

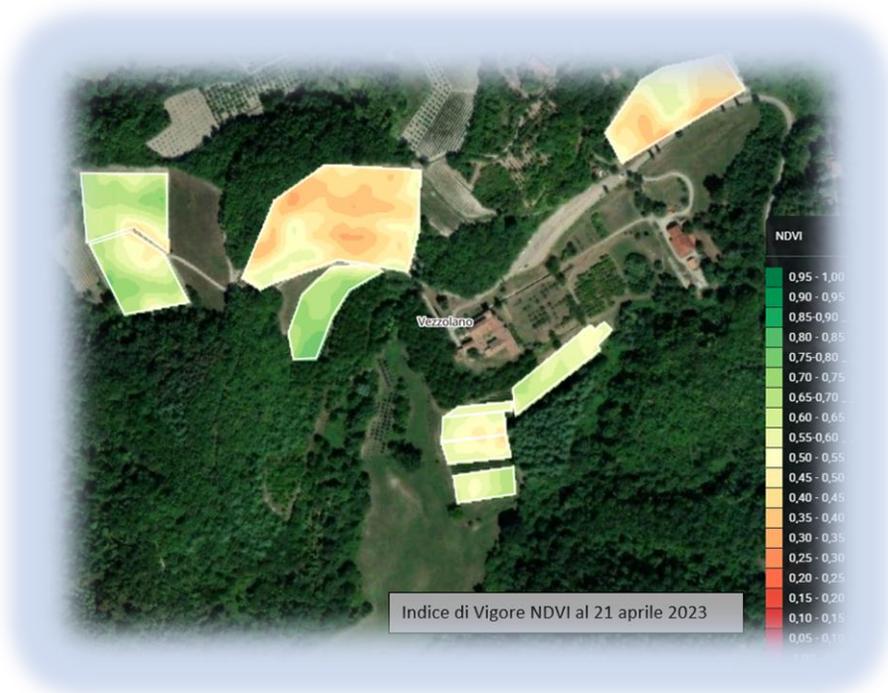
## **Valorizzazione di Vezzolano e Albugnano con le Ricerche dell'Accademia di Agricoltura- Anno 2022**

Nella collina può essere individuata una frontiera della sostenibilità. Il paesaggio collinare è un inestricabile intreccio di storia, cultura e natura; in un tale intreccio è la vera identità dell'agricoltura collinare Astigiana. Il Presidente Oreste Mattiolo portò l'Accademia di Agricoltura di Torino a riflettere sulle conoscenze di problemi e soluzioni di questi ambiti, sino a dover agire direttamente nell'azienda di Vezzolano, ricevuta in lascito dall'erede Serafino nel 1927. Il Consiglio Nazionale delle Ricerche procedette alla definizione delle tematiche più interessanti e alla conduzione operativa, nel quadro di una collaborazione fruttuosa che proseguì dal 1961. Un tema particolarmente sentito negli anni è quello della corretta gestione del territorio collinare in quanto può consentire di prevenire rischi per la collettività e dissesti ambientali piccoli e grandi. L'attenzione posta per le lavorazioni meccaniche del suolo non è stata pari all'attenzione rivolta alla sua fertilizzazione organica, che non è pura concimazione chimica. La crisi climatica sta minacciando gli equilibri fra suolo e pianta: un suolo impoverito di sostanza organica non è sostenibile contro l'erosione e l'infiltrazione dell'acqua; d'altronde la pianta sollecitata dalle alte temperature attiva processi metabolici che giungono ad offrire in "scambio" ai microbi del suolo sino al 30% (una costosa "*tassa di soggiorno*") delle risorse elaborate nelle foglie ma non trova una adeguata risposta alle sue esigenze di sviluppo perché mancano i microbi, che sono l'essenza della sostanza organica. Oggi abbiamo i mezzi per studiare il profilo microbico del suolo in presenza di radici viventi. Negli ultimi cinque anni l'Accademia ha sviluppato tecniche semplici per caratterizzare la risposta delle piante e del suolo ai biofertilizzanti (integratori microbici) e agli ammendanti (sostanze organiche di varia provenienza con più o meno microbi). Le medesime tecniche analitiche possono essere applicate allo studio dei territori (*terroirs*) in termini di bioattività e di biovariabilità del suolo. Circa il prodotto principale, l'uva, allo scopo di valutare dinamicamente la maturità fenolica delle uve rosse è stato realizzato un metodo rapido che esaminando direttamente i vinaccioli restituisce il rapporto fra i polifenoli non-estraibili (che aumentano nel tempo) e quelli estraibili (che diminuiscono). Siccome la foglia è la "fabbrica" dell'uva l'esame manuale dello spettro NIR – e anche il pH misurato nel picciolo - di poche foglie dà informazioni sulla maturazione in atto nelle uve. Inoltre, usando le quattro lunghezze d'onda dello spettro NIR presenti nei satelliti Sentinel-2 possiamo mappare in vigna la maturità fenolica a maglia di 10 metri ogni cinque giorni, uno strumento agile e interessante per la programmazione delle operazioni in vendemmia. Nel 2022 una serie di sette sperimentazioni svolte a Vezzolano e in luoghi diversi ma armonizzati alle stesse metodiche "*rapide*" ha consentito di ottenere risultati in corso con varie pubblicazioni. Nel 2023 si procederà ad alcune conferme con ampliamento ai due settori *terroir* e *maturità fenolica*.

**Torino 30 Maggio 2023**

**Il Presidente**

## RELAZIONE



## Obiettivi e Metodi

Le attività effettuate nel 2022 presso l’Azienda di Vezzolano, sono proseguite su filoni di ricerche e sperimentazioni condotte da tempo dall’Accademia di Agricoltura di Torino in collaborazione con il CNR-STEMS e altri Istituzioni Scientifiche. Questi filoni riguardano il **Suolo**, la **Pianta** e la **Qualità delle uve**.

### Il Suolo.

1. **Misurare la bioattività.** Un sistema di analisi rapide denominato Litterbag-NIRS è stato sviluppato dal 2018 dall’Accademia e dal CNR-IMAMOTER <sup>[1]</sup>. Questo sistema è stato concepito per dimostrare e studiare la biodiversità microbica del suolo in modo indiretto e semplificato, osservando cosa avviene in una sonda-tampone di materiale organico, nelle condizioni reali, ossia in-vivo e con presenza della coltura. Il litterbag consiste in una sonda di fieno “Alpino” macinato che rimane interrata per 60 giorni. Il residuo non è pesato, ma viene invece esaminato da uno spettrometro israeliano smart-NIR SCIO™, uno strumento sperimentato dall’Accademia dal 2016 per numerose ricerche. Le indicazioni enucleate dagli spettri NIR riguardano la velocità di trasformazione del fieno sotterrato, contaminato con i microrganismi trasportati dall’acqua (batteri), o penetrato da micelio fungino, o percorso da microabitanti del suolo o da radici. Alcune sostanze diminuiscono in percentuale (fibre della parete cellulare), altre invece aumentano (ceneri, proteina). Da un bilancio di 16 componenti dei litter emerge il grado di bioattività del

suolo rispetto alla sostanza organica. Numerosi esperimenti hanno consentito poi di stabilire alcuni modelli che applicati agli spettri NIR consentono una stima di altri parametri del suolo (capacità respiratoria, contenuto di NO<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub>) e la presenza di funghi micorrizici arbuscolari. Il metodo dei Teabags<sup>[2]</sup> utilizza due bustine di Tè rosso e Verde sotterrate per 90 giorni al fine di esprimere due parametri del fenomeno di decadimento ponderale. Secondo le nostre prime indicazioni - ottenute a Vezzolano e in prove collaterali nel 2022 - la scansione NIR dei residui del Tè è molto più istruttiva<sup>[3-4]</sup>. La misura della bioattività si applica innanzi tutto alle prove comparative, in cui i trattamenti applicati alle piante (Tesi) vengono confrontati ad un testimone non trattato (Controllo). Dall'esame dei Litterbags si scopre rapidamente e a costo minimo se la prova è valida, ossia se essa ha sviluppato un qualche effetto reale differenziando significativamente le Tesi. In caso positivo si può discutere sia il tipo di modifiche differenziali, sia decidere se approfondire le indagini con analisi costose del suolo o delle piante. Tuttavia, anche in assenza di un vero esperimento, ad esempio nella valutazione di suoli differenti per geografia e/o conduzione si può ottenere una panoramica della bioattività classificando e raggruppando le varie Tesi senza Controllo, anche fra anni diversi.

Uno sviluppo della metodica consentirà di associare agli spettri NIR dei litterbags e Teabags una previsione dei parametri enzimatici del suolo caratterizzanti il ciclo di alcuni elementi nutritivi (C, P, N, Ca)<sup>[4]</sup>.

2. **Integrare la biodiversità.** Ci si deve chiedere se la **biodiversità** del suolo corrisponde ad una differente **bioattività**. Nel mondo dei microrganismi del suolo non esiste una drastica separazione della specie genetica rispetto al ciclo degli elementi presenti, a partire dall'ossigeno. Portare con le lavorazioni una condizione aerobica – ossidativa – nel suolo favorisce i microbi “rapidi” ed accelera la decomposizione della sostanza organica. Gli stessi microbi posti in una condizione meno aerobica si difendono, cercando di favorire la loro riproduzione e conservazione, contenendo l'espansione vegetativa. In un suolo vitato si contano fino a 383 tipi genetici di batteri, raggruppati in 24 categorie (Phyla) e 423 di funghi divisi in 5 Phyla<sup>[5]</sup>. Come è possibile immaginare di intervenire efficacemente su un tale panorama incognito? Eppure, la tecnica ha portato in evidenza alcuni funghi coltivabili – le **micorrize arbuscolari (MA)** - che impiegati a dosi minime come spore e anche come micelio, riescono ad esaltare la biovariabilità dei litterbags ossia, tecnicamente parlando, **diminuiscono la % di classificazione** delle Tesi rispetto al Controllo. Ricordiamo che un esperimento che si conclude con una % di classificazione dei gruppi bassa è un esperimento scarso. Ebbene, quello che verificiamo con gli inoculi di micorrize arbuscolari è esattamente il contrario del risultato di omogeneità, che è atteso e verificato in un modello di dominanza microbica: pensiamo alle fermentazioni dell'uva o quelle del latte in cui pochi o addirittura uno solo presiedono alla trasformazione del substrato. Con le micorrize il modello è di tipo complementare (ausiliario), ossia un piccolo innesto microbico riesce come a “riparare” alcune falle nel caotico meccanismo biochimico attivo nei vari substrati del suolo,

aumentando la varietà dei prodotti della degradazione. Ciò avviene solo in presenza di una reazione di radici viventi, non in provetta.

3. **Favorire il Carbonio.** L'accumulo di Carbonio (C) nel suolo agricolo è un tema emergente per l'UE al fine del raggiungimento della neutralità climatica. Fra i metodi di miglioramento è proposto l'uso di Biochar, un sottoprodotto derivante dall'incenerimento parziale dei rifiuti urbani, che ha un elevato titolo di C non disponibile destinato a restare a lungo nel suolo. La funzione attesa è anche quella di limitare l'attività respiratoria dei microrganismi a protezione della sostanza organica. All'opposto, viene proposta una via *simbiotica* del C, che porta ad un incremento dinamico della sostanza organica viva, grazie alla massa crescente di microrganismi autofertilizzati. Il processo è innescato da sistematici, limitati quanto opportuni inoculi di consorzi microbici. Abbiamo la dimostrazione in azienda di pianura che un incremento sistematico di Micorrize combinato ai reflui di biogas consente un aumento annuo di 0.8 t/ha (1.3 % annuo) del C nel suolo (Fig. 1), un fatto impossibile in collina.

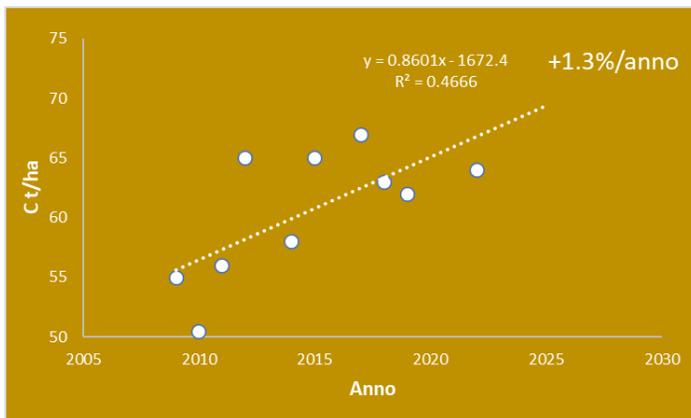


Figura 1. Andamento del carbonio stoccato nel suolo in 14 anni di coltivazione *simbiotica* nell'Azienda La Speranza – Candiolo (41.5 ha)

Ciò non toglie che pratiche meritevoli come l'inerbimento dell'interfila con **miscugli di sementi inoculate** - ottenute veramente a costo minimo, ove si pensi che l'inoculo è appena l'1% del peso della semente - oppure l'uso di **compost aziendali bioattivati** possono consentire significativi progressi in una *carbonicoltura* di collina.

La **Pianta**. L'esame dello spettro elettromagnetico della foglia è un metodo fondamentale per valutare la bioattività delle piante, che va intesa come vigore dello stato vegetativo, come predittore delle produzioni ovvero come indicatore di stress abiotici (idrico, termico) o biotici (infezioni, infestazioni). Operando da anni su piante micorrizzate artificialmente abbiamo imparato a riconoscere una firma spettrale usando i raggi NIR riflessi dalle foglie, esattamente come detto sopra per i litterbags. Si può dire, inoltre, che ogni esperimento agronomico ha un aspetto fogliare "terrestre" ed uno "celeste". L'UE sta investendo grandi somme per portare all'utilizzo agronomico le informazioni satellitari, in particolare quelle di Sentinel-2 che restituisce ogni 5 giorni una immagine spettrale a maglia di 10 metri. L'agricoltura di precisione e 4.0 è basata su sensori a terra

servomeccanizzati e generalmente si avvale di mappe satellitari georeferenziate per consigliare – o guidare materialmente - le operazioni colturali di precisione.

Un indicatore semplice capace di rivelare una progressione del grado di simbiosi micorrizica con le piante è costituito dall'abbassamento del pH fogliare misurato nel picciolo con un elettrodo a punta fine del tipo Hamilton Doube pore PF (Fig. 2) [6-11].

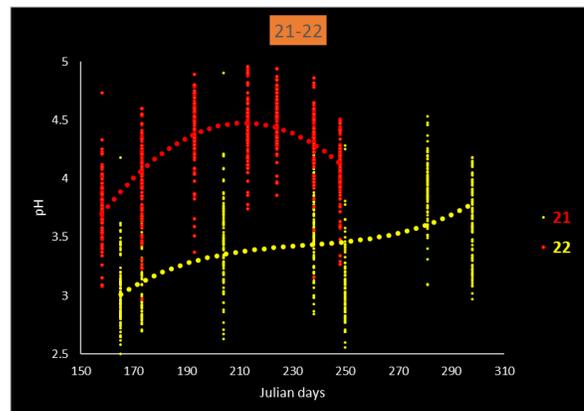
Figura 2. Elettrodo combinato *Hamilton double pore PF*, misuratore di fogliare.



pH

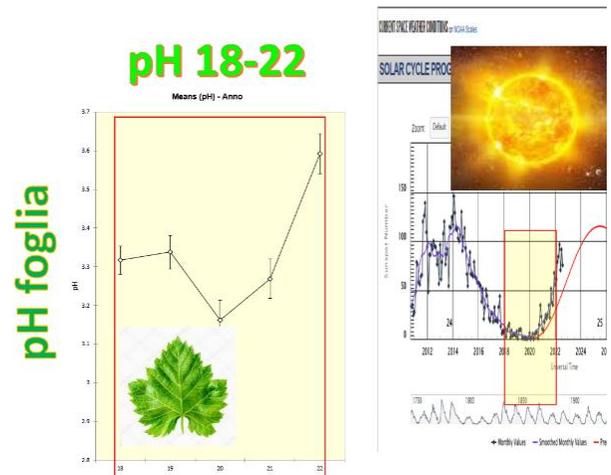
Il pH nella vite ad inizio della stagione verde è molto acido, intorno a 3.0÷3.5, cresce fino alla metà di agosto (4 ÷4.5 ) poi l'andamento declina, come si osserva nella Fig. 3 dalla quale emerge il forte aumento dell'anno 2022.

Figura 3. Andamento del pH fogliare in vigneti di nebbiolo negli anni 2021 e 22.



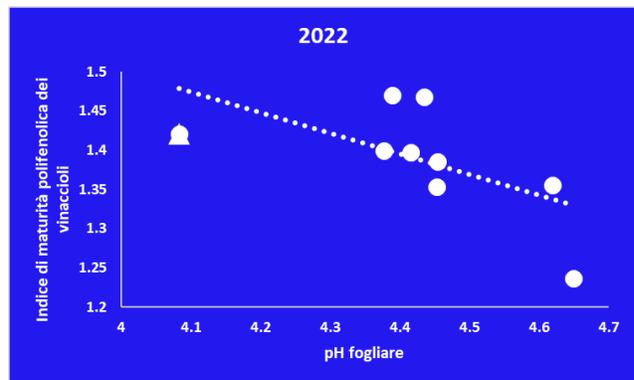
Un fatto singolare che abbiamo osservato è l'apparire di una forte differenza tra gli anni con un andamento crescente molto pronunciato: dalla Figura 4 si nota come l'andamento 2018-22 si accosti bene all'andamento dei cicli delle macchie solari che sono proporzionali alla quantità di radiazione UV che colpisce la terra [12].

Figura 4. Andamento crescente del pH fogliare in vigneti dal 2018 al 2022 in parallelo con risalita del numero delle macchie solari del 25° ciclo.



Il pH fogliare è parso inoltre collegarsi negativamente alla maturità polifenolica (Fig. 5)

Figura 5. Andamento dell'indice di maturità polifenolica rispetto al pH fogliare di vitigni rossi nel 2022



La **Qualità delle uve**. La scelta del momento più propizio ad operare la vendemmia è un argomento particolarmente importante per la gestione viticola ed enologica. Occorre in particolare sovrintendere a due aspetti della maturazione.

A- la **Maturità Tecnologica (MT)** dipende dal pH della bacca e dai gradi zuccherini due componenti direttamente proporzionali alla maturazione, combinate così:

$$MT = \text{Indice di maturità tecnologica} = \text{pH}^2 * \text{°Brix}$$

B- la **Maturità Polifenolica** (MP) è imprescindibile per valorizzare al meglio i vini rossi. Essa dipende dalla quantità e dal tipo dei polifenoli presenti nella buccia e nei vinaccioli. Focalizzando l'attenzione sui vinaccioli l'indice più rappresentativo e semplice è il seguente:

$$\text{MP} = \text{Indice di Maturità Polifenolica} = \frac{\text{Polifenoli Non-Estraibili}}{\text{Polifenoli Estraibili}}$$

L'Indice MP tiene conto della progressiva polimerizzazione dei polifenoli presenti nel seme, caratteristica fondamentale attinente la legnosità e astringenza del seme, che è percepita nel corso delle successive valutazioni sensoriali operate in vigna.

Circa la Maturità Tecnologica non vi sono particolari problemi di misurazione dei parametri non risolubili in azienda. Invece, per avere una misura oggettiva della Maturità Polifenolica occorrono indagini chimiche su numerose bacche peduncolate, con analisi che possono essere svolte soltanto da un laboratorio non aziendale. In questo senso, la misura rapida della MP è diventata un obiettivo della ricerca. Basandoci su una prova effettuata dall'Accademia di Agricoltura nel 2016 relativamente all'uso di reti ombreggianti diversamente colorate <sup>[13]</sup> che indussero differenze di MP fra le tesi fu possibile costruire un modello spettrale dal quale si ottengono le predizioni rapide della MP a partire dagli spettri NIR dei vinaccioli (Fig. 6) Il modello è stato applicato in tutte le prove svolte a Vezzolano e in quelle collegate e ci ha consentito di interpretare fino in fondo le conseguenze dei trattamenti applicati alle piante.



Figura 6. Apparecchio SCIO<sup>TM</sup> v1.2 che esamina i vinaccioli estratti da 10 acini per ottenere una valutazione rapida della Maturità Polifenolica (MP).

Lo spettro NIR delle foglie, che come già accennato per le micorrize è una miniera di informazioni sull'attività della vite, contiene anche informazioni relative alla MP. In effetti, uno sviluppo dell'analisi rapida dei vinaccioli <sup>[14]</sup> ha collegato gli spettri fogliari di Nebbiolo alla MP ed appare possibile persino utilizzare i dati satellitari per una predizione semplificata e diretta.

## **Azioni Principali 2022**

Nel 2022 sono state impostate cinque prove principali localizzate a Vezzolano e una ha coinvolto vigneti di 10 comuni dell'astigiano. Lo schema di Fig. 7 riporta l'elenco postato sul sito dell'Accademia e le connessioni ad azioni collegate con varie Istituzioni. La Fig. 8 illustra la localizzazione delle varie prove.



Figura 7. Schema delle prove sperimentali centrate sull'Azienda di vezzolano svolte nel 2022 e connessioni con attività collegate.

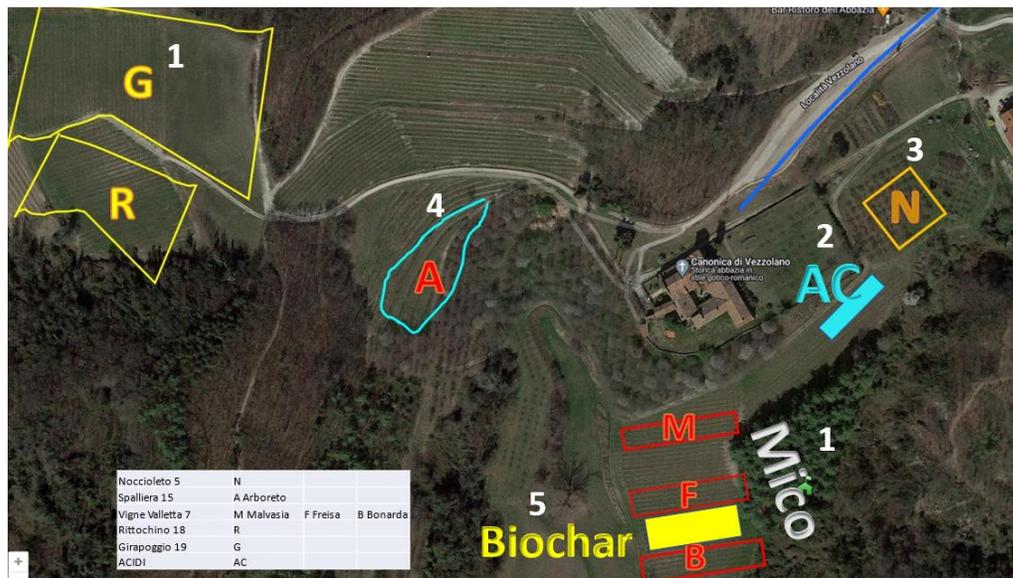


Figura 8. Localizzazione delle prove 2022 a Vezzolano.

## 1. Prove di micorrizzazione della vite con interrimento di lana.

a) **Impostazione della prova.** La prova di micorrizzazione ha interessato tre vitigni rossi, Bonarda (B), Freisa (F) e Malvasia (M) (Fig. 9) e due bianchi, Arneis (A) e Cabernet Sauvignon (C). La distribuzione del preparato Micosat F-Vite è stato effettuato in unica volta nel periodo 5-7 aprile

2022 alla dose di 20 kg/ha (costo materiale 600 €/ ha). L'operazione si è rivelata essere semplice e spedita avendo preventivamente diluito al 5% il preparato granulare in una massa di Compost fornito da GAIA - Gestione Ambientale Integrata dell'Astigiano S.p.A., Borgata Martinetta, 100, 14015 San Damiano d'Asti) tramite l'Ing. Fischetti.

Figura 9. Localizzazione della prova Mico per i tre vitigni rossi Malvasia (M), Freisa (F) e Bonarda (B). Trattati 10 filari (60 piante) con 20 trattamenti Micosat + Lana e Controlli.

Nei vigneti di Arneis e Cabernet Sauvignon a Girapoggio e Rittochino sono state inoculate la metà circa delle file.



Per il trattamento di inoculazione è stata usata una macchina operatrice “**Concimatrice di Precisione a controllo elettronico CP “Claudio Pontremolesi” in tecnologia 4.0** della Ditta Spezia – Tecnovict via Mascaretti 68, 29010 Pianello Val Tidone (PC) fondata nel 1949 da Giuseppe Spezia. La macchina operatrice (Fig. 9) è fortemente innovativa per la distribuzione di precisione dei fertilizzanti, biofertilizzanti e ammendanti.



tecnologico pH<sup>2</sup>\*BRIX), spettri NIR- SCIO di bucce e vinaccioli da campioni di 10 acini ripetuti 3 volte. La produzione è stata rilevata su campioni di piante poste in corrispondenza dei litterbags (N = 3 vitigni a bacca rossa \* 2 trattamenti \* 6 = 36 piante).

## b) Risultati.

### Foglie.

Il pH della foglia si abbassa dell'1.7%, in media, in tutti i vitigni a seguito del trattamento (Tab. 1). Questo risultato conferma numerosi risultati ottenuti su vite, altre piante e alberi [6].

Tabella 1. Risultati di NIRS e pH fogliare in cinque vitigni trattati con Micosat.

Vitigno	N	1-VR	P	pH_Controllo	pH_Micosat	Diff%	P
1_Arneis	56	0.59	< .00001	3.88	3.82	-1.5%	
2_Cabernet Sauvignon	64	0.18	0.0005	4.02	3.95	-1.7%	
3_Bonarda	292	0.02	0.015	3.85	3.78	-1.9%	
4_Freisa	224	0.45	< .00001	4.06	3.98	-1.9%	
5_Malvasia	170	0.56	< .00001	3.74	3.69	-1.3%	
	806			3.91	3.84	-1.7%	0.021

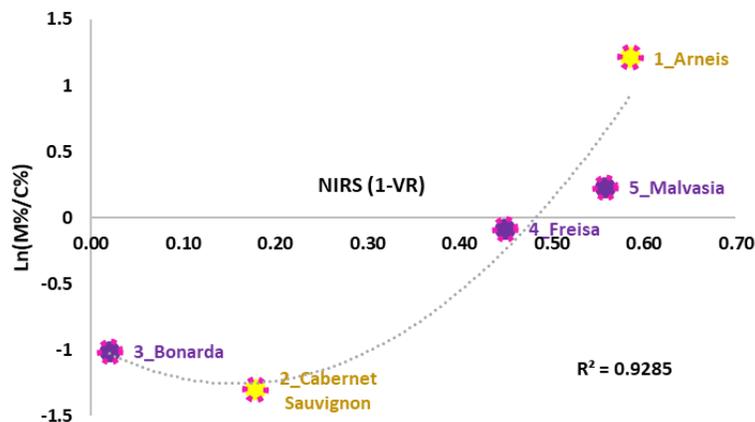
1-VR= coefficiente r-quadro in validazione, indica quanto sono differenti le foglie normali di controllo da quelle trattate con Micosat.

Gli spettri NIR delle foglie di piante Trattate risultano differenti dai Controlli (Tab. 2) ma in modo limitato in Bonarda (1-VR= 0.02) e Cabernet Sauvignon (0.18) mentre sono le differenze sono apparse molto forti negli altri vitigni testati. Il grado delle differenze lo ritroviamo nella % di classificazione dei dieci gruppi a confronto (Tab. 2) dove si notano valori da 13% per il Cabernet Sauvignon-M al 64% di Malvasia-M tuttavia con andamento non casuale. Infatti la % di classificazione diminuisce significativamente dove le differenze erano basse (Cabernet da 46% a 13% e Bonarda da 41% a 15%) mentre aumentano dove le differenze erano forti (Arneis da 21% a 70% e malvasia da 51 a 64%). La Fig. 10 evidenzia il collegamento fra i due parametri.

Tabella 2. Percentuale di riconoscimento degli spettri fogliari NIR delle tesi Trattate e Controllo nei cinque vitigni della prova Mico.

Vitigno	Tratt.	N	% Correct	Ln (M/C)	P
1_Arneis	C	24	21%		
1_Arneis	M	47	70%	1.21	0.0021
2_Cabernet Sauvignon	C	24	46%		
2_Cabernet Sauvignon	M	48	13%	-1.30	0.0001
3_Bonarda	C	145	41%		
3_Bonarda	M	148	15%	-1.01	<0.0001
4_Freisa	C	126	55%		
4_Freisa	M	126	51%	-0.08	0.5255
5_Malvasia	C	102	51%		
5_Malvasia	M	97	64%	0.23	0.0645
Total		887	43%		

Figura 10. Variazione della % di classificazione fra Micosat e Controllo ( $\ln(M\%/C\%)$ ) rispetto al coefficiente 1-VR in cinque vitigni.



In sintesi, dove il trattamento con Micosat è riuscito ad influenzare fortemente le piante fino a modificare lo spettro NIR delle foglie - che ne rappresenta la composizione chimica - si osserva che le foglie Trattate sono molto più uniformi e riconoscibili rispetto al Controllo, che è più variabile e meno riconoscibile. In questo senso il trattamento ha omogeneizzato le foglie. Per contro, dove il trattamento ha avuto effetto debole (Bonarda e Cabernet) si verifica il contrario ossia c'è un aumento nella variabilità delle foglie. Nella Freisa, in cui la differenza 1-VR è a zero le due percentuali di classificazione di C e M non sono differenti.

Dunque sulle foglie abbiamo visto che c'è un effetto di acidificazione in tutti i vitigni. Ma vi sono altri effetti del trattamento che modificano diversamente la composizione chimica a seconda del vitigno, con aumento della omogeneità (Arneis e Malvasia) o aumento della variabilità (Bonarda e Cabernet) oppure nessuna variazione (Freisa).

### Litterbags.

La risposta dello spettro NIR al trattamento è stata discretamente elevata (media 1-VR = 0.51, Tab. 3 ). La differenza consiste in una maggiore variazione negli spettri M (Micosat ) e ML (Micosat + lana) che ne deprimono la riconoscibilità (% di classificazione) in Bonarda e Malvasia, non in Freisa. In analogia a quanto appena visto per le foglie nei litterbags (Tab. 2) rispetto al Controllo la % di classificazione diminuisce nei Trattati - senza lana e con lana - di Bonarda (-61% e -62%) e Malvasia (-62% e -89%) mentre aumenta lievemente (10% e 21%) in Freisa. La perdita di identità dei litterbag dei suoli trattati rispetto agli originali Controlli non trattati è un segno della maggiore biodiversità nei microorganismi che li hanno modificati e dunque un segno della efficacia del trattamento. Invece, nel caso della Freisa tutti e tre i gruppi hanno raggiunto una % significativamente superiore al 33% che è la soglia casuale ma siccome sono tutti riconosciuti a pari livello dobbiamo constatare che il trattamento ha avuto un effetto diversificante ma omogeneo e caratteristico per i due trattati con Micosat, senza e con lana. Infatti, se non vi fosse stato nessun effetto la % di riconoscimento di ciascun gruppo non avrebbe potuto superare la soglia del 33% come dimostrano due coefficienti 1-VR che sono discretamente elevati.

Circa i litterbags con lana rispetto ai senza lana, quelli con lana raggiungono un maggior valore dell'indice di micorrizzazione (+8%) il che denota risposta forte sui simbionti. La presenza di lana greggia nel suolo inoltre favorisce la bioattività nei litterbags, riassunta da un maggiore grado di maturità dei litterbags (+7%). Tale bioattività nel suolo è dovuta presumibilmente ad una maggiore biodiversità microbica e/o a fattori fisico-chimici favorevoli al catabolismo dei litterbags.

Tabella 3. Differenziamento (1-VR) e percentuale di riconoscimento degli spettri NIR dei Litterbags delle tesi Trattate e Controllo nei tre vitigni a bacca rossa della prova Mico.

Vitigno	Trattamento	N spettri	1-VR	%Class	P	d/C%
Bonarda	Controllo	90		56% a	0.000	
	Micosat	43	0.58	30% b	0.680	-61%
	Micosat+Lana	60	0.22	30% b	0.620	-62%
Freisa	Controllo	84		58%	0.000	
	Micosat	31	0.39	65%	0.000	10%
	Micosat+Lana	61	0.54	72%	0.000	21%
Malvasia	Controllo	48		54% a	0.000	
	Micosat	31	0.53	29% b	0.635	-62%
	Micosat+Lana	18	0.77	22% b	0.321	-89%
Totale		466		46%		

## Produzione.

A seguito del trattamento fertilizzante (Tab. 4) il numero dei grappoli è mediamente cresciuto in Bonarda e Freisa (da +3 a +6%) mentre è diminuito intorno al 10% nella Malvasia risultandone maggiorato il peso medio del grappolo. In totale il peso per pianta è cresciuto significativamente, seppure in misura limitata intorno al +2,+3% nella Bonarda e Freisa ma non nella Malvasia. L'effetto della lana non appare nelle produzioni.

Tabella 4. Risultati produttivi dei trattamenti Micosat e Micosat + lana.

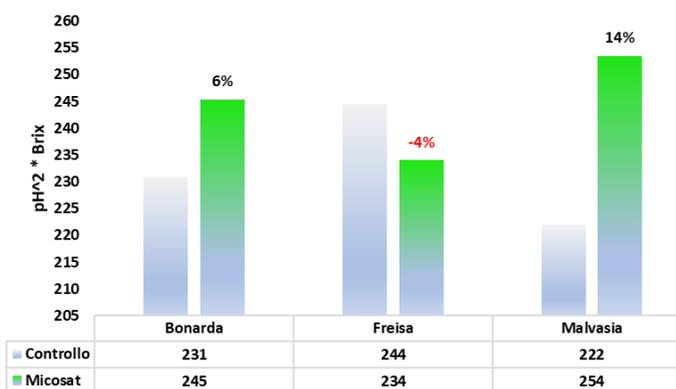
Vitigno	Trattamento	Numero grappoli		Peso totale, kg			Peso medio, g			
Bonarda	Controllo	21.63	d	5.33	c		246	a		
	Micosat	23.03	bcd	+6%	5.41	b	+2%	235	bc	-5%
	Micosat+Lana	22.77	bcd	+5%	5.41	b	+2%	238	abc	-5%
Freisa	Controllo	22.19	cd		5.32	c		240	ab	
	Micosat	23.02	bcd	+4%	5.45	a	+2%	237	bc	-4%
	Micosat+Lana	22.83	bcd	+3%	5.47	a	+3%	240	abc	-2%
Malvasia	Controllo	26.18	a		5.40	b		206	d	
	Micosat	24.06	b	-8%	5.41	b	0%	225	c	+11%

Micosat+Lana	23.15	bc	12%	5.42	b	0%	234	abc	+16%
--------------	-------	----	-----	------	---	----	-----	-----	------

## Qualità

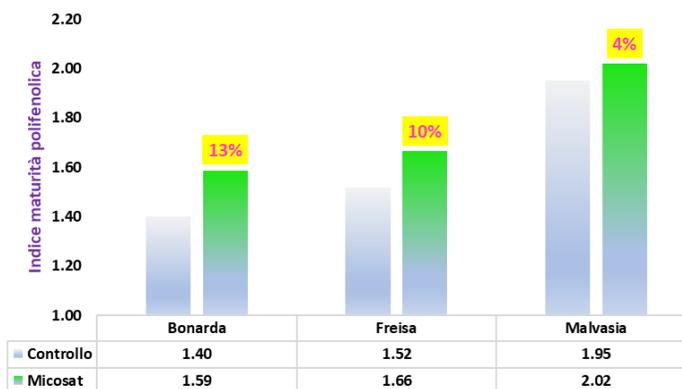
Il trattamento con Micosat ha elevato del 6% in Bonarda e del 14% in Malvasia la qualità tecnologica (Fig. 11)

Figura 11. Andamento della maturità tecnologica ( $\text{pH}^2 \cdot \text{Brix}$ ) nei tre vitigni a bacca rossa a seguito del trattamento con Micosat.



Il trattamento con Micosat ha elevato del 13% in Bonarda, del 10% in freisa e del 4% in Malvasia la maturità fenolica misurata a livello dei vinaccioli (Fig. 12)

Figura 12. Andamento della maturità fenolica (polifenoli Non-Estraibili / Polifenoli estraibili dei vinaccioli) nei tre vitigni a bacca rossa a seguito del trattamento con Micosat.



## 2. Prova di somministrazione di Acidi Umici e Acido Salicilico.

### a) Impostazione della prova.

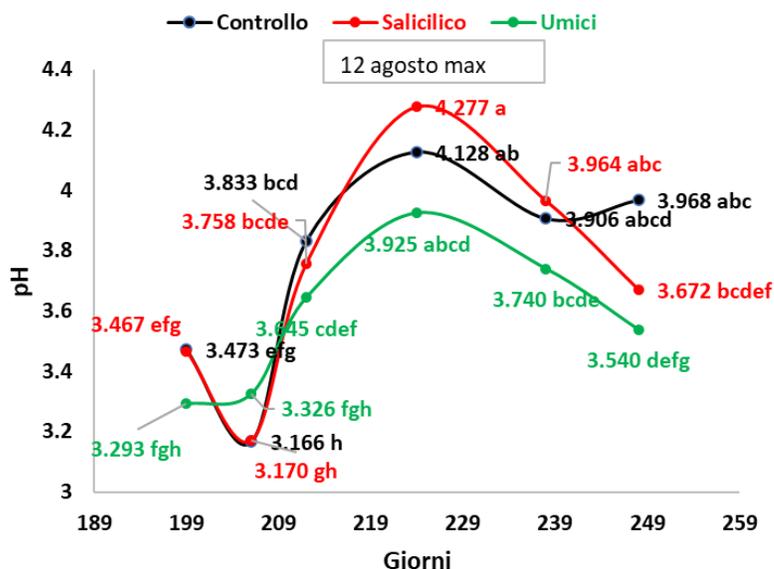
Scopo della prova era di controllare gli effetti su pianta e suolo di due trattamenti che si sono evidenziati nella pratica viticola. Per il primo trattamento al suolo è stato usato un complesso di acidi umici e fulvici, con titolo nullo di azoto (non dosabile), derivato da residui del Biogas di ACEA (Dr. Massimiliano Antonini) distribuito a 6 piante alla dose di 30 g pianta<sup>-1</sup> in unica soluzione. Per il secondo trattamento si è impiegato Acido Salicilico (pochissimo solubile) alla concentrazione di 150 mg l<sup>-1</sup> (ppm) che è stato spruzzato sulle foglie di 6 piante ogni 2 settimane alla dose di 50 ml pianta<sup>-1</sup>. Le 12 piante trattate e le 6 di Controllo sono state monitorate al suolo con i Litterbags in abbinamento ai Teabags, interrati per 60 giorni, mentre sulle foglie si sono esaminati pH e spettro NIR in 6 momenti. Una evoluzione dei Teabags-NIRS intervenuta grazie ad una collaborazione con il Team della Prof.ssa Guidoni (v. oltre al 6.1) ha consentito di stimare la composizione genetica dei Phyla Bacteria e Funghi. Infine, una applicazione del metodo rapido di descritto oltre al punto 7 ha consentito di valutare valutazione della maturità polifenolica delle due tesi Trattate rispetto al Controllo

### b) Risultati.

#### Foglie.

Gli Acidi Umici hanno abbassato il pH fogliare del 5% (Tab. 5). Questo è successo non all'inizio della prova ma dopo 10 giorni ed è proseguito fino al termine (Fig 13) Notare l'andamento del pH nel corso dell'estate, che raggiunge il massimo intorno al 12 di agosto, poi discende.

Figura 13. Andamento del pH fogliare in sei momenti della prova nei tre gruppi sperimentali.



In base all'analisi degli spettri NIR i trattamenti hanno agito fortemente sulle foglie come dimostra il coefficiente 1-VR che è elevato a 0.47 nel confronto Controllo vs. Salicilico e 0.66 in quello Controllo vs. Umici. Il trattamento ha modificato la % di classificazione. In particolare si

è scesi dal 75% per il Controllo al 44% per il Salicilico e al 38% per gli Umici, quest'ultimo non significativo.

Tabella 5. Effetti dei trattamenti sul pH fogliare e sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR delle foglie.

Trattamento	N	pH		NIRS 1-VR	% Class	P (%Class)
Controllo	89	3.75	a		75%	a 0.0001
S-Salicilico	105	3.72	a	0.47	44%	b 0.0165
U-Umico	79	3.58	b	0.66	38%	b 0.3446
Totale	273				52%	0.0001
ln(S/C)%		-1%			-54%	
ln(U/C)%		-5%			-68%	

Questo risultato deriva da modifiche della lamina fogliare (Tab. 5) con interessamento di numerosi componenti. In particolare il Salicilico ha indotto aumenti di NDF non digeribile e di *Crop maturity Index* e diminuzioni di sostanza secca (-1%) e altri quattro componenti, mentre gli Umici inducono diminuzioni di sostanza secca (-2%) e altri quattro componenti.

Tabella 6. Effetti dei trattamenti sulla composizione della foglia.

	Sostanza secca	Proteina	Estrattivi inazotati	Emicellulosa	Fibra NDF	NDF non digeribile	Cellulosa	Fibra ADF	Digeribilità NDF	Digeribilità totale	Crop maturity index
C-Controllo	32.0a	7.35a	43.9a	6.28a	50.4a	30.8b	35.7ab	44.1ab	50.0ab	69.5a	2.67b
S-Salicilico	31.7b	6.96b	43.4b	5.31b	50.3a	31.4a	36.4a	45.0a	49.4b	69.1b	2.75a
U-Umici	31.4b	7.29ab	43.5b	5.39b	49.3b	31.1ab	35.2b	43.9b	50.8a	69.3b	2.71ab
ln(S/C)%	-1%	-5%	-1%	-17%	0%	2%	2%	2%	-1%	-1%	3%
ln(U/C)%	-2%	-1%	-1%	-15%	-2%	1%	-1%	0%	2%	1%	1%

Dunque, gli acidi siano essi somministrati per foglia e nel suolo incidono sulla composizione fogliare.

### Litterbags e teabags.

La % di classificazione media è stata dell' 80% da NIRS dei Litterbags 96% da NIRS del Tè rosso e 74% dal NIRS del Tè verde (Tab. 7). La sola considerazione del peso e dunque della perdita ponderale è scarsamente esplicativa dell'esperimento in atto con una % di classificazione del 58% (non diversa dal valore casuale del 33%). Dunque converrebbe usare il Tè rosso come marcatore della bioattività del suolo in quanto esso può fornire una maggiore risoluzione al dispositivo sperimentale. Tuttavia, i Litterbags sono preferibili in quanto consentono di interpretare i meccanismi dei risultati in base ad equazioni consolidate. In particolare in Tab. 8

sono elencate le variazioni relative ai tre gruppi nelle 23 variabili Litterbags-NIRS da cui emergono indicazioni circa una maggiore disponibilità di N nel suolo e una riduzione delle attività microbiche in particolare delle Micorrize con gli Umici.

Tabella 7. Effetti dei trattamenti sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR dei Litterbags e dei Teabags.

Trattamento	Teabags N	Peso 2 Teabags %Class	Litterbags		Tè Rosso		Tè Verde	
			NS	%Class	NS	%Class	NS	%Class
C-Controllo	4	50%	36	72%	18	89%	18	67%
S-Salicilico	3	67%	36	86%	21	100%	22	82%
U-Umico	5	60%	36	83%	18	100%	18	72%
Totale	12	58% c	108	80% b	57	96% a	58	74% bc
Ln(S/C)		29%		18%		12%		20%
Ln(U/C)		18%		14%		12%		8%

NS = N spettri NIR

Tabella 8. Effetti dei trattamenti C-Controllo, S-Salicilico e U-Umici sulle 23 variabili Litterbag-NIRS.

Variabile Litterbags	C- Controllo	S- Salicilico	U- Umici	P	ln(S/C)	ln(U/C)
Indice di Micorrizzazione	1.108 ab	1.200 a	1.028 b	0.000	-8%	-7%
Ceneri	19.536 a	18.231 b	17.027 c	<0.0001	-7%	-13%
Proteina	12.722 a	12.235 a	10.597 b	<0.0001	-4%	-17%
NDF	44.907 a	44.829 a	44.893 a	0.193	0%	0%
NDF digeribile	23.906 a	22.967 b	21.494 c	<0.0001	-4%	-10%
NDF Non digeribile	21.001 c	21.862 b	23.399 a	<0.0001	4%	11%
ADF	28.128 b	29.808 a	29.136 ab	0.001	6%	4%
Energia	15.693 c	15.784 b	15.912 a	<0.0001	1%	1%
Digeribilità Tot	78.993 a	78.135 b	76.406 c	<0.0001	-1%	-3%
Digeribilità NDF	53.224 a	51.228 b	47.877 c	<0.0001	-4%	-10%
Crop maturity Index	1.024 a	1.050 a	0.908 b	<0.0001	3%	-11%
ADL-Lignina	6.077 b	6.857 a	6.935 a	<0.0001	13%	14%
Cellulosa	22.051 b	22.951 a	22.201 ab	0.024	4%	1%
Fibra grezza	8.671 b	11.495 a	9.481 b	0.000	33%	9%
Lipidi	2.851 b	2.882 a	2.897 a	0.000	1%	2%
Emicellulose	16.779 a	15.021 b	15.756 ab	0.001	-10%	-6%
Estrattivi inazotati	49.399 a	48.950 b	48.616 c	<0.0001	-1%	-2%
NH4 del suolo	3.155 b	3.852 b	5.328 a	<0.0001	22%	69%
NO3 nel suolo	72.529 c	80.558 b	88.959 a	<0.0001	11%	23%
Respirazione	119.38 a	129.855 a	125.347 a	0.129	9%	5%
Microbi "rapidi"- r	8.962 a	8.278 b	8.621 ab	0.001	-8%	-4%
Microbi "costanti" - k	7.455 a	6.480 b	5.385 c	<0.0001	-13%	-28%
Diff r-k	1.507 b	1.799 b	3.236 a	<0.0001	19%	115%

Come ci si poteva immaginare che un trattamento con acidi influisse così tanto sulla bioattività del suolo? Ebbene l'analisi metagenomica derivata dagli spettri NIR delle bags di Tè verde (Tab. 9) evidenzia che i trattamenti aumentano per una media del 16% l'abbondanza dei Bacteria compresi in sei raggruppamenti (*Spirochaetota*, *Planctomycetes*, *Bdellovibrionota*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota*, *Proteobacteria*) mentre riducono in media del 6% i *Planctomycetota* e *Chloroflexie*. In sostanza i trattamenti agiscono concordemente sui vari gruppi

batterici come dimostra il coefficiente  $R^2$  di 0.85 della Fig. 14. Per i Funghi si verifica una forte diminuzione del 35% nei **Glomeromicota** delle viti trattate con acidi Umici che si contrappone ad un aumento del 10% conseguente al trattamento con acido salicilico alle foglie. Da notare che questo risultato con gli acidi Umici corrisponde alla diminuzione di indice Micorrizico del 7% osservato nei litterbags (Tab. 8). Quindi, nel riguardo dei funghi si osserva un andamento negativo fra gli effetti dei due trattamenti (Fig. 14) eccetto per i **Mortierellomycota** i quali diminuiscono in entrambi i casi.

Tabella 9. Effetti dei trattamenti C-Controllo, S-Salicilico e U-Umici sulla composizione metagenomica dei Phyla Bacteria e Funghi.

Phyla	Abundance _Control	ln(S/C)%	P	ln(U/C)%	P
<b>Bacteria</b>					
Proteobacteria	96.9	3.2	*	3.2	*
Actinobacteriota	87.9	4.1	*	3.9	*
Firmicutes	67.8	2.8		1.3	
Bacteroidota	25.7	4.2	*	3.9	*
Planctomycetota	8.3	-6.4	*	-7.0	*
Chloroflexi	12.0	-5.1	*	-4.3	*
Verrucomicrobiota	11.0	9.8	*	5.7	*
Myxococcota	11.1	-0.7		-0.3	
Acidobacteriota	6.0	-5.4		-0.1	
Bdellovibrionota	2.2	13.0	*	13.1	*
Cyanobacteria	0.7	2.4		13.3	*
Planctomycetes	1.8	17.9	*	11.0	*
Spirochaetota	0.3	68.7	*	64.2	*
Chlamydiae	0.1	19.2		-3.5	
<b>Fungi</b>					
Ascomycota	260.6	3.9		-6.3	*
Basidiomycota	82.0	4.6		-4.0	
Mortierellomycota	14.0	-8.3	*	-5.5	*
Glomeromicota	6.0	10.0	*	-35.5	*
Mucoromycota	3.9	6.0		4.0	

\_ \* P<0.05

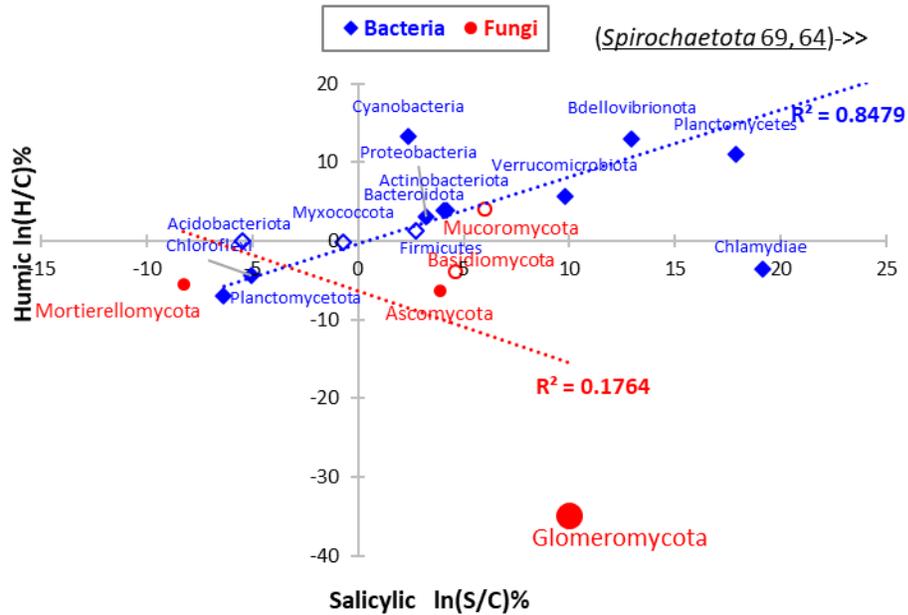


Figura 14. Regressione dell'effetto Trattamento Salicilico (S, asse X) sull'effetto Umici (H, asse Y) per i componenti dei Phyla Bacteria (blu) e Fungi (rossi).

### Produzione.

I trattamenti non hanno modificato le produzioni (Tab. 10).

Tabella 10. Effetti dei trattamenti sulla produzione

Trattamento	N. grappoli	Kg/pianta	Peso m. grappolo (g)
C-Controllo	27.5	5.2	186
S-Salicilico	36.3	5.4	150
U-Umici	28.5	5.0	184
ln(S/C)	28%	4%	-22%
ln(U/C)	4%	-4%	-1%

### Qualità.

Gli acini campionati dai gruppi trattati (Tab. 11) si sono rivelati più piccoli (S = -9%, U = -4%) e hanno mostrato un ritardo nella maturità tecnologica che si aggirava intorno al 10%. Ciò è dipeso da uno stato di maggiore acidità, con riduzione del -4% nel pH per entrambi i trattati, a parità di

zuccheri. In base al loro spettro NIR le bucce dei derivati Umici sono risultate più variabili e meno caratterizzabili degli altri gruppi (35% vs. 67% e 61%).

Tabella 11. Effetti dei trattamenti sulla maturità tecnologica e sugli spettri NIR delle bucce.

Trattamenti	N	P.10 acini		BRIX		pH		Indice MT		% Class. NIRS Bucce	
C-Controllo	18	21.0	a	24.21	a	3.20	a	248	a	67%	a
S-Salicilico	20	19.2	b	23.65	a	3.09	b	226	b	61%	a
U-Umici	18	20.1	ab	23.59	a	3.07	b	223	b	35%	b
P	56	0.018		0.083		0.000		0.001		0.000	
ln(S/C)		-9%		-2%		-4%		-9%		-8%	
ln(U/C)		-4%		-3%		-4%		-11%		-63%	

I vinaccioli dei tre gruppi sono risultati altamente caratterizzati dallo spettro NIR (87%) (Tab. 12). A parità di polifenoli totali quelli non estraibili sono stati inferiori del 6% con gli acidi umici. Ciò è corrisposto ad una minore maturità polifenolica intorno al 18%, con prevalenza di protoantocianidine (+9%).

Tabella 12. Effetti dei trattamenti sulla qualità dei vinaccioli.

Trattamenti	N	NIRS %Classif	Polifenoli totali		Polifenoli estraibili		Polifenoli non estraibili		Polifenoli maturità		Proantocianidine	
C-Controllo	60	88%	1.51	a	0.35	ab	1.04	ab	2.29	a	0.47	b
S-Salicilico	60	85%	1.60	a	0.39	a	1.12	a	2.32	a	0.48	b
U-Umici	60	87%	1.49	a	0.32	b	0.98	b	1.91	b	0.51	a
P	180		0.084		0.002		0.027		0.000		0.000	
Ln(S/C)		-4%	6%		11%		7%		1%		3%	
Ln(U/C)		-2%	-1%		-7%		-6%		-18%		9%	

Dunque, il trattamento con Acidi Umici, benchè di portata assai limitata ha generato un ritardo maturativo concalmato.

**Pubblicazione.** Vista l'originalità metodologica (Teabag-NIRS, pH fogliare, biovariabilità) e i risultati ottenuti, il lavoro sarà preparato per il *Journal of Agronomy Research* rivista sulla quale già numerosi contributi dell'Accademia di Agricoltura di Torino sono stati pubblicati.

### 3. Trattamento repulsivo della cimice asiatica su nocciolo.

La prova è stata condotta sul nocciolo adulto pluriceppo di Tonda Gentile delle Langhe sito nei pressi del corpo aziendale. Essa è stata ispirata dai risultati ottenuti da un noto frutticoltore di Villafalletto il quale osservò che la Cimice Asiatica non aveva colpito il frutteto in cui trattava sistematicamente le foglie con il Micosat. Questo consorzio microbico biofertilizzante contiene propaguli e spore di Micorrize arbuscolari, ma si avvale dell'ausilio di una serie di altri organismi fungini e batterici coltivati e anche di un'altra fonte microbica che sopravvive nel *crude inoculum* di propagazione delle micorrize e che si trasmette nel prodotto finale, il quale risulta così estremamente complesso. Nel caso della Cimice Asiatica non sono state certo le Micorrize ad intervenire per via fogliare, bensì organismi endofitici che hanno probabilmente indotto le foglie ad esprimere agenti repulsivi che hanno confuso il parassita, allontanandolo.

#### a) Impostazione della prova.

Nel nocciolo sono state identificate tre aree (Fig. 15). Le due zone laterali erano in funzione di Controllo mentre la zona centrale era quella Trattata in cui si è effettuato dapprima il trattamento di Micosat al suolo *una tantum* con la macchina e le dosi descritte al punto 1 ed in seguito un trattamento fogliare sistematico ogni due settimane con la concentrazione usata per l'acido salicilico ed una quantità di 500 ml per pianta.

Si è proceduto alle usuali determinazioni di bioattività del suolo, mediante Litterbagas, e della funzionalità fogliare (pH e NIRS) ripetendo il controllo sei volte. Alcune trappole hanno provveduto alla raccolta degli insetti.

Figura 15. Localizzazione delle tesi Controllo (in Rosso) e Trattato con Micosat (in Celeste) nel nocciolo.



#### b) Risultati.

## Foglie.

Come atteso, il pH delle foglie delle piante trattate è diminuito del 5% (P 0.016). Le differenze di spettro NIR fra le due tesi sono risultate basse (1-VR = 0.16) tanto che la loro classificazione è apparsa possibile e significativa soltanto nelle foglie Trattate e non nei Controlli (Tab. 13).

Tabella 13. Effetti del trattamento sul pH fogliare e sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR delle foglie di nocciolo.

Trattamento	N	pH		NIRS 1-VR	%Class		P (%Class)
C-Control	97	4.65	a		53%	a	0.5546
M-Micosat	92	4.43	b	0.16	63%	a	0.0126
Totale	189	4.54			32%		
ln(M/C)		-5.0%					
P		0.016			0.0001		

## Litterbags.

Prominenti differenze fra gli spettri NIR (1-VR = 0.35) hanno sostenuto una forte classificazione dei litterbags, intorno al 70% per entrambe le Tesi (Tab. 14).

Tabella 14. Effetti dei trattamenti sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR dei Litterbags

Trattamento	N	NIRS 1-VR	%Class		P (%Class)
C-Control	44		73%	a	0.0001
M-Micosat	47	0.35	70%	a	0.0001
Totale	91		71%		
ln(M/C)			-4%		
P			0.0001		

## Produzione.

Le cimici asiatiche in questo torrido 2022 non sono praticamente comparse nel nocciolo. Dunque non possiamo concludere che il trattamento non sia potenzialmente valido. Infatti le analisi delle foglie e dei Litterbags testimoniano che il Micosat ha agito in qualche modo sia sul suolo che sulle piante.

## 4. Prova di Micorizzazione del frutteto

### b) Impostazione della prova.



numero "La Crocetta". Allevamento a spalliera, si distende ad anfiteatro sul lato destro della Canonica



Disposizione alberi

Nel Frutteto misto di Mele, Pere e Susine sono state identificate tra le altre di Controllo 30 piante (Fig. 16). Le due zone laterali erano in funzione di Controllo mentre la zona centrale era quella Trattata in cui si è effettuato dapprima il trattamento di Micosat al suolo *una tantum* con la macchina e le dosi descritte al punto 1. Si è proceduto mediante Litterbagas alle usuali determinazioni di bioattività del suolo e della funzionalità fogliare (pH e NIRS).

Figura 16. Frutteto “Spalliera” in cui sono state trattate con Micosat 30 piante di tre specie.

## b) Risultati.

### Foglie.

Il trattamento con Micosat ha modificato il pH fogliare soltanto nel pero e Susino, ma il senso della variazione è stato inverso alle attese, facendo registrare +9% +5% rispettivamente (Tab. 15). Il differenziamento degli spettri fogliari è stato debole per il Melo (1-VR = 0.22) ma elevato per Pero e Susino. La Classificazione è risultata valida per tutti gruppi eccetto il Melo Trattato (44% vs. 50% casuale). Dunque, la composizione fogliare è stata effettivamente modificata dal trattamento.

Tabella 15. Effetti del trattamento sul pH fogliare e sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR delle foglie.

	Trattamento	N	pH	NIRS 1-VR	%Class	P (%Class)
Melo	C-Control	75	5.28	a	63%	a 0.0243
	M-Micosat	61	5.30	a 0.22	44%	b 0.3468
	Total	136	5.29		53%	
	ln(M/C)		0.5%			
	P		0.400		0.4841	
Pero	C-Control	51	4.12	b	66%	a 0.0223
	M-Micosat	138	4.52	a 0.62	77%	a 0.0001
	Total	189	4.32		71%	
	ln(M/C)		9.3%			
	P		0.001		0.0001	

Susino	C-Control	53	4.10	b		75%	a	0.0003
	M-Micosat	67	4.31	a	0.58	64%	a	0.0219
	Total	120	4.21			70%		
	ln(M/C)		4.9%					
	P		0.011				0.0001	

### Litterbags.

Le differenze spettrali sono apparse limitate in Melo e Pero con soltanto la tesi Melo\_M significativamente riconosciuta rispetto al Controllo (Tab. 16). Nel susino, con differenze spettrali elevate le due categorie sono state riconosciute all'81%.

Tabella 16. Effetti dei trattamenti sulla % di Classificazione in base agli spettri NIR dei Litterbags

Coltura	Trattamento	NS	NIRS 1-VR	%Class	P (%Class)
Melo	C-Control	70		56%	b 0.3154
	M-Micosat	66	0.12	79%	a 0.0001
	Totale	136		67%	
	ln(M/C)			35%	
	P			0.0001	
Pero	C-Control	36		64%	a 0.093
	M-Micosat	32	0.02	44%	a 0.4715
	Totale	68		54%	
	ln(M/C)			-38%	
	P			0.5094	
Susino	C-Control	12		75%	a 0.0833
	M-Micosat	14	0.64	86%	a 0.0071
	Totale	26		81%	
	ln(M/C)			13%	
	P			0.0016	

Una elaborazione complessiva dei 321 spettri ricavati dai fruttiferi, Nocciolo compreso, è riportata in Tab. 17. A carico dei Litter posti sotto le piante Trattate si nota un aumento di Emicellulosa, Ceneri ed Estrattivi Inazotati, contro diminuzioni dei costituenti della parete vegetale, nella fattispecie per Fibra ADF, ADL-Lignina, e Fibra grezza. Interessante la riduzione di N nel suolo, segno che le piante lo hanno utilizzato meglio deie Controlli. La maggiore bioattività nei Litterbags è in sostanza evidenziata dall'aumento dei parametri microbici r (Rapidi) e k (Costanti) ma soprattutto dal +6% nell'indice di Micorrize.

Componente	C - Controllo	M - Micosat	Ln(M/C)	P C vs. M)
Emicellulose, %SS	14.76	15.30	4%	0.0242

Tabella 17 . Effetti del trattamento con Micosat sui Litterbags posizionati nei Fruttiferi (Nocciolo, Melo, Pero, Susino, N= 321)

Ceneri, %SS	18.08	b	18.69	a	3%	0.0006
Estrattivi Inazotati, %SS	49.22	b	49.53	a	1%	0.0000
Fibra ADF, %SS	36.53	a	35.99	b	-1%	0.0421
ADL Lignina, %SS	7.20	a	6.79	b	-6%	0.0002
Fibra grezza, %SS	11.45	a	10.31	b	-10%	0.0001
NH <sub>4</sub> N nel suolo	3.84	a	3.37	b	-13%	0.0013
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N nel suolo	67.29	a	60.81	b	-10%	0.0000
Indice di Micorrize	1.07	b	1.13	a	6%	0.0057
Microbi "Rapidi" -r	4.99	b	5.29	a	6%	0.0101
Microbi "Costanti" - k	6.26	b	6.52	a	4%	0.0045

Nessun controllo è stato effettuato sulla produzione.

**In conclusione, il trattamento micorrizante ha modificato le foglie e specialmente la bioattività del suolo in modo consistente nel senso atteso.**

## 5. Prova di somministrazione di Biochar in vigneto di freisa

La prova è stata condotta in collaborazione con il CREA di Asti (dr. Eligio Malusà) ed ha riguardato

### a) Impostazione della prova.

Nel vigneto di Freisa dalla fila 18 alla 25 le dispari sono state trattate con Biochar interrato con la Concimatrice di Precisione alla dose di 10 kg per metro di filare. Le file pari erano i Controlli (Fig. 17).

18	C	F18C	F18C1	F18C2	F18C3	F18C4	F18C5	Freisa	Biochar
19	B	F19B	F19B1	F19B2	F19B3	F19B4	F19B5		Control
20	C	F20C	F20C1	F20C2	F20C3	F20C4	F20C5		
21	B	F21B	F21B1	F21B2	F21B3	F21B4	F21B5		
22	C	F22C	F22C1	F22C2	F22C3	F22C4	F22C5		
23	B	F23B	F23B1	F23B2	F23B3	F23B4	F23B5		

24 C F24C F24C1 F24C2 F24C3 F24C4 F24C5  
 25 B F25B F25B1 F25B2 F25B3 F25B4 F25B5

Figura 17. Schema sperimentale dei Litterbags per la prova Biochar-22.

Trascorsi 15 giorni dal trattamento del suolo, sono stati collocati 48 Litterbags, dissotterati 90 giorni dopo.

## b) Risultati.

**Foglie.** Nessun controllo previsto nel primo anno.

### Litterbags.

Una accentuata differenza è emersa fra gli spettri NIR dei due tipi di Litterbags (B vs. C) (Tab. 18). Infatti il coefficiente 1-VR è stato pari a 0.41 mentre la % di riconoscimento è risultata molto elevata e pari al 86% per C e 78% per B, valori non differenti fra di loro.

Tabella 18. Differenziamento degli spettri NIR dei litterbags (1.VR) e % di Classificazione dei due trattamenti.

Trattamento	NS	1-VR	%Class	
C-Controllo	90		86%	a
B-Biochar	111		78%	a
Totale	201	0.41	82%	P<0.0001

NS = N spettri NIR

Viene qui considerata (Tab. 19) la bioattività dei litterbags come specchio della biodiversità microbica del suolo. Nel residuo del fieno dei litterbags il Biochar diminuisce il contenuto di Emicellulose (-8%) mentre aumenta il contenuto di Lignina (+8%) e di Cellulosa (+2%). Di regola nei litterbags sono le emicellulose ad aumentare. Qui si verifica il contrario perchè i microrganismi portati dal suolo nel fieno del litterbag - essendo filtrati dalla somministrazione di Biochar - risultano fortemente rallentati nella loro attività cellulolitica e ligninolitica. Secondo le attese il carbonio verrà conservato. Nel suolo l'azoto disponibile per le radici delle piante viene fortemente conservato in misura del 43% per la forma ammoniacale e del 20% per la forma nitrica. Una controprova della minore attività dei microrganismi è fornita dal tenore proteico del litterbag che è ridotto del 10% con il, Biochar. In parallelo l'indice di micorrizzazione (stimato da prove comparative di colture Controllo vs. colture Trattate con micorrize) si riduce del 9%.

In conclusione, esaminato nel breve periodo di 90 giorni il Biochar appare come un agente antifermentativo di potenza da -6% a -10%. Secondo le attese, il carbonio e l'azoto verranno conservati nel suolo. Ovviamente, occorrerà proseguire negli anni prossimi la evoluzione della bioattività nei litterbags e nei Teabags procedendo a valutazioni oggettive del tenore di carbonio organico e dell'humus nel vigneto.

A confronto dei Litterbags posti nei fruttiferi il Biochar si pone agli antipodi del Micosat.

Tabella 19. Effetti dei trattamenti sulla composizione dei Litterbags e delle variabili del suolo.

Componente	C-Controllo	B-Biochar	ln(B/C)%
------------	-------------	-----------	----------

Cellulosa	23.1 b	23.6 a	2%
Eemicellulosa	13.6 a	12.6 b	-8%
ADL - Lignina	8.2 b	8.9 a	8%
Fibra NDF	45.0 b	45.1 a	0.6%
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> N nel suolo	3.95 b	6.08 a	43%
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> N nel suolo	59.8 b	73.0 a	20%
Proteina nel litterbag	11.4 a	10.3 b	-10%
Indice Micorrize	0.96 a	0.88 b	-9%

a>b sulla riga, P<0.05.

## 6. Litterbags e Teabags indicatori della Bioattività del suolo.

Nel 2022 sono proseguite collaborazioni con Istituzioni scientifiche e del territorio nelle quali l'Accademia ha applicato direttamente le tecniche Litterbag-NIRS, Teabag-NIRS, pH fogliare, NIRS fogliare e dei frutti sperimentate a Vezzolano.

**6.1 Collaborazione con DISAFA-Grugliasco (Prof.ssa Guidoni)** per due tesi di dottorato in una prova poliennale su Nebbiolo, svolta presso l'Azienda Ginestra di Conterno-Fantino (Monforte, CN). Nel 2023 saranno pubblicati 2 lavori al SOI-Torino di Giugno, intitolati:

Masoero G, Staffolani N, Stuardi M, Cugnetto A, Guidoni S. (2023). Valutazione di metodi indiretti per lo studio della bioattività nel suolo e dell'attività nelle piante. S.O.I. Torino 20-23 Giugno.

2023  
TORINO

UNIVERSITÀ  
DI TORINO

giornate XIV  
SCIENTIFICHE

One Health

## VALUTAZIONE DI METODI INDIRETTI PER LO STUDIO DELLA BIOATTIVITÀ NEL SUOLO E DELL'ATTIVITÀ NELLE PIANTE

**Giorgio Masoero<sup>1,3</sup>, Nicola Staffolani<sup>2,3</sup>, Mariasilvia Stuardi<sup>3</sup>, Alberto Cugnetto<sup>1</sup>, Silvia Guidoni<sup>3,1</sup>**  
<sup>1</sup>Acc.Agricoltura di Torino, <sup>2</sup>Fondazione Dalmasso, <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari, UniTO

giorgiomasoero@gmail.com

**Obiettivo:** Valutare sette sistemi [1-7] di misura di suolo, foglie e vinaccioli per la loro capacità di discriminare le tesi di un esperimento e per le capacità di collegamenti ai risultati produttivi

**Metodi:**

**Su Suolo**

- 1-Teabags-peso
- 2-Litterbag-NIRS (fieno)
- 3-NIRS Tè Rosso
- 4-NIRS Tè Verde

**Su Piante**

- 5-pH foglie
- 6-NIRS foglie

**Su Vinaccioli** 7-NIRS vinaccioli

I sistemi sono stati testati sulle 21 tesi di 4 prove agronomiche su vite (3) e lattuga (1)

A) Elaborazione PLS-DA (WinISI + XLSTAT) di spettri NIR discriminante delle 21 tesi - calcola le Matrici di confusione la cui diagonale contiene le **percentuali di Classificazione**

B) Elaborazione PLS-R (XLSTAT) di spettri NIR predittiva della produzione della vite (kg/pianta)

**Risultati:**

	% di Classificazione	
1- Teabags-Peso	32%	c
2- Litterbag-NIRS (fieno)	54%	b
3- NIRS Tè Rosso	91%	a
4- NIRS Tè Verde	82%	a
5- pH Foglie	29%	c
6- NIRS Foglie	45%	c
7- NIRS Vinaccioli	89%	a

Gli indici NIRS **rosso, verde** e **vinaccioli** erano notevolmente più efficaci dei Teabags-peso nel discriminare i risultati con % di classificazione più elevate. Per il fieno risultato intermedio

**Lo spettro NIR** contiene informazioni sulla risposta produttiva e qualitativa delle piante

**La predicibilità** delle produzioni di uva è apparsa significativa e non differente per i tre metodi con spettroscopia NIR (R<sup>2</sup> 0.55)

Scoprire collegamenti degli spettri con parametri utili per la gestione colturale

Tutti i sette metodi si sono dimostrati validi «**acceleratori**» per l'analisi di esperimenti

## Valutazione di metodi indiretti per lo studio della bioattività nel suolo e dell'attività nelle piante.

Giorgio Masoero<sup>1,2\*</sup>, Nicola Staffolani<sup>2</sup>, Mariasilvia Stuardi<sup>2</sup>, Alberto Cugnetto<sup>1</sup>, Silvia Guidoni<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Accademia di Agricoltura di Torino, Torino; <sup>2</sup>Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari, UniTO, Grugliasco (To)

e-mail: giorgioxmasoero@gmail.com; [silvia.guidoni@unito.it](mailto:silvia.guidoni@unito.it)

La bioattività del suolo può essere indagata con metodi che prevedono analisi enzimatiche, metagenomiche, biologiche, microbiologiche, ma anche con metodi indiretti. Fra questi il metodo "Tea-Bags Index" (TBI), proposto in ambito naturalistico, prevede di sotterrare una coppia di sonde (una bustina di tè rosso e una di tè verde) di contenuto standard e peso noto, e di valutarne semplicemente la variazione in peso dopo 90 giorni; il metodo "Litterbag-NIRS", proposto in ambito agricolo sperimentale specialmente per valutare l'efficienza di fertilizzanti microbici, prevede di sotterrare una sonda di fieno macinato di composizione nota, e di rilevarne lo spettro NIR dopo 60 giorni. Questi metodi possono stimare la funzionalità del suolo in quanto forniscono parametri correlabili a meccanismi biochimici che inducono variazioni quanti/qualitative nelle sonde organiche sotterrate.

In questo lavoro viene considerata una evoluzione del TBI al quale viene aggiunta l'analisi degli spettri NIR misurati sui residui organici degradati delle bustine al fine di considerarne la variazione qualitativa. Le misure di spettro, ripetute tre volte, sono state effettuate con uno "smart-NIR" (SCiO™, Tel Aviv, Israel) che opera nel range 740-1070 nm fornendo la riflettanza di 331 punti. I metodi adottati per lo studio (Litterbag-NIRS, TB-Index, e i nuovi TB-NIRS<sub>rosso</sub>, TB-NIRS<sub>verde</sub> misurati sulla coppia di bustine di té) sono stati confrontati analizzando le matrici di classificazione ottenute da quattro esperimenti (3 su vite e 1 su insalata) che includevano in tutto 21 casi. L'analisi discriminante lineare (XLSTAT) si è basata sulle stime Partial Least Squares Predictor (PLSP) ottenute con analisi PLS (software WinISI-III) e ha fornito le percentuali di correttezza della classificazione in gruppi dopo validazione incrociata (%Correct). Questa percentuale rappresenta la tipicità di ciascun gruppo rispetto agli altri ed è stata usata per confrontare la sensibilità e/o la specificità dei metodi applicati a ciascun esperimento e al totale (MedcALC). Inoltre, l'ANOVA sui migliori indicatori PLSP (Best PLSP, BPLSP) ha consentito una caratterizzazione quantitativa della variabilità spettrale riscontrata nelle sonde. Per verificare l'utilità di metodi rapidi per la misura dell'attività delle piante e discriminare gli effetti sperimentali, sono stati rilevati anche il pH del picciolo e lo spettro NIR del lembo fogliare e, sulle due prove in vigneti adulti, lo spettro NIR dei vinaccioli e l'analisi della loro componente polifenolica. Alle misure spettrali sono state applicate le stesse elaborazioni discriminanti mono o multivariate sopra indicate. Infine, per verificare l'associazione fra bioattività nel suolo e risposta delle piante si è calcolata la predicibilità delle misure di produzione e composizione ottenute dalle prove, a partire dagli spettri NIR delle sonde utilizzate. L'elaborazione delle 2831 osservazioni ottenute dai 21 gruppi sperimentali dei 4 esperimenti ha evidenziato che il TBI (31%), il pH delle foglie (36%) e il NIRS del lembo fogliare (41%) raggiungevano un %Correct analogo, che il metodo Litterbag-NIRS consentiva una classificazione migliore (55%), ma che il valore maggiore era ottenibile con il metodo TB-NIRS (91% con il tè rosso e 82% con il verde) e con il NIRS dei vinaccioli (90%). La predicibilità delle produzioni è apparsa significativa e non differente per i tre metodi ( $R^2$  cross-validato = 0,44 per litterbag, 0,59 per tè rosso e 0,54 per té verde) così come quella dei polifenoli dei vinaccioli ( $R^2$  medio = 0,38).

In conclusione: i) gli indici TB-NIRS sono stati notevolmente più efficaci del TBI nel descrivere e comprendere i risultati di una prova sperimentale; ii) lo spettro NIR delle sonde organiche ha mostrato di contenere informazioni sulla risposta produttiva e qualitativa delle piante. iii) in prospettiva, l'applicazione del metodo TB-NIRS potrà essere utile in agricoltura sia a scopo sperimentale sia applicativo ma sarà più efficace quando saranno accertati i collegamenti con parametri biochimici e nutrizionali del suolo utili per la gestione culturale.

**Parole chiave:** indicatori fertilità biologica, suolo, Tea-Bag, Litterbag, NIRS, pH fogliare, polifenoli vinaccioli

Staffolani N, Stuardi M, **Masoero G, Guidoni S** (2023) Esplorazione del microbiota del suolo di vigneti e sue relazioni con la pianta. S.O.I. Torino 20-23 giugno.

Graphic abstract



Bioestimolanti

## ESPLORAZIONE DEL MICROBIOTA DEL SUOLO DI VIGNETI E SUE RELAZIONI CON LA PIANTA

**Nicola Staffolani<sup>1,2</sup>, Mariasilvia Stuardi<sup>1</sup>, Giorgio Masoero<sup>2</sup>, Silvia Guidoni<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari, UniTO, Grugliasco (To); <sup>2</sup>Fondazione Dalmasso<sup>2</sup>Accademia di Agricoltura di Torino, Torino



nicolastaffolani@cloud.com

**Obiettivo:** Esplorare la componente microbica dei suoli e valutarne le relazioni con aspetti fisiologici e produttivi delle piante

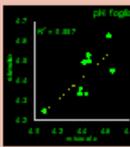
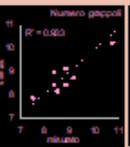
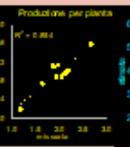
**Metodi:** Campionamento di suolo in tre repliche di tre vigneti limitrofi (Monforte d'Alba, CN)  
**ANALISI MICROBIOTA:** sequenziamento e caratterizzazione del gene 16SrRNA di batteri, funghi e Archaea (BeCrop®, Bioma Makers),  
**Calcolo di abbondanza,** assoluta e relativa (percentuale sul totale dei taxa identificati nell'area) dei taxa.  
**ELABORAZIONE statistica:** Regressione PLS, cross-validation LOO (XLSTAT);  
**Variabili dipendenti:** pH fogliare, produzione per pianta, indice maturità fenolica dei semi (Rapporto Non-Estraiibili/Estraiibili)  
**Variabili indipendenti:** abbondanza dei Phyla Bacteria, Fungi, e Fungi+Bacteria

**Risultati:**

Taxa	Media	DS	Coefficients di regressione PLS standardizzati				
			pH fogliare	N. grappoli	Produzione	Peso grappolo	Maturità fenolica
Proteobacteria	99.7	72	-0.08	0.05	0.04	-0.01	0.01
Actinobacteriota	88.9	58	-0.27	-0.04	-0.03	0.00	-0.08
Firmicutes	81.9	58	-0.07	-0.21	0.00	0.18	0.07
Bacteroidia	27.3	3.7	-0.04	0.05	0.00	0.05	0.04
Planctomycetota	8.1	0.8	-0.18	-0.07	-0.10	-0.04	-0.16
Chloroflexi	12.2	1.8	-0.05	0.02	0.15	0.15	0.03
Verrucomicrobia	11.3	1.8	0.12	-0.10	-0.14	-0.09	0.16
Mycota	11.7	0.7	0.00	0.25	0.24	0.07	-0.23
Acidobacteriota	6.2	0.8	-0.16	-0.14	-0.01	0.10	0.17
Desulfobacteriota	2.8	1.3	-0.17	-0.11	0.06	0.15	0.13
Bifidobacteriota	2.2	0.4	-0.01	-0.06	-0.02	0.02	0.08
Armatimonadetes	1.8	0.4	0.11	0.05	0.02	-0.01	-0.13
Cyanobacteria	1.1	0.8	0.06	0.11	-0.11	-0.23	-0.05
Planctomycetes	1.2	0.4	-0.06	-0.17	-0.07	0.06	-0.01
Sporobolales	0.4	0.5	-0.02	-0.13	-0.13	-0.06	0.06
Candidata	0.9	0.3	-0.03	0.07	0.23	0.20	0.14
Chrysiolales	0.3	0.5	0.00	0.00	-0.11	-0.12	-0.01
Dinorozozoa	0.7	0.5	-0.15	-0.10	0.08	0.18	0.14
Planctobacteria	0.9	0.3	-0.22	-0.29	-0.21	0.01	0.16
Ascomycota	222.1	46.2	0.14	-0.12	-0.16	-0.10	0.01
Basidiomycota	62.9	19.1	0.14	-0.12	-0.17	-0.11	0.04
Mortierellomycota	13.4	3.0	0.19	-0.06	-0.07	-0.03	0.01
Glomeromycota	4.4	3.0	0.15	-0.17	-0.24	-0.17	0.02
Mucoromycota	3.3	2.1	0.25	-0.04	0.04	0.12	-0.01

	R <sup>2</sup> Regressione	pH fogliare	Numero grappoli	Produzione	Peso grappolo	Maturità fenolica
Bacteria	0.56	0.93	0.85	0.91	0.74	
Fungi	0.41	0.20	0.35	0.18	0.01	
Bacteria + Fungi	0.56	0.85	0.77	0.87	0.73	

**pH fogliare** associato a biodiversità di Bacteria (R<sup>2</sup> 0.56) e Fungi (R<sup>2</sup> 0.41).  
**Numero grappoli, produzione/pianta, peso grappolo, maturità fenolica** associati a Bacteria, poco o nulla a Fungi.  
 Elaborare Bacteria e Fungi insieme può migliorare la stima.


variabili misurate e stimate dall'abbondanza dei taxa batterici

Sono identificati taxa con azione **nulla**, **positiva** o **negativa** sulle variabili

### Esplorazione del microbiota del suolo di vigneti e sue relazioni con la pianta

Nicola Staffolani<sup>1</sup>, Mariasilvia Stuardi<sup>1</sup>, Giorgio Masoero<sup>2</sup>, Silvia Guidoni<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari, UniTO, Grugliasco (To); <sup>2</sup>Accademia di Agricoltura di Torino, Torino;

e-mail\* [silvia.guidoni@unito.it](mailto:silvia.guidoni@unito.it)

Il biota del suolo è l'insieme degli organismi che vivono in associazione con il suolo; il microbiota include batteri, *Archaea* e funghi la cui presenza ed abbondanza influenza la funzionalità dei suoli sia naturali sia agrari. È noto, altresì, che la biodiversità dei suoli può essere influenzata dalle condizioni ambientali e dalle pratiche colturali che, quindi, hanno un ruolo sulla sua conservazione; la biodiversità può quindi essere un indicatore di qualità dei suoli e dell'impatto colturale. L'obiettivo di questo studio, svolto nel 2021 in 3 vigneti commerciali delle Langhe (CN), è stato di esplorare la componente microbica dei suoli e di valutare le possibili relazioni tra questa e aspetti fisiologici delle piante. L'analisi del microbioma del suolo ha seguito il protocollo BeCrop® (Bioma Makers, San Francisco, CA) e ha previsto il triplice campionamento di aliquote di suolo in ogni vigneto e il sequenziamento e la caratterizzazione del gene 16SrRNA di batteri, funghi e *Archaea*; il report dei risultati includeva la lista dei taxa e la loro presenza espressa in percentuale sul totale dei taxa identificati. Le specie di batteri, funghi e *Archaea* sono state contate suddividendole per *phylum* di appartenenza. Per ogni ripetizione è stato calcolato un indice di diversità microbica (ID) per batteri, funghi e *Archaea*, rapportando il numero di specie presenti nella ripetizione al numero totale di specie campionate nell'area. Inoltre, nel corso della stagione di indagine sono state eseguite misure ripetute di superficie fogliare delle piante, diametro degli acini, indice di clorofilla, temperatura delle foglie e pH del picciolo fogliare e, alla raccolta, sono stati rilevati i parametri produttivi; attraverso l'analisi delle correlazioni si sono indagate le relazioni tra gli indici di diversità microbica e i parametri vegeto-produttivi. Nell'ambiente indagato sono state identificate 717 specie di funghi appartenenti a 9 *phyla*; il 99% di esse apparteneva a 5 *phyla*: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Mortierellomycota*, *Glomeromycota* e *Mucoromycota*. Erano presenti 24 *phyla* con 562 specie batteriche, 8 *phyla* includevano il 94% del totale delle specie campionate (*Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Planctomycetota*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobiota* e *Myxococcota*) e 4 *phyla* con 6 specie di *Archaea*. Solo 79 specie di funghi, 214 di batteri e 2 di *Archaea* erano presenti in tutte le 9 ripetizioni (specie **ubiquitarie**). Per ogni *phylum* la percentuale di specie batteriche ubiquitarie (38%) era maggiore di quelle fungine (11%). Le specie **sporadiche**, cioè presenti in uno solo dei tre vigneti, erano 116 specie batteriche e 270 specie fungine; solo alcune di esse, come *Nitrospira*, *Polymyxa graminis* e *Glutamicibacter arilaitensis*, erano presenti in tutte e tre le repliche di un solo vigneto (specie **esclusive**). Le elaborazioni numeriche hanno identificato un microbioma comune descrivibile come quello dell'ambiente considerato e uno più specifico del singolo vigneto caratterizzato dalla presenza di specie esclusive di quel vigneto e che potrebbe dipendere dalla conduzione colturale o da peculiarità di natura ambientale (pedoclimatica, ad esempio). Alcune delle specie, e tra queste alcune di quelle esclusive, rivestono importanti ruoli funzionali nel suolo e/o fungono da promotori della crescita delle piante. Sono poi emerse correlazioni tra gli indici di diversità microbica e i parametri vegeto-produttivi; a nostra conoscenza, queste relazioni sono individuate su vite per la prima volta.

Esplorare più approfonditamente le ragioni e le conseguenze di tali relazioni e dei comportamenti osservati, sarà quindi di interesse non solo per la comunità scientifica ma anche per gli aspetti applicativi che da queste informazioni potrebbero derivare.

**Parole chiave:** Biota, batteri, funghi, *Archaea*, microbiota, pH delle foglie.

**6.2 Collaborazione con CREA-ASTI – Conegliano – Gorizia e associazione produttori Barbera e Nebbiolo con aziende in 11 Comuni Astigiani** per verificare la possibilità di un nuovo metodo di valutazione “omico” del suolo basato sul coordinamento Litterbag-Teabags-NIRS - analisi enzimatiche – metagenomica. Nel 2023 sarà pubblicato un lavoro al SOI-Torino di Giugno, intitolato:

Malusà E, Fornasier F, Barea S, Vincens B, Bragato G, Giacoppo S, **Masoero G.** (2023) Stato della fertilità del suolo in vigneti situati nella zona del Barbera d’Asti. S.O.I. Torino 20-23 Giugno.

Stato della fertilità del suolo in vigneti situati nella zona del Barbera d’Asti

Eligio Malusà<sup>1</sup>, Flavio Fornasier<sup>2</sup>, Silvia Barea<sup>3</sup>, Baptiste Vincens<sup>3</sup>, Gilberto Bragato<sup>2</sup>, Salvatore Giacoppo<sup>4</sup> e Giorgio Masoero<sup>5</sup>

CREA Centro Viticoltura ed Enologia, Conegliano 2) CREA Centro Viticoltura ed Enologia, Gorizia 3) CREA Centro Viticoltura ed Enologia, Asti 4) Consorzio Barbera d’Asti e Vini del Monferrato, Costigliole d’Asti 5) Accademia di Agricoltura di Torino, Torino e-mail: [eligio.malusa@crea.gov.it](mailto:eligio.malusa@crea.gov.it)

Il suolo è una risorsa limitata e non rinnovabile, fondamentale per la produttività delle colture. La sostenibilità dell’agro-ecosistema è strettamente connessa allo svolgimento dei servizi ecosistemici, nei quali i microrganismi del suolo svolgono un ruolo determinante. Infatti, le comunità microbiche svolgono un ruolo determinante nei cicli biogeochimici, interagendo con tutti i fattori ambientali e le piante. Una comprensione di queste complesse relazioni e del loro impatto sulla resilienza delle colture nei confronti di diversi stress necessita di una valutazione delle diverse pratiche agronomiche sulla fertilità del suolo. Nel caso del vigneto, l’apporto ridotto o mancante di sostanza organica e l’eccesso di lavorazioni al terreno hanno contribuito a rendere meno resiliente la produzione viticola nei confronti dei cambiamenti climatici con un impatto negativo sulle potenzialità produttive e sulla qualità delle uve. D’altra parte, viticoltori e tecnici necessitano di strumenti innovativi per valutare il grado di fertilità globale del suolo che vadano oltre le tradizionali analisi chimico-fisiche e permettano di valutare la fertilità biologica del suolo, anche alla luce dell’uso sempre crescente di biostimolanti microbici o organici. A tal fine è stata condotta una indagine su 11 vigneti, rappresentativi delle diverse zone di produzione del Barbera d’Asti che vengono utilizzati quale riferimento per le attività di assistenza tecnica condotte per conto del Consorzio del Barbera d’Asti. Il suolo prelevato nel sottofila, in prossimità delle radici di vite, è stato campionato nella primavera del 2022 e sottoposto a determinazione della biomassa microbica e analisi multienzimatica con 14 enzimi coinvolti nei cicli biogeochimici di C, N, P, S, al fine di valutare la fertilità biologica del suolo. I risultati hanno evidenziato una diversa intensità dei cicli biogeochimici nei diversi siti. In corrispondenza dei punti di campionamento sono state inoltre utilizzate bustine di tea per la valutazione del Tea Bag Index secondo Keuskamp et al. (2013) e verificare anche la possibilità di migliorarlo tramite analisi NIRS utilizzata per determinare il Litterbag-NIRS Footprint Index (Masoero et al. 2018). Entrambi gli indici, direttamente correlati all’attività microbiologica, hanno evidenziato differenze significative tra i vari vigneti. L’utilizzo della NIRS ha fornito un risultato maggiormente discriminante tra i vigneti rispetto al Tea Bag Index, indicando la possibilità di un sostanziale miglioramento del metodo ponderale attraverso la spettroscopia NIR. Sulla base delle diverse analisi, lo studio dimostra quindi la possibilità di utilizzare metodi di analisi fruibili dai viticoltori e tecnici per una valutazione complessiva dello stato della fertilità biologica del suolo del vigneto, che integrano efficacemente le classiche analisi chimiche. Questo permette di mettere a punto una strategia di gestione del suolo utile a migliorare la nutrizione della vite e renderla più resiliente agli stress abiotici e biotici.

Parole chiave: indicatori fertilità biologica, microbioma, tea bag index, NIRS

References

Keuskamp et al. 2013. *Methods in Ecology and Evolution* doi: 10.1111/2041-210X.12097  
Masoero et al. 2018. *Journal of Agronomy Research* doi:10.14302/issn.2639-3166.jar-18-239





## Progetto UE «EXCALIBUR

10 Centri		INSTITUTION NAME	CITY	COUNTRY
INHORT-Polonia	INHORT	National Research Institute of Horticulture	Skierniewice	Poland
Rinova-Cesena	CRPV	ASTRA Innovazione e Sviluppo - Unità Operativa Martorano 5	Cesena	Italy
KOB-Germania	KOB	Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee	Ravensburg	Germany
IN+ Francia	IN+	INOCULUMplus	Bretenière	France
FOEKO-Germania	FOEKO	Heinrich Maisel Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e. V.	Stuttgart	Germany
EMR-NIB UK	EMR-NIAB	NIAB EMR	West Malling	UK
Agroinnova	UNITO	Agroinnova	Grugliasco	Italy
TUGRAZ Austria	TU GRAZ	Graz University of Technology	Graz	Austria
KIS Slovenia	KIS\SLO	Kmetijski inštitut Slovenije	Ljubljana	Slovenia (SI)
PLEN Danimarca	UCPH /PLEN	University of Copenhagen, Department of Plant and Environmental Sciences	Frederiksberg C	Denmark



Litterbags, Teabags, Radici  
5280 Spettri + altri

Da 218 tesi sperimentali

## 7. Valutazione rapida della Maturità Polifenolica (MP) mediante NIRS

**7.1** Il tema è stato sviluppato per la comunicazione al Convegno di Giugno 22:

[https://docs.google.com/presentation/d/117SjhlafXFhQ6moq7dEUOq1\\_H4Uw0aj/edit?usp=sharing&ouid=101362001964412430969&rtfpof=true&sd=true](https://docs.google.com/presentation/d/117SjhlafXFhQ6moq7dEUOq1_H4Uw0aj/edit?usp=sharing&ouid=101362001964412430969&rtfpof=true&sd=true)  
[https://www.youtube.com/watch?v=hZl82s4\\_IJw&t=115s](https://www.youtube.com/watch?v=hZl82s4_IJw&t=115s)

Il Prof. Corrado Borgogno Mondino presidente della AIT che organizza le GEOdaysIT a Bari dal 12 al 17 Giugno ha sollecitato l'Accademia ad evidenziare la sua attività nel settore. Pertanto il giovane e volenteroso Socio ordinario Alberto Cugnetto si è offerto di presentare una comunicazione sulla ricerca effettuata nel Canavese su Erbaluce e Nebbiolo, dal titolo:

*Cugnetto A, Sarasso G, Masoero G (2023) Monitoring Erbaluce and Nebbiolo vineyards by means of Sentinel-2 NDVI index maps. GEOdaysIT - BARI*

The advent of **satellite technologies** has made it possible to make georeferenced observations of the entire globe at periodic intervals of a few days and with high spatial resolutions.

ESA's Copernicus mission makes available open-source data from the Sentinel-2 constellation created to provide useful information for agricultural purposes thanks to appropriately calibrated multispectral images [2].

The NDVI (Normalized Vegetation Index) [1] can be correlated with some biophysical or agronomic variables of the vineyard [3].

The work presents the results of a two-year work carried out in the province of Turin in the Piedmont region, that involved six vineyards cultivated with different varieties (Nebbiolo, Erbaluce) and two vine training system (pergola and espalier). The NDVI georeferenced data were provided by the EOS Crop Monitoring web platform.

The experimental design divided the vineyards in three classes of vigor areas, defined through a pre-survey operated by comparing the series of georeferenced NDVI images collected the summer before.

In the different vineyards for each of the chosen vigor areas, five plants were identified and used as a ground reference to evaluate a series of vegetative-productive parameters. The total amount of plants monitored were 30 for Nebbiolo and 55 for Erbaluce.

All NDVI index showed significant predictability for the studied variables, as reported in detail in Tab. 1 containing all the parameters for operative comparisons.

As expected, the trend of the quantitative variables was positively related to the NDVI while the qualitative variables were negatively related. As far as the percentage mean error was concerned a high predictability, (error 1÷7% respectively for Erbaluce and Nebbiolo vineyards). Considering the canopy architecture, the leaf layers were accurately predicted from the NDVI ( $R^2$  0,72 and 0,55 respectively for Erbaluce and Nebbiolo) with an error around 10%. Regarding the fruit compartment a strong difference emerged between the systems. The shaded cluster percentage in the Nebbiolo vines was highly predictable with ( $R^2$  0,57, error 6%). In Erbaluce the error was higher (36%) with a correlation index  $R^2$  of 0,42. This fact derives from the higher variability of the plants in the compared plots. The number of clusters were predicted with a minor error in Nebbiolo than in Erbaluce (9% and 29%,  $R^2$  0,70 and 0,16 respectively) and for the bud fertility (8% and 15%,  $R^2$  0,83 and 0,36 respectively). In sum, the true productive traits appeared as the less predictable in the Erbaluce vineyards, with 31% error in yield ( $R^2$  0,26) compared to a less erroneous prediction (error 22% and  $R^2$  0,63) in Nebbiolo vines. The pruning wood weight was similarly predicted from the NDVI with 21 and 23% error, with a correlation index  $R^2$  of 0,41 and 0,28 for Erbaluce and Nebbiolo respectively.

The PCA analysis, allowed discriminating observations based on vigor attributes and consistently with the measured variables, even when all the observations, for the different varietal combinations, are processed simultaneously with the same multivariate model.

The study confirmed the possibility to use Sentinel-2 NDVI output to map the vineyards variability also in small plots (< 1 ha), estimating the vineyard canopy density, the productive and wine most important technological parameters.

[1] Giovos, R., Tassopoulos, D., Kalivas, D., Lougkos, N., & Priovolou, A. (2021). Remote sensing vegetation indices in viticulture: A critical review. *Agriculture*, 11(5), 457.

[2] Sarvia, F., De Petris, S., Orusa, T., & Borgogno-Mondino, E. (2021). MAIA S2 versus sentinel 2: spectral issues and their effects in the precision farming context. In *Computational Science and Its Applications—ICCSA 2021: 21st International Conference, Cagliari, Italy, September 13–16, 2021, Proceedings, Part VII 21* (pp. 63-77).

[3] Vélez, S., Rançon, F., Barajas, E., Brunel, G., Rubio, J. A., & Tisseyre, B. (2022). Potential of functional analysis applied to Sentinel-2 time-series to assess relevant agronomic parameters at the within-field level in viticulture. *Computers and Electronics in Agriculture*, 194, 106726.

**7.2** Una seconda comunicazione è originata dalle equazioni costruite sul SCIO per stimare la MP dai vinaccioli studiate presso le vigne di Nebbiolo dell'azienda vitivinicola del Socio dell'Accademia Paolo Sartirano (Novello, CN).

*Cugnetto A, Altare M, Masoero G, Guidoni S (2023). Monitoring the seeds phenolic maturity in Nebbiolo vineyard by means of NDVI index vs foliar NIR spectroscopy. GEOdaysIT-BARI*

A. Cugnetto<sup>1</sup>, M. Altare<sup>2</sup>, G. Masoero <sup>1,3</sup>, S. Guidoni <sup>3,1</sup>.

<sup>1</sup> Accademia di Agricoltura di Torino (TO)

<sup>2</sup> Az. Vitivinicola Costa di Bussia, Monforte (CN)

<sup>3</sup> Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino (TO)

A Nebbiolo vineyard was divided into three vigor zones (High, Medium, Low) according to the surveying of NDVI index supplied by EOS Crop Monitoring web platform. In four sessions, leaf samples were collected on which petiolar pH [1] and the NIR spectrum were determined using the SCiOTM v 1.2 apparatus (740-1070 m, 331 reflectance points). From samples of 10 berries the seeds were cleaned and scanned by NIRS obtaining 99 spectra. The polyphenolic maturity of the seeds was expressed based on the Non-Extractable Polyphenols / Extractable Polyphenols (PSM) ratio analyzed according to the Di Stefano method [2]. The value was estimated by a WinISI-II PLS equation recalculated on published data [3] which has a predictive value of  $R^2 = 0.70$  and RMSE error = 8%. From the NIR spectra of 164 leaves a SPAD value was estimated (by unpublished equation) and the PSM of the seeds was regressed on the 16 composition parameters [4]. The most important variables to explain the model, were those related to the bromatological composition of the vegetal wall (Cellulose, ADL, digestible-NDF, non-digestible-NDF, Total digestibility). The fitting of the 10 vines vigor group gave an  $R^2 = 0.88$  (Mean RMSE 12%). The petiolar pH did not show significant relations with the seeds PSM. The direct calibration of the NIR spectrum on the seeds PSM made with the WinISI, revealed an  $R^2 = 0.84$  (MRMSE 5%, with an outlier group), while using the PLSR of LabSCiO we obtained  $R^2=0.73$  (MRMSE 6% with an outlier group).

This part of the work demonstrates that a proximal scrutiny of the NIR spectrum of Nebbiolo leaves allow an estimation of the maturity of the seed polyphenols provided that the result is consolidated with the mean of at least 15 replicate measurements.

Once the individual calculations were examined, the group averages were processed by performing a linear regression of the PSM on the averages of the available variables extracted from the NIR spectra, and on the NDVI measurements taken from the Sentinel-2 satellite. The examined variables had different importance and the SPAD (R2=0.49) had the maximum one. The NDVI from satellite had fitted to the seeds PSM with R2 = 0.34; it was under the forecast accuracy provided by the leaves spectra set, but is worthy of attention for the simplicity of use. The obtained linear equation was  $PSM = 5.71 + 2.42 * NDVI$ .

The work demonstrates that with the modern Satellite remote sensing technologies, it is possible to improve the grape sampling during the maturation period, better identifying the internal plot variability, that is related to different seed ripening levels. The leaf NIR spectra detected at ground level with SCIOTM v 1.2, is a rapid proximal method for estimating the Nebbiolo seed ripening, directly in the farm

1 Masoero G, Cugnetto A. 2018 The raw pH in plants: a multifaceted parameter. Journal of Agronomy Research, 1: (2), 18-34. ISSN: 2639-3166. DOI10.14302/issn.2639-3166.jar-18-2397. <https://openaccesspub.org/jar/article/871>

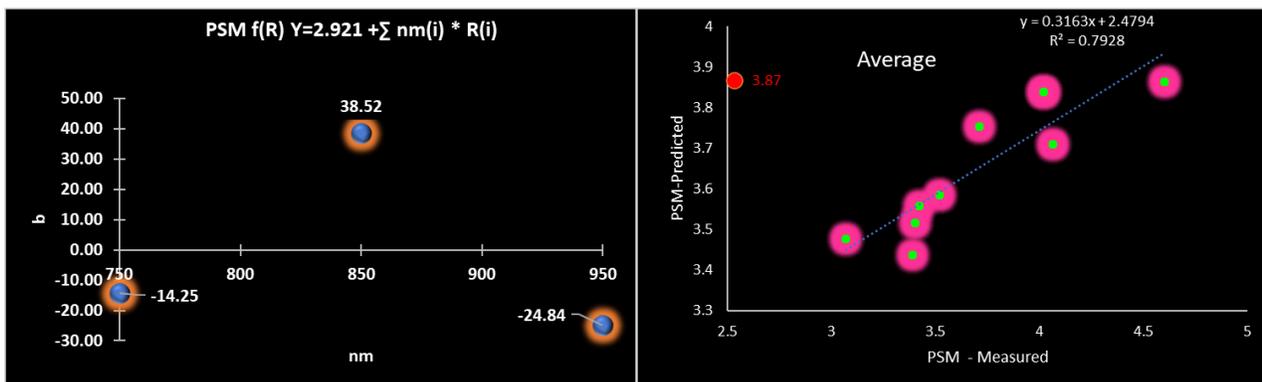
2 Di Stefano R, Cravero MC. 1991 Metodi per lo studio dei polifenoli nell'uva. Riv. Vitic. Enol, 2, 37-45.

3 Cugnetto A, Masoero G. (2021) Colored anti-hail nets modify the ripening parameters of Nebbiolo (*Vitis vinifera* L.) and a smart NIRS can predict the polyphenol features. JAR 4 (1), 24-45. <https://openaccesspub.org/jar/article/1701>

4 Peiretti P G, Masoero G and Tassone S 2017: Comparison of the nutritive value and fatty acid profile of the green pruning residues of six grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. Livestock Research for Rural Development. Volume 29, Article #194. Retrieved October 3, 2017, <http://www.lrrd.org/lrrd29/10/pier29194.html>

**7.3** Una terza pubblicazione (in preparazione) è originata dalle equazioni costruite sullo spettro SCIO delle foglie per stimare la MP dei vinaccioli, studiate presso le vigne di Nebbiolo dell'azienda vitivinicola del Socio dell'Accademia Paolo Sartirano (Novello, CN). Il coefficiente R2 per le medie è di 0.84. Analizzando le tre singole bande corrispondenti a quelle disponibili in camere iperspettrali sui droni (750, 850 e 950 nm) la relazione si mantiene elevata (R2 0.79). L'equazione PLS risolutoria è la seguente:

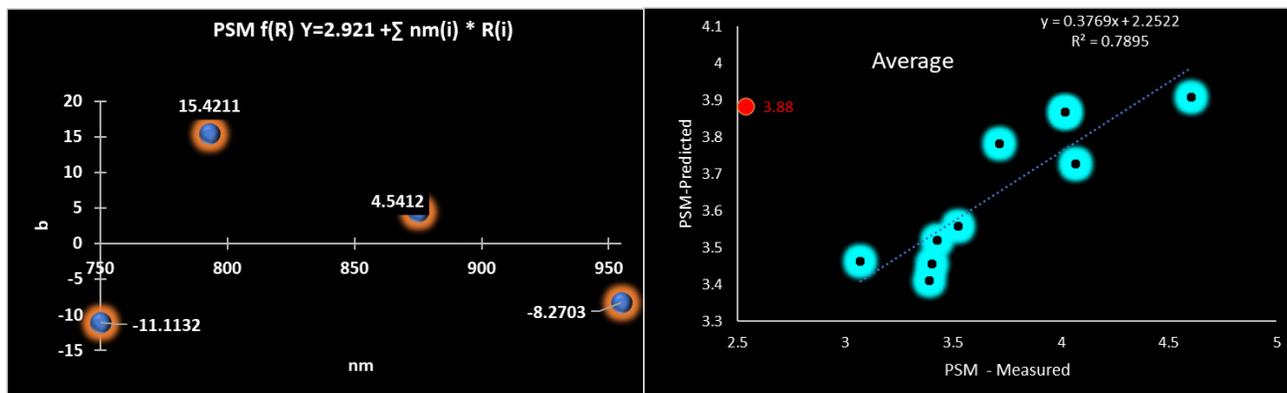
$$MP = 2.921 -14.25 * R(750) + 38.52 * R(850) -24.84 * R(950)$$



Analizzando le quattro singole bande corrispondenti a quelle disponibili in SENTINEL-2 (750, 850 e 950 nm) la relazione si mantiene elevata (R2 0.79).

L'equazione PLS risolutoria è la seguente:

$$MP = 2.45 -11.11 * R_{750} + 15.42 * R_{793} + 4.54 * R_{875} -8.72 * R_{955}$$



## BIBLIOGRAFIA GENERALE

- Masoero G, Cugnetto A. 2018 The raw pH in plants: a multifaceted parameter. *Journal of Agronomy Research*, 1: (2), 18-34. ISSN: 2639-3166. DOI10.14302/issn.2639-3166.jar-18-2397. <https://openaccesspub.org/jar/article/871>
- Keuskamp et al. 2013. Methods in Ecology and Evolution doi: 10.1111/2041-210X.12097
- Masoero G, Staffolani N, Stuardi M, Cugnetto A, Guidoni S. (2023). Valutazione di metodi indiretti per lo studio della bioattività nel suolo e dell'attività nelle piante. S.O.I. Torino 20-23 giugno.
- Malusà E, Fornasier F, Barea S, Vincens B, Bragato G, Giacoppo S, Masoero G. (2023) Stato della fertilità del suolo in vigneti situati nella zona del Barbera d'Asti. S.O.I. Torino 20-23 giugno.
- Staffolani N, Stuardi M, Masoero G, Guidoni S (2023) Esplorazione del microbiota del suolo di vigneti e sue relazioni con la pianta. S.O.I. Torino 20-23 giugno.
- Masoero G., Giovannetti G., 2015. In vivo Stem pH can testify the acidification of the maize treated by mycorrhizal and microbial consortium. *Journal of Environmental & Agricultural Sciences*. 3:23-30. <https://drive.google.com/open?id=171P7uV5zsN9OhMJQFNCxtDuc03Kuo2t>
- Masoero G., Giovannetti G., Bertero E., Cugnetto A., 2015. Il pH in-vivo della vite diminuisce con la micorrizzazione artificiale ed aumenta nella Flavescenza dorata: risultati preliminari in Piemonte. *OICCE Times "OT Rivista di Enologia"* ISSN 2240-3388 N 62 anno XIV, 19-22 <https://drive.google.com/open?id=1FkLoxZICYFLoTY1ZxIGaDjdOKLqi1oDj>
- Giovannetti G., Gaudio R., Masoero G., 2017. Consorzi microbici per la viticoltura Convegno Viticoltura Montana, Conegliano. Proc. 5<sup>th</sup> international congress on mountain and steep slope viticulture. Conegliano (TV): 98-105. <https://drive.google.com/open?id=1fwJuALIpfnAMBPC6u9WUIBxJA2PDd9Zx>
- Masoero G., Cugnetto A., Giovannetti G., 2017. Consorzi microbici, riduttori del pH in vivo, contro la Flavescenza Dorata: primi risultati in Piemonte: *L'enologo* (3): 79-82. <https://drive.google.com/open?id=1-m-OEsNSwtb2js8BB6DJhpv7od8hNHsv>
- Masoero G., Peiretti P.G., Cugnetto A., Giovannetti G. 2018. Raw pH fall-out as a sign of a mycorrhizal modifier of *Sorghum sudanensis*. *Journal of Agronomy Research*, 1: (2), 1-11. ISSN: 2639-3166. DOI10.14302/issn.2639-3166.jar-18-2264 <https://openaccesspub.org/jar/article/815>
- Masoero G, Cugnetto A. 2018 The raw pH in plants: a multifaceted parameter. *Journal of Agronomy Research*, 1: (2), 18-34. ISSN: 2639-3166. DOI10.14302/issn.2639-3166.jar-18-2397. <https://openaccesspub.org/jar/article/871>
- Masoero G, Cugnetto A, Sarasso G, Giovannetti G, Nuti M. (2019) Sunspots are correlated with foliar pH in grapevine. *Journal of Agronomy Research* 2 (3) 31-41. DOI 10.14302/issn.2639-3166.jar-19-3116 <https://oap-cancer.org/jar/article/1227>

Torino, 30 Maggio 2023

Relazione a cura di:

**Giorgio Masoero**  
**Alberto Cugnetto**  
**Giuseppe Sarasso**  
**Enrico Gennaro**  
**Renato Delmastro**  
**Ivano Scapin**