

UNIONE EUROPEA



FONDO EUROPEO AGRICOLO
PER LO SVILUPPO RURALE:
L'Europa investe nelle zone rurali

REPUBBLICA ITALIANA



REGIONE SICILIANA
ASSESSORATO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA,
DELLO SVILUPPO RURALE
E DELLA PESCA MEDITERRANEA



Consorzio



Euroagrumi



Marco Caruso
Silvia Di Silvestro
Maria Concetta Strano

Top Citrus

Varietà, tecniche e strategie ecosostenibili per agrumi al TOP



TOPCITRUS

Manuale tecnico dell'innovazione

**Attività realizzata nell'ambito del Programma
di Sviluppo Rurale 2014-2020 – Misura 16 – Cooperazione
Sottomisura 16.1**

*“Sostegno per la costituzione e la gestione dei gruppi operativi del PEI
in materia di produttività e sostenibilità dell'agricoltura”*

CUP: G27F23000010009

Manuale dell'Innovazione

Manuale operativo del Progetto TOP CITRUS

INDICE

Informazioni generali sul Manuale dell'Innovazione [pag. 5](#)

Premessa a cura del dott. **Salvatore Rapisarda**, Direttore
Consorzio Euroagrumi OP, capofila del progetto Top Citrus [pag. 9](#)

SALUTI INTRODUTTIVI

Prof. Ing. Salvatore Barbagallo, Assessore dell'Agricoltura,
dello Sviluppo Rurale e della Pesca Mediterranea della
Regione Siciliana [pag. 11](#)

Dott. Enzo Perri, Direttore del CREA-OFA di Acireale [pag. 13](#)

Dott.ssa Silvia Di Silvestro, Responsabile sede CREA-
OFA di Acireale [pag. 15](#)

“Modello operativo e intervento attuato”, a cura del **dott.**
Giuseppe Spina, Innovation Broker del progetto Top Citrus [pag. 17](#)

Introduzione al progetto a cura della **dott.ssa Maria Concetta**
Strano, Responsabile scientifico del progetto Top Citrus [pag. 33](#)

SEZIONE SCIENTIFICA

CAPITOLO 1

Selezione e qualificazione di nuove varietà di pregio di
arance pigmentate e di un limone apireno (*Azione 2 -*
Referente dott. Marco Caruso) [pag. 39](#)

Controllo fitosanitario del materiale di propagazione [pag. 47](#)

CAPITOLO 2

Valutazione dell'effetto di dispositivi di protezione,
dotati di sensori specifici, sul controllo del malsecco in
limoneti (*Azione 3 - Referente dott.ssa Silvia Di Silvestro*) [pag. 49](#)

La rete di monitoraggio. A cura del Prof. Ing. Alberto Faro,
senior consultant in Sistemi e Applicazioni AI [pag. 63](#)

CAPITOLO 3

Applicazione di rivestimenti edibili antifungini su frutti
di limone di elevato valore commerciale (*Azione 4 -*
Referente dott.ssa Maria Concetta Strano) [pag. 67](#)

CAPITOLO 4

Attività di divulgazione e Rassegna stampa (*Azione 5*) [pag. 83](#)

Manuale dell'Innovazione

Manuale operativo del Progetto Top Citrus

Varietà, tecniche e strategie ecosostenibili per agrumi al TOP

Informazioni Generali

Denominazione del Gruppo Operativo

Top Citrus

Titolo del progetto

Varietà, tecniche e strategie ecosostenibili per agrumi al TOP

Soggetto Capofila

Consorzio Euroagrumi OP Società Consortile a r. l.

Responsabile scientifico

Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura (CREA-OFA)

Partner

Grasso Giampaolo, Imbrogiano Salvatore, Maugeri Paola, Maugeri Renato, Ramo d'Aria Società Semplice Agricola di Maugeri A. e C., Caponnetto Salvatore Antonio, Villari Colture Società Agricola a r. l., Villari s.r.l., Agrobiotech Società Cooperativa a r. l.

Soggetti della ricerca

Centro di Ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura (CREA-OFA) – Sede di Acireale (CT)

Innovation Broker e Progettista

Dott. Agr. Giuseppe Spina

Curatori del manuale

Dott. Marco Caruso

Dott.ssa Silvia Di Silvestro

Dott.ssa Maria Concetta Strano

CREA-OFA Acireale

Personale tecnico-scientifico

Marco Caruso, Grazia Licciardello, Donata Pietro, Maria Guardo, Silvia Di Silvestro, Giuseppina Las Casas, Biagio Torrì, Maria Concetta Strano, Flora Valeria Romeo, Gabriele Ballistreri, Maria Allegra, Salvatore Alessandro

Borsisti

Clelia Cangemi, Davide Tahani, Sofia Paternò, Fabrizio Confalone, Federica Tilenni Scaglione

Personale di supporto alle attività di ricerca

Sara Trovato, Giuseppe Paradiso, Martina Cortese, Paola Foti, Elena Leocata, Merilin Testa, Rosamaria Sanfilippo

Sito web

topcitrus.eu

Coordinamento editoriale per il manuale

Salvo Falcone

Grafica e impaginazione:

Giovanni Stissi

Realizzazione eBook

Consorzio Euroagrumi OP







Dott. Salvatore Rapisarda

*Direttore Consorzio Euroagrumi OP,
azienda capofila progetto Top Citrus*



Il Consorzio Euroagrumi è l'organizzazione produttori storica della Sicilia, iscritta al numero uno delle OP della nostra regione. Da sempre impegnata nel concentrare l'offerta e incentivare l'aggregazione del mondo agricolo, al fine di garantire redditi soddisfacenti agli agricoltori.

In prima linea nella attuazione di azioni a tutela dell'ambiente e tra le prime OP che hanno realizzato impianti fotovoltaici per utilizzare energia da fonti rinnovabili. Oggi tutte le stazioni di condizionamento sono dotate di impianti che producono quasi per intero l'energia che serve nella lavorazione dei prodotti ortofrutticoli.

Attività parimenti importante, quella nel settore acque, in particolare del risparmio idrico e della fitodepurazione, con la messa a punto di tecniche che permettono il risparmio dal 30 al 50% di acqua irrigua, con il progetto IRRIP e con la realizzazione di laghetti per la fitodepurazione nei magazzini. Con il progetto Top Citrus abbiamo lavorato per ottenere varietà apirene di limoni e varietà che ampliano il calendario di produzione delle arance rosse. Inoltre la messa a punto di tecniche che permettono di lottare il malsecco del limone e ricerche per ottenere principi attivi, che allungano la shelf life della frutta, da scarti di lavorazione del limone.

Naturalmente le attività svolte nell'ambito del progetto Top Citrus sono state coordinate dal CREA di Acireale a cui va la nostra gratitudine per l'impegno profuso e per i risultati conseguiti. Gli altri partner hanno dato valido supporto ad Euroagrumi per testare e verificare i risultati delle attività di ricerca di cui sopra. Il tutto nell'ottica di poter dare ai produttori condizioni produttive sostenibili e soprattutto dare al consumatore garanzie di salubrità dei prodotti siciliani in generale e di Euroagrumi in particolare.



Alcuni momenti dei convegni di avvio e conclusione del progetto Top Citrus

Prof. Ing. Salvatore Barbagallo

*Assessore dell'Agricoltura,
dello Sviluppo Rurale e della Pesca
Mediterranea - Regione Siciliana*



Desidero complimentarmi con tutto il gruppo operativo Top Citrus per l'ideazione e la realizzazione di un progetto virtuoso e innovativo che dimostra, ancora una volta, la grande capacità della Sicilia di fare ricerca scientifica di alta qualità.

Il coinvolgimento diretto del CREA OFA di Acireale, attraverso il lavoro prezioso svolto dai ricercatori, dalle ricercatrici, dai tecnici e dai borsisti, si è rivelata una scelta strategica vincente che si basa sull'eccellenza che ha sempre contraddistinto il centro di ricerca.

Il progetto Top Citrus ha rappresentato, inoltre, l'espressione migliore della possibilità/capacità di fare rete al fine di raggiungere i migliori risultati nell'ottica dell'innovazione, della divulgazione e della disseminazione dei risultati raggiunti. Un formidabile partenariato pubblico-privato in grado di coinvolgere, trasversalmente e in modo proficuo, tanto il settore della ricerca scientifica applicata, quanto quello della produzione sul campo. E se questi sono aspetti legati e richiesti dai protocolli attuativi della misura 16.1 del PSR della Regione Siciliana, c'è un elemento ulteriore che conferisce un enorme valore aggiunto: l'entusiasmo di far parte di un progetto che va realmente nella direzione dell'innovazione di prodotto, del contenimento delle malattie delle piante e dell'ampliamento del calendario di produzione. Offrire al mercato nuove varietà di arance pigmentate e un limone apireno; attivare sistemi per il controllo del malsecco nei limoneti e conferire una maggiore shelf life al prodotto significa attivare iniziative concrete gradite a tutti gli elementi della filiera, dal produttore al consumatore. Un progetto arricchito da un ulteriore e indifferibile aspetto: quello del recupero degli scarti di lavorazione.

Economia circolare, riduzione dei costi energetici, sostenibilità ambientale e risparmio della risorsa idrica sono temi a noi molto cari e non è la prima volta che con il Consorzio Euroagrumi, in questo caso capofila del progetto Top Citrus, si collabora a iniziative davvero sfidanti. Nel caso del progetto Irriap, che ho avuto modo di seguire in qualità di presidente del Centro Studi di Economia applicata all'Ingegneria di Catania, il team di ricerca dell'Università di Catania in sinergia con le imprese rappresentate dal Consorzio Euroagrumi, ha dimostrato che nel processo di irrigazione degli agrumeti è possibile operare un risparmio della risorsa idrica fino al 40 per cento.

Nel ringraziare quindi tutte le componenti del progetto Top Citrus, ribadisco che lo stesso ha agito in modo sinergico su più fronti, rappresentando - in forza dei risultati conseguiti presentati in questo "manuale dell'Innovazione" - un agglomerato e un patrimonio prezioso di dati da mettere a disposizione, in ottica di riuso, anche in altre realtà.



Top Citrus, un entusiasmante progetto che si basa su sinergie e capacità di fare rete

Dott. Enzo Perri

*Direttore del CREA-OFA di Acireale
Centro di Ricerca Olivicoltura,
Frutticoltura e Agrumicoltura*



Il CREA è il principale Ente di ricerca italiano dedicato alle filiere agroalimentari, vigilato dal Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste (MASAF). È costituito da 12 Centri di ricerca, 6 di filiera e 6 trasversali, presenti in maniera capillare sul territorio nazionale. Il personale è composto da oltre 2000 unità, di cui circa la metà ricercatori e tecnologi.

Il Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura del CREA svolge le sue attività nell'ambito del miglioramento delle filiere, sviluppando tecnologie per il miglioramento genetico, la genomica, la propagazione, la sostenibilità delle produzioni e la qualità dei frutti e dei derivati, fino alla valorizzazione di sottoprodotti. Cura la conservazione, caratterizzazione e valorizzazione delle collezioni frutticole, agrumicole e olivicole.

Le attività di ricerca vengono svolte in sei sedi localizzate a Rende (CS), che è la sede amministrativa, Forlì, Roma, Spoleto, Caserta e Acireale (CT), ad ogni sede afferiscono aziende sperimentali che sono dei veri e propri laboratori a cielo aperto che ospitano numerose prove sperimentali e le varietà antiche e moderne di olivo, frutta e agrumi.

Oggi, il CREA-OFA è impegnato in un ampio progetto di valorizzazione delle sue sedi di ricerca, con l'obiettivo di rafforzarne il ruolo strategico a livello nazionale e internazionale.

Il mondo produttivo propone numerose sfide, che il centro di ricerca affronta nell'ambito di progetti afferenti a varie tematiche dalla crescente pressione dei cambiamenti climatici alla necessità di ottimizzare le risorse idriche, passando per la sostenibilità e la qualità del prodotto.

In questo contesto ha preso vita il progetto Top Citrus che con l'impegno dei suoi partner ha messo in pratica le innovazioni tecnologiche del CREA.

A nome del CREA-OFA, esprimo il mio apprezzamento per il lavoro svolto e auspico che questo volume possa stimolare un rinnovato interesse per il ruolo delle istituzioni di ricerca nel progresso dell'agricoltura italiana.



Attività di laboratorio nella sede del CREA-OFA di Acireale

Dott.ssa Silvia Di Silvestro

*Responsabile sede CREA-OFA di Acireale
Centro di Ricerca Olivicoltura,
Frutticoltura e Agrumicoltura*



L'agrumicoltura rappresenta una delle colture più significative del Mediterraneo, non solo per il suo valore economico, ma anche per il ruolo che svolge nella nostra tradizione agricola e nel nostro paesaggio. Ciò è dimostrato dalla presenza di circa 13 consorzi agrumicoli che hanno voluto garantire le loro produzioni dotandole di marchio di qualità DOP o IGP.

Ricercatori del CREA di Acireale e imprenditori agrumicoli collaborano attivamente nell'ambito di progetti e convenzioni con l'obiettivo di rinnovare il panorama varietale da oltre 150 anni, dalla fondazione del Comizio Agrario del Circondario di Acireale, "progenitore" dell'attuale sede del CREA.

Nonostante l'istituzione, nella sua evoluzione, abbia avuto diverse denominazioni (Regia Stazione di Agrumicoltura e Frutticoltura, Istituto sperimentale di Agrumicoltura, Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee) la sede di Acireale del CREA è sempre stata il punto di riferimento per l'intera filiera agrumicola italiana.

L'innovazione di prodotto è uno dei fattori strategici per l'intero comparto agrumicolo, insieme alle innovazioni nelle tecniche colturali e nelle strategie di conservazione del frutto fresco. Molte sono le nuove varietà di limone, arancio, mandarino, clementine e mandarino-simili che mostrano caratteristiche qualitative desiderabili dai consumatori, come l'assenza di semi, il contenuto in vitamine e antiossidanti, la serbevolezza,

che la ricerca ha messo a disposizione dei vivaisti e dei produttori, sia per soddisfare il fabbisogno nazionale che per vincere la competizione con i mercati esteri. Le esigenze di mercato e il clima mutano velocemente ed è necessario che anche la ricerca si adegui in modo dinamico e veloce, ma per fare ciò è necessaria la sinergia tra Ricerca, Impresa e Istituzioni. Il progetto Top Citrus ha realizzato tale sinergia ed ha consentito la formazione di cinque giovani esperti dell'intera filiera agrumicola. Auspico che questi giovani insieme alla partnership del progetto possano continuare a contribuire al progresso e alla valorizzazione dell'agrumicoltura.



Giornata di Campagna Top Citrus. A sinistra il presidente del Consorzio di Tutela Limone dell'Etna IGP, dott. Renato Maugeri

Dott. Giuseppe Spina

*Innovation Broker
del progetto Top Citrus*



Il Partenariato Europeo per l'Innovazione "Produttività e sostenibilità dell'agricoltura" (PEI-AGRI) ha rappresentato una delle novità della programmazione dello sviluppo rurale per il periodo 2014-2022 promuovendo un nuovo approccio interattivo all'innovazione.

Gli obiettivi del PEI-AGRI sono gli stessi della politica agricola (competitività, sostenibilità, biodiversità, sicurezza alimentare ecc.) a cui si aggiunge quello di gettare "ponti tra la ricerca e le tecnologie di punta, da un lato, e gli agricoltori, i gestori forestali, le comunità rurali, le imprese, le ONG e i servizi di consulenza, dall'altro" (Reg. UE 1305/2013 art.55 d) al fine di ridurre la distanza tra i risultati della ricerca e il loro utilizzo nella pratica agricola.

Pertanto, le politiche per lo sviluppo rurale hanno fornito a tale iniziativa contenuti, strumenti di operatività e finanziamenti, attraverso:

la **Rete europea del PEI** che coordina e anima l'intero intervento;

i **Gruppi Operativi** che sono stati costituiti in ogni Stato membro per la promozione di progetti di innovazione alla cui realizzazione hanno concorso imprese, ricercatori, tecnici e altri soggetti pertinenti.

Il principale obiettivo, pertanto, è la co-creazione e la diffusione di soluzioni/opportunità pronte per essere implementate nella pratica. Questo approccio ha consentito di rispondere ai bisogni degli imprenditori agricoli, avendo un ruolo attivo nel partenariato dei **Gruppi Operativi** durante la progettazione, l'attuazione e la diffusione del progetto di innovazione.

È con questo spirito che nasce il **G. O. Top Citrus** al fine di sviluppare il **Progetto Top Citrus** dal titolo "Varietà, tecniche e strategie ecosostenibili per agrumi al TOP".

Il contesto territoriale nel quale opera la proposta progettuale è rappresentato da un insieme di aziende agricole insediate nel territorio delle province di Catania, Siracusa e Messina e, più specificamente, nelle zone di produzione dei marchi di qualità: “Arancia Rossa di Sicilia IGP”, “Limone dell’Etna IGP” e “Limone di Siracusa IGP”.

Secondo i recenti dati ISMEA la superficie in produzione delle aree agrumicole catanesi è diminuita del 3,5% su base annua con una flessione molto importante pari a circa 500 ettari di produzione in meno rispetto al 2019. Questi dati confermano la tendenza strutturale alla riduzione degli investimenti ed abbandono, ascrivibili in gran parte ai danni del virus della tristeza (CTV) sugli aranceti siciliani e ai danni prodotti dal malsecco (causato dal fungo tracheomicotico *Plenodomus tracheiphilus*) sui limoneti. In particolare, piante di arancio dolce innestate su arancio amaro subiscono danni rilevanti a seguito della infezione del virus che provoca deperimenti alla pianta, con scadimenti produttivi, fino ad arrivare nei casi più gravi alla perdita di intere aree produttive. Nel caso del malsecco, l’agente patogeno avvia il processo infettivo penetrando nell’ospite attraverso ferite provocate da eventi meteorici (vento, grandine), raggiungendo lo xilema e causando l’avvizzimento dei rami, quindi perdite di produzione e nei casi più gravi la morte delle piante. Tali problematiche hanno quindi portato all’estirpazione o all’abbandono dei terreni coltivati.

L’unica valida soluzione resta l’espianto e il successivo reimpianto su portainnesti resistenti al CTV e, per il limone, l’impiego di cultivar più tolleranti, come il Monachello, l’Interdonato o il Femminello Zagara Bianca, o di dispositivi di protezione antigrandine e frangivento. Secondo le rilevazioni più recenti, in Sicilia risulta essere in atto questo processo di riconversione anche se, al momento, una parte delle superfici reimpiantate non è ancora entrata in produzione. L’impiego di strutture costituite da reti antigrandine e frangivento si sta diffondendo in molte aree limonicole, ma le strutture hanno un impatto sulle tecniche colturali, sullo sviluppo delle piante e non si conosce l’effetto sulla quantità e sulla qualità della produzione, compresa quella verdellifera.

A seguito del processo di riconversione degli impianti di arancio sui citrange, o citrandarin e di limone su citrange o *Citrus macrophylla*, sono sempre più frequenti i deperimenti di piante infette da viroidi con ripercussioni sulla qualità del prodotto e sulla competitività nei mercati.

Oltre all'utilizzo di portinnesti tolleranti al CTV, la riconversione impone l'utilizzo di materiale di propagazione sano per la produzione di piante di agrumi di qualità. Alcune criticità strutturali ed organizzative della filiera vivaistica regionale (a partire dai CCP fino alle aziende di produzione delle piante) hanno causato e causano ritardi nel processo di riconversione. Emergono, pertanto, problematiche fitosanitarie legate all'utilizzo di materiale infetto anche da diversi viroidi agenti di exocortite (CEVd) e cachexia (HSVd-Ca), che portano alla produzione di piante di pessima qualità e disincentivano investimenti sulla costituzione di nuovi impianti.

Tali problematiche, rischiano di avere ricadute negative anche nella fase post-raccolta a causa del decadimento qualitativo della produzione e della maggiore suscettibilità dei frutti ad altri agenti patogeni, in aggiunta a quelli che già sono causa di alterazioni fungine. La fase post-raccolta degli agrumi è infatti caratterizzata da problematiche che, a partire dalla raccolta incidono in maniera significativa sulle perdite di prodotto lungo le fasi di lavorazione, stoccaggio e commercializzazione, con valori che possono arrivare a superare il 30% di perdita sulla produzione totale. Le cause sono maggiormente riconducibili ad errate pratiche di lavorazione del frutto che, incrementandone le lesioni sulla superficie favoriscono lo sviluppo di agenti patogeni fungini e, di conseguenza l'insorgenza di marciumi mentre, l'alterazione del metabolismo causa l'insorgenza di fisiopatie.

Al fine di contenere lo sviluppo dei marciumi sui frutti raccolti, negli anni sono stati effettuati quasi esclusivamente trattamenti con fungicidi di sintesi. L'aumentata consapevolezza del consumatore dei rischi per la salute derivanti dal consumo di prodotti trattati con antifungini di sintesi, dei danni causati all'ambiente, e una maggiore restrizione legislativa sull'uso di tali sostanze, hanno spinto la ricerca allo studio e allo sviluppo di soluzioni alternative ed ecosostenibili,

con l'obiettivo di offrire un prodotto privo di residui dannosi per la salute degli uomini e degli animali e rispettosi dell'ambiente.

Si aggiunga che la competizione sui mercati, a seguito della globalizzazione, impone di differenziare il calendario di maturazione dei frutti attraverso il rinnovamento degli impianti. Nel caso dell'Arancia Rossa di Sicilia IGP, tale condizione assume particolare importanza per l'attenzione che i mercati pongono a questo particolare prodotto e per l'ampio numero di cloni a polpa rossa disponibili, non sempre con standard genetico-sanitari definiti. Carenza che si riscontra anche per altre specie e varietà di agrumi per la complessità del processo di caratterizzazione genetica fitosanitaria. La richiesta dei produttori agrumicoli di una maggiore disponibilità di frutti di elevato valore commerciale per un periodo più prolungato ha reso inoltre necessario lo studio di tecnologie innovative da sviluppare per il mantenimento delle caratteristiche qualitative.

A tal proposito, si è ritenuto opportuno promuovere la costituzione di un partenariato composto da una Organizzazione di Produttori del comparto ortofrutticolo, con il ruolo di capofila, ubicata nella provincia di Catania, una azienda di trasformazione e commercializzazione di agrumi, ubicata nella provincia di Messina, n. 8 aziende agrumicole di cui n. 7 ubicate in provincia di Catania e n. 1 in provincia di Siracusa e il Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura (CREA-OFA) con sede in Acireale (CT) nel ruolo di Organismo di ricerca.

Per rispondere in maniera adeguata alle problematiche fabbisogno esposte si ritiene necessario, *in primis*, rafforzare le sinergie tra i diversi attori della filiera mediante la costituzione di Gruppi Operativi (G.O.), in grado di contribuire alla realizzazione di idee innovative con l'obiettivo di i) immettere nel sistema aziendale materiale di propagazione sano di varietà migliorate affinché la riconversione possa rappresentare una opportunità di rinnovamento dell'agrumicoltura regionale; ii) adottare nuove soluzioni per il contenimento del malsecco; iii) applicare strategie ecosostenibili e innovazioni tecnologiche per il controllo delle alterazioni abiotiche (fisiopatie) e biotiche (marciumi) sul frutto raccolto, agevolando il mantenimento

qualitativo e ampliando il calendario di commercializzazione di un prodotto con elevati parametri qualitativi, microbiologici e nutrizionali.

Nel proporre un progetto pilota per le arance rosse e per i limoni IGP di Siracusa e dell'Etna, il G.O. ritiene che, con gli adattamenti del caso, il processo possa essere perfettamente applicabile ad altre specie agrumicole e frutticole delle quali siano disponibili sufficienti informazioni genetiche e fitosanitarie.

Pertanto, la problematica/fabbisogno illustrata fa specifico riferimento ai seguenti fabbisogni individuati nel P.S.R. Sicilia 2014-2020:

F07 Favorire l'integrazione tra i produttori e aumentare il livello di concentrazione dell'offerta

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di migliorare la competitività dei produttori primari integrandoli meglio nella filiera agroalimentare attraverso i regimi di qualità, nel caso in specie, produzioni in bio, IGP Arancia Rossa di Sicilia, IGP Limone dell'Etna e IGP Limone di Siracusa e creazione di un valore aggiunto per le produzioni agrumicole.

La competitività delle aziende agricole siciliane è ostacolata dagli elevati costi dei fattori della produzione, dal mancato raggiungimento di economie di scala, dalla scarsa capacità di contrattazione nell'acquisto dei materiali e servizi e dalla fragilità delle aziende rispetto al loro posizionamento sul mercato. Lo studio sulle principali filiere agricole regionali ha messo in evidenza un limite del sistema imprenditoriale in termini di aggregazione dell'offerta, in termini quantitativi e qualitativi delle produzioni, che non corrisponde alle richieste del sistema agroindustriale. Nel settore biologico, come nel caso delle produzioni di qualità, molte imprese non sono in grado di concentrare l'offerta e raggiungere una commercializzazione dei prodotti locali sui circuiti internazionali. Con la presente proposta progettuale, pertanto, scaturisce l'esigenza di favorire processi di concentrazione dell'offerta, affinché si possano ottenere le economie di scala e l'accesso a canali commerciali garantendo, una maggiore capacità di contrattazione ed, in tal senso, la costituzione del G. O. è finalizzata anche a tale scopo.

F08 Incentivare la creazione di filiere e il collegamento diretto delle imprese agricole con la trasformazione e con i mercati

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di migliorare il collegamento diretto delle imprese agricole con la trasformazione e con i mercati per quanto riguarda il comparto agrumicolo.

Nel comparto agrumicolo si riscontra una debolezza di carattere organizzativo e gestionale che riduce il ruolo degli agricoltori nell'ambito della filiera e quindi la quota di valore aggiunto a loro destinata.

I dati regionali sul commercio consentono di rilevare che a valle del settore agricolo in senso stretto non sia sufficientemente sviluppato il settore della trasformazione nonostante la domanda regionale di prodotti trasformati non sia coperta dall'industria locale. Tra i prodotti di qualità, la filiera del biologico presenta forti criticità, legate alla debolezza del sistema di trasformazione e di commercializzazione, che non è in grado di esprimere un adeguato potere contrattuale e di intercettare il valore aggiunto insito nel prodotto finito, valore percepito, invece, dalle imprese del Centro-Nord Italia, già inserite nei circuiti della grande distribuzione. Vi è pertanto l'esigenza di sviluppare innovazioni organizzative e gestionali per le filiere di produzione agrumicola, più significative dal punto di vista qualitativo e quantitativo. L'aggregazione tra le imprese e la cooperazione tra i soggetti della filiera, infatti, rappresenta una opportunità per perseguire il rafforzamento e l'integrazione delle filiere produttive.

F13 Conservare e migliorare la qualità del suolo e difendere il territorio dal dissesto idrogeologico e dall'erosione superficiale

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di migliorare il collegamento diretto delle imprese agricole con la trasformazione e con i mercati per quanto riguarda il comparto agrumicolo.

Il territorio siciliano è caratterizzato da un'alta vulnerabilità al rischio idrogeologico, sismico, vulcanico e alla desertificazione. Il rischio idrogeologico è, tra i rischi naturali, il più ricorrente e diffuso ed è di estrema gravità per il suo potenziale impatto socio-economico.

Esso è determinato dalla concomitante presenza di diversi fattori, tra cui l'assetto morfologico-strutturale, le caratteristiche climatiche, lo spopolamento delle aree rurali e l'abbandono delle attività agricole, le modifiche del paesaggio e dei sistemi idrografici. In alcune aree del territorio regionale, negli ultimi anni, si è inoltre riscontrato una riduzione della fertilità dei suoli ed un aumento dei fenomeni di salinizzazione nonché di erosione idrica, dovuti principalmente all'estremizzazione degli eventi piovosi e a forme di modalità di gestione agricola della risorsa suolo non sempre adeguate alle caratteristiche pedologiche e climatiche della regione. La degradazione e la perdita irreversibile dei suoli possono divenire una vera e propria emergenza ambientale che può influire sullo sviluppo socio economico di un territorio. Risulta primario, nell'ottica della difesa del territorio e della conservazione della risorsa suolo, valorizzare i sistemi colturali tradizionali rispettosi delle risorse naturali, incoraggiare il ricorso ad idonee pratiche agricole, promuovere la civiltà rurale, valorizzando il capitale ecologico legato alla terra ed, in tal senso, la coltivazione della agrumi può rappresentare una soluzione valida considerato che trattasi di una coltura in grado di contribuire alla riduzione dell'impatto ambientale in agricoltura, del consumo dei suoli, della desertificazione, della perdita di biodiversità ed all'incremento del contenuto di carbonio organico nei suoli ed il sequestro di anidride carbonica in quanto risultano essere in assoluto le colture con maggiore quantità di emissioni di carbonio per unità di superficie..

F14 Tutelare la qualità delle risorse idriche superficiali e sotterranee

La problematica fabbisogno, in questo caso, è rappresentata dalla necessità di migliorare la gestione delle risorse idriche, compresa la gestione dei fertilizzanti e dei pesticidi. La tutela della risorsa acqua parte dalla necessità di garantire la capacità naturale auto-depurativa degli ecosistemi attraverso un sistema di protezione integrato sia quantitativo che qualitativo dei corpi idrici. Un efficace sistema di protezione si basa su una costante attività di monitoraggio e controllo nonché su interventi strutturali e di tutela. Il comparto agricolo esercita sulla risorsa acqua notevoli pressioni di tipo quantitativo, che in alcune aree irrigue regionali determinano anche un eccessivo sfruttamento delle falde, e qualitativo legato all'adozione di tecniche colturali intensive che comportano un notevole utilizzo di fertilizzanti e di

prodotti fitosanitari, potenziali inquinanti idro-veicolabili. Nonostante in Sicilia l'utilizzo di fertilizzanti chimici sia piuttosto contenuto rispetto ad altre regioni d'Italia, sono state individuate nel territorio regionale diverse zone vulnerabili ai nitrati di origine agricola, in particolare nelle aree irrigue utilizzate a frutticoltura ed orticoltura protetta e di pieno campo. Altro rischio di inquinamento delle acque è legato all'utilizzo dei fitofarmaci. In tal senso, il G.O. Top Citrus intende incentivare l'adozione di apposite misure che riducano i rischi legati alla deriva, al ruscellamento e alla percolazione di suddette sostanze, quali ad esempio quelle previste nell'ambito dell'agricoltura biologica e della difesa integrata nonché tramite la realizzazione di fasce tampone, siepi, filari, fasce arborate e altro.

F18 Ridurre le emissioni di CO₂, limitare input energetici nella gestione aziendale, incrementare il carbonio organico nei suoli

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di ridurre le emissioni di gas a effetto serra e di ammoniaca prodotte dall'agricoltura e promuovere la conservazione ed il sequestro del carbonio.

La mitigazione dei cambiamenti climatici è conseguibile sia attraverso la limitazione delle emissioni di carbonio nel settore agricolo, sia attraverso la salvaguardia dei depositi di carbonio nel suolo. A livello globale i suoli contengono infatti circa il doppio del carbonio presente in atmosfera e tre volte quello trattenuto dalla vegetazione.

L'adozione di particolari tecniche colturali, quali ad esempio quelle previste nell'ambito di tecniche di agricoltura conservativa e di agricoltura biologica, oltre a ridurre i fattori produttivi chimici e ottimizzare l'uso delle risorse e a contribuire a ridurre il degrado ambientale, consente di sequestrare ingenti quantità di carbonio, stimate, nei suoli europei, tra i 50 e i 100 milioni di tonnellate/anno, l'equivalente delle emissioni prodotte da 70-130 milioni di automobili. In tal senso, il G.O. Top Citrus intende attuare pratiche virtuose per favorire la riduzione dell'emissione di CO₂ e sequestrare CO₂, migliorando al contempo la produttività e la sostenibilità del comparto agrumicolo.

F04 Incentivare la creazione, l'avvio e lo sviluppo di attività economiche extra-agricole, in particolare per giovani e donne.

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di favorire la diversificazione, la creazione e lo sviluppo di piccole imprese nonché dell'occupazione. L'analisi evidenzia un tasso di occupazione regionale notevolmente inferiore alla media italiana, Ancora meno confortanti sono i dati relativi al tasso di occupazione femminile, in base ai quali risulta occupata poco più di una donna su quattro, e quelli sul tasso di occupazione giovanile, dai quali risulta occupato meno di un giovane su otto. Nelle aree rurali il differenziale tra occupazione maschile e femminile risulta ancora più elevato. Emerge, quindi l'esigenza di intervenire prioritariamente sui target "giovani" e "donne". Nelle zone rurali, dove vi è una forte dipendenza dal settore primario, è necessario sostenere la creazione e lo sviluppo di attività extra-agricole, per favorire la crescita socio-economica dei territori, contrastare lo spopolamento e creare nuove opportunità di lavoro. Tale diversificazione, in particolare, va intesa nell'ambito della maggiore interazione del settore agrumicolo con quello dell'istruzione al fine di creare delle figure specialistiche nel campo della produzione vivaistica certificata e nel campo delle produzioni in regime di qualità (bio e IGP) oltrechè nell'applicazione di tecniche innovative per la frigoconservazione dei frutti. Inoltre, sulla scorta dell'esperienza del periodo 2007-2013, occorre sostenere le attività rivolte al completamento di filiere locali e alla valorizzazione delle specificità culturali e enogastronomiche connesse alle produzioni agricole e alimentari di qualità. Altresì, la fine di tutelare le attività agricole dei territori diventa indispensabile preservare le risorse naturali quali l'acqua ed il suolo. La tutela della risorsa acqua parte dalla necessità di garantire la capacità naturale auto-depurativa degli ecosistemi attraverso un sistema di protezione integrato sia quantitativo che qualitativo dei corpi idrici.

Il comparto agrumicolo esercita sulla risorsa acqua notevoli pressioni di tipo quantitativo, che in alcune aree irrigue regionali determinano anche un eccessivo sfruttamento delle falde, e qualitativo legato all'adozione di tecniche colturali intensive che comportano un notevole utilizzo di fertilizzanti e di prodotti fitosanitari, potenziali inquinanti idroveicolabili. Nonostante in Sicilia l'utilizzo di fertilizzanti chimici sia piuttosto contenuto rispetto ad altre regioni d'Italia, sono state individuate nel territorio regionale diverse zone vulnera-

bili ai nitrati di origine agricola, in particolare nelle aree irrigue utilizzate a frutticoltura (compresi gli agrumi) e ad orticoltura protetta e di pieno campo. Altro rischio di inquinamento delle acque è legato all'utilizzo dei fitofarmaci. In tal senso è auspicabile incentivare l'adozione di apposite misure che riducano i rischi legati alla deriva, al ruscellamento e alla percolazione di suddette sostanze, quali ad esempio quelle previste nell'ambito dell'agricoltura biologica e della difesa integrata o di colture a basso impatto ambientale. Altresì, il territorio siciliano è caratterizzato da un'alta vulnerabilità al rischio di desertificazione. In alcune aree del territorio regionale negli ultimi anni si è inoltre riscontrato una riduzione della fertilità dei suoli ed un aumento dei fenomeni di salinizzazione nonché di erosione idrica, dovuti principalmente all'estremizzazione degli eventi piovosi e a forme di modalità di gestione agricola della risorsa suolo non sempre adeguate alle caratteristiche pedologiche e climatiche della regione. La degradazione e la perdita irreversibile dei suoli possono divenire una vera e propria emergenza ambientale, che può influire sullo sviluppo socio economico di un territorio. In tale contesto, il G.O. Top Citrus, intende avviare, con la presente proposta progettuale, intende avviare una serie di pratiche volte alla difesa del territorio e della conservazione della risorsa suolo, valorizzare i sistemi colturali tradizionali rispettosi delle risorse naturali, incoraggiare il ricorso ad idonee pratiche agricole, promuovere la civiltà rurale, valorizzando il capitale ecologico legato alla terra.

F09 Favorire l'adesione a regimi di qualità e la promozione e l'informazione dei prodotti di qualità sui mercati.

La problematica fabbisogno è rappresentata dalla necessità di migliorare le prestazioni economiche delle aziende agrumicole ed incoraggiare la ristrutturazione e l'ammodernamento delle stesse, in particolare per aumentare la quota di mercato e l'orientamento al mercato nonché la diversificazione delle attività e migliorare la competitività dei produttori primari integrandoli meglio nella filiera agrumicola attraverso i regimi di qualità e la creazione di un valore aggiunto per i prodotti agricoli. Le imprese che realizzano i prodotti ottenuti nell'ambito dei sistemi di qualità, molto numerosi e diffusi in ambito regionale, spesso trovano difficoltà ad affermarsi

sui mercati, regionale ed extraregionali, se non sono supportate da adeguate azioni di promozione ed informazione, finalizzati alla loro espansione commerciale e quindi al rafforzamento della competitività basata sulla differenziazione delle produzioni di qualità rispetto a quelle tradizionali. Inoltre, il sostegno alle attività di promozione e di commercializzazione dei prodotti regionali esplica i suoi migliori effetti sull'internalizzazione delle produzioni regionali di qualità, sulle quali produce un aumento del valore aggiunto con il conseguente incremento del reddito dei produttori. Tale iniziativa, infatti, si colloca in un contesto di produzioni agrumicole in regime di qualità (bio e IGP) grazie alla selezione di nuove varietà di pregio di arance pigmentate ed al miglioramento della qualità degli agrumi sottoposti alla frigoconservazione per la quale si prevede l'applicazione di nuove tecnologie in grado di garantire l'ampliamento della shelf-life e, conseguentemente, l'ampliamento del calendario di commercializzazione.

F06 Migliorare la tracciabilità del prodotto favorendo l'identificazione con il territorio e sostenendo le produzioni di qualità

La problematica fabbisogno, in questo caso, è rappresentata dalla necessità di migliorare la tracciabilità del prodotto favorendo identificazione con il territorio e sostenendo le produzioni di qualità.

Un punto di forza dell'economia regionale è rappresentato dalle produzioni di qualità riconosciute, compreso le produzioni bio che rappresentano un punto di forza del sistema agricolo regionale che vede la Sicilia al primo posto in Italia per numero di operatori con una superficie pari al 16,6% del totale nazionale e leader a livello nazionali nei diversi comparti del bio. All'elevata potenzialità e varietà produttiva regionale, tuttavia, non corrisponde un'adeguata presenza di prodotti di qualità sui mercati e un sufficiente sviluppo nell'ambito del confezionamento e della trasformazione. Per supportare il processo di rafforzamento della tracciabilità delle produzioni si ritiene rilevante la presenza di organismi e laboratori regionali autorizzati e/o accreditati, per il controllo e la certificazione dei prodotti regionali che, nel caso in specie, sono rappresentati dal CREA-OFA. In tal senso, la presente proposta progettuale è volta a garantire la tracciabilità del prodotto partendo dal materiale risanato

in laboratorio per poi proseguire nell'attività vivaistica per la moltiplicazione delle piante di agrumi fino al prodotto finito rappresentato dagli agrumi freschi da commercializzare.

Pertanto, con il **Progetto Top Citrus** si è inteso proporre lo sviluppo di un modello tecnologicamente innovativo attraverso la selezione e la qualificazione di nuove varietà di pregio di arance pigmentate e di un limone apireno, che rispondono alle attuali esigenze di mercato ma di cui non si dispone, al momento, di materiale risanato, e che sono quindi a rischio di erosione genetica. Contestualmente è stato intrapreso il risanamento di nuove selezioni, effettuato mediante microinnesto, ed assistito da saggi biologici, sierologici e molecolari, per verificare l'assenza di organismi nocivi nel materiale di propagazione e quindi propagate e trasferite ai produttori partner del G.O., attraverso la moltiplicazione in vivaio e la successiva costituzione di campi pilota nei diversi ambienti pedoclimatici che sono stati impiegati nella attività di progetto.

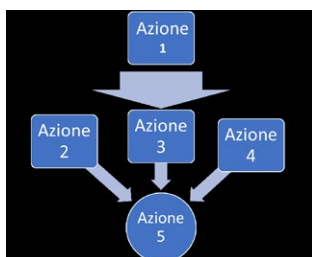
Altresì, le innovazioni introdotte hanno comportato una valutazione dell'effetto dei dispositivi di protezione nei limoneti mediante l'ausilio di sensori specifici per il rilevamento dei parametri ecofisiologici sia delle piante coltivate all'interno delle strutture di protezione che di quelle coltivate in pieno campo, consentendo così di valutare la risposta delle piante ed il monitoraggio del patogeno che, nel caso in specie, è rappresentato dal *Phoma Tracheiphila* responsabile del mal secco degli agrumi.

Inoltre, al fine di consentire l'estensione della shelf-life del frutto raccolto, è stata valutata l'applicazione di rivestimenti edibili (*edible coatings*) antifungini su frutti di limone di elevato pregio commerciale; tali rivestimenti sono costituiti da estratti e/o da biostimolanti provenienti dagli scarti di lavorazione derivati dalle stesse aziende di lavorazione del prodotto fresco oltreché da altre matrici vegetali di origine mediterranea. I frutti rivestiti saranno quindi sottoposti a frigoconservazione in atmosfera modificata, allo scopo di contenere le alterazioni biotiche (marciumi) e abiotiche (fisiopatie) del prodotto e di mantenere i parametri qualitativi del prodotto per un periodo più prolungato.

Questo manuale divulgativo, pertanto, mira a illustrare il progetto nella sua articolazione con la descrizione degli obiettivi del progetto di innovazione, dell'ubicazione delle attività, del partner capofila, dei membri della partnership, della durata del progetto e dei risultati ottenuti.

Il manuale potrà essere scaricato dal sito web del G. O. Top Citrus (www.topcitrus.eu) e vuole rappresentare un facile strumento di consultazione sia per i professionisti che per gli utenti del settore.

Descrizione del progetto



L'intero processo di realizzazione del progetto si è articolato in più azioni innovative tramite le quali si è inteso trasferire l'innovazione in un contesto aziendale ed interaziendale.

Azione 1. Attività di animazione, coordinamento e gestione amministrativa

Le attività di animazione del territorio sono state legate al coinvolgimento dei diversi partner ed all'organizzazione delle diverse attività attraverso la definizione della composizione del partenariato. Successivamente si è passati alla stesura del Piano Strategico e alla definizione del regolamento operativo del G. O. Quindi, l'azione ha comportato l'attività di coordinamento e di gestione operativa e l'organizzazione di numerosi tavoli di concertazione l'individuazione dei lotti di produzione interessati all'innovazione, le tecnologie innovative da impiegare comprese quelle relative alla fase di trasformazione, l'addestramento del personale delle imprese partner da dedicare al progetto.

Azione 2. Selezione e qualificazione di nuove varietà di pregio di agrumi siciliani

L'azione 2 è stata finalizzata alla selezione e alla qualificazione di nuove varietà di pregio di arance pigmentate e di un limone apireno. Pertanto, è stato intrapreso un percorso di risanamento delle varietà selezionate mediante microinnesto (*shoot-tip grafting*) da eventuali patogeni di natura virale e viroidale identificati sulla base di test diagnostici preliminarmente effettuati dalla Agrobiotech Soc. Coop. a r. l.

Il materiale esente da organismi nocivi ha comportato la moltiplicazione su portinnesti diversi presso il vivaista partner di progetto e trasferito ai produttori partner del GO, attraverso la costituzione di campi pilota, presso le aziende partner, nei diversi ambienti pedoclimatici dislocati nelle aree vocate per l'arancicoltura e la limonicoltura.

Contestualmente, le varietà selezionate sono state sottoposte ai controlli fitosanitari necessari per consentire la loro immissione nel circuito della certificazione Europea, o Qualità vivaistica Italia (QVI), in base al Decreto n.18 del 2 febbraio 2021. L'azione ha comportato anche la divulgazione delle attività nei confronti degli operatori agricoli e la divulgazione delle attività con RRN ed EIP-AGRI.

Azione 3. Realizzazione e installazione di dispositivi di protezione per il contenimento del malsecco

L'azione 3 si è sviluppata attraverso il monitoraggio della presenza del malsecco nei campi delle aziende partner, il rilievo dei parametri ecofisiologici con sensori dedicati in azienda con copertura delle preesistente, la realizzazione dei campi pilota con rete antigrandine o senza, la gestione sperimentale dei campi pilota, il monitoraggio della carica di inoculo del *Plenodomus tracheiphilus*, la realizzazione dei test diagnostici e la messa a punto di un modello previsionale

Azione 4. Impiego di rivestimenti edibili antifungini, provenienti da scarti di lavorazione agrumari,

L'Azione 4 si è svolta a partire dagli estratti da matrici di scarto vegetali, per poi passare alla successiva selezione di estratti ad elevata

attività antimicrobica, alla realizzazione dei rivestimenti edibili antimicrobici, alla valutazione dell'efficacia antifungina e/o biostimolante dei rivestimenti edibili su frutti di limoni, alla verifica dell'efficacia antifungina sui frutti di limoni frigoconservati e su frutti di limoni conservati in atmosfera controllata.

Azione 5 Attività di divulgazione e diffusione dei risultati conseguiti.

I risultati ottenuti sono stati trasferiti agli stessi partner tramite attività divulgative in campo (open day e/o giornate tecniche) e attività di divulgazione (workshop, seminari, forum o pubblicazioni in riviste specializzate del settore sia a mezzo stampa che online).

Altresì, è stata predisposta una piattaforma web nella quale sono confluite le varie risultanze delle attività e il presente manuale divulgativo dell'innovazione nel quale sono raccolte le attività di progetto ed i risultati conseguiti oltre ad una conferenza finale nella quale sono stati illustrati i risultati conseguiti.



Alcuni momenti della presentazione del progetto Top Citrus al MacFrut di Rimini 2025

Dott.ssa Maria Concetta Strano

*Responsabile scientifico
del progetto Top Citrus*



La Sicilia è la regione italiana con la più alta produzione di agrumi, con una prevalenza di arance seguite da clementine, limoni, mandarini, pompelmi e altri agrumi per la parte residuale. I frutti sono destinati prevalentemente al consumo fresco e alla produzione di succhi. All'interno della filiera agrumicola sono presenti diverse problematiche a partire dalla fase di selezione di nuove varietà fino ad arrivare al consumo del prodotto raccolto e lavorato per garantirne il mantenimento della qualità e delle proprietà nutrizionali. Le arance pigmentate e i limoni, appartenenti al genere *Citrus* e alla famiglia delle Rutacee, sono frutti particolarmente apprezzati dai consumatori sia per le caratteristiche aromatiche, sia per gli effetti benefici sulla salute dell'uomo. Sono infatti una ricca fonte di sostanze bioattive, tra cui la vitamina C, i composti fenolici, gli acidi idrossicinnamici e i flavonoidi.

Per rispondere alle nuove esigenze dei consumatori e della Grande Distribuzione Organizzata (GDO), si sta puntando alla scelta di nuove selezioni di arance pigmentate, caratterizzate da epoca di maturazione precoce o tardiva. Per quanto riguarda i limoni, oltre all'ampliamento del calendario di maturazione, vengono privilegiate varietà con frutti apireni o a basso numero di semi. A seguito del processo di riconversione degli impianti di arancio sui citrange e di limone su citrange o *Citrus macrophylla*, sono sempre più frequenti i deperimenti di piante infette da viroidi con ripercussioni sulla qualità del prodotto e sulla competitività nei mercati. Oltre all'utilizzo di portinnesti tolleranti al citrus tristeza virus (CTV), la riconversione impone l'utilizzo di materiale di propagazione sano per la produzione di piante di agrumi di qualità. Alcune criticità strutturali ed organizzative della filiera vivaistica regionale (a partire dai CCP fino alle aziende di produzione delle piante) hanno causato e causano ritardi nel processo di riconversione. Emergono, pertanto, problematiche

fitosanitarie legate all'utilizzo di materiale infetto anche da diversi viroidi agenti di exocortite (CEVd) e cachexia (HSVd-Ca), che portano alla produzione di piante di pessima qualità e disincentivano investimenti sulla costituzione di nuovi impianti.

Come riportato dai recenti dati ISMEA, vi è la tendenza strutturale alla riduzione degli investimenti ed abbandono, ascrivibili anche ai danni prodotti dal malsecco (causato dal fungo tracheomicotico *Plenodomus tracheiphilus*) sui limoneti. Le infezioni causate dall'agente patogeno, causano perdite di produzione e nei casi più gravi la morte delle piante, portando spesso come conseguenza all'estirpazione o all'abbandono dei terreni coltivati.

Le principali problematiche della fase postraccolta derivano invece da errate procedure messe in atto durante la raccolta e nelle successive fasi di lavorazione, di stoccaggio e di commercializzazione del frutto¹. Durante tali fasi, possono essere causate lesioni alla buccia di varia entità e profondità, con conseguente alterazione dei normali processi metabolici e aumento della suscettibilità all'attacco di agenti patogeni fungini da ferita. Il progredire di tali alterazioni ha conseguenze negative sulla qualità finale e sulla shelf-life dei frutti. Le malattie causate da funghi microscopici rappresentano una delle principali cause di deperimento, potendo provocare perdite di prodotto fino al 60% nella fase postraccolta. In particolare, la muffa verde e la muffa azzurra degli agrumi, causate dagli agenti patogeni fungini *Penicillium digitatum* Sacc. e *P. italicum* Weh., rientrano fra le principali cause di perdite durante le fasi di lavorazione, stoccaggio, trasporto dei frutti e del conseguente danno economico nella fase di commercializzazione. Le attuali strategie di controllo dei marciumi si basano principalmente sull'applicazione di fungicidi chimici di sintesi, facili da applicare anche in combinazione con cere commerciali e ad elevata efficacia nel controllo della crescita dei *Penicilli*. L'imazalil rimane praticamente l'unico fungicida attualmente ammesso nei trattamenti postraccolta dei frutti di agrumi. Tuttavia, l'impiego di tale fungicida risulta nocivo per la salute dell'uomo, a causa dei residui che rimangono sulla superficie dei frutti trattati, oltretutto dannoso per l'ambiente; inoltre, l'utilizzo massivo e prolun-

1 Strano et al., **2022**. Hortic., 8, 612.

gato nel tempo può dare origine a fenomeni di resistenza dei patogeni fungini. Per tali motivi e per le continue restrizioni legislative, vi è pertanto una crescente necessità di utilizzare sostanze alternative ai fungicidi di sintesi, non tossiche, rispettose per l'ambiente, efficaci per il controllo dei marciumi che insorgono nella fase postraccolta e sicure per il consumatore. Tra le strategie alternative, sta suscitando crescente interesse l'utilizzo di rivestimenti edibili (*edible coatings*) arricchiti con sostanze di origine naturale dotate di attività antifungina².

Gli *edible coating* sono rivestimenti biodegradabili, a base di proteine, polisaccaridi o lipidi in grado di formare una barriera protettiva semipermeabile sulla superficie di frutti o altri alimenti, limitando il passaggio di vapore acqueo, ossigeno e anidride carbonica³. Prevengono danni fisici, deterioramenti dei parametri chimico-fisici e alterazioni microbiche, prolungando la *shelf-life* del prodotto. La loro attività antifungina può essere ottenuta o potenziata attraverso l'integrazione nel formulato di sostanze naturali, come estratti vegetali, metaboliti secondari ad attività antiossidante e oli essenziali (OE). Tali sostanze, preferibilmente di origine naturale, sono considerate prive di tossicità e, in alcuni casi classificate come GRAS (Generally Recognized as Safe) perché prive di residui dannosi per la salute dei consumatori⁴. Tra i polisaccaridi, la pectina è particolarmente adatta alla produzione di *edible coating* grazie alla sua commestibilità e al valore nutraceutico. La pectina può essere facilmente estratta dalle bucce della frutta e, più recentemente, sono stati sviluppati metodi di estrazione sostenibili, che utilizzano processi e reagenti eco-compatibili per recuperarla dagli scarti di lavorazione di prodotti ortofrutticoli⁵. Le operazioni per il recupero di composti bioattivi a potenziale effetto antimicrobico dai sottoprodotti consentono alle aziende di valorizzare gli scarti trasformandoli in materie prime per nuovi cicli produttivi, promuovendo così un modello di economia circolare.

2 Palou et al., **2015**. *Coatings*, 5, 962–986.

3 Strano et al., **2021**. *Crop Prot.*, 148, 105719.

4 Palou et al., **2016**. *Postharvest Biol. Technol.*, 122, 41–52.

5 Cho et al., **2019**. *Carbohydr. Polym.*, 204, 97–103.

Le attività svolte nell'ambito del progetto Top Citrus hanno avuto come obiettivo generale la valorizzazione della filiera agrumicola, mettendo a punto e implementando soluzioni innovative da trasferire alle aziende partecipanti al Gruppo Operativo (G.O.). Le attività scientifiche realizzate nelle azioni 2, 3 e 4, hanno infatti consentito di porre l'attenzione su alcune delle problematiche degli agrumi dalla produzione in vivaio, passando per il controllo del mal secco del limone fino al mantenimento qualitativo e all'estensione del periodo di commercializzazione del prodotto fresco mediante impiego di rivestimenti edibili antifungini di origine naturale. L'attività di divulgazione e di diffusione dei risultati, a cura di tutti i partner di progetto, è stata invece effettuata nell'azione 5.



Il progetto Top Citrus ha coinvolto la filiera agrumicola, uno dei comparti più significativi della produzione agricola siciliana

SEZIONE SCIENTIFICA



Oggetto di studio nuove varianti di pregio di arance pigmentate e di limone apireno



CAPITOLO 1

SELEZIONE E QUALIFICAZIONE DI NUOVE VARIETÀ DI PREGIO DI ARANCE PIGMENTATE E DI UN LIMONE APIRENO

Azione 2 - Referente dott. Marco Caruso

ATTIVITÀ SVOLTA

Nella fase di preparazione al progetto, attraverso incontri con i partner produttori, sono state selezionate tre varietà di agrumi con particolari attitudini e proprietà di interesse per i produttori e consumatori: due cloni di Tarocco di particolare pregio denominate T. dal Muso e T. Gangi insieme ad un limone apireno Femminello siracusano (Fig. 2.1). Questi cloni sono frutto di un processo di selezione portato avanti dal CREA di Acireale negli anni passati, con osservazioni in campo su diversi portinnesti e zone climatiche, nonché di analisi dei frutti. Informazioni utili trasferite ai produttori durante la fase di preparazione al progetto, determinandone la scelta. Le cultivar di arance pigmentate selezionate hanno una maturazione intermedia o tardiva, e rispondono alle attuali esigenze di mercato relative ad elevata pezzatura e pigmentazione. Il T. Gangi in particolare si caratterizza per la tardività e la consistenza del frutto, l'elevato contenuto in antocianine (57 mg/L) e una bassa acidità (1.23%) con un frutto molto apprezzato per gusto e valore salutistico. Il clone di T. dal Muso, matura intorno a febbraio, presenta un'acidità del 1,24% e un contenuto in antocianine di circa 15 mg/L. Oltre all'elevato valore nutrizionale, la coltivazione di queste varietà offre anche il vantaggio di estendere il calendario di commercializzazione in un periodo più tardivo. Il limone femminello apireno F7311 ha un valore commerciale molto elevato dato dalla quasi totale mancanza di semi, forma allungata, acidità intorno al 7% e maturazione a febbraio.



Figura 2.1. Cloni di arancio e limone selezionati nel progetto, rispondenti alle esigenze della GDO e dei partner.

Contestualmente al lavoro di selezione è stato effettuato il risanamento dei cloni mediante microinnesto, tecnica che consente di eliminare eventuali organismi nocivi presenti nel materiale di partenza, conservandone inalterate le caratteristiche varietali. Tale tecnica consiste nell'innestare *in vitro*, in condizioni di asepsi, gli apici meristematici delle varietà su portinnesti esenti da virus ottenuti da seme. Nel caso del microinnesto (*shoot-tip grafting*) dopo aver preparato i portinnesti, si procede con il prelievo degli apici meristematici dalle piante di interesse (Fig. 2.2).



Figura 2.2. Fasi utilizzate nel progetto finalizzate alla propagazione di materiale risanato da fornire ai partner.

I portainnesti derivano dalla crescita di semi precedentemente prelevati e posti in tubi con terreno MS. Gli apici meristematici si prelevano dalle piante d'interesse e vengono puliti candeggiandoli e tagliando le parti in eccesso, quali foglioline e steli. Un'altra tecnica di risanamento consiste nella selezione di embrioni nucellari prelevando gli ovuli in prossimità dell'asse carpellare dei frutti di interes-

se, posizionandoli prima all'interno di scatole Petri, dopo all'interno di camere climatiche e infine in serra. Tutte queste fasi avvengono in condizioni di sterilità al fine di evitare contaminazioni da patogeni esterni. Le piantine risanate, generate a seguito di questi processi, vengono saggiate in laboratorio per verificare l'efficacia del trattamento ed escludere la presenza di patogeni trasmissibili per innesto. Su ognuna è stato quindi effettuato uno screening fitosanitario per la presenza dei seguenti patogeni:

CTV: Citrus tristeza virus;

CEVd, Citrus exocortis viroid;

HDVd, Hop stunt viroid;

CPSV, Citrus psorosis virus;

CBLV, Citrus leaf blotch virus;

CVV, Citrus variegation virus

CiVa, Citrus virus A;

CCGaV, Citrus concave gum associated virus.

Il controllo di questi virus e viroidi è un prerequisito fitosanitario fondamentale per la successiva commercializzazione. Secondo quanto previsto dal dec. Leg. N. 18 del 2 febbraio 2021, per poter essere commercializzate e inserite nel circuito della certificazione obbligatoria o volontaria è necessario accertare lo stato fitosanitario attraverso metodi di laboratorio e saggi biologici. Nell'ambito del progetto sono state effettuate analisi biologiche, sierologiche e molecolari che hanno permesso di selezionare le piante madri di ciascuna varietà (Fig. 2.3).



Figura 2.3. Tecniche utilizzate per effettuare l'accertamento fitosanitario dei cloni selezionati su materiale risanato per microinnesto.

Per le analisi di laboratorio sono stati utilizzati protocolli ufficiali riportati dall'EPPO o pubblicati su riviste internazionali. Per le analisi molecolari campioni di foglia sono stati sottoposti a estrazione dell'RNA e successivamente ad amplificazione mediante protocolli di RT-PCR o real time RT-PCR. In particolare, per il rilevamento di CTV è stato utilizzato il saggio sierologico ELISA con kit Agdia e un saggio molecolare in real time RT-PCR (Saponari et al., 2008⁶) di conferma più sensibile, secondo quanto previsto dalle procedure descritte nel protocollo EPPO standard 7/31 (2)⁷.

Per il rilevamento del virus della psorosi (Citrus psorosis virus) è stato utilizzato un protocollo in RT-PCR descritto da Roy et al., 2005⁸. L'analisi per il citrus variegation virus è stata effettuata con protocollo in RT-PCR descritto da Barone et al., 2009⁹, mentre per il citrus leaf blot virus è stato utilizzato il protocollo di Guardo et al., 2009. L'analisi dei viroidi CEVd e HSVd è stata effettuata con un protocollo in duplex real time RT-PCR descritto da Papayannis, 2014¹⁰. L'analisi per l'impetetratura e il *concave gum* viene effettuata mediante saggio biologici su piante di arancio dolce Pineapple. I semenzali sono stati predisposti e la crescita monitorata nel tempo. Tuttavia, trattandosi di un saggio lungo, per effettuare uno screening rapido sulle piante risanate da selezionare, è stato effettuato un test molecolare su due virus (CiVa, e CCGaV) che da letteratura appaiono associati alle due malattie, anche se non ancora validati e ritenuti validi per la diagnosi ufficiale. Il protocollo utilizzato è riportato da Minutolo et al., 2020¹¹.

6 Saponari et al., **2008**. Virology Methods, 147, 43–53.

7 EPPO Bulletin, **2023**. 53, 42–61.

8 Roy et al., **2005**. J. Virol. Meth., 129, 45-55.

9 Barone et al., **2009**. Phytopathol. Mediterr., 48, 469-473.

10 Papayannis, **2014**. J. Virol. Meth., 196, 93-99.

11 Minutolo et al., **2020**. J. Plant Path., 102, 655-661.

RISULTATI OTTENUTI

L'attività di risanamento mediante micronnesto ha consentito di selezionare alcune piantine da sottoporre a successive analisi diagnostiche al fine di poter accertare l'assenza di organismi patogeni. Per ogni varietà selezionata sono state analizzate almeno 2 piantine risanate (Fig. 2.4).



Figura 2.4. Fasi del microinnesto e generazione di una pianta risanata.

Le analisi di laboratorio hanno rilevato che tutte le piante analizzate sono esenti da tutti i patogeni virali e viroidali presi in esame e pertanto sono state utilizzate come fonte del materiale di propagazione (Tab. 2.1).



Un sopralluogo operato dal ricercatore CREA-OFA dott. Marco Caruso e dal responsabile del Laboratorio Agrobiotech dott. Giuseppe Scuderi

Tabella 2.1. Risultati dei saggi diagnostici per virus e viroidi effettuati sulle selezioni risanate.

	CTV	CEVd	HSVd	CPsV	CLBV	CVV	CCGaV	CiVA
Fem. apireno Malfitano (1)	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Fem. apireno Malfitano (2)	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tarocco Gangi M2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tarocco Gangi M6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tarocco dal Muso M1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tarocco dal Muso M13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Tarocco dal Muso M14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

CTV: *Citrus tristeza virus*; CEVd: *Citrus exocortis viroid*; HSVd: *Hop stunt viroid*; CPsV: *Citrus psorosis virus*;

CLBV: *Citrus leaf blotch virus*; CVV: *Citrus variegation virus*; CCGaV: *Citrus concave gum-associated virus*;

CiVA: *Citrus virus A*.

Le marze sono state prelevate e consegnate al vivaio Imbrogiano, partner del progetto, che ha provveduto a effettuare la propagazione su tre portinnesti: citrange Carrizo, citrumelo Swingle e arancio amaro. Prima dell'innesto tutti i portinnesti sono stati oggetto di controllo fitosanitario per i patogeni CTV, CEVd e HSVd da parte del laboratorio Agrobiotech soc. coop., partner del progetto, riconosciuto come laboratorio per l'autocontrollo, dal Servizio Fitosanitario Regione Sicilia, che ha effettuato anche tutti i saggi fitosanitari sulle piante madri delle varietà selezionate. Tutti i portinnesti sono risultati esenti dai patogeni analizzati. Questo controllo è stato utile al fine di confermare lo stato fitosanitario non solo delle marze ma anche dei portinnesti e quindi far sì che le piante prodotte destinate ai partner fossero sane e rispondenti alla certificazione obbligatoria CAC.

Circa 1200 piante sono state prodotte dal vivaio per propagazione (Fig. 2.5). Il materiale è stato distribuito ai produttori di arance e limoni che hanno partecipato al progetto per la costituzione dei campi sperimentali. Allo scopo di valutare le caratteristiche produttive delle selezioni anche in ambienti pedoclimatici differenti.



Figura 2.5. Piante dei tre cloni selezionati prodotte dal vivaio Imbrogiano a partire dalle marze fornite dal CREA, su portinnesti sani, pronte per essere consegnate ai produttori.

Per le varietà selezionate il CREA ha intrapreso un processo di verifica fitosanitaria e di rispondenza varietale che porterà nel giro di qualche anno alla registrazione di queste varietà nella certificazione volontaria europea. Il sistema di certificazione volontaria degli agrumi assicura che piante e materiali di moltiplicazione siano garantiti sotto il profilo genetico-sanitario. In Italia, accanto alla certificazione europea (EU) è stata introdotta anche la certificazione a marchio “Qualità Vivaistica Italia” (QVI), allo scopo di innalzare la qualità del materiale di propagazione. La qualità fitosanitaria garantisce l’assenza di organismi patogeni mitigando il rischio fitosanitario e la diffusione di organismi nocivi. Lo schema di certificazione prevede tre categorie di materiale: pre-base, base e certificato, prodotte per filiazione discendente. La produzione e la distribuzione del materiale ai vivai è affidata ai CCP, ai CP e ai CM.

Sin dal 1993 il CREA-OFA di Acireale è riconosciuto idoneo come «Centro per la Conservazione per la Premoltiplicazione» (CCP) e

come «Centro per la Premoltiplicazione» (CP) per il gruppo di specie degli agrumi dal Ministero dell'agricoltura nell'ambito del processo di Certificazione dei fruttiferi. All'interno del CCP sono mantenute piante madri di categoria di pre-base di oltre 80 varietà di agrumi, oggetto di continui controlli fitosanitari.

Nuove varietà risanate vengono costantemente inserite al fine di aumentare la disponibilità di materiale certificato a vantaggio dell'intera filiera.

Le analisi fitosanitarie sul materiale oggetto del progetto vanno infatti associate ai saggi biologici. Inoltre, sarà necessario osservare e valutare le prime fruttificazioni per confermare la rispondenza della varietà e avviare così il processo di registrazione. Ad oggi le piante madri dei cloni di arancio T. dal Muso, T. Gangi e limone apireno F7311, sono mantenute nel campo di piante madri CAC del CRE-A-OFA di Acireale.



Le reti impiegate per il controllo del mal secco

Controllo fitosanitario del materiale di propagazione: l'esperienza di Agrobiotech nel progetto Top Citrus

Agrobiotech soc. coop. è una PMI innovativa costituita nel 2015 da dottori di ricerca esperti in biologia e biotecnologie agrarie. Fornisce assistenza tecnica e consulenza a supporto di agronomi, operatori economici, aziende agricole, alimentari e vivaisti in tema di diagnosi, di controllo/contenimento di patogeni (di rilevanza fitopatologica ma anche da quarantena) ed emergenze fitosanitarie.

Il laboratorio di fitodiagnosi è riconosciuto idoneo dal Servizio Fitosanitario Regionale della Sicilia (DRS n° 2948/23 del 28.06.2023) per l'esecuzione in autocontrollo di analisi dello stato fitosanitario e di corrispondenza varietale del materiale di propagazione di piante da frutto, ortive ed ornamentali. E' dotato di strumenti e attrezzature di laboratorio all'avanguardia per la diagnosi di patogeni delle piante. In virtù di tale riconoscimento, Agrobiotech fornisce anche un supporto biotecnologico in varie problematiche forensi, relative all'accertamento della rispondenza varietale e alla tracciabilità di specie vegetali.

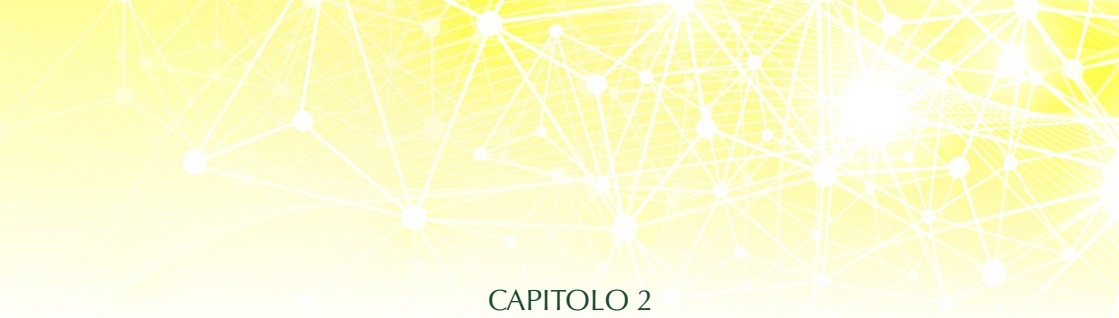
Negli anni Agrobiotech ha partecipato a diversi progetti di ricerca sia nel ruolo di capofila che in partenariato con Università di Catania, Università di Palermo, Crea, Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, consorzi e aziende del territorio siciliano, su tematiche riguardanti innovazioni tecnologiche per la valorizzazione fitosanitaria, agronomica e genetica nel comparto degli agrumi, del pomodoro e di altre ortive.

Nell'ambito del progetto Top Citrus, a cui ha partecipato come partner, Agrobiotech ha fornito un supporto diagnostico nell'ambito delle attività di verifica dello stato fitosanitario del materiale di propagazione prima e dopo la consegna del materiale vegetale. Attraverso

l'esecuzione di analisi diagnostiche, mediante protocolli ufficiali, volte a verificare l'eventuale presenza di virus, viroidi e altri agenti virus-simili, è stata garantita la diffusione di materiale sano, conforme ai requisiti della certificazione volontaria. L'assenza di patogeni vascolari trasmissibili per innesto è un requisito fondamentale nella diffusione del materiale di propagazione. Solo l'utilizzo di materiale certificato offre infatti le dovute garanzie di sanità e rispondenza genetica necessari per un investimento di successo. Insieme al CREA ha, infatti, svolto un'attività di controllo del materiale sinergica e propedeutica alla registrazione del materiale oggetto del progetto, in certificazione. Agrobiotech è da sempre accanto ai vivaisti e produttori nell'effettuare i dovuti controlli e nel diffondere una cultura sensibile e attenta alle procedure ufficiali di approvvigionamento del materiale di propagazione vegetale, non solo su agrumi.



Un sopralluogo operato dalla ricercatrice CREA-OFA dott.ssa Silvia Di Silvestro, dal presidente del Consorzio di Tutela Limone dell'Etna IGP, dott. Renato Maugeri e dal direttore del Consorzio Euroagrumi OP, dott. Salvatore Rapisarda



CAPITOLO 2

VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE, DOTATI DI SENSORI SPECIFICI, SUL CONTROLLO DEL MALSECCO IN LIMONETI

Azione 3 - Referente dott.ssa Silvia Di Silvestro

ATTIVITÀ SVOLTA

Nell'ambito delle attività previste nel periodo di riferimento è stata effettuata una sperimentazione sugli effetti della copertura con rete in impianti di limone, allestita al fine di contenere gli effetti di eventi climatici estremi sull'incidenza delle infezioni del fungo patogeno da ferita *Plenodomus tracheiphilus*, agente responsabile del malsecco. L'attività è stata condotta presso un'azienda partner grazie alla preesistente presenza di un impianto in parte coperto con rete anti-grandine ed in parte in pien'aria.

Il limoneto, sulla costa orientale della Sicilia, caratterizzato da un suolo franco-sabbioso, è stato piantato nel 2016 e la copertura è stata allestita nel 2018. L'impianto è irrigato a goccia, la cultivar è Femminello zagara bianca, innestata su due portinnesti, arancio amaro (*C. aurantium* L.) e limone Volkameriano (*C. volkameriana* Ten. et Pasq.), secondo uno schema di impianto a densità variabile. Attualmente il sesto d'impianto è di 2,5 x 2 m e le piante sono disposte con una fila di piante innestate su limone Volkameriano seguita da una in cui le piante innestate su arancio amaro sono alternate a quelle innestate su limone Volkameriano. La rete utilizzata per proteggere la pianta è una rete antigrandine neutra, con maglia 6,5 mm x 2,5 mm e fattore d'ombreggiamento del 5-7%. La copertura delle piante è alta 5 metri, con le reti tenute in posizione da pali di cemento interposti

tra le file, per una superficie di 5.000 m². Un limoneto adiacente, con le stesse caratteristiche (cultivar, portinnesti, impianti e gestione agronomica), ma senza rete, è stato utilizzato come controllo; tutti i parametri sono stati misurati separatamente per ciascun portinnesto, sotto rete e in pieno campo, per un totale di 4 tesi.

Nel corso del progetto, sono state collocate all'interno ed all'esterno della copertura delle capannine meteorologiche dotate di sensori per il rilevamento dei principali parametri microclimatici. Tali strumenti ricoprono un ruolo fondamentale perchè consentiranno di mettere in relazione i comportamenti fisiologici e fenologici delle piante con il differente microclima che si definisce all'interno della struttura protetta. La possibilità di poter monitorare tali parametri ambientali, non solo consente di comprendere meglio le risposte all'ambiente della pianta sotto il profilo biologico, ma può essere di grande supporto alla coltivazione, soprattutto nel definire le esigenze idriche reali dell'impianto. Il consumo idrico è infatti un tema di grande interesse e dai primi risultati del progetto sembra fortemente influenzato dalla presenza della copertura.

Le capannine meteorologiche, che potranno essere collegati ad ulteriori strumenti quali dendrometri, tensiometri, sensori di umidità fogliare, sensori di umidità e conducibilità elettrica nel suolo, attualmente rilevano i seguenti parametri:

Temperatura giornaliera (massima, minima, media);

Umidità relativa;

Radiazione solare;

Precipitazioni;

Vento.

Sulle piante sono stati condotte analisi relative ai principali parametri fisiologici, rilevati nella stagione estiva (con cadenza mensile da giugno a settembre), ai parametri fenologici e ad alcuni aspetti morfologici, come di seguito descritto

Parametri fisiologici:

Tramite misuratore portatile di scambi gassosi sono stati valutati fotosintesi netta, concentrazione di CO_2 sottostomatica, traspirazione, conduttanza stomatica;

Tramite fluorimetro portatile sono stati rilevati estinzione non fotochimica della clorofilla (NPQ) ed efficienza fotochimica del fotosistema II (Fv/Fm);

Tramite misuratore multiparametrico per foglie sono stati rilevati i valori di clorofilla (ChlM), flavonoli (FlvM) e sostanza azotata (NFI);

Tramite Camera di Scholander, potenziale idrico fogliare;

Sono state infine effettuate misure analitiche di Clorofilla e Azoto su foglie campionate alla fine della stagione estiva.

Parametri fenologici: valutazione delle epoche di germogliamento, di fioritura e sviluppo del frutto.

Parametri morfologici: misura di altezza pianta, volume della chioma, diametro del fusto e conformazione dei fiori.

Sono stati poi valutati aspetti quantitativi e qualitativi relativi alla produzione e nello specifico:

Produzione media per pianta;

Dimensioni (diametro equatoriale e longitudinale; apertura asse carpellare; spessore buccia);

Peso medio dei frutti;

Contenuto in succo;

Indice colorimetrico;

Solidi solubili totali;

Acidità titolabile.

Lo scopo della copertura con rete è contenere la diffusione della malattia impedendo sia il diffondersi dell'inoculo, poiché l'impianto di protezione è dotato di reti frangivento, ma soprattutto riducendo le vie di penetrazione all'interno della pianta. A tal fine si è voluto verificare se l'incidenza della malattia in termini di sintomatologia

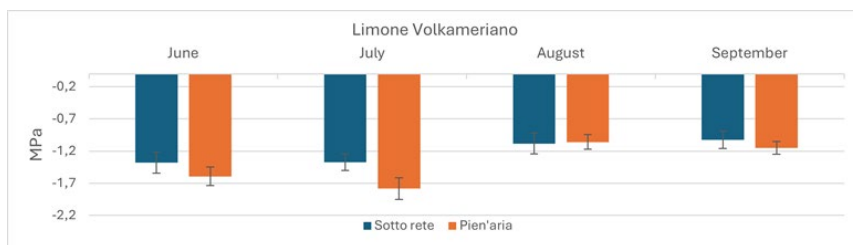
fossa differente tra il campo sotto copertura e quello non coperto e in secondo luogo quale fosse la carica di inoculo presente nelle piante al di là della manifestazione sintomatica. Il monitoraggio della presenza del malsecco è stato effettuato tramite la fenotipizzazione delle piante in campo. A tutte le piante in campo è stato assegnato un valore numerico da 1 a 5 relativo alla manifestazione della malattia, secondo la scala che va da 1 = assenza di sintomi a 5 = pianta morta. A seguire sono stati realizzati degli isolamenti dalle piante con sintomi e da alcune piante asintomatiche, verificando la presenza del patogeno attraverso la crescita in vitro su substrato sintetico per analisi microbiologiche.

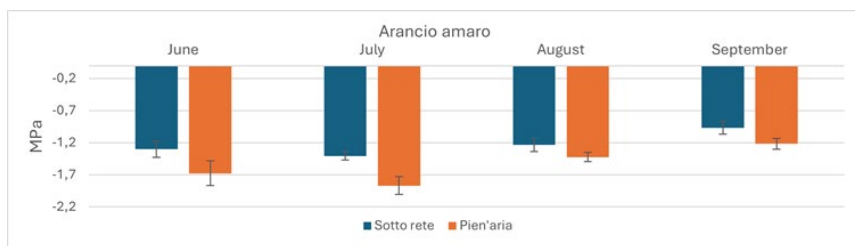
Ulteriori analisi diagnostiche con molecolari sono state condotte sugli acidi nucleici delle piante con sintomi e su campioni prelevati in maniera randomizzata da due campi oggetto di studio per un totale di 52 piante analizzate. L'analisi diagnostica è stata condotta su DNA estratto da tessuto legnoso utilizzando, primer e sonde specifici per l'individuazione del *Plenodomus tracheiphilus*.

RISULTATI OTTENUTI

Rilevi fisiologici:

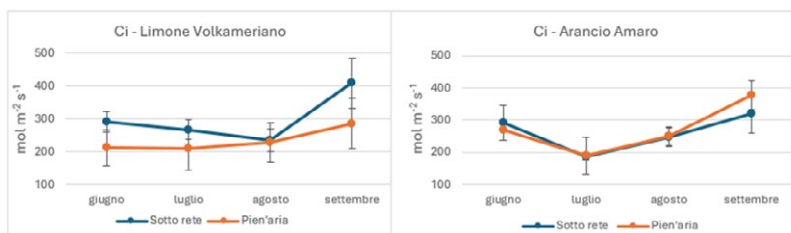
Le condizioni ambientali sotto rete hanno influenzato i parametri fisiologici della pianta. Gli effetti principali hanno riguardato il potenziale idrico, che ha mostrato valori meno negativi in entrambe le combinazioni di innesto sotto rete, soprattutto nelle prime due date di campionamento corrispondenti alle condizioni climatiche più stressanti, come si osserva dagli istogrammi sottostanti.



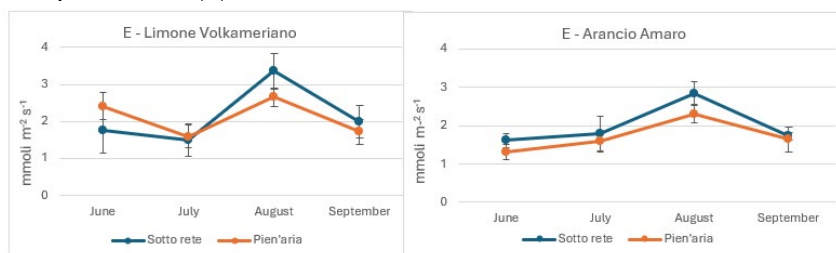


A seguire è illustrato in grafico l'andamento stagionale degli scambi gassosi per le diverse combinazioni di portinnesto sotto rete ed in pien'aria.

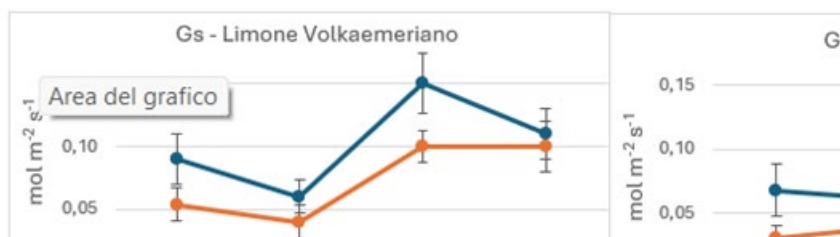
Concentrazione di CO_2 sottostomatica (Ci):



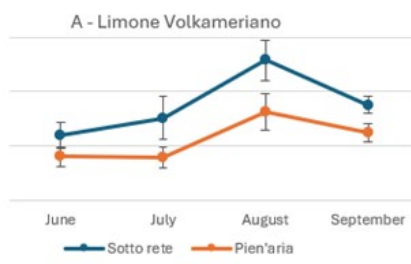
Traspirazione (E):



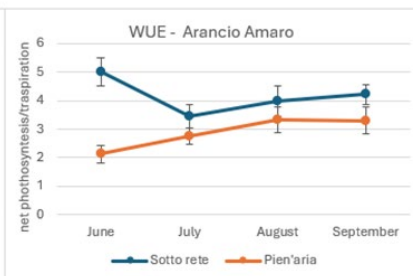
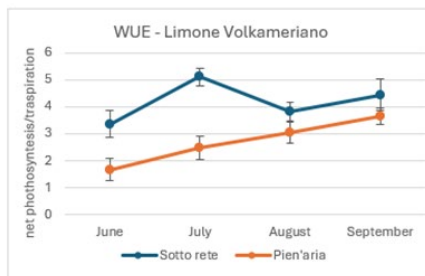
Conduttanza stomatica (g_s):



Fotosintesi netta (A):

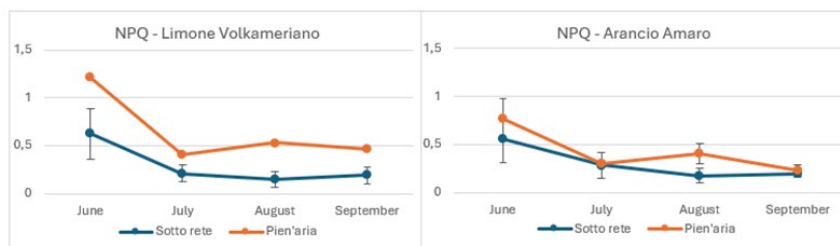


Nelle piante sotto rete, la conduttanza stomatica è rimasta più elevata in entrambi i portinnesti per tutte le date di rilevamento, con un picco in agosto, quando le piante hanno dimostrato una migliore performance per alcuni parametri. La maggiore conduttanza stomatica ha determinato un aumento dei tassi di traspirazione che sono rimasti generalmente più elevati nelle piante sotto rete, sebbene i VPD registrati siano stati inferiori (dati non mostrati), probabilmente grazie alla maggiore disponibilità idrica determinata dalle minori perdite per evaporazione dal suolo sotto rete. Anche la fotosintesi netta è risultata più elevata negli alberi sotto rete, coerentemente con la maggiore conduttanza stomatica. L'efficienza d'uso dell'acqua (WUE) illustrata nel grafico che segue, è stata sempre maggiore negli alberi sotto rete e un picco è stato osservato in corrispondenza della data di massimo stress per gli alberi innestati su limone Volkameriano, nel mese di luglio. Le differenze tra alberi sotto rete e in pieno campo sono apparse marcate negli alberi innestati su limone Volkameriano, probabilmente a causa del maggiore vigore vegetativo di questo portinnesto, che ha permesso di avere un migliore comportamento fisiologico in condizioni di rete.

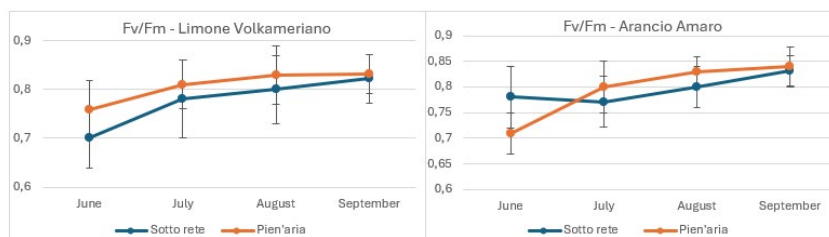


Per quanto riguarda i parametri che descrivono lo stress luminoso a cui la pianta è sottoposta si riportano in grafico i risultati relativi all'estinzione non fotochimica della clorofilla (NPQ) ed efficienza fotochimica del fotosistema II (Fv/Fm).

Estinzione non fotochimica della clorofilla (NPQ):



Efficienza fotochimica del fotosistema II (Fv/Fm):

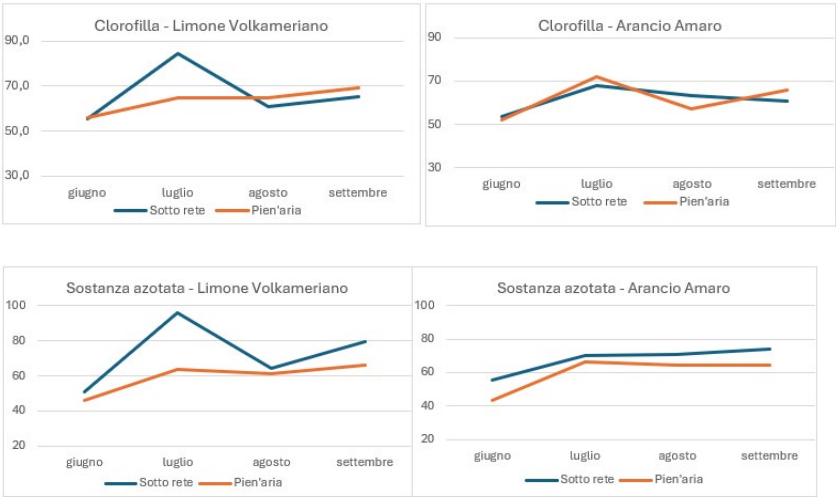


Per quanto riguarda le misure di fluorescenza della clorofilla, l'estinzione non fotochimica (NPQ) (processo che dissipa il surplus di energia attraverso il ciclo delle xantofille per proteggere il PSII dalla fotoinibizione), ha mostrato un picco significativo solo in agosto, per entrambe le combinazioni di portinnesti sotto rete, mentre la resa quantica massima (Fv/Fm), che diminuisce a causa del danno da fotoinibizione, non ha mostrato differenze significative tra le tesi. Ciò è probabilmente dovuto all'attuale distanza molto ridotta tra gli alberi che determina un ombreggiamento parziale anche in campo aperto evitando condizioni di stress luminoso nella zona mediana della chioma.

Per quanto riguarda gli indici di Clorofilla, Flavonoli e Sostanza azotata a seguire riportati, i dati dimostrano una migliore performance delle piante sottorete come confermato dalle misure analitiche di clorofilla e azoto fogliare discusse in seguito. D'altra parte, la mi-

surazione del contenuto di pigmenti nelle foglie in vivo attraverso il rapporto di fluorescenza ha mostrato differenze statistiche tra le tesi solo per il contenuto di flavonoidi, che è rimasto più elevato in tutte le tesi in pieno campo. Il contenuto principale di questi composti può essere correlato al loro ruolo nella protezione delle piante dall'esposizione ai raggi UV e dall'elevata esposizione alla luce.

Raggi UV e dall'elevata esposizione alla luce.



Per quanto riguarda i risultati sulle misure analitiche di azoto e clorofilla su foglie correlate all'indice SPAD, riportati nella tabella a seguire, i valori di azoto sono superiori in entrambi i portinnesti nella tesi sottorete così come differenze significative si riscontrano nella quantità totale di clorofilla, sempre a favore delle tesi sotto copertura.

TESI	Contenuto N % ± ERR. STD	SPAD ± ERR STD	CHLA mg/g ± ERR STD	CHLB mg/g ± ERR STD	CHL tot mg/g ± ERR STD	RATIO A/B ± ERR STD	Significatività
Lim. Volkameriano sottorete	1,59±0,09	69,20±1,29	1,96±0,14	0,52±0,03	2,48±0,16	3,77±0,11	a
Lim. Volkameriano pien'aria	1,39±0,06	68,40±0,25	1,63±0,06	0,42±0,03	2,05±0,09	3,95±0,14	ab
arancio amaro sottorete	1,70±0,05	70,50±1,40	2,06±0,06	0,46±0,02	2,52±0,04	4,52±0,27	b
arancio amaro pien'aria	1,40±0,05	72,48±1,85	1,77±0,05	0,42±0,01	2,19±0,06	4,19±0,02	ab

Rilievi fenologici:

Dal punto di vista fenologico, le piante potate alla fine di dicembre hanno reagito con l'emissione di nuovi germogli solo in pieno campo, non sotto rete dove probabilmente sono state penalizzate da una minore illuminazione. Tali germogli, prelevati nel mese di febbraio, sono stati quantificati in termini di sostanza secca, come riportato nella tabella che segue.

Data	portinnesto	Peso fresco netto(g)	Peso secco netto(g)	% peso secco
18/02/2025	A.A.	270	181,77	67,3
18/02/2025	A.A.	590	279,8	47,4
18/02/2025	A.A.	380	195,3	51,4
Media arancio amaro		413,3	218,95	55,36
18/02/2025	VOLK.	650	313,32	48,2
18/02/2025	VOLK.	1036	467,32	45,1
18/02/2025	VOLK.	930	430,81	46,2
Media lim. volkameriano		872	403,82	46,5

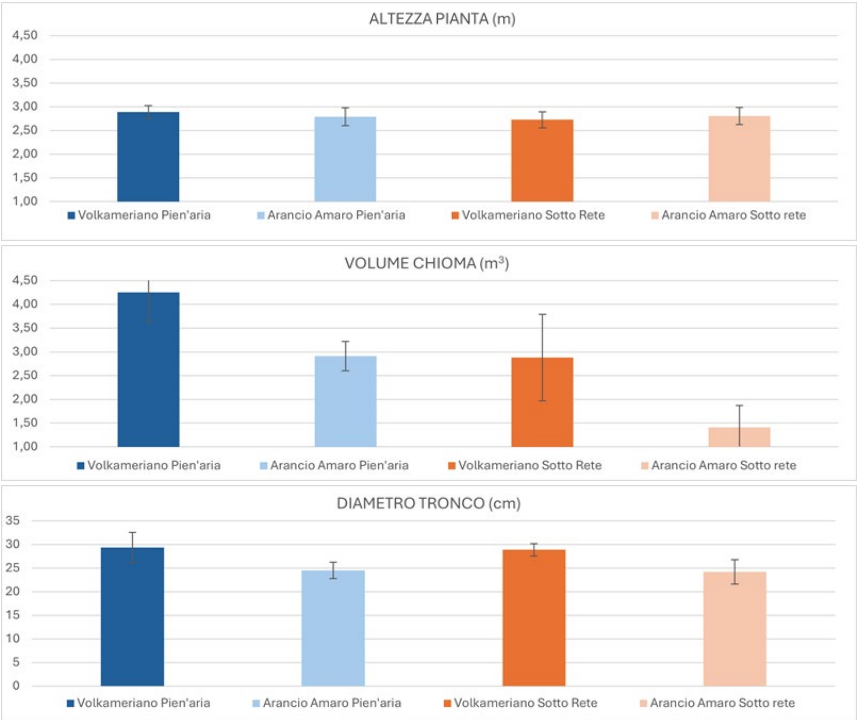
Proseguendo nella stagione, le piante sottorete hanno mostrato un anticipo nel germogliamento primaverile che è iniziato la prima settimana di marzo ed è stato ritardato di circa due settimane in pien'aria. Il germogliamento è stato più intenso nel limone volkameriano come atteso per la maggior vigoria del portinnesto. Anche la fioritura è sembrata anticipata sottorete, dove si riscontra un ulteriore anticipo a favore del limone volkameriano, tale anticipo sembra annullarsi fuori rete. In questa fase del progetto sono state installate le capannine meteorologiche, ma nel periodo inverno-primaverile, l'andamento delle temperature non ha fatto registrare fluttuazioni rilevanti tra l'area sotto rete e la pien'aria.

Rilievi sulla fioritura effettuati in aprile 2025: per una quantificazione dello stadio della fioritura sono stati prelevati tutti i fiori della pianta che alla data scelta erano completamente sviluppati e prossimi all'antesi, dalla tabella si evince come la fioritura fosse in uno stadio più avanzato sotto rete ed in particolare nel limone volkameriano. Le analisi sulla morfologia florale hanno consentito di individuare la percentuale di fiori con antere atrofiche, con pistillo abortito o del tutto sterili, che non mostrano differenze statisticamente significative tra le tesi.

TESI	N. Fiori\ pianta	Pistilli abor- titi %	Antere atro- fiche %	Fiori sterili %
Arancio Amaro Sotto rete	21,00	27,90	7,10	0,29
Limone Volkameriano Sotto rete	42,00	31,77	2,90	0,38
Arancio Amaro Pien'aria	14,86	24,11	1,79	0,14
Limone Volkameriano Pien'aria	16,29	26,67	0,84	0

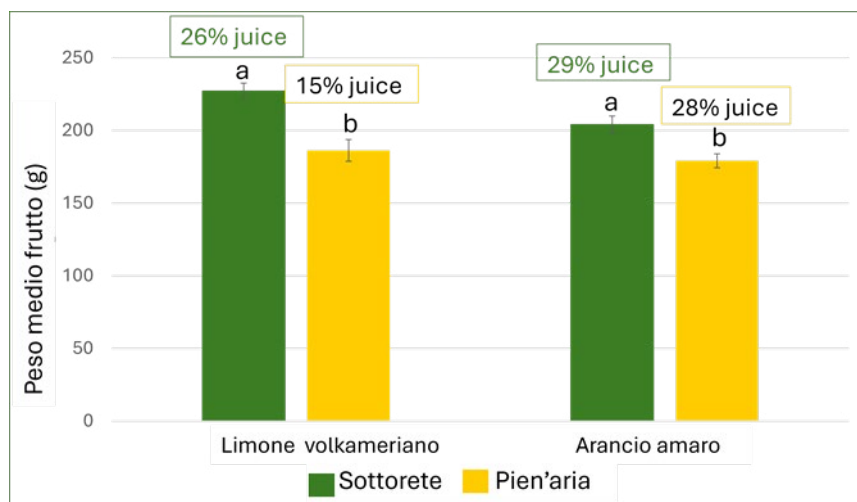
Analisi morfometriche:

Le misure sull'accrescimento delle piante, eseguite a febbraio 2025, mostrano, come atteso, delle dimensioni notevolmente maggiori per le piante innestate su limone volkameriano, portinnesto notoriamente molto vigoroso, e complessivamente dimensioni a favore delle piante cresciute in pien'aria per quanto riguarda soprattutto volume della chioma e circonferenza del tronco



Aspetti quali-quantitativi produzione

Una prima analisi qualitativa è stata condotta sulla produzione di limone estivo, raccolti nel mese di luglio 2024. I parametri considerati, in generale, non hanno evidenziato differenze significative tra le produzioni ottenute sottorete o in pien'aria, se non per quanto riguarda la percentuale di succo che è stata significativamente più alta nelle tesi sottorete. Aspetto certamente legato al bilancio idrico della pianta, che assume una grande importanza in termini qualitativi nella produzione dei verdelli.

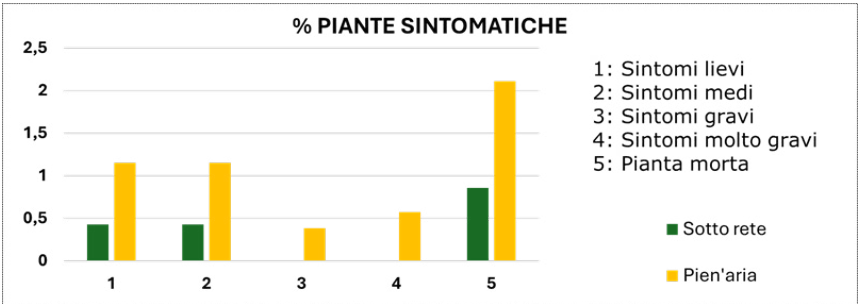


Le analisi sulla produzione invernale evidenziano come i parametri qualitativi dei frutti, riportati nella tabella sottostante, si mantengano costanti tra le tesi protette e non protette e le differenze riscontrate sono prive di significatività statistica, solo la produzione dell'arancio amaro sottorete, si conferma minore rispetto al pien'aria, riflettendo il minore accrescimento delle piante già osservato nell'ambito dei rilievi morfometrici, ma con una maggior concentrazione di succo.

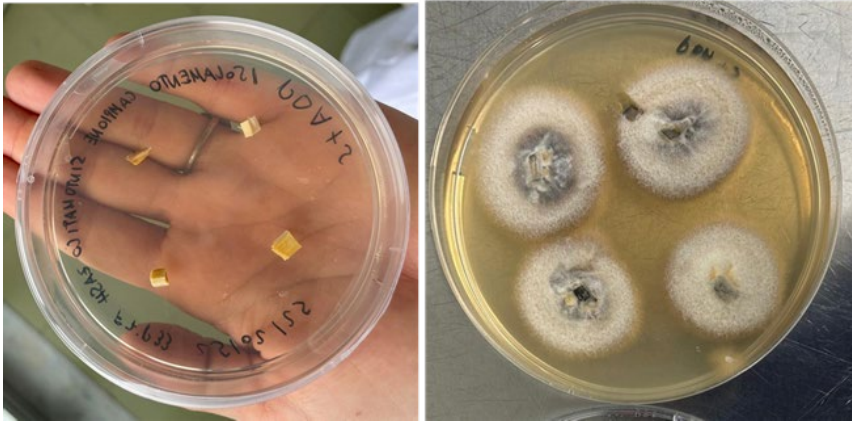
Tesi	Produ- zione (kg/pian- ta)	Conte- nuto in succo (%)	Gradi Brix	pH	Acidità citrica (g/L)	Frutti con asse carpellare aperto (%)
Limone volkame- riano - pien'aria	35,20	17,73	6,05	2,89	5,42	23,75
Arancio amaro - pien'aria	17,40	18,58	6,79	2,89	6,08	25,63
Limone volkame- riano - sotto rete	36,57	16,55	6,17	2,91	5,08	17,08
Arancio amaro - sotto rete	13,27	21,33	6,71	2,88	6,17	52,50

Monitoraggio del patogeno

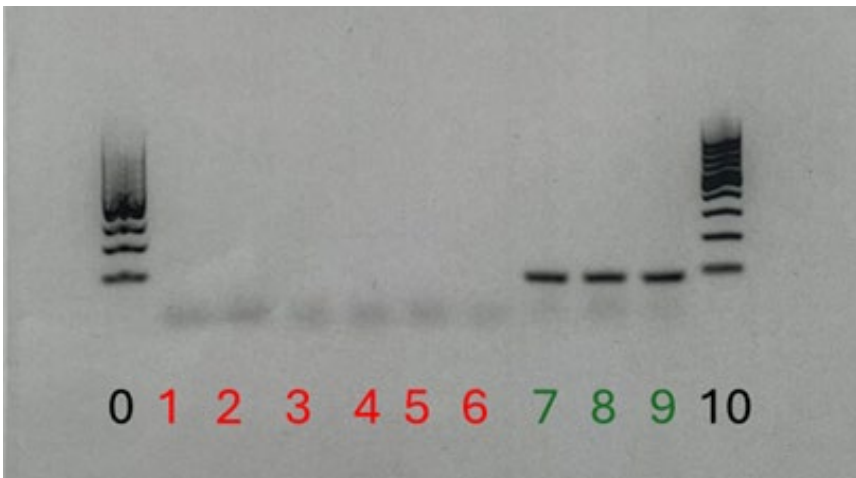
La fenotipizzazione ha consentito di individuare le piante che manifestano la malattia con l'incidenza riportata nel grafico che segue.



Da tutte le piante che riportavano sintomi, prelevando il rametto infetto è stato possibile isolare il *Plenodomus tracheiphilus*, in piastra Petri su Potato Dextrose Agar. Al contrario, da uno screening realizzato su 8 piante non sintomatiche in nessun caso è stato isolato il fungo.



Per quanto riguarda le analisi diagnostiche molecolari, queste sono state condotte su tutte le piante sintomatiche e su un ampio gruppo di controllo per un totale di 52 piante. L'evidenza della presenza del *Plenodomus tracheiphilus*, a seguito di estrazione di DNA dai tessuti dalla pianta, si è riscontrata visualizzando dell'amplificato in tutti i campioni con sintomi (nella figura che segue, pozzetti 7-8-9) e in nessuno dei campioni senza sintomi (pozzetti da 1 a 6). L'incidenza della malattia così come la diffusione del patogeno, in base ai dati ottenuti è risultata essere ridotta di circa il 50% nell'ambiente di coltivazione protetto da reti.



In conclusione, l'allevamento del limone sotto rete antigrandine sembra aver un effetto di protezione nei confronti dell'infezione del patogeno, sebbene sia indispensabile ripetere il monitoraggio sulla malattia per più anni, in maniera da intercettare anche diversi andamenti climatici, per avere un'idea chiara dell'effetto della rete sulla effettiva diffusione del *Plenodomus tracheiphilus*. Di contro, la presenza delle reti non sembra influenzare in maniera determinante né la quantità né la qualità del prodotto. Al contrario, un approfondimento dello studio, mettendo in relazione le risposte fisiologiche della pianta con il mutato microclima sottorete che, grazie alle capannine meteorologiche fornite del progetto, è in corso di monitoraggio dalla primavera scorsa. Lo studio in atto potrà consentire di sfruttare alcuni aspetti vantaggiosi della coltivazione sotto rete già evidenziati dai primi risultati, come ad esempio una minore domanda evapotraspirativa dell'ambiente che può tradursi in un minor consumo idrico.



Il prof. Alberto Faro, senior consultant in Sistemi e Applicazioni AI (a destra) ha supportato il progetto Top Citrus attraverso la installazione di centraline meteo e software che prevedono l'uso dell'intelligenza artificiale

La rete di monitoraggio per l'agricoltura di precisione attivata per il progetto Top Citrus

A cura del Prof. Ing. Alberto Faro, senior consultant in Sistemi e Applicazioni AI

Nell'ambito del progetto Top Citrus è stata realizzata e messa in funzione da Deepsensing srl - una startup innovativa che opera sui sistemi di precisione basati su dispositivi IoT e tecniche AI in agricoltura, nei processi industriali ed in medicina - una rete di monitoraggio continuo dei parametri ambientali, delle piante di agrumi e del suolo quali temperatura e umidità dell'aria, punto di rugiada, intensità e direzione del vento, intensità della pioggia, energia solare e raggi UV, temperatura, umidità ed elettro-conduttività del terreno, bagnatura fogliare e crescita del fusto. La piattaforma di raccolta dei dati è costituita da sette stazioni. Ciascuna raccoglie i dati trasmessi da una serie di sensori installati sul campo. I dati sono inviati dai sensori alla stazione di pertinenza in modalità wireless su canali in radiofrequenza. Ogni stazione invia, a sua volta, i dati tramite canali 4G a server in cloud dove questi dati vengono memorizzati per successive elaborazioni. Esistono due tipologie di sensori utilizzati nel progetto: quelli che trasmettono dati su canali in radio frequenza di potenza limitata di tipo Ecowitt da porre ad una distanza massima di 15 mt dalla stazione e quelli della Dragino che trasmettono su canali più potenti di tipo LORAWAN e che possono essere collocati fino a distanze di qualche chilometro dalla stazione base. In genere i primi sono più adatti a raccogliere dati su aria e sulle principali caratteristiche della pianta e del suolo, mentre i secondi sono più adatti a raccogliere una molteplicità di dati sulla pianta e sul suolo. In Top Citrus sono state attivate entrambe le reti in modo da potere rispondere al meglio alle esigenze di dati sia attuali che future. Nella tabella seguente sono indicati i parametri che è possibile raccogliere con l'avvertenza che i parametri meteo sono raccolti dalla rete

Ecowitt mentre quelli sulla pianta e sul suolo possono essere raccolti da entrambe le reti Ecowitt e Lorawan, ad eccezione della larghezza del fusto, conduttività elettrica , PH ed NPK (non previsti specificatamente in Top Citrus) che possono essere raccolti solo dalla rete Lorawan.

PROGETTO TOP CITRUS Monitoring Net for Precision Agriculture



Le stazioni sono state collocate nell'area catanese così come indicato nella mappa accanto. In particolare due stazioni presso Zash di Acireale per valutare il comportamento delle piante sotto la rete di protezione dal mal secco e di quelle limitrofe fuori dalla rete di protezione, due presso il Crea di Acireale, ed una nelle altre tre località

evidenziate con un nodo rosso e cioè, Pozzillo, Gelso Bianco e Biancavilla. Nella mappa sono anche indicati i due laboratori di Deepsensing uno a Catania e l'altro a Misterbianco, dove sono state configurate le stazioni prima della loro installazione.

Parametri meteorologici	Parametri della pianta	Parametri del suolo
Temperatura	Temperatura tra le foglie	Temperatura
Punto di rugiada	Larghezza del fusto	Umidità
Umidità	Bagnatura fogliare	Conduttività elettrica
Intensità e direzione del vento	Immagini delle foglie	pH
Energia solare e radiazione UV	-	NPK (Azoto, Fosforo, Potassio)
Intensità della pioggia	-	-

I dati raccolti possono essere visualizzati e scaricati in formato Excel cliccando sui pulsanti in rosso sotto la scritta “stazioni di monitoraggio” della pagina web <https://topcitrus.eu/rete-monitoraggio-dati/>. Questi dati oltre ad essere stati utilizzati per la valutazione dell'efficacia delle reti di protezione sono stati anche utilizzati per valutare il fabbisogno idrico delle piante e impostare un confronto tra la crescita con irrigazione controllata e quella su base tradizionale misurando la crescita del fusto delle piante e la loro condizione fogliare. I dati, che peraltro continuano ad essere raccolti con regolarità, costituiscono dei dataset importantissimi anche per studi futuri

di agricoltura di precisione basati su tecniche AI. A questo scopo, alla fine della pagina web sopra citata è riportato uno studio svolto nel corso del progetto da Deepsensing, basato su tecniche predittive di tipo AI dal titolo “Verso una agricoltura smart” (<https://topcitrus.eu/verso-una-irrigazione-smart-confronto-tra-metodi-predittivi-reattivi-e-modelli-avanzati/>) che mostra come le previsioni meteo locali basate sui dataset prima menzionati possano ridurre significativamente lo stress idrico delle piante e migliorare quindi la loro qualità produttiva. Su questo argomento si è aperto nella parte finale del progetto un dibattito non solo con il CREA ma anche con altri enti di ricerca locali e società specializzate in agricoltura di precisione da cui è emersa una interessante prospettiva di applicazione futura dei dati raccolti per il risparmio idrico e la riduzione dello stress delle piante di agrumi.





CAPITOLO 3

APPLICAZIONE DI RIVESTIMENTI EDIBILI ANTIFUNGINI SU FRUTTI DI LIMONE DI ELEVATO VALORE COMMERCIALE

Azione 4 - Referente dott.ssa Maria Concetta Strano

ATTIVITÀ SVOLTA

L'attività svolta nell'ambito dell'azione 4 del progetto "Top Citrus" ha avuto come obiettivo principale lo sviluppo di un rivestimento edibile antifungino, da applicare su frutti di limone apireni ad elevato valore commerciale (Fig. 4.1). I frutti rivestiti sono stati sottoposti a frigoconservazione, allo scopo di contenere l'insorgenza dei marciumi e delle fisiopatie da raffreddamento, mantenendo nel tempo i parametri qualitativi, contribuendo al prolungamento della *shelf-life* e di conseguenza del calendario di commercializzazione del prodotto rivestito.



Figura 4.1. Limoni apireni utilizzati per le prove

Come illustrato nella Figura 4.2, in una prima fase si è proceduto a) alla selezione degli estratti naturali ottenuti da sottoprodotti di melograno, bergamotto, limone, mirto, *skin* di mandorla, utilizzando diverse matrici di origine vegetale, facenti parte in prevalenza

dell'ambiente mediterraneo, e b) alla selezione degli oli essenziali di cannella, origano, timo, senape, chiodi di garofano, aglio, alloro, geranio, anice, salvia, cajeput e menta. Successivamente, gli estratti e gli oli essenziali ottenuti sono stati valutati per l'attività antifungina nei confronti di *Penicillium digitatum* (muffa verde) e *P. italicum* (muffa azzurra), mediante screening *in vitro* e *in vivo* utilizzando concentrazioni decrescenti in soluzione acquosa di tali composti (tal quale, 1:2, 1:4, 1:8), al fine di selezionare quelli ad elevata efficacia antifungina anche alle diluizioni più elevate.

Contestualmente si è proceduto alla realizzazione di *edible coating*, mediante impiego di pectina, un polisaccaride proveniente da scarti di lavorazione degli agrumi, in un'ottica di economia circolare (Fig. 4.2). Prima di arrivare alla formulazione finale dell'*edible coating* sono state utilizzate pectine a differente concentrazione, in combinazione con sali inorganici di calcio, al fine di realizzare un rivestimento compatibile e adattabile alla superficie dei limoni.



Sopralluogo operato dalla dott.ssa Maria Concetta Strano, responsabile scientifico del progetto Top Citrus (a destra)

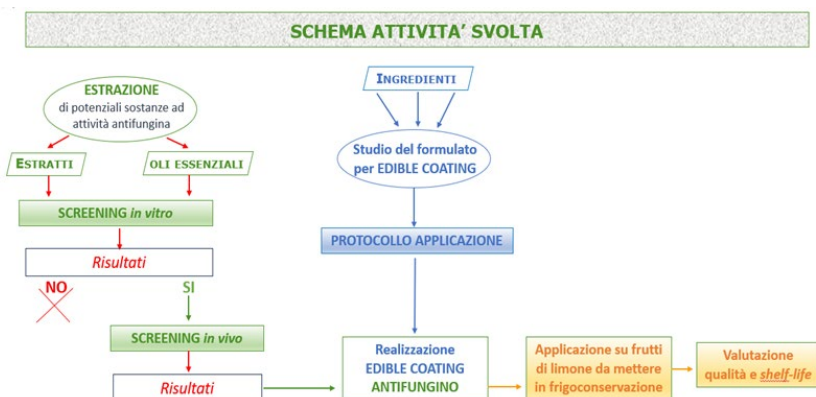


Figura 4.2. Rappresentazione schematica delle attività svolte nell'ambito dell'azione 4.

Screening *in vitro*

La valutazione *in vitro* dell'efficacia antifungina degli estratti e degli oli essenziali è stata effettuata utilizzando il metodo Kirby-Bauer (o *Disk Diffusion Test*)^[1]. Dischetti di cellulosa di 6 mm di diametro, impregnati con la sostanza da saggiare, sono stati collocati a diretto contatto con colture di *P. digitatum* (PD) e di *P. italicum* (PI) a concentrazione nota (1×10^5 conidi/mL), fatte crescere all'interno di scatole Petri, sul substrato artificiale Potato Dextrose Agar (PDA). Dischetti imbibiti di sola acqua sterile sono stati utilizzati come controllo. Dopo 48 ore di incubazione delle piastre a 25°C, tempo necessario per lo sviluppo del micelio, l'attività antifungina è stata valutata mediante misurazione dell'eventuale alone di inibizione dello sviluppo del micelio nell'area circostante i dischetti di cellulosa (Fig. 4.3).

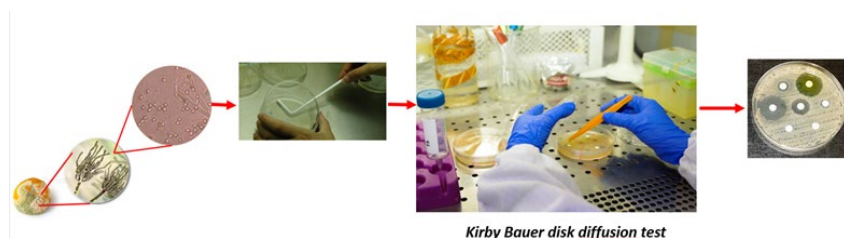
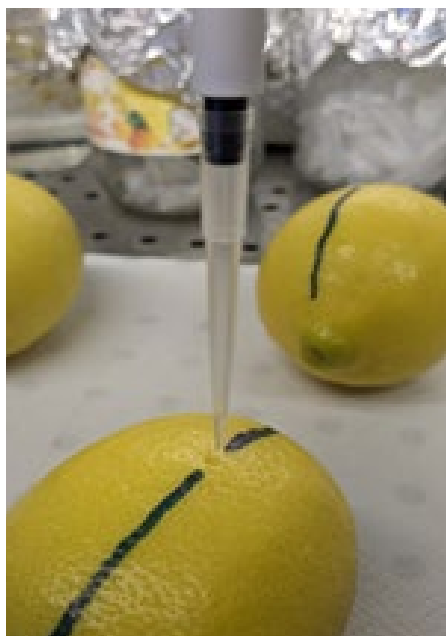


Figura 4.3. Screening *in vitro* mediante metodo Kirby-Bauer.

Screening *in vivo*

Le sostanze che hanno dato i migliori risultati nelle prove *in vitro* sono state saggiate anche su diverse specie di frutti di agrumi, inoculati artificialmente con le sospensioni conidiche di *P. italicum* e *P. digitatum* a concentrazione nota (1×10^5 conidi/mL), mettendo a contatto diretto con il patogeno la sostanza da saggiare, nello stesso sito di lesione. L'applicazione di sola acqua nel sito della lesione è stata utilizzata per il controllo.



I frutti, privi di difetti e/o infezioni pregresse, sono stati selezionati, lavati, disinfettati con alcool e lesionati con un ago per microbiologia in acciaio inox. In ciascuna ferita sono stati applicati 10 μ L della sostanza da valutare e, dopo circa due ore sono stati depositi 10 μ L della sospensione conidica (Fig. 4.4). L'incidenza percentuale delle ferite infette è stata rilevata dopo 5 giorni di conservazione dei frutti a temperatura ambiente, in cassette contenenti carta imbibita di acqua, per creare una camera umida, favorendo così la crescita del patogeno.

Figura 4.4. Deposizione della sospensione conidica all'interno delle lesioni artificiali.

Preparazione del formulato a base di pectina

Per la realizzazione del formulato antifungino, sono state prima valutate differenti concentrazioni di pectina, in combinazione con sali inorganici di calcio, con l'obiettivo di ottenere un rivestimento facilmente essiccabile e adattabile alla superficie dei limoni. Il formulato ottenuto è stato valutato preliminarmente mediante differenti proto-

colli di lavoro, che hanno previsto una prima fase con applicazione per immersione separata di sostanze antifungine e pectine, seguita da nebulizzazione con sali di calcio.

Nel protocollo di lavoro finale si è deciso di integrare le sostanze antifungine direttamente nella pectina e di utilizzare solo gli oli essenziali, i quali, a differenza degli estratti hanno mostrato spiccata attività antifungina anche a dosaggi inferiori, negli *screening* effettuati nella fase precedente.



Pertanto, i due formulati finali utilizzati nelle successive prove di frigoconservazione sono stati realizzati con pectina al 3% (w/v), nella quale sono stati integrati i rispettivi oli essenziali di origano e di cannella diluiti al 25% in acqua distillata. Una soluzione di cloruro di calcio (5% w/v) con funzione di reticolante, è stata applicata sulla buccia mediante nebulizzazione Fig. 4.5).

← **Figura 4.5.** Applicazione mediante nebulizzazione del reticolante.

Prove di frigoconservazione su limoni rivestiti con *edible coating* antifungini

I limoni sono stati prima selezionati per uniformità di pezzatura e assenza di difetti e alterazioni, quindi lavati con acqua corrente e asciugati a temperatura ambiente. Sono stati quindi suddivisi nelle seguenti tesi sperimentali: i) *edible coating* a base di pectina (PEC), ii) olio essenziale di origano (OEO), iii) olio essenziale di cannella (OEC), iv) PEC+OEO, v) PEC+OEC, vi) controllo non trattato (NT) (Figura 4.6).



Figura 4.6. Schema delle prove con EC antifungini.

I rivestimenti sono stati applicati mediante immersione dei frutti nelle soluzioni con oli essenziali, o nei diversi formulati a base di pectina. I frutti rivestiti con gli *edible coating* sono stati successivamente nebulizzati con la soluzione di cloruro di calcio (Fig. 4.7). Al termine del trattamento e dopo la completa asciugatura, i frutti di limone sono stati posti in cella di frigoconservazione a 10 °C e umidità relativa di 80-85%.



Figura 4.7. Schema del protocollo di applicazione degli *edible coating* su frutti di limone.

Le analisi microbiologiche (conta mesofila aerobia, conta aerobia psicrofila, presenza di lieviti e muffe, batteri lattici, Enterobacteriaceae e coliformi, *Staphylococcus* spp.) e chimico-fisiche (peso e volume frutti, colore della buccia e della polpa, consistenza della buccia, resa in succo, solidi solubili totali, acidità titolabile, vitamina C, attività antiossidante, polifenoli e flavonoidi), sono state eseguite su un campione iniziale di frutti non trattati (T0) e a intervalli di 15 giorni (T15 e T30) sui frutti delle diverse tesi trattate, sottoposti a frigoconservazione. A partire dai 15 giorni di conservazione (T15 e T30) sono state effettuate anche le seguenti valutazioni: calo peso, incidenza percentuale del marcio, entità delle fisiopatie da raffreddamento.

Il *calo peso* è stato determinato pesando singolarmente 30 frutti per tesi e calcolato come differenza percentuale tra il peso iniziale (T0) e quello registrato a T15 e T30. L'*incidenza del marcio*, espressa come percentuale di frutti infetti, è stata effettuata mediante valutazione visiva e registrazione del numero di frutti affetti da marciumi causati da marciumi primari (*Penicillium digitatum* e *P. italicum*) e da altri patogeni fungini (marciumi minori), rispetto al totale dei frutti valutati all'interno di ogni tesi. La presenza e la severità delle *fisiopatie da raffreddamento* è stata determinata mediante valutazione visiva dei danni da freddo classificati in base alla gravità del sintomo con valori da 0 a 3, dove 0 = nessun sintomo, 1 = sintomi lievi (fino a 10% di superficie colpita), 2 = sintomi moderati (fra 10 e 30%), 3 = sintomi gravi (superficie colpita > 30%)^[2]. L'indice del danno da freddo (*Chilling Injury index*) è stato calcolato come segue:

CI index= Σ (valori danno) x (n. frutti per ogni valore danno) / n. totale frutti

La *misura del colore della buccia e della polpa* è stata effettuata mediante colorimetro Minolta usando la scala di valutazione CIELAB, e rilevando i valori su tre punti diversi della zona equatoriale del frutto nel caso della buccia e della polpa nel frutto tagliato. I parametri rilevati sono stati: L* (luminosità per valori da 100 per il bianco a 0 per il nero); a* (gamma di colori da rosso "valori positivi" a verde "valori negativi") e b* (gamma di colori da giallo "valori positivi" a blu "valori negativi"). I risultati sono stati riportati utilizzando l'indice di colore degli agrumi (*Citrus Color Index*; CCI)^[3], così determinato: $CCI = 1000 \times a^*/L^* \times b^*$. La *consistenza della buccia* è stata determinata mediante un analizzatore di struttura, utilizzando un puntale piatto avente diametro di 8 mm. I valori registrati indicativi della forza necessaria per rompere la buccia, sono stati espressi in Newton (N)^[4].

Sul succo ottenuto utilizzando uno spremiagrumi elettrico, sono state effettuate le ulteriori seguenti analisi: *resa in succo* espressa in percentuale è calcolata come segue: (peso succo/peso frutto) x 100; *solidi solubili totali* misurati mediante un rifrattometro digitale ed espressi in °Brix, *acidità titolabile %* espressa in g/100 mL di acido citrico equivalente, determinata con metodo potenziometrico mediante un titolatore automatico, usando una soluzione di idros-

sido di sodio 0,1 N fino al raggiungimento del punto finale della titolazione a pH 8,1. Il contenuto di *vitamina C* (acido ascorbico) è stato determinato tramite HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione)^[5]. L'*attività antiossidante* del succo è stata determinata mediante il saggio DPPH basato sull'impiego del radicale libero 2,2-difenil-1-picrilidrazile (DPPH) e i risultati espressi in mmol equivalenti di Trolox per litro (TEAC)^[6]. Il contenuto di *polifenoli totali* (TPC) è stato determinato mediante saggio colorimetrico Folin-Ciocalteu. La determinazione del contenuto di flavonoidi totali (TFC) è stata effettuata utilizzando il metodo colorimetrico al cloruro di alluminio^[7]. I risultati sono stati espressi come mg di equivalenti di quercetina (QUE) per millilitro di succo.

RISULTATI OTTENUTI

Risultati screening in vitro

La valutazione *in vitro* di differenti estratti vegetali e oli essenziali a varie concentrazioni ha consentito una prima selezione delle sostanze ad attività antifungina, e nello stesso tempo la scelta di quelle più efficaci anche a dosaggi inferiori (Fig. 4.8 e Fig. 4.9).

**ESTRATTI DA MATRICI VEGETALI
(SPECIE MEDITERRANEE)**

<i>P. digitatum</i> & <i>P. italicum</i>			
NOME ESTRATTO	DILUIZIONE		
	T.Q.	1:2	1:4
Melograno	✓	✗	✗
Bergamotto	✓	✗	✗
Limone	✓	✗	✗
Mirto	✓	✗	✗
<i>Skin</i> di mandorla	✗	✗	✗
Mirto (Eaq)	✓	✗	✗
<i>Skin</i> di mandorla (Eaq)	✗	✗	✗

Eaq = estrazione con sola acqua

Figura 4.8. Efficacia antifungina nei confronti di *P. digitatum* e *P. italicum* di differenti estratti vegetali a varie concentrazioni scalari.

OLI ESSENZIALI

<i>P. digitatum</i>					<i>P. italicum</i>				
NOME	DILUIZIONE				NOME	DILUIZIONE			
	T.Q.	1:2	1:4	1:8		T.Q.	1:2	1:4	1:8
Cannella	✓	✓	✓	✓	Cannella	✓	✓	✓	✓
Origano	✓	✓	✓	✗	Origano	✓	✓	✓	✓
Timo	✓	✓	✗	✗	Timo	✓	✓	✓	✓
Senape	✓	✓	✓	✗	Senape	✓	✓	✗	✗
Chiodi di garofano	✓	✓	✓	✗	Chiodi di garofano	✓	✓	✓	✓
Aglio	✓	✓	✓	✓	Aglio	✓	✓	✓	✓
Alloro	✗	✗	✗	✗	Alloro	✗	✗	✗	✗
Geranio	✓	✗	✗	✗	Geranio	✓	✓	✓	✗
Anice	✗	✗	✗	✗	Anice	✗	✗	✗	✗
Salvia	✗	✗	✗	✗	Salvia	✗	✗	✗	✗
Cajeput	✗	✗	✗	✗	Cajeput	✗	✗	✗	✗
Menta	✓	✗	✗	✗	Menta	✓	✓	✗	✗

Figura 4.9. Efficacia antifungina nei confronti di *P. digitatum* e *P. italicum* di differenti oli essenziali applicati a varie concentrazioni scalari.

Nella valutazione dell'efficacia antifungina di differenti oli essenziali alla concentrazione più elevata (T.Q. = 15% OE diluito ed emulsionato con 0,5% v/v di Tween 80), nei confronti di *P. digitatum* e *P. italicum*, la migliore attività antifungina è stata osservata negli oli essenziali di senape e aglio, seguiti nel caso di *P. digitatum*, da cannella, origano e timo, e nel caso di *P. italicum* da cannella, origano, chiodi di garofano e geranio (Fig. 4.10 e Fig. 4.11).

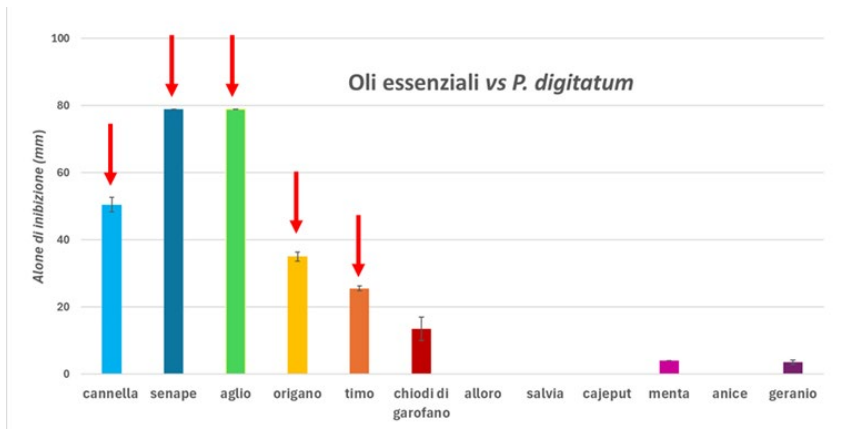


Figura 4.10. Valutazione *in vitro* dell'efficacia antifungina nei confronti di *P. digitatum* di differenti oli essenziali applicati alla concentrazione più elevata.

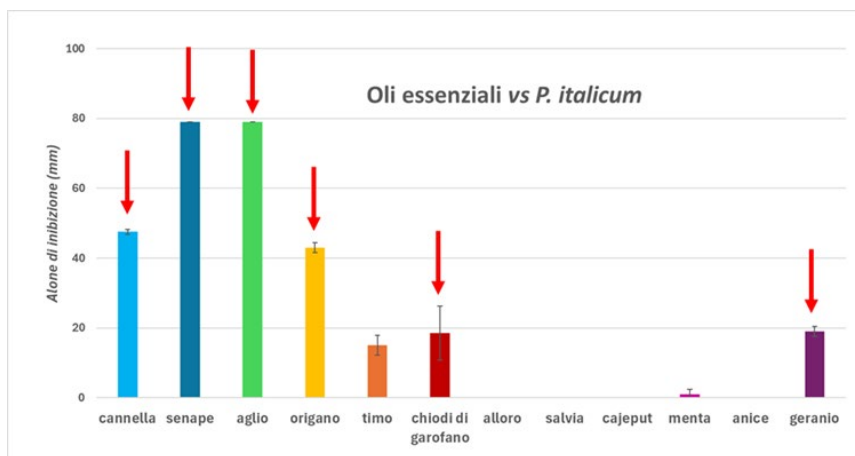


Figura 4.11. Valutazione *in vitro* dell'efficacia antifungina nei confronti di *P. italicum* di differenti oli essenziali applicati alla concentrazione più elevata.

Tuttavia, alcuni oli essenziali se usati in purezza possono risultare fitotossici e il loro utilizzo antieconomico. Per questo motivo ulteriori valutazioni sono state effettuate sugli oli essenziali più efficaci, anche a diluizioni maggiori, al fine di individuare la concentrazione ottimale da utilizzare nelle prove successive (Fig. 4.12 e 4.13).

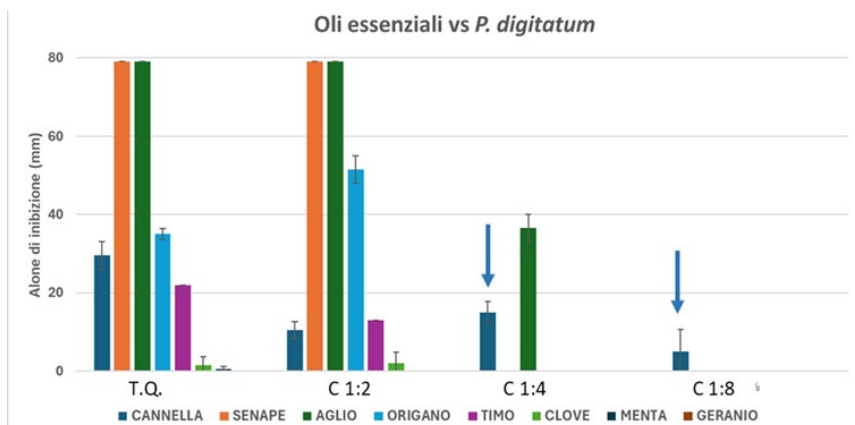


Figura 4.12. Valutazione *in vitro* dell'efficacia antifungina nei confronti di *P. digitatum* di differenti oli essenziali applicati a concentrazioni scalari.

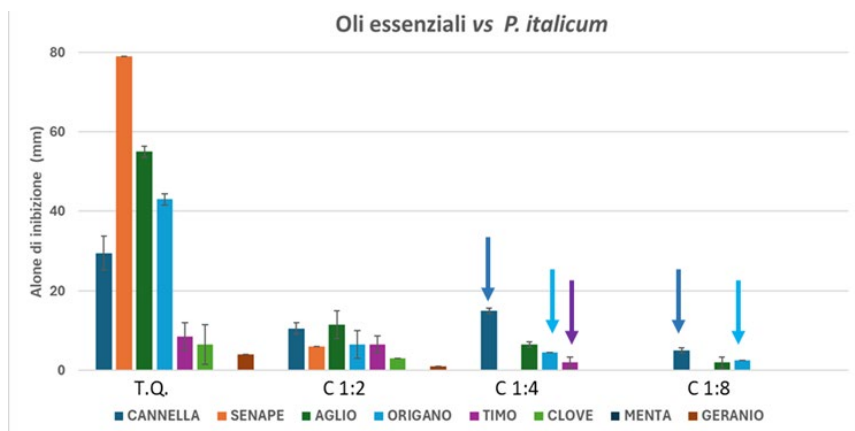


Figura 4.13. Valutazione *in vitro* dell'efficacia antifungina nei confronti di *P. italicum* di differenti oli essenziali applicati a concentrazioni scalari.

In questa seconda valutazione, in generale gli oli essenziali di cannella, origano e timo hanno mostrato attività antifungina anche a diluizioni maggiori, soprattutto nei confronti di *P. italicum*. Riguardo all'olio essenziale di senape è risultato efficace solo a concentrazioni elevate invece l'olio essenziale di aglio, pur essendo efficace anche a diluizioni elevate, supera la soglia di percezione, risultando incompatibile con l'applicazione su agrumi. Si è scelto quindi di non proseguire con altri test su questi due oli essenziali.

Cannella, origano e timo sono stati caratterizzati in GC-MS al fine di individuare le molecole maggiormente attive (Fig. 4.14A, B e C).

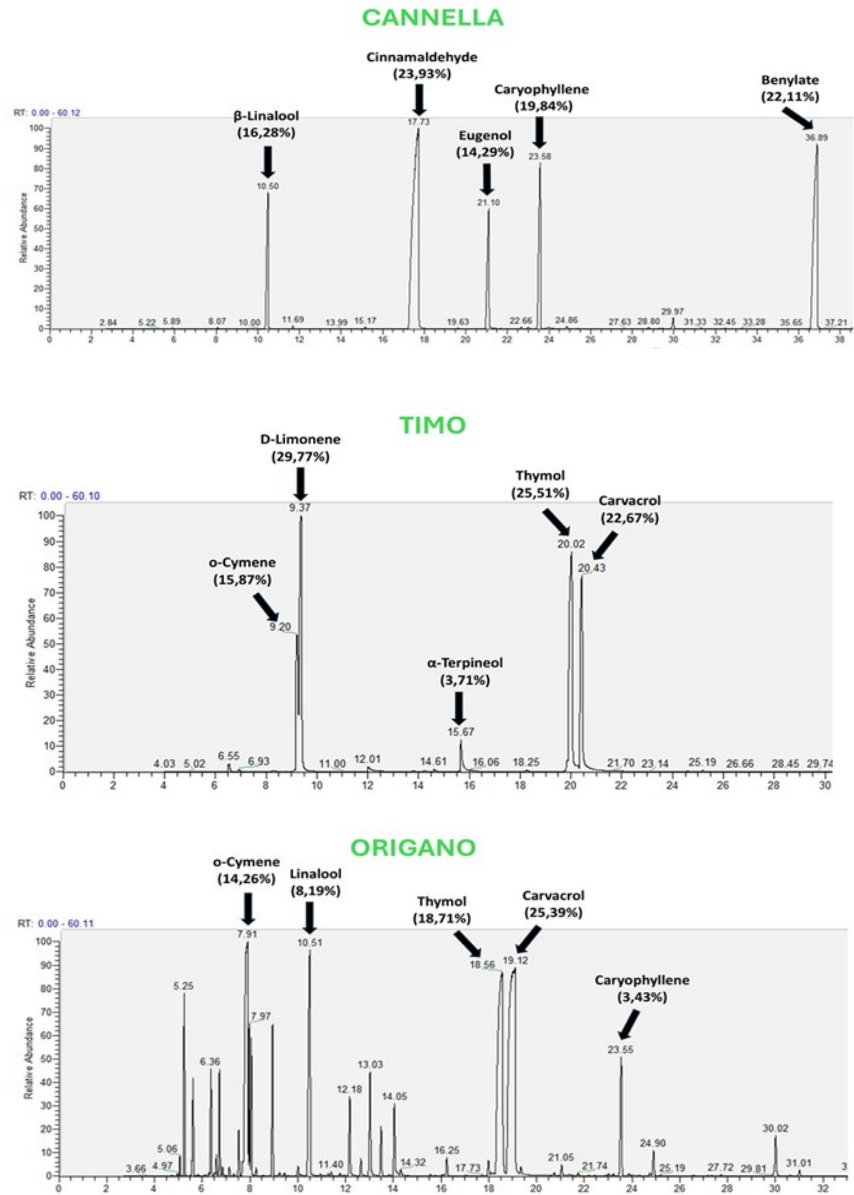


Figura 4.14. Caratterizzazione in GC-MS degli oli essenziali di cannella, timo e origano.

Come è possibile osservare nei cromatogrammi, la presenza di specifiche molecole attive già note in letteratura, è stata rilevata negli oli essenziali valutati, quali il timolo in origano e timo, e la cinnamaldeide nella cannella. Le informazioni ottenute da questa caratterizzazione possono ritenersi utili nel caso si decida un loro futuro utilizzo in blend costituiti da più oli essenziali.

Risultati screening in vivo

I risultati dell'efficacia antifungina degli oli essenziali di cannella, origano e timo valutati a concentrazioni decrescenti sono riportati nei grafici della fig. 4.15. Nei grafici è rappresentata l'incidenza dell'infezione, espressa come percentuale di frutti marci per la presenza di micelio di *P. digitatum* o *P. italicum*.

Come evidenziato nei grafici, dopo 5 giorni dall'inoculo, una efficace riduzione dello sviluppo della muffa verde (*P. digitatum*) è stata osservata nei trattamenti con oli essenziali di cannella (OE cannella) e origano (OE origano) alla concentrazione più elevata (C1:2 = T.Q. 50%), mentre solo OE origano ha ridotto l'incidenza del marcio rispetto alle altre tesi anche alle concentrazioni più basse (C1:4 = T.Q. 25% e C1:8 = T.Q. 12,5%). Riguardo all'efficacia nei confronti dello sviluppo della muffa azzurra (*P. italicum*), totale inibizione è stata osservata per OE origano alle concentrazioni C1:2 e C1:4. Ad eccezione della concentrazione C1:2, nessuna differenza significativa è stata invece osservata nel caso dell'olio essenziale di timo, rispetto al controllo.

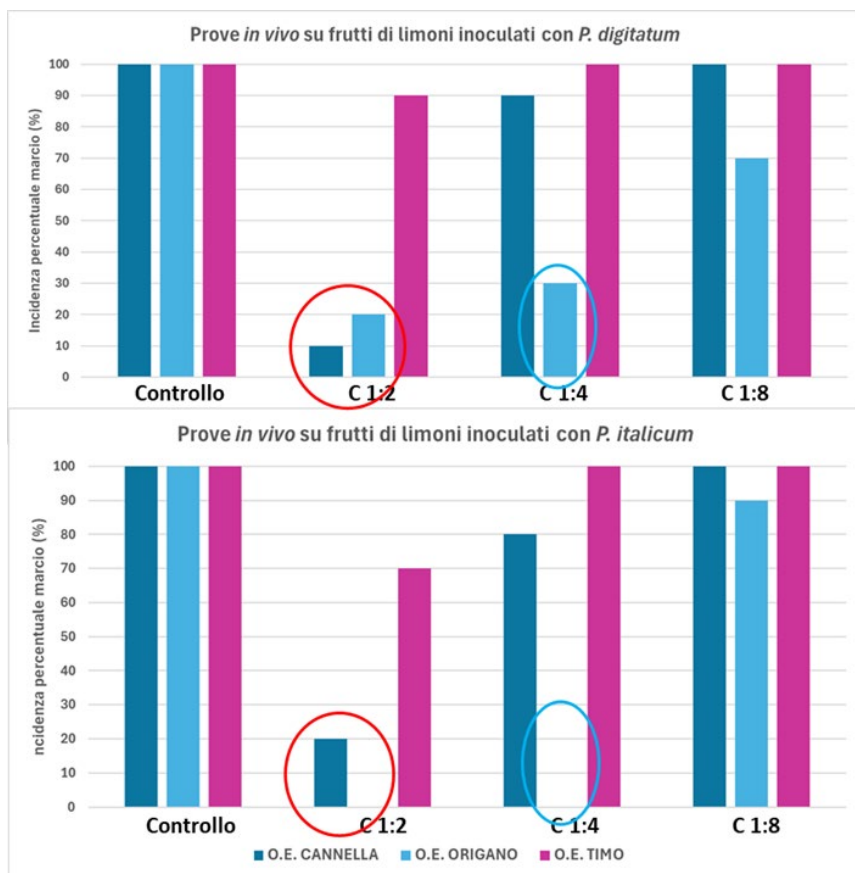


Figura 4.15. Valutazione dell'efficacia antifungina di oli essenziali di cannella, origano e timo, su frutti inoculati artificialmente con *P. digitatum* o *P. italicum*.

Nelle figure 4.16 e 4.17 è possibile osservare lo sviluppo del micelio nei frutti trattati con OE di origano rispetto al controllo (applicazione di sola acqua).

Origano

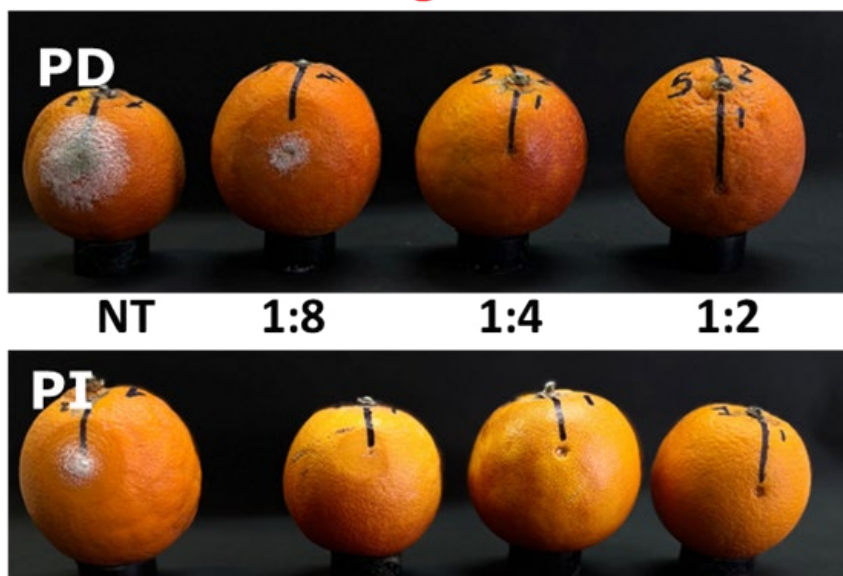


Figura 4.16. Sviluppo della muffa verde (PD) e azzurra (PI) nei frutti trattati con differenti concentrazioni di olio essenziale di origano, dopo 5 giorni dall'inoculo.

Controllo (NT)



Figura 4.17. Sviluppo della muffa azzurra nei frutti controllo (applicazione di sola acqua) dopo 5 giorni dall'inoculo.

Risultati prove di frigoconservazione di limoni con EC antifungini

Per quanto riguarda i risultati dei frutti rivestiti con gli *edible coating* e frigoconservati, i due formulati con olio di cannella o di origano combinati con pectina hanno determinato una riduzione del calo peso ed il mantenimento della consistenza dei frutti nonché i livelli iniziali di colore della buccia e della polpa e l'acidità titolabile, rispetto al controllo non trattato. I risultati relativi all'incidenza del marcio hanno evidenziato un controllo soddisfacente dei marciumi primari.

In conclusione, i risultati ottenuti suggeriscono che le formulazioni testate possono rappresentare una valida alternativa ecologica per il controllo delle alterazioni negli agrumi, contribuendo a ridurre l'uso di prodotti chimici, preservando la qualità dei frutti e migliorando la sostenibilità dei processi di produzione. Tuttavia, ulteriori approfondimenti su nuove specie e tipologie di frutta, risultano necessari al fine di verificare la ripetibilità dei risultati per il trasferimento tecnologico.

^[11] Bauer et al., **1966**. Am. J. Clin. Pathol., 45, 493–496.

^[12] Martínez-Téllez et al., **1997**. J. Plant Physiol., 50 (6), 674–678.

^[13] Jiménez-Cuesta et al., **1981**. Proc. Int. Soc. Citric., 2, 750–753.

^[14] Mitcham et al., **1996**. Perish. Hand. Newsletter, 85, 1–5.

^[15] Rapisarda et al., **1996**. Ital. J. Food Sci., 8, 251–256.

^[16] D'Aquino et al., **2022**. Hortic., 8, 354.

^[17] Lin et al., **2007**. Food Chem., 101, 140–147.

CAPITOLO 4

ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E RASSEGNA STAMPA

Azione 5

La divulgazione dello stato di avanzamento delle attività e la diffusione dei risultati ottenuti durante tutto il periodo del progetto, grazie al contributo del Consorzio Euroagrumi OP in qualità di capofila e alla partecipazione dei partner del progetto, è stata effettuata attraverso la realizzazione di numerose attività ripartite fra convegni (Kick-off Top Citrus 02.07.2024, Convegno finale Top Citrus 20.06.2025), seminari (Giornata Nazionale degli Alberi novembre 2024), workshop (Frutech 2024, Macfrut 2025) e incontri realizzati all'interno di giornate di campo effettuate presso le aziende partner (Vivai Imbrogiano Salvatore, Consorzio Euroagrumi, Villari S.R.L, Azienda agricola Maugeri Renato). Grazie alla realizzazione della piattaforma web (<https://topcitrus.eu>), oltre ai risultati del progetto sono stati inseriti lavori, materiale divulgativo (poster, relazioni, video), utilizzato nei convegni ai quali si è partecipato e il manuale tecnico dell'innovazione di Top Citrus. Inoltre, mediante l'impiego dei canali social (Facebook), di riviste specializzate del settore (Freshplaza, Italiafruit News, Corriere Ortofrutticolo, Terrà) e di emittenti televisive locali (Ciak Telesud, TVA) e nazionali (7Gold), è stato possibile far conoscere il progetto nei suoi obiettivi specifici e attività sperimentali diversificate.

Parte della rassegna stampa fruibile qui al seguente link:

<https://topcitrus.eu/category/rassegna-stampa/>

Parte dei video fruibili al seguente link:

<https://topcitrus.eu/video/>

Si ringraziano quanti hanno collaborato alla riuscita del progetto.

Un ringraziamento particolare al Consorzio di tutela Arancia Rossa di Sicilia IGP e al Consorzio di Tutela Limone dell'Etna IGP, rispettivamente presieduti dal dott. Gerardo Diana e dal dott. Renato Maugeri

Chiuso in redazione il 29 Agosto 2025
(data ultimo aggiornamento)

UNIONE EUROPEA



FONDO EUROPEO AGRICOLO
PER LO SVILUPPO RURALE:
L'Europa investe nelle zone rurali

REPUBBLICA ITALIANA



REGIONE SICILIANA
ASSESSORATO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA,
DELLO SVILUPPO RURALE
E DELLA PESCA MEDITERRANEA



Azienda agricola
Maugeri Paola



**IMBROGIANO
SALVATORE**

Azienda agricola
Grasso Gianpaolo

Azienda agricola
Maugeri Renato

Azienda agricola
Platania Giuseppe



TOPCITRUS

www.topcitrus.eu