successiva lavorazione e confezionamento. Le valli Umbre, per le loro caratteristiche ambientali, sembrano essere adatte alla coltivazione intensiva del noce da frutto per un prodotto di qualità.

1. OBIETTIVO PROGETTUALE

Il progetto Pro.No.s.t.i.c.o. in Umbria, che ha avuto la durata di 10 mesi, ha inteso fondare le basi per sviluppare la nocicoltura nelle valli Umbre, come valido complemento di produzione e di reddito per gli agricoltori, attraverso prove di campo e test di laboratorio finalizzati alla selezione precoce e alla caratterizzazione delle piante più idonee allo scopo.

2. PARTENARIATO

Il partenariato, registrato con ATS presso l'Ufficio del Registro di Orvieto (TR) il 19 Dicembre 2014, era costituito dai seguenti soggetti :

- 1- CNR – Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF) – Capofila
- 2- Azienda Vivaistica Regionale UmbraFlor
- 3- 3A-PTA- Parco Tecnologico Agroalimentare Dell'Umbria Soc. Cons. a.r.l.
- 4- Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia.

Questi sono stati, oltre che i partner, anche le Unità Operative del Pro.No.s.t.i.c.o. in Umbria

UNITA' OPERATIVE

- ✓ CNR – Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF) – Capofila

Il CNR-IBAF si è avvalso della collaborazione di esperti altamente qualificati selezionati mediante bandi pubblici.

Componenti Unità Operativa CNR-IBAF

Ricercatore CNR-IBAF	Dr. Maria Emilia Malvolti	Ricercatore CNR-IBAF, responsabile scientifico
Tecnico CNR-IBAF	Sig. Giovanni De Simoni	Collaboratore attività campionamenti e azioni in campo
Coll. Amministrazione CNR-IBAF	Sig.ra Giovanna Marinelli	Segreteria, gestione documentazione (attività a totale carico CNR-IBAF)
Bando CNR-IBAF N° 08/2015/TR	Agr. Moreno Moraldi	Agrotecnico, esperto impianti di noce da frutto
Bando CNR-IBAF N° 01/2015/TR	Dr. PhD Paola Pollegioni	Genetista, esperta marcatori molecolari neutrali e funzionali su <i>Juglans</i> spp.
Bando CNR-IBAF N° 04/2015/TR	Dr. Emanuela Schiaffella	Economista, esperta in studi socioeconomici e rendicontazione

Inoltre la Dott.ssa Alessandra Belisario (istituto CREA-PAV di Roma), massima esperta italiana su problematiche di patologia in *Juglans* spp., è stata incaricata con contratto di consulenza tra CNR-IBAF e CREA PAV.

Il CNR-IBAF ha svolto la funzione di coordinatore delle le attività progettuali e di rendicontazione

- ✓ Azienda Vivaistica Regionale UmbraFlor.

Oltre a fornire le piante innestate per i due impianti sperimentali, ha allestito e gestito il Campo sperimentale “B” (UmbraFlor, Feccioli). Inoltre ha partecipato ai rilievi morfologici sulle piante e alle fasi di patologia.

Componenti Unità Operativa UmbraFlor

Dr. Sandro Vitali	Amministratore Unico UmbraFlor
Dr. Simone Gamboni	Responsabile del settore Amministrazione

- ✓ 3A-PTA- Parco Tecnologico Agroalimentare Dell’Umbria Soc. Cons. a.r.l.

Ha curato la divulgazione dei risultati

Componenti Unità Operativa

Dr. Luciano Concezzi	Responsabile dell'Area Innovazione e Ricerca
Dr. Enrico Frattegiani	Collaboratore dell'Area Innovazione e Ricerca
Altri per attività divulgazione e attività dimostrativa in campo	Vedi Allegato 3

- ✓ Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia (FIA PG).

Questo partner si è occupato dell’allestimento e la gestione del campo sperimentale “A”(FIA-PG, Casalina). Inoltre ha partecipato ai rilievi morfologici sulle piante e alle fasi di patologia.

Componenti Unità Operativa

Dr. Antonio Cesarini (fino a Giugno 2015)	Direttore FIA PG
Dr. Mauro Brunetti (da Giugno 2015 a seguire)	
Dr. Giuseppe Oliverio	Responsabile gestione campi sperimentali

3. ARTICOLAZIONE PROGETTUALE

Il progetto Pro.No.s.t.i.co. in Umbria, si è prefissato i seguenti obiettivi:

- Realizzare in Umbria impianti comparativi sperimentali di noce da frutto per valutare l’adattamento delle principali cultivar agli ambienti tipici delle valli umbre.
- Valutare e saggiare il comportamento delle cultivar da frutto verso le principali malattie fungine epigee (antracosi).

- Valutare le cultivar più adatte ai particolari ambienti di fondo valle caratterizzati da elevata umidità e da intense escursioni termiche.
- Caratterizzare i cloni delle diverse selezioni di noce da frutto ed individuazione precoce di piante sensibili/resistenti all'antracnosi mediante test genetici come strumenti di controllo sul materiale destinato agli impianti.

Per raggiungere tali obiettivi Pro.No.s.t.i.co. in Umbria ha sviluppato le seguenti azioni:

- *Azione 1:* Individuazione ed innesto, su portainnesto franco di origine, italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale
- *Azione 2:* Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni per la messa a dimora delle piante.
- *Azione 3:* Pratiche colturali e gestione degli impianti
- *Azione 4:* Test genetici di varietà/cultivar commerciali di noce da frutto e di individui selezionati
- *Azione 5:* Divulgazione dei risultati e attività dimostrative

Il coordinamento è stato svolto con:

- *Azione 6:* Attività di gestione del partenariato, amministrativa e di rendicontazione

4 SINTESI DELLE AZIONI SVOLTE, RISULTATI ED APPLICAZIONI

- ***Azione 1: Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale.***
(Moreno Moraldi, (Allegato 1); U.O. Umbraflor (Allegato 2))

La scelta è caduta su cultivar a fruttificazione laterale per la loro capacità di garantire, a parità di qualità rispetto alle cultivar tradizionali, una produzione quantitativa superiore.



Cv. Tulare

Alcune cultivar di noce a confronto:

Cv Midland

Cv. Howard

Per saggiare la loro attitudine alla nocicoltura nelle valli umbre, in confronto con le cultivar estere, sono stati anche considerati alcuni genotipi di provenienza locale selezionati e mantenuti in collezione presso Umbraflor. Le cultivar scelte, già utilizzate in California, sono: Midland, Hartley, Howard, Chandler, Serr, Sunland e Tulare; in Francia: Lara, Fernette, Fernor; i genotipi forniti da UmbraFlor sono Tara (Bat1), Pema (Bat2), Goia (Bat3), Gigante di Spello (Bat4), Ans1, Ans2, Ans3, Ans4, Ans5. Questo materiale è stato utilizzato per allestire l'impianto sperimentale "A" presso "FIA- PG, Tenuta Casalina" (PG) e "B" presso UmbraFlor "località Feccioli" a Spello (PG). In totale i due impianti sono stati effettuati con 10 "cultivar" e 9 genotipi singoli, per un totale di 200 piante, 100 individui per campo. Tutti i genotipi, cultivar e genotipi singoli, sono stati forniti dal vivaio UmbraFlor e prodotti mediante innesto su portinnesto franco. Le piante sono state contrassegnate con cartellino di diverso colore per ciascuna cultivar.

- **Azione 2: Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni e per la messa a dimora delle piante** (*Moreno Moraldi, (Allegato 1); U.O. Umbraflor (Allegato 2); U. O. FIA-PG Allegato 3)*)

Dopo aver effettuato alcuni sopralluoghi, sono stati identificati due terreni ove allestire i due previsti impianti di noce da frutto comparativi "A" e "B" adatti alla coltivazione del noce da frutto. Il terreno "A" è sito in località Casalina (PG) in un'area posta a ridosso della sponda destra del fiume Tevere, caratterizzata per metà da sedimenti di antiche esondazioni e per la restante parte da terreni con minore presenza di sabbia. Si tratta di un terreno pianeggiante fresco, umido ma ben drenato. Il secondo terreno, ove è stato effettuato l'impianto "B", è in località Feccioli (Spello, PG), tra i siti nelle disponibilità di UmbraFlor, vicino alla sponda destra del Fiume Topino. Il terreno è di buona fertilità, tendenzialmente argilloso, ma con dotazione di limo. Ambedue gli appezzamenti sono stati lavorati, squadriati e preparati per essere allestiti rispettivamente dall' U.O FIA-PG e dall'U.O. UmbraFlor. La messa a dimora delle piante è stata eseguita seguendo due schemi a blocchi randomizzati, appositamente preparati per i due siti (Allegato 1).



Panoramica impianto A FIA-PG (Loc. Casalina)



Panoramica impianto B Umbraflor (Feccioli)

- **Azione 3: Pratiche culturali e gestione degli impianti** (U.O. UmbraFlor, Allegato 2; U. O. FIA-PG Allegato 3)

Campo sperimentale "B" UmbraFlor.

L'aratura del terreno, 1ha di superficie, alla profondità di 70 cm, è stata eseguita tra la fine di gennaio, inizi febbraio 2015. L'appezzamento, che era stato coltivato fino alla stagione 2014 rispettando le rotazioni agronomiche erbacee/leguminose, non è stato concimato. Quindi il terreno è stato affinato con erpice a dischi per anticipare la frammentazione delle zolle, poi con erpice rotante per completarne il livellamento. Il campo è stato squadrato rispettando il sesto 9 x 9 previsto in fase di progettazione ottenendo blocchi, distanziati tra loro altri 9 metri, in cui i genotipi sono stati collocati a random come previsto. Per ogni individuo è stata predisposta una conca di irrigazione. Durante la crescita delle piante sono stati eseguiti i controlli fitosanitari previsti dal progetto in collaborazione con le altre unità operative.

Campo sperimentale "A" FIA-PG (Casalina)

Nel marzo 2015 la Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia (FIA-PG) ha realizzato, nella tenuta di Casalina, il campo sperimentale A allestendo 10 blocchi randomizzati con sesto di impianto di metri 9 x 9, previsto in fase di progettazione, per una superficie complessiva di mq 10.000. Il terreno, di medio impasto con buona dotazione di fosforo e potassio, era stato coltivato a mais nell'anno precedente. La lavorazione è consistita in: trinciatura dei residui colturali; rippatura a croce alla profondità di 90 cm; concimazione; aratura a 40 cm, estirpature delle malerbe; erpicatura e fresatura per affinamento e pareggiamento del terreno. Tutto il materiale usato era identico a quello impiantato nel campo B preso UmbraFlor. Nei mesi estivi sono state realizzate delle conche vicino alle piante per favorire una maggiore disponibilità di acqua, inoltre il campo è stato irrigato con sistema fisso per aspersione



Impianto sperimentale "A" FIA-PG, Loc. Casalina (16 luglio 2015)

- Azione 4: Test genetici di varietà/cultivar commerciali di noce da frutto e di individui selezionati

Questa azione è stata svolta in vari step. Le diverse sub-azioni, di seguito descritte e riassunte, sono state espletate con l'attività di consulenti altamente qualificati, esperti nei vari settori, che sono stati tra i componenti della U.O. CNR-IBAF).

Competenze	Consulenti	Professionalità
Esperto impianti noce da frutto	Agr. Moreno Moraldi	Agrotecnico, libero professionista esperto in impianti di noce da frutto
Esperto patologo	Dott. Alessandra Belisario	Patologa PhD specializzata su <i>Juglans</i> spp., Istituto CRA-ISPAVE, Roma
Genetista	Dott. Paola Pollegioni	Genetista PhD, specializzata di test molecolari su <i>Juglans</i> spp.

4.a) campionamento di foglie su piante destinate all'allestimento delle due piantagioni (Dott. Paola Pollegioni, Agr. Moreno Moraldi, Sig. Giovanni Desimoni)

Nella primavera 2015 presso il vivaio UmbraFlor di Spello, sono stati ulteriormente segnati i cloni di ciascuna cultivar destinati rispettivamente al campo sperimentale "A" FIA-PG (Loc Casalina) e quelli destinati al campo sperimentale "B" Umbraflor (Loc. Feccioli). Sul cartellino, già di diverso colore apposto dal vivaio, è stato riportato anche il nome della cultivar, il numero corrispondente al clone nell'ambito di essa ed il campo sperimentale di destinazione (es. Lara 1A, Lara 1B). Da ogni pianta sono state campionate foglie giovani o gemme. I tessuti, posti in provette adatte alla crioconservazione, sono stati immediatamente congelati in Azoto liquido e trasportati presso il laboratorio di analisi del CNR-IBAF dove sono stati conservati a -80°C fino al momento dei test genetici.

4.b) test genetici del materiale campionato per differenziare le cultivar e verificare l'identità clonale entro ciascuna cultivar (Dott.ssa Paola Pollegioni, Allegato 4)

- *Genotipizzazione con marcatori molecolari neutrali microsatelliti*

Il DNA genomico è stato estratto da ciascun campione, prelevato in vivaio e conservato a -80°C presso il CNR-IBAF, per un totale 200 campioni; inoltre sono stati inclusi anche 8 genotipi noti per avere un confronto e stabilire con esattezza il genotipo multilocus delle piante oggetto d'indagine. Tutti i campioni sono stati genotipizzati mediante amplificazione di quattordici loci microsatellitari (totale 2912 test). Come da prassi, l'amplificazione è stata eseguita due volte al fine di essere certi della riproducibilità del risultato. I dati ottenuti sono stati processati mediante opportuni programmi statistici sia per la caratterizzazione genetica del materiale, sia per verificare l'identità clonale delle piante. Per un'ulteriore verifica del materiale usato per l'allestimento dei campi sperimentali, le piante appartenenti alle dieci cultivar reperibili in commercio, sono state sottoposte anche all'analisi del pedigree.

Risultati

I test genetici effettuati hanno permesso di suddividere gli individui in tre gruppi principali. Tali gruppi sono corrispondenti ai tre cluster ottenuti con l'analisi del pedigree delle dieci cultivars di *J. regia* già commercializzate in California e Francia. Il gruppo 1 include Cv. Lara, Cv. Fernettes e Cv. Fernor (Francia); Cv. Hartley e Cv. Midland (California) e i genotipi singoli Tara (Batt1), Pema (Batt2), Goia (Batt3) (Italia). Le cultivar straniere raggruppate, probabilmente hanno in comune progenitori di origine francese. Il pedigree del materiale italiano non è noto; il clustering rivela una sorprendente similarità tra Bat 1 e Bat 2. Il gruppo 2 comprende Cv. Chandler e Cv. Howard (California), mentre il terzo gruppo è formato da Cv. Serr, Cv. Tulare, Cv. Sunland (California) e da Ans1, Ans2, Ans3, Ans4, Ans5, Gigante di Spello (Batt4) (Italia). Questi materiali, inclusi i genotipi italiani, potrebbero avere progenitori asiatici.

Questo risultato conferma l'identità genetica delle cultivar commerciali utilizzate in accordo con il pedigree di origine e caratterizza i genotipi italiani conservati presso UmbraFlor.

L'identità clonale (cioè l'appartenenza di un individuo alla cultivar prescelta) è stata confermata per 196 piante mentre le piante Howard 8A, Howard 2B, Tulare 5A e Tulare 5B non sono risultate corrispondenti alle cultivar dichiarate. Probabilmente potrebbero derivare da un errore in fase di innesto o da un'errata cartellinatura.

Prospettive/applicazioni dei risultati

I risultati ottenuti dimostrano che i test molecolari per la caratterizzazione dei materiali destinati alle imprese agricole possono essere utilissimi per evitare consegne errate di materiale vivaistico che potrebbero danneggiare il risultato delle piantagioni. Inoltre i test sono utili anche per

le imprese vivaistiche al fine di evitare eventuali furti di germoplasma da terzi e frodi di propagazione.

4.c) rilevamento caratteri morfologici delle piante nei due siti di impianto "A" Casalina e "B" UmbraFlor (Agr. Moreno Moraldi, Allegato 1)

Le altezze di tutte le 200 piante a dimora nei due impianti sperimentali sono state rilevate e misurate in diversi momenti: a) altezza totale degli astoni allevati in vaso nello stato di riposo vegetativo prima della messa a dimora; b) allungamento del germoglio apicale dalla ripresa vegetativa in campo fino al 8 luglio 2015; c) allungamento del germoglio apicale nei tre mesi dall'8 luglio 2015 all'8 ottobre 2015. Quest'ultima data può essere considerata come corrispondente alla conclusione della fase di accrescimento prima del riposo vegetativo autunnale delle piante. Poiché le misure sono state rilevate su individui ripetuti in blocchi randomizzati, i dati finali sono stati espressi come media tra gli accrescimenti di tutti i componenti di ciascun genotipo e di ciascuna cultivar (Allegato 1).

Risultati

Le piante inizialmente più alte hanno mostrato minori accrescimenti successivi. Ciò può essere dovuto al fatto che le radici del materiale vivaistico ANS e BAT, vissuto per 2 anni nel medesimo contenitore, avevano occupato tutto lo spazio e sfruttato il terriccio disponibile. Gli individui delle 10 cultivar erano più giovani e quindi avevano avuto una minore permanenza nei vasi. Tuttavia, le piante più sviluppate in altezza presentavano comunque, al momento della messa in campo, un apparato radicale più sviluppato che aveva maggiormente sfruttato il terreno nel contenitore. Sia per il materiale vivaistico di due anni, sia per le piante più alte più giovani il minor allungamento della germogliazione primaverile può essere stata causata da una ripresa vegetativa tardiva.

Nell'impianto di Casalina sono stati riscontrati accrescimenti superiori (percentuale sull'altezza iniziale superiore al 280%) rispetto a quelli osservati a Feccioli (percentuale sull'altezza iniziale 111%). La data anticipata della messa a dimora delle piante a Casalina (23 marzo 2015) rispetto a quella di Feccioli (17 e 18 aprile 2015) potrebbe essere una delle ragioni della differenza registrata. I diversi metodi di gestione degli impianti (campo "A", irrigazioni a pioggia e lavorazioni superficiali frequenti, campo "B" irrigazioni per sommersione a conche e lavorazioni meno frequenti), potrebbero essere la seconda causa. Nell'impianto "A", le piante radicate nella parte di terreno vicina al fiume Tevere hanno mostrato un accrescimento maggiore rispetto a quelle a dimora nella restante zona. Questa porzione di terreno prossima al fiume, per le sue caratteristiche pedologiche -sedimenti di antiche esondazioni e minore contenuto di argilla- appare quindi più adatta alla coltivazione del noce.

Prospettive/applicazioni risultati

Le prove del progetto Pro.no.s.t.i.co., pur nella loro breve durata, dimostrano che le valli ombre possono essere vocate alla coltivazione del noce da frutto. Il noce esprime al meglio le proprie capacità di accrescimento negli ambienti caratterizzati da terreni profondi, sciolti e ben drenati, dove esistono le condizioni e la disponibilità di acqua sufficiente per irrigazioni regolari e abbondanti. Queste importanti osservazioni andrebbero ripetute e sviluppate in annualità successive quando le piante affrancatesi sui terreni, superato lo shock da trapianto, possono esprimere al meglio la loro attitudine .

*4.d) infezione artificiale con conidi di *Gnomonia leptostyla* degli individui di ciascuna cultivar e dei genotipi impiegati per gli impianti (Dott.ssa Alessandra Belisario, Allegato 5; Agr. Moreno Moraldi, Allegato 1)*

Lo studio della resistenza/suscettibilità all'antracnosi è stato condotto in Pro.No.s.t.i.co. su un sub set di 58 piante: quattro cloni per ciascuna cultivar commerciale (2 cloni per località Feccioli, 2 cloni per località Casalina); quattro cloni per Tara (2 cloni per località Feccioli, 2 cloni per località Casalina); un minimo di due cloni per Pema, Goia, Gigante di Spello, Ans1, Ans2, Ans3, Ans4 e Ans5 (1 clone in località Feccioli, 1 clone in località Casalina).

Una prima fase dello studio ha riguardato la rivitalizzazione dell'isolato virulento ISPaVe2000 presso il laboratorio dell'Istituto CREA-PAV di Roma. Quindi, in maggio, sono state scelte in campo le piante da inoculare; sono state selezionate piante piccole e vigorose, con sviluppo della chioma contenuto e soprattutto esenti da antracnosi. Gli individui scelti sono stati contrassegnati con nastro plastico.



Impianto FIA-PG Loc. Casalina: selezione piante da infettare

Preparata la sospensione conidica, a giugno si è proceduto alla prima inoculazione delle piante scelte e all'isolamento con sacchi di polietilene trasparenti per favorire la germinazione dei conidi.



Feccioli



*Fasi dell'inoculo 23 /06/2015:
Casalina*



Feccioli

Risultati

Nonostante la rimozione dei sacchetti, l'elevata insolazione e le alte temperature del periodo stagionale 2015 hanno causato secchume, ustioni ed allessature delle foglie infettate che hanno totalmente inficiato il risultato del primo inoculo.



Disseccamenti e bruciature sulle piante dopo il primo inoculo impianto "A" Loc. Casalina ed impianto "B" Umbraflor Loc. Feccioli

Questa evidenza è stata molto dannosa ai fini dello studio perché ha reso impossibile il rilevamento dell'incidenza della malattia proprio nel periodo di maggiore suscettibilità dei germogli e dei frutticini. Inoltre ha vanificato la possibilità di ripetere l'infezione nei tempi previsti (fine luglio). Tenendo conto quindi che la seconda infezione avrebbe avuto luogo con tempi slittati e su piante più prossime al periodo di riposo invernale, sono immediatamente riprese le attività presso il laboratorio CREA-PAV di Roma per preparare *ex-novo* un inoculo concentrato. Quindi, la seconda tornata di infezioni è stata fatta a settembre con la nuova soluzione fresca.

4.e) osservazione/verifica attecchimento malattia sulle diverse piante (Dott.ssa Alessandra Belisario, Allegato 5; Agr. Moreno Moraldi, Allegato 1)

Dopo l'infezione le piante sono state monitorate per un mese. I controlli effettuati in campo a settembre e ottobre 2015 sull'incidenza della malattia hanno evidenziato un effetto più evidente sulle piante presso il campo sperimentale "A" FIA-PG poiché caratterizzate da vegetazione più tenera rispetto a quelle del campo sperimentale "B" di Umbraflor (Feccioli). Il campo "A" si trova in un ambiente più umido rispetto al campo "B"; questa caratteristica renderebbe le piante più sensibili ad un patogeno parenchimatico quale *Gnomonia leptostyla*.

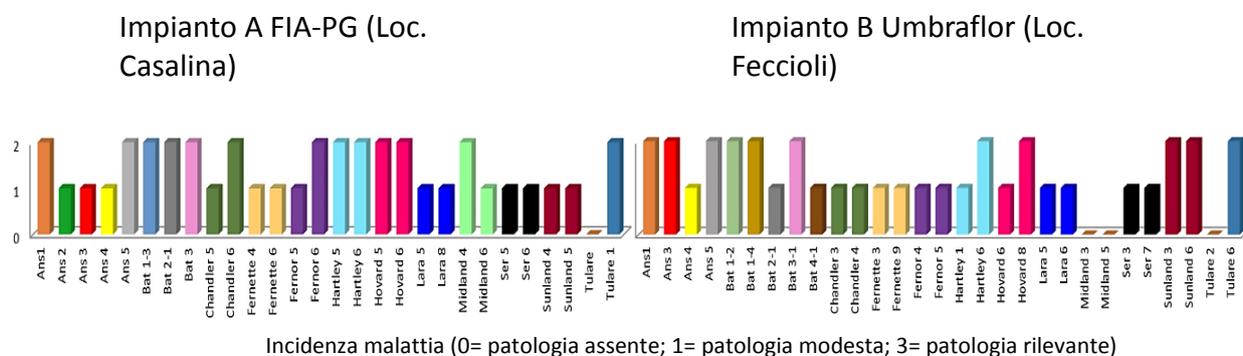
Risultati

Le prime piante risultate positive ad antracnosi per presenza di necrosi fogliari sono BAT1-3A, BAT 2-1A, HARTLEY 5A, ANS 5A, CHANDLER 6A, ANS 4A, HOWARD 6A, ANS 1A. A Feccioli, dove lo stato vegetativo delle piante era più contenuto e le foglie notevolmente più ispessite, si possono ritenere positive all'antracnosi SERR 7B, BAT 3-1B, HARTLEY 6-B, BAT 2-1B. Su alcuni genotipi posti a ridosso della fascia frangivento a Feccioli l'infezione è risultata più marcata rispetto alle altre dello stesso sito.

4.f) campionamento genotipi colpiti dalla malattia e controlli non infettati (cloni medesime cultivar/genotipi presenti negli impianti) (Dott.ssa Alessandra Belisario, Allegato 5; Agr. Moreno Moraldi, Allegato 1)

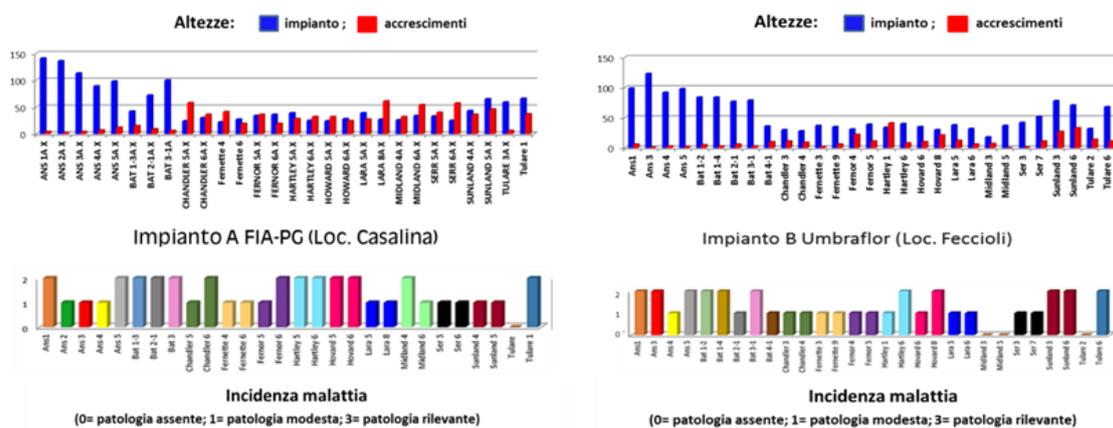
Un terzo sopralluogo effettuato nei due campi sperimentali "A" e "B" in data 21 ottobre, per registrare lo stato fitopatologico dei cloni dopo circa un mese dall'infezione rispetto ai controlli non infettati, ha permesso di rilevare che le macchie dovute all'attacco del patogeno fungino erano presenti su tutte le piante inoculate anche se con una diversa intensità di sintomi.

Confronto dell'incidenza della malattia sulle piante infettate nei due campi sperimentali



La stagione estiva 2015, particolarmente calda, è stata sfavorevole alla diffusione dell'ascomicete responsabile dell'antracnosi. Poiché le osservazioni sull'incidenza della malattia sono avvenute su piante non trattate con pesticidi, i risultati acquisiti, anche se del tutto preliminari, mostrano

l'elevata influenza ambientale sulla diffusione di antracnosi negli impianti di noce da frutto. L'infezione è favorita da ambiente umido ed da ombreggiamento. Altezza delle piante al momento della messa a dimora e incidenza della malattia sembrano concordanti solo nel campo B di Feccioli (ambiente più secco), mentre le due caratteristiche sembrano indipendenti in ambiente più umido (campo A di Casalina).



Anche se i dati sono assolutamente preliminari, la prima osservazione dopo il secondo inoculo suggerisce che le varietà Midland, Tulare e Serr potrebbero essere più tolleranti all'antracnosi.

Prospettive/applicazioni risultati azioni 4d, 4e, 4f.

Per essere significativi, applicabili e quindi utili al mondo agricolo e vivaistico, è evidente che gli inoculi e le osservazioni sull'incidenza alla malattia dovrebbero essere ripetuti in futuro e replicati anche in altri impianti sperimentali di fondo valle. Inoltre sarebbe importante stabilire l'effetto dei diversi metodi di irrigazione sull'incidenza dell'antracnosi così come verificare il comportamento delle cultivar al secondo anno dall'impianto.

4.g) Test molecolari per la resistenza/suscettibilità all'antracnosi con marcatori molecolari funzionali (NBS Profiling approach) (Dott.ssa Paola Pollegioni, Allegato 4)

Queste analisi sono state svolte per indagare sulla componente genetica della resistenza/suscettibilità all'antracnosi e sono state effettuate sulle stesse 58 piante oggetto di infezione controllata con conidi di *Gnomonia leptostyla* effettuate nei due campi "A" e "B". (vedi relazioni Dott. Alessandra Belisario, Allegato 5 e Agr. Moreno Moraldi Allegato 1). I test molecolari sono stati condotti mediante l'uso di marcatori funzionali, associati ai geni-R (Resistant) o geni RAGs (Resistant-analogs), attraverso il metodo NBS-profiling approach sviluppato da Van der Linden et al. (2004) presso il Plant Research International, Wageningen (The Netherlands), già applicato con successo su specie di interesse agrario come lattuga, pomodoro, orzo, patata, grano, mela e messo a punto su noce da Pollegioni e Van der Linden. Le foglie fresche dei 58 genotipi scelti per l'inoculo in Pro.No.s.t.i.co., già campionate in precedenza e conservate presso il CNR-IBAF a -80°C, sono state polverizzate in azoto liquido. Quindi è stato estratto il DNA genomico che è stato quantificato è

stato analizzato secondo i metodi descritti in allegato (Vedi relazione allegata Dott.ssa Paola Pollegioni, Allegato 4). I dati ottenuti sono stati quindi analizzati con opportuni programmi statistici.

Risultati

Un'analisi dettagliata dei 247 frammenti NBS amplificati mostra 65 frammenti (26.3 %) presenti in tutti i 58 campioni ("marcatori NBS monomorfici"). Le restanti 183 bande (73.3%) sono state classificate come "bande polimorfiche" perché non sono presenti in tutte le piante. Tra le bande polimorfiche sono 27 bande NBS "private" cioè presenti in un'unica cultivar di noce. In questo studio, nonostante la loro natura funzionale, i marcatori NBS hanno fornito dei profili genetici tendenzialmente simili a quelli ottenuti con marcatori neutrali SSRs, cioè le 58 piante sono raggruppate in tre clusters principali. Purtroppo, a causa della prima infezione fallita per le avverse condizioni meteorologiche, nonché per la presenza anche di altre avversità come la batteriosi causata da *Xanthomonas arboricola* pv *juglandis* e il seccume fogliare lanuginoso causato da *Microstroma juglandis*, i dati raccolti in campo non sono sufficienti per identificare un marcatore correlato alla resistenza/suscettibilità alla malattia nel set di piante analizzato. Tuttavia l'analisi preliminare delle frequenze dei 247 marcatori NBS nei differenti gruppi di piante rappresenta un importante punto di partenza per l'individuazione di uno o più marcatori funzionali NBS potenzialmente associati alla resistenza/suscettibilità all'antracnosi. Questi dati perciò meritano, per la loro importanza pratica, di essere approfonditi successivamente ripetendo le infezioni in ambiente controllato per evitare danni climatici.

Prospettive/applicazioni risultati

L'identificazione di bande NBS profiling correlate alla resistenza o suscettibilità genetica di piante ad agenti patogeni può essere utile nella selezione precoce delle piante destinate agli impianti da frutto in modo da evitare o limitare al massimo l'impiego di pesticidi. Nell'ambito di test precedentemente condotti su altro materiale di noce da Pollegioni et al. (2012), l'associazione di una banda NBS profiling con la suscettibilità alla malattia era stata identificata con successo località. Le bande NBS identificate per il materiale usato per allestire gli impianti "A" e "B" costituiscono perciò un database su cui lavorare in futuro.

- **Azione 5: Divulgazione dei risultati** (3A-Parco Tecnologico, Allegato 7)

La 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria nell'ambito del progetto ha svolto attività legate alla divulgazione del progetto e dei suoi risultati. In particolare è stata realizzata una specifica pagina web dedicata al progetto (www.parco3a.org) dove sono state inserite informazioni relative allo svolgimento ed alle finalità del progetto ed organizzato un evento di diffusione con convegno finale e attività dimostrativa che si è svolto il giorno 11 Novembre 2015 presso la Rocca di Casalina, Deruta (PG). Viene riportato in allegato il dettaglio delle attività svolte (Allegato 3).

Dall'incontro è emerso un grande interesse del mondo agricolo verso la frutta secca ed in particolare la noce, nonché apprezzamento per la qualificazione degli esperti che hanno partecipato al progetto i quali si sono detti disponibili ad interloquire con gli stakeolder anche in futuro.



*Attività dimostrativa e convegno finale Progetto Pro.No.S.t.i.c.o. in Umbria (Casalina (PG)
11 Novembre 2015)*

- ***Azione 6: Attività di gestione del partenariato, amministrativa e di rendicontazione***
6.a) Coordinamento e gestione del partenariato (Dr. Maria Emilia Malvolti)

L'attività di coordinamento è iniziata fin dall'approvazione del progetto ed ha riguardato le diverse comunicazioni a tutti i partner con lo scopo di iniziare ed pianificare la tempistica delle attività da svolgere, la preparazione e la registrazione dell'ATS presso l'ufficio del Registro di Orvieto, la definizione delle caratteristiche delle persone altamente qualificate a cui affidare incarichi particolari, (test molecolari, pianificazione e supervisione dell'allestimento e gestione degli impianti sperimentali, test patologici, amministrazione e rendicontazione) nonché la stesura dei bandi e la selezione dei partecipanti a ciascun bando. La selezione si è svolta mediante attenta analisi dei curricula ricevuti da parte di tre commissioni diverse, i cui componenti erano esperti sulle tematiche dei rispettivi bandi. Gli aspetti gestionali dei bandi, nonché l'espletamento di tutte le attività burocratiche connesse al progetto sono stati curati dalla Sig.ra Giovanna Marinelli in organico presso il CNR-IBAF di Porano in qualità di segreteria di direzione e protocollo (attività a totale carico CNR-IBAF). Nel corso del progetto sono state organizzate diverse visite nei campi sperimentali e numerosi incontri con i partner sia tramite posta elettronica che *de-visu*. Le attività sono state svolte in sinergia tra i partner che hanno collaborato con entusiasmo a tutte le azioni del progetto. In data 14 maggio, presso la sede del Parco 3A Pantalla (PG), si è svolto un incontro tra i partner ed esperti nella fase intermedia del progetto con lo scopo di fare il punto delle attività svolte e controllare lo stato della situazione finanziaria, nonché per focalizzare e risolvere gli eventuali problemi incorso d'opera. Fino alla data dell'incontro le attività previste erano state rispettate ed i tempi slittati erano stati

perfettamente compensati. L'evento atmosferico negativo che ha invalidato la prima infezione delle piante, sopraggiunto dopo l'incontro di maggio, è stato affrontato con prontezza ed estrema collaborazione di tutti. Il laboratorio di Patologia CREA-PAV ad esempio, si è immediatamente attivato per produrre altro *inoculo ex novo*. Quindi, al fine di poter completare le azioni in campo previste, si è chiesta la proroga di un mese sulla data di termine del progetto e sulla rendicontazione. Ciò ha permesso di completare i test genetici e le osservazioni morfologiche. Si è cercato al massimo di evitare spese aggiuntive fuori dal budget, mentre pochi aggiustamenti non prevedibili ma indispensabili, avvenuti in corso d'opera, sono stati documentati e motivati. Nel complesso il Progetto si è svolto come previsto e come si può evincere dai risultati ottenuti nel periodo di 10 mesi, breve se riferito a specie arboree come *J. regia*) costituisce un importante testimonianza preliminare per lo sviluppo della nocicoltura da frutto in Umbria. In sintesi i risultati attesi in fase progettuale sono stati raggiunti. Inoltre, gli impianti realizzati con il progetto, realizzati su terreni facenti capo sia a strutture regionali e sia appartenenti ad istituzioni pubbliche, rimarranno in loco per scopo dimostrativo a disposizione di quanti vorranno in futuro intraprendere studi od attività attinenti al settore. I partner si sono anche impegnati a continuare la collaborazione tra loro al fine di non disperdere le conoscenze acquisite e confermano l'impegno a partecipare insieme ad altri soggetti interessati, ai bandi del Piano di Sviluppo Rurale 2014-2020 che possano avere attinenza con il prosieguo dello studio di adattabilità del noce alle pianure umbre.

6.b) Gestione amministrativa e rendicontazione (Dr. Emanuela Schiaffella, Responsabile amministrativo a carico del progetto, Allegato 6)

Le attività svolte in quest'ambito sono così riassunte:

- Briefings iniziale e periodici con il coordinatore scientifico e raccolta documentale utile ai fini amministrativi
- Incontri con la referente della Regione Umbria per la rendicontazione del progetto, dott.ssa Ivana Stella, per chiarimenti in merito alle regole e modulistica del PSR
- Analisi e revisione del budget di pertinenza di ogni singolo partner, sulla base delle indicazioni contenute nel decreto dirigenziale regionale di approvazione D.D. 9726 del 25/11/2014
- Predisposizione modello di rendiconto coerentemente con le voci di spesa previste nel piano finanziario approvato
- Realizzazione di Linee Guida e modellistica di rendicontazione inviate ai partners per facilitare la tracciabilità delle attività e dei documenti contabili ed amministrativi
- Supporto nel procedimento di ricerca di professionalità esterne
- Realizzazione di un format inviato ai partners ed agli esperti per il monitoraggio delle attività svolte
- Supporto ai partner nella stesura del rendiconto finale, attraverso visite in loco e briefing telefonici
- Redazione del rendiconto finale del progetto, con annessa documentazione

5. CRONOGRAMMA ATTIVITA' SVOLTE

Unità Operativa	Attività ed azioni	Cronogramma										
		Mesi di progetto										
		1 (sett/ott)	2 (dic/gen)	3 (gen/feb)	4 (mar/apr)	5 (apr/mag)	6 (mag/giu)	7 (giu/lug)	8 (lug/ago)	9 (ago/set)	10 (set/ott)	11* (ott/nov)
UmbraFlor	1	Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale										
UmbraFlor FIA-PG	2	Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni e per la messa a dimora delle piante.										
UmbraFlor FIA-PG	3	Pratiche culturali e gestione degli impianti										
CNR-IBAF	4	Analisi genetiche di varietà/cultivar commerciali di noce da frutto e di individui selezionati										
	4.a	Campionamento di foglie sulle piante destinate all'allestimento delle due piantagioni										
	4.b	Test genetici per differenziare le cultivar e verifica identità clonale delle piante usate per le due piantagioni										
	4.c	Rilevamento dei caratteri morfologici delle piante nei due siti di impianto										
	4.d	Preparazione inoculo e infezione artificiale con conidi di <i>Gnomonia leptostyla</i> degli individui di ciascuna cultivar e dei genotipi nei due siti di impianto										
	4.e	osservazione/verifica dell'attecchimento della malattia sulle diverse piante nei due siti di impianto										
	4.f	Confronto e campionamento genotipi sensibili e controlli (cloni delle medesime cultivar/genotipi presenti negli impianti non infettate);										
	4.g	Test genetici NBS profiling per lo screening di marcatori correlati alla malattia (antracnosi)										
Parco 3 A	5	Divulgazione risultati e attività dimostrative										
CNR-IBAF	6	Attività di gestione del partenariato, amministrativa e di rendicontazione										
	6.a	Coordinamento e gestione del partenariato										
	6.b	Gestione amministrativa e rendicontazione										

6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Il Progetto Pro.No.s.t.i.c.o. in Umbria nello spazio temporale di 11 mesi, pur breve se riferito ad una specie agroforestale a lungo ciclo vitale come la *Juglans regia*, ha raggiunto gli obiettivi prefissati. In particolare sono stati:

- ✓ realizzati due impianti comparativi (diversi metodi di gestione) in due valli Umbre presso istituzioni pubbliche che sono perciò a disposizione per gli agricoltori;
- ✓ ottenuti dati preliminari sulla relazione tra accrescimenti e tipo di materiale vivaistico;
- ✓ il materiale vivaistico è stato caratterizzato con marcatori molecolari per il controllo dell'identità varietale e clonale;
- ✓ è stato ottenuto un data-base preliminare di marcatori molecolari funzionali sulle varietà di noce che serviranno per ulteriori indagini tese alla caratterizzazione precoce di materiale vivaistico tollerante/sensibile a stress biotici;
- ✓ valutazioni preliminari hanno segnalato le Cv. Midland, Tulare e Serr come potenzialmente più tolleranti all'antracnosi.

Tali risultati hanno applicazione pratica di grande rilevanza.

Infatti, i due campi sperimentali sono a disposizione degli stakeholder per le verifiche in loco della evoluzione degli impianti nelle valli umbre e per verificare le migliori pratiche di gestione; i test forniscono indicazioni per la scelta delle piante in vivaio e loro comportamento in campo, sicurezza di acquisto del materiale vivaistico per gli stakeholder, nonché sicurezza dell'uso di tale materiale per vivaisti (impedire frodi e furti di piante brevettate). Inoltre il team d'esperti partecipanti al progetto si sono resi disponibili per soddisfare le domande degli imprenditori agricoli anche per il futuro.

Quanto ottenuto, tuttavia, deve essere approfondito e continuato per evitare che le spese, gli sforzi e i risultati raggiunti diventino vani. Inoltre vi sono molti altri aspetti che devono essere affrontati per promuovere una nocicoltura sostenibile nelle valli umbre.

Ad esempio, le azioni da sviluppare in un auspicabile Pronostico II sono:

- ✓ Caratterizzare le piante madri da cui sono prelevate le marze da innestare dal punto di vista genetico, morfologico e fenologico;
- ✓ stabilire i migliori impollinatori (10% almeno da mettere negli impianti), con fioritura maschile sovrapposta a quella femminile delle varietà prescelte, per aumentare l'allegagione e, di conseguenza, la quantità di frutti prodotti nonché la pezzatura.
- ✓ Studiare i migliori portainnesti intraspecifici per le varietà da utilizzare nelle valli umbre;
- ✓ Studiare, diverse malattie/patogeni che possono colpire il noce da frutto nelle valli umbre (es. : Marciume colletto o mal dell'inchiostro (*Phytophthora* spp.); Marciume radicale (*Armillaria mellea*); Macchie nere sui frutti (batteriosi, *Xantomonas juglandis*); Macchie

nere sulle foglie (antracnosi, *Gnomonia leptostyla*); Verme delle noci (*Cidya pomonella*); Mosca del noce (*Rhagoletis completa*), ecc.

- ✓ Monitorare il clima (invernale e estivo) delle valli umbre vocate per la nocicoltura da frutto (il noce teme le gelate tardive e la siccità);
- ✓ Analizzare i suoli e le loro componenti (nutrienti, tessitura, drenaggio);
- ✓ Stabilire le più appropriate tecniche di gestione dei noceti che devono essere razionali, tempestive e meccanizzabili;
- ✓ Individuare la forma di allevamento più idonea per una precoce entrata in produzione (attraverso diverse tecniche di potatura: ogni pianta è un individuo che va trattato singolarmente a seconda della sua architettura dovuta in parte al genotipo, in parte alle condizioni in campo);
- ✓ Creare consorzi della noce in Umbria per ammortizzare il costo delle tecniche colturali e la raccolta meccanizzata;
- ✓ Creare infrastrutture di raccolta per la essiccazione e lavorazione dei frutti di noce in Umbria;
- ✓ Stabilire una politica adeguata per sviluppare la produzione e il marketing del prodotto anche mediante eventuale coinvolgimento di organizzazioni internazionali quali. INC (International Nut and Dried Fruit Council Foundation), NUCIS Italia, ecc.
- ✓ allestire due nuovi impianti di noce da frutto (*Juglans regia*) per sperimentare con opportuni gesti e gestioni la possibilità di consociare noce e nocciolo (*Corilus avellana*).

In conclusione, il progetto Pro.No.s.t.i.c.o. va considerato come una pietra miliare importante, ma non esaustiva, per promuovere un modello teso a diversificare le colture ed affrontare meglio le sfide del mercato nel rispetto ambientale e della qualità del prodotto, nella regione UMBRIA

Dott.ssa Maria Emilia Malvolti

(Ricercatore CNR-IBAF)

Responsabile scientifico Progetto

PRONOSTICO in Umbria

Dott. Angelo Massacci

Direttore Istituto CNR-IBAF,

Legale rappresentante incaricato

CNR, Istituto di Biologia

Agroambientale e Forestale,

Capofila aggregazione "Pronostico"

ALLEGATI



RELAZIONE ATTIVITA' SVOLTA PER IL PROGETTO PRONOSTICO

PREMESSA:

Con avviso n. 8/2015/TR del 27 marzo 2015 l'Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale IBAF di Porano (TR) intendeva affidare un incarico di collaborazione professionale per la realizzazione in Umbria di n. 2 impianti sperimentali intensivi di noce da frutto. L'incarico prevedeva la valutazione dell'adattamento delle principali cultivar e di alcuni genotipi agli ambienti tipici delle valli umbre, come previsto nell'ambito del progetto "*La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui coltivati (Pro.No.s.t.i.co. in Umbria)*".

Il sottoscritto, Agr. Moreno Moraldi, partecipava alla selezione con la propria candidatura ed otteneva il conferimento dell'incarico dopo il controllo preventivo di legittimità da parte della Corte dei Conti, ai sensi dell'art. 3, comma 1, lettera f bis della legge 14 gennaio 1994, n. 20.

ATTIVITA' SVOLTE:

L'attività per il progetto in argomento, svolta dall'Agr. Moreno Moraldi in stretto raccordo e collaborazione con il responsabile scientifico del Progetto e con gli altri partner, ha riguardato, nella fase iniziale, la localizzazione e l'individuazione delle aree di impianto più adatte (Azione 2), cui ha fatto seguito la predisposizione degli schemi di impianto a blocchi randomizzati (Allegato 1). A seguito di alcuni sopralluoghi in campo sono stati individuati gli appezzamenti di terreno più adatti alla coltivazione del noce. Per l'impianto "A" di Casalina è stata scelta un'area posta a ridosso della sponda destra del fiume Tevere, costituita, per metà della sua estensione, da sedimenti di antiche esondazioni e, per la restante parte, da terreni di più antica formazione caratterizzati da una minore presenza di sabbia. Per l'impianto "B", tra i terreni nelle disponibilità di UmbraFlor, la scelta è ricaduta su un'area in località Feccioli del comune di Spello, distante poche centinaia di metri dalla sponda destra del Fiume Topino. Trattasi di un terreno con buona fertilità, tendenzialmente argilloso, ma con buona dotazione di limo.

Il sottoscritto, oltre a partecipare ai vari incontri tra i partner, organizzati per decidere tempi e modi di svolgimento del progetto, ha collaborato alla individuazione delle varie cultivar adatte alle valli dell'Umbria, focalizzando l'attenzione soprattutto su piante a fruttificazione laterale. Queste sono infatti capaci di garantire, almeno a parità di qualità, una produzione quantitativa ben superiore rispetto alle cultivar tradizionali (Azione 1). Ne ha seguito poi la selezione, l'etichettatura ed il campionamento (Azione 4.a) presso il vivaio UMBRAFLORE di Spello PG (Partner 2) che ha curato anche l'approvvigionamento dei genotipi necessari. Dopo il trasporto del materiale d'impianto sui luoghi previsti per la messa a dimora, il sottoscritto ha guidato il posizionamento delle varie piante all'interno delle parcelle sperimentali (Azione 2), nel rispetto degli schemi precedentemente predisposti, provvedendo poi ad una prima restituzione grafica, su ortofotocarta, della dislocazione randomizzata dei diversi genotipi (per Casalina: allegato 2; per Feccioli: allegato 3).



Agr. Moreno MORALDI

Nelle fasi successive il sottoscritto ha partecipato ai vari interventi operativi in campo effettuati dai diversi partner del progetto, nonché alle operazioni di inoculo artificiale con patogeni per saggiare la risposta delle diverse cultivar e genotipi. Nelle settimane successive ha effettuato autonomamente i rilievi sulle piante testate al fine di valutare la suscettibilità di ciascun soggetto alle fitopatie (Azione 4e). I risultati delle due prove sono stati elaborati e riuniti in un unico diagramma che viene accluso (allegato n. 4).

I rilievi sono stati eseguiti valutando complessivamente le fitopatie presenti sulla chioma, in base ad una scala basata su tre livelli di intensità delle patologie riscontrate:

- 0 = assente;
- 1 = modesta;
- 2 = rilevante.

Oltre allo stato sanitario, per una più completa valutazione delle cultivar e dei genotipi posti a dimora nei due campi sperimentali di Casalina e di Feccioli, sono state rilevate anche le altezze di tutte le 200 piante, con misurazioni prese in tre diversi momenti (Azione 4c):

- a) Altezza totale degli astoni allevati in vaso, misurati nello stato di riposo vegetativo, prima della loro messa a dimora;
- b) Allungamento del germoglio apicale dalla ripresa vegetativa fino al 8 luglio 2015;
- c) Allungamento del germoglio apicale nei 3 mesi decorrenti dall'8 luglio 2015 all'8 ottobre 2015.

Quest'ultima data corrisponde praticamente alla conclusione della fase di accrescimento, prima del riposo vegetativo autunnale. Tenendo conto che le misure sono state rilevate su piante ripetute in blocchi randomizzati, i dati finali sono stati espressi come media tra gli accrescimenti di tutti i componenti di ciascun genotipo e di ciascuna cultivar. I risultati numerici e grafici sono allegati alla presente relazione (Allegato n. 5 per Casalina ed allegato n. 6 per Feccioli), oltre a vari diagrammi (allegati 7 e 8) che ne evidenziano, in modo sinottico, la conclusione. Di seguito si riportano alcune precisazioni per una corretta valutazione dei dati.

Le piante che inizialmente avevano le altezze maggiori sono state quelle che hanno mostrato minori accrescimenti successivi. Per spiegare quella che potrebbe sembrare una incongruenza, si deve tener conto che tutto il materiale vivaistico riferito ai genotipi (ANS e BAT) era vissuto per 2 anni sul medesimo contenitore, con un apparato radicale che aveva già occupato tutto lo spazio e sfruttato tutto il terriccio a disposizione. Si trattava pertanto di piante con minor propensione all'affrancamento sul nuovo sito di impianto e conseguente minor capacità di nutrizione alla ripresa vegetativa.

Identica considerazione, anche se si trattava di piante più giovani, deve essere fatta per tutto il restante materiale vivaistico riferito alle 10 diverse cultivar. Infatti, alle piante più sviluppate in altezza, corrispondeva sempre un apparato radicale che aveva maggiormente sfruttato il pane di terra a disposizione, pertanto meno pronto per consentire una rapida germogliazione primaverile.



Agr. Moreno MORALDI

Nell'impianto di Casalina gli accrescimenti sono stati ben superiori rispetto a quelli osservati a Feccioli. Le massime performance di Casalina hanno registrato nuovi accrescimenti, in percentuale sull'altezza iniziale, di oltre il 280%, mentre nell'impianto di Feccioli il miglior risultato è stato del 111%. Per giustificare una tale differenza è necessario sottolineare due aspetti importanti: nel campo "B" di Casalina la piantagione è avvenuta il 23 marzo 2015, mentre nel campo "B" di Feccioli è avvenuta quasi un mese più tardi ed esattamente il 17 e 18 aprile 2015.

L'anticipo sulla messa a dimora ha sicuramente consentito alle piante di sviluppare prima il proprio apparato radicale sul nuovo sito e quindi di disporre di maggiori risorse per lo sviluppo della parte aerea. Deve essere anche annotato che l'impianto sperimentale di Casalina ha avuto una più costante e più rilevante sequenza di irrigazioni alle quali si sono aggiunte ripetute lavorazioni superficiali del suolo con continua eliminazione delle malerbe.

Riguardo gli accrescimenti rilevati nel campo sperimentale di Casalina, valutando i singoli soggetti delle diverse cultivar, si è notato un maggior accrescimento di tutte le piante radicate nella parte di terreno vicina al fiume Tevere rispetto a quelle piantate nella restante zona. Tale porzione di terreno era già stata indicata, in precedenza, come più adatta al noce in quanto formata da sedimenti di antiche esondazioni del fiume ed a più basso contenuto di argilla.

A conclusione si può sicuramente affermare che le prove del progetto Pro.no.s.t.i.co., pur nella loro breve durata, hanno confermato quanto già constatato sugli impianti specializzati di noce in altre parti del mondo come la California: il noce da frutto riesce ad esprimere al meglio le proprie capacità di accrescimento e produttive negli ambienti caratterizzati da terreni profondi, sciolti e ben drenati, dove esistono le condizioni e la disponibilità di acqua sufficiente per irrigazioni regolari e copiose.

Durante tutto il periodo estivo il sottoscritto ha controllato le parcelle sperimentali per valutare la necessità di eventuali interventi colturali (irrigazioni, sarchiature, eliminazione delle malerbe, ecc.) segnalando le cure ritenute più appropriate direttamente alle aziende partecipanti al progetto, titolari dell'incarico di eseguirle (Azione 3). Nel contempo è stata acquisita una vasta documentazione fotografica delle più importanti operazioni eseguite sugli impianti, quale utile testimonianza dei vari momenti che hanno portato al termine del progetto. Tale documentazione è stata raccolta in un DVD inserito negli atti conclusivi, mentre alcune foto rappresentative delle parcelle sperimentali sono state allegate a questa relazione finale (All.: n. 9).

In fede.
Moreno Moraldi

Spello, 12 ottobre 2015.

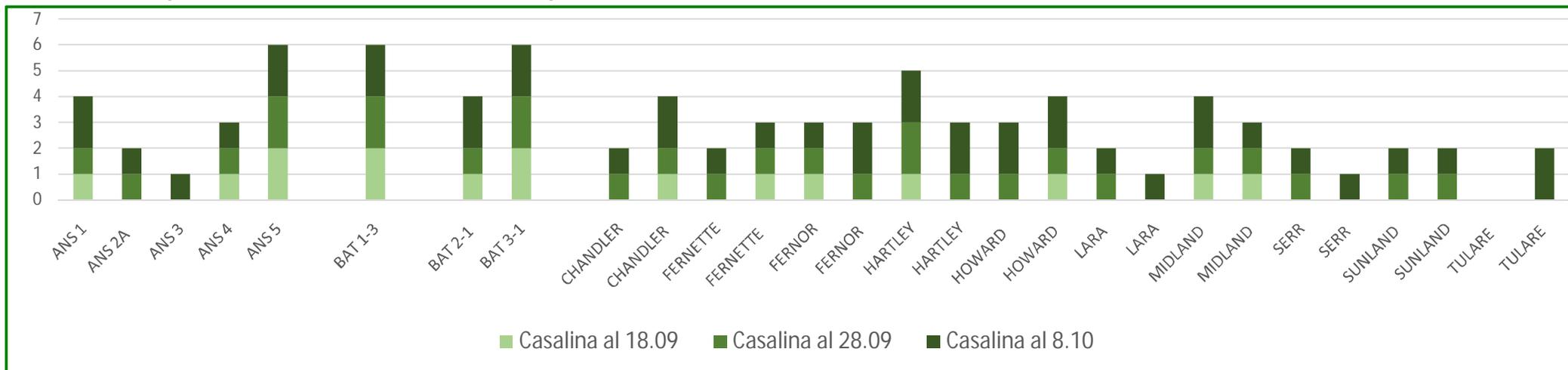
PROGETTO PRONOSTICO – SCHEMA DISPOSIZIONE PIANTE (ALLEGATO AD ORTOFOTOCARTA 1:2000)

FOSSO

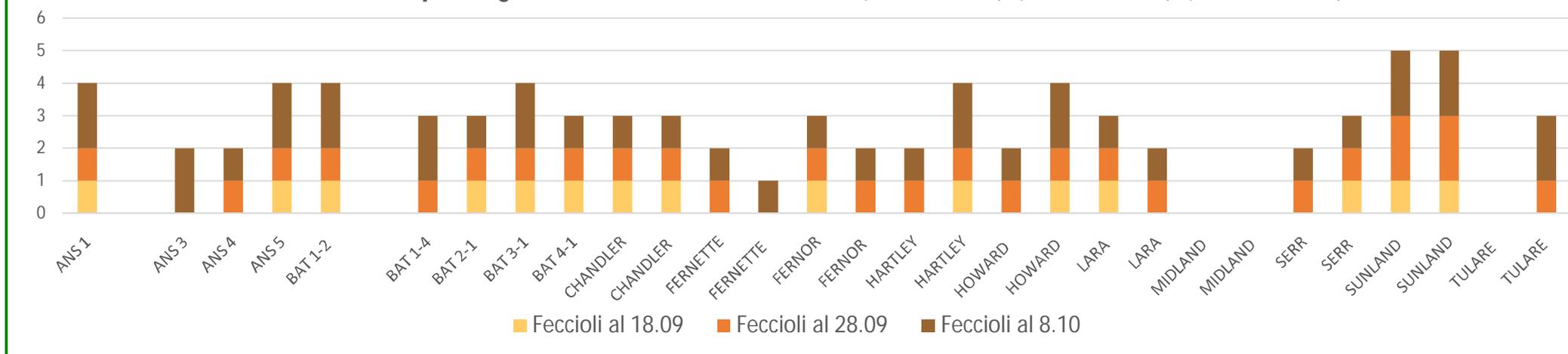


STRADA INTERPODERALE

Allegato n. 4 - Confronto livelli patologie in 3 diverse date - Impianto "A" di Casalina (verde) e "B" di Feccioli (marrone)



Pronostico - Rilievi patologie con 3 livelli di valutazione: (0 = assente) (1 = modesta) (2 = rilevante)



Allegato n. 5 - Progetto pronostico - Impianto "A" di Casalina - Rilievi delle altezze in 3 diversi stadi vegetativi

ALTEZZE VECCHIA VEGETAZIONE NOCI CASALINA

NUOVI ACCRESCIMENTI AL 8 LUGLIO 2015 - CASALINA

ACCRESCIMENTI COMPLESSIVI AL 8 OTTOBRE 2015 - CASALINA

Appezz.	7	4	1	8	5	2	9	6	3	10	MEDIA
ANS		98	111			116		86	103		102,80
BAT	42			100	51		72			45	62,00
CHANDLER	19	28	17	13	24	15	14	30	24		20,44
FERNETTE	23	22	21	35		34	28	27	24	28	26,89
FERNOR	31	44	34	31	34	30		36	30		33,75
HARTLEY	30		21	35	39	37	35	25	34	23	31,00
HOWARD	27	46	24		24	31	28	28	27	27	29,11
LARA	26	33	35	37	39	28	37	35		27	33,00
MIDLAND		26	30	37	20	26	27	34	34	25	28,78
SERR	20	23	18	14	33		24	25	28	24	23,22
SUNLAND	44	43	99	81	65	93	93		52	48	68,67
TULARE	84	65		69	47	52	60	66	59	54	61,78

Appezz.	7	4	1	8	5	2	9	6	3	10	MEDIA	
ANS			12	4			2		7	4	5,80	
BAT	15				6	9			9		60	19,80
CHANDLER	16	39	28	22	58	69	35	36	56		39,89	
FERNETTE	23	41	14	7		36	35	19	41	29	27,22	
FERNOR	6	17	18	43	36	56		19	77		34,00	
HARTLEY	49		47	23	28	72	27	32	40	3	35,67	
HOWARD	31	4	26		32	52	27	24	28		28,00	
LARA	38	13	15	12	27	42	28	23		61	28,78	
MIDLAND			32	48	18	42	43	37	54	38	19	36,78
SERR	41	26	41	41	45	40		33	57	43	40,78	
SUNLAND	28	36	14	22	46	11	19		38	36	27,78	
TULARE	26	16		28	41	16	34	37	6	10	23,78	

												MEDIA
ANS	106	137	133	102	66							108,80
BAT							54	104		82	120	90,00
CHANDLER	49	62	38	61	95	112	104	58	125			78,22
FERNETTE	32	61	29	32		70	71	46	76	72		54,33
FERNOR	79	72	50	83	67	122		70	123			83,25
HARTLEY	79		105	58	65	121	76	106	93	31		81,56
HOWARD	76	51	48		67	79	56	33		154		70,50
LARA	70	45	39	51	71	66	65	83		118		67,56
MIDLAND			97	80	90	116	122	96	175	91	88	106,11
SERR	57	59	67	54	102		88	132	71	161		87,89
SUNLAND	67	83	113	101	134	105	136		83	105		103,00
TULARE	110	124		91	130	62	110	120	83	98		103,11

Allegato n. 6 - Progetto pronostico - Impianto "B" di Feccioli - Rilievi delle altezze in 3 diversi stadi vegetativi

ALTEZZE AL MOMENTO DELLA PIANTAGIONE

ACCRESCIMENTI ALL'8 LUGLIO 2015

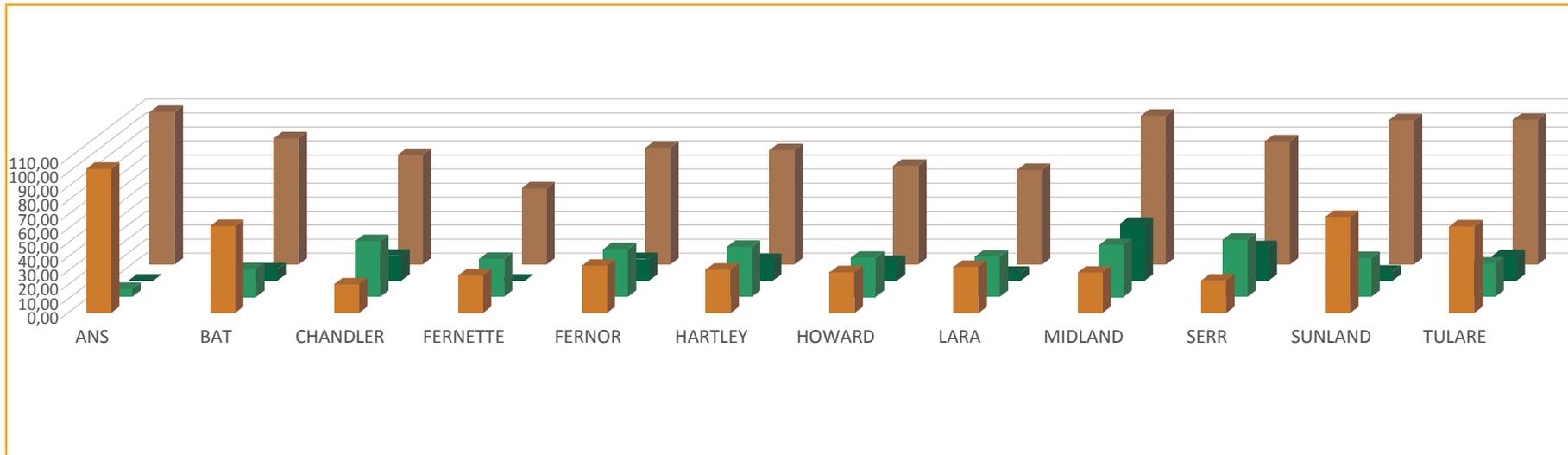
ALTEZZA TOTALE ALL'8 OTTOBRE 2015

												<i>MEDIA</i>
ANS	123	132	92	99	98							108,80
BAT						84	79	36	84	77		72,00
CHANDLER	27	29	32	28	28	35	28	30	32			29,89
FERNETTE	32	27	31	31	31	35	35	37	39			33,11
FERNOR	27	34	35	39	23	31	34	33	28			31,56
HARTLEY	34	37	41	32	37	35	34	40	32			35,78
HOWARD	32	50	37	37	30	35	32	39	39			36,78
LARA	27	40	30	27	37	38	27	25	32			31,44
MIDLAND	25	32	37	34	18	37	30	36	89			37,56
SERR	30	52	22	28	29	22	42	22	34			31,22
SUNLAND	87	100	98	70	70	78	55	66	71			77,22
TULARE	45	60	41	68	41	32	30	50	32			44,33

													<i>MEDIA</i>
ANS	1	2	3	6	2								2,80
BAT								5	3	10	3	6	5,40
CHANDLER	31	7	32	9	29	19	9	11	33				20,00
FERNETTE	31	26	15	6	21	6	12	2	4				13,67
FERNOR	39	19	23	11	47	22	12	43	39				28,33
HARTLEY	24	14	2	68	26	36	41	8	46				29,44
HOWARD	9	14	20	6	21	10	8	6	35				14,33
LARA	26	27	42	3	7	12	9	9	8				15,89
MIDLAND	8	8	0	9	7	32	28	10	40				15,78
SERR	37	11	44	41	32	25	1	23	25				26,56
SUNLAND	24	5	19	8	8	27	11	5	33				15,56
TULARE	41	25	20	11	12	14	14	6	26				18,78

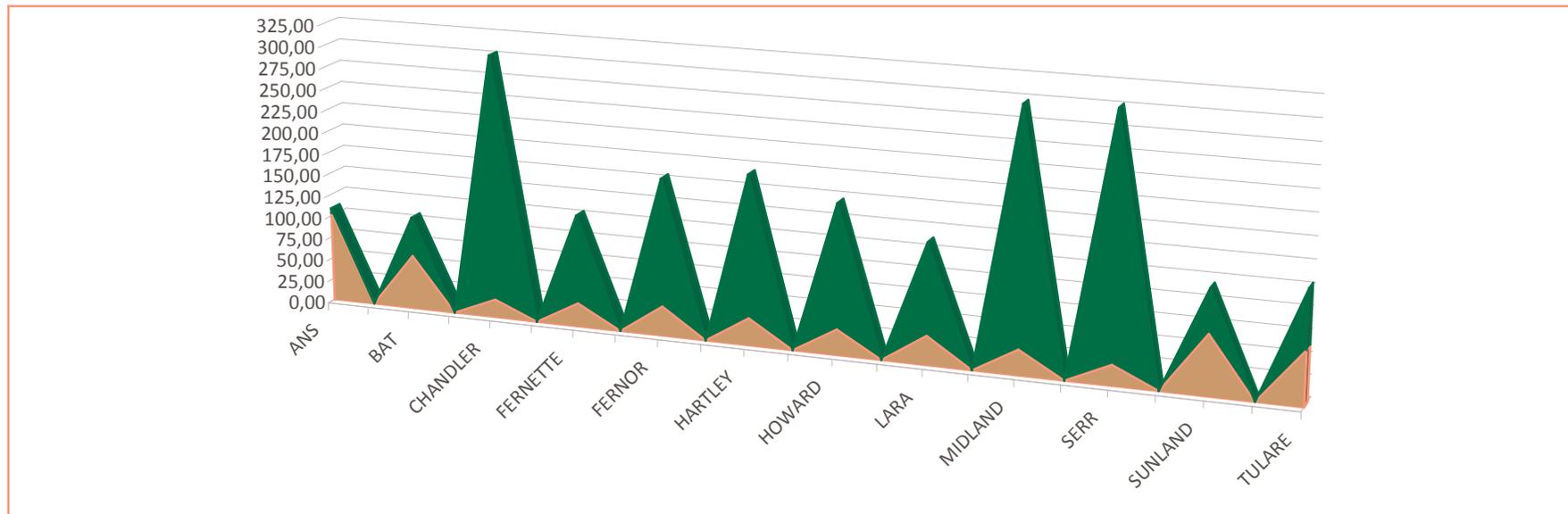
														<i>MEDIA</i>
ANS	122	132	98	100	106									111,60
BAT								85	82	73	88	80		81,60
CHANDLER	58	39	65	42	66	44	105	46	75					60,00
FERNETTE	74	52	63	36	46	72	66	42	64					57,22
FERNOR	50	53	59	51	76	67	49	72	63					60,00
HARTLEY	54	53	71	105	78	56	84	42	69					68,00
HOWARD	39	56	65	70	40	50	112	53	74					62,11
LARA	54	62	70	80	66	58	38	44	56					58,67
MIDLAND	32	33	59	44	30	72	83	48	127					58,67
SERR	75	75	62	99	73	55	52	41	62					66,00
SUNLAND	109	100	112	75	76	100	96	70	100					93,11
TULARE	84	92	75	80	111	91	48	56	63					77,78

All. n. 7 Progetto Pronostico - Riepilogo accrescimenti impianto "A" Casalina



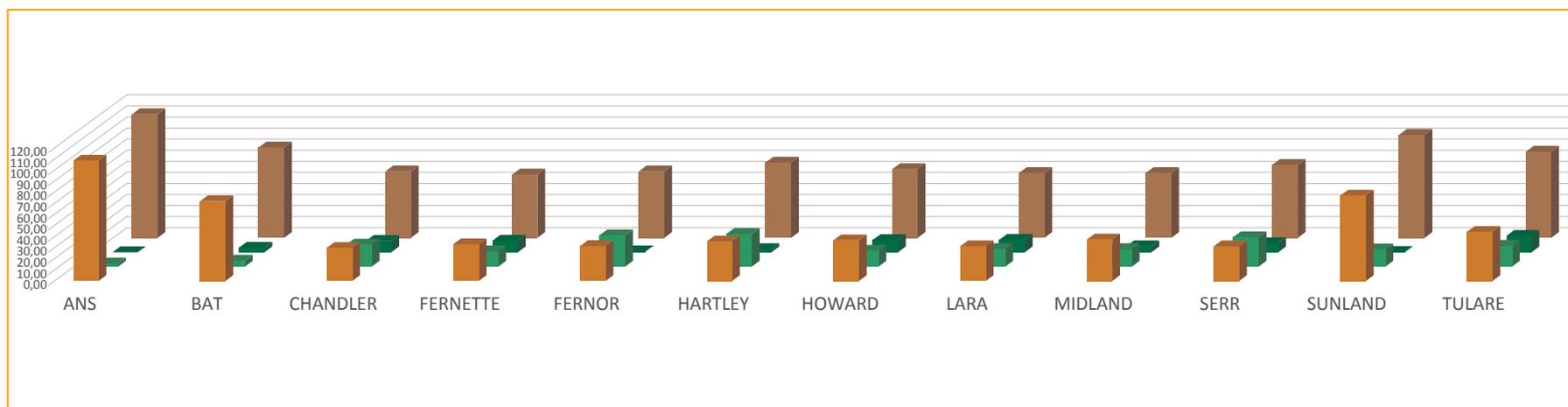
■ Media altezze all'impianto
 ■ Media nuovi accrescimenti all'8 luglio 2015
 ■ Media accrescimenti 8 luglio/8 ottobre 2015
 ■ Media altezza totale all'8 ottobre 2015

Impianto "A" Casalina - Rapporto in % tra altezze iniziali e finali



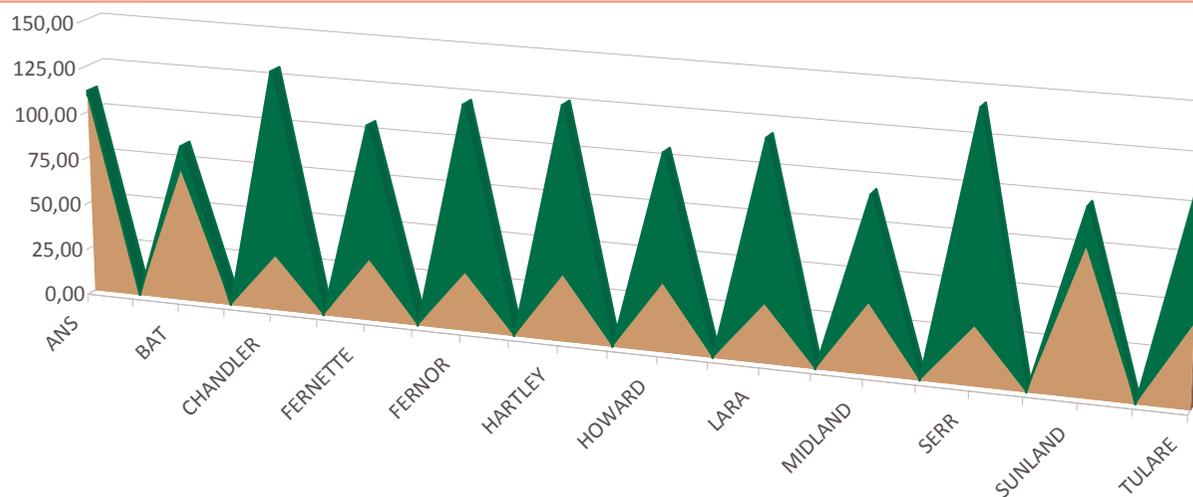
■ Media altezze all'impianto in cm
 ■ Media accrescimento 2015 in % su altezze iniziali

All. n. 8 - Progetto Pronostico - Riepilogo accrescimenti impianto "B" Feccioli - Spello



- Media altezze all'impianto
- Media nuovi accrescimenti all'8 luglio 2015
- Media accrescimenti luglio/ottobre 2015
- Media altezze totali all'8 ottobre 2015

Impianto "B" Feccioli - Rapporto % tra altezze iniziali e finali



- Media altezze all'impianto in cm
- Media accrescimento 2015 in % su altezze iniziali

RELAZIONE DELLE ATTIVITA' UMBRAFLOR PROGETTO PRONOSTICO

AZIONE I

Preparazione del materiale

Le azioni previste da progetto per l'azienda Umbraflor hanno riguardato la predisposizione del materiale di impianto destinato ai due appezzamenti di prova: il campo di Feccioli relativamente ad Umbraflor ed il terreno dell'azienda Tenta di Casalina dell'Università degli studi di Perugia (fac. Agraria).

Tutte le piante sono allevate in vaso 9x9 cm ed innestate. Ciascuna cultivar è stata identificata con una combinazione di colori ed identificata con l'apposizione di collarini colorati e con il nome della cultivar. (foto).



Azione II

Preparazione dei terreni

Il terreno prescelto per la piantumazione è situato nell'area aziendale denominata "Feccioli". La superficie di circa 1 ha. è stata sottoposta alle classiche lavorazioni preparatorie:

- Aratura profonda effettuata con aratro monovomere alla profondità di 70 cm (operazione effettuata dal contoterzista Benedetti) nel periodo dicembre '14 - gennaio '15; l'intervento è stato effettuato in due tempi in seguito alle frequenti piogge che hanno caratterizzato la stagione e che hanno provocato l'interruzione delle operazioni di campagna.
- Gli eventi meteorici ci hanno anche indotto ad annullare la pur prevista concimazione di fondo che avrebbe ritardato ulteriormente le operazioni preparatorie. Abbiamo altresì considerato che i terreni erano stati coltivati fino alla stagione 2014 e che le colture annuali che si sono alternate hanno rispettato la buona prassi agronomica sia con l'alternanza di colture depauperantie e da rinnovo sia soprattutto con ampie rotazioni in cui sono state sempre incluse specie leguminose. Abbiamo quindi ritenuto sufficiente la dotazione minerale di base ed abbiamo previsto adeguate concimazioni di copertura a partire dal secondo anno di impianto.
- Di seguito abbiamo effettuato un passaggio di erpice per anticipare la frammentazione delle zolle in quanto il periodo di intervallo con la piantumazione non avrebbe dato tempo agli agenti atmosferici invernali di esplicare tutto il loro effetto. Anche per questa operazione ci siamo rivolti al contoterzista Benedetti.
- Un passaggio di erpice rotante qualche settimana prima dell'impianto ha completato il livellamento del terreno.

Squadro e picchettamento

Le operazioni di squadro sono state effettuate dal Dr. F. Funaro. La giacitura pianeggiante del terreno ha consentito uno snello svolgimento delle operazioni, che si son concluse nei tempi previsti.



Impianto

Le operazioni di impianto sono state effettuate da nostro personale. Le varietà sono state posizionate nel terreno secondo lo schema suggerito dai tecnici del CNR (capofila).

Si allegano di seguito alcune foto esplicative degli interventi:



schema di impianto:

SESTO DI IMPIANTO 9x9											
OGNI BLOCCO DISTANZIATO DI ALTRI 9 mt.											
Distanza dal Fosso di Confine 10 mt.											
Distanza dalla Strada di Confine 63 mt.											
STRADA											
FILA 4	BLOCCO	COD.	FILA 3	BLOCCO	COD.	FILA 2	BLOCCO	COD.	FILA 1	BLOCCO	COD.
SERR	2B	6B	MIDLAND	2A	1B	FERNETTE	1B	3B	TULARE	1A	9B
TULARE	2B	5B	SERR	2A	5B	HARTLEY	1B	6B	FERNOR	1A	1B
FERNETTE	2B	5B	CHANDLER	2A	9B	BAT.	1B	4-1-B	BAT.	1A	3-1-B
HARTLEY	2B	2B	FERNOR	2A	2B	LARA	1B	6B	HOWARD	1A	4B
BAT.	2B	2-1-B	BAT.	2A	1-4-BB	SERR	1B	3B	MIDLAND	1A	4B
MIDLAND	4B	8B	LARA	4A	3B	TULARE	3B	2B	SUNLAND	3A	7B
LARA	4B	2B	HOWARD	4A	9B	FERNETTE	3B	9B	CHANDLER	3A	6B
SERR	4B	9B	MIDLAND	4A	6B	HARTLEY	3B	1B	FERNOR	3A	7B
TULARE	4B	8B	SUNLAND	4A	6B	CHANDLER	3B	4B	TULARE	3A	1B
FERNETTE	4B	6B	CHANDLER	4A	3B	LARA	3B	5B	HOWARD	3A	2B
FERNETTE	6B	1B	CHANDLER	6A	5B	HARTLEY	5B	3B	FERNETTE	5A	4B
HARTLEY	6B	5B	FERNOR	6A	4B	HOWARD	5B	8B	SERR	5A	4B
BAT.	6B	1-2-B	ANS.	6A	4B	LARA	5B	1B	FERNOR	5A	8B
LARA	6B	7B	HOWARD	6A	6B	SERR	5B	7B	MIDLAND	5A	2B
SERR	6B	2B	MIDLAND	6A	3B	TULARE	5B	6B	SUNLAND	5A	4B
SERR	8B	8B	LARA	8A	8B	TULARE	7B	3B	SUNLAND	7A	5B
TULARE	8B	7B	SUNLAND	8A	3B	FERNETTE	7B	7B	CHANDLER	7A	8B
FERNETTE	8B	8B	CHANDLER	8A	2B	HARTLEY	7B	8B	FERNOR	7A	6B
HARTLEY	8B	9B	FERNOR	8A	5B	ANS.	7B	5B	ANS.	7A	1B
ANS.	8B	1B	ANS.	8A	2B	LARA	7B	9B	HOWARD	7A	5B
HARTLEY	10B	7B	FERNOR	10A	9B	HARTLEY	9B	4B	FERNOR	9A	3B
SUNLAND	10B	2B	FERNETTE	10A	2B	HOWARD	9B	3B	HOWARD	9A	7B
LARA	10B	4B	HOWARD	10A	1B	MIDLAND	9B	9B	MIDLAND	9A	7B
SERR	10B	1B	MIDLAND	10A	5B	SUNLAND	9B	9B	SUNLAND	9A	1B
TULARE	10B	4B	SUNLAND	10A	8B	CHANDLER	9B	1B	CHANDLER	9A	7B

FOSSO



veduta cartografica dell'area di impianto

Infine sono stati posizionati i tutori e predisposte le conche per l'irrigazione



Azione III

Controllo fitosanitario

I controlli fitosanitari del materiale sono stati ripetuti più volte dai tecnici aziendali (profilo prof.le I liv. CCNL-Pg).

In un caso soltanto, in accordo a quanto rilevato anche dal supervisore tecnico Sig. M. Moraldi, è stato effettuato un intervento a base di prodotti rameici dopo che era stato segnalato in una pianta un sintomo patologico di modesta entità, ma che per scrupolo è stato comunque trattato.

Gli altri controlli si sono eseguiti come previsto a progetto.

Rendiconto progetto

Le operazioni di rendiconto sono avvenute nei tempi previsti dal progetto secondo le indicazioni e la tempistica dettata dal capofila.

Spello 27/10/2015



FONDAZIONE PER L'ISTRUZIONE AGRARIA IN PERUGIA

R. D. 21 GENNAIO 1892, N. XXII

Borgo XX Giugno, 74 – 06121 Perugia tel 075 33 753 - fax 075 33 751
email: info@fondazioneistruzioneegraria.it - pec: fiapg@pec.it
internet: www.fondazioneistruzioneegraria.it

Perugia, li

N. di Prot.

Tit. Cat. Art. Pos.

Allegati N.

PRONOSTICO

Relazione al Progetto Mis. 124 PSR dell'Umbria 2007/2013

“La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui”

La Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia in collaborazione con la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Perugia, svolge attività di promozione della ricerca scientifica e di elaborazione della conoscenza scientifica nel settore della conduzione delle aziende agrarie.

Nel marzo 2015 la Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia ha realizzato, nella tenuta di Casalina, insieme al Parco Tecnologico di Pantalla, al CNR-IBAF Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale di Porano e ad UmbraFlor Azienda Vivaistica Regionale, un impianto comparativo sperimentale di noce da frutto. Tale progetto, realizzato nell'ambito del P.S.R. Umbria 2007/2013 Misura 1.2.4., ha previsto l'allestimento di circa un ettaro di noceto con diverse varietà. L'impianto sperimentale è stato realizzato allestendo 10 blocchi randomizzati con sesto di impianto di metri 9 x 9 e per una superficie complessiva di mq 10.000.

Il terreno destinato all'impianto comparativo di noce da frutto è di proprietà della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia, catastalmente è individuabile al N.C.T. del Comune di Marsciano, al foglio 70 particella 11 località Casalina, vocabolo Casa VIII.

Si tratta di un appezzamento di terreno compreso tra la strada vicinale dello stradone ed il fiume Tevere. La scelta del terreno sul quale realizzare l'impianto è stata effettuata tenendo conto delle esigenze sperimentali del progetto. Pertanto il terreno individuato doveva avere come caratteristica essenziale la rappresentatività di condizioni pedologiche e climatiche che caratterizzano i terreni della media valle del Tevere. Il terreno è classificabile di medio impasto con buona dotazione di fosforo e potassio.

Preparazione del terreno

Il terreno destinato all'impianto ha ospitato nell'anno precedente una coltura di Mais pertanto prima della lavorazione del terreno si è reso necessario la trinciatura dei residui colturali.

Nel novembre 2014 si è proceduto alla lavorazione del terreno che ha previsto un passaggio in croce con ripper a tre ancore dritte e profondità di circa cm 90.

E' stata quindi effettuata concimazione di fondo apportando al terreno 400 kg di perfosfato triplo e 400 kg di solfato di potassio.

Alla concimazione è seguita l'aratura ad una profondità di circa 40 cm.

Durante la stagione invernale è stato necessario effettuare diverse estirpature al fine di eliminare le erbe infestanti nel frattempo nate ed ottenere una riduzione della zollosità.

Poco prima dello squadro sono stati effettuati lavori complementari come l'erpicoltura e fresatura, queste hanno integrato l'estirpatura, perfezionando l'amminutamento ed il pareggiamento del terreno per ottenere quello che si chiama un buon letto di piantamento.

Nel mese di marzo il terreno si presentava ben affinato e livellato, quindi pronto per eseguire le operazioni di impianto.

Squadro e picchettamento

Ultimate le operazioni preliminari all'impianto si è proceduto allo squadro ed al picchettamento.

Per l'esecuzione dello squadro, considerato la limitata superficie di impianto, è stato scelto il metodo tradizionale, basato sul Teorema di Pitagora, noto come metodo del 3,4,5, che prevede come strumento principale tre fettucce metriche con le quali si realizza un triangolo rettangolo con i lati di 30,40 e 50 m oltre ad alcune paline e canne di bambù.

Con lo squadro del terreno sono state individuati e picchettati i punti di impianto per la messa a dimora delle noci.

Impianto

Le piantine di noce sono state fornite dal Vivaio regionale Umbraflor.

Le piantine sono state fornite in vaso.

La messa a dimora è stata realizzata il 23 marzo 2015.

Per la messa a dimora sono state realizzate manualmente delle buche e quindi le piante sono state poste a dimora a poca profondità (solo 12-15 cm di terra sopra la radice).

Dopo aver eseguito la messa a dimora le piante sono state rincalzate con la zappa, addossando la terra al piede delle piantine.

Subito dopo l'impianto è stata eseguita una irrigazione.

Cure colturali

Sono state eseguite diversi passaggi con attrezzi idonei al rinettamento delle erbe infestanti.

Nei mesi estivi sempre con la zappa sono state realizzate delle conche vicino alle piante al fine di favorire una maggiore disponibilità di acqua. Visto l'annata

particolarmente siccitosa a causa delle elevate temperature, le operazioni agronomiche di fresatura e irrigazione hanno giocato un ruolo di fondamentale importanza per l'attecchimento delle piante. La frequenza con cui si è irrigato e la quantità di acqua somministrata è dipeso dall'andamento climatico avverso. Il sistema di irrigazione utilizzato è quello fisso per aspersione già disponibile in campo.

Sono state infine eseguite i primi interventi di potatura di allevamento.

Durante l'intera stagione vegetativa sono stati eseguiti diversi sopralluoghi mirati al controllo fitosanitario.

Dott. PhD Paola Pollegioni

Relazione progetto ProNo.s.t.i.c.o. in Umbria

4.b) analisi genetica materiale campionato per differenziare le cultivar e verifica identità clonale entro ciascuna cultivar destinata alle due piantagioni mediante marcatori neutrali SSR

1. Materiale e Metodi

1.1 Materiale

Diciannove cultivars di *Juglans regia* tra cui dieci cultivars già commercializzate in California (Midland, Hartley, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare) ed in Francia (Lara, Fernettes, Fernor) e nove cultivars attualmente conservate presso UmbraFlor (Spello, Perugia, Italia) (Tara, Pema, Goia, Spellana, Anz1, Anz2, Anz3, Anz4, Anz5) sono state scelte per allestire due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) (Tabella 1).

La scelta delle dieci cultivars di noce commerciali si è basata su due caratteristiche principali: (1) “percentuale di fioritura laterale” e (2) “tempo medio di emissioni delle foglie” (bud break in giorni Giuliani) (Figura 1). In questo studio sono stati selezionati diciotto cloni per cultivar commerciale (10 cloni per località Feccioli, 10 cloni per Tenuta Casalina) e da un massimo di quattro cloni per Tara (2 cloni per località Feccioli, 2 cloni per Tenuta Casalina) a un minimo di due cloni per Pema, Goia, Spellana, Anz1, Anz2, Anz3, Anz4 e Anz5 (1 clone per località Feccioli, 1 clone per Tenuta Casalina) per un totale di 200 piante di noce (Tabella 1). Nella primavera 2015 sono state campionate gemme e/o foglie giovani da ogni singola pianta di noce selezionata e conservate a -80°C fino al momento dell’analisi.

1.2 Metodi

1.2.1. Estrazione del DNA genomico

Considerando l’elevato numero di campioni da analizzare ($N = 200$) si è scelto di automatizzare parzialmente il metodo d’estrazione del DNA genomico. Per ogni campione di noce sono stati pesati 100 mg di tessuto fogliare fresco e macinati all’interno di un tubo da microcentrifuga (2-mL) contenente una pallina di tungsteno (5 mm). Il tessuto fogliare, congelato in azoto liquido, è stato omogeneizzato mediante Mixer Mill 300 (QIAGEN, <http://www.qiagen.com>). Il DNA genomico è stato estratto e purificato mediante

DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), secondo le istruzioni del manuale (<http://www.qiagen.com>) e conservato a -20°C. La presenza e la qualità del DNA genomico estratto è stata monitorata effettuando un'elettroforesi su gel d'agarosio 1% in 0.5 x TBE. La quantità di DNA è stata empiricamente determinata comparando tutti i campioni, visualizzati su gel d'agarosio con sei differenti soluzioni di DNA del fago λ (concentrazione nota: 15 ng/ μ L, 31 ng/ μ L, 63 ng/ μ L, 125 ng/ μ L, 250 ng/ μ L, 500 ng/ μ L; Life Technologies), e portata ad una concentrazione finale di 5 ng / μ L.

1.2.2 Analisi microsatellitare (nSSRs)

In questo studio, tutti i campioni di noce sono stati genotipizzati mediante amplificazione di quattordici loci microsatellitari nucleari unlinked (nSSRs: WGA1, WGA4, WGA9, WGA27, WGA32, WGA69, WGA72, WGA79, WGA89, WGA118, WGA202, WGA276, WGA321, e WGA331) sviluppati in *Juglans nigra* (Victory et al. 2006) e successivamente selezionati, sequenziati, cross-validati ed usati per la caratterizzazione genetica di popolazioni di *J. regia* in Eurasia (Pollegioni et al., 2014 2015). Ogni amplificazione PCR è stata effettuata usando un volume totale di 20 μ L, contenente 20 ng di DNA genomico, 10mM di Tris-HCl pH 8, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 200 μ M di ogni dNTP, 0.2 μ M di ogni primer, 0.008 μ g di BSA, 0.4 U di Taq Polymerase (Boehringer Mannheim). Il programma di amplificazione, effettuato su una GENEamp PCR System 9700, consiste in una iniziale denaturazione del DNA per 5 minuti a 94°C, seguita da 35 cicli, ognuno costituito da 45 secondi a 94°C, 45 secondi alla temperatura ottimale di annealing per ciascun primer (53-63°C), quindi 1 minuto a 72°C. L'amplificazione termina con l'estensione finale di 7 minuti a 72°C. Per controllare la validità del processo e determinare approssimativamente la misura del frammento ottenuto, è stata analizzata un'aliquota di 5 μ L del prodotto amplificato mediante elettroforesi su gel d'agarosio 1.8% in 0.5 x TBE. Per determinare l'esatta dimensione del frammento microsatellitare, il DNA amplificato è stato diluito 1:10 in acqua, quindi 1 μ L di tale soluzione è stato mescolato con 0.3 μ L di 500bp internal-lane size standard (Gene Scan TM -500 LIZ, Applied Biosystem) e 9.7 μ L di formammide pura deionizzata; la soluzione mix ottenuta è stata denaturata a 95°C per 5 minuti e poi immediatamente raffreddata in ghiaccio. I frammenti SSR amplificati sono stati successivamente visualizzati mediante ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystem). Tutta la procedura è stata ripetuta due volte per avere la certezza della ripetibilità del campione. I dati ottenuti sono stati collezionati ed i profili genotipici sono stati assegnati (allelic score) mediante GeneMapper®. Software v3.7 (Applied Biosystems) usando sei genotipi di *J. regia* già precedentemente caratterizzati con lo stesso set di marcatori SSR (Pollegioni et al., 2014 2015) come campioni standard tra piastre multiple.

1.2.3. Analisi dei dati SSR

Le 200 piante di noce comune usate per allestimento dei due impianti sperimentali "Tenuta Casalina" (Perugia, Italia) ed UmbraFlor "località Feccioli" (Spello, Perugia, Italia), sono state confrontate e geneticamente caratterizzate, calcolando per ogni coppia di campioni il "Genotypic Distance coefficient (GD; Peakall & Smouse, 2005) per i marcatori neutrali codominanti SSR. Il GD coefficient è stato calcolato

con la seguente formula: GD tra due genotipi per un singolo locus con quattro alleli (i, j, k, l) è $d^2(ii, ii) = 0$, $d^2(ij, ij) = 0$, $d^2(ii, ji) = 1$, $d^2(ik, ij) = 1$, $d^2(kl, ji) = 2$, $d^2(ii, kl) = 3$, $d^2(ii, jj) = 4$. Sulla matrice 200 x 200 di distanza genetica (GD) così calcolata è stata poi condotta l'analisi di cluster mediante UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic means).

Per confermare o escludere l'identità clonale tra le 200 piante appartenenti alle 19 cultivars di noce abbiamo successivamente calcolato il seguente parametro: "matching multilocus genotypes" mediante GENALEX software v6.502 (Peakall and Smouse 2012). In uno studio che richiede il DNA fingerprinting di un numero così elevato di genotipi, è importante quantificare la capacità dei marcatori molecolari di distinguere due individui differenti. Perciò è stata calcolata mediante Paetkau et al., (1998) per ogni locus microsatellitare, la unbiased probability of identity (PI_{unb}), cioè la probabilità che due alberi non imparentati, presi a caso da una popolazione, possano presentare genotipi multilocus identici. Inizialmente Paetkau & Strobeck (1994) calcolarono il valore PI per ogni locus con la seguente formula:

$$PI = \sum p_i^4 + \sum (2p_i p_j)^2$$

con p_i e p_j le frequenze dell' i -esimo e j -esimo allele.

Successivamente modificarono l'equazione prendendo in considerazione l'errore nel campionare popolazione di piccole dimensioni (Paetkau et al., 1998):

$$PI_{unb} = [n^3 (2a_2^2 - a_4) - 2n^2 (a_3 + 2a_2) + n(9a_2 + 2) - 6] / (n-1)(n-2)(n-3)$$

Indicando con n le dimensioni della popolazione, e con a_i la quantità $\sum p_j^i$ (p_j le frequenze j -esimo allele).

In popolazioni altamente sub-strutturate e specialmente in popolazioni contenenti molte famiglie di dimensioni ampie, l'equazione teoretica di PI_{unb} potrebbe sottostimare la reale probabilità di trovare genotipi identici. Perciò, per i campioni presi in esame in detto studio, è stata calcolata anche la probabilità che due piante con genitori comuni presentino genotipi multilocus identici (PI_{sib}) secondo la formula fornita da Evett & Weir (1998):

$$PI_{sib} = 0.25 + (0.5\sum p_i^2) + [0.5(0.5\sum p_i^2)^2] - (0.25\sum p_i^4)$$

Tutte le analisi sono state eseguite mediante GenAlEx version 6. Software (Peakall and Smouse, 2005).

Infine, per confermare parzialmente il pedigree delle 10 cultivars di *Juglans regia* già commercializzate in California ed Francia usati in questo studio (Lara, Midland, Hartley, Fernetto, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare) è stata effettuata l'analisi di maternità mediante il metodo ad esclusione. Tale metodo si basa sulle normali leggi di segregazione Mendeliane ed è attuabile quando si hanno a disposizione marcatori altamente polimorfici come gli nSSRs. La maternità è stata definitivamente assegnata quando almeno un allele di origine materna era presente nella presunta progenie in ogni locus per i quattordici loci microsatellitari totali.

Risultati

UPGMA clustering analisi basata sul calcolo del pairwise genetic distance" (GD) mediante 14 marcatori microsatellitari neutrali suddivide le 200 piante di *J. regia* usate per allestimento dei due impianti

sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) in tre gruppi principali (Figura 3) corrispondenti ai tre gruppi di pedigree delle dieci cultivars di *J. regia* già commercializzate in California ed Francia (Lara, Midland, Hartley, Fernette, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare) (Figura 2).

Gruppo 1

- Lara (Francia): varietà francese nata forse dall'incrocio tra ‘Payne’ x ‘RA’ cioè tra una pianta francese a genotipo non noto *J. regia* e *Payne* la cui origine è controversa. Si ipotizza che *Payne* derivi da un incrocio tra una cultivar francese introdotta in California da Felix Gillet nel 1870 ed una pianta di noce cinese introdotta in USA da immigranti. *Payne* è una cultivar early-flushing (bud break 78 giorni Giuliani) a forte fioritura laterale (81%) tipica del germoplasma di noce asiatico, ereditata da tutti i discendenti di *Payne*. Come atteso, Lara è una varietà a forte fioritura laterale (70%) come *Payne* ma late-flushing (bud break 97 giorni Giuliani), tipico carattere che ritroviamo nel germoplasma di noce francese.
- Fernette e Fernor (Francia): entrambe le moderne cultivars francese sono nate dall'incrocio tra due varietà francesi ‘*Franquette*’ x ‘*Lara*’, risultando perciò a fioritura laterale (70%) come *Lara* e late-flushing (Fernette: bud break 101 giorni Giuliani; Fernor: bud break 103 giorni Giuliani) come *Franquette* (bud break 107 giorni Giuliani).
- Hartley (Università della California): si ipotizza essere l'incrocio tra due cultivars di origine francese ‘*Franquette*’ x ‘*Mayette*’, nata dalla selezione effettuata da William Hunter tra il 1909 ed il 1925. Hartley è considerata una cultivar tradizionalmente consistente, a fioritura terminale (solo ~ 6 % fioritura laterale) simile a *Franquette* e *Mayette* (0% fioritura laterale) e mid-flushing (bud break 93 giorni Giuliani).
- Midland (Università della California): nasce dall' incrocio tra ‘*Franquette*’ x ‘*Payne*’, è una cultivar vigorosa, ad elevata fioritura laterale (89%) ma sorprendentemente early-flushing (bud break 89 giorni Giuliani) come *Payne*.
- Tara (Batt1), Pema (Batt2), Goia (Batt3) (Italia): pedigree non noto, potenzialmente di origine Italiana, cultivars resistenti alla batteriosi. Il clustering analisi rivela una suddivisione del cluster 1 (gruppo 1) in due subclusters, il primo dei quali composto da Tara, Pema e Goia ed una inaspettata identità clonale tra Tara e Pema.

Gruppo 2

- Chandler (Università della California): registrata come incrocio tra ‘*Pedro*’ x ‘*PI-56-224*’ effettuato nel 1963 da Serr e Forde. Chandler è una cultivar altamente produttiva, con fioritura laterale (86%) ereditata da entrambi i genitori, altamente vigorosa e mid-flushing (bud break 94 giorni Giuliani). *Pedro* infatti è una varietà altamente produttiva, con fioritura laterale (84%) e mid-flushing (bud break 92 giorni Giuliani), nata dall' incrocio ‘*Conway Mayette*’ x ‘*Payne*’. *PI-56-224*, a fioritura

laterale (80%) ed early-flushing (bud break 80 giorni Giuliani) è stata prodotta mediante incrocio 'Marchetti' x 'Sharkey' (Marchetti usata come pianta a fioritura laterale alternativa a *Payne*).

- Howard (Università della California): registrato come “cultivar sorella” di Chandler, cioè nata dall'incrocio tra 'Pedro' x 'PI-56-224' effettuato in California nel 1979. Howard è una cultivar a fioritura laterale (80%) e mid-flushing (bud break 94 giorni Giuliani).

Gruppo 3

- Serr (Università della California): registrata come incrocio tra 'Payne' x 'PI-159568' effettuato da Serr e Ford nel 1958 in California. Serr è una cultivar vigorosa, early-flushing (bud break 79 giorni Giuliani) come *Payne* e *PI-159568* ma a fioritura laterale moderata (51%). La cultivar *PI-159568* infatti nasce dalla selezione di germoplasma di noce effettuato a Paghman, Afghanistan (circa 15 Km da Kabul) nel 1937 dall'Università della California (USDA). *PI-159568* ha una fenologia fogliare simile a *Payne* (bud break 77 giorni Giuliani) ma presenta fioritura terminale (0% fioritura laterale).
- Tulare (Università della California): registrata come incrocio tra 'Tehama' x 'Serr' effettuato da Forde nel 1966 in California. Tale cultivar, a forte produttività con un flushing medio (bud break 94 giorni Giuliani) ha ereditato da entrambi i genitori la fioritura laterale (82%).
- Sunland (Università della California): registrata come incrocio tra 'Lompoc' x 'PI-159568' effettuato da Serr e Forde nel 1965 in California, è una cultivar vigorosa, early-flushing (bud break 79 giorni Giuliani) come *PI-159568* e con fioritura terminale (90%) ereditato da *Lompoc* (incrocio 'Payne' x 'Waterloo').
- Anz1, Anz2, Anz3, Anz4, Anz5 (Italia): pedigree non noto, sebbene siano conservati presso il vivaio regionale UmbraFlor (Spello, Perugia, Italia), si sospetta che Anz1, Anz2, Anz3, Anz4, Anz5 siano cultivars potenzialmente di origine asiatica. Il clustering analisi conferma tale ipotesi vista l'appartenenza di Anz1, Anz2, Anz3, Anz4, Anz5 al cluster 3 (gruppo 3).
- Spellana (Batt4) (Italia): pedigree non noto, potenzialmente cultivar di origine Italiana. Tuttavia il clustering analisi rivela una elevata similarità genetica con materiale asiatico.

Il Clustering analisi (Figura 3) combinato con il calcolo dei “matching multilocus genotypes” (Tabella 2) tra le 19 cultivars di *J. regia* (200 piante di noce) ha confermato l'identità clonale di 196 piante di noce con la sola eccezione per **Howard 8A**, **Howard 2B**, **Tulare 5A** e **Tulare 5B**. Inoltre la probabilità che due individui non imparentati (*PIunb*) o due individui con genitori comuni (*PIsib*) condividano lo stesso profilo multilocus genetico per effetto del caso o per bassi livelli di polimorfismo è molto bassa: $PIunb = 6.4E-09$ ed $PIsib = 2.0E-04$. Da questi dati si può desumere che la probabilità di trovare due individui, imparentati o non imparentati, con lo stesso profilo multilocus genetico per puro caso è praticamente nulla a meno che non siano cloni. Tali dati indica che i livelli di polimorfismo dei 14 loci SSR usati in questo studio sono sufficientemente alti e robusti per l'analisi clonale effettuata.

Infine, su 7 cultivars di *Juglans regia* già commercializzate in California ed Francia usati in questo studio (Lara, Fernettes, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Tulare), è stata effettuata l'analisi di maternità, con il

metodo ad esclusione basato sui 14 loci microsatellitari. Gli individui che non mostravano nessuno dei due presunti alleli materni in un singolo locus SSR sono due: Fernette (progenie) rispetto a Lara (cultivar materna) ed Tulare (progenie) rispetto a Serr (cultivar materna).

References

Dangl, GS., Woeste K., Ardhya M.K., Koehmstedt A., Simon C., (2005). Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of walnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130 :348-354.

Evetts IW., Weir BS., (1998). *Interpreting DNA evidence: Statistical genetics for forensic scientists*. Sinauer, Sunderland.

Miltiadis V., Rouskas D., tsantili E, Bebeli PJ (2010). Germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) cultivars and Greek local selections revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Scientia Horticulturae* 125: 584-592.

Paetkau D, Waits LP, Clarkson PL, Craighead L, Vyse E, Ward R, Strobeck C (1998) Variation in genetic diversity across the range of North America brown bears. *Conservation Biology* 12:418–429. doi:10.1046/j.1523-1739.1998.96457.x.

Paetkau D., Strobeck C., (1994). Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. *Molecular Ecology* 3:489-495.

Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.

Peakall, R., Smouse, P.E., (2005). GenAlEx V6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. The Australian National University, Canberra, Australia, <http://www.anu.edu.au/BoZo/genAlEx/>

Pollegioni P., Woeste K., Chiocchini F., Del Lungo S, Olimpieri I., Tortolano V., Clark J., Hemery G., Mapelli S., Malvolti M.E. (2015). Ancient humans influenced the current spatial genetic structure of common walnut populations in Asia. *PLoS ONE* 10(9): e0135980. doi:10.1371/journal.pone.0135980.

Pollegioni P., Woeste K., Chiocchini F., Olimpieri I., Tortolano V., Clark J., Hemery G., Mapelli S., Malvolti M.E. (2014). Landscape genetics of Persian walnut (*Juglans regia* L.) across its Asian range. *Tree Genetics and Genomes*, 10:1027–1043.

Tulecke W., Mcgranahan G.H. (1994). The walnut germplasm collection at the University of California, Davis: a description of the collections and a history of the breeding program of Eugene F. Serr and Harold I. Forde. Rpt 13. Univ Calif Genet Resour Conserv Program, Davis.

Victory E, Glaubitz JC, Rhodes OE, Woeste KE (2006). Genetic homogeneity in *Juglans nigra* (Juglandaceae) at nuclear microsatellites. *American Journal of Botany* 93:118–126.

Tabella 1. Lista delle 19 cultivars di *Juglans regia* (200 piante di noce) usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia).

Cultivar	ID Cloni ^a	Origine ^b	Parentage ^b	Fioritura Laterale ^c
Lara	Lara1A-9A Lara1B-9B	France	‘Payne’ x ‘RA’	50-80 %
Fernette	Fernette1A-9A Fernette1B-9B	France	‘Franquette’ x ‘Lara’	50-80 %
Fernor	Fernor1A-9A Fernor1B-9B	France	‘Franquette’ x ‘Lara’	50-80 %
Hartley	Hartley1A-9A Hartley1B-9B	USA-California	‘Franquette’ x ‘Mayette’	~ 6 %
Midland	Midland1A-9A Midland1B-9B	USA-California	‘Franquette’ x ‘Payne’	~ 47 %
Howard	Howard1A-9A Howard1B-9B	USA-California	‘Pedro’ x ‘PI-56-224’	80 %
Chandler	Chandler1A-9A Chandler1B-9B	USA-California	‘Pedro’ x ‘PI-56-224’	86 %
Serr	Serr1A-9A Serr1B-9B	USA-California	‘Payne’ x ‘PI-159568’	51 %
Sunland	Sunland1A-9A Sunland1A-9A	USA-California	‘Lompoc’ x ‘PI-159568’	90 %
Tulare	Tulare1A-9A Tulare1B-9B	USA-California	‘Tehama’ x ‘Serr’	82 %
Tara	Batt1-1A Batt1-3AA Batt1-2B Batt1-4BB	Italy	–	–
Pema	Batt2-1A Batt2-2B	Italy	–	–
Goia	Batt3-1A Batt3-2B	Italy	–	–
Spellana	Batt4-1A Batt4-2B	Italy	–	–
Anz1	Anz1-A Anz1-B	Italy	–	–
Anz2	Anz2-A Anz2-B	Italy	–	–
Anz3	Anz3-A Anz3-B	Italy	–	–
Anz4	Anz4-A Anz4-B	Italy	–	–
Anz5	Anz5-A Anz5-B	Italy	–	–
Totale	200			

^a (A) Impianto sperimentale Fondazione per l’Istruzione Agraria in Perugia “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia), (B) Impianto sperimentale UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia).

^b Origine e parentage secondo Dangl et al (2005) e Miltiadis et al (2010).

^c Percentuale di fioritura laterale secondo Tulecke and McGranahan (1194).

Tabella 2. Calcolo dei “matching multilocus genotypes” tra le 19 cultivars di *Juglans regia* (200 piante di noce) usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) mediante 14 marcatori microsatellitari neutrali.

Cultivar	N	ID Cloni	Genotype (WGA1-WGA4-WGA9-WGA27-WGA32-WGA69-WGA72-WGA79-WGA89-WGA118-WGA202-WGA321-WGA331)
Lara	18	Lara1A-9A Lara1B-9B	180 180-231 233-239 247-205 209-194 194-161 179-139 139-208 210-211 211-198 198-267 295-181 189-239 239-276 276
Franquette	18	Franquette1A-9A Franquette1B-9B	188 190-233 233-243 243-205 209-169 194-159 159-139 139-208 210-215 215-183 198-265 267-189 189-243 243-274 276
Fernor	18	Fernor1A-9A Fernor1B-9B	188 190-233 233-243 243-205 209-169 194-159 175-139 139-208 210-215 215-198 198-260 267-189 189-243 243-272 276
Hartley	18	Hartley1A-9A Hartley1B-9B	190 190-233 233-239 243-205 205-194 194-159 159-137 139-208 210-215 215-198 198-260 267-177 189-226 243-272 272
Midland	18	Midland1A-9A Midland1B-9B	190 192-231 233-239 243-205 209-169 194-175 179-139 139-208 208-215 221-198 198-265 267-189 189-243 247-272 276
Howard	16	Howard1A-7A, 9A Howard1B, 3B-9B	192 192-231 233-243 243-205 209-194 194-159 159-139 139-208 210-215 221-196 198-260 265-189 191-226 247-274 276
	1	Howard 8A	180 192-231 233-233 243-205 209-194 194-179 179-139 139-208 208-215 221-183 198-260 267-177 189-226 239-276 276
	1	Howard2B	192 192-233 240-239 243-205 205-165 194-179 179-145 145-208 210-215 218-183 198-260 267-189 189-239 247-272 274
Chandler	18	Chandler1A-9A Chandler1B-9B	192 192-233 233-233 243-205 209-169 194-159 159-139 139-208 208-215 215-183 198-260 267-189 191-243 247 -272 274
Serr	18	Serr1A-Serr9A Serr1B-Serr9B	180 192-233 240-239 243-205 205-165 194-177 179-145 145-208 208-215 218-183 198-260 267-171 189-224 239-272 276
Sunland	18	Sunland1A-9A Sunland1A-9A	190 190-231 231-243 245-205 205-169 194-175 175-139 139-208 210-211 221-183 196-267 275-189 189-239 245-276 276
Tulare	16	Tulare1A-4A, 6A-9A Tulare1B-4B, 6B-9B	180 190-231 240-239 243-205 205-194 194-177 179-139 139-208 208-215 215-196 198-260 267-171 189-224 239-272 276
	2	Tulare 5A, 5B	180 192-233 233-243 243-205 209-169 194-175 179-139 139-208 208-211 211-196 196-265 269-189 189-243 243-276 276
		Batt1-1A Batt1-3AA Batt1-2B Batt1-4BB	
Tara / Pema	6	Batt2-1A Batt2-2B Batt3-1A Batt3-2B	188 190-233 233-233 243-205 205-169 175-157 175-139 139-198 210-215 221-183 198-267 267-142 189-226 243-276 276
Goia	2	Batt4-1A Batt4-2B	190 190-233 233-239 243-205 205-169 169-159 175-139 139-208 210-215 221-198 198-265 267-189 189-243 243-272 276
Spellana	2	Batt4-1A Batt4-2B	180 190-231 233-239 247-205 205-194 194-159 179-139 139-210 210-215 221-198 206-265 275-177 189-239 243-276 276
Anz1	2	Anz1-A Anz1-B	1801802312332392472052091941941611791391392082102112111198198267295181189239239276276
Anz2	2	Anz2-A Anz2-B	190 190-231 233-239 247-205 205-167 169-159 179-137 139-208 208-211 211-196 198-260 267-173 189-226 239-272-272
Anz3	2	Anz3-A Anz3-B	180 190-231 231-239 239-205 209-169 194-159 161-137 139-208 210-211 221-196 198-275 295-173 189-239 239-276 276

Anz4	2	Anz4-A Anz4-B	190 190-231 233-239 243-209 209-169 194-159 175-137 137-208 208-211 211-196 206-275 275-177 189-239 243-272 276
Anz5	2	Anz5-A Anz5-B	190 192-231 233-243 247-205 205-194 194-175 175-139 139-208 208-221 221-196 196-265 267-177 189-239 243-272 276

Tabella 3. Ereditabilità degli alleli amplificati in 14 loci microsatellitari attraverso il pedigree di 7 cultivars di *Juglans regia* già commercializzate in California ed Francia usati in questo studio (Lara, Fernette, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Tulare). Gli alleli ereditati sono evidenziati in giallo, l'assenza di alleli ereditati è evidenziata in grassetto.

	WGA1		WGA4		WGA9		WGA27		WGA32		WGA69		WGA72	
Lara (madre)	190	190	233	233	239	243	205	205	169	169	175	159	137	139
Fernette (progenie)	188	190	233	233	243	243	209	205	194	169	159	159	139	139
Fernor (progenie)	188	190	233	233	243	243	209	205	194	169	175	159	139	139
Chandler (progenie)	192	192	233	233	233	243	205	209	169	194	159	159	139	139
Howard (progenie)	192	192	231	233	243	243	205	209	194	194	159	159	139	139
Serr (madre)	192	180	233	240	239	243	205	205	165	194	177	179	145	145
Tulare (progenie)	190	180	231	240	239	243	205	205	194	194	177	179	139	139
	WGA79		WGA89		WGA118		WGA202		WGA276		WGA321		WGA331	
Lara (madre)	208	210	215	215	198	198	265	267	189	189	243	243	272	272
Fernette (progenie)	208	210	215	215	183	198	265	267	189	189	243	243	274	276
Fernor (progenie)	208	210	215	215	198	198	260	267	189	189	243	243	272	276
Chandler (progenie)	208	208	215	215	183	198	267	260	189	191	243	247	272	274
Howard (progenie)	210	208	221	215	196	198	265	260	189	191	226	247	276	274
Serr (madre)	208	208	218	215	183	198	260	267	171	189	224	239	272	276
Tulare (progenie)	208	208	215	215	196	198	260	267	171	189	224	239	272	276

FIGURE

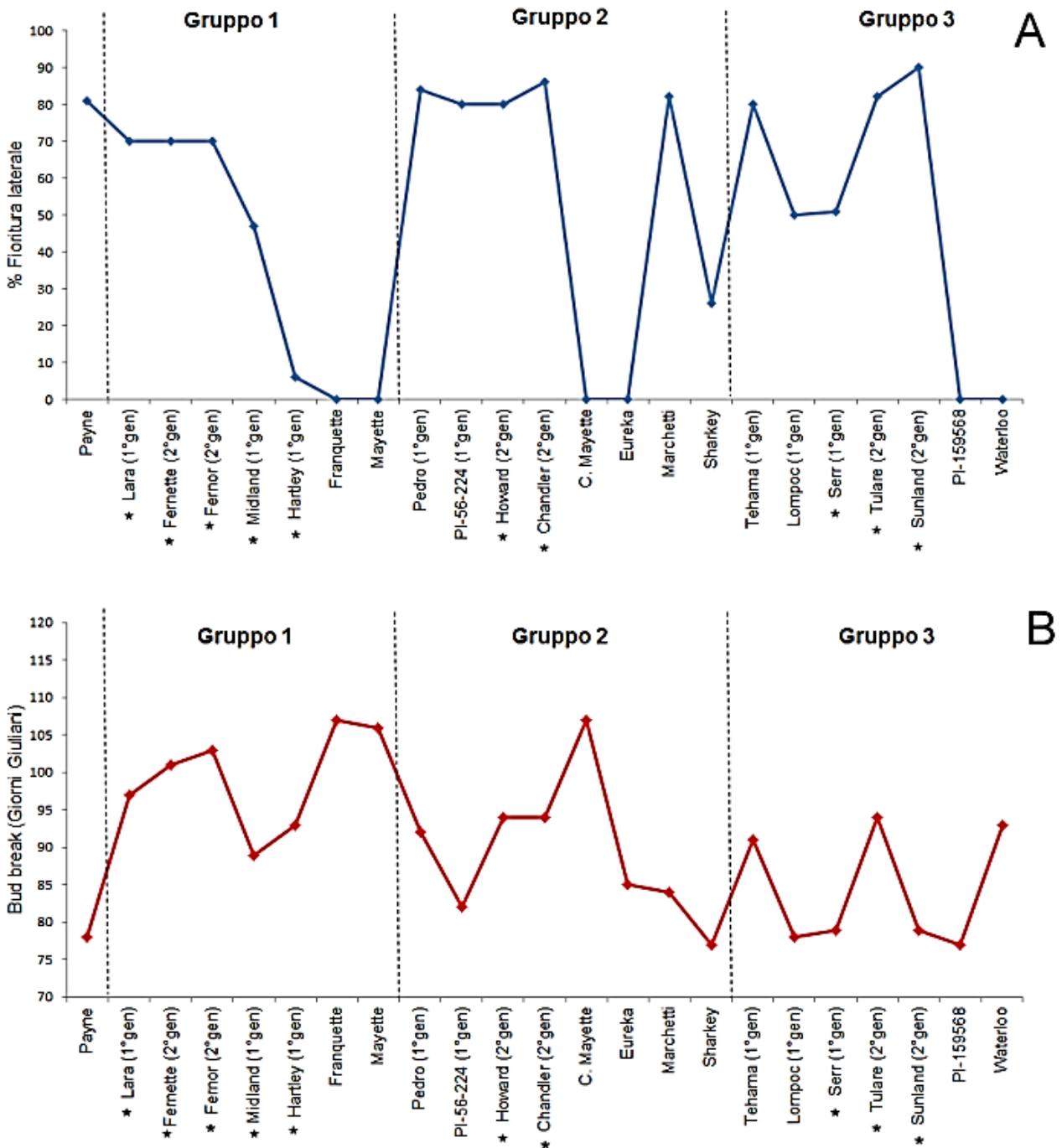


Figura 1. Caratteristiche delle dieci cultivars *Juglans regia* (*) commercializzate in California ed in Francia studio (Lara, Midland, Hartley, Fernette, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare) e selezionate per l’allestimento di due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed

UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia), (A) Percentuale fioritura laterale, (B) Bud break in giorni Giuliani secondo Tulecke and McGranahan (1994).

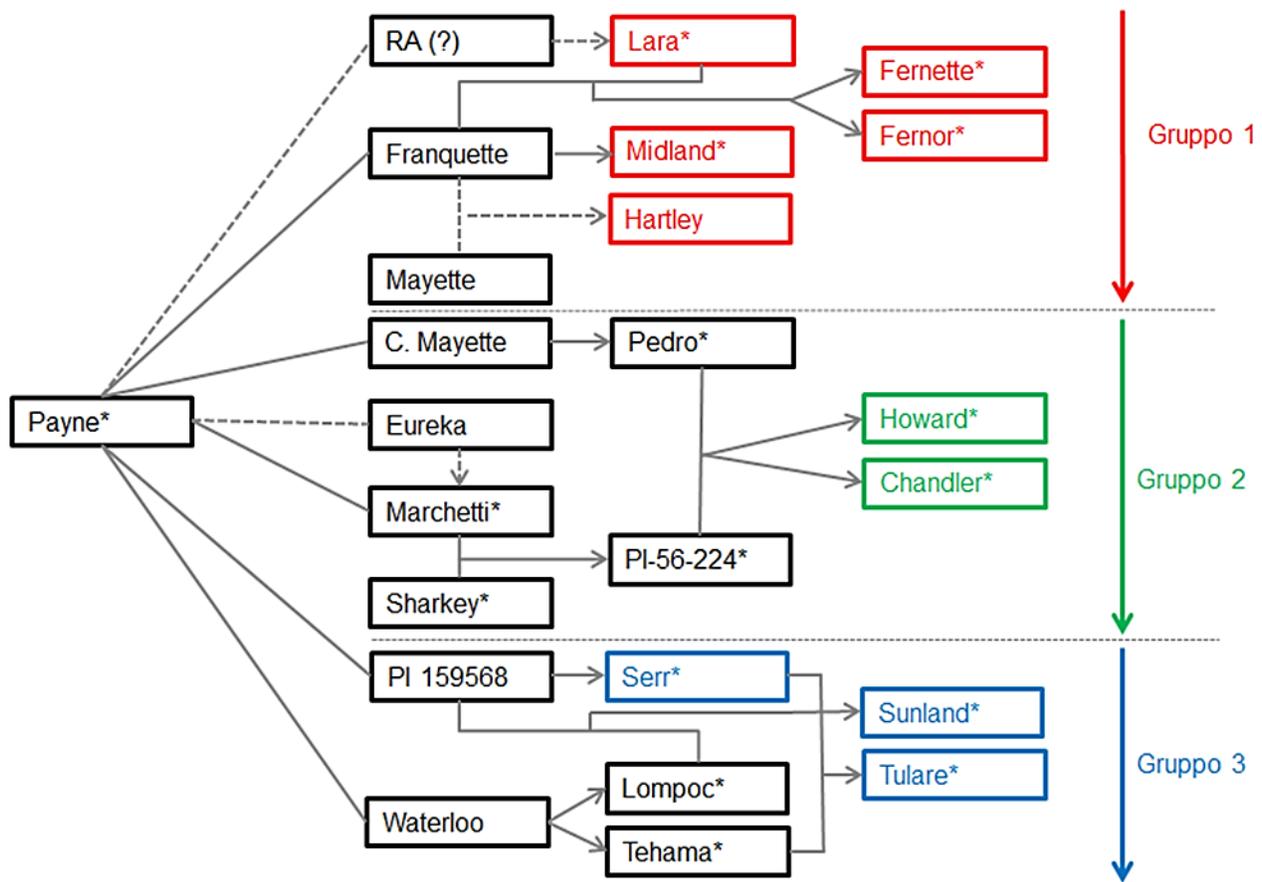


Figura 2. Ricostruzione delle relazioni genetiche esistenti (linea continua) o presunte (linea tratteggiata) tra 10 cultivars di *Juglans regia* già commercializzate in California ed Francia usati in questo studio (Lara, Midland, Hartley, Fernette, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare). Il seguente pedigree nasce dall’integrazione dei dati forniti da Dangl et al (2005) e Miltiadis et al (2010).

* = Fioritura laterale.

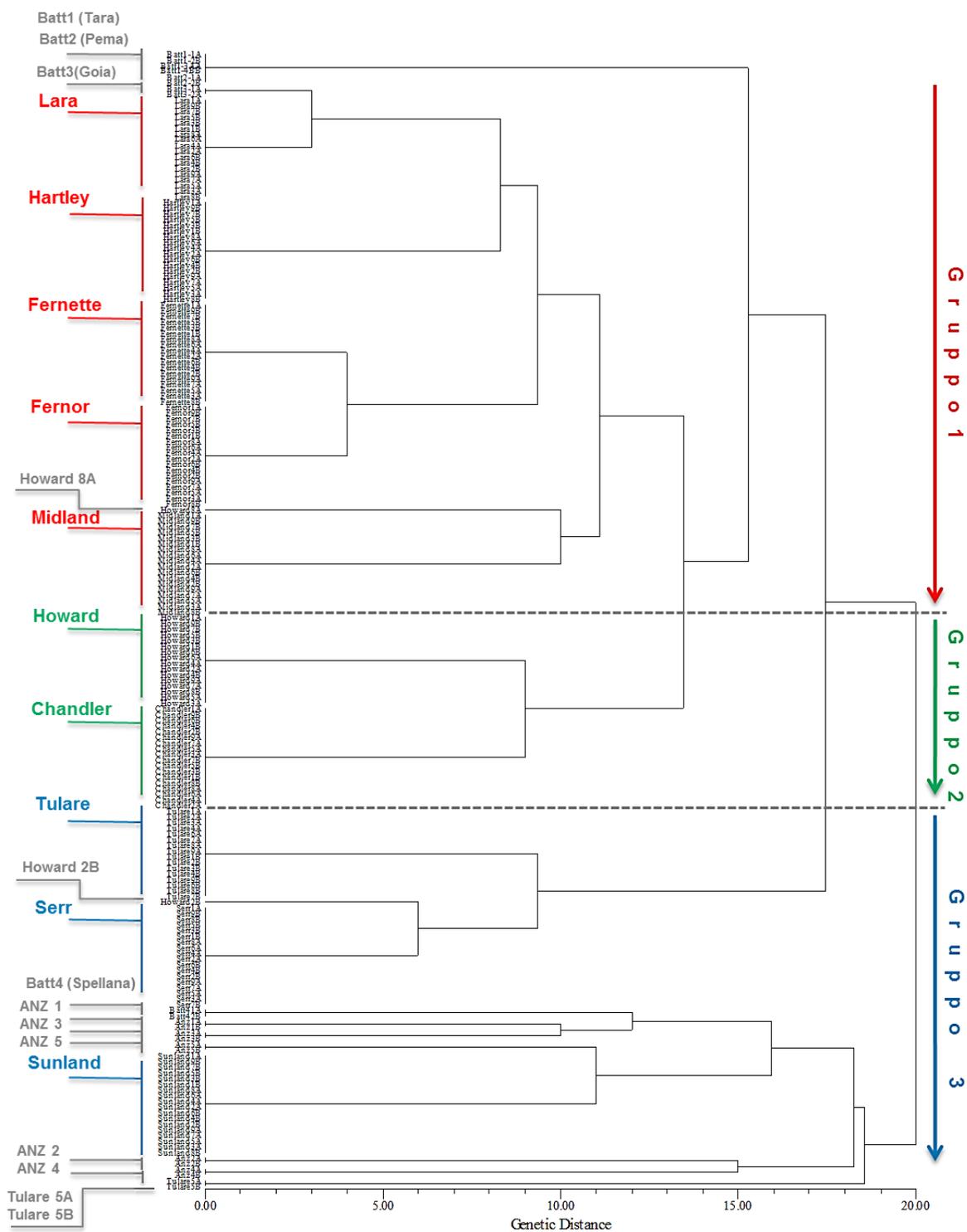


Figura 3. UPGMA clustering analisi basata sul calcolo del pairwise genetic distance” (GD) tra 200 piante di *J. regia* usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) mediante 14 marcatori microsatellitari neutrali.

4.g) Test molecolari per la resistenza/suscettibilità all'antracnosi con marcatori molecolari funzionali (NBS Profiling approach) (Dott.ssa Paola Pollegioni, Allegato 4)

Il noce comune è sensibile a vari stress biotici e in particolare l'antracnosi causata dal fungo *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. La resistenza naturale alla *G. leptostyla* sembra essere un carattere altamente ereditabile, e quindi utile per il miglioramento genetico nel noce. La selezione di genotipi resistenti rappresenta una valida alternativa alle pratiche agronomiche e chimiche (fungicidi). La resistenza ai patogeni nelle piante è spesso basata su un modello gene-for-gene: le proteine NBS sembrano essere coinvolte nei meccanismi di riconoscimento dei patogeni e nell'attivazione delle reazioni a cascata che inducono le risposte fisiologiche di difesa. L'NBS-profiling approach è basato sull'amplificazione mediante PCR del DNA genomico, usando un primer complementare alla sequenza dell'adattatore ed un primer degenerato complementare ad uno dei domini altamente conservati presenti nella regione NBS. In questo modo si ottengono marcatori principalmente localizzati nei geni-Resistant (geni-R) o Resistant Analogs (RAGs).

2. Materiale e Metodi

2.1 Materiale

Diciannove cultivars di *Juglans regia* tra cui dieci cultivars già commercializzate in California (Midland, Hartley, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare) ed in Francia (Lara, Fernetto, Fernor) e nove cultivars attualmente conservate presso UmbraFlor (Spello, Perugia, Italia) (Tara, Pema, Goia, Spellana, Anz1, Anz2, Anz3, Anz4, Anz5) sono state scelte per allestire due impianti sperimentali "Tenuta Casalina" (Perugia, Italia) ed UmbraFlor "località Feccioli" (Spello, Perugia, Italia). Per lo studio della resistenza/suscettibilità all'antracnosi, sono stati selezionati quattro cloni per cultivar commerciale (2 cloni per località Feccioli, 2 cloni per Tenuta Casalina) e da un massimo di quattro cloni per Tara (2 cloni per località Feccioli, 2 cloni per Tenuta Casalina) a un minimo di due cloni per Pema, Goia, Spellana, Anz1, Anz2, Anz3, Anz4 e Anz5 (1 clone per località Feccioli, 1 clone per Tenuta Casalina) per un totale di 58 piante di noce (Tabella 1). Nella primavera 2015 sono state campionate gemme e/o foglie giovani da ogni singola pianta di noce selezionata e conservate a -80°C fino al momento dell'analisi. (Tabella 1).

2.2 Metodi

2.2.1. Estrazione del DNA genomico

Dopo aver polverizzato foglie fresche di ogni campione mediante macinazione meccanica in azoto liquido, è stato estratto il DNA genomico utilizzando il DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). La presenza e la qualità del

DNA estratto è stata monitorata effettuando un'elettroforesi su gel d'agarosio 1% in 0.5 x.TBE. La quantità di DNA è stata approssimativamente determinata comparando tutti i campioni, visualizzati su gel d'agarosio 1%, con sei differenti soluzioni di DNA del fago λ (concentrazione nota: 15 ng/μL, 31 ng/μL, 63 ng/μL, 125 ng/μL, 250 ng/μL, 500 ng/μL; Life Technologies), e opportunamente diluita per raggiungere la concentrazione finale di 40 ng / μL, ottimale per l'analisi NBS-profiling approach.

2.2.2 Protocollo NBS-profiling (Plant Research International, Wageningen)

Digestione e Ligasi

La digestione del DNA genomico con un enzima a taglio frequente (MseI e RsaI) e la successiva ligasi di uno specifico adattatore all'estremità dei frammenti di restrizione, è stata eseguita in una singola reazione. Duecento nanogrammi di DNA genomico sono stati digeriti in un appropriato buffer di reazione mediante incubazione a 37°C per 3 h; l'adattatore è stato saldato ad entrambe le estremità dei frammenti di restrizione per aggiunta dell'enzima Ligasi ad elevata concentrazione (Tabella 2). La reazione è stata interrotta per inattivazione degli enzimi, incubando la soluzione a 65 °C per 15 minuti. Ogni miscela di reazione finale viene diluita 1:1 aggiungendo 60μL di acqua deionizzata sterilizzata.

L'adattatore, disegnato da Van der Linden et al., (2004), è caratterizzato da due braccia: un oligo di 32 bp (braccio lungo) con una regione iniziale (dalla posizione 1 a 21) perfettamente identica alla sequenza del primer dell'adattatore ed un oligo di 14 bp (braccio corto) con un gruppo amminico all'estremità 5' ed un gruppo fosfato all'estremità 3':

Sequenza dell'adattatore:



Sequenza del primer dell'adattatore: 5' - ACTCGATTCTCAACCCGAAAG - 3'

La presenza di un gruppo amminico (NH₂), che funge da blocco, impedisce l'elongazione del filamento corto all'estremità 3' da parte della Taq polimerasi, mentre il gruppo fosfato facilita la saldatura dell'adattatore a frammenti con blunt ends. In questo modo, all'inizio dell'amplificazione il primer dell'adattatore non può appaiarsi al DNA stampo, poiché non trova il corrispondente sito d'annealing. Solo dopo l'appaiamento del primer degenerato NBS al suo sito specifico (motivo altamente conservato) e la sintesi del filamento complementare, viene generato il sito d'annealing per il primer dell'adattatore. Il gruppo amminico impedisce l'amplificazione di frammenti adattatore-adattatore e favorisce selettivamente l'amplificazione dei frammenti adattatore-NBS.

Pre -amplificazione

Sono stati utilizzati due differenti primer NBS degenerati, NBS1 ed NBS5A6 (NBS5A combinato con NBS6 in rapporto 1:1), per un totale di quattro distinte combinazioni enzima-NBS: MseI-NBS1, MseI-NBS5A6, RsaI-NBS1 ed RsaI-NBS5A6. Il primer NBS1 ha come target una parte del motivo P-loop mentre il primer NBS5A6 ha come sito bersaglio il motivo Kinase2. Il primer NBS1 amplifica il DNA in direzione 5' dei geni bersaglio, perciò verso l'esterno del dominio NBS, mentre il primer NBS5A6 agisce in direzione 3' dei medesimi geni, perciò verso la parte interna della regione NBS (Figura 1).

Le sequenze dei due primer NBS sono le seguenti:

NBS1 5'-GCIARWGTWGTYYTTICCYRAICC-3'

NBS5A 5'-YYTKRTHGTMITKGATGAYGTITGG-3'

NBS6 5'-YYTKRTHGTMITKGATGATATITGG-3'

dove M = [A, C]; R = [A, G]; W = [A, T]; S = [G, C]; Y = [C, T]; K = [G, T]; V = [A, C, G]; H = [A, C, T]; D = [A, G, T]; B = [G, C, T]; I = Inosina.

Ogni amplificazione PCR è stata effettuata usando un volume totale di reazione di 25 µL, contenente 5 µL di soluzione stampo (digestione e ligasi), 2.5 µL di HotStartTaq PCR buffer 10X, 1 µL di dNTP mix 5mM, 2 µL di per ogni primer 10 pMol/µL, 0.08 µL di HotStartTaq polymerase 5U/ µL (Qiagen, Germany) e 12.42 µL di acqua. Le reazioni d'amplificazione sono state effettuate su una GENEamp PCR System 9700, secondo la seguente procedura: 15 minuti a 95°C (per attivare la HotStartTaq polymerase), seguiti da 30 cicli di 30 secondi a 95°C, 1 minuto e 40 secondi a 55°C ed 2 minuti a 72°C; l'amplificazione termina con una estensione finale di 20 minuti a 72°C. Per controllare la validità del processo e determinare approssimativamente la misura dei frammenti ottenuti, è stata analizzata un'aliquota di 15 µL del prodotto amplificato mediante elettroforesi su gel d'agarosio 1% in 0.5 x TBE e colorazione con bromuro d'etidio (1µg/1mL). Al rimanente amplificato sono stati aggiunti 90 µL di acqua deionizzata sterilizzata.

Amplificazione e marcatura

Il prodotto PCR è stato amplificato nuovamente usando un primer complementare all'adattatore marcato con fluorescenza (FAM). Ogni amplificazione PCR è stata effettuata usando un volume totale di reazione di 10 µL, aggiungendo 5 µL di soluzione PCR diluita 10X, 1 µL di PCR buffer 10X, 0.4 µL di dNTP mix 5mM, 0.3 µL del primer NBS 10 pMol/µL, 0.3 µL del FAM-labelled adapter primer 10 pMol/µL, 0.04 µL di SuperTaq DNA polymerase 5U/ µL (Sphaero Q., Olanda) e 2.7 µL di acqua. Le reazioni d'amplificazione sono state effettuate su

una GENEamp PCR System 9700, secondo la seguente procedura: 3 minuti a 95°C, seguiti da 35 cicli di 30 secondi a 95°C, 1 minuto e 40 secondi a 55°C ed 2 minuti a 72°C; l'amplificazione termina con una estensione finale di 20 minuti a 72°C. Per determinare l'esatta dimensione dei frammenti NBS amplificati, il DNA amplificato è stato diluito 1:10 in acqua, quindi 1 µL di tale soluzione è stato mescolato con 0.5 µL di 1200bp internal-lane size standard (Gene Scan TM -1200 LIZ, Applied Biosystem) e 9.5 µL di formammide pura deionizzata; la soluzione mix ottenuta è stata denaturata a 95°C per 5 minuti e poi immediatamente raffreddata in ghiaccio. I frammenti NBS amplificati sono stati successivamente visualizzati mediante ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystem). I dati ottenuti sono stati collezionati ed i profili genotipici sono stati assegnati mediante GeneMapper®. Software v3.7 (Applied Biosystems).

2.2.3. Analisi dei dati NBS

Le 58 piante di noce comune usate per allestimento dei due impianti sperimentali "Tenuta Casalina" (Perugia, Italia) ed UmbraFlor "località Feccioli" (Spello, Perugia, Italia), sono state confrontate e geneticamente caratterizzate, calcolando per ogni coppia di campioni il "Genetic Distance coefficient (GD; Peakall & Smouse, 2005) per i marcatori funzionali dominanti NBS mediante GENALEX software v6.502 (Peakall and Smouse 2012). Il calcolo del pairwise GD per dati binari si basa sul metodo proposto da Huff et al (1993) secondo cui il confronto tra due stati identici a valore 0 (0 vs 0 oppure 1 vs 1) mentre il confronto tra due stati differenti a valore 1 (1 vs 0 oppure 0 vs 1). Se calcolato su tutti i loci considerati il pairwise GD equivale al conteggio delle differenze di stato tra i due profili genetici.

Risultati

Per determinare una eventuale componente genetica alla base delle differenti risposte all'antracnosi causata dal fungo *Gnomonia leptostyla* manifestate dalle piante di noce presenti negli impianti sperimentali di "Tenuta Casalina" (Perugia, Italia) ed UmbraFlor "località Feccioli" (Spello, Perugia, Italia), si è reso necessario l'uso di marcatori molecolari funzionali strettamente associati ai geni-R (Resistant) o geni RAGs (Resistant-analogs) mediante l'applicazione del NBS-profiling approach sviluppato da Van der Linden et al. (2004) presso il Plant Research International, Wageningen (The Netherlands).

Quattro distinte combinazioni enzima / NBS primer già utilizzate in altre specie di interesse agronomico come lattuga, pomodoro, orzo, (Van der Linden et al., 2004) patata (Malosetti et al., 2007) grano (Mantovani et al., 2006) e mela (Calange et al., 2005) hanno funzionato con successo nel noce: MseI-NBS1, MseI-NBS5A6, RsaI-NBS1, ed RsaI-NBS5A6 (Pollegioni et al., 2012).. Questi risultati confermano la trasferibilità dell'NBS-profiling approach anche tra specie filogeneticamente distanti tra loro, senza che questo richieda alcuna modifica delle sequenze dei primer NBS utilizzati. In particolare, sono stati amplificati 247 bande NBS totali sull'intero germoplasma, 70 per la combinazione MseI-NBS1, 27 per MseI-NBS5A6, 75 per RsaI-NBS1 e 75 per RsaI-NBS5A6. Un'analisi dettagliata dei 247 frammenti NBS amplificati è riportata in Tabella 3. Tra i 247 marcatori

NBS, 65 (26.3 %) frammenti amplificano in tutti i 58 campioni e per questo sono indicati come “marcatori NBS monomorfici”. Le restanti 183 bande (73.3%) sono state classificate come “bande polimorfiche” in quanto non amplificano in tutte ma in uno o più cultivar di noce (Tabella 3). Tre le bande polimorfiche annoveriamo 27 bande NBS “private” cioè presenti in un’ unica cultivar di noce (Tabella 3). Il numero di frammenti amplificati combinando i due enzimi MseI ed RsaI con il primer NBS1 (N = 145), che ha come target il motivo P-loop, è superiore al valore ottenuto utilizzando il primer NBS5A6, che invece ha come motivo bersaglio la regione Kinase2 (N = 102) del dominio NBS.

In questo studio, nonostante la loro natura funzionale, i marcatori NBS hanno fornito dei profili genetici tendenzialmente simili a quelli ottenuti con marcatori neutrali SSRs. UPGMA clustering analisi condotta sul calcolo del pairwise genetic distance” (GD) mediante 247 marcatori NBS funzionali suddivide le 58 piante di *J. regia* usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) in tre gruppi principali (Figura 2) corrispondenti ai tre gruppi di pedigree delle dieci cultivars di *J. regia* già commercializzate in California ed Francia (Lara, Midland, Hartley, Fernetto, Fernor, Howard, Chandler, Serr, Sunland, Tulare):

- **Gruppo 1:** Lara (France), Fernetto (France), Fernor (France), Hartley (Università della California) Midland (Università della California) e Batt3 (Goia, Italia)
- **Gruppo 2:** Howard (Università della California) e Chandler (Università della California).
- **Gruppo 3:** Serr (Università della California), Sunland (Università della California), Anz2, Anz3, Anz4, Anz5 (Italia) ed Batt4 (Spellana, Italia).
- A differenza dell’analisi di clustering mediante marcatori SSR, un quarto cluster (**Gruppo x**) composto dalle cultivars Tulare (Università della California), Batt1 , Batt2 (Italia) ed Anz1 (Italia) viene identificato mediante marcatori NBS funzionali (Figura 2).

La corrispondenza tra i dati SSRs ed NBS determinata nel noce è comparabile a quella calcolata per i medesimi marcatori in 58 differenti accessioni di grano duro. Mantovani et al., (2006) ipotizza che la similarità dei risultati ottenuti con marcatori così differenti sia legata all’uso di DNA genomico come materiale di partenza. L’analisi del DNA genomico non consente di distinguere tra geni funzionali, geni silenti e pseudogeni. Studi condotti nel riso e nel grano infatti hanno dimostrato che un numero relativamente ampio di geni R-NBS-LRR sono silenti, cioè non rappresentati all’interno di librerie ESTs (McFadden et al., 2006; Monosi et al., 2004). Tuttavia la variabilità genetica riscontrata all’interno delle singole specie mediante analisi NBS-profiling ($H_E = 0.121$) è decisamente inferiore ai valori ottenuti con i marcatori neutrali SSRs ($H_E = 0.538$). I vincoli funzionali dovrebbero infatti ridurre i tassi di mutazione nelle regioni trascritte del genoma e perciò portare ad una contrazione della ricchezza allelica ed i tassi di polimorfismo nei loci in esame (Woodhead et al., 2005).

Infine è stata effettuata una preliminare analisi delle frequenze dei 247 marcatori NBS nei cinque differenti gruppi identificati mediante clustering analisi (Figura 3). Tale ripartizione rappresenta un punto di partenza per l'individuazione di uno o più marcatori funzionale NBS potenzialmente associato alla resistenza all'antracnosi nel germoplasma *J. regia* incluso in questo progetto. Pollegioni et al. (2012) riscontrarono la presenza di una banda NBS in individui *Juglans regia* e 1 pianta *J. nigra* sensibili all'antracnosi, invece assente in tutti gli altri *J. nigra* resistenti analizzati in quello studio.

References

- Calenge F., Van der Linden C.G., Van de Weg E., Schouten H.J., Van Arkel G., Denancé C., Durel C-E., (2005). Resistance gene analogues identified through the NBS-profiling method map close to major genes and QTL for disease resistance in apple. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 660-668.
- Huff, DR, Peakall R, Smouse PE. (1993). RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss *Buchloe dactyloides* (Nutt) Engelm. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 927-934.
- Malosetti M., Van der Linden C. G., Vosman B., and van Eeuwijk F. A., (2007). A Mixed-Model approach to association mapping using pedigree information with an illustration of resistance to *Phytophthora infestans* in potato. *Genetics* 175: 879-889.
- Mantovani P, Van der Linden G., Maccaferri M., Sanguineti M.C, Tuberosa R. (2006). NBS profiling analysis of durum wheat genetic diversity. *Genome* 49: 1473-1480.
- McFadden H.G., Lehmsiek A., Lagudah E.S., (2006). Resistance gene analogues of wheat: molecular genetic analysis of ESTs. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 987-1002.
- Monosi B., Wisser R.J., Pennill L., Hulbert S.H., (2004). Full-genome analysis of resistance gene homologues in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1434-1447.
- Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Pollegioni P1, Van der Linden G, Belisario A, Gras M, Anselmi N, Olimpieri I, Luongo L, Santini A, Turco E, Scarascia Mugnozza G, Malvolti ME., 2012. Mechanisms governing the responses to anthracnose pathogen in *Juglans* spp. *J Biotechnol*;159(4):251-64. doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.08.020.
- Van der Linden G., Wouters D. C. A. E, Mihalka V., Kochieva E. Z., Smulders M.J. M and Vosman B., (2004). Efficient targeting of plant disease resistance loci using NBS profiling. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 384-393.
- Woodhead M., Russel J., Squirrell J., Hollingsworth P.M., MacKenzie K., (2005). Comparative analysis of population genetic structure in *Athyrium distentifolium* (Pteridophyta) using AFLPs and SSRs from anonymous and transcribed gene regions. *Molecular Ecology* 14: 1681-1695.

Tabella 1. Lista delle 19 cultivars di *Juglans regia* (58 piante di noce) usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) e testate per la resistenza/suscettibilità all’antracnosi.

Cultivar	ID Cloni ^a	Origine
Lara	Lara5A, Lara8A Lara5B, Lara6B	France
Fernette	Fernette4A, Fernette6A Fernette3B, Fernette9B	France
Fernor	Fernor5A, Fernor6A Fernor4B, Fernor5B	France
Hartley	Hartley5A, Hartley6A Hartley1B, Hartley6B	USA-California
Midland	Midland4A, Midland6A Midland3B, Midland5B	USA-California
Howard	Howard5A, Howard5A Howard6B, Howard8B	USA-California
Chandler	Chandler5A, Chandler6A Chandler3B, Chandler4B	USA-California
Serr	Serr5A, Serr6A Serr3B, Serr7B	USA-California
Sunland	Sunland4A, Sunland5A Sunland3B, Sunland6B	USA-California
Tulare	Tulare1A, Tulare3A Tulare2B, Tulare6B	USA-California
Tara	Batt1-1A Batt1-3AA Batt1-2B Batt1-4BB	Italy
Pema	Batt2-1A Batt2-2B	Italy
Goia	Batt3-1A Batt3-2B	Italy
Spellana	Batt4-1A Batt4-2B	Italy
Anz1	Anz1-A Anz1-B	Italy
Anz2	Anz2-A Anz2-B	Italy
Anz3	Anz3-A Anz3-B	Italy
Anz4	Anz4-A Anz4-B	Italy
Anz5	Anz5-A Anz5-B	Italy
Totale	58	

^a (A) Impianto sperimentale Fondazione per l’Istruzione Agraria in Perugia “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia), (B) Impianto sperimentale UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia).

Tabella 2. Miscela di reazione per digestione di 200 ng di DNA genomico e ligasi dell'adattore all'estremità dei frammenti di restrizione ottenuti.

Reagenti	μL per reazione
5 xRL + (AFLP Buffer)	12
ATP (10mM)	6
Enzima di restrizione (10 Units/μL)	1
Ligasi (1 Unit/μl per sticky ends)	1
(5 Unit/μl per blunt ends)	
Adattore	3
H ₂ O (sterilizzata)	30
DNA genomico (40 ng/ μL)	5
Totale	60

Tabella 3. Lista dei 247 marcatori funzionali NBS amplificati nei 58 campioni *J. regia* (RA) collezionati nei due impianti sperimentali "Tenuta Casalina" (Perugia, Italia) ed UmbraFlor "località Feccioli" (Spello, Perugia, Italia) e testati per la resistenza/suscettibilità all'antracnosi.

Combinazione Enzima-NBS primer	Size Range (bp)	Bande totali amplificate	Numero di bande polimorfiche		
			Totale	Private	Lista bande private
<i>MseI</i> -NBS1	51-503	70	44	6	Tulare (151bp, 366bp), Fernor (275bp), Howard (175bp), Batt1-2 (177bp, 500bp).
<i>RsaI</i> -NBS1	52-496	75	59	9	Batt1-2(191bp), Batt3 (207bp), Chandler (145bp, 224bp, 281bp, 288bp, 381bp), Tulare (292bp), Hartley (317bp).
<i>MseI</i> -NBS5A6	53-366	27	16	1	Howard (228bp).
<i>RsaI</i> -NBS5A6	50-457	75	63	11	Batt4 (185bp), Anz2 (58bp), Hartley (56bp), Sunland (73bp), Midland (88bp, 200bp, 293bp), Lara (189bp, 195bp, 254bp), Fernor (216bp).
Total		247	182	27	

Figure

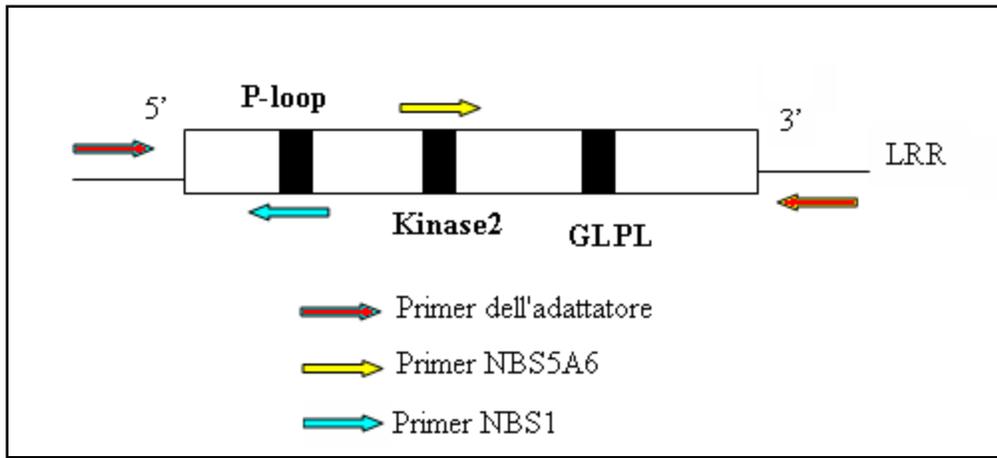


Figura 1. Rappresentazione schematica dei tre motivi altamente conservati (P-loop, Kinase2 e GLPL) presenti nel dominio NBS, tipico dei NBS-LRR- containing R-genes. Sono anche indicati i siti d'annealing e la direzione d'amplificazione dei due primer NBS utilizzati: NBS1 ed NBS5A6.

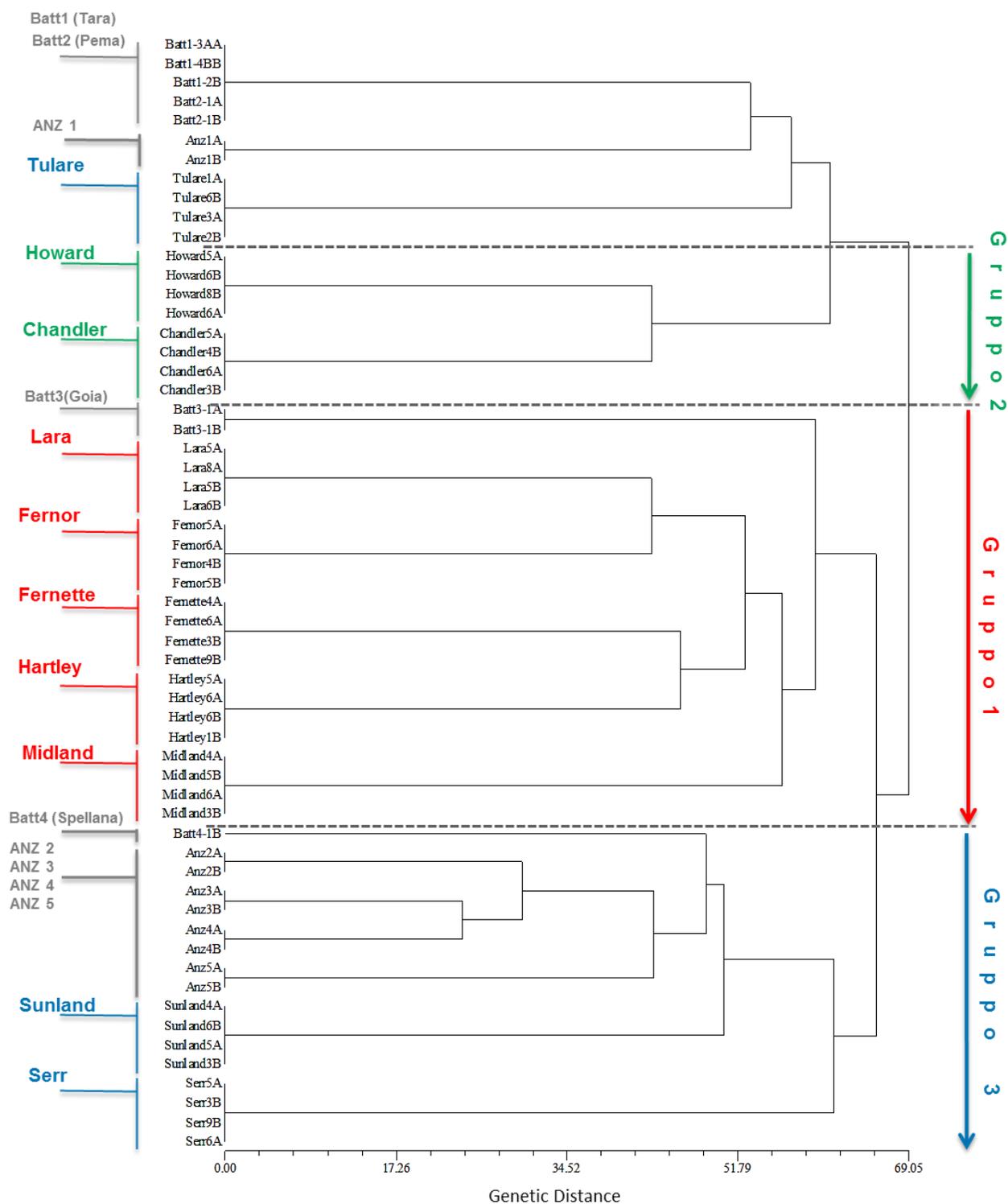


Figura 2. UPGMA clustering analisi basata sul calcolo del Genetic Distance (GD) tra 58 piante di *J. regia* usate per allestimento dei due impianti sperimentali “Tenuta Casalina” (Perugia, Italia) ed UmbraFlor “località Feccioli” (Spello, Perugia, Italia) e testate per la resistenza all’antracnosi mediante 247 marcatori funzionali NBS.

	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3	Gruppo4	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3	Gruppo4	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3	Gruppo4	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3	Gruppo4				
RsaINBS1_52	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_200	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_137	0.545	1.000	0.182	0.176	RsaINBS5A6_200	0.182	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_61	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_293	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_135	0.364	1.000	0.182	0.647	RsaINBS5A6_212	0.182	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_71	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_366	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_217	0.273	1.000	0.182	0.059	RsaINBS5A6_254	0.182	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_76	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_326	1.000	1.000	1.000	0.941	MseINBS5A6_91	0.182	1.000	0.182	0.294	MseINBS1_275	0.182	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_89	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_209-210	1.000	1.000	1.000	0.882	RsaINBS1_215	0.909	1.000	0.000	0.000	RsaINBS1_486	0.273	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_106	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_262-263	1.000	1.000	1.000	0.882	RsaINBS5A6_420	0.909	1.000	0.000	0.529	RsaINBS5A6_96	0.273	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_117	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_140-141	1.000	1.000	1.000	0.765	RsaINBS5A6_457	0.909	1.000	0.000	0.176	RsaINBS5A6_250	0.273	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_121	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_149	1.000	1.000	1.000	0.765	RsaINBS5A6_408	0.364	1.000	0.000	0.176	RsaINBS1_163	0.364	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_128	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_268	1.000	1.000	1.000	0.765	MseINBS1_99	0.364	1.000	0.000	0.294	RsaINBS5A6_80	0.364	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_154	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_115	1.000	1.000	1.000	0.647	MseINBS5A6_174	0.091	1.000	0.000	0.235	RsaINBS5A6_139	0.364	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_168	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_195	1.000	1.000	1.000	0.294	MseINBS1_266	0.000	1.000	0.000	0.118	RsaINBS1_83	0.545	0.000	0.000	0.000	
RsaINBS1_212-213	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_175	1.000	1.000	1.000	0.000	MseINBS1_334	0.000	1.000	0.000	0.176	RsaINBS5A6_81	0.182	0.000	0.000	0.059	
RsaINBS1_259	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_246	1.000	1.000	0.545	1.000	MseINBS5A6_82	0.636	0.500	1.000	1.000	RsaINBS5A6_293	0.182	0.000	0.000	0.059	
RsaINBS1_269	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_240	1.000	1.000	0.818	0.647	RsaINBS1_182	0.545	0.500	1.000	1.000	MseINBS1_275	0.273	0.000	0.000	0.118	
RsaINBS1_284	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_96	1.000	1.000	0.818	0.588	RsaINBS1_190	0.273	0.500	1.000	1.000	RsaINBS5A6_123	0.182	0.000	0.000	0.176	
RsaINBS1_301	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_231	1.000	1.000	0.818	0.000	RsaINBS1_438	0.273	0.500	1.000	1.000	RsaINBS5A6_318	0.182	0.000	0.000	0.176	
RsaINBS5A6_65	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_179	1.000	1.000	0.636	0.765	RsaINBS5A6_146	0.455	0.500	1.000	0.765	RsaINBS1_240	0.091	0.000	0.000	0.235	
RsaINBS5A6_72	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_205	1.000	1.000	0.636	0.235	RsaINBS1_311	0.273	0.500	1.000	0.765	RsaINBS5A6_84	0.182	0.000	0.000	0.235	
RsaINBS5A6_78-79	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_493	1.000	1.000	0.455	0.235	MseINBS1_97	0.545	0.500	1.000	0.529	RsaINBS5A6_104	0.182	0.000	0.000	0.235	
RsaINBS5A6_77	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_220	1.000	1.000	0.182	0.588	RsaINBS1_180	0.455	0.500	1.000	0.353	RsaINBS1_340	0.455	0.000	0.000	0.235	
RsaINBS5A6_191	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_236	1.000	0.500	1.000	0.471	RsaINBS1_172	0.636	0.500	1.000	0.353	RsaINBS5A6_366-367	0.545	0.000	0.000	0.294	
RsaINBS5A6_198-199	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_92-93	1.000	0.500	0.455	0.765	RsaINBS1_233	0.000	0.000	1.000	0.353	RsaINBS1_133	0.091	0.000	0.000	0.353	
RsaINBS5A6_215-216	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_313	1.000	0.500	0.000	0.235	MseINBS1_130	0.182	0.500	1.000	0.235	RsaINBS1_94	0.909	0.000	0.000	0.353	
RsaINBS5A6_252	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_137	0.636	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_150	0.091	0.000	1.000	0.235	RsaINBS5A6_219	0.545	0.000	0.000	0.412	
RsaINBS5A6_306-307	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_112	0.636	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_320-321	0.636	0.500	1.000	0.118	RsaINBS5A6_163	0.364	0.000	0.000	0.588	
RsaINBS5A6_327-328	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_64	0.455	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_165	0.364	0.500	1.000	0.000	RsaINBS5A6_114	0.455	0.000	0.000	0.647	
MseINBS5A6_433	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_139	0.182	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_112	0.000	0.000	0.000	0.118	RsaINBS5A6_187	0.182	0.000	0.182	0.000	
RsaINBS5A6_444	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_108	0.545	1.000	1.000	0.765	RsaINBS5A6_58	0.000	0.000	0.000	0.118	RsaINBS1_187	0.455	0.000	0.182	0.000	
MseINBS1_51	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_85	0.455	1.000	1.000	0.765	RsaINBS5A6_73	0.000	0.000	0.000	0.235	RsaINBS1_349	0.182	0.000	0.364	0.000	
MseINBS1_65	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_266	0.455	1.000	1.000	0.765	RsaINBS5A6_185	0.000	0.000	0.000	0.059	RsaINBS5A6_175	0.182	0.000	0.364	0.000	
MseINBS1_77	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_121	0.818	1.000	1.000	0.706	MseINBS1_288	0.000	0.000	0.545	0.000	MseINBS1_127	0.273	0.000	0.364	0.000	
MseINBS1_80	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_84	0.636	1.000	1.000	0.647	MseINBS1_395	0.000	0.000	0.545	0.000	RsaINBS1_168	0.727	0.000	0.364	0.000	
MseINBS1_86	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_340-343	0.091	1.000	1.000	0.647	RsaINBS1_91	0.000	0.000	0.455	0.000	RsaINBS5A6_120	0.182	0.000	0.455	0.000	
MseINBS1_92	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_252	0.000	1.000	1.000	0.529	MseINBS1_177	0.000	0.000	0.455	0.000	RsaINBS5A6_118	0.182	0.000	0.545	0.000	
MseINBS1_93	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_252-253	0.636	1.000	1.000	0.353	MseINBS1_500	0.000	0.000	0.455	0.000	MseINBS1_102	0.545	0.000	0.818	0.000	
MseINBS1_95	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_157	0.636	1.000	1.000	0.353	RsaINBS1_292	0.000	0.000	0.364	0.000	MseINBS1_141	0.182	0.000	0.364	0.235	
MseINBS1_110	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_223	0.000	1.000	1.000	0.353	MseINBS1_151	0.000	0.000	0.364	0.000	RsaINBS5A6_50	0.364	0.000	0.455	0.235	
MseINBS1_114	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_433	0.455	1.000	1.000	0.294	MseINBS1_366	0.000	0.000	0.364	0.000	RsaINBS1_162	0.091	0.000	0.364	0.353	
MseINBS1_118	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_124	0.727	1.000	1.000	0.059	RsaINBS1_491	0.000	0.000	0.545	0.118	MseINBS1_280	0.273	0.000	0.364	0.353	
MseINBS1_122	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_244	0.364	1.000	1.000	0.059	RsaINBS1_159	0.000	0.000	0.455	0.118	RsaINBS1_357-358	0.636	0.000	0.636	0.353	
MseINBS1_134	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_330	0.182	1.000	1.000	0.000	RsaINBS1_125	0.000	0.000	0.636	0.235	RsaINBS5A6_151	0.182	0.000	0.182	0.412	
MseINBS1_167	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS5A6_52-53	0.636	1.000	1.000	0.818	0.765	RsaINBS1_55	0.000	0.000	0.455	0.235	RsaINBS5A6_240	0.273	0.000	0.182	0.471
MseINBS1_172	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_207	0.364	1.000	1.000	0.818	0.118	RsaINBS5A6_143	0.000	0.000	0.182	0.412	RsaINBS5A6_149	0.818	0.000	0.636	0.765
MseINBS1_187	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_139	0.182	1.000	1.000	0.818	0.118	MseINBS1_200	0.000	0.000	0.364	0.471	RsaINBS5A6_213	0.182	0.500	0.000	0.000
MseINBS1_192	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_215	0.000	1.000	1.000	0.818	0.000	RsaINBS5A6_238	0.000	0.000	0.182	0.529	RsaINBS1_496	0.455	0.500	0.000	0.000
MseINBS1_203	1.000	1.000	1.000	1.000	RsaINBS1_333	0.455	1.000	0.636	0.471	RsaINBS1_145	0.000	0.500	0.000	0.000	RsaINBS1_441	0.818	0.500	0.000	0.000	
MseINBS1_212	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_153	0.455	1.000	0.636	0.412	RsaINBS1_224	0.000	0.500	0.000	0.000	RsaINBS5A6_224	0.364	0.500	0.000	0.235	
MseINBS1_228	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_83	0.182	1.000	0.636	0.059	RsaINBS1_281	0.000	0.500	0.000	0.000	RsaINBS1_194	0.909	0.500	0.000	0.235	
MseINBS1_232	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS1_324	0.000	1.000	0.636	0.000	RsaINBS1_288	0.000	0.500	0.000	0.000	MseINBS5A_687	0.182	0.500	0.364	0.000	
MseINBS1_238	1.000	1.000	1.000	1.000	MseINBS5A6_114	0.000	1.000	0.636	0.765	RsaINBS1_381	0.000	0.500	0.000	0.000	MseINBS1_57	0.182	0.500	0.455	0.000	
MseINBS1_256-257	1.00																			

Relazione tecnico scientifica sull'attività svolta all'interno delle contratto CNR-IBAF e CRA-PAV

Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria- Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale (PAV), Via C. G. Bertero 22, 00156 Roma, Italy

L'attività concernente l'inoculazione con *Gnomonia leptostyla*, agente dell'antracnosi del noce, di un campione di piante presenti all'interno degli impianti costituiti nell'ambito del prog. PRONOSTICO a Casalina e a Feccioli è iniziata con la rivitalizzazione dell'isolato virulento ISPaVe2000, già preventivamente usato. La metodica utilizzata è stata quella già sperimentata in precedenti studi di selezione di materiale e di indagine sulla resistenza a questo fungo in ambito del gen. *Juglans* (Belisario et al., 2008), incluso le prove d'infezione condotte per il prog. Juglone A questo proposito, il ceppo in questione è stato trasferito su piastre Petri contenenti agar-carota il 1 Aprile. Tale substrato è stato prodotto nel nostro laboratorio utilizzando carote biologiche, come da protocollo. La settimana successiva (8 aprile) sono state costituite le piastre madri dalle quali ottenere i tasselli di micelio per inoculare 80 piastre che rappresentano la base per l'ottenimento della sospensione conidica da spruzzare sulle piante campione. Il ceppo è stato incubato a 22°C al buio in termostato.

Le 80 piastre sono state seminate il 22 aprile. La formazione delle fruttificazioni conidiche è stata periodicamente monitorata essendo il fungo a lento accrescimento e scarsamente fruttificante *in vitro*.

Data la scarsità di formazione delle fruttificazioni ulteriori 30 piastre di agar-carota sono state seminate (17 maggio) con ISPaVe2000 per ottenere una quantità d'inoculo sufficiente ad inoculare un numero stimato di circa 60 piante di noce.

Il 19 maggio è stata fatto un sopralluogo per selezionare e cartellinare le piante oggetto d'inoculazione in entrambi gli appezzamenti di Casalina e Feccioli. Le piante si presentavano piuttosto piccole con sviluppo della chioma contenuto ma esenti da antracnosi e con sporadici attacchi di seccume fogliare lanuginoso causato dal fungo basidiomicete *Microstroma juglandis*, patogeno primaverile tipico della fase giovanile del noce (Belisario, 2005)

Il 22 giugno si è provveduto a produrre 4 litri di sospensione conidica ottenuta grattando le piastre con acervuli neri contenenti i conidi del fungo. La sospensione è stato filtrato attraverso un doppio

strato di garza sterile per impedire la presenza di impurità che potessero ostruire gli ugelli dei vaporizzatori. La sospensione conidica è stata titolata a 2×10^5 conidi/ml.

Il 23 giugno si è proceduto alla inoculazione delle piante presentemente cartellinate in entrambi gli impianti. La giornata si era presenta debolmente ventilata e con passaggi di nuvole che ne riducevano l'insolazione. Ciascuna pianta è stata spruzzata abbondantemente dal basso verso l'alto per favorire la penetrazione del fungo anche attraverso le aperture stomatiche presenti sulla pagina inferiore fogliare. La chioma di ciascuna pianta è stata chiusa in sacchi di polietilene trasparenti (60 x 70 cm) per favorire la germinazione dei conidi e la penetrazione del patogeno. I sacchetti sono stati assicurati al tutore di legno delle piante in modo da non essere a diretto contatto con la vegetazione. La rimozione dei sacchetti entro e non oltre le successive 48 ore. Tale operazione ed è stata affidata al personale locale che sovrintende ciascun impianto.

Ad un primo sopralluogo effettuato dall'esperto Sig. Moraldi (10 luglio) riferisce la presenza di seccume, ustioni ed allessature sulla vegetazione tenera della porzione apicale della chioma che potrebbe essere riconducibile ad un perdurare della copertura di plastica oltre quanto raccomandato in concomitanza di forte insolazione ed elevate temperature.

Lo stesso 10 luglio è stato nuovamente prelevato il ceppo ISPaVe2000 dal tubo di stoccaggio ed inoculate le piastre per iniziare un nuovo ciclo di produzione di inoculo in previsione di una seconda tornata di inoculazioni a settembre. Le 80 piastre sono state incubate alla luce alternata come preventivamente descritto, per indurre la formazione degli acervuli contenenti i conidi del fungo. Il 9 settembre sono stati preparati 4 litri di sospensione conidica alla concentrazione di 2×10^5 conidi/ml. La sospensione è stata stoccata in cella frigorifera alla temperatura di 6-8 °C. Il giorno successivo una aliquota è stata piastrata su agar-carota per saggiarne la vitalità/germinabilità dei conidi. I 4 litri sono stati utilizzati per inoculare le 60 piante per impianto selezionate in precedenza e precedentemente già soggette alla inoculazione di giugno. Inoltre, a Feccioli, circa 4 piante in più rispetto alla inoculazione di giugno sono state scelte per essere spruzzate in quanto aduggiate dalla fascia frangivento che potrebbe favorire lo sviluppo della malattia. La sintomatologia associata ad un inoculo tardivo si manifesta spesso con ampi seccumi fogliari. Possono essere presenti macchie brune alla periferia della foglia. Data la modalità di inoculazione l'accumulo di inoculo può provocare seccume della vegetazione bassa e macchie brune alla periferia della lamina fogliare.

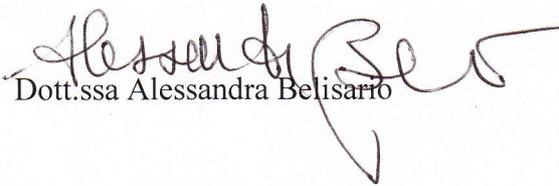
I rilievi eseguiti dal Sig. Moraldi il 18 settembre evidenziano un generale miglioramento dello stato vegetativo delle piante in entrambi gli impianti. Per quello che riguarda gli effetti della inoculazione praticata il 10 settembre in generale sono risultate più sensibili agli effetti necrotici della sospensione conidica le piante site a Casalina in quanto hanno una vegetazione più tenera e

lussureggiante, fattori che le rendono più sensibili verso un patogeno parenchimatico quale *Gnomonia leptostyla* (Belisario et al. 2008).

Dall'attenta osservazione del materiale fornito dal Sig. Moraldi si possono ritenere positive ad antracnosi per presenza di necrosi fogliari BAT1-3A, BAT 2-1A, HARTLEY 5A, ANS 5A, CHANDLER 6A, ANS 4A, HOWARD 6A, ANS 1A. A Feccioli, dove lo stato vegetativo delle piante è più contenuto e le foglie sono notevolmente più ispessite, si possono ritenere positive all'antracnosi SERR 7B, BAT 3-1-B, HARTLEY 6B, BAT 2-1-B. Inoltre, le necrosi fogliari osservate sulle piante inoculate della fila sotto la fascia frangivento possono essere dovute al patogeno la cui dannosità è stata aumentata dall'azione di aduggiamento della stessa fascia frangivento.

In data 21 ottobre è stato eseguito personalmente un sopralluogo presso i due impianti sperimentali per verificare la presenza, distribuzione e gravità di attacco di *Gnomonia leptostyla* (anamorfo *Marssonina juglandis*). Le macchie dovute all'attacco del patogeno fungino sono state rilevate pressoché su tutte le piante inoculate con una diversa intensità di sintomi sebbene non sia nota una variabilità apprezzabile di resistenza/suscettibilità a questo patogeno all'interno della specie *Juglans regia* (Belisario et al., 2008). Oltre alle necrosi dovute all'irrorazione dell'inoculo sono stati rilevati attacchi più recenti di antracnosi riconducibili alla dispersione dei conidi avvenuta dalle lesioni ottenute a settembre sulla nuova vegetazione. Infatti, mediamente occorrono 15 giorni per avere una successiva generazione fungina (Belisario et al., 2001). Sono stati rilevati anche attacchi di batteriosi dovuti a *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* batterio tipico di questa coltura che appetisce particolarmente la nuova vegetazione e i cui attacchi sono favoriti dalla presenza umidità ovvero di acqua libera sulla vegetazione e temperature sopra i 20°C.

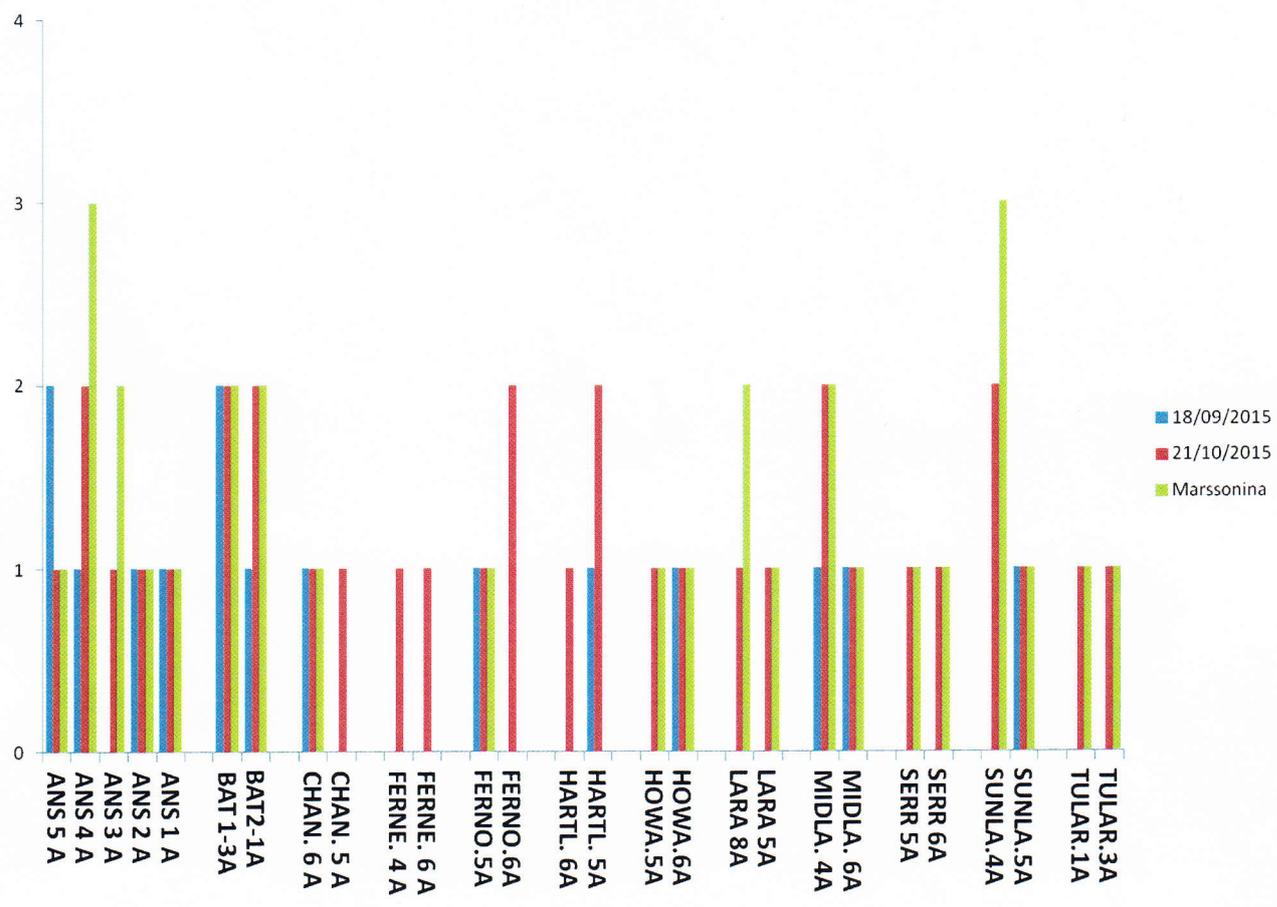
Si allegano alla presente relazione i grafici riguardanti le stime eseguite in campo, per entrambi gli impianti, della presenza di avversità ovvero generale stato di sofferenza (rilevata con scala da 0 a 2) e di presenza di antracnosi ossia lesioni da *Marssonina juglandis* (rilevata con scala da 0 a 4).


Dott.ssa Alessandra Belisario

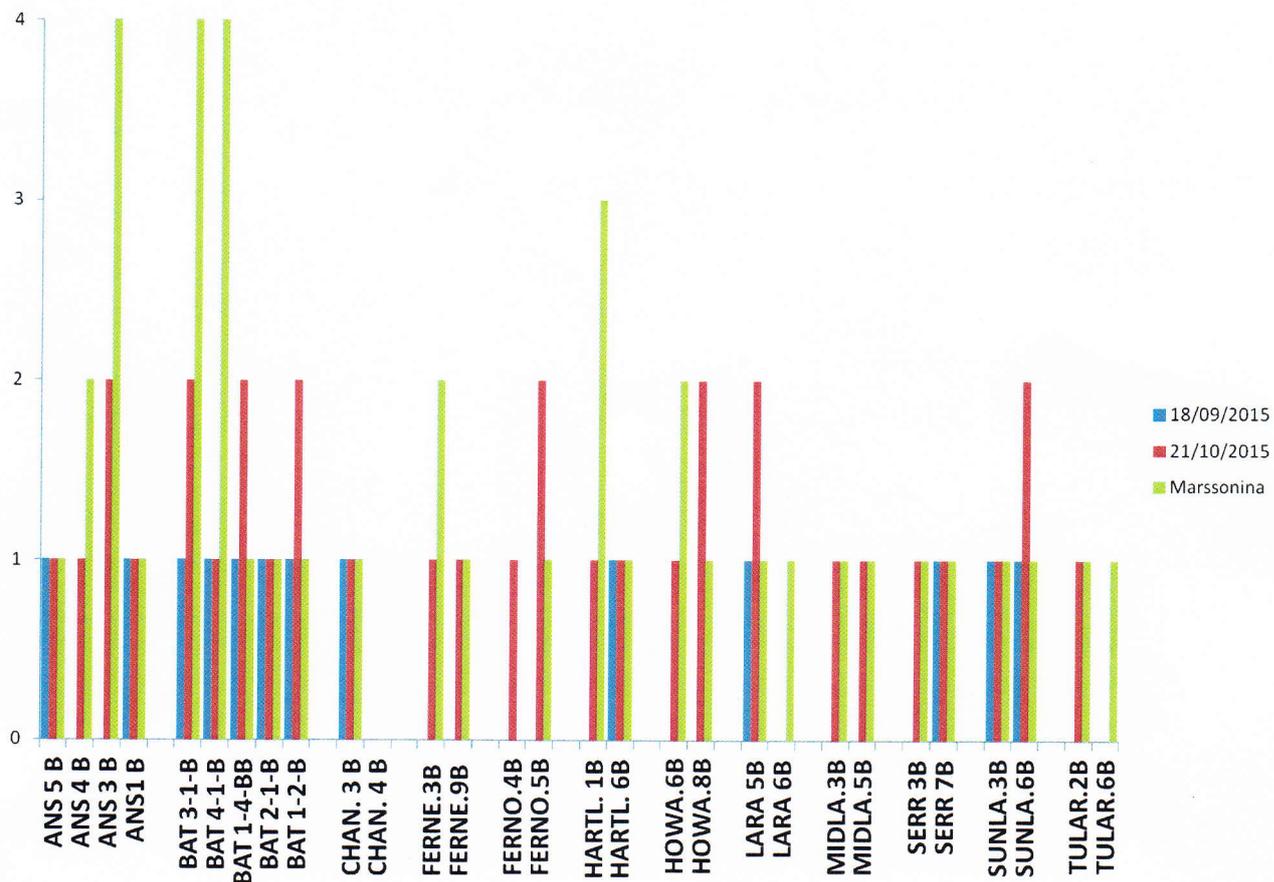
Bibliografia

- Belisario A., Zoina A., Forti E., Barbieri G., Valier A., 2001. Epidemiological surveys of *Gnomonia leptostyla* in *Juglans regia* hedgerow trained orchard. *Acta Horticulturae*, 544: 405-408.
- Belisario A., 2005. Aspetti di eziologia, epidemiologia e difesa delle principali avversità patologiche del noce in Italia. *Informatore Fitopatologico*, 7-8: 51-57.
- Belisario A., Scotton M., Santori A., Onofri S., 2008. Variability in the Italian population of *Gnomonia leptostyla*, homothallism and resistance of *Juglans* species to anthracnose. *Forest Pathology*, 38: 129-145. ISSN: 1439-0329

CASALINA



FECCIOLI



Dott. Emanuela Schiaffella

Relazione progetto ProNo.s.t.i.c.o. in Umbria

AZIONE 6.b) Gestione amministrativa e rendicontazione.

Struttura amministrativa. Dal punto di vista amministrativo e di rendicontazione, ogni organizzazione-partner è stato responsabile delle proprie spese, conformemente al budget stabilito per le proprie attività, e della propria rendicontazione finanziaria, fornendo regolarmente al Responsabile Amministrativo incaricato tutte le informazioni necessarie per un'eventuale verifica e per la rendicontazione finanziaria dell'intero progetto.

Al fine di rendere più efficiente ed efficace la gestione amministrativa del progetto, nonostante tutte le organizzazioni della partnership abbiano una pregressa esperienza e capacità consistente di gestione dei progetti PSR, il Responsabile Amministrativo ha realizzato e diffuso un vademecum - kit (Allegato n. 6.b.a) che ha condensato tutti requisiti legati al programma di finanziamento, contenuto un riassunto delle spese ammissibili e delle evidenze da allegare, riportato i modelli (fac-smile) per ottemperare alla rendicontazione finale. Inoltre, il Responsabile Amministrativo ha creato una organizzazione a latere al fine di individuare, per ogni partner, un referente amministrativo con cui si è confrontato costantemente per monitorare l'andamento, la rilevanza e l'allocatione nelle varie macro-voci delle spese e svolgere azione di supporto in caso di problemi e criticità emerse durante il progetto, attraverso. Tale ruolo è stato svolto attraverso briefing telefonici continui e costanti, briefing durante la riunione di partenariato del 14 Maggio 2015, visite in loco.

Il Responsabile Amministrativo, in accordo con il Responsabile Scientifico del progetto e con l'Amministrazione CNR-IBAF, ha avuto anche molti contatti con i referenti degli Uffici Regionali al fine di rendere più efficiente la gestione amministrativa del progetto e superare, nel rispetto delle normative regionali, alcune criticità emerse durante la realizzazione del progetto stesso.

Attività svolte

- Briefings iniziale e periodici con il coordinatore scientifico e raccolta documentale utile ai fini amministrativi
- Incontri con la referente della Regione Umbria per la rendicontazione del progetto, dott.ssa Ivana Stella, per chiarimenti in merito alle regole e modulistica del PSR
- Analisi e revisione del budget di pertinenza di ogni singolo partner, sulla base delle indicazioni contenute nel decreto dirigenziale regionale di approvazione D.D. 9726 del 25/11/2014

- Predisposizione modello di rendiconto coerentemente con le voci di spesa previste nel piano finanziario approvato
- Realizzazione di Linee Guida e modellistica di rendicontazione inviate ai partners per facilitare la tracciabilità delle attività e dei documenti contabili ed amministrativi (allegato 6.b.a)
- Supporto nel procedimento di ricerca di professionalità esterne
- Realizzazione di un format inviato ai partners ed agli esperti per il monitoraggio delle attività svolte (allegato 6.b.b)
- Supporto ai partners nella stesura del rendiconto finale, attraverso visite in loco e briefing telefonici
- Redazione del rendiconto finale del progetto, con annessa documentazione

Criticità emerse nella gestione amministrativa

Come sopra detto, tutti i partner hanno una esperienza pregressa nella gestione amministrativa dei progetti PSR molto consistente e, pertanto, dal punto di vista dei processi rendicontativi, non sono emerse criticità di alcun tipo. La tempistica del follow up in itinere e della rendicontazione finale è stata rispettata.

La necessità di prorogare le attività progettuali al 30 novembre 2015 ha determinato un conseguente slittamento nella consegna dei rendiconti finali da parte dei singoli partners al capofila, ma comunque in tempo utile per una verifica interna documentale.

Vanno segnalate, per quanto concerne il budget del Partner 1, CNR-IBAF, due criticità:

1. A causa della lenta ripresa vegetativa delle piante dopo la messa a dimora, ed inseguito, dello stato fisiologico aggravato dagli agenti climatici eccezionali che hanno inficiato il risultato della prima, più significativa infezione, si è reso necessario un aumento delle attività della patologia CREA-PAV con maggiori quantità di soluzione conidica di Gnomonia leptostyla. Inoltre sono stati necessari ulteriori e numerosi interventi e sopralluoghi in campo da parte degli esperti del CREA-PAV per controllare lo stato delle piante. Tali attività aggiuntive hanno comportato un allungamento dei tempi della collaborazione di un ulteriore mese, con conseguente aumento del costo della prestazione consulenziale da parte del CRA-PAV (Allegato 6.b.c)
2. Errori nei preventivi allegati in fase progettuale del fornitore Life Technologies avendo inserito tre prodotti, con specifiche codifiche, ma non pertinenti all'esecuzione dei marcatori molecolari funzionali NBS profiling previsti:
 - 10629186 PRIMER 25 NMOL TUBE (130 pb)
 - 4326333 CUST,5 AMINO OLIGOS 2 MEDIUM
 - 450006 CUSTOM PRISM PRIMER 80K PMOLES

Dopo un dettagliato chiarimento sulla tipologia di sintesi dei prodotti necessari, il fornitore dichiarava di non poter eseguire la fornitura in quanto non in possesso dei suddetti prodotti con la formula

richiesta. Pertanto, al fine di svolgere i test molecolari con i marcatori molecolari, è stata effettuata un'indagine di mercato individuando tre fornitori ai quali sono stati richiesti preventivi

- Custom DNA Oligo, purification HPLC, scala di sintesi 0.05 micromoli
- Modificazione al 5' Phosphorylation, scala di sintesi 0.05 micromoli
- Modificazione al 3' Amino-C3, scala di sintesi 0.05 micromoli

Quindi, si è provveduto all'ordinazione presso EUROFIN GENOMICS SRL (vedi allegato n. 6.b.d)

La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui

Pro.No.s.t.i.co. in Umbria

domanda SIAN n° 44750049304

LINEE GUIDA PER RENDICONTAZIONE DELLE SPESE

Sintesi della DGR 336 dell'11/4/2011 - PSR 2007/2013 Procedure per l'attuazione – Linee Guida

PSR Misura 1.2.4

I beneficiari devono utilizzare un sistema contabile distinto, oppure un'adeguata codificazione contabile che consenta di ottenere estratti riepilogativi, dettagliati e schematici di tutte le transazioni che sono oggetto di finanziamento, in modo da facilitare la verifica delle spese in fase di controllo. Le spese sono rendicontabili dalla data di inizio del progetto. Tutti i pagamenti dovranno essere effettuati con procedure che garantiscano la tracciabilità della transazione ed i costi dovranno essere documentati tramite fatture, buste paga o altra documentazione di valore equipollente intestata al richiedente beneficiario e recante l'indicazione del progetto (**OGGETTO: PSR per l'Umbria 2007/2013 - Misura 124, progetto Pro.No.s.t.i.co. in Umbria. domanda SIAN n° 44750049304**).

Rendicontazione della spesa

La rendicontazione della spesa deve essere trasmessa contestualmente alla presentazione da parte del Capofila della "domanda di pagamento" sul portale SIAN, con invio del cartaceo presso l'Ufficio periferico competente, nei modi e tempi previsti (30 ottobre 2015).

I giustificativi di spesa dovranno essere riportati nell'apposito modello (**ALLEGATO 1**). Relativamente alla rendicontazione delle spese, i costi sostenuti per l'attuazione del progetto dovranno essere documentati come segue:

a. Personale dipendente:

- dettaglio del costo orario del periodo di riferimento (con riferimento alle tariffe del CCNL applicato di cui dovrà essere fornita copia);
- lettera di incarico per il personale nella quale vanno riportati l'attività da svolgere, il periodo, le ore di attività da svolgere, l'importo complessivo imputato al progetto;
- buste paga del/dei dipendenti che hanno lavorato nell'ambito del progetto in questione;
- time-sheet compilato dal/dai dipendenti con indicazione delle ore di lavoro e delle attività svolte nelle giornate di riferimento (**ALLEGATO 2**);
- copia del bonifico bancario con il quale è stata saldata la busta paga;
- copia F24 (modello di quietanza) da cui si evince il versamento delle ritenute IRPEF e INPS, degli oneri sociali a carico dell'azienda ed eventuale IRAP;
- copia degli E/C bancari da cui risultano gli addebiti di cui sopra.

b. Collaboratori Coordinati a Progetto

- lettera di incarico per il personale nella quale vanno riportati l'attività da svolgere, il periodo, le ore di attività da svolgere, l'importo complessivo imputato al progetto;
- buste paga del/dei collaboratori che hanno lavorato nell'ambito del progetto in questione;
- time-sheet (**ALLEGATO 2**) compilato dal/dai collaboratori (con indicazione di una "x" in corrispondenza delle giornate di riferimento ed il dettaglio delle attività svolte (senza quindi indicazione di ore di lavoro));
- copia del bonifico bancario (contabile bancaria) con cui è stata saldata la busta paga;

- copia F24 (modello di quietanza) da cui si evince il versamento delle ritenute IRPEF ed INPS, degli oneri sociali a carico dell'azienda e dell'eventuale IRAP;
- copia degli E/C bancari da cui risultano gli addebiti di cui sopra.

c. Servizi resi da liberi professionisti (consulenze)

- contratto nel quale vanno riportati l'attività da svolgere, il periodo, l'importo complessivo imputato al progetto;
- fattura del consulente;
- copia del bonifico bancario (contabile bancaria) con cui è stata saldata la fattura;
- copia F24 (modello di quietanza) da cui si evince il versamento delle ritenute IRPEF (qualora il versamento venisse effettuato cumulativamente ad altri tributi analoghi, dovrà essere fornito un dettaglio dal quale risulti che l'importo della ritenuta relativa alla prestazione rendicontata è incluso nel totale del tributo versato) ;
- copia degli E/C bancari da cui risultano gli addebiti di cui sopra.

d. Acquisti vari

- fattura di acquisto;
- copia del bonifico bancario (contabile bancaria) con cui è stata saldata la fattura;
- copia degli E/C bancari da cui risultano gli addebiti di cui sopra.

Non sono eleggibili l'IVA sugli acquisti, gli interessi debitori, gli aggi, le spese e le perdite di cambio, le spese e gli oneri bancari, le spese per garanzie bancarie.

VARIANTI

Sono considerate varianti tutti i cambiamenti all'operazione approvata che comportino:

- variazione del beneficiario;
- variazione della sede dell'investimento;
- modifiche tecniche sostanziali degli interventi approvati;
- modifica della tipologia degli interventi approvati.

Le varianti, per essere ammissibili, devono essere preventivamente richieste al Responsabile del servizio cui compete l'istruttoria, tramite il Capofila.

Non sono considerate varianti le modifiche *non sostanziali*, se coerenti con gli obiettivi del programma e rappresentate dall'introduzione di più idonee soluzioni tecnico- economiche, fermi restando i limiti massimi di spesa e di contributo approvati ed i termini di realizzazione previsti. Si considerano modifiche non sostanziali quelle che comportano soluzioni tecniche migliorative di uno o più interventi ma che non comportino variazioni superiori al 10% della spesa ammessa per l'operazione; anche il cambio di preventivo, nell'ambito del 10% è considerata variante non sostanziale purché sia garantita la validità tecnico-economica del bene.

GESTIONE DEI FLUSSI FINANZIARI E MODALITÀ DI PAGAMENTO

Sono ammissibili i titoli di spesa per i quali i pagamenti sono stati regolati con:

- Bonifico o ricevuta bancaria (RISA). In allegato alle fatture, il beneficiario deve produrre copia del bonifico o della RISA, con riferimento a ciascuna fattura rendicontata. Nel caso di bonifico tramite home banking (al quale non fa seguito il rilascio della contabile dell'operazione da parte dell'istituto bancario), il beneficiario è tenuto a produrre la stampa dell'operazione da dove risulti la data, il numero della transazione eseguita, la descrizione della causale dell'operazione stessa ed il CRO. In ogni caso, è necessario produrre l'estratto conto rilasciato dall'Istituto di Credito di appoggio, ove sono elencati i movimenti bancari eseguiti; bollettino postale effettuato tramite conto corrente postale. Tale modalità di pagamento deve essere documentata dalla copia della ricevuta del bollettino postale o dell'estratto conto del conto corrente in originale. Nello spazio della causale devono

essere riportati in dati identificativi del documento di spesa di cui si dimostra il pagamento, quali: nome del destinatario, numero e data della fattura pagata, tipo di pagamento (acconto o saldo)

- Vaglia postale: tale forma di pagamento può essere ammessa a condizione che sia effettuata tramite conto corrente postale e sia documentata dalla copia della ricevuta del vaglia postale e dell'estratto del conto corrente in originale. Nello spazio della causale devono essere riportati in dati identificativi del documento di spesa di cui si dimostra il pagamento, quali: nome del destinatario, numero e data della fattura pagata, tipo di pagamento (acconto o saldo).
- Assegno bancario (modifica approvata con DGR 1914/2009): fotocopia dell'assegno (non è assolutamente valida la fotocopia della sola matrice) e copia dell'Estratto Conto da cui risulti l'addebito dell'assegno in questione.
- Il pagamento in contanti è ammesso per un controvalore di € 500,00 massimo e se è inequivocabilmente garantita la tracciabilità (ad es.: bonifico bancario richiesto mediante pagamento contanti allo sportello bancario). Non sono ammessi pagamenti fatti da soggetti diversi dal beneficiario e da intermediari finanziari sulla base di contratti di prestito non agevolato, che abbiano per oggetto esclusivo il bene o l'opera finanziata dall'operazione.

TEMPI E MODALITÀ DI RENDICONTAZIONE

I costi sostenuti e quietanziati dovranno essere riepilogati in un documento (**ALLEGATO 1**) e dovranno essere indicati attenendosi ai costi ed alle fasi di attività approvati dalla Regione Umbria. Il modello, costituito da due sezioni (dettaglio del costo del personale dipendente e dei collaboratori, distinto per fase di attività – dettaglio delle consulenze, materiale di consumo ed altro), dovrà essere compilato in tutti i campi indicati. Tale modello, con documentazione allegata, deve pervenire al Capofila **entro e non oltre il 20 ottobre 2015**.

Dovrà, inoltre, essere esibita la dichiarazione riportata in **ALLEGATO 3** (copia conforme all'originale).

Qualsiasi "scostamento" (relativo a varianti non sostanziali sopra indicate) tra i costi preventivati e quelli sostenuti dovrà essere opportunamente giustificato e riportato nella relazione relativa al SAL e al Saldo.

Alla luce degli elementi sopradescritti, si consiglia di procedere a stati d'avanzamento da sottoporre al capofila, al fine di evitare dimenticanze, errori, eventuali non corrispondenze di costi con il budget approvato.

Si può chiedere un acconto, la cui entità viene stabilita in rapporto alla spesa sostenuta per l'avanzamento nella realizzazione dell'operazione e per un importo non inferiore al 50% dell'aiuto accordato. La richiesta è, quindi, subordinata alla presentazione di un SAL (Stato di Avanzamento Lavori) composto da una relazione tecnica e una rendicontazione della spesa con conseguente invio della Domanda di Pagamento.

Si può richiedere il saldo dopo che sono state portate a termine le attività previste dal progetto finanziato. La richiesta è subordinata alla presentazione del saldo composto di relazione tecnica e rendicontazione finale della spesa con conseguente invio della Domanda di Pagamento. Qualora la spesa rendicontata sia superiore alla spesa ammessa nel provvedimento di concessione, il contributo erogato non può comunque essere superiore al contributo originariamente concesso.

Qualora si verifichi un utilizzo scorretto dei fondi pubblici o un pagamento indebito (senza configurazione di grave reato) l'ente finanziatore provvederà:

- al recupero delle somme indebitamente percepite, maggiorate degli interessi legali alla segnalazione, se del caso, all'autorità giudiziaria per gli eventuali procedimenti penali;
- all'applicazione delle sanzioni ai sensi della legge 23/12/86 n. 898 e s.m.i.

Per quanto non riportato nella presente sintesi, si fa espresso riferimento all'allegato A alla DGR 336/2011.

Totale:		
----------------	--	--

Ripetere per ogni spesa per servizio autorizzata

Time-sheet mensile

P.S.R. Umbria 2007/2013 Misura 1.2.3. - Domanda n. 44750049304

Progetto	La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terrer
Acronimo	Pro.No.s.t.i.c.o. in Umbria
Nome partner	
Nome dipendente	
Contratto	tempo indeterminato
	tempo determinato
	a progetto
Anno	2014
Mese	Novembre

Giorno	Attività		Fase tematica
	Ore	Descrizione del lavoro	
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
Totale ore	0		

Data _____

Firma del Dirigente o Responsabile del Personale del Partner

Visto Legale Rappresentante dell'aggregazic

Timbro

Timbro

Allegato 3

Carta intestata del partner

Spett.le
Regione Umbria
Servizio Servizi alle imprese e politiche
per l'innovazione in ambito agroindustriale e forestale

Il sottoscritto _____ in qualità di Legale
Rappresentante della ditta/società/azienda _____
con sede in _____
C.F. _____ P. IVA _____
ai sensi dell'art 47 del DPR 445/2000

DICHIARA

che la documentazione allegata a supporto della rendicontazione della spesa è copia conforme agli originali conservati agli atti della ditta/società/azienda.

In fede

Data

Timbro e firma

Allegare copia del documento di identità

Piano di Sviluppo Rurale per l'Umbria 2007/2013 – Asse 1

– Misura 1.2.4

Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nei settori agricolo e alimentare ed in quello forestale

La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui

Pro.No.s.t.i.co. in Umbria

SIAN 44750049304

REPORT INTERMEDIO DI STATO AVANZAMENTO DEI LAVORI E DELLE SPESE

Caro Partner,

ai fini del monitoraggio del progetto Pro.No.s.t.i.co , è stato predisposto il presente modello di report nel quale sono state riportate le varie attività previste in fase progettuale. Ti preghiamo, a tale scopo, di indicare le attività svolte (cliccando sul pulsante corrispondente) fino alla data del 15 giugno 2015. Inoltre, è necessaria una sintesi delle attività realizzate, nonché delle eventuali divergenze rispetto a quanto previsto in progetto, delle problematiche riscontrate e delle soluzioni adottate; ti preghiamo di scrivere tali informazioni nell'apposito spazio in corrispondenza del rigo dell'azione di riferimento.

Allegato 6.b.b

Infine, come anticipato nella riunione del 14 aprile 2015, è opportuno monitorare lo stato di avanzamento del budget a disposizione. Pertanto, ti chiediamo di inserire, in corrispondenza di ciascuna macrovoce, l'importo delle spese effettuate fino al 15 giugno 2015 e, eventualmente, le osservazioni che ritieni sia opportuno portare a conoscenza al coordinatore.

Ti preghiamo di inviare il presente modello, compilato in ogni sua parte, entro e non oltre venerdì 3 luglio 2015, al seguente indirizzo di posta elettronica: e.schiaffella@gmail.com.

Grazie per la collaborazione

Dott.ssa Maria Emilia Malvolti, coordinatore scientifico

Dott.ssa Emanuela Schiaffella, referente amministrativo

Partner : Fare clic qui per immettere testo.

Referente: Fare clic qui per immettere testo.

Data di compilazione: Fare clic qui per immettere una data.

<i>Azioni</i>	<i>Ruoli partners</i>	<i>Realizzate</i>	<i>% di realizzazione</i>	<i>Sintesi, problematiche, soluzioni</i>
AZIONE 1: Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale	Unità Operativa: UmbraFlor Ruolo svolto da ogni partner: scelta delle cultivar e acquisto varietà individuate	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
AZIONE 2: Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni e per la messa a dimora delle piante	Unità Operativa: UmbraFlor - FIA Ruolo svolto da ogni partner: operazioni colturali di preparazioni terreni ed impianto	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
AZIONE 3: Pratiche culturali e gestione degli impianti	Unità Operativa: UmbraFlor - FIA Ruolo svolto da ogni partner: cure colturali post impianto elaborazione dati rilevamento in campo per rendiconto progetto	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
AZIONE 5: Divulgazione dei risultati e attività	Unità Operativa: Parco 3°	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.

dimostrative

Ruolo svolto nell'ambito del progetto: Diffusione dei risultati

PARTNER

VOCI DI SPESA	CF - CNR-IBAF		P2 - 3A Parco Tecnologico		P3 - Umbraflor		P4 - Fondazione Agraria	
	A Budget	A consuntivo 15-6-2015	A Budget	A consuntivo 15-6-2015	A Budget	A consuntivo 15-6-2015	A Budget	A consuntivo 15-6-2015
Personale tempo indeterminato, determinato e o contratto	66.688,87		7.685,00		11.930,09		16.017,28	
Consulenze Acquisto beni e servizi e altro	40.824,98		1.600,00		3.906,88		3.355,00	
Totale	107.513,85		9.285,00		15.836,97	€ 000,00	19.372,28	

Osservazioni e comunicazioni inerenti il budget

Fare clic qui per immettere testo.

Piano di Sviluppo Rurale per l'Umbria 2007/2013 – Asse 1 – Misura 1.2.4

Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nei settori agricolo e alimentare ed in quello forestale

La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui

Pro.No.s.t.i.co. in Umbria

SIAN 44750049304

REPORT INTERMEDIO DI STATO AVANZAMENTO DEI LAVORI

Caro collaboratore/esperto,

ai fini del monitoraggio del progetto Pro.No.s.t.i.co , è stato predisposto il presente modello di report nel quale sono state riportate le attività, di cui nel Vostro incarico, previste in fase progettuale. Ti preghiamo, a tale scopo, di indicare le attività svolte (cliccando sul pulsante corrispondente) fino alla data del 15 giugno 2015. Inoltre, è necessaria una sintesi delle attività realizzate, delle problematiche riscontrate e delle soluzioni adottate; ti preghiamo di scrivere tali informazioni nell'apposito spazio in corrispondenza del rigo dell'azione di riferimento.

Allegato 6.b.b

Ti preghiamo di inviare il presente modello, compilato in ogni sua parte, entro e non oltre venerdì 3 luglio 2015, al seguente indirizzo di posta elettronica: e.schiaffella@gmail.com.

Grazie per la collaborazione

Dott.ssa Maria Emilia Malvolti, coordinatore scientifico

Dott.ssa Emanuela Schiaffella, referente amministrativo

Collaboratore/esperto : Fare clic qui per immettere testo.

Data di compilazione: Fare clic qui per immettere una data.

Allegato 6.b.b

<i>Attività</i>	<i>Realizzate</i>	<i>% di realizzazione</i>	<i>Sintesi, problematiche, soluzioni</i>
4.a) Campionamento (vivaio) foglie sul piante destinate all'allestimento delle due piantagioni	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
4.b) Analisi genetica materiale campionato per differenziare le cultivar e verifica identità clonale entro ciascuna cultivar destinata alle due piantagioni (in laboratorio)	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
4.c) Rilevamento caratteri morfologici delle piante nei due siti di impianto (consulenza esperto impianti noce da frutto)	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
4.d) Infezione artificiale con conidi di <i>Gnomonia leptostyla</i> degli individui di ciascuna cultivar e dei genotipi considerati tolleranti impiegati per gli impianti (consulenza dell'esperto patologo) (vivaio)	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
4.e) Osservazione/verifica attecchimento malattia sulle diverse piante (consulenze esperto patologo e esperto esperto impianti noce da frutto) (vivaio)	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.

Allegato 6.b.b

4.f) Campionamento (vivaio) genotipi colpiti dalla malattia e controlli non infettati (cloni medesime cultivar/genotipi presenti negli impianti)	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.
4.g) Analisi NBS profiling (in laboratorio) per test genetici piante suscettibili/resistenti all'antracnosi e ottenimento dei risultati	<input type="checkbox"/>	Scegliere un elemento.	Fare clic qui per immettere testo.



Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale

Via Marconi 2, 05010 Porano (TR), Italy

Tel. (+39) (0)763 374 911 - 927

Fax: (+39) (0)763 374 980

E-Mail:segreteria@ibaf.cnr.it

CIG:Z7713F0CB0

CONTRATTO DI CONSULENZA

TRA

l'Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (in seguito indicato come Committente) partiva I.V.A. n. 02118311006, diretto dal Dr. Angelo Massacci, domiciliato per la sua carica presso la sede dell'IBAF, in Viale Marconi 2, 05010 Porano (TR) legittimato a sottoscrivere il presente contratto di ricerca,

E

il Centro di ricerca per la Patologia Vegetale (CRA-PAV) del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (in seguito indicata come Contraente), partiva I.V.A. n. 08183101008, rappresentata dalla Dr.ssa Barba Marina, Direttore CRA-PAV, domiciliato per la sua carica presso la sede del CRA PAV in Via C. G. Bertero 22, 00156 ROMA in qualità di legale rappresentante legittimato a sottoscrivere il presente contratto,

PREMESSO

- che con Determina Dirigenziale n. 9726 del 25/11/2014 la Direzione Regionale Risorsa Umbria della Regione Umbria ha concesso al Committente un finanziamento per la realizzazione del progetto "La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui" - Pro.No.s.t.i.co. in Umbria - SIAN 440750049304 nell'ambito del Programma di Sviluppo Rurale per l'Umbria 2007-2013 - Asse 1 Misura 1.2.4. 8 (D.D. n. 3054 del 18/04/2014) approvato con D.D. 9726 del 25/11/2014 - Approvazione graduatoria 4° Bando, **Codice CUP B55I15000000002** per il quale il Committente svolge il ruolo di coordinamento;
- che la Dr.ssa Malvolti Maria Emilia, Ricercatore in servizio presso il Committente, svolge nell'ambito del progetto "Pro.No.s.t.i.co. in Umbria" il ruolo di Responsabile Scientifico;
- che il Committente, già in fase progettuale, nella persona della dott.ssa Maria Emilia Malvolti fece richiesta al Contraente, in data 30/05/2014, di disponibilità a svolgere una consulenza patologica nell'ambito del progetto suindicato e di indicare la conseguente offerta economica;
- che il Contraente, a seguito del punto precedente, con Nota Prot. 35362 del 03/06/2014, nella persona della dott.ssa Marina Barba, Direttore dell'Istituto CRA-

PAV comunicò la disponibilità a svolgere le attività di consulenza richieste, individuando, nella persona della Dr.ssa Belisario Alessandra, il referente scientifico delle richieste attività di consulenza patologica, per un importo pari a 5.000,00 Euro + IVA;

- che il Committente, nella persona della Dott.ssa Maria Emilia Malvolti, in qualità di Responsabile Scientifica del progetto suindicato, a seguito di un sopralluogo nei campi sperimentali presso Umbraflor e Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia, in considerazione delle caratteristiche pedoclimatiche tipiche delle valli ombre in rapporto alle conoscenze ecofisiologiche e fenologiche della specie *J. regia* in fase giovanile, ritiene opportuno, ai fini del raggiungimento del risultato previsto in fase progettuale, effettuare due inoculi, con conidi del ceppo Gnomonia leptostyla-ISPave2000 del CRA-PAV, anziché il singolo previsto in progetto;
- che, in virtù di quanto sopra, il Responsabile Scientifico, dott.ssa Maria Emilia Malvolti, ha stimato un allungamento dei tempi della consulenza di almeno un ulteriore mese, oltre ai due già previsti, ed una maggiore quantità di soluzione conidica;
- che, per l'esecuzione di detta ulteriore attività, modificata nei termini sopra descritti, si offre una cifra aggiuntiva di € 3.000,00 + IVA, per un totale, pertanto, di 8.000,00 Euro + IVA, a valere sul budget del Committente (CNR – IBAF) del progetto Pro.No.s.t.i.co. in Umbria;

**TUTTO CIÒ PREMESSO,
SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE:**

Art. 1 – Oggetto del Contratto di Consulenza

Il Committente affida al Contraente, che accetta, l'esecuzione della consulenza esterna per effettuare inoculi nei due campi sperimentali, previsti nel progetto Pro.No.s.t.i.c.o., sulle piante in loco, conseguenti osservazioni delle infezioni e valutazioni fitopatologiche mirate alla identificazione di genotipi resistenti/tolleranti alla malattia; raccolta dati e prima elaborazione in collaborazione con il Committente.

Art. 2 – Referenti dei contraenti

I referenti designati dalle parti per la gestione del presente contratto sono:

- per il **Committente** la Dr.ssa Maria Emilia Malvolti
- per il **Contraente** la Dr.ssa Alessandra Belisario

Art. 3 – Durata del Contratto di consulenza

Il presente contratto ha decorrenza dalla data di firma, e si concluderà entro il 30/09/2015.

Art. 4 – Corrispettivo

Per l'esecuzione delle attività indicate all'art. 1 della presente scrittura, in relazione a quanto indicato in premessa e a quanto previsto per la voce di spesa "Consulenza esterna altamente specialistica esperto patologo CRA-PAV, Roma" del Decreto di Finanziamento della Regione Umbria, il **Committente** corrisponderà al **Contraente** la somma di € 8.000,00 al netto di IVA per la prestazione richiesta, dietro emissione di fattura;

La somma indicata comprende tutti i costi che il Contraente sosterrà per l'esecuzione delle attività previste.

Art. 5 – Modalità di Pagamento

La somma, di cui all'art. 4, verrà erogata al Contraente secondo le seguenti modalità:

- Saldo alla consegna del report dell'attività svolta e dietro emissione di fattura;
- Gli importi verranno corrisposti al Contraente mediante bonifico bancario, presso la Banca Nazionale del Lavoro C/C 218660 cod. ABI 01005, cod. CAB 03382, Filiale di Roma Centro, Via S. Nicola da Tolentino, 67 00187 Roma, bonifico ORDINARIO, (o sul conto di Tesoreria n. 79347) indicando nella causale la sigla della struttura a favore del quale lo stesso viene effettuato (**CRA-PAV**), e il numero di fattura oltre alla descrizione che deve essere al massimo di 10 caratteri. Tutto questo previa presentazione degli estremi del conto dedicato e la dichiarazione sostitutiva requisiti ai sensi del DPR 445/2000 allegato alla presente;

Art. 6 – Risultati

I risultati della consulenza prestata saranno oggetto di comuni pubblicazioni scientifiche e verranno disseminati e valorizzati, secondo quanto previsto nel progetto suindicato.

Art. 7 – Responsabilità

Il Contraente esonera il Committente da ogni e qualsiasi responsabilità per eventuali danni od infortuni, che possano derivare da tutte le attività e dai risultati connessi con le prestazioni commissionate con il presente atto.

Art. 8 - Risoluzione

In caso di inadempienza grave colposa di una delle parti, il presente contratto potrà essere risolto ai sensi del codice civile; in tal caso, al Contraente spetterà il rimborso delle spese sostenute per l'attività svolta fino alla data di risoluzione del contratto stesso.

Art. 9 – Foro competente

Qualora insorgano questioni relative ad interpretazioni o all'esecuzione del presente atto, le parti si impegnano a perseguire la soluzione in via amministrativa, preliminarmente rispetto alla proposizione di azioni giudiziali.

Nel caso in cui non fosse possibile raggiungere in questo modo l'accordo, per ogni eventuale vertenza che dovesse sorgere tra le parti, il Foro competente sarà il Tribunale di Terni.

Art. 10 – Oneri fiscali

Il presente atto è esente da bollo ai sensi dell'art. 16 della tabella allegato "B" al D.P.R. 26 ottobre 1972, n. 642 e successive modificazione; il presente atto verrà sottoposto a registrazione in caso d'uso a cura e spese del Contraente.

Letto, confermato e sottoscritto

Porano, 01/04/2015

Per il C.N.R. - IBAF
Il Direttore
Dott. Angelo Massacci

Per il CRA-PAV
Il Direttore
Dott.ssa Barba Marina



Angelo Massacci

IBAF - CNR - IBAF	
Tit.	F.
Ci.	
N. 0001083	07/04/2015
	

Allegato 6.b.d

Giustificazione:

In fase di progettazione, al fine di limitare le Ditte fornitrici dei prodotti necessari per i test di laboratorio e semplificare la procedura degli ordini, si erano richiesti alla LifeTechnology i seguenti prodotti:

- **Modified DNA Oligos, modificazioni al 5' Phosphorylation ed al 3' Amino-C3, scala di sintesi 0.05 micromoli.**

La ditta aveva risposto di poterli fornire fornendo i seguenti codici e quindi erano stati messi in preventivo:

- 1- Cod . 10629186 primer 25 nmol Tube (130bp)
- 2- Cod. 4326333 Cust, 5 amino Oligos 2 Medium
- 3- Cod 450006 Custom Prism Primer 80K pmoles

Le caratteristiche dei prodotti dichiarate da Life Technology non furono verificate in fase progettuale perché erano state dettagliate nella richiesta fatta e quindi date per scontate. In fase di ordine dei prodotti per i test genetici, la Dott.ssa PhD Paola Pollegioni, vincitrice del bando Bando CNR-IBAF N° 01/2015/TR, massima esperta in marcatori molecolari neutrali e funzionali su *Juglans* spp. e attualmente unica ricercatrice in grado di applicare la tecnica NBS profiling approach in *Juglans regia*, denunciava che i prodotti della Life Technology sopra elencati non erano idonei per svolgere le analisi previste dal progetto. Tali prodotti non includevano oligos modificabili **all'estremità 3' con il gruppo amminico (3NHC3)**, modifica questa indispensabile per la corretta riuscita dell'NBS-profiling, ma oligos modificabili al 5'. Pertanto, si è resa necessaria la ricerca di una ditta in grado di fornire i reagenti appropriati. Sulla base delle esperienze nel campo dei marcatori molecolari funzionali acquisite a livello internazionale dalla Dott.ssa Pollegioni, è stata identificata, dopo aver chiesto tre preventivi a tre ditte, la **Eurofins Genomics SRL** (via Bruno Buozzi, 20090 Vimodrone, Milano) come la ditta più idonea ed economicamente vantaggiosa per la sintesi degli oligos richiesti. Ovviamente i reagenti "sbagliati" della Life Technology non sono più stati ordinati.

Dott.ssa Maria Emilia Malvolti

(Responsabile scientifico del Progetto Pro.No.s.t.i.c.o. in Umbria)



PSR UMBRIA 2007-2013 ASSE 1 MISURA 124 – COOPERAZIONE PER LO SVILUPPO DEI NUOVI PRODOTTI, PROCESSI E TECNOLOGIE NEI SETTORI AGRICOLO E ALIMENTARE E IN QUELLO FORESTALE.

RELAZIONE FINALE DELLE ATTIVITÀ SVOLTE

PROGETTO

**“LA COLTIVAZIONE DEL NOCE DA FRUTTO IN UMBRIA PER LA
PRODUZIONE DI NOCI SU TERRENI IRRIGUI”**

Acronimo: “Pro.No.s.t.i.co. in Umbria”

Domanda n. 44750049304

N.32

Capofila: CNR – Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)

INDICE

Premessa.....	3
1. Attività svolte dalla 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria.....	4
1.1 Attività di diffusione dei risultati e organizzazione convegno finale.....	5
1.2 Attività dimostrativa	10

Allegato n.1 “Materiale divulgativo”

PREMESSA

La 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria nell'ambito del progetto “**La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui - Pro.No.s.t.i.co. in Umbria**” partecipa come partner con il ruolo di svolgere attività legate alla divulgazione del progetto e dei suoi risultati.

I costi sostenuti e rendicontati sono tutti riconducibili alle attività di seguito descritte e trovano riscontro con i documenti allegati alla rendicontazione della spesa.

Tabella n.1 Spesa rendicontata e spesa ammessa 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria

Totale spesa ammessa € 9.285,00 – Totale spesa rendicontata € 7.889,10

Azione/Fase progettuale di riferimento	Descrizione della spesa	Stato di realizzazione	Spesa Rendicontata	Spesa Ammessa
Attività di diffusione dei risultati e organizzazione convegno finale	Personale Senior	Conclusa	2.230,54	2.100,00
	Personale Junior	Conclusa	4.091,10	4.400,00
	Servizi (stampa inviti convegno, attività dimostrativa, locandine/manifesti, ideazione grafica dei materiali di diffusione e dei pagina web, stampa cartelline, Allestimento Sala)	Conclusa	150,00	500,00
	Servizi (realizzazione video per media regionali)	Conclusa	-	600,00
	Servizi (implementazione ed aggiornamento pagina Web del progetto all'interno del sito di 3APTA)	Conclusa	-	500,00
Organizzazione attività dimostrativa	Personale Senior	Conclusa	578,54	525,00
	Personale Junior	Conclusa	838,92	660,00
TOTALE			7.889,10	9.285,00

In considerazione del fatto che gli obiettivi del progetto sono stati raggiunti e che le maggiori spese sostenute (Personale Senior “Attività di diffusione dei risultati e organizzazione convegno finale”; Personale Senior e Junior “Organizzazione attività dimostrativa”) possono essere compensate con le minori spese sostenute per le altre voci previste dal progetto (Personale Junior “Attività di diffusione dei risultati e organizzazione convegno finale”; Servizi “stampa inviti convegno”; Servizi “Realizzazione video”; Servizi “Implementazione ed aggiornamento pagina Web del progetto

all'interno del sito di 3APTA”) si ritiene che le variazioni sopra descritte, debbano essere considerate non rilevanti ai fini della valutazione generale delle spese rendicontate e delle attività svolte.

La 3A-PTA durante lo svolgimento delle attività previste dal progetto in questione, per il raggiungimento degli obiettivi fissati, ha dovuto ridefinire il gruppo di lavoro, sulla base dei tempi e delle risorse assegnate dalla Regione Umbria. Questa operazione, nel rispetto del budget approvato dalla Regione Umbria, ha comportato una variazione dei tempi di lavoro rispetto alle previsioni originarie, così come di seguito specificato:

Personale senior impegno ore/uomo da 75,00 a 73,00

Personale junior impegno ore/uomo junior 230,00 a 200,00

Le attività svolte vengono descritte nei paragrafi che seguono.

1. ATTIVITÀ SVOLTE DALLA 3A-PARCO TECNOLOGICO AGROALIMENTARE DELL'UMBRIA

Nell'ambito del progetto la 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria ha curato le *“Attività di diffusione dei risultati e organizzazione convegno finale e l'organizzazione e attività dimostrativa”*. In particolare le attività di diffusione realizzate dalla 3A-PTA, hanno riguardato la predisposizione del materiale di comunicazione specifico per la Misura 1.2.4., la pubblicazione su internet delle informazioni relative allo svolgimento delle diverse fasi del progetto e la programmazione e progettazione degli eventi di diffusione previsti.

Nei paragrafi che seguono vengono descritte in dettaglio le attività ad oggi svolte.

1.1 ATTIVITÀ DI DIFFUSIONE DEI RISULTATI E ORGANIZZAZIONE CONVEGNO FINALE

Personale 3A-PTA: Bolzonella Paola, Capoccia Monica, Concezzi Luciano, Dorillo Alessia, Frattegiani Enrico, Ignazi Giorgio, Lini Marina, Mariotti Federico.

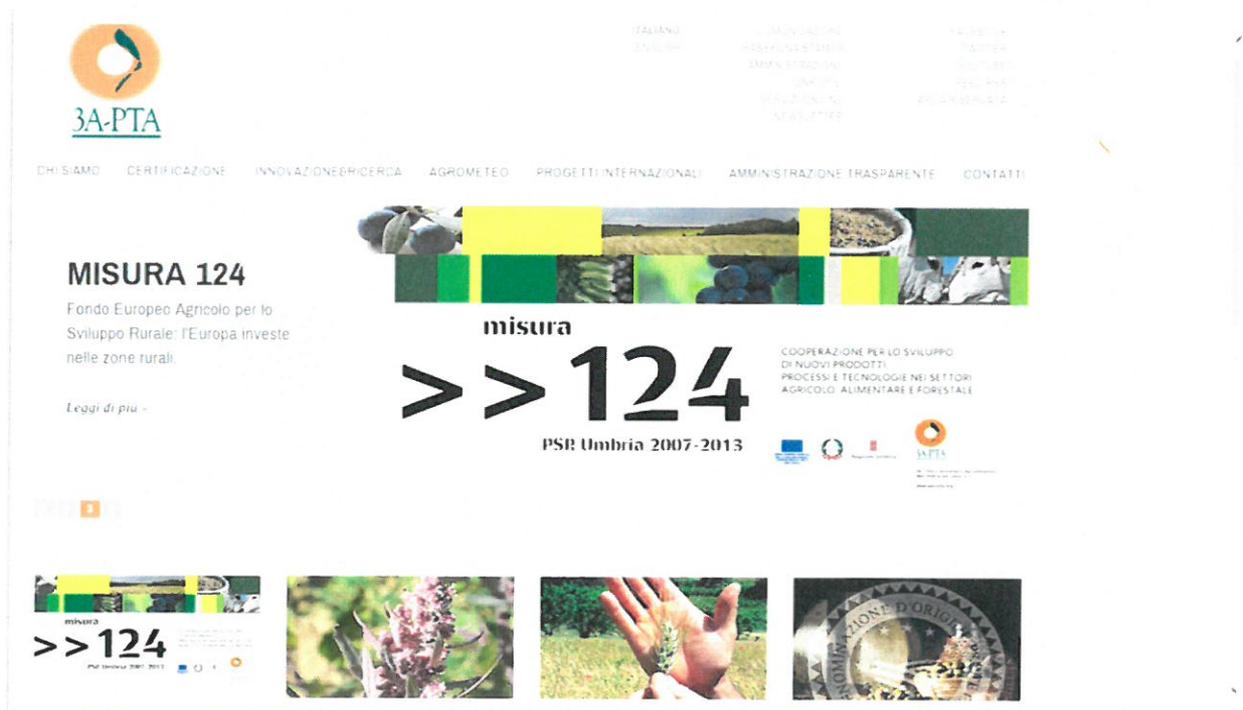
La 3A Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria ha curato le attività di diffusione dei risultati. In particolare è stata predisposta una specifica pagina web all'interno del sito www.parco3a.org, con le informazioni relative allo svolgimento ed alle finalità del progetto.

Nella fase di definizione della struttura delle pagine di introduzione e descrizione dei progetti è stato necessario uniformare il layout della pagina Web con quella già strutturata nella precedente programmazione cercando di mantenere una facile ed intuitiva navigazione per l'utente.

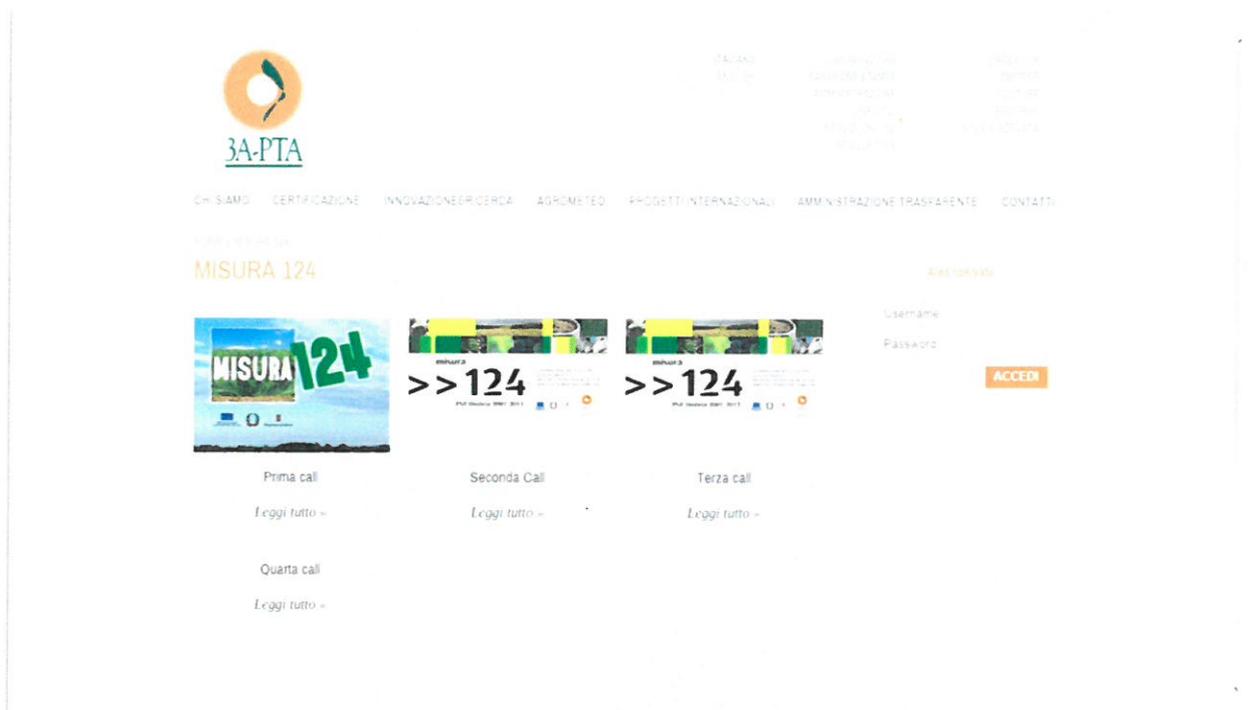
In particolare sono state necessarie numerose modifiche ed adeguamenti nel corso del tempo proprio per cercare di uniformare lo standard di informazione in base alle necessità e alle attività dello specifico progetto.

L'accesso alla pagina avviene direttamente dal portale della 3A-PTA, www.parco3a.org, con una specifica sezione dedicata ai progetti realizzati con la Misura 124 del PSR Umbria.

Immagini relative alle diverse sezioni web del progetto realizzate nel sito www.parco3a.org



Dalla Homepage, cliccando sullo specifico spazio “Misura 124” si accede ad una pagina dove è possibile accedere alla consultazione dei progetti realizzati in base alle differenti fasi di attivazione della Misura (Prima Call; Seconda Call; Terza Call; Quarta Call).



Successivamente, cliccando sulla “Seconda Call” si accede direttamente alla pagina web che riporta una descrizione generale della Misura 124 e l’elenco dei progetti approvati distinguendo quelli in cui la 3A-PTA è capofila e quelli condotti come partner.



I progetti condotti come partner sono stati raccolti in un’unica pagina di consultazione. Dalla pagina di consultazione generale si accede a quella specifica realizzata per il progetto in questione.



Nella pagina dedicata al progetto viene descritto in primo luogo il partenariato, l'obiettivo del progetto, le attività previste ed i risultati attesi. La pagina web è stata progettata per consentire l'inserimento di documenti di sintesi scaricabili dall'utente riguardanti le attività svolte o specifici eventi/articoli di diffusione e video realizzati nell'ambito del progetto.

L'aggiornamento della pagina web nel corso dello svolgimento delle attività progettuali, è avvenuta in seguito ai contatti diretti con i partner di progetto.

È stato inoltre predisposto del materiale di comunicazione relativo alla Misura 1.2.4. e la cartellonistica specifica, da apporre presso le sedi dei soggetti partner.

Più in dettaglio in riferimento a questa attività la 3A-PTA ha curato l'elaborazione dei contenuti multimediali e di comunicazione curando gli aspetti redazionali, grafici, audio e video (quando richiesti) e di multimedia publishing. Le attività riguardano incontri di briefing con gli sviluppatori (grafici, regista, montatore, tipografi, sviluppatori pagine web etc) oppure come nei casi di pubblicazioni a carattere scientifico o materiali particolari incontri con i gruppi di lavoro e commissioni tecniche a cui era affidato il lavoro. Gli incontri con gli sviluppatori hanno riguardato competenze di tipo tecnico (stesura testi per cartaceo, stesura testi per siti, regia) e quelli con i gruppi di lavoro invece di tipo progettuale (verifiche con gli esperti di contenuto, ideazione di formati, eventuali criteri per mobile, criteri accessibilità, editing multimediale).

Di seguito la sintesi del lavoro svolto per ogni materiale o attività di disseminazione:

- Applicazione delle norme di uniformazione come da progetto complessivo sulla Misura 124, relativa personalizzazione.
- Definizione e strutturazione degli argomenti.

- Analisi dei contenuti.
- Verifica delle citazioni e della bibliografia
- Preparazione dei materiali per l'impaginazione.
- Verifica e controlli stampa fino ad approvazione.
- Diffusione.

Relativamente all'organizzazione del convegno finale, nel periodo di riferimento della presente rendicontazione il personale della 3A-PTA ha avuto specifici incontri e contatti con i partner di progetto al fine di programmare e definire le modalità e le tempistiche per lo svolgimento di tale attività. Il giorno 11 Novembre 2015 presso la Rocca di Casalina, Deruta (PG), si è svolto il Convegno finale del progetto preceduto da un'attività dimostrativa che si è svolta in un appezzamento coinvolto dalla sperimentazione oggetto del progetto. Sono intervenuti i vari attori che hanno preso parte al progetto illustrando gli obiettivi e le attività realizzate.

Per saperne di più

CNR - Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)
Azienda Vivalistica Regionale UmbraFlor
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria - Soc. Cons. s.r.l.
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

PRONOSTICO



La coltivazione del noce da frutto
in Umbria per la produzione di
noci su terreni irrigui



COOPERAZIONE PER LO SVILUPPO
DI NUOVI PRODOTTI
PROCESSI TECNOLOGICI NEI SETTORI
AGRICOLA, ALIMENTARE E FORESTALE

CONVEGNO - ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA
Mercoledì 11 Novembre 2015 - ore 14.00
Rocca di Casalina
Deruta (PG)

Programma

- 14.00 **14.00** Inizio dimostrativa
Visita al campo di ricerca sperimentale
appuntamento presso sede di Casalina della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia
Via del Risorgimento n. 3, 06051 Casalina di Deruta (PG)
- 15.00 **15.00** Lo scenario di presentazione dei risultati
Salotti di Apertura
Francesco Panella
Vice-presidente della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia
- Interventi
 - La Mis. 124 del PSR per l'Umbria 2007-2013
Enrico Frattegiani
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria
 - Caratterizzazione genetica materiali
Paola Pollagioni
CNR-IBAF
 - Il Progetto Pronostico
Maria Emilia Malvetti
CNR-IBAF
 - Aspetti patologici
Alessandra Bellisario
CNR-IBAF
 - Problematrice sono da frutto nelle valli umbre
Emanuela Schiaffella
Consulente
 - 17.00 **17.00** Il dibattito con agricoltori e altri stakeholder
17.30 **17.30** Conclusioni
Giuliano Pelezani
Dirigente Servizio Politiche per l'Innovazione
e Filosofaria - Regione Umbria
- Aspetti vivaiistici/ risultati impianti noceto B
Sandro Vitali
UnistrarDeruta
- Alleanza/management/ risultati
impianto noceto A
Mauro Brunetti
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

OBIETTIVI

Realizzare in Umbria impianti comparati sperimentali di noce da frutto per valutare l'adattamento delle principali cultivar agli ambienti tipici delle valli umbre.

Valutare e saggiare il comportamento delle cultivar da frutto verso le principali malattie fungine e le infestazioni.

Valutare le cultivar più adatte ai particolari ambienti di fondo valle caratterizzati da elevata umidità e da intense escursioni termiche.

Caratterizzare i cloni delle diverse selezioni di noce da frutto ed individuazione precoce di piante sensibili/resistenti all'averosio mediante test genetici come strumenti di controllo sul materiale destinato agli impianti.

ATTIVITÀ PREVISTE

- Azione 1 Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla fruttificazione massiva anche in quelle di maggior rilavanzza attuale a livello regionale.
- Azione 2 Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione del terreno e della messa a dimora degli piante.
- Azione 3 Pratiche culturali e gestione degli impianti.
- Azione 4 Test genetici di resistenza/ tolleranza commercializzati di noce da frutto e di individui selezionati.
- Azione 5 Divulgazione dei risultati e attività dimostrative.
- Azione 6 Attività di gestione del patrimonio fitto, amministrativa e di rendicontazione.

RISULTATI OTTENUTI

- Costituzione di piantagioni comparative di noce da frutto in due diversi siti dell'Umbria.
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte agli ambienti.
- Caratterizzazione molecolare dei genotipi utilizzati per gli impianti su mediane marcatrici neutrali che funzionali.
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte per la nocicoltura massiva che si prevede possa espandersi prossimamente nelle valli umbre precedentemente ricche di nocicoltura.
- Il progetto con i suoi risultati sarà la migliore base preliminare propedeutica per le scelte che le istituzioni e gli agricoltori dell'Umbria si troveranno a dover affrontare nel caso vengano realizzati impianti specializzati intensivi di nocicoltura nella nostra Regione.



FOTO Convegno finale



1.2 ORGANIZZAZIONE ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA

Personale 3A-PTA: Bolzonella Paola, Capoccia Monica, Concezzi Luciano, Dorillo Alessia, Frattegiani Enrico, Ignazi Giorgio, Mariotti Federico.

Come descritto nel paragrafo precedente la 3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria si è occupata dell'organizzazione dell'attività dimostrativa che si è svolta in uno degli appezzamenti sperimentali di noce da frutto della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia partner del progetto. Tale attività, che ha preceduto il convegno finale, è organizzata al fine di dare evidenza della sperimentazione in corso ed in particolare un'occasione di confronto in campo con le aziende e gli operatori potenzialmente interessati.

Attività dimostrativa FOTO



ALLEGATO N.1

Materiale divulgativo

PRONOSTICO

Partenariato

CNR – Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)
Azienda Vivaistica Regionale UmbraFlor
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria - Soc. Cons. a.r.l.
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

www.moltydesign.com



COOPERAZIONE PER LO SVILUPPO
DI NUOVI PRODOTTI,
PROCESSI E TECNOLOGIE NEI SETTORI
AGRICOLO, ALIMENTARE E FORESTALE.



FONDO EUROPEO AGRICOLA
RURALE
ESTRORDINARIE
REGIONI A SVILUPPO
RURALE



Regione Umbria



3A - Parco Tecnologico Agroalimentare
dell'Umbria Soc. cons. a.r.l.

www.parc3a.org

La coltivazione del noce da frutto
in Umbria per la produzione di
noci su terreni irrigui

CONVEGNO - ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA
Mercoledì 11 Novembre 2015 - ore 14.00

Rocca di Casalina
Deruta (PG)

OBIETTIVI

Realizzare in Umbria impianti comparativi sperimentali di noce da frutto per valutare l'adattamento delle principali cultivar agli ambienti tipici delle valli umbre.

Valutare e saggiare il comportamento delle cultivar da frutto verso le principali malattie fungine epigee (es. antracosi).

Valutare le cultivar più adatte ai particolari ambienti di fondo valle caratterizzati da elevata umidità e da intense escursioni termiche.

Caratterizzare i cloni delle diverse selezioni di noce da frutto ed individuazione precoce di piante sensibili/resistenti all'antracosi mediante test genetici come strumenti di controllo sul materiale destinato agli impianti.

ATTIVITÀ PREVISTE

- Azione 1 Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale
- Azione 2 Individuazione dei luoghi d'impianto e preparazione del terreno e della messa a dimora delle piante
- Azione 3 Pratiche culturali e gestione degli impianti
- Azione 4 Test genetici di varietal/cultivar commerciali di noce da frutto e d'individui selezionati
- Azione 5 Divulgazione dei risultati e attività dimostrative
- Azione 6 Attività di gestione del partenariato, amministrativa e di rendicontazione



RISULTATI OTTENUTI

- Costituzione di piantagioni comparative di noci da frutto in due diversi siti dell'Umbria
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte agli ambienti
- Caratterizzazione molecolare dei genotipi utilizzati per gli impianti sia mediante marcatori neutrali che funzionali
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte per la nocicoltura intensiva che si prevede possa espandersi prossimamente nelle valli umbre prececcentemente caratterizzate dalla presenza della coltivazione del tabacco
- Il progetto con i suoi risultati sarà la migliore base preliminare propedeutica per le scelte che le istituzioni e gli agricoltori dell'Umbria si troveranno a dover affrontare nel caso vogliono realizzare impianti specializzati intensivi di nocicoltura nella nostra Regione.

Programma

> **14.00** Attività Dimostrativa
Visita al campo di noceto sperimentale
appuntamento presso sede di Casalina della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia
Via del Risorgimento n. 3, 06051 Casalina di Deruta (PG)

> **15.00** Convegno di presentazione dei risultati
Saluti di Apertura
Francesco Panella
Vice-presidente della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

> Interventi

La Mis. 124 del PSR per l'Umbria 2007-2013
Enrico Frattegiani
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria

Il Progetto *Pronostico*
Maria Emilia Malvolti
CNR - IBAF

Mercato internazionale noci da frutto
Emanuela Schiaffella
Consulente

Problematiche noce da frutto nelle valli umbre
Moreno Moraldi
Consulente

Aspetti vivaistici / risultati impianto noceto B
Sandro Vitali
Umbrafior Srl

Allestimento / management / risultati impianto noceto A

Mauro Brunetti
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

Caratterizzazione genetica materiali
Paola Pollegioni
CNR - IBAF

Aspetti patologici
Alessandra Belisario
CREA - PAV

> **17.00** Dibattito con agricoltori e altri stakeholders

> **17.30** Conclusioni
Giuliano Polenzani
Dirigente Servizio Politiche per l'Innovazione e Fitosanitarie - Regione Umbria

PRONOSTICO



La coltivazione del noce da frutto
in Umbria per la produzione
di noci su terreni irrigui

Partenariato

CNR - Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)
Azienda Vivalistica Regionale UmbraFlor
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria - Soc. Cons. a.r.l.
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

www.mdfdesign.com



COOPERAZIONE PER LO SVILUPPO
DI NUOVI PRODOTTI,
PROCESSI E TECNOLOGIE NEI SETTORI
AGRICOLO, ALIMENTARE E FORESTALE.



Regione Umbria



3A-Parco Tecnologico Agroalimentare
dell'Umbria Soc. Cons. a.r.l.
www.parc3a.org

CONVEGNO - ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA
Mercoledì 11 Novembre 2015 - ore 14.00
Rocca di Casalina
Deruta (PG)



Programma

- > **14.00** Attività Dimostrativa
Visita al campo di noceto sperimentale
appuntamento presso sede di Casalina della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia
Via del Risorgimento n. 3 - 06051 Casalina di Deruta (PG)
- > **15.00** Convegno di presentazione dei risultati
Saluti di Apertura
Francesco Panella
Vice-presidente della Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia
- > Interventi

La Mis. 124 del PSR per l'Umbria 2007-2013
Enrico Frattegiani
3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria

Il Progetto *Protesico*
Maria Emília Malvotti
CNR - IBAF

Mercato internazionale noci da frutto
Emanuela Schiaffella
Consulente

Problematiche noci da frutto nelle valli umbre
Moreno Moraldi
Consulente

Aspetti vivaietici / risultati impianto noceto B
Sandro Vitali
Umbrator Srl

Allestimento / management / risultati impianto noceto A
Mauro Brunetti
Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

Caratterizzazione genetica materiali
Paola Pollegioni
CNR - IBAF

Aspetti patologici
Alessandra Belisario
CREA - PAV

> **17.00** Dibattito con agricoltori e altri stakeholders

> **17.30** Conclusioni
Giuliano Polenzani
Dirigente Servizio Politiche per l'Innovazione
e Fitosanitarie - Regione Umbria

OGGETTIVI

Realizzare in Umbria impianti comparativi sperimentali di nocce da frutto per valutare l'adattamento delle principali cultivar agli ambienti tipici delle valli umbre.
Valutare e saggiare il comportamento delle cultivar da frutto verso le principali malattie fungine epigee (es. antracosi).
Valutare le cultivar più adatte ai particolari ambienti di fondo valle caratterizzati da elevata umidità e da intense escursioni termiche.
Caratterizzare i cloni delle diverse selezioni di nocce da frutto ed individuare precoce di piante sensibili/resistenti all'antracosi mediante test genetici come strumenti di controllo sul materiale destinato agli impianti.

ATTIVITÀ PREVISTE

- Azione 1 Individuazione ed innesto su portainnesto franco di origine italiana delle cultivar adatte alla frutticoltura intensiva scelte tra quelle di maggior rilevanza attuale a livello mondiale
- Azione 2 Individuazione dei luoghi di impianto e preparazione dei terreni o per la messa a dimora delle piante
- Azione 3 Pratiche culturali e gestione degli impianti
- Azione 4 Test genetici di variabilità/cultivar-commerciabili di nocce da frutto e di individui selezionati
- Azione 5 Divulgazione dei risultati e attività dimostrative
- Azione 6 Attività di gestione del territorio/noceto, amministrativa e di coordinamento

RISULTATI OTTENUTI

- Costituzione di piantagioni comparative di noci da frutto in due diversi siti dell'Umbria
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte agli ambienti
- Caratterizzazione molecolare dei genotipi utilizzati per gli impianti sia mediante marcatori neutrali che funzionali
- Valutazione preliminare sulle cultivar più adatte per la nocicoltura intensiva che si prevede possa espandersi prossimamente nelle valli umbre precedentemente caratterizzate dalla presenza della coltivazione del tabacco
- Il progetto con i suoi risultati sarà la migliore base preliminare propedeutica per le scelte che le istituzioni e gli agricoltori dell'Umbria si troveranno a dover affrontare nel caso vogliono realizzare impianti specializzati intensivi di nocicoltura nella nostra Regione.



PRONOSTICO



La coltivazione del noce da frutto in Umbria per la produzione di noci su terreni irrigui

CONVEGNO - ATTIVITÀ DIMOSTRATIVA
Mercoledì 11 Novembre 2015 - ore 14.00
Rocca di Casalina
Deruta (PG)

Partenariato

CNR - Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (CNR-IBAF)

Azienda Vivaistica Regionale UmbraFlor

3A-Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria Soc. Cons. a.r.l.

Fondazione per l'Istruzione Agraria in Perugia

misura
>> 124
PSR Umbria 2007-2013

COOPERAZIONE PER LO SVILUPPO DI NUOVI PRODOTTI, PROCESSI E TECNOLOGIE NEI SETTORI AGRICOLO, ALIMENTARE E FORESTALE.



FONDO EUROPEO AGRICOLO PER LO SVILUPPO RURALE L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI



Regione Umbria



3A - Parco Tecnologico Agroalimentare dell'Umbria Soc. cons. a.r.l.

www.parco3a.org