

AZIENDE AGRICOLE:
GUARINO GENNARO
CANAPIRPINA SRL
AGRICOLA ZOOTECNICA CERINO
DI CERINO PELLEGRINO



Progetto finanziato dalla Regione Campania con la Legge Regionale del 20 gennaio 2017 n. 5 “*Interventi per favorire la coltura della canapa (Cannabis sativa L.) e le relative filiere produttive*”

“Progetto per la Rivalutazione Olistica della canapa oltre il PIL”

Acronimo: PROHEMPIL

Progetto PROHEMPIIL

Progetto per la Rivalutazione Olistica della canapa oltre il PIL

Enti di ricerca e personale che hanno partecipato alle attività del progetto:

CREA - **Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria**

- ✓ Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali
Francesco Raimo, Luisa del Piano, Giovanni Scognamiglio, Tommaso Enotrio, Mariarosaria Sicignano, Antonio Mosè, Marianna Miraglia

- ✓ Centro di Ricerca Politiche e Bioeconomia
Raffaella Pergamo

CNR - Consiglio Nazionale delle Ricerche

- ✓ IBBR – Istituto di Bioscienze e Biorisorse - CNR
Anna Tedeschi
- ✓ ISAFOM – Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo- CNR
Luca Vitale, Vincenzo Aurilia
- ✓ ISA - **Istituto di Scienza dell’Alimentazione** - CNR
Maria Grazia Volpe
- ✓ ICPB – Istituto per i Polimeri, Compositi e Biomateriali - CNR
Barbara Immirzi, Mario Malinconico
- ✓ IRET – Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri - CNR
Francesco La Cara, Elena Ionata, Loredana Marcolongo

Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli” –

- ✓ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali Biologiche e Farmaceutiche (DISTABIF)
Severina Pacifico

Aziende agricole:

- CANAPIRPINA
- DON PEPPE GREEN
- HEMP FARM LAB
- GUARINO GENNARO
- AGRICOLA ZOOTECNICA CERINO DI CERINO PELLEGRINO

SOMMARIO

- Prefazione
- **WP 1: Prove di collaudo dell'innovazione varietale**
- WP 2: Analisi della performance economica della coltivazione della canapa in Campania per i diversi utilizzi e del mercato di riferimento con individuazione del mercato target
- WP 3: Agrotecnica sostenibile
- **WP 4: Comparazione di metodi alternativi per l'estrazione di olio di semi di canapa**
- WP 5: Valutazione degli effetti dell'ambiente e delle pratiche agronomiche ed **estrattive sulla qualità dell'olio di semi di canapa a destinazione alimentare**
- WP 6: Valorizzazione dei sottoprodotti provenienti dalle attività di campo e dalle attività di prima trasformazione
- WP 7: Trasferimento e divulgazione dei risultati e delle acquisizioni del progetto pilota
- Conclusioni generali

Progetto per la Rivalutazione Olistica della canapa oltre il PIL

Acronimo: PROHEMPIL

CUP B21118000290002

Prefazione

La canapa (*Cannabis sativa* L.), in Italia, in passato, era utilizzata prevalentemente come coltura da fibra, sia per la fabbricazione dei tessuti sia per il cordame. Il rilancio della coltura, quasi scomparsa **alla fine degli anni '60**, è iniziato in gran parte dei paesi europei alla fine del secolo scorso, anche se il boom della coltivazione si **è avuto solo nell'ultimo decennio**. Negli ultimi anni, in Italia, anche grazie alla Legge 2 dicembre 2016, n. 242 "*Disposizioni per la promozione della coltivazione e della filiera agroindustriale della canapa*", si è assistito ad un aumento delle superfici investite a canapa.

Attualmente, sia in Italia che nei restanti paesi europei, la canapa industriale viene utilizzata prevalentemente per la produzione della fibra e dei semi, da cui viene estratto **l'olio e la farina**; vengono prodotti, inoltre, materiali per il settore automobilistico e **l'edilizia**. Altra destinazione della canapa industriale è risultata essere la produzione di **infiorescenze per l'estrazione di diversi principi attivi**. Una recente indagine (Giupponi et al. 2020), ha messo in luce, **sul campione di aziende analizzate, che l'83%** delle aziende intervistate sono state create appositamente per la coltivazione della canapa. Le varietà più diffuse nelle aziende intervistate sono risultate: Fibranova, Futura 75, Kompolti, Uso 31, Finola, Carmagnola e Felina 32. Non è emersa una connessione diretta tra la scelta della varietà e il prodotto finale.

La Regione Campania per sostenere il rilancio di questa coltura, ha approvato la Legge 20 gennaio 2017, n. 5. "*Interventi per favorire la coltura della canapa (*Cannabis sativa* L.) e le relative filiere produttive*", con l'intento di **promuovere e favorire il ripristino della coltivazione della canapa industriale (*Cannabis sativa* L.) sul territorio regionale quale coltura da reddito per i diversi impieghi dei suoi derivati, nonché quale specie vegetale in grado di ridurre l'impatto ambientale in agricoltura, attraverso il finanziamento di progetti pilota**.

In applicazione della LR n. 5/2017 la Giunta Regionale ha approvato gli indirizzi operativi per la realizzazione e presentazione dei progetti pilota per favorire la coltura della canapa (*Cannabis sativa*) e le relative filiere produttive (DGR n. 759 del 5.12.2017).

Origine del progetto pilota PROHEMPIL

L'Assessorato all'Agricoltura della Regione Campania (D. G. per le politiche agricole alimentari e forestali) ha approvato, in attuazione della DGR 759/2017, l'avviso pubblico per la presentazione dei progetti pilota. (DRD n° 232 del 29.12.2017 BURC n.1 del 2 gennaio 2018) a seguito del quale è stato approvato il "Progetto per la rivalutazione olistica della canapa oltre il PIL" ([PROHEMPIL](#)) che ha coinvolto tre istituzioni di ricerca:

- Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria;

- il Consiglio Nazionale delle Ricerche con diversi Istituti:
 - ISAFOM - Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo-CNR;
 - IBBR – Istituto di Bioscienze e Biorisorse - CNR;
 - IBAF - Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (oggi IRET -Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri) - CNR;
 - ISA – **Istituto di Scienze dell’Alimentazione** - CNR;
 - IPCB - Istituto per i Polimeri, Compositi e Biomateriali - CNR;
- **l’Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli”** – Unicampania (DISTABiF)

per la realizzazione di attività multidisciplinari, condotte in campo e in laboratorio, su varietà di canapa industriale ammesse alla coltivazione (ossia iscritte al Registro europeo delle varietà).

Nel progetto sono state coinvolte 5 aziende agricole, riportate nella tabella seguente:

Azienda	Referente	Località prova
DON PEPPE GREEN	Gaetano Cortese	S. Angelo in Formis (CE)
HEMP FARM LAB	Valentina Capone	Acerra (NA)
Az.Agricola Zootecnica CERINO di Cerino Pellegrino	Pellegrino Cerino	Montecorvino Rovella (SA)
CANAPIRPINA SRL	Antonio Prospero	Volturara Irpina (AV)
GUARINO GENNARO	Gennaro Guarino	Recale CE)

Il coordinamento scientifico delle attività è stato svolto dal CREA-Centro di Ricerca Cerealcoltura e Colture Industriali sede operativa di Caserta

Obiettivi del progetto pilota PROHEMPIL

In questo progetto pilota il partenariato, mediante un approccio di ricerca multidisciplinare, si è posto come obiettivo principale la creazione di una filiera locale dinamica, attraverso la valutazione e la promozione di strategie alternative per la produzione di alimenti con alto valore aggiunto a base di canapa, per il recupero e riciclo di scarti di lavorazione, per applicazioni in campo nutraceutico e/o cosmeceutico e in quello di biomateriali.

Il progetto pilota PROHEMPIL ha cercato di rispondere ai principali aspetti produttivi, economici e ambientali della coltivazione e trasformazione della canapa nel territorio **regionale campano, attraverso l’attuazione di una serie di interventi** finalizzati alla realizzazione di una filiera largamente improntata allo sviluppo sostenibile e pienamente capace di sfruttare gli innumerevoli vantaggi di questa coltura.

L’attività svolta e i risultati acquisiti vengono di seguito riportati per Work Package (WP).

Bibliografia

(Giupponi L., Leoni V., Carrer M., Cecilian G., Sala S., Panseri S., Pavlovic R., Giorgi A. (2020) - **“Overview on Italian hemp production chain, related productive and commercial activities and legislative framework”**. Italian Journal of Agronomy, volume 15:1552)

Relazione Progetto PROHEMPI L – CREA

WP1- CREA-CI Laboratorio di Caserta

Dr. Francesco Raimo

Obiettivi

Nel WP1 gli obiettivi erano relativi a **prove di collaudo dell'innovazione varietale**. Sono state testate varietà monoiche e dioiche di canapa industriale, iscritte nel registro nazionale o nel catalogo comune europeo, in cinque areali campani. Le attività di campo sono state impostate dal CREA, dal CNR – ISAFOM (Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo) e CNR - IBBR (Istituto di Bioscienze e Biorisorse) per la parte irrigua e di concimazione (vedi WP3). Sono stati valutati i principali caratteri biometrici, la produttività in fibra e canapulo, determinata al momento della fioritura maschile, e la produzione di seme nei diversi areali di coltivazione.

Attività 2019

Le prove allestite nelle 5 aziende agricole partner del progetto sono state le seguenti:

- I) un confronto varietale: Felina 32, Futura 75 (varietà monoiche) e Carmagnola (dioica);
- II) una prova di concimazione azotata con 2 tesi (50 kg ha⁻¹ e 100 kg ha⁻¹ di azoto), utilizzando un concime a lenta cessione (Entec 46);
- III) una prova di irrigazione con 2 tesi irrigue: (1) solo irrigazione di soccorso e (2) Irrigazione con la **restituzione del 50% dell'acqua disponibile nello strato di terreno 0-60 cm**, presso le aziende Guarino (Recale, CE), Don Peppe Green (**Sant' Angelo** in Formis, CE) e Hemp Farm Lab (Acerra, NA). Presso le aziende Canapirpina (Vulturara Irpina, AV) e Cerino (Montecorvino Rovella, SA) era prevista solo irrigazione di soccorso.

Le prove sono state condotte adottando uno schema sperimentale a parcelle suddivise con 3 repliche, in cui le parcelle principali erano costituite dal livello irrigazione, le sub-parcelle dalle dosi di N e le parcelle elementari dalle varietà. Inoltre, per ciascuna varietà è stata allestita una parcella non concimata.

Sono stati effettuati rilievi biometrici e ponderali, al momento della fioritura maschile per la produzione in fibra grezza e a fine ciclo per la produzione in seme. Per quanto riguarda il primo rilievo, su campioni di piante di ciascuna parcella è stata **registrata l'altezza, il diametro**

basale, centrale e la biomassa fresca in foglie e fusto; è stato quindi recisa una bacchetta di 50 cm a livello del terzo mediano del fusto e separata in corteccia e canapulo. Per tutti i parametri ponderali è stato effettuato il campionamento per la determinazione del peso secco. Per quanto riguarda la produzione di biomassa a fine ciclo, la resa in seme e il numero di piante presenti **all'epoca del** rilievo sono state raccolte e lavorate le piante presenti **in un'area di saggio** di 2 m² per parcella. I campioni sono stati posti in stufa a 65 °C per 48 h e quindi registrati i dati ponderali. Le infruttescenze raccolte sono state poste su bancali, sotto tunnel ricoperto con film plastico, e periodicamente rivoltate per favorirne **l'essiccazione**.

Sono state effettuate le operazioni di pulizia e sgranatura delle infruttescenze delle piante, relative alle aree di saggio raccolte, per la valutazione della produzione in seme.

Nel 2019 l'attività di campo è stata realizzata in collaborazione con il CNR- ISAFOM.

In tabella 1/19 vengono riportate le aziende con le rispettive località che hanno ospitato le prove.

Le attività svolte e i risultati ottenuti saranno riportate per singola azienda interessata alle prove.

Tabella 1/19 – Aziende e località che hanno ospitato le prove nell'anno 2019

Azienda	Referente progetto	Località prova
DON PEPPE GREEN	Gaetano Cortese	S. Angelo in Formis (CE)
HEMP FARM LAB	Valentina Capone	Acerra (NA)
Az. Agricola Zootecnica CERINO di Cerino Pellegrino	Pellegrino Cerino	Montecorvino Rovella (SA)
CANAPIRPINA SRL	Antonio Prospero	Volturara Irpina (AV)
GUARINO GENNARO	Gennaro Guarino	Recale (CE)
CREA-CI Lab. Di Caserta	Francesco Raimo	Caserta (CE)

Prima della semina si è proceduto a prelevare campioni di terreno per determinare le principali caratteristiche fisico-chimiche dei terreni dove sono state allestite le prove. Il **campionamento è stato effettuato in più punti dell'area destinata ad ospitare la canapa e a due profondità 0-30 cm e 30-60 cm** (Tab. 2/19 e 3/19).

Nella tabella 2/19 e 3 /19 vengono riportate rispettivamente le principali caratteristiche granulometriche dei terreni (secondo la classificazione USDA) ed i parametri fisico-chimici determinati sulla terra fine dei suoli delle diverse aziende, **secondo i "Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo"**.

Presso l'azienda Don Pepe Green il suolo era caratterizzato dall'assenza di scheletro, con tessitura franca, pH neutro, povero di calcare, poco dotato di azoto e ricco in fosforo.

Per quanto riguarda l'azienda Hemp Farm il suolo era caratterizzato da una tessitura franco-sabbiosa- argillosa, con pH subalcalino, povero di calcare e una buona dotazione in azoto e fosforo.

Il terreno messo a disposizione dall'azienda Cerino presentava una tessitura argillosa, ricco di calcare e un pH tendente all'alcalinità, con una buona dotazione in fosforo assimilabile e basso contenuto in azoto totale.

Presso l'azienda Canapirpina, sita a Volturara Irpina, il suolo era caratterizzato da una tessitura franco-sabbiosa, basso contenuto in calcare totale e fosforo assimilabile, con un buon contenuto di azoto totale.

Il terreno utilizzato per la prova a Recale presentava una tessitura franca, con un pH neutro, povero di calcare totale, ricco in fosforo assimilabile e un discreto contenuto in azoto.

Il suolo dell'azienda del CREA di Caserta era caratterizzato da tessitura franco-limoso con un pH neutro, ben dotato di fosforo e azoto totale.

Tabella 2/19 - Caratteristiche granulometriche dei suoli

Azienda	Profondità		Scheletro	Argilla	Sabbia	Limo
	cm					
Don Pepe Green (CE)	0-30		11	180	419	400
	30-60		7	214	440	346
Hemp Farm Lab (NA)	0-30		-	225	500	275
	30-60		-	275	475	250
Cerino (SA)	0-30		29	416	305	279
	30-60		27	463	322	215
Canapirpina (AV)	0-30		<5	128	551	321
	30-60		<5	132	575	293
Guarino Gennaro (CE)	0-30		<5	144	390	466
	30-60		<5	177	338	485
CREA-CI Caserta	0-30		-	135	365	500
	30-60		-	146	353	501

Tabella 3/19 - Principali caratteristiche fisico-chimiche dei terreni

Azienda	Profondità (cm)	pH*	C.E.** μS/cm	CaCO ₃ Tot. g/kg	C-Org. g/kg	P.**** mg/kg	N totale g/kg	N-NO ₃ mg/kg	N-NH ₃ mg/kg
Don Peppe Green (CE)	0-30	6,8	116,3	2,0	14,7	48,7	1,0	44,0	3,5
	30-60	7,0	77,1	<1	17,8	42,3	0,9	30,0	2,0
Hemp Farm Lab (NA)	0-30	8,1	-	3,1	17,2	29,7	1,8	3,1	-
	30-60	8,3	-	3,3	17,0	28,2	1,8	1,0	-
Cerino (SA)	0-30	8,3	282,5	327	18,7	58,9	1,1	30,9	6,9
	30-60	8,3	299,4	364	20,0	40,1	1,0	39,3	4,5
Canapirpina (AV)	0-30	7,1	284,2	1,0	17,9	8,3	1,9	113,0	1,0
	30-60	8,1	195,8	6,0	11,8	10,0	1,2	71,0	<1
Guarino Gennaro (CE)	0-30	6,9	218,5	<1	12,4	72,0	1,3	104,0	3,0
	30-60	7,2	166,7	<1	10,8	53,7	1,1	89,0	1,0
CREA-CI Caserta	0-30	7,8	136,0	61,0	19,7	39,0	2,4	-	-
	30-60	7,8	148,0	53,0	18,3	35,9	2,1	-	-

* pH: in acqua; **C.E. = Conducibilità elettrica, rapporto 1:2 suolo/acqua; ***P = fosforo assimilabile (metodo Olsen)

Azienda: DON PEPPE GREEN –
Località: S. Angelo in Formis

Informazioni agronomiche sulla prova

- ✓ Data semina: 30 aprile 2019
- ✓ Modalità di semina: seminatrice manuale
- ✓ Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm, seminando 16 file per parcella.

- ✓ RISEMINA 30 maggio 2019
- ✓ Modalità di semina: seminatrice meccanica da grano
- ✓ Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm

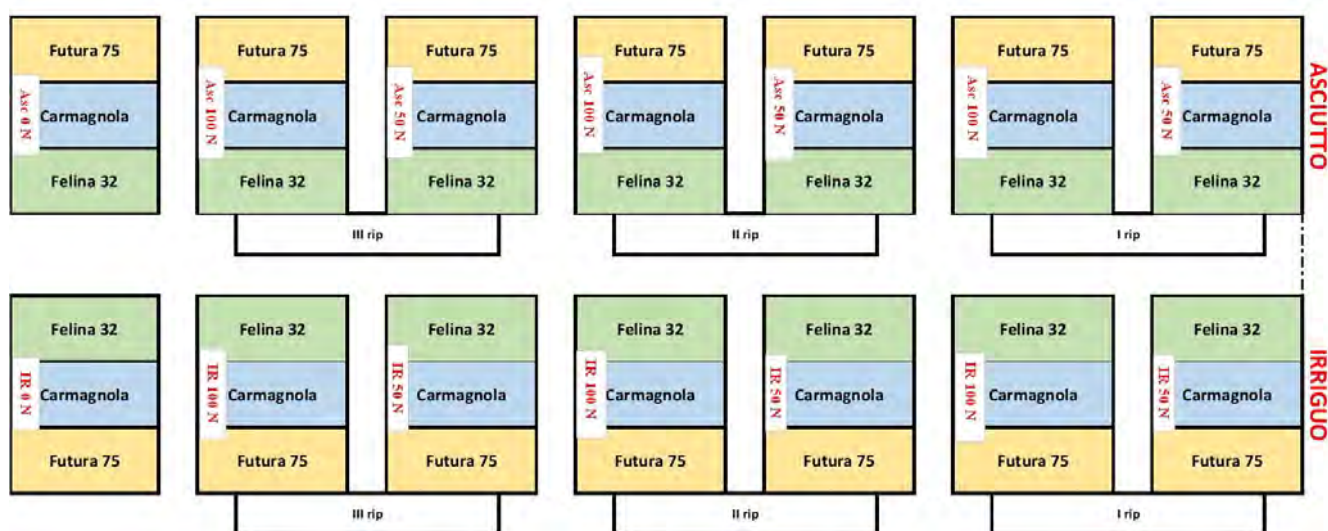
Purtroppo, nonostante siano state fatte due semine non è stato possibile portare a termine la prova, **in quanto successivamente alle semine vi è stata l'asportazione** di una buona parte dei semi da parte di formiche e volatili. Successivamente vi è stata un notevole sviluppo di piante infestanti, in particolare: *Xanthium*, *Convolvulus*, *Portulaca oleracea*, *Solanum nigrum*, *Cyperus* e *Chenopodium*. Inoltre, le piante di canapa sono state colpite da patogeni tellurici, in particolare *Athelia (Sclerotium) rolfsii*, che ha causato un disseccamento rapido di molte di esse. Tutto questo ha comportato una riduzione della densità di piante utili per i rilievi (meno di 10 piante m²) e **l'impossibilità a poter accedere in alcune parti del campo** a causa dello sviluppo delle infestanti.

Azienda: HEMP FARM LAB SRL
Località: Acerra (NA)

Informazioni agronomiche sulla prova

- ✓ Data semina: 29 aprile 2019
- ✓ Modalità di semina: seminatrice meccanica da grano
- ✓ Sesto impianto: distanza tra le file 25 cm
- ✓ Concimazione: 23 Maggio 2019
- ✓ Impostazione della prova: A) due livelli irrigui; B) due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 42 parcelle.

Planimetria del campo di Acerra



Risultati

Durante il periodo di coltivazione, in 3 momenti diversi del ciclo, **è stata rilevata l'altezza** delle piante. Nella tabella 4/19 sono riportati i dati dell'**interazione cultivar x data x livello irriguo**. Nel rilievo del 4 luglio, la Carmagnola ha mostrato valori medi di altezza maggiori, statisticamente significativi rispetto alle altre due varietà ed è inoltre risultata significativa la differenza tra le due tesi irrigue, analogamente a Futura, ma a differenza di Felina.

Tab. 4/19 - Altezza delle piante (cm), rilevata in 3 momenti del ciclo.

ANOVA significativa per l'interazione cultivar x data x livello irriguo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,01$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Duncan.

Elaborazione statistica a cura della dr.ssa Anna Tedeschi

Cultivar	31-mag		26-giu		04-lug	
	ASC	IRR	ASC	IRR	ASC	IRR
Felina	32 f	29.5 f	255 e	261 de	261 de	266 cd
Carmagnola	27.5 f	27.5 f	267 cd	275 c	294 b	313 a
Futura	29.0 f	30.0 f	261 de	266 cd	267 cd	292 b

Per quanto riguarda i principali parametri osservati nel rilievo intermedio alla raccolta a fibra (Tab. 5/19), si può osservare la bassa densità di piante presenti in campo, che ha influenzato sia lo sviluppo delle piante che la produttività. Sono emerse differenze significative tra le varietà, mentre non si sono evidenziate differenze tra le tesi irrigue e i 2 livelli di concimazione sui principali parametri produttivi (Tab. 5/19). Le parcelle non concimate (Tab. 6/19) hanno usufruito della fertilità residua presente nel terreno consentendo un discreto sviluppo delle piante.

Tab. 5/19 - Dati produttivi per corteccia (fibra grezza) e per seme (ss = sostanza secca).

ANOVA significativa per le cultivar. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,01$ quando lettere minuscole e per $P \leq 0,05$ quando lettere maiuscole. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Duncan.

Elaborazione statistica a cura della dr.ssa Anna Tedeschi

	Dose di Azoto kg ha ⁻¹		Tesi Irrigua		Cultivar		
	N ₅₀	N ₁₀₀	IRR	ASC	Felina	Carmagnola	Futura
Piante n° m ⁻²	18.9	17.6	18.0	18.4	22.9 a	15.4 b	16.3 b
Biomassa ss t ha ⁻¹	8.10	8.23	8.35	7.98	8.31	7.81	8.37
Steli ss t ha ⁻¹	6.41	6.44	6.61	6.33	6.66	6.26	6.49
Resa in corteccia %	31.3	29.3	30.4	30.3	31.7 a	27.8 b	32.2 a
Corteccia t ha ⁻¹	2.06	1.90	2.03	1.93	2.14 A	1.70 B	2.10 A
Semi per pt	5.25	4.20	4.58	5.16	3.60	4.14	6.27
produttiva g pt ⁻¹	5.25	4.20	4.58	5.16	3.60	4.14	6.27
Seme kg ha ⁻¹	600	635	646	589	635 ab	442 b	776 a

Tab. 6/19 – Principali dati produttivi rilevati nelle parcelle testimoni non concimate.
Elaborazione a cura della dr.ssa Anna Tedeschi

	Tesi Irrigua		Cultivar		
	IRR	ASC	Felina	Carmagnola	Futura
Piante n° m ⁻²	16.7	18.0	21.8	17.3	17.3
Biomassa ss t ha ⁻¹	6.8	6.7	6.19	8.07	6.75
Steli ss t ha ⁻¹	5.65	5.15	5.15	6.21	5.40
Resa in corteccia %	29.8	30.6	31.3	26.8	30.2
Corteccia t ha ⁻¹	1.69	1.55	1.63	1.67	1.62

Azienda Agricola Zootecnica: CERINO di CERINO PELLEGRINO –
Località: Montecorvino Rovella (SA)

Informazioni agronomiche sulla prova

Data semina: 20 giugno 2019

Modalità di semina: manuale

Impostazione della prova: solo livello irriguo di soccorso con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 21 parcelle.

A causa delle elevate temperature e di problemi nella realizzazione degli interventi irrigui la germinazione del seme è stata molto scarsa. Per cui le piantine di canapa presenti in tutto il campo erano ridotte a poche decine di esemplari. Di conseguenza le infestanti hanno preso il sopravvento sulle piantine emerse, soffocandole, per cui non è stato possibile proseguire la prova.

Azienda: CANAPIRPI NA SRL
Località: Volturara Irpina (AV)

Informazioni agronomiche sulla prova

Data semina: 30 aprile – 7 maggio 2019
Modalità di semina: semina manuale
Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm, seminando 16 file per parcella.
Concimazione: 7 giugno 2019

Impostazione della prova: A) solo livello irriguo di soccorso; B) con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 21 parcelle.

Poiché l'irrigazione di soccorso non è stata effettuata in maniera uniforme e tale da soddisfare i fabbisogni idrici della coltura, ne è derivata una bassa densità delle piantine emerse in alcune parcelle, una disformità di crescita e una notevole presenza di erbe infestanti, per tali motivi i dati raccolti devono intendersi solo indicativi.

Al momento del primo rilievo, è stato possibile effettuare rilievi solo sulle varietà Carmagnola e Felina e sulle tesi N50 e N100. La densità media delle piante era di 34 piante m⁻² in Carmagnola e di 27 piante m⁻² in Felina. I dati raccolti hanno evidenziato un maggiore sviluppo della varietà Carmagnola, con conseguente maggiore produzione di biomassa, anche le parcelle concimate con la dose maggiore di azoto hanno fornito una maggiore dimensione delle piante e di biomassa (Tab. 7/19).

Tab. 7/19 - Altezza media, diametro piante e produzione di biomassa rilevati il 07 agosto 2019 sulle varietà di canapa raccolte a Volturara Irpina (AV). I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per P ≤ 0,05. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza pianta cm		Diametro centrale mm		Biomassa Fresca t ha ⁻¹		Biomassa Secca t ha ⁻¹	
Varietà								
Carmagnola	152,3	<i>a</i>	4,9	<i>a</i>	10,1	<i>a</i>	3,2	<i>a</i>
Felina	105,7	<i>b</i>	4,1	<i>b</i>	5,6	<i>b</i>	1,8	<i>b</i>
Livello concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	131,5	<i>ns</i>	4,6	<i>ns</i>	7,3	<i>ns</i>	2,4	<i>ns</i>
N100	126,5		4,8		8,5		2,6	

Anche la produzione in fibra grezza e canapulo è risultata superiore nella varietà Carmagnola e nelle tesi concimate con 100 unità di azoto (Tab. 8/19).

Tab. 8/19 - Produzione espressa come sostanza secca di fibra grezza e canapulo per pianta e resa percentuale della Fibra sul fusto, rilevati in data 7 agosto 2019. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Fibra g pianta ⁻¹	Canapulo g pianta ⁻¹	Fibra / Steli %		
Varietà					
Carmagnola	2,4	<i>a</i>	3,4	<i>a</i>	32,1
Felina 32	1,6	<i>b</i>	4,9	<i>b</i>	31,8
Livello concimazione (N kg ha⁻¹)					
N50	2,0	<i>ns</i>	4,2	<i>ns</i>	32,6
N100	2,0		4,2		31,2

A fine ciclo è stato possibile effettuare i rilievi solo sulla varietà Carmagnola, che ha mostrato maggiore sviluppo e maggiore resa nelle tesi con maggiore dose di azoto. La produzione in seme è risultata estremamente bassa (Tab. 9/19).

Tab. 9/19 - Altezza media delle piante, resa in seme e produzione biomassa, registrati sulla varietà Carmagnola raccolta a Volturara Irpina (AV) il 18/10/2019. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza pianta cm	Resa in seme kg ha ⁻¹	Biomassa Fresca t ha ⁻¹	Biomassa Secca t ha ⁻¹				
Varietà								
Carmagnola	163,3	58,5	13,0	5,2				
Livello concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	153,3	<i>ns</i>	48,0	<i>ns</i>	10,7	<i>a</i>	4,3	<i>ns</i>
N100	173,3		69,0		15,3	<i>b</i>	6,1	

Dai rilievi effettuati è risultato evidente che comunque le piante di Carmagnola e Felina ottenute a Volturara Irpina hanno avuto uno sviluppo inferiore rispetto a quelle allevate in provincia di Napoli e Caserta.

Azienda: GUARINO GENNARO

Località: Recale (CE)

Informazioni agronomiche sulla prova

Data semina: 1 maggio 2019

Modalità di semina: seminatrice meccanica da grano

Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm, seminando 16 file per parcella.

Concimazione: 5 giugno 2019

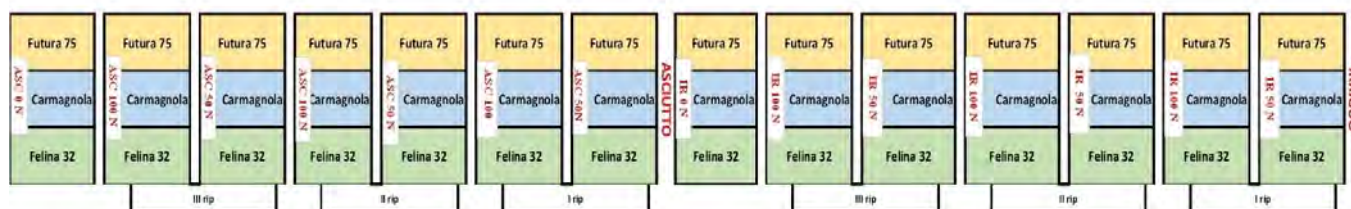
I rilievo: 17 luglio

II rilievo: Felina: 12 agosto; Futura: 18 agosto; Carmagnola: 25 agosto

Schema sperimentale: sono stati realizzati due parcelloni suddivisi in base al livello irriguo, **all'interno di ogni parcellone erano presenti due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 42 parcelle.**

La densità media delle piante al primo rilievo era di 32 piante m⁻² in Carmagnola, di 43 piante m⁻² in Felina e di 41 piante m⁻² in Futura.

Planimetria campo di Recale



I dati ottenuti in occasione del primo rilievo hanno evidenziato che la varietà Carmagnola il 17 luglio aveva raggiunto una altezza media di 318 cm, mentre la varietà Felina è risultata la meno alta delle tre con circa 250 cm di altezza, le piante allevate nella tesi irrigua e quelle con il livello di concimazione più elevato si sono differenziate in maniera significativa rispetto a quelle allevate nella tesi meno irrigata e con minore concimazione azotata (Tab. 10/19 e 11/19). La produzione in biomassa non si è differenziata significativamente tra le diverse varietà, mentre le tesi con maggior apporto idrico e maggiore dose di azoto hanno prodotto una maggiore quantità di biomassa (Tab. 10/19 e 11/19).

Tab. 10/19 - Altezza, diametro piante e produzione di biomassa rilevati a luglio 2019 sulle varietà di canapa raccolte a Recale. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza pianta		Diametro centrale		Biomassa Fresca		Biomassa Secca	
	cm		mm		t ha ⁻¹		t ha ⁻¹	
Varietà								
Carmagnola	318,2	<i>a</i>	8,9	<i>a</i>	39,6	<i>ns</i>	12,7	<i>ns</i>
Felina 32	249,9	<i>c</i>	7,8	<i>b</i>	37,3		13,9	
Futura 75	279,5	<i>b</i>	8,0	<i>b</i>	40,6		15,0	
Irrigazione								
Asciutto	273,0	<i>b</i>	8,0	<i>b</i>	35,5	<i>b</i>	12,4	<i>b</i>
Irriguo	292,0	<i>a</i>	8,5	<i>a</i>	42,8	<i>a</i>	15,3	<i>a</i>
Concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	277,1	<i>a</i>	8,0	<i>a</i>	35,4	<i>a</i>	12,8	<i>ns</i>
N100	288,0	<i>b</i>	8,5	<i>b</i>	42,9	<i>b</i>	14,8	

Tab. 11/19 - Valori medi relativi all'altezza e diametro delle piante e produzione di biomassa rilevati a luglio 2019 a Recale sulle parcelle non concimate.

Variabile	Altezza pianta	Diametro centrale	Biomassa Fresca	Biomassa Secca
	cm	mm	t ha ⁻¹	t ha ⁻¹
Carmagnola	306,5	8,2	26,0	9,3
Felina 32	214,3	6,8	17,0	6,9
Futura 75	266,3	7,3	27,3	11,1

Anche la produzione in fibra grezza e canapulo non si è differenziata significativamente tra le tre varietà, mentre le piante che hanno ricevuto un maggior apporto idrico e nutritivo hanno tendenzialmente prodotto di più (Tab. 12/19 e 13/19).

Tab. 12/19 - Produzione in Fibra grezza e Canapulo rilevati sulle varietà di canapa raccolte a Recale (luglio 2019). I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Fibra grezza Canapulo		Fibra grezza Canapulo					
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)					
Varietà								
Carmagnola	11,7	<i>ns</i>	21,9	<i>ns</i>	3,0	b	7,8	<i>ns</i>
Felina	11,1		22,6		3,5	ab	9,2	
Futura	13,5		22,4		4,2	a	9,3	
Irrigazione								
Asciutto	10,8	b	20,3	b	3,1	b	4,2	<i>ns</i>
Irriguo	13,4	a	24,3	a	4,1	a	5,2	
Concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	11,1	<i>ns</i>	19,8	b	3,4	<i>ns</i>	4,0	b
N100	13,1		24,8	a	3,8		5,5	a

Tab. 13/19 - Produzione in Fibra grezza e Canapulo rilevati sulle varietà di canapa raccolte a Recale sulle parcelle non concimate (luglio 2019)

Variabile	Fibra grezza Canapulo		Fibra grezza Canapulo					
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)					
Varietà								
Carmagnola	10,9		17,7		3,0		6,4	
Felina	6,1		12,8		1,9		5,0	
Futura	11,6		18,9		4,0		7,2	
Irrigazione								
Asciutto	8,0		13,7		2,5		5,1	
Irriguo	10,7		18,8		3,3		7,1	

Al rilievo finale la densità delle piante si era notevolmente ridotta, infatti era di 20 piante m⁻² in Carmagnola, di 23 piante m⁻² in Felina e di 29 piante m⁻² in Futura. Questo particolare ha influenzato sia la produzione in seme che la biomassa prodotta. La resa in seme e la produzione di biomassa sono risultate più elevate in Futura 75 e nelle parcelle che hanno beneficiato del maggiore apporto idrico e azotato (Tab. 14/19 e 15/19).

Tab. 14/19 – Altezza media delle piante, resa in seme e biomassa rilevati a fine ciclo.
I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$.
Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza pianta cm	Seme kg ha ⁻¹	Biomassa Fresca t ha ⁻¹	Biomassa Secca t ha ⁻¹
Varietà				
Carmagnola	354,0 <i>a</i>	200,2 <i>b</i>	37,2 <i>b</i>	14,6 <i>b</i>
Felina 32	261,9 <i>c</i>	134,3 <i>c</i>	26,3 <i>c</i>	14,2 <i>b</i>
Futura 75	312,7 <i>b</i>	294,3 <i>a</i>	46,4 <i>a</i>	21,0 <i>a</i>
Irrigazione				
Asc	305,5 <i>b</i>	200,9 <i>ns</i>	32,4 <i>b</i>	14,7 <i>b</i>
Irrig	313,6 <i>a</i>	218,3	40,9 <i>a</i>	18,5 <i>a</i>
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N50	294,4 <i>a</i>	193,2 <i>ns</i>	31,6 <i>a</i>	13,7 <i>a</i>
N100	324,7 <i>b</i>	226,0	41,6 <i>b</i>	19,6 <i>b</i>

Tab. 15/19 - Valori medi relativi all'altezza delle piante, produzione in seme e biomassa rilevati a fine ciclo sulle parcelle non concimate

Variabile	Altezza pianta cm	Seme kg ha ⁻¹	Biomassa Fresca t ha ⁻¹	Biomassa Secca t ha ⁻¹
Carmagnola	319,0	60,9	27,1	10,8
Felina 32	233,2	90,0	12,5	5,6
Futura 75	280,8	63,1	29,5	13,4

Nelle foto da 1 a 9 vengono riportate le principali fasi fenologiche rilevate nel campo di Recale durante il ciclo culturale.

Foto 1 - Semina realizzata con seminatrice da grano il 1° maggio 2019, panoramica del campo (A) e particolare della seminatrice utilizzata (B).



Foto 2 - Emergenza plantule dopo 9 giorni dalla semina (10 maggio 2019).

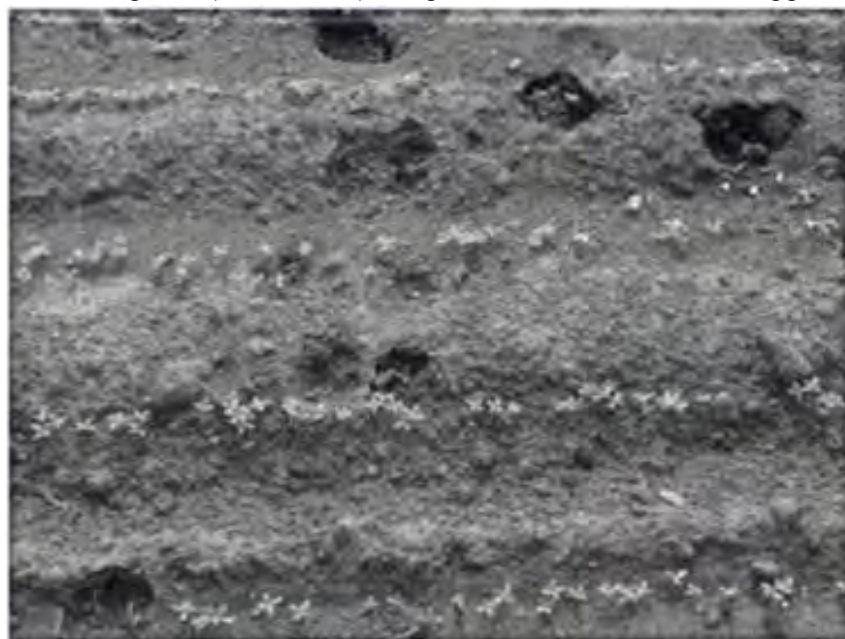


Foto 3 – Stato della coltivazione dopo 13 giorni dalla semina (14 maggio 2019), panoramica del campo (A e B) particolare delle piantine (C)

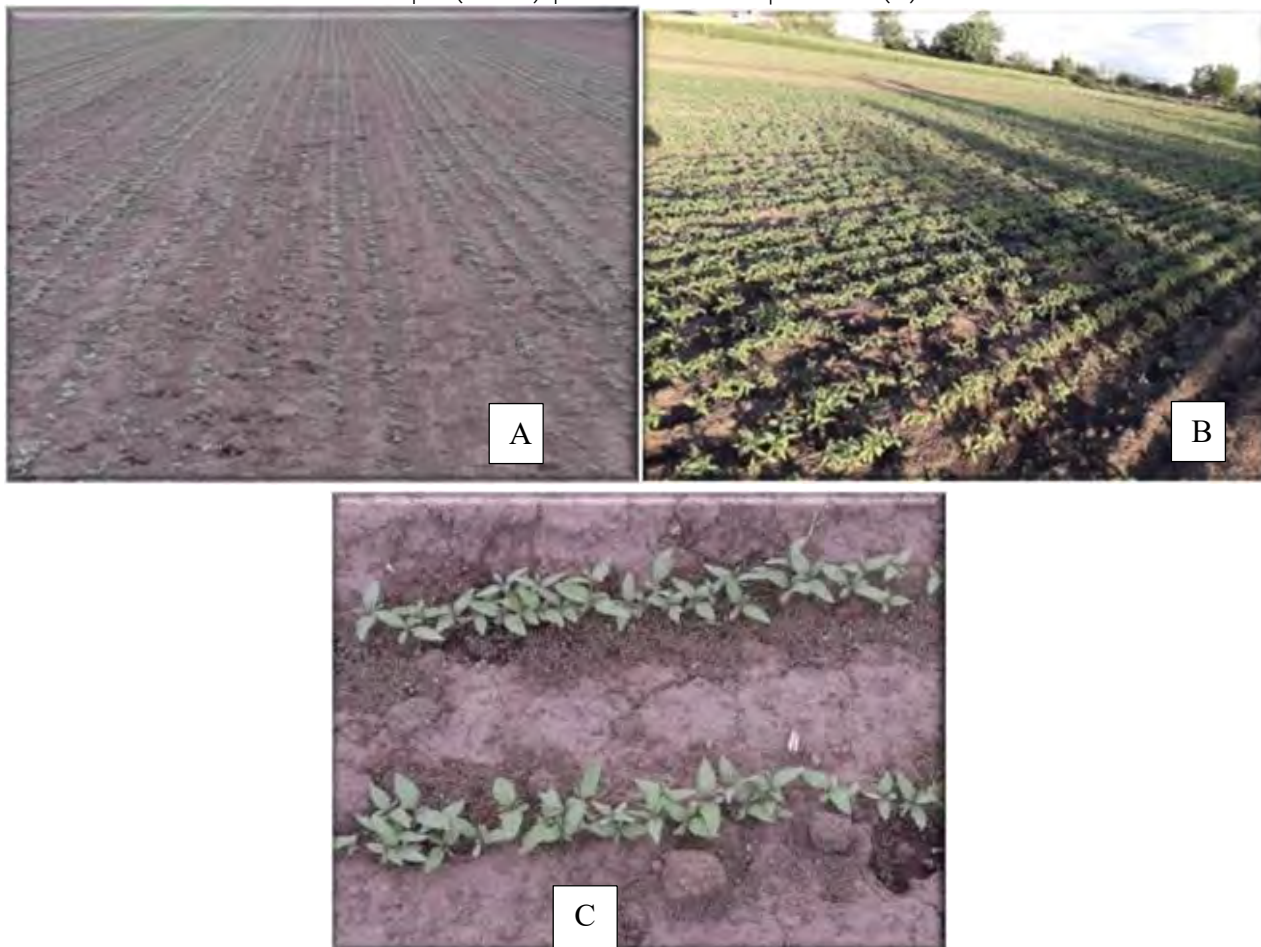


Foto 4 – Panoramica del campo dopo 18 giorni dalla semina (19 maggio 2019)



Foto 4 – Stadio fenologico delle piantine il 21 maggio, dopo 20 giorni dalla semina (A), particolare (B)



Foto 5 – Stadio fenologico delle piantine dopo 28 giorni dalla semina (29 maggio), panoramica campo (A), particolare delle piantine (B)



Foto 6 – Stadio fenologico delle piantine dopo 35 giorni dalla semina (5 giugno 2019), panoramica campo (A), particolare delle piantine (B)

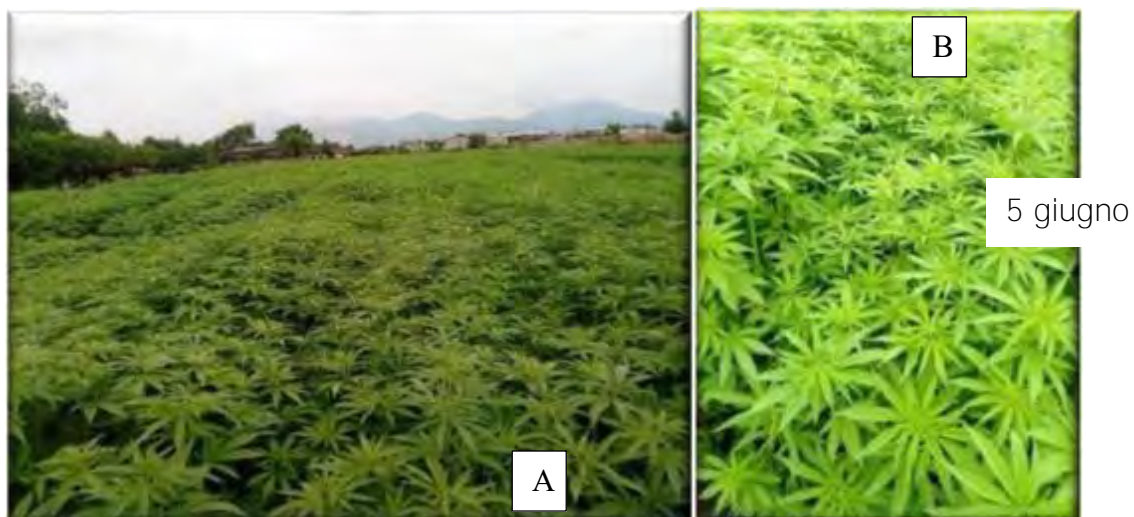


Foto 7 – Inizio formazione infiorescenza nella var. Carmagnola, dopo 75 giorni dalla semina (15 luglio 2019), panoramica campo (A), particolare dei fusti di canapa (B)



Foto 8 – Stadio fenologico delle piante dopo 92 giorni dalla semina (1° agosto 2019), panoramica piante (A), particolare dei fusti (B) e particolare infiorescenza (C)

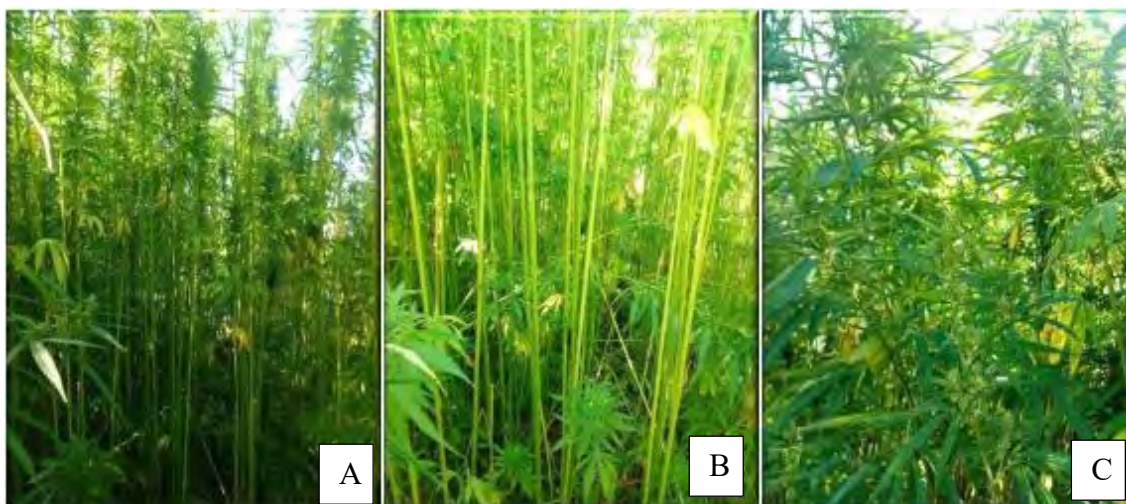


Foto 9 – Fase fenologica di formazione del seme (A) dopo 120 giorni dalla semina (29 agosto) e maturazione del seme in Carmagnola (B) dopo 134 giorni dalla semina (12 settembre 2019).



Azienda: CREA – Centro di Cerealicoltura e Colture Industriali –
Laboratorio di Caserta.

In considerazione del fatto *Eletta Campana* è coltivata da secoli in Italia ed in particolare in Campania, province di Napoli e Caserta, si è pensato di inserire anche queste varietà tra quelle in prova nel progetto. Poiché la semente che siamo riusciti a reperire era seme di pre-base è stato necessario coltivarla presso la sede del CREA di Caserta; pertanto, la prova è stata ripetuta anche nel 2021 con le dosi di concimazioni azotate previste nel progetto (50 e 100 kg ha⁻¹) e ha consentito di avere dati sulle caratteristiche biometriche, produttive e sulle principali avversità.

La semina è stata effettuata il 24 maggio 2019, utilizzando una seminatrice meccanica, con distanza tra le file di 25 cm. La quantità di seme utilizzata era pari a 35 kg ha⁻¹.

Data concimazione copertura: 1 luglio 2019.

Due livelli di concimazione:

- 50 kg ha⁻¹ di azoto (N50); che
- 100 kg ha⁻¹ di azoto (N100).

Sono riportati i dati relativi alla raccolta a Fibra in quanto la coltura in seguito ad un forte attacco di *Athelia (Sclerotium) rolfsii*, è stata completamente distrutta.

La densità media era di 37 piante m⁻².

I dati rilevati, sia biometrici che produttivi, non si sono differenziati significativamente, in quanto il terreno presentava una buona dotazione in elementi nutritivi, per cui le piante non hanno usufruito della maggiore dose di azoto.

Il 9 agosto le piante avevano raggiunto un'altezza di circa 2,0 m, con una produzione di biomassa fresca di circa 23,7 t ha⁻¹ (Tab. 16/19). La produzione in fibra grezza e canapulo, alla raccolta, si è attestata sulle 6,0 e 12 t ha⁻¹ (tab. 17/19)

Tab. 16/19 - Dati biometrici e produttivi relativi al rilievo effettuato il 9 agosto 2019 a Caserta (Media ± Er. St.)

Variabile	Altezza pianta cm	Er. st.	Diametro centrale mm	Biomassa Fresca t ha⁻¹	Er. st	Biomassa Secca t ha⁻¹	Er. st
Varietà							
Eletta C.	196,9	5,7	6,6 0,2	23,7	2,1	8,4	0,8
Concimazione (N kg ha⁻¹)							
N50	187,8	6,8	6,4 0,3	22,7	2,7	8,2	1,0
N100	209,5	8,9	6,9 0,3	25,7	3,3	8,7	1,3

ANOVA non significativa

Tab. 17/19 – Produzione in fibra grezza e canapulo il 9 agosto 2019 a Caserta
(Media \pm Er. St.)

Variabile	Fibra grezza		Canapulo		Fibra grezza		Canapulo	
	Peso fresco (t ha ⁻¹)				Peso secco (t ha ⁻¹)			
Eletta C.	6,0	0,5	12,2	1,0	1,7	0,2	2,2	0,2
Livello di concimazione								
N50	5,9	0,6	12,0	1,3	1,7	0,2	2,2	0,2
N100	6,2	0,8	12,6	1,7	1,8	0,3	2,2	0,3

ANOVA non significativa

Anno: 2020

Nel 2020 a causa dell'emergenza COVID-19 non è stato possibile effettuare il secondo anno delle attività di campo

Anno: 2021:

Nell'anno 2021 sia l'azienda Hemp Farm Lab che l'azienda agricola zootecnica CERINO di Cerino Pellegrino hanno comunicato l'esigenza di dover effettuare le prove per l'anno 2021 in appezzamenti diversi da quelli utilizzati precedentemente, in particolare:

La società agricola Hemp Farm Lab ha comunicato che nell'appezzamento utilizzato per le prove nell'anno 2019 si era verificato un problema al pozzo, e non essendo possibile risolvere il problema in tempo utile per l'effettuazione delle prove previste per l'anno 2021 è risultato necessario eseguire la prova in un altro sito aziendale (Afragola-NA). Per quanto riguarda il piano sperimentale, da realizzare in questa azienda, prevedeva 2 tesi Irrigue, denominate Irriguo ed Asciutto, rispettivamente con ripristino dei consumi misurati e con ripristino del 50% dei consumi, combinate con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹ di azoto) e 3 cultivar delle quali 2 monoiche (Felina 32 e Futura 75) ed una dioica (Carmagnola);

L' Azienda agricola zootecnica CERINO di Cerino Pellegrino ha fatto presente la necessità di sostituire l'appezzamento di terreno individuato precedentemente nel progetto PROHEMPIL per la coltivazione della canapa, in quanto nelle immediate adiacenze era già presente una coltivazione sperimentale di Cannabis a THC non noto, autorizzata dal Ministero della Salute. Inoltre, al fine di acquisire ulteriori dati su varietà di canapa destinate alla produzione di fibra e/o seme, sono stati effettuati rilievi su tre varietà di canapa, Feline e Futura e Carmaleonte allevate presso le aziende D'Amore e Lamberti, site rispettivamente nei comuni di Frignano (CE) e Succivo (CE).

Nella tabella 1/21 vengono riportate le aziende che hanno partecipato alle prove nell'anno 2021.

Tabella 1/21 – Aziende e località che hanno ospitato le prove nell'anno 2021

Azienda	Località della prova
Don Peppe Green	S. Angelo in Formis (CE)
Hemp Farm Lab	Afragola (NA)
Cerino	Montecorvino Rovella (SA)
CREA	Caserta
D'Amore	Frignano (CE)
Lamberti	Succivo (CE)

Poiché nell'anno 2021 sono cambiati i campi che hanno ospitato le prove delle aziende Cerino (Montecorvino Rovella, SA) e Hemp Farm Lab (Afragola, NA), è stato necessario rifare le

analisi dei terreni. Nella tabella 2/21 viene riportata l'analisi granulometrica sulla terra fine dei terreni delle due aziende partner, mentre nella tabella 3/21 viene riportata l'analisi fisico-chimica dei terreni sia delle due aziende partner che delle aziende D'Amore e Lamberti nei nuovi campi sede delle prove.

Il terreno dell'azienda Cerino che ha ospitato la prova nell'anno 2021 era caratterizzato dalla presenza di scheletro e da una tessitura Franco-sabbiosa, con un pH subalcalino, con un contenuto medio-basso di azoto totale e un buon contenuto degli altri macroelementi.

Per quanto riguarda il terreno dell'azienda Hemp Farm Lab, sito ad Afragola, presentava una tessitura Franco-limoso, con pH neutro, con un contenuto medio-basso di azoto totale, mentre il contenuto di P, K e Mg era abbastanza elevato.

Anche i terreni siti a Frignano e Succivo presentavano una discreta fertilità, con contenuto in Azoto totale medio e un buon contenuto degli altri macroelementi.

Tab. 2/21 - Analisi granulometrica dei terreni delle aziende Cerino ed Hemp Farm Lab che hanno ospitato le prove nel 2021

Azienda	Profondità cm	Argilla ($< 2 \mu\text{m}$) g/kg	Limo fine (2-20 μm) g/kg	Limo grosso (20-50 μm) g/kg	Sabbia (50-200 μ) g/kg	Sabbia ($> 200 \mu\text{m}$) g/kg
Cerino (SA)	0-30	113	201	147	210	328
	30-60	111	173	103	215	397
HempFarm (NA)	0-30	153	318	268	157	104
	30-60	154	269	278	139	160

Tab. 3/21 - Analisi fisico-chimica dei terreni che hanno ospitato le prove nel 2021

Azienda	Prof. (cm)	pH H ₂ O (1:2,5)	C.E. 1 a 5 $\mu\text{S/cm}$	C-Org. g/kg	N tot g/kg	P mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Na mg/kg
Cerino (SA)	0-30	8,2	0,144	14,8	1,5	89	199	3681	370	202
	30-60	8,2	0,117	8,8	0,9	47	264	2990	260	58
Hemp Farm (NA)	0-30	6,7	0,089	14,2	1,3	85	260	3538	360	57
	30-60	7,1	0,070	11,1	1,0	39	289	3835	404	250
Frignano	0-30	7,3	0,115	10,9	1,1	55	1008	2256	239	161
	30-60	7,3	0,093	10,7	1,0	53	960	2221	243	158
Succivo	0-30	8,3	0,196	9,2	1,0	57	943	2627	198	155

* pH: in acqua; **C.E. = Conducibilità elettrica, rapporto 1:2 suolo/acqua; ***P = fosforo assimilabile (metodo Olsen)

Nell'anno 2021 la semina è avvenuta in ritardo rispetto all'epoca programmata, in quanto il seme della varietà Carmagnola, acquistato nell'anno 2020, presentava una bassissima germinabilità, per cui si è reso necessario l'acquisto di nuovo seme, che ci è stato consegnato solo alla fine della seconda decade di maggio 2021.

Nelle aziende partner anche nel 2021 sono state seminate le tre varietà del 2019 (Carmagnola, Felina e Futura).

Sono stati effettuati rilievi biometrici e ponderali, al momento della fioritura maschile per la produzione in fibra grezza e a fine ciclo per la produzione in seme. Per quanto il primo rilievo, su campioni di piante di ciascuna **parcella è stata registrata l'altezza, il diametro basale, centrale e la biomassa fresca in foglie fusto e cime**; è stato quindi recisa una bacchetta di 50 cm a livello del terzo mediano del fusto e separato in corteccia e canapulo. Per tutti i parametri ponderali è stato effettuato il campionamento per la determinazione del peso secco. Per quanto riguarda la produzione di biomassa a fine ciclo, la resa in seme e il numero di piante presenti **all'epoca del** rilievo sono state raccolte e lavorate le piante presenti **in un'area di saggio di 2 m²** per parcella. I campioni sono stati posti in stufa a 65 °C per 48 h e quindi registrati i dati ponderali. Le infruttescenze raccolte sono state poste su bancali, sotto tunnel ricoperto con film plastico, e periodicamente rivoltate per favorirne **l'essiccazione.**

Sono state effettuate le operazioni di pulizia e sgranatura delle infruttescenze delle piante, relative alle aree di saggio raccolte, per la valutazione della produzione in seme.

Azienda: Don Peppe Green

Località: S. Angelo in Formis (CE)

Informazioni agronomiche sulla prova

Data semina: 24 maggio 2021
Concimazione pre-semina: 60 kg ha⁻¹ di P₂O₅
Modalità di semina: seminatrice manuale monofila
Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm
File per parcella n°: 16
Concimazione copertura: 1 luglio 2021
I rilievo: III decade luglio – I decade agosto
II rilievo: Felina e Futura: 10 settembre; Carmagnola: 20 settembre.

Sono stati realizzati due parcelloni suddivisi in base al livello irriguo, all'interno di ogni parcellone erano presenti due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 42 parcelle.

Da segnalare che anche nel 2021 per alcune parcelle, le piante sono state infettate dal patogeno fungino *Athelia (Sclerotium) rolfsii*. Le parcelle non concimate che si trovavano **nell'area di maggiore incidenza del fungo sono tra quelle quasi particolarmente** danneggiate, per cui non è stato possibile fare i rilievi.

Il rilievo per la determinazione della fibra grezza e del canapulo su Felina e Futura è stato effettuato il 26 luglio, mentre su Carmagnola il 5 agosto. Per quanto riguarda i dati biometrici (Tab. 4/21), la varietà Carmagnola ha presentato piante di maggior altezza e sviluppo, seguita da Futura e Felina. Per quanto riguarda gli altri fattori, la tesi Irrigua vs Asciutto e quella N100 vs N50 hanno consentito uno sviluppo significativamente maggiore alle piante. La densità media determinata nel primo rilievo è risultata essere di circa 40 piante m²

La produzione di fibra grezza e canapulo è risultata significativamente più elevata nella varietà Carmagnola e nella tesi N100, mentre pur essendo più elevata nel regime Irriguo non ha mostrato differenze significative con le tesi coltivate in asciutto (Tab. 5/21).

Tabella 4/21 – Dati biometrici e peso foglie e fusti defogliati e cimati rilevati a Sant’ Angelo in Formis nel I rilievo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Foglie	Foglie		Altezza (cm)	Diametro Basale (mm)	Fusto		
	n°	P.Fresco (g/pianta)	P.Secco			P.Fresco (g/pianta)	P.Secco	
Varietà								
Carmagnola	16,7 a	16,6 a	4,9 a	258,3 a	11,6 a	66,0 a	28,4 a	
Felina	13,7 b	6,6 c	2,1 c	150,3 c	6,9 c	22,3 c	8,1 c	
Futura	17,6 a	13,7 b	3,8 b	196,7 b	9,5 b	43,2 b	14,9 b	
Irrigazione								
Asciutto	15,0 b	10,7 ns	3,2 ns	186,4 b	8,8 ns	38,5 ns	15,2 ns	
Irriguo	16,5 a	13,1	3,8	212,3 a	9,5	47,2	18,6	
Concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	14,9 b	10,1 b	3,0 b	190,3 b	8,4 b	37,4 b	14,7 b	
N100	16,6 a	13,8 a	4,1 a	209,3 a	9,9 a	48,9 a	19,4 a	

Tabella 5/21 – Produzione in fibra grezza e canapulo rilevati a Sant’ Angelo in Formis nel I rilievo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Fibra grezza		Canapulo	
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)	
Varietà				
Carmagnola	8,7 a	17,4 a	3,2 a	8,1 a
Felina	3,1 c	5,8 c	1,0 c	2,2 c
Futura	6,2 b	10,9 b	1,9 b	4,0 b
Irrigazione				
Asciutto	5,3 ns	9,9 ns	1,8 ns	4,2 ns
Irriguo	6,5	12,2	2,2	5,2
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N50	5,2 b	9,6 b	1,7 b	4,0 b
N100	6,6 a	12,9 a	2,3 a	5,5 a

Il rilievo finale è stato effettuato nella I decade di settembre per Felina e Futura e nella II decade di settembre per Carmagnola. Su Carmagnola i rilievi biometrici sono stati effettuati sulle piante femminili. Anche nel rilievo finale le piante più sviluppate sono state quelle della varietà Carmagnola, mentre le piante della varietà Felina sono risultate meno sviluppate fra le tre. Il regime irriguo e la tesi fertilizzata con 100 unità di azoto hanno fornito piante di

maggiore sviluppo (Tab. 6/21), la produzione in biomassa totale ha ricalcato lo sviluppo delle piante (Tab. 7/21).

I dati relativi alla produzione in seme non sono riportati in quanto le infiorescenze sono state danneggiate in maniera consistente, soprattutto a causa di alcune specie di insetti, per cui hanno fornito una produzione insignificante.

Tabella 6/21 – Dati biometrici e peso foglie e fusti defogliati e cimati rilevati a Sant' Angelo in Formis nel II rilievo.

I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$.

Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza (cm)	Diametro		Fusto	
		Basale (mm)	Centrale (mm)	P.Fresco (g/pianta)	P.Secco
Varietà					
Carmagnola	266,5 a	14,0 a	10,8 a	109,0 a	52,3 a
Felina	164,4 c	8,0 c	6,3 c	24,3 c	11,2 c
Futura	197,3 b	9,4 b	7,3 b	40,1 b	18,8 b
Irrigazione					
Asciutto	197,1 b	9,8 b	7,6 b	47,9 b	23,0 b
Irriguo	215,3 a	10,7 a	8,4 a	62,0 a	29,1 a
Concimazione (N kg ha⁻¹)					
N50	192,1 b	9,5 b	7,5 b	45,4 b	20,4 b
N100	219,1 a	11,0 a	8,5 a	63,7 a	31,3 a

Tabella 7/21 – S. Angelo in Formis. Biomassa totale fresca e secca nel rilievo intermedio e in quello finale. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Biomassa I rilievo		Biomassa II rilievo	
	P. Fresco (t ha ⁻¹)	P. Secco (t ha ⁻¹)	P. Fresco (t ha ⁻¹)	P. Secco (t ha ⁻¹)
Varietà				
Carmagnola	34,9 A	13,8 A	66,7 A	29,1 a
Felina	15,3 c	5,1 c	19,9 c	8,3 c
Futura	29,8 b	9,4 b	30,8 b	12,3 b
Irrigazione				
Asciutto	23,7 ns	8,4 ns	30,8 b	13,4 b
Irriguo	27,8	10,0	43,1 a	18,4 a
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N50	23,0 b	8,1 b	31,1 b	12,8 b
N100	28,8 a	10,4 a	42,1 a	18,7 a

Azienda: Hemp Farm Lab

Località: Afragola (NA)

Informazioni agronomiche sulla prova

Concimazione pre-semina: 60 kg ha⁻¹ di P₂O₅
 Data semina: 25 maggio 2021
 Modalità di semina: seminatrice meccanica da grano
 Sesto impianto: distanza tra le file di 25 cm
 File per parcella n°: 16

Sono stati realizzati due parcelloni suddivisi in base al livello irriguo, all'interno di ogni parcellone erano presenti due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte e un controllo non concimato per ogni varietà, per un totale di 42 parcelle.

Prova non proseguita per mancata emergenza delle piante.

Azienda: Agricola Zootecnica Cerino Pellegrino

Località: Montecorvino Rovella (SA)

Informazioni agronomiche sulla prova

Concimazione pre-semina:	60 kg ha ⁻¹ di P ₂ O ₅
Data semina:	16 luglio 2021
Modalità di semina:	seminatrice meccanica
Concimazione copertura:	18 agosto con Entec 46

Impostazione della prova: solo livello irriguo di soccorso con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte mentre le tesi non concimate erano replicate 2 volte per varietà, per un totale di 24 parcelle.

La semina presso l'azienda Cerino è stata effettuata con notevole ritardo rispetto all'epoca ottimale, per problemi legati alla gestione aziendale. Purtroppo, l'andamento climatico siccitoso ha reso necessario ricorrere a 3 irrigazioni, effettuate a pioggia con rotolone.

A causa del ritardo nella semina le piante si sono sviluppate di meno e ovviamente hanno dato produzioni inferiori rispetto al trapianto in epoca normale, comunque hanno completato il ciclo produttivo, consentendoci di effettuare rilievi biometrici e produttivi (fibra grezza, canapulo e seme). La densità media delle piante è risultata essere di 56 piante m⁻² in Carmagnola; 81 piante m⁻² in Felina e 73 m⁻² in Futura.

Il primo rilievo è stato effettuato il 26 agosto nella fase fenologica di fioritura maschile; le piante della varietà Carmagnola si presentavano più sviluppate rispetto alle altre 2 varietà, così come anche le piante coltivate nelle parcelle concimate con 100 kg ha⁻¹ di azoto rispetto a N50 (Tab. 8/21).

Tabella 8/21 – Dati biometrici e peso foglie e fusti defogliati e cimati rilevati a Montecorvino Rovella nel I rilievo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Foglie	Foglie		Altezza	Diametro Basale	Fusto		
	(n°)	P.Fresco	P.Secco			P.Fresco	P.Secco	
		(g/pianta)		(mm)	(cm)	(g/pianta)		
Varietà								
Carmagnola	12,6 b	5,3 a	1,2 a	102,4 a	5,1 a	12,9 a	2,9 a	
Felina	13,8 a	4,3 b	0,8 b	82,0 c	3,8 b	7,8 c	1,7 c	
Futura	14,5 a	4,7 ab	1,1 a	89,0 b	4,6 a	10,0 b	2,3 b	
Concimazione (N kg ha⁻¹)								
N0	10,6 b	2,2 b	0,5 b	70,5 c	3,2 c	4,0 c	1,3 b	
N50	14,6 a	5,2 a	1,1 a	94,1 b	4,7 b	11,1 b	2,4 a	
N100	15,0 a	5,8 a	1,3 a	101,2 a	5,1 a	13,4 a	2,8 a	

La produzione in fibra grezza e canapulo non si è differenziata significativamente tra le 3 varietà, mentre la maggiore produttività è stata raggiunta nelle parcelle concimate con 100 kg ha⁻¹ di azoto (Tab. 9/21).

Tabella 9/21 – Produzione in fibra grezza e canapulo rilevati a Montecorvino Rovella. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Fibra grezza		Canapulo	
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)	
Varietà				
Carmagnola	2,2	ns	5,1	ns
Felina	1,9		4,4	
Futura	2,3		5,0	
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N0	0,8 b		1,9 c	
N50	2,4 a		5,2 b	
N100	2,8 a		6,5 a	

Il rilievo finale effettuato il 4 ottobre su Felina e Futura e l'11 ottobre ha evidenziato uno sviluppo superiore nelle piante della varietà Carmagnola, mentre meno sviluppate sono risultate le piante della varietà Felina; anche in questo rilievo le piante presenti nella tesi fertilizzata con 100 unità di azoto sono risultate significativamente più sviluppate rispetto a N50 ed N0 (Tab. 10/21).

Tabella 10/21 – Dati biometrici e peso fusti cimati rilevati a Montecorvino Rovella nel rilievo finale. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Altezza	Diametro		Fusto	
	(cm)	Basale (mm)	Centrale (mm)	P.Fresco (g/pianta)	P.Secco (g/pianta)
Varietà					
Carmagnola	118,5 a	7,4 a	6,2 a	15,0 a	5,7 a
Felina	86,8 c	4,4 c	3,7 c	6,3 b	2,9 b
Futura	97,8 b	5,3 b	4,3 b	6,2 b	2,9 b
Concimazione (N kg ha⁻¹)					
N0	85,3 c	4,5 c	3,9 c	5,9 c	2,4 c
N50	101,2 b	5,7 b	4,6 b	9,2 b	3,8 b
N100	109,6 a	6,4 a	5,2 a	10,7 a	4,5 a

La biomassa totale nel primo rilievo è stata significativamente inferiore nella varietà Felina rispetto a Futura, mentre nel rilievo finale è risultata più elevata nella varietà Carmagnola. Per entrambi i rilievi valori maggiori, statisticamente significativi, sono stati osservati alla concimazione N100 (Tab. 11/21).

Tabella 11/21 – Montecorvino Rovella. Biomassa totale fresca e secca nel rilievo intermedio e in quello finale. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Biomassa I rilievo		Biomassa II rilievo	
	P. Fresco (t ha ⁻¹)	P. Secco (t ha ⁻¹)	P. Fresco (t ha ⁻¹)	P. Secco (t ha ⁻¹)
Varietà				
Carmagnola	10,2 ab	2,3 ab	17,3 a	6,7 a
Felina	9,4 b	2,1 b	10,9 b	5,2 b
Futura	10,8 a	2,5 a	10,5 b	5,3 b
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N0	4,0 c	1,2 b	8,7 c	3,8 b
N50	11,3 b	2,5 a	13,0 b	5,9 a
N100	13,3 a	2,8 a	15,2 a	6,8 a

La produzione in seme (Tab. 12/21) è risultata bassa per tutte le varietà, con valori minori per la varietà Felina; Valori medi maggiori di resa in seme sono stati osservati alla per la concimazione con 100 unità di azoto.

Tabella 12/21 –Produzione di seme ottenuta a Montecorvino Rovella.
I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$.
Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Peso (kg ha ⁻¹)
Varietà	
Carmagnola	139,8 a
Felina	118,3 b
Futura	145,9 a
Concimazione (N kg ha⁻¹)	
N0	67,7 c
N50	139,5 b
N100	174,6 a

Aziende:

D'Amore Francesco - Località: Frignano (CE)
Lamberti - Località: Succivo (CE)

Informazioni agronomiche sulle prove

Data semina: III decade di aprile 2021
Modalità semina: seminatrice pneumatica
Concimazione copertura: 17 giugno 2021
I rilievo: I decade di luglio
II rilievo: I decade di agosto

Nella tabella 13/21 vengono riportate le varietà e la densità media delle piante presenti nelle due località.

Tabella 13/21 – Varietà e densità media delle piante presenti nelle località di Frignano e Succivo

Varietà	Densità media Piante m ⁻²
Carmaleonte	46
Felina	82
Futura	72

Impostazione della prova: solo livello irriguo di soccorso con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati. **Durante il ciclo a causa dell'andamento stagionale** particolarmente caldo e siccitoso si sono rese necessarie 2 irrigazioni di soccorso effettuate con rotolone.

Nel rilievo effettuato nella I decade di luglio le tre varietà non hanno manifestato grosse **differenze per quanto riguarda l'altezza massima raggiunta, mentre la varietà Carmaleonte** ha evidenziato un maggior peso delle piante, mentre non sono state registrate differenze significative tra i 2 livelli di concimazione azotata (Tab. 14/21).

Tabella 14/21 – Dati biometrici, peso foglie e fusti defogliati e cimati rilevati nelle località di Frignano e Succivo nel I rilievo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Foglie (n°)	Foglie		Altezza (cm)	Diametro		Fusto	
		P. Fresco (g/pianta)	P. Secco		Basale (mm)	Centrale (mm)	P. Fresco (g/pianta)	P. Secco
Località								
Frignano	16,7 a	4,0 b	1,2 b	137,9 ns	6,4 b	5,5 ns	13,6 b	4,3 b
Succivo	14,0 b	10,3 a	3,1 a	146,9	7,4 a	6,1	26,2 a	8,8 a
Varietà								
Carmaleonte	14,9 b	11,2 a	3,2 a	146,0 ns	8,0 a	5,9 ns	28,9 a	9,2 a
Felina	16,3 a	6,9 b	2,1 b	139,0	6,8 b	6,1	18,8 b	6,5 b
Futura	14,0 b	5,6 b	1,8 b	145,0	6,2 c	5,3	16,1 b	5,4 b
Concimazione (N kg ha⁻¹)								
N50	15,1 ns	8,1 ns	2,4 ns	139,4 ns	6,9 ns	5,9 ns	21,4 ns	6,9 ns
N100	15,1	7,6	2,3	147,1	7,1	5,6	21,0	7,2

La produzione in fibra grezza e canapulo (Tab. 15/21) è risultata maggiore nella varietà Felina, anche a causa della maggiore densità delle piante, mentre Futura e Carmaleonte sono risultate meno produttive, mentre non sono state registrate differenze significative tra i 2 livelli di concimazione azotata.

Tabella 15/21 - Produzione in fibra grezza e canapulo rilevati a Frignano e Succivo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Fibra grezza		Canapulo	
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)	
Località				
Frignano	4,3 ns	8,5 a	1,3 ns	2,8 ns
Succivo	3,9	6,5 b	1,2	2,4
Varietà				
Carmaleonte	3,6 b	6,4 b	1,1 b	2,1 b
Felina	5,3 a	9,6 a	1,6 a	3,5 a
Futura	3,3 b	5,9 b	1,0 b	2,0 b
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N50	4,1 ns	7,2 ns	1,2 ns	2,5 ns
N100	4,0	7,4	1,3	2,6

A fine ciclo, la varietà Carmaleonte ha evidenziato piante di maggiori dimensioni che si sono differenziate significativamente rispetto a Felina e Futura (Tab. 16/21). Anche in questo caso, le piante ottenute nei 2 livelli di concimazione azotata non hanno mostrato grosse differenze significative (Tab. 16/21).

Tabella 16/21 – Dati biometrici, peso delle foglie e fusti defogliati e cimati rilevati nelle località di Frignano e Succivo nel rilievo finale (agosto 2021). I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Foglie (n°)	Foglie		Altezza (cm)	Diametro		Fusto		
		P. Fresco (g/pianta)	P. Secco (g/pianta)		Basale (mm)	Centrale (mm)	P. Fresco (g/pianta)	P. Secco (g/pianta)	
Località									
Frignano	6,2 b	2,5 b	0,7 b	155,0 b	8,2 b	6,8 b	26,4 b	10,2 b	
Succivo	11,9 a	7,2 a	2,3 a	168,5 a	8,7 a	7,5 a	39,0 a	14,2 a	
Varietà									
Carmaleonte	10,0 b	7,3 a	2,2 a	175,8 a	10,1 a	8,4 a	48,3 a	16,9 a	
Felina	7,1 c	3,5 c	1,2 c	151,1 c	7,6 b	6,7 b	26,2 b	10,2 b	
Futura	11,7 a	5,2 b	1,7 b	162,4 b	7,8 b	6,5 b	27,2 b	10,7 b	
Concimazione (N kg ha⁻¹)									
N50	9,0 b	5,3 ns	1,7 ns	160,2 n	8,5 ns	7,2 ns	33,9 ns	12,6 ns	
N100	10,3 a	5,3	1,6	165,9	8,5	7,1	34,0	12,6	

La produzione di biomassa nei due rilievi, al momento della fioritura maschile e della maturazione del seme e finale, ha messo in evidenza valori medi maggiori a Frignano rispetto a Succivo: Per quanto riguarda le varietà, per Futura sono stati evidenziati valori di biomassa minori per entrambi i rilievi. Non sono emerse differenze significative tra i due livelli di concimazione (Tab. 17/21).

Tabella 17/21 – Biomassa totale ottenuta nel rilievo intermedio e in quello finale a Frignano e Succivo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Primo rilievo		Secondo rilievo	
	Biomassa		Biomassa	
	P. Fresco (t/ha)	P. Secco (t/ha)	P. Fresco (t/ha)	P. Secco (t/ha)
Località				
Frignano	24,7 a	7,5 a	48,9 a	17,2 a
Succivo	18,2 b	5,9 b	32,3 b	11,3 b
Varietà				
Carmaleonte	17,7 b	5,3 b	43,7 a	15,6 a
Felina	29,3 a	9,3 a	40,3 a	13,6 a
Futura	15,2 b	4,9 b	32,8 b	11,8 b
Concimazione (N kg ha⁻¹)				
N50	20,8 ns	6,4 ns	39,6 ns	14,0 ns
N100	20,7	6,6	38,3	13,4

La produzione in seme si è attestata sui 200 kg ha⁻¹, non differenziandosi fra le due località, mentre è risultata più produttiva la varietà Carmaleonte e le tesi concimate con 100 unità di azoto (Tab. 18/21). Valori medi maggiori di resa in seme sono stati osservati per la concimazione con 100 unità di azoto.

Tabella 18/21 - Produzione in seme ottenuta nelle località di Frignano e Succivo. I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Variabile	Peso (kg ha ⁻¹)
Località	
Frignano	212,9 ns
Succivo	221,1
Varietà	
Carmaleonte	233,2 a
Felina	203,8 b
Futura	216,6 a
Concimazione (N kg ha⁻¹)	
N50	202,6 b
N100	233,1 a

L'attività realizzata nelle due aziende site nei comuni di Frignano e Succivo, ha permesso di ottenere ulteriori dati, sia per quanto riguarda lo sviluppo delle varietà che la produzione in fibra grezza e seme, sia sulle varietà Felina e Futura, che sulla varietà Carmaleonte.

Azienda: CREA -
Località: Caserta (CE)

Informazioni agronomiche sulla prova

Concimazione pre-semine: 60 kg ha⁻¹ di P₂O₅
Varietà: Eletta campana
Data semina: 27 maggio 2021
Modalità di semina: semina manuale, distanza tra le file 20 cm
Concimazione copertura: 6 luglio con Entec 21
Impostazione della prova: solo livello irriguo di soccorso con due livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg ha⁻¹), replicati 3 volte.

Nell'anno 2021 le piantine hanno presentato una buona emergenza, nonostante la presenza dei volatili abbia fatto registrare delle fallanze, e successivamente vi sia stata una discreta incidenza di *Athelia rolfsii*, per cui la densità media delle piante è risultata di circa 20 piante m⁻². Ciò associato a una buona fertilità residua del terreno, ha consentito alle piante di raggiungere un forte sviluppo vegetativo, come si può evincere dalle tabelle riportate. Al rilievo intermedio, compiuto il giorno 8 settembre 2021, in piena fioritura maschile, in media le piante presentavano circa 19 foglie, e le parcelle fertilizzate con 100 kg ha⁻¹ di azoto presentavano una altezza significativamente maggiore rispetto alle tesi N50, mentre il diametro basale pur essendo maggiore nella tesi N100 non si è differenziato significativamente dalla tesi N50 (Tab. 19/21).

Non sono state osservate differenze significative per quanto riguarda la biomassa. (Tab. 20/21).

Tabella 19/21 – Dati biometrici rilevati il giorno 8 agosto 2021 su Eletta campana a Caserta (ANOVA non significativa). I valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi per $P \leq 0,05$. Il confronto della separazione delle medie è stato eseguito con il test di Tukey.

Livello N	Foglie		Altezza totale		Diam. Basale	
	N°		cm		mm	
N50	20,0	ns	330,8	b	14,0	ns
N100	18,3		356,1	a	14,8	

Tabella 20/21 – Peso fresco e secco rilevati il giorno 8 agosto 2021 su Eletta campana a Caserta (ANOVA non significativa)

Livello N	Foglie		Fusto privato delle cime		Pianta		Biomassa totale	
	Fresco	Secco	Fresco	Secco	Fresco	Secco	Fresco	Secco
	g pianta ⁻¹		g pianta ⁻¹		g pianta ⁻¹		t ha ⁻¹	
N50	33,5	11,1	134,1	56,3	176,7	69,8	35,3	14,0
N100	32,4	10,7	146,5	61,5	195,3	76,6	39,1	15,3

La produzione in fibra grezza e canapulo pur essendo leggermente più elevata nella tesi N100, non si è differenziata significativamente fra le due tesi (Tab. 21/21).

Tabella 21/21 – Produzione in fibra grezza e canapulo rilevati a Caserta su Eletta Campana nell'anno 2021. (ANOVA non significativa)

Livello N	Fibra	Canapulo	Fibra	Canapulo
	Peso fresco (t ha ⁻¹)		Peso secco (t ha ⁻¹)	
N50	8,2	18,5	2,8	8,4
N100	8,7	20,1	2,9	9,4

Il rilievo effettuato a fine ciclo pur evidenziando che le piante presenti nella tesi maggiormente fertilizzata con azoto sono apparse più sviluppate non ha fatto emergere differenze statisticamente significative (Tab. 22/21)

Tabella 22/21 – Dati biometrici e ponderali rilevati il giorno 24 settembre 2021
su Eletta campana a Caserta (ANOVA non significativa)

Livello N	Altezza totale	Diam. Basale	Fusto privato delle cime		Biomassa totale	
	cm	mm	P.fresco	P.secco	P.fresco	P.secco
			g pianta ⁻¹		t ha ⁻¹	
N50	374,1	18,6	254,4	108,1	68,5	27,9
N100	381,3	19,1	260,6	125,2	69,9	31,2

Il campo sperimentale del CREA di Caserta, caratterizzato da una discreta fertilità, per il contenuto in sostanza organica e azoto, nel 2021 non ha consentito di differenziare, per la maggior parte delle variabili considerate, i due livelli di concimazione azotata. Inoltre, gli attacchi di insetti e di uccelli che hanno distrutto buona parte delle infiorescenze non hanno consentito di poter determinare la produzione in seme.

Principali Criticità rilevate durante il progetto

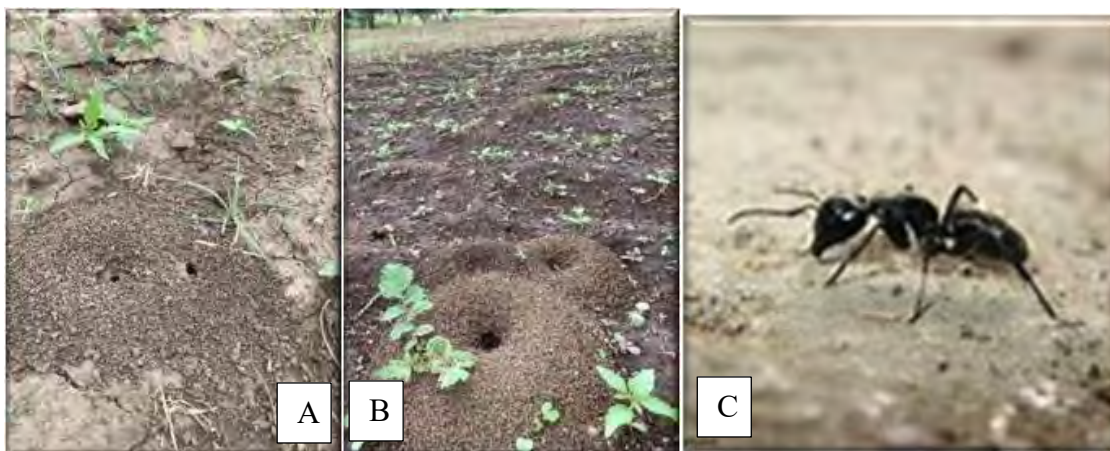
1. Seme

- **Ritardi nell'approvvigionamento del seme:** dovute a problemi legati alla certificazione della varietà Carmagnola;
- Rapida perdita di germinabilità del seme in alcune varietà (Carmagnola)

2. Asportazione semi da parte di formiche e uccelli –

Sia le formiche (Foto 10 (A – B – C)) che gli uccelli sono particolarmente ghiotti dei semi di canapa, che asportano in maniera consistente dal terreno, provocando grosse fallanze nelle coltivazioni. Nelle foto seguenti (A e B) è possibile notare i danni provocati nel 2019 a S. Angelo Formis (CE).

Foto 10 – Danni da formiche riscontrati nel 2019 sulla coltura a S. Angelo in Formis (CE)



3. Danni provocati dalle erbe infestanti.

Quando le infestanti prendono il sopravvento sulla coltivazione, per cause legate alla bassa densità delle piante e/o una maggiore crescita rispetto alla canapa, questa può essere soffocata. Un esempio **della gravità del danno provocato dall'eccessivo sviluppo delle piante infestanti**, risulta evidente dalle foto 11 A e 11 B, scattate a S. Angelo in Formis

Foto 11 – Panoramica di alcune parcelle di canapa in cui le erbe infestanti hanno preso il sopravvento (S. Angelo in Formis (CE).



4. Avversità fungine riscontrate sulla coltivazione

In alcuni casi gli attacchi dei funghi fitopatogeni hanno mostrato una incidenza talmente elevata che hanno determinato il fallimento della coltivazione (es. S. Angelo in Formis e Caserta nel 2019).

Di seguito si segnalano alcune specie fungine segnalate in diversi campi coltivati a canapa in Campania e le relative pubblicazioni.

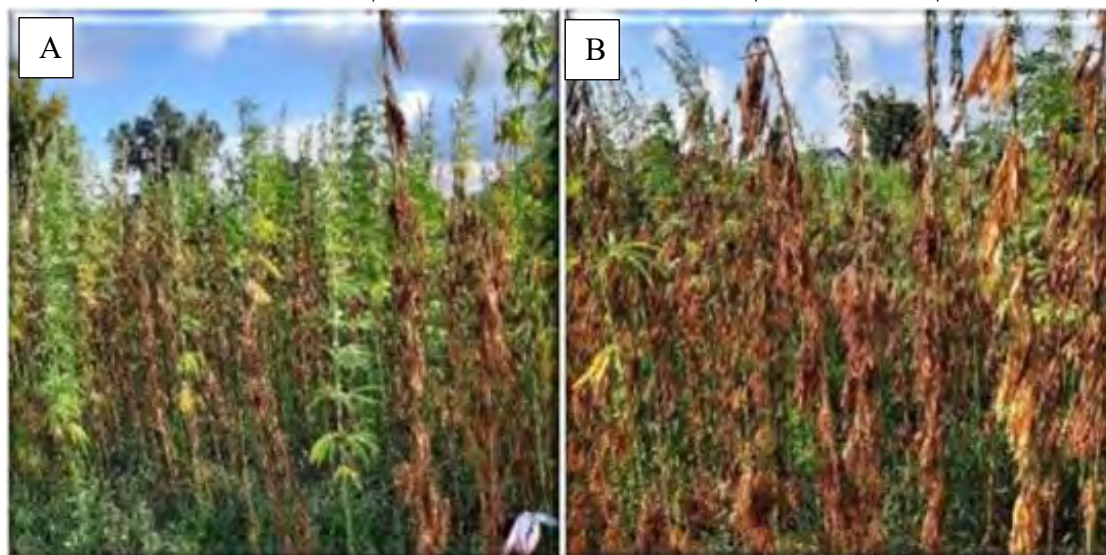
- *Fusarium solani* - segnalato da: Sorrentino R., Pergamo R., Battaglia V., Raimo F., Cermola M., Lahoz E. (2019) – **“Characterization and pathogenicity of *Fusarium solani* causing foot rot on hemp (*Cannabis sativa* L.) in Southern Italy”** Journal of Plant Diseases and Protection, volume 126,
- *Fusarium solani* e *Rosellinia necatrix* - segnalato da (Sorrentino R., Battaglia V., Piccirillo G., Raimo F., Sicignano M., Lahoz E. (2021) **“New soilborne pathogens of hemp in Campania region ”**, Journal of Plant Pathology.
- *Dematophora necatrix* - segnalato da: R. Sorrentino, G.M. Baldi, V. Battaglia, F. Raimo, G. Piccirillo and E. Lahoz (2021). **“First Report of White Root of Hemp (*Cannabis sativa*) caused by *Dematophora necatrix* in Campania region (Southern Italy)”**. Plant Disease, Vol. 105, n° 10.

Altri isolamenti hanno consentito di individuare come funghi patogeni su canapa sia il *Fusarium oxysporum* f.sp. *cannabis* e *Sclerotium rolfsii* (*Athelia rolfsii*) (Foto 12 e 13 A e B)

Foto 12 - Parte basale del fusto di canapa con evidenti segni del micelio fungino



Foto 13 - Danni provocati da *Athelia rolfsii* su piante di canapa



5. Danni da insetti

I principali danni provocati dagli insetti, rilevati negli anni 2019 e 2021, hanno riguardato:

- erosioni su foglie e fusti per la presenza di larve di lepidotteri. Sui fusti le erosioni provocavano indebolimento dei fusti con conseguente piegamento e/ o stroncamento delle piante;
- aborti fiorali, necrosi e danni ai semi causati in particolare da larve di lepidotteri e cimici (Foto 14 e 15). Tali attacchi hanno provocato, soprattutto a S. Angelo in Formis e presso il campo del CREA di Caserta, danni talmente gravi da compromettere la produzione del seme.

Foto 14 - *Nezara viridula* è tra gli insetti più frequentemente riscontrati sulle infiorescenze di canapa in Campania



Foto 15 - Danni provocati dalle cimici su infiorescenze di canapa (foto tratta **Whitney Cranshaw et al., *Journal of Integrated Pest Management*, (2019) 1-10**).



6. Difficoltà nella lotta alle avversità

Su canapa, per il controllo delle principali avversità animali e vegetali, al momento, sono registrate un ridottissimo numero di sostanze attive che non consentono il controllo, in maniera efficace, delle principali avversità che interessano la coltura.

Conclusioni

Le prove condotte durante i due anni di attività hanno permesso di acquisire informazioni, anche se indicative, sulle principali caratteristiche biometriche e produttive di alcune varietà di canapa industriale allevate in diversi ambienti della Regione Campania, sulla risposta di queste varietà a 2 livelli di concimazione azotata (50 e 100 kg di azoto ha⁻¹) e a 2 livelli di irrigazione, **restituzione del 50% dell'acqua disponibile nello strato 0-60 cm e restituzione solo del 25% dell'acqua disponibile nello strato 0-60 cm**).

Le varietà di canapa esaminate nelle aziende partner del progetto sono state Carmagnola, Felina 32 e Futura 75 e presso il CREA di Caserta è stata saggiata **l'Eletta Campana, varietà storicamente coltivata in Campania nei decenni precedenti**.

Nei diversi areali, le piante della varietà Carmagnola sono risultate più sviluppate mentre in linea generale le piante della varietà Felina 32 hanno presentato minore sviluppo e produttività.

Per quanto riguarda i 2 livelli di concimazione è emerso che le tesi che hanno usufruito del maggior apporto di concime azotato (100 kg ha⁻¹), hanno fornito piante più sviluppate con maggiore biomassa e produttività, tali differenze si sono meglio evidenziate nei terreni con minore fertilità residua.

I risultati del progetto hanno messo in evidenza che con le semine tardive risulta **indispensabile l'irrigazione e nel caso dei due regimi** irrigui testati si è avuto un maggiore sviluppo delle piante nelle tesi che hanno usufruito di un maggiore apporto irriguo.

Le prove condotte nei diversi areali della Regione Campania hanno permesso di rilevare diverse criticità, tra cui ricordiamo, la difficoltà **nell'approvvigionamento del seme, l'importanza della semina in epoca precoce**, le fallanze nella coltivazione (perdita della germinabilità e/o asportazione dei semi), i danni provocati dalle erbe infestanti e le avversità da patogeni fungini e da insetti, che possono compromettere la produttività della coltura.

Inoltre, va sottolineata la difficoltà nel controllo efficace delle avversità biotiche dovuta alla presenza di un ridottissimo numero di sostanze attive registrate.

Referente CREA del WP 1
Dr. Francesco Raimo



WP2 Analisi della performance economica della coltivazione della canapa in Campania per i diversi utilizzi e del mercato di riferimento con individuazione del mercato target

Introduzione

In Italia si è passati da circa 80.000 ettari coltivati a canapa nel 1910 a poco più di 4.000 ettari nel 2018, anno di punta dell'ultimo quinquennio, ma non sono stati conservati né germoplasma né la conoscenza delle tecniche agronomiche più efficienti. Il tutto è aggravato dall'applicazione del dpr 309/1990 che ha sottoposto la coltivazione della canapa all'applicazione della norma in materia di stupefacenti. Il ritorno, per così dire, alla "legalità" della canapa industriale è stato sancito dalla legge 2 dicembre 2016, n. 242, che ha permesso un timido sviluppo di questa coltura. A distanza di un anno, la Regione Campania con la legge 5/2017 è intervenuta per finanziare progetti pilota per lo sviluppo della coltura e delle filiere potenziali.

Il progetto pilota PROHEMPIL, finanziato con la legge 5/2017, punta agli aspetti produttivi e ambientali della coltivazione e trasformazione della canapa nel territorio regionale campano, attraverso l'attuazione di una serie di interventi che si pongono come intento ultimo la realizzazione di una filiera agro-industriale largamente improntata allo sviluppo sostenibile e pienamente capace di sfruttare gli innumerevoli vantaggi di questa coltura.

Il rinnovato quadro normativo, nazionale e regionale, consentendo la coltivazione della canapa in piena liceità, ha creato le condizioni per la promozione e l'innovazione di settore nel tessuto agro-industriale campano, già fortemente sensibilizzato. La crescente attenzione ed il continuo sguardo ad un passato ormai lontano, che ha visto la Campania tra le prime realtà produttrici di canapa ai fini industriali a livello mondiale, debbono però coniugarsi alle più moderne necessità e sfide per la sostenibilità del settore agricolo. In tale contesto, l'ottimizzazione dell'agrotecnica della canapa appare condizione prioritaria per accertare le varietà che hanno migliore capacità di adattamento negli areali campani e che meglio rispondono alle attuali richieste di utilizzo in campo alimentare ed industriale.

La creazione di una filiera locale dinamica e circolare è l'obiettivo di PROHEMPIL che, in un approccio di ricerca ampiamente multidisciplinare, partendo dal frutto della specie, valuterà e promuoverà strategie alternative per la produzione di alimenti con alto valore aggiunto a base di canapa ed il recupero, riciclo e riuso degli scarti di lavorazione e trasformazione per applicazioni in campo nutraceutico e/o cosmeceutico e in quello di biomateriali. PROHEMPIL si prefigge, in altre parole, di fungere da volano per la costituzione di una filiera alimentare sostenibile della canapa campana attraverso l'aggiornamento delle conoscenze agronomiche pratiche e teoriche nei diversi contesti pedo-climatici del territorio campano, conoscenze da proporre, attraverso azioni di informazione e di ricerca, per la costituzione della filiera della canapa da fibra che sia efficiente e competitiva a livello globale.

Valutazione della sperimentazione

In generale, la mancanza di seme italiano è un problema che rende difficile e costoso l'approvvigionamento. Nel caso in specie, il costo e la scarsa germinabilità, nonché lo sfasamento temporale delle prove, dovuto all'emergenza sanitaria hanno determinato un'incertezza relativa all'individuazione di varietà "migliori" per il territorio regionale. La canapa, in questa sperimentazione, si conferma una coltura molto esigente in fatto di terreno, privilegiando quello in ottime condizioni di abitabilità e di nutrizione contro quello argilloso, eccessivamente compatto e umido.

Mediamente i costi per ettaro di terreno coltivato a canapa si aggirano intorno ai 1000 ha (tabella 1) con una spesa di circa 300 euro per l'acquisto semi, per la lavorazione, concimazione e semina, e per l'imballaggio e lo stoccaggio delle rotoballe nonché circa 140 euro per l'essiccazione.

Tabella 1 - Costi di avvio della produzione di canapa

Operazioni	Costi
Acquisto semi	300
Lavorazione, concimazione e semina	300
Imballaggio e stoccaggio rotoballe	300
Essiccazione	100
Totale	1000

Fonte: nostre elaborazioni su dati parcellari

Per la fase produttiva, quindi, le problematiche della canapa sono riconducibili principalmente alla disformità di crescita e di maturazione e rese molto variabili rispetto alle attese che la fanno attestare come una coltura da rinnovo ma non competitiva, almeno per quelli che sono gli usi consentiti. Le ore lavorative della manodopera utilizzata sono circa di 6 ore a settimana per 4 mesi circa. Per la fase della meccanizzazione, tralasciando considerazioni sulla disponibilità di mezzi meccanici adeguati, si può affermare che questa è variabile in relazione al prodotto finito da ottenere e, quindi, meno complessa nel caso dell'ottenimento del seme e molto più onerosa nel caso della fibra lunga per il tessile.

Per creare valore con la canapa (Fig.1), quindi, molto importante è la diversificazione, soprattutto se si è orientati all'ottenimento della fibra che comporta maggiori costi di lavorazione e stoccaggio rispetto al seme. Sarebbe molto utile, per dare impulso alla coltivazione della canapa in generale, l'utilizzo dei contratti di filiera per il ritiro della merce con una rete professionale che gestisca le fasi della semina e raccolta coadiuvando gli agricoltori nell'acquisto seme e nelle principali attività agronomiche. Allo stesso modo, la progettazione di ipotesi di investimento integrate che vadano a intercettare le fonti di finanziamento esistenti sia per la produzione primaria sia per la fase preindustriale sono oltremodo importanti. Lo sviluppo

di una filiera canapa nel comparto semi per produzione olio e farine, infine, andrebbe coadiuvata con interventi mirati per produzioni di qualità e/o certificate e con il sostegno a spin-off per la creazione di banche del seme certificato

Figura 1 – La catena del valore della canapa



La catena del valore allargata



Per creare, poi, un'economia canapicola stabile sono necessarie una serie di azioni tra loro collegate con le diverse fasi della catena del valore: - a) La fase agronomica strategica per la scelta varietale e per la selezione genetica delle varietà b) La diffusione di consorzi produttivi o reti territoriali importante anche per l'insediamento di poli di trasformazione, privilegiando centri di trasformazione nel raggio di 50 km al massimo dalle zone di produzione per puntare ai distretti produttivi c) Impiantistica «combinata» consente tutte le fasi della lavorazione della pianta per l'ottenimento di sottoprodotti con la creazione di centri di trasformazione collettiva.

Volendo, poi, definire la canapa come coltura sostenibile è importante tener presente che le tre accezioni della sostenibilità, al momento, sono raggiunte per la parte socio-ambientale mentre dal punto di vista economico devono essere concretizzate delle azioni combinate: - Una policy per la canapa unica a livello nazionale con delle specificità regionali – La promozione di un piano d'azione e l'organizzazione di ruoli e funzioni condivisi, per migliorare i flussi delle conoscenze e delle innovazioni – Il rafforzamento delle infrastrutture di ricerca e innovazione.

Bibliografia

- Sorrentino R., Pergamo R, Battaglia V, Raimo F, Cermola M, Lahoz E - Characterization and pathogenicity of *Fusarium solani* causing foot rot on hemp in Southern Italy - Journal of Plant Disease and Protection Vol.126(6) pag.585-591 Dicembre 2019
- Pergamo R., Briamonte L, Cerrato D, - The textile hemp chain: value analysis, economic and environmental benefits - Quality- Access to Success 19 S(1) - Marzo 2018
- Pergamo R., Lacune legislative bloccano la canapa, Informatore Agrario 22, 2019



Relazione Progetto PROHEMPIL- Unità CNR

WP3-ISAFO

Dr. Anna Tedeschi

Premessa

Inconvenienti tecnici ed organizzativi verificatisi durante lo svolgimento delle prove hanno limitato la piena riuscita delle prove i cui risultati perciò, saranno esaminati con particolare riferimento alle criticità emerse.

Obiettivi

Nel WP3 gli obiettivi riguardavano: un'analisi conoscitiva del microbioma del suolo pre e fine ciclo colturale della canapa (**WP3-Task 3.2-** a cura del Dr. Aurilia), acquisire la definizione di una adeguata gestione irrigua rispetto alle cultivar testate e agli areali di studio (**WP3 Task 3.3-** a cura del Dr. Tedeschi), valutare come l'agrotecnica applicata influiva sull'efficienza fotosintetica (**WP3 Task3.4-** a cura del Dr. Vitale) ed ancora come l'agrotecnica influenzava l'emissione dei gas serra come CO₂ e N₂O (**WP3 Task 3.5-** a cura del Dr. Vitale).

WP3-Task 3.2. a cura del Dr. Vincenzo Aurilia

Caratterizzazione microbiologica dei suoli oggetto della coltivazione. La canapa è considerata pianta miglioratrice. Pertanto, per chiarire gli aspetti microbiologici del problema, è stato effettuato un monitoraggio conoscitivo della microbiologia iniziale dei suoli per confrontarlo poi con la situazione microbiologica del suolo post-raccolta.

Attività svolta:

- **Prelievo del suolo prima** della semina, Acerra 2019 e S. Angelo in Formis 2021
- **Prelievo suolo rizosfera post-raccolta**
- **Preparazione del DNA genomico batterico mediante utilizzo di un appropriato sistema**
- **Approccio metagenomico:** sequenze delle regioni variabili V3 e V4 del gene 16S ribosomiale batterico, con sistema Illumina MiSeq.
- **Analisi bioinformatica** per la definizione, al momento della stesura di questo documento, delle famiglie batteriche. Sono in corso elaborazioni dei dati relative a generi e specie batteriche.

La definizione delle **famiglie** batteriche, determinate mediante sequenze delle regioni variabili V3 e V4 del gene ribosomiale 16S e successiva analisi bioinformatica, produce una risposta non molto significativa in variabilità. Da tenere in considerazione però l'alta percentuale del raggruppamento "Others" che contiene numerosi generi e specie batteriche, in percentuale relativa inferiore al 3%, che potrebbero esplicitare e far ipotizzare una notevole diversificazione di contributi metabolici significativi nella relazione tra pianta e microflora del suolo. Vengono riportate nelle tabelle seguenti le percentuali relative alle famiglie batteriche presenti nel controllo (suolo pre-semina) e dopo raccolta riferite ai trattamenti effettuati durante il ciclo colturale (asciutto e irriguo; presenza e assenza di azoto).



Si evince che le variazioni non sono molto significative a livello di famiglie batteriche, ma ci si aspetta che l'elaborazione, ancora in itinere, a livello di genere e specie, colmerà le alte percentuali dei gruppi "Others" e parzialmente di quelli "Unclassified", fornendo maggiori dettagli e accostamenti sulle attività a livello di rizosfera prodotte in prossimità delle radici, lasciando ipotizzare un ruolo di scambio e/o "comunicazione" con la pianta mediante i metaboliti e molecole complesse come enzimi e proteine.

I campi oggetto di studio sono posti in areali differenti, e ciò si osserva nella composizione batterica dei suoli prima della semina. Pertanto le variazioni, anche se poco significative, riguardano: nel campo di Acerra la famiglia *Sinobacteriaceae* che dopo il ciclo colturale non è più presente. Sempre nella sperimentazione nel campo di Acerra si osserva, a fine ciclo colturale di entrambe le varietà Felina e Carmagnola, un incremento della famiglia delle *Planktomicetaceae*.

Nel campo di S. Angelo in Formis le famiglie *Sinobacteriaceae*, *Gemmatimonadaceae* e *Pseudomonadaceae* sono assenti nel suolo pre-semina; le ultime due sono presenti invece dopo i cicli colturali di entrambe le varietà Felina e Carmagnola.

Ad ogni modo, per maggiori e più precise indicazioni relative alla popolazione batterica presente, è necessario ottenere i risultati relativi ai generi e specie presenti, al momento in fase di elaborazione.

1. Esperimento nel campo sperimentale di Acerra (anno 2019)

Acerra 2019	FELINA				
Famiglie batteri	Controllo	Asciutto/0 N	Asciutto/50 N	Irriguo/ 0 N	Irriguo/ 50 N
<i>Sinobacteriaceae</i>	3.57%	--	--	--	--
<i>Gemmatimonadaceae</i>	3.67%	3,66%	4,1%	4,14%	3,69%
<i>Planktomicetaceae</i>	3.76%	6,07%	5,32%	4,91%	5,1%
<i>Sphingomonadaceae</i>	3.92%	--	3,92%	4,01%	4,48%
<i>Unclassified</i>	35.9%	39,5%	40,2%	39,3%	38,9%
<i>Others</i>	49,16%	50,7%	46,5%	47,6%	47,83%
Acerra 2019	CARMAGNOLA				
Famiglie batteri	Controllo	Asciutto/0 N	Asciutto/50 N	Irriguo/ 0 N	Irriguo/ 50 N
<i>Sinobacteriaceae</i>	3.57%	--	--	--	--
<i>Gemmatimonadaceae</i>	3.67%	--	3,9%	3,9%	4,2%
<i>Planktomicetaceae</i>	3.76%	5,3%	5,5%	5,8%	5,3%
<i>Sphingomonadaceae</i>	3.92%	--	3,74%	3,6%	4,3%
<i>Unclassified</i>	35.9%	40,3%	42,4%	40,8%	42,8%
<i>Others</i>	49,16%	54,4%	44,4%	46,2%	44%



2. Esperimento nel campo sperimentale di **S. Angelo in Formis (CE) (anno 2021)**:

S. Angelo in Formis 2021	FELINA				
	Controllo	Asciutto /0 N	Asciutto/50 N	Irriguo/ 0 N	Irriguo/ 50 N
<i>Famiglie batteri</i>					
<i>Chitinophagaceae</i>	5.2%	5.3%	5.3%	4.8%	5.4%
<i>Gemmatimonadaceae</i>	--	5.4%	5.9%	5.3%	4.4%
<i>Sphingomonadaceae</i>	7.7%	7.4%	7%	5.8%	5.5%
<i>Planktomycetaceae</i>	--	--	--	3.9%	4%
<i>Unclassified</i>	44.7%	40.9%	40%	43%	46%
<i>Others</i>	37.5%	40.7%	41.8%	36.5%	34.7%
S. Angelo in Formis 2021	CARMAGNOLA				
<i>Famiglie batteri</i>	Controllo	Asciutto /0 N	Asciutto/50 N	Irriguo/ 0 N	Irriguo/ 50 N
<i>Chitinophagaceae</i>	5.2%	5.7%	5.4%	6.2%	5.3%
<i>Gemmatimonadaceae</i>	--	4.8%	4.6%	4.8%	5%
<i>Sphingomonadaceae</i>	7.7%	6.5%	7.9%	8.3%	8.5%
<i>Pseudomonadaceae</i>	--	--	4.1	--	--
<i>Unclassified</i>	44.7%	48%	42%	46%	42%
<i>Others</i>	37.5%	34%	35.2%	35.7%	38.8%

WP3-Task 3.3. a cura del Dr. Anna Tedeschi

Materiali e Metodi

Nelle diverse aziende coinvolte nel progetto, sugli appezzamenti destinati ad ospitare la coltura della canapa sono stati prelevati, in tre siti diversi, campioni di suolo dagli strati 0-30 e 30-60 cm per determinare: tessitura, densità apparente e sostanza organica (**Tabella 1**) e, mediante una pedotransfer implementata nel modello SWAP, le caratteristiche idrologiche dei suoli (attività task 3.1.) indispensabile per una razionale gestione irrigua (**Figura 1**).

Sono stati realizzati 2 regimi irrigui:

- uno, ritenuto soddisfacente (IRR) sulla base dei dati disponibili in letteratura, prevedeva la restituzione del 50% dell'acqua disponibile nello strato 0-60 cm;
- uno carente (ASC) prevedeva la restituzione solo del 25% dell'acqua disponibile nello strato 0-60 cm.

Tali regimi irrigui è stato possibile gestirli ed applicarli, nel 2019 ad Acerra e Recale, nel 2021 a S. Angelo in Formis. Per le altre aziende, a progetto approvato, si è constatato che non avevano la

dotazione tecnica per implementare i due regimi irrigui, quindi a Volturara la coltura è stata condotta in asciutto e a Montecorvino Rovella, nel 2021, sono state effettuate due irrigazioni con metodo per aspersione. I suddetti campi erano gli unici del progetto Prohempil.

Tutte le aziende sono state fornite di un termometro di minima e massima e un pluviometro per la registrazione della Temperatura dell'aria e delle piogge.

Durante la stagione di crescita su tutti i campi, a partire dall'emergenza, si è eseguito il monitoraggio dell'umidità del suolo nel profilo radicale 0-60 cm, per decidere il momento ed il volume di acqua da restituire. Il contenuto di acqua dello strato 0-60 cm è stato determinato anche alla raccolta a fibra e a seme al fine di redigere un bilancio idrico della coltura per la stima dei consumi di acqua così determinati:

$CI = I + P \pm \Delta i$ dove

CI = consumo idrico della coltura in $m^3 ha^{-1}$

I = totale dell'acqua apportata con gli adacquamenti $m^3 ha^{-1}$

P = acqua apportata con le piogge $m^3 ha^{-1}$

Δi = differenza tra il contenuto di acqua del suolo all'emergenza e quello alla raccolta $m^3 ha^{-1}$

Inoltre con le rilevazioni delle temperature minime e massime e la conoscenza della posizione delle aziende, abbiamo potuto stimare l'evapotraspirazione con la formula di Hargreaves.

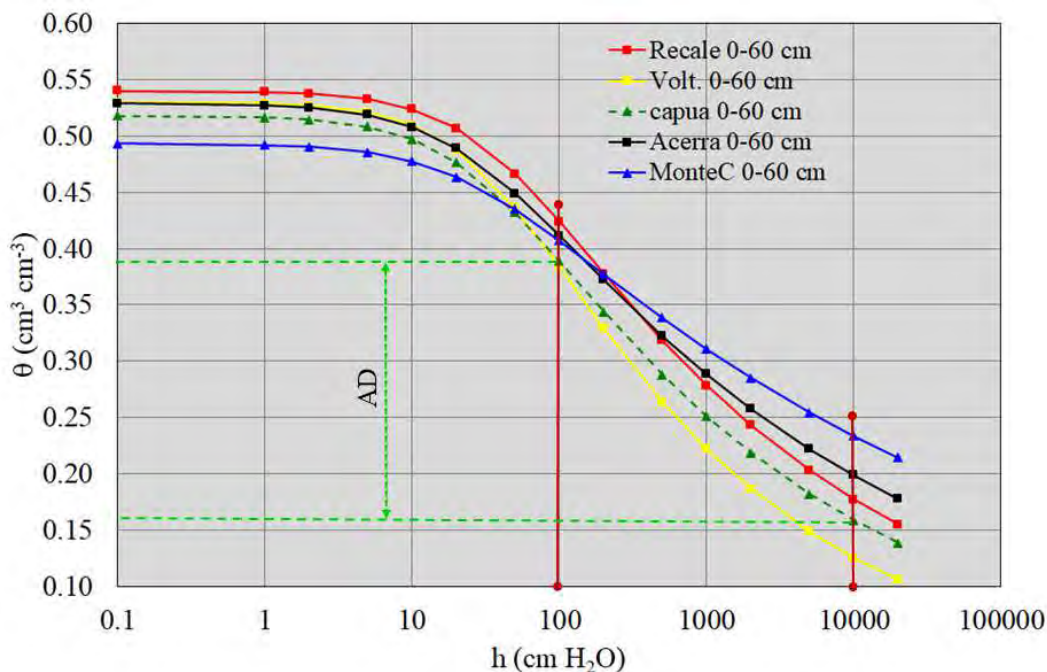


Figura 1- Curve di ritenzione idrica dei campi oggetto delle prove del progetto. In rosso l'azienda Guarino (Recale), in giallo l'azienda Canapairpinia (Volturara-AV), in verde l'azienda DonPeppeGreen (S. Angelo in formis/Capua-CE), in nero l'azienda HempFarm (Acerra-NA) ed infine in blu l'azienda Cerino (Montecorvino Rovella-SA). AD rappresenta l'acqua disponibile totale per il campo di S. Angelo in Formis



Tabella 1- Caratterizzazione tessiturale per il profilo di suolo **0.0-0.6 m** secondo la classificazione USDA. Densità apparente (d.a.) del suolo per il medesimo strato di suolo.

Parametri	Aziende private/Ubicazione				
	Guarino	Don PeppeGreen	HempFarm	Canapirpina	Cerino
	Recale	S.Ang.Formis/Capua	Acerra	Volturara	MonteCorvino
<i>Data di semina</i>	<i>1/5/19</i>	<i>25/5/21</i>	<i>29/4/19</i>	<i>7/6/19</i>	<i>16/7/21</i>
d.a. (g cm ⁻³)	1.09	1.14	1.15	1.08	1.29
Argilla (%)	29.34	23.67	25.0	17.29	43.9
Limo (%)	31.84	30.70	26.25	24.96	24.7
Sabbia Fine(%)	38.83	45.63	47.5	57.75	31.3
Capacità idrica di	0.36	0.33	0.33	0.30	0.37
Punto di appassimento a	0.18	0.16	0.17	0.12	0.25
Classificazione USDA	Franco argilloso	Franco	Franco sabbioso	Franco sabbioso	Argilloso

Risultati task 3.3

L'attività della task 3.3 nel 2019 ha provveduto a definire lo schema sperimentale in funzione degli appezzamenti prescelti, delle tesi a confronto e delle attrezzature irrigue disponibili. Per le tre cultivar (cv) in esame (Carmagnola, Futura 75 e Felina 32) ha collaborato anche alla conduzione delle prove dalla semina alla raccolta con rilievi e raccolta dei dati previsti: area fogliare (strumento in dotazione in isafom), sviluppo in altezza delle piante, biomassa totale, degli steli e della corteccia (fibra), produzione di seme.

La condivisione dei dati raccolti nel campo di Acerra ha consentito, a questa unità, di produrre una elaborazione statistica dei risultati, che ha portato alla stima, per glie elementi indicati, degli effetti principali (cv, dose di N, consumo d'acqua) e delle loro interazioni. Tuttavia, come indicato nella relazione del novembre 2019, per la bassa e variabilissima densità di piante i risultati conseguiti hanno un valore puramente indicativo. Alla bassa densità di piante alla raccolta indipendentemente dalla dose di N e di acqua (15-16 e 23 piante m⁻² per Carmagnola, Futura e Felina rispettivamente), si deve infatti, la bassa produzione di steli secchi (6.5 t ha⁻¹ in media).

Ben altre erano le produzioni quando c'era una canapicoltura Campana. A Orte di Atella in asciutto e a S. Andrea del Pizzone (R. Barbieri, 1961) con un adacquamento, con 106 pt m⁻² alla raccolta e altezza 3 mt la cv. Paesana (Carmagnola ripetutamente riprodotta in proprio dagli agricoltori) nel 1960 ha prodotto 13.3 e 10.9 t ha⁻¹ di steli secchi rispettivamente a Orta di Atella e a S. Andrea del Pizzone. Nello stesso anno a S. Angelo in Formis con due adacquamenti ma su suolo poco adatto per la presenza di un cappellaccio tufaceo sotto i 50 cm dalla superficie, la produzione di steli, con 55 pt m⁻², è stata di 8.1 e 8.6 t ha⁻¹ rispettivamente per Carmagnola e Eletta Campana. Le stesse cultivar, in prove di confronto varietale condotto nel quadriennio 1961-64 con densità consolidate dall'esperienza (≥ 60 pt m⁻²) e in asciutto nella zona di Orta di Atella, hanno fornito una produzione di steli secchi di 11.2 e 11.6 t ha⁻¹ per Carmagnola ed Eletta Campana (Barbieri et al, 1965, Sementi Elette). L'Eletta Campana è una cultivar che fu selezionata da Barbieri (vedi citazione) tra il 1951



ed il 1964na partire da una popolazione di Carmagnola. Tutte le semine erano state effettuate non più tardi del 5 aprile in accordo con la tecnica colturale consolidata negli anni.

Nel 2021 l'attività della Task 3.3. si è occupata solo della gestione irrigua del campo di S. Angelo in Formis essendo venuto meno il campo di Afragola che avrebbe dovuto sostituire quello di Acerra.

A Montecorvino Rovella invece la gestione irrigua è stata autonoma e del tutto anomala perché con il metodo per aspersione sono stati praticati 3 adacquamenti, 2 dall'emergenza alla raccolta a fibra e uno prima della raccolta a seme, con volumi notevolmente eccedenti la capacità di ritenzione idrica del suolo.

Nelle Figure 2 e 3 le due aree cerchiato mostrano come, in accordo con la tecnica agronomica consolidata, le semine effettuate entro aprile (Recale ed Acerra cerchio blu) hanno goduto di una temperatura più mite (**Fig.2**) alla quale è corrisposta una minore domanda evaporativa (**Fig. 3**) e quindi una più bassa traspirazione delle piante rispetto alla semina più tardiva di S. Angelo in Formis (cerchio rosso). Di conseguenza le semine più precoci nelle prime fasi di sviluppo hanno beneficiato di una maggiore e più favorevole umidità del suolo (**Fig. 4a e Fig.4b**) che ha consentito di intervenire con l'irrigazione a 36 giorni dall'emergenza a Recale e a 48 giorni ad Acerra. A S. Angelo in Formis, invece, con la semina tardiva (25/5) la coltura ha manifestato già alle prime fasi sintomi di sofferenza per la considerevole richiesta evapotranspirativa, prevalenza evaporativa, e per la conseguente ridotta umidità del suolo nello strato più superficiale. Infatti è stato necessario un adacquamento per entrambe le tesi irrigue già dopo 8 giorni dall'emergenza per consentire l'affrancamento, della coltura. Tutto ciò senza contare dei circa 650 m³ ha⁻¹ somministrati dopo la semina per consentire un'emergenza regolare.

Quanto sopra trova riscontro e risulta più chiaro dalla **Figura 1** e **Figura 5**. Il valore a 100 cm di potenziale idrico (**Fig. 1**) corrisponde alla massima disponibilità idrica per la coltura cioè rappresenta il 100% dell'acqua disponibile della **Fig. 5** mentre il valore a 10.000 cm di potenziale idrico della **Fig. 1** corrisponde in **Fig. 5** allo 0%, (linea marcata in blu in a), b) e c)) di acqua disponibile per la coltura.

Orbene a S. Angelo in Formis, per effetto della tardiva epoca di semina all'emergenza, la disponibilità di acqua dello strato 0-60 cm era la 60% (Fig.5c) mentre a Recale e Acerra, con semine più precoci, la disponibilità iniziale era al 100% dell'acqua disponibile (**Fig.5 b e a**).

I tratti delle spezzate posizionati sotto la linea blu (Fig.5) (punto di appassimento) indicano condizioni di possibile stress idrico per la pianta. Possibile perché non è escluso che la canapa possa aver superato quei periodi attingendo acqua sotto lo strato da noi non monitorato di 60 cm.

Quanto sopra dà ragione dei volumi stagionali riportati in **Tabella 2**. Per il campo di Montecorvino Rovella riteniamo eccessivi i volumi erogati per i motivi riferiti in precedenza. A recale la differenza di volume tra le due tesi irrigue è minima per il ricordato inconveniente dell'impianto irriguo che ha permesso di differenziare solo uno dei due adacquamenti.



Tabella 2- Consumi idrici suddivisi per tesi irrigue, delle diverse cultivar oggetto delle prove nei diversi areali, come valore totale e per i diversi intervalli del ciclo colturale.

	Consumi idrici della canapa m ³ ha ⁻¹						
	Asciutto				Irriguo		
	Recale	Acerra	S. Angelo	MonteC	Recale	Acerra	S. Angelo
Semina	1/5	29/4	25/5	16/7			
Da Emergenza a Fibra							
Felina	1968	1377	1894	2197	2121	1797	2577
Futura	1968	1377	1894	2197	2121	1797	2577
Carmagnola	1968	1377	1965	2197	2121	1797	3019
Da Fibra a Seme							
Felina	2069	776	689	1344	2332	896	1309
Futura	2194	787	689	1204	2373	907	907
Carmagnola	2221	823	689	1465	2402	920	920
Da Emergenza a Seme							
Felina	4037	2153	2584	3541	4453	2633	4328
Futura	4162	2164	2584	3401	4494	2717	4328
Carmagnola	4190	2200	2584	3662	4523	2704	4328

I consumi rilevati ad Acerra e S. Angelo in Formis corrispondono con sufficienza alla differenziazione irrigua delle due tesi. Per S. Angelo in Formis va ricordato che la semina tardiva ha richiesto per entrambe le tesi irrigue un adacquamento iniziale dopo l'emergenza di 550 m³ ha⁻¹.

Nelle condizioni in cui si è operato, nel 2019 ad Acerra non si sono riscontrate differenze significative, nella produzione di biomassa totale, steli e corteccia, tra le due tesi irrigue. Non è dato di sapere, però, fino a che punto questo risultato è stato condizionato dal basso numero di pt m⁻². In altre parole con un numero di piante normale, cioè triplo di quello dell'esperimento ottenuto, la produzione delle due tesi irrigue sarebbe risultata significativamente diversa? E di quanto?

Per il caso si S. Angelo in Formis la risposta è rimandata alla conoscenza dei dati produttivi.

Conclusioni

Lo sviluppo della canapicoltura in Campania è condizionato dall'incertezza e/o difficoltà di collocamento del prodotto per la mancanza nella regione di strutture commerciali e impianti di trasformazione. Nel caso di coltura da fibra, ad esempio, nessuno coltiverà canapa in Campania se le voluminose rotoballe di stigliato verde devono essere trasportate fuori regione con elevati costi di trasferimento.

Inoltre in funzione della destinazione produttiva della coltura (es. per fibra per carta o seme o infiorescenze etc) e degli obiettivi a cui rispondere (es. risparmio idrico) sarà necessario scegliere la tecnica colturale più appropriata (es. epoca di semina e densità di piante, concimazione, scelta delle cv etc). Se l'obiettivo è il risparmio idrico, ad esempio, ci si può orientare su una coltura a semina precoce. La canapa, infatti, è una pianta che riesce a sfruttare bene le risorse idriche del suolo immagazzinate durante l'inverno grazie al suo apparato radicale fittonante e, poiché, è in grado di germinare a basse temperature (+1°C), può essere seminata dopo la metà di marzo, come era in uso anche in passato, per sfruttare al meglio le riserve idriche del suolo con la possibilità di fare a meno dell'irrigazione.

L'agricoltore solo se sarà in grado di conoscere come, dove e a che prezzi può collocare i prodotti possibili può scegliere l'indirizzo colturale e la conseguente tecnica colturale.

Bibliografia

Barbieri R., 1965-Eletta Campana e T4, nuove cultivar di canapa per l'ambiente Campani. Sementi elette, pag. 412-417.

R. Barbieri, 1961- Sperimentazione agronomica su nuove varietà di canapa, condotta in Campania nel 1960. In Sperimentazione genetica ed agronomica sulle nuove varietà di Canapa, CNPC Roma, pag. 109.

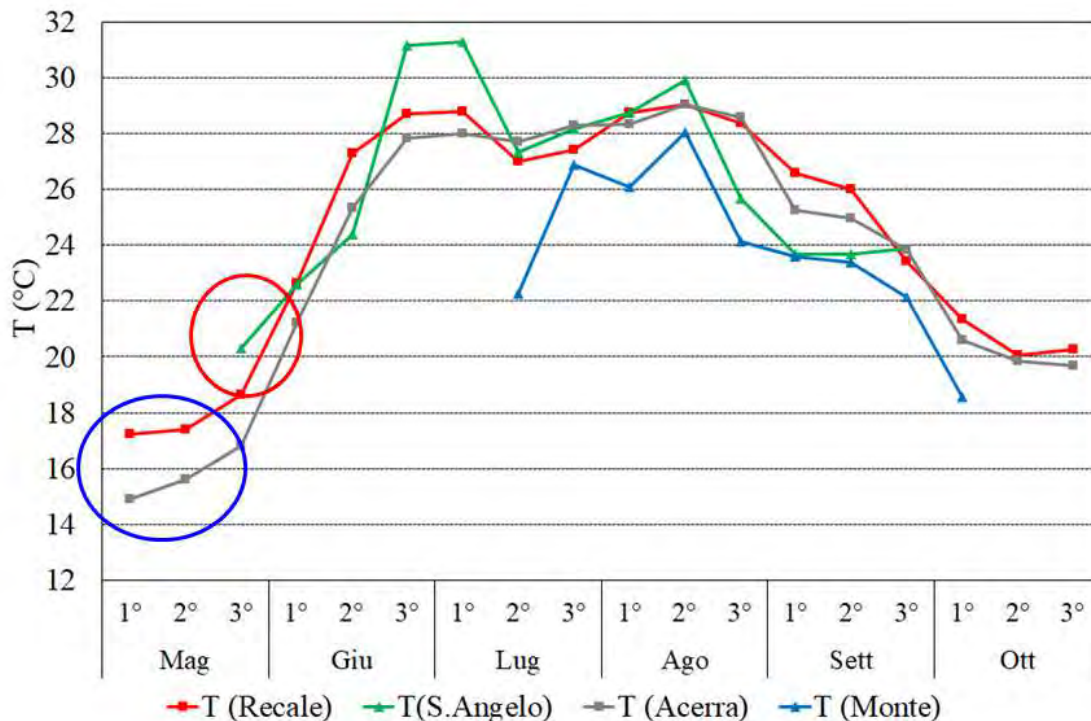


Figura 2- Andamento termico media nelle aree di studio durante il periodo di coltivazione

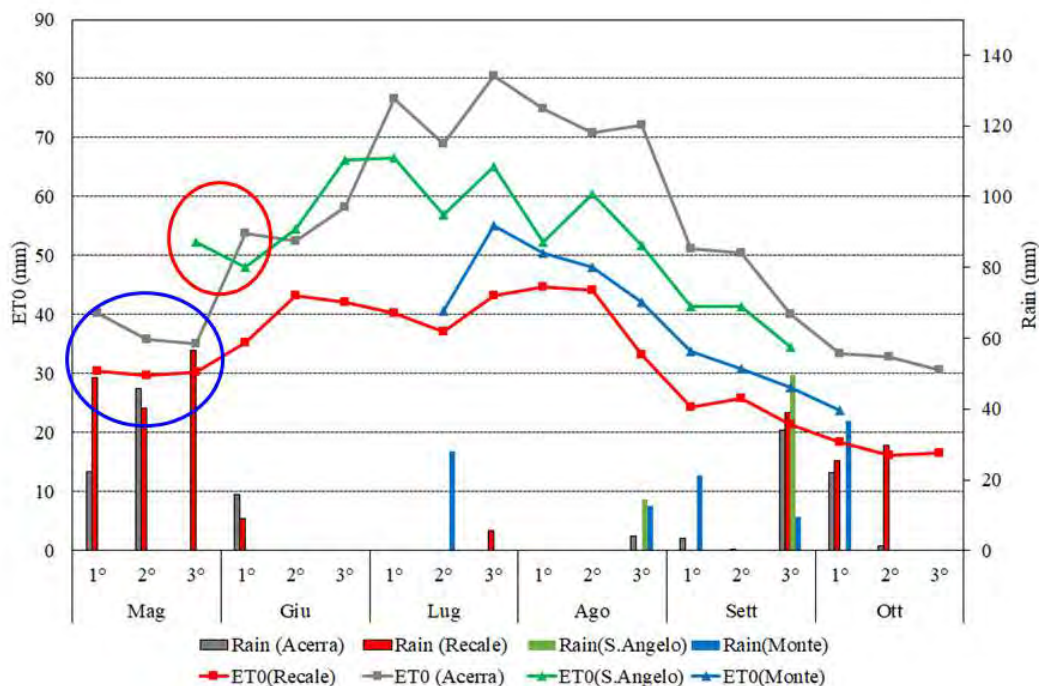


Figura 3- Andamento climatico dei diversi areali oggetto della prova durante il periodo di coltivazione. Piogge (rain mm) e Evapotraspirazione (ET0 mm)

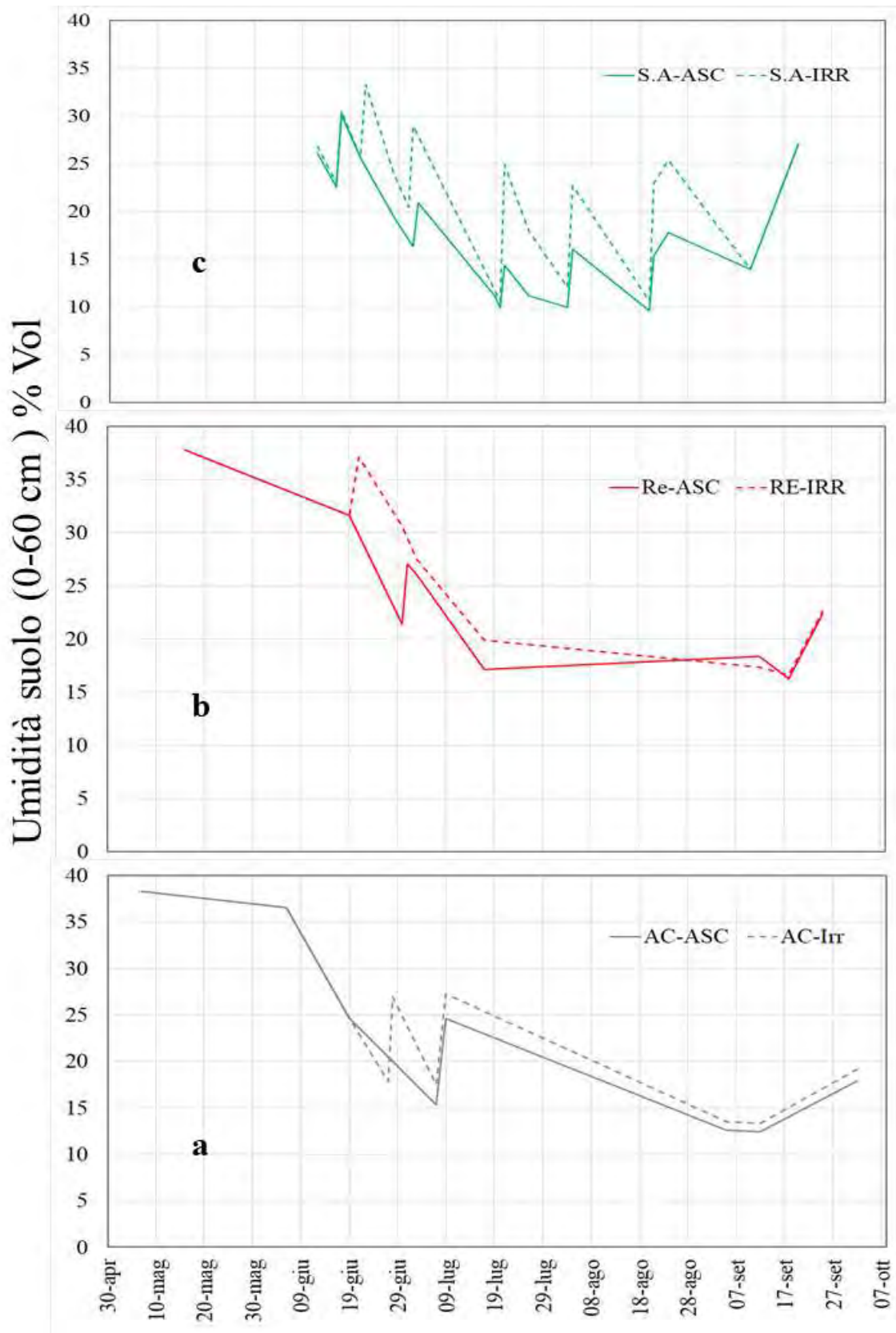


Figura 4- Andamento dell'umidità del suolo nel profilo 0-60 cm in % di Volume per i diversi campi andati a produzione-a) Acerra, b) Recale, c) S. Angelo in Formis e per le due tesi esaminate ASC (asciutta) e IRR (irrigua).

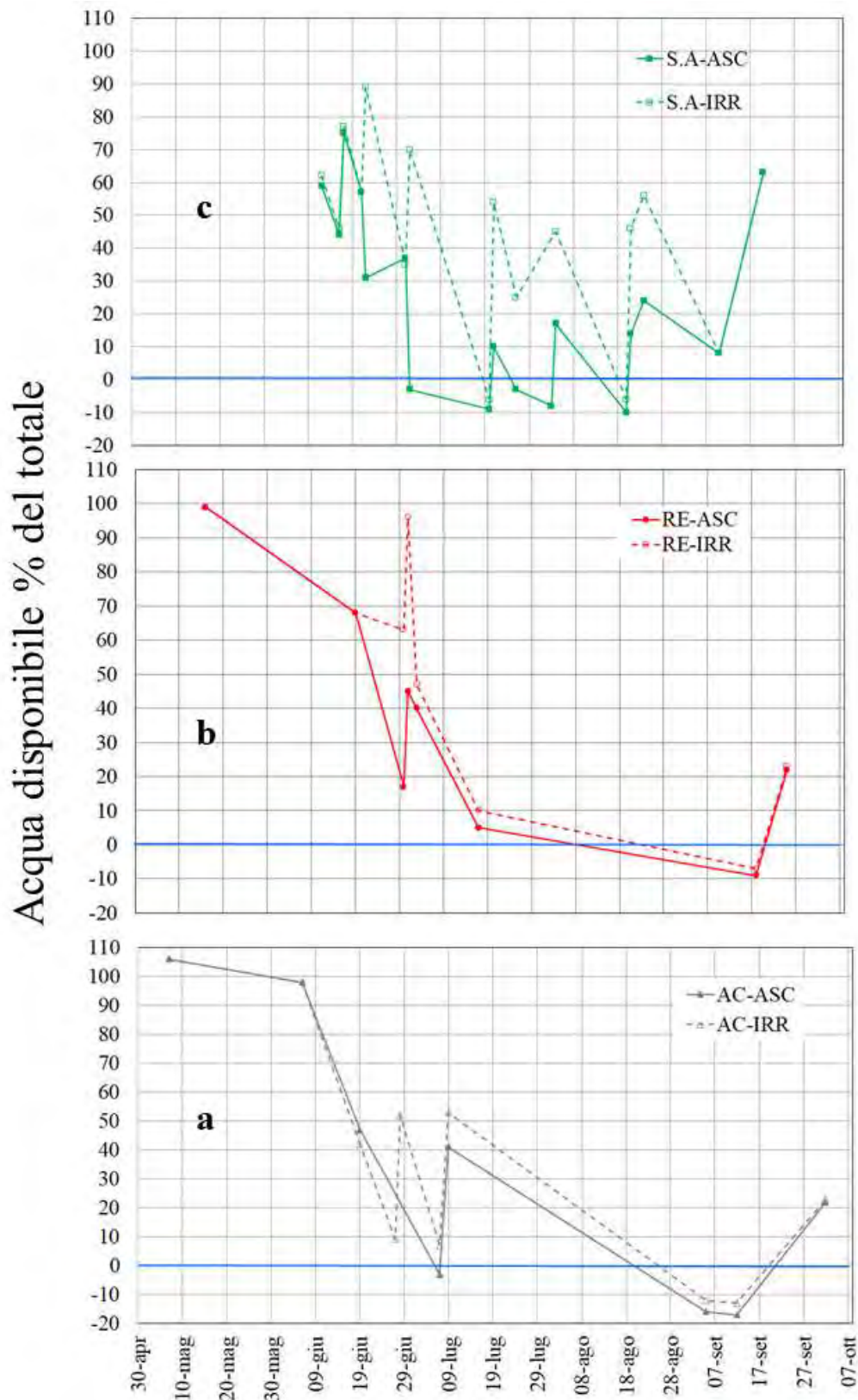


Figura 5- Andamento della percentuale di acqua disponibile rispetto al totale, durante la stagione colturale, per Acerra **a)**, Recale (2019) **b)** e S. Angelo in Formis **c)** (2021).

Task3.4. Efficienza fotosintetica.

Sulle tesi allo studio l'analisi del Task 3.4 e 3.5 si è focalizzata sul campo di Acerra (2019) e sul campo di S. Angelo in Formis (2021). Le misure sono state effettuate sui due trattamenti Azotati, 50 N e 100 N, e sui due trattamenti irrigui così come descritti nei materiali e metodi del Task 3.3 irriguo (IRR) e Asciutto (ASC).

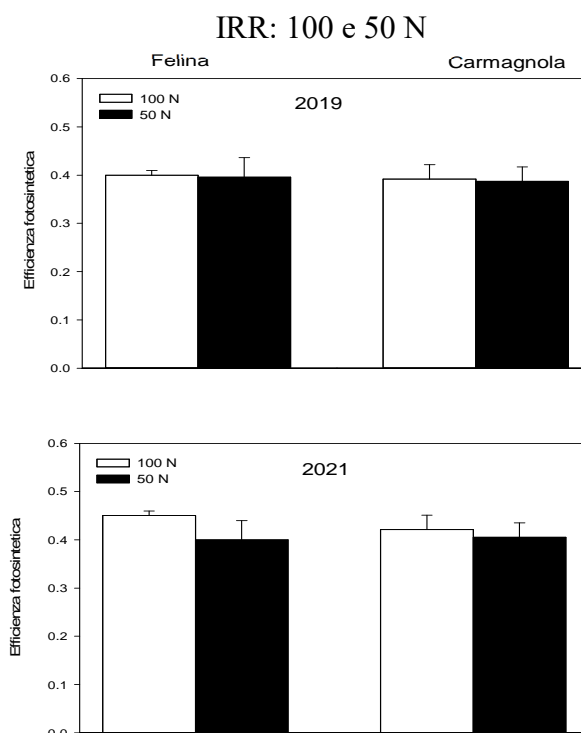


Figura-6- Efficienza fotosintetica per Carmagnola e Felina, nel 2019 e 2021 per i due trattamenti azotati considerati per il trattamento IRR (irriguo)

Le misure per valutare l'efficienza fotosintetica delle piante di canapa sono state condotte su foglie mature ed esposte alla medesima irradianza. Dallo studio non è emersa alcuna significativa differenza nell'efficienza fotosintetica tra la cultivar Felina e Carmagnola, mentre una tendenza, non significativa, alla diminuzione dell'efficienza fotosintetica è stata riscontrata per livelli azotati più bassi (50 N) **Figura 6**.

Per la cultivar Felina, una diminuzione dell'efficienza fotosintetica **Figura 7**, è stata evidenziata quando le piante sono state cresciute con una dose di azoto inferiore del 50% (50 N) rispetto ai valori ritenuti ottimali per questa specie (trattamento 100 N), sebbene tale diminuzione sia risultata solo una tendenza, senza risultare significativa. I dati consentono di avanzare una prima ipotesi sulla elevata

efficienza d'uso dell'azoto da parte di entrambe le cultivar studiate e sulla buona capacità della cultivar Felina di crescere in condizioni di umidità del suolo inferiori (ASC) ai valori che si hanno se coltivata con volumi irrigui più alti rispetto alla tesi ASC (tesi IRR).

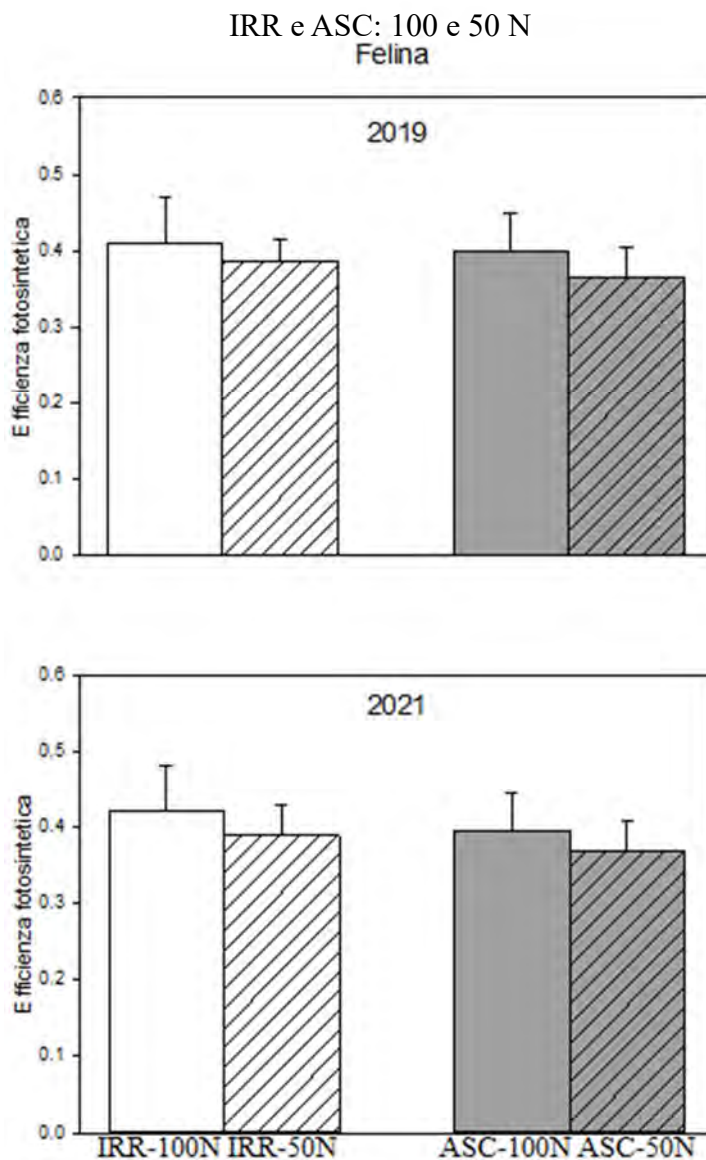


Figura-7- Efficienza Fotosintetica della cultivar Felina, nel 2019 e 2021 per le tesi IRR (irrigua) e ASC (asciutta) per i due trattamenti azotati 100 e 50 N



Task 3.5. Flussi dei principali gas serra (CO₂ e N₂O) dal suolo.

Le misure di emissioni dal suolo dei gas diossido di carbonio (CO₂) e protossido di azoto (N₂O) hanno avuto come obiettivo quello di valutare l'impatto ambientale in termini di emissione dei principali gas serra in funzione della gestione agronomica della canapa. I risultati ottenuti consentono di avanzare una prima ipotesi sul comportamento delle emissioni dal suolo dei gas serra studiati, almeno per i soli flussi di CO₂, in funzione delle concimazioni, sotto un regime irriguo (IRR) come descritto in task 3.3: per entrambe le cultivar, le emissioni di CO₂ sembrerebbero non essere influenzate in maniera marcatamente evidente dai volumi di azoto applicati (**Figura 8**). Per le emissioni di N₂O, una risposta ai livelli di concimazione azotata sembrerebbe essere evidente solo durante il primo anno di sperimentazione, con dinamiche differenti per le due cultivar (**Figura 8**). Per quest'ultimo gas, non è possibile avanzare una ipotesi univoca sul comportamento delle emissioni di protossido.

Lo studio delle emissioni di CO₂ e N₂O da suolo coltivato a varietà Felina di canapa in funzione del regime irriguo e del livello di concimazione azotata per le annate agronomiche 2019 (**Figura 9A**) e 2021 (**Figura 9B**) consente - a differenza di quanto dedotto per i soli livelli azotati discusso in precedenza - di avanzare una ipotesi più univoca sul comportamento di tali gas ossia che l'umidità del suolo, influenzata dalla quantità di acqua fornita per ripristinare il 25% dell'acqua disponibile, rappresenta il principale fattore che controlla le emissioni sia di CO₂ che di N₂O. L'assenza di un chiaro effetto dei livelli azotati sulle emissioni di N₂O, potrebbe essere collegato ad una ridotta efficacia dell'inibitore della nitrificazione (il principale processo biologico responsabile della produzione di protossido di azoto in condizione di non anossia dei suoli) addizionato al concime utilizzato, quando l'umidità del suolo è bassa come verosimilmente atteso per la tesi Asciutto.

IRR: 100 e 50 N

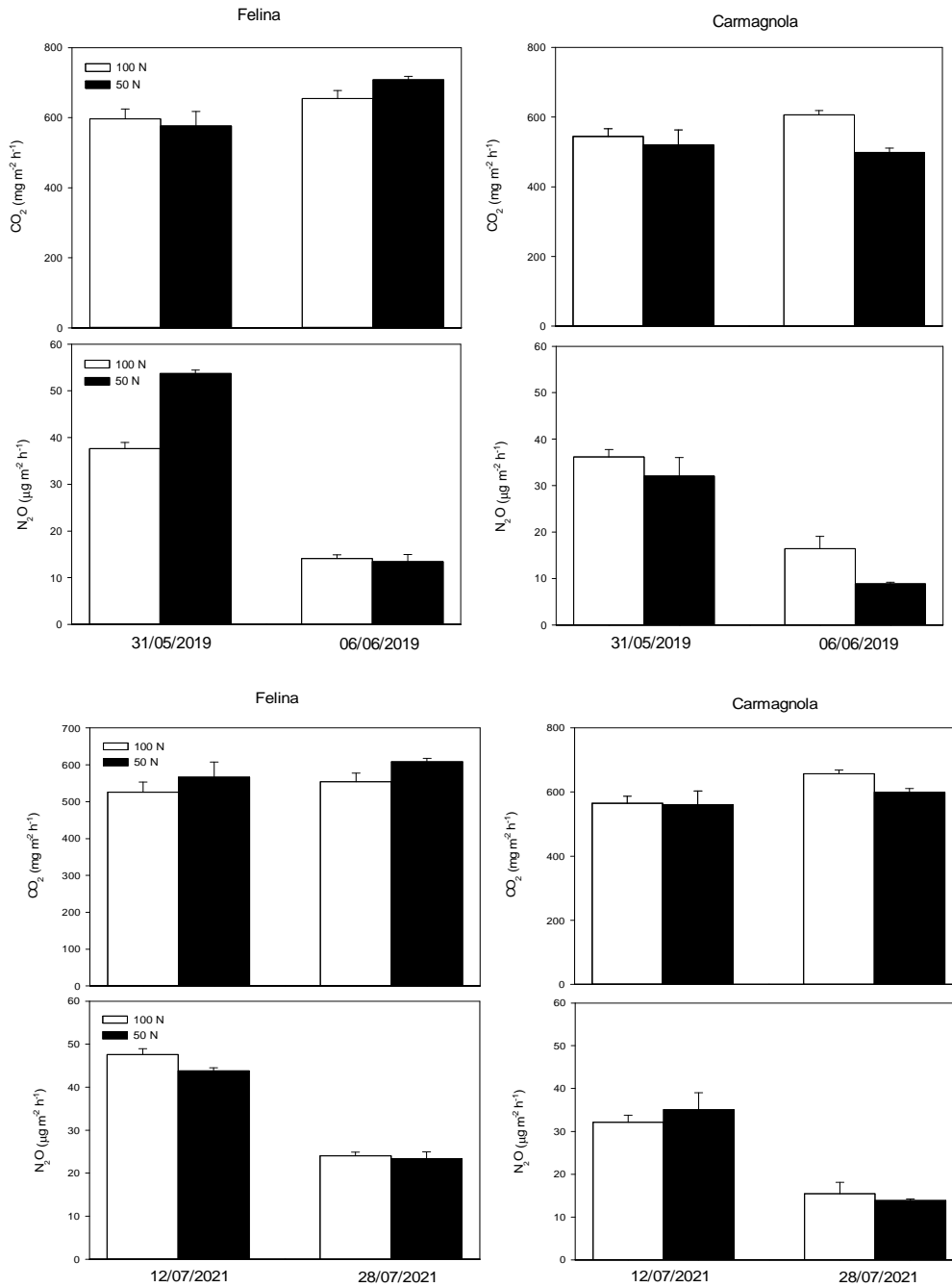


Figura-8- Flussi di CO₂ e N₂O per la tesi IRR ai due livelli di azoto (100 N e 50 N) per la cultivar Felina e Carmagnole nel 2019 e 2021.

IRR e ASC – 100 e 50 N

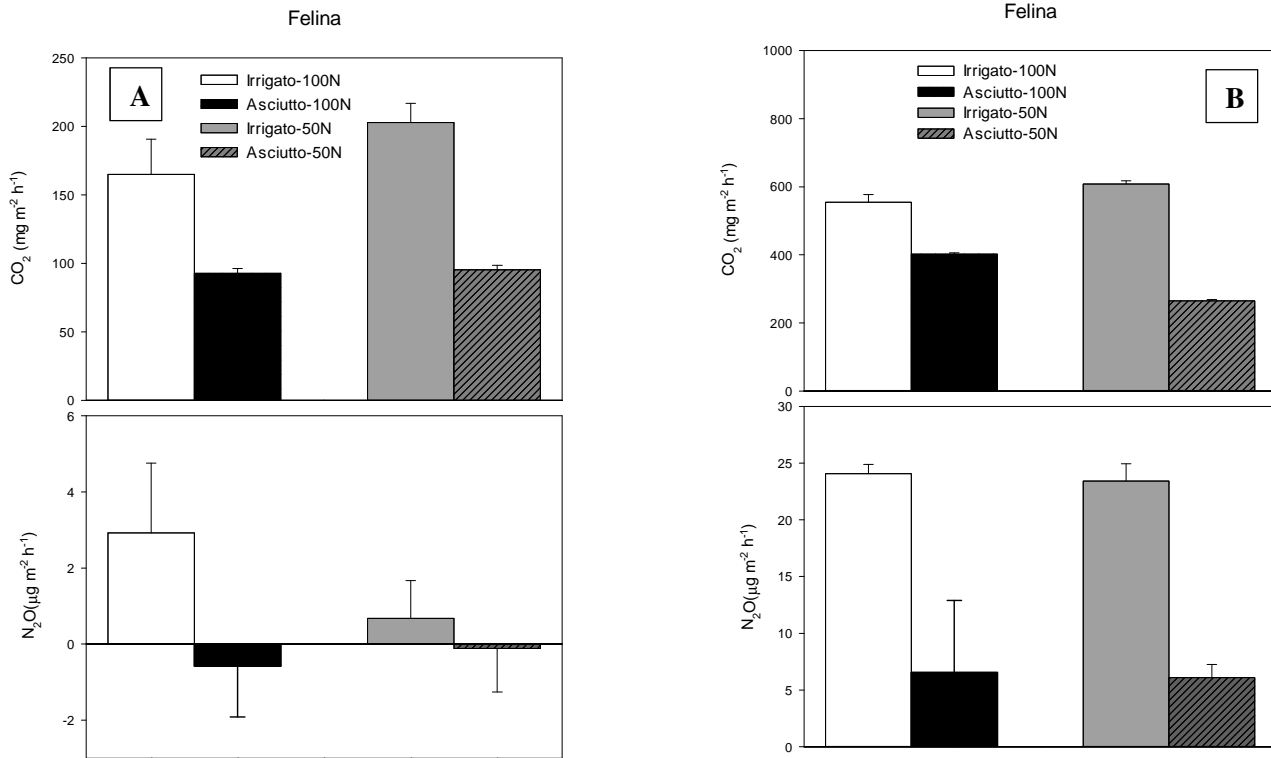


Figura-9- Flussi di CO₂ e N₂O per la tesi IRR (irrigua) e ASC (asciutta) ai due livelli di azoto (100 N e 50 N) per la cultivar Felina nel 2019 **A**) e 2021 **B**).



WP5-ISA-CNR

A cura di Dr. Maria Grazia Volpe

Sui campioni di semi Felina 32, Futura 75 e Carmagnola delle varie aziende sono state effettuate le seguenti analisi:

Determinazione del contenuto di acqua

Il contenuto di acqua libera nei campioni di farina e semi TQ è stato determinato mediante essiccamento in stufa a 100°C per 48 ore di una aliquota di campione omogenizzato, fino al raggiungimento del peso costante. La perdita di peso corrisponde alla perdita di umidità. Il risultato è stato espresso in percentuale.

Contenuto proteico

Per la determinazione del contenuto di azoto totale si segue il metodo di Kjeldhal. Nel metodo si distinguono tre fasi, una fase di digestione (o mineralizzazione), una fase di distillazione dell'ammoniaca e una fase di determinazione quantitativa dell'ammoniaca prodotta.

Estrazione lipidi totali

Il contenuto di lipidi totali è stato determinato mediante metodo Soxhlet. Circa 10 grammi di campione (semi TQ e farina) sono stati pesati direttamente in un ditale su un fondo di solfato di sodio anidro e coperto con uno strato dello stesso sale. L'estrazione è effettuata con etere dietilico in apparato Soxhlet per 6 ore. Il solvente è allontanato al Rotavapor, utilizzando un pallone della capacità idonea e previamente pesato. L'estratto viene poi posto in essiccatore prima di essere pesato.

Determinazione del profilo acidico

Gli estratti lipidici (campioni di Semi TQ e di farina) e il campione di olio sono sottoposti a trans esterificazione dei trigliceridi (AOAC 996.06), per ottenere gli esteri metilici degli acidi grassi. Circa 200 mg di estratto lipidico (o di olio) è posto in vials con tappo a vite con 2 mL di soluzione di acido cloridrico-metanolo 1,25 M HCl per GC (Fluka) e quindi posto in bagno termostatico a 100°C per 60 minuti. Dopo rapido raffreddamento sono stati aggiunti 2 mL di acqua distillata e 1 mL di *n*-esano ad alto grado di purezza (Carlo Erba). Il campione è stato quindi agitato con vortex e centrifugato a 5000 rpm per 10 minuti, si preleva la fase esanica, si aggiunge solfato sodico, e il composto è così pronto per l'analisi al gas cromatografo (Gascromatografo TRACE GC (Thermo) equipaggiato con rivelatore FID e Autocampionatore AS 3000 (Thermo)).

La determinazione gas-cromatografica è stata effettuata mediante una colonna capillare Supelco SP-2560 (100 m x 0.25 mm, 0.20 µm) programmata: 140°C (5 min) fino a 240°C a 4°C/min, utilizzando come carrier l'elio, Fid: 260°C.



Contenuto di polifenoli totali

L'estrazione dei polifenoli totali è stata eseguita secondo il metodo sperimentale proposto da Vanapartis et al., (2015). A 0,1 g di campione sono stati aggiunti 900 μ L di metanolo 90%, la miscela è stata poi agitata con vortex e sonicata al buio, a freddo, per 30 minuti. Il tutto è stato poi centrifugato per 10 minuti a 3000rpm a 4 °C. Il surnatante è stato recuperato e sul pellet viene eseguita una seconda estrazione con 600 μ L di metanolo 90%, ripetendo la stessa procedura. Il dosaggio dei polifenoli totali è stato eseguito con metodo Folin-Ciocalteu (Vanapartis et al., 2015), secondo il seguente protocollo: a 100 μ L di estratto metanolico sono stati aggiunti 2 mL di acqua distillata e 200 μ L Folin-Ciocalteu (1:10, v/v) la miscela viene agitata con vortex e incubata per 30 minuti a temperatura ambiente. Dopodiché vengono aggiunti 1 mL di carbonato di sodio (20%, m/v). La miscela viene di nuovo agitata al vortex e incubata per 1 ora a temperatura ambiente. La lettura allo spettrofotometro UV/Vis è stata effettuata alla lunghezza d'onda di 765 nm. I risultati espressi come mg di acido gallico equivalente (GAE) per 100 grammi di peso secco.

Risultati

I campioni di alcune aziende sono risultati qualitativamente superiori a quelli dell'azienda di Volturara dove la percentuale di semi non idonei alle analisi (rinsecchiti e privi di olio) era molto alta, mostrando una produzione piuttosto scadente.

I trattamenti effettuati non sembrano dare risultati statisticamente differenti per cui nella tabella sottostante si riportano i valori medi ottenuti per le tre cultivar.

Campione	Umidità (%)	Proteine (%)	Lipidi (%)	Polifenoli totali (mg GAE/100g)
Futura 75	9,2	20,7	25,9	219,5
Felina 32	10,1	20,1	27,7	198,3
Carmagnola	11,3	19,1	28,2	175,2

Le varietà Futura 75, Felina 32 e Carmagnola mostrano una resa in olio che varia dal 21 (Felina 32) al 26,5 % (Carmagnola), mentre le proteine totali mostrano una minore variabilità con valori che vanno dal 19,1 al 20,7%. Le ceneri mostrano un valore medio del 6%, a testimonianza del contenuto consistente di macro elementi.

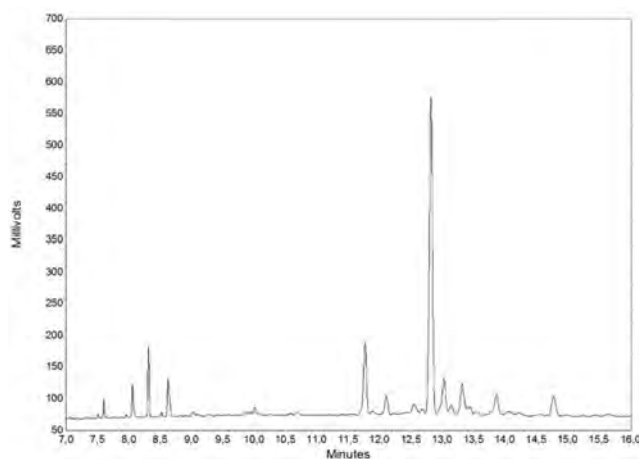
Gli acidi grassi maggiormente presenti sono nell'ordine il linoleico (Futura 75) con il 54,6 (mostra il valore più alto), segue il linolenico con il valore più alto (17,5%) mostrato da Carmagnola e l'oleico con valori medi intorno al 15%.

La sommatoria degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) varia tra il 67 e il 72% circa, segue quella dei monoinsaturi (MUFA) con valori che variano tra il 13 e il 18 % circa, infine la sommatoria dei saturi

(SFA) che varia dal 10,7 al 12 % circa, mentre il rapporto tra le sommatorie dei PUFA e dei MUFA è circa 4:1 che è considerato ottimale per ridurre i rischi associati alle malattie cardiovascolari.

Sono stati monitorati anche gli steroli contenuti nell'olio e a titolo di esempio si riporta il cromatogramma della cultivar Futura 75 con relativa tabella della composizione (**Fig.10**).

L'estrazione dei polifenoli totali è stata eseguita secondo il metodo sperimentale proposto da Vanapartis et al., (2015). A 0,1 g di campione sono stati aggiunti 900 μ L di metanolo 90%, la miscela è stata poi agitata con vortex e sonicata al buio, a freddo, per 30 minuti. Il tutto è stato poi centrifugato per 10 minuti a 3000rpm a 4 °C. Il surnatante è stato recuperato e sul pellet viene eseguita una seconda estrazione con 600 μ L di metanolo 90%, ripetendo la stessa procedura. Il dosaggio dei polifenoli totali è stato eseguito con metodo Folin-Ciocalteu (Vanapartis et al., 2015), secondo il seguente protocollo: a 100 μ L di estratto metanolico sono stati aggiunti 2 mL di acqua distillata e 200 μ L Folin-Ciocalteu (1:10, v/v) la miscela viene agitata con vortex e incubata per 30 minuti a temperatura ambiente. Dopodiché vengono aggiunti 1 mL di carbonato di sodio (20%, m/v). La miscela viene di nuovo agitata al vortex e incubata per 1 ora a temperatura ambiente. La lettura allo spettrofotometro UV/Vis è stata effettuata alla lunghezza d'onda di 765 nm. I risultati espressi come mg di acido gallico equivalente (GAE) per 100 grammi di peso secco.



Condizioni strumentali

Gasromatografo: Trace GC, Thermo
Autocampionatore: AS 3000, Thermo
Colonna: RTX-5 (Restek), 30 m x 0.25 mm ID, 0.25 mm film
Programmata forno: 200°C (2 min) fino a 300°C a 20°C/min
Carrier: Elio, 20 cm/sec
Detector: FID, 260°C
Inj: 1 mL, 250°C, split 1:10

Figura 10- Cromatogramma della cultivar Futura 75 e relativa Tabella della composizione

Fitosterolo	mg/Kg
Squalene	43.47
a-tocoferolo	2.68
g-tocoferolo	5.01
Brassicasterolo	/
Campesterolo	117.42
Stigmasterolo	28.18
b-sitosterolo	530.39
D₅-avenasterolo	72.55



Il componente più abbondante è il b-sitosterolo, seguito dal Campesterolo, mentre gli altri sono tutti al di sotto dei 100 mg/kg.

Il contenuto di polifenoli totali è risultato più alto nella varietà Futura 75, a seguire Felina 32 e Carmagnola.

Inoltre è stato messo a punto un metodo rapido per valutare l'acidità dell'olio di canapa che avendo molti acidi polinsaturi irrancidisce rapidamente. In particolare su tale parametro ha molta influenza il processo di spremitura dei semi. Nella presente attività è stata utilizzata la spettroscopia ATR-FTIR (le analisi sono state eseguite utilizzando uno spettrofotometro infrarosso a trasformata di Fourier, modello 400 Spectrum della Perkin Elmer dotato di un rilevatore DTGS e un accessorio di Attenuated Total Reflectance (ATR)) per valutare il contenuto di acidi grassi liberi nei semi di canapa e nell'olio da essi ottenuto per spremitura a freddo, valutando l'area della banda degli acidi carbossilici presente a circa 1700 cm^{-1} .

La spettroscopia FTIR è diventata un'interessante alternativa ai metodi analitici tradizionali grazie alla piccola quantità di campione necessaria, alla preparazione semplice che non richiede solventi organici e alla rapidità e riproducibilità delle analisi.

I recenti sviluppi nella strumentazione per spettroscopia ATR-FTIR e le applicazioni di questa tecnica si sono ampliate nella ricerca alimentare, facilitando in particolare gli studi su oli e grassi alimentari

In conclusione, i risultati ottenuti suggeriscono che il trattamento con azoto sembra avere poca influenza sulla composizione chimica dei semi mentre le differenze sono state riscontrate tra le diverse varietà. Il rapporto omega 3/omega 6 nei semi controllo e sottoposti a trattamento rientra nell'intervallo ottimale definito sulla base della letteratura. Sembrano avere molta influenza le condizioni pedoclimatiche in quanto dai risultati ottenuti hanno mostrato di essere determinanti. Pertanto, si ritiene che i risultati anche se necessitano di ulteriori approfondimenti, potrebbero fornire indicazioni agli agricoltori che sono chiamati ad attuare rapidamente modifiche alle pratiche agronomiche con l'obiettivo di mitigare gli impatti ambientali causati da stagioni particolarmente aride o piovose.

WP6 – IPCB-CNR

WP6: Valorizzazione dei sottoprodotti provenienti dalle attività di campo e dalle attività di prima trasformazione

A cura di Dr. Barbara Immirzi e Mario Malinconico

Come premessa generale bisogna dire che la pandemia ha provocato una interruzione di lavoro in laboratorio che si è protratta per almeno 8 mesi nel 2020 e che ha provocato rallentamenti nell'ultima parte dell'anno fino all'estate del 2021, poiché il CNR ha limitato moltissimo l'accesso ai luoghi di lavoro, ai laboratori ed alle apparecchiature.

WP6_A. Preparazione spray

Dopo i risultati non molto positivi delle prove su vaso e nella campagna in campo a Montecorvino Rovella, abbiamo dedicato la nostra attenzione alla scelta di un diverso polisaccaride da utilizzare come matrice per la nostra geo-membrana. Abbiamo quindi pensato alla pectina, un polisaccaride che si estrae dagli scarti degli agrumi. È solubile in acqua e non in acido acetico, e questo è un vantaggio per la pianta, in quanto avevamo visto che i semi di canapa sono sensibili all'acido. Anche in questo caso abbiamo proceduto con prove su vasi in scala di laboratorio per verificare la concentrazione ottimale sia di pectina sia di fibra di cellulosa da aggiungere. Parallelamente abbiamo utilizzato ancora una volta l'alginato di sodio, ancora in combinazione con la fibra di cellulosa per effettuare prove in piccolo, su vaso, per verificare la germogliabilità dei semi di canapa ricevuti. In entrambi i casi non ci sono stati grossi problemi di germogliabilità, come si evince nel caso della pectina (**Fig.13**)



Figura 11-Prova con soluzione di alginato di Sodio



Figura 12: Prova con soluzione di Pectina



Figura 13: Prove di germinabilità con soluzione di pectina

A questo punto abbiamo preparato, sempre su scala di laboratorio, 200 litri di una soluzione a base di pectina, glicerolo, fibra di cellulosa. La preparazione è stata laboriosa, date le quantità. La prova inizialmente doveva avvenire presso il campo di Acerra, poi, per motivi tecnici, è stata effettuata a luglio inoltrato a Sant'Angelo in Formis. Purtroppo, data la quantità preparata, non si è avuta una buona dispersione della fibra di cellulosa nella soluzione e non si è riuscito a coprire tutto il campo.



Figura 14: Campo di S. Angelo in Formis appena applicato



Figura 15: Campo di S. Angelo in Formis dopo 1 mese



Figura 16: Campo di S. Angelo in Formis

Come si vede dalle foto, la soluzione non è stata spruzzata bene, ma dove c'è è riuscita ad evitare la crescita delle erbe spontanee (**Fig. 15 e 16**).

WP6_B Valorizzazione degli scarti ligno-cellulosici

Nel corso dell'ultimo anno di attività ci siamo dedicato alla preparazione di oggetti per agricoltura a base di scarti di lavorazione della canapa. La nostra attività era incentrata sulla preparazione di vasetti o oggetti di altre forme ottenuti con mescole di polisaccaridi da fonti rinnovabili, quali alginato di sodio, chitosano, pectina, carbossimetilcellulosa, contenenti fibre di scarto e plasticizzanti naturali. Questi oggetti sono biodegradabili nei terreni agricoli e potenzialmente possono sostituire i contenitori in polistirene che si trovano nei vivai. Nella relazione da adesso in poi sono identificati con il termine "composito".

Come resina abbiamo testato l'alginato di sodio (**Fig 17**). Questo è un polisaccaride che si estrae dalle alghe ed è costituito da una catena contenente due unità monomeriche diverse, l'acido guluronico e l'acido mannuronico. La presenza di questi due monomeri in catena rende il polisaccaride solubile in acqua, ma lo rendono insolubile quando esso viene in contatto con ioni bivalenti, quali Ca^{2+} , Fe^{2+} e altri ioni bivalenti, che si possono trovare tranquillamente nei terreni.

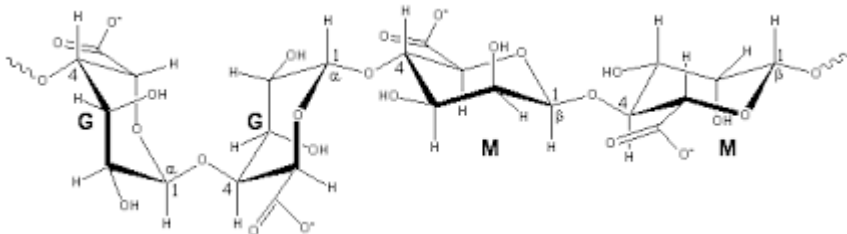


Figura 17: Struttura dell'alginato

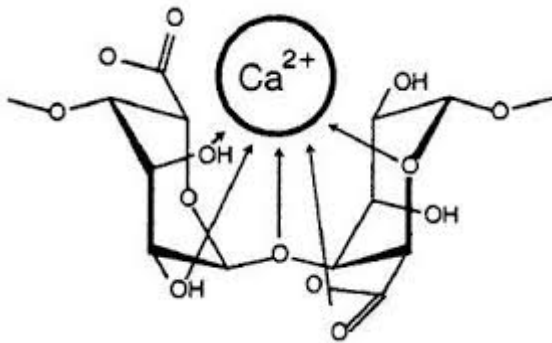


Figura 18: Ione Ca^{2+} chelato dalle unità guluroniche

Dalle **figure 17 e 18** si evince che quando il Ca^{2+} è intrappolato dalle unità guluroniche, l'alginato diventa insolubile in acqua. Quindi il composto costituito da alginato e fibre può rimanere nel terreno per un tempo sufficientemente lungo da permettere alla pianta contenuta in esso di crescere e svilupparsi prima che il composto si disperda nel terreno (**Figura 19**).



Figura 19: Vasetti dopo 20 giorni nel terreno

Alla luce di questi risultati, abbiamo deciso di puntare su altre forme, poiché i vasetti, a causa della loro forma, non hanno mostrato una buona resistenza alla rottura ed inoltre sono molto sensibili all'umidità.

Inoltre, sempre per sfruttare la presenza degli ioni bivalenti nel terreno, ma cercando di modulare la durata dei composti nel terreno, abbiamo deciso di utilizzare anche altri polisaccaridi come resine, quali la pectina e la carbossimetilcellulosa.

La pectina (P) si estrae dai residui degli agrumi, in modo prevalente, ma è anche presente nei pomodori, carciofi e canapa. (**Fig. 20**)

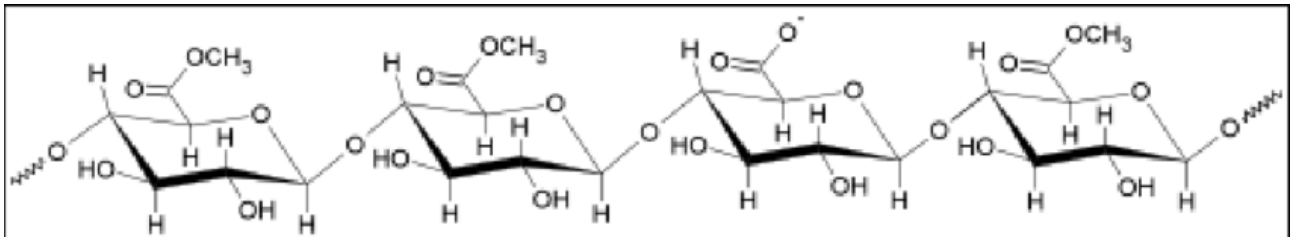


Figura 20: Struttura della pectina

Le soluzioni di pectina utilizzate per la preparazione dei composti è molto poco viscosa e questo si traduce in un composto non molto coeso, con una densità bassa, più vicina a quella degli alveolari di polistirene utilizzati dal mercato, con un tempo di biodegradazione nel terreno minore.



Figura 21: Residuo di canapa con pectina e glicerolo

La carbossimetilcellulosa (CMC) (**Fig 22**) è un derivato della cellulosa, utilizzabile come additivo alimentare, come addensante e nella produzione di carte per imballaggio alimentare.

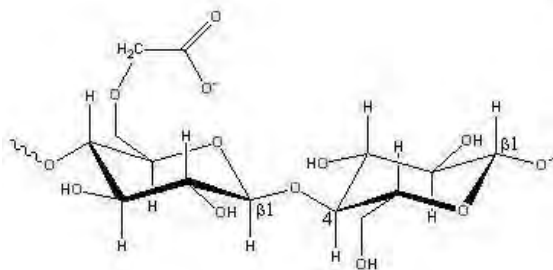


Figura 22: Struttura della carbossimetilcellulosa

I composti ottenuti utilizzando la CMC mostrano una densità nettamente superiore a quella dei composti con la pectina.



Figura 23: Compositi a base di CMC e fibra di canapa

Per verificare la resistenza meccanica dei tozzetti sono state eseguite prove di compressione (**Fig. 24**). Il campione, della dimensione di 2 in², sono posti in una macchina Instron e sottoposti ad una pressione costante fino a cedimento del provino. I risultati riportati sono ottenuti mediando su 5 provini.



Figura 24: Prove a compressione

Nella **Tabella A** sono riportati i valori ottenuti da prove a compressione di due compositi a confronto.

Tabella A: Risultati della prova a compressione

Campione	Sforzo (MPa)	Deformazione (mm/min)	Modulo di Young (MPa)
CMC/Fibra/Gly	0.5 ± 0.01	0.3 ± 0.01	1.2 ± 0.01
A/Fibra/Gly	0.8 ± 0.1	0.3 ± 0.01	3.5 ± 0.05

Dai risultati avuti si può dedurre che i campioni a base di alginato sono più resistenti alla compressione, mostrando un valore del modulo di Young maggiore. Questi risultati ci portano ad ipotizzare una migliore resistenza dei compositi a base di alginato nella conservazione dei tozzetti, ma anche ad una maggiore durata del materiale nel terreno prima della bio-erosione.

Sono state quindi eseguite prove di bio-erosione nel terreno per verificare la durata dei tozzetti in previsione di una prova in pieno campo con piante o semi a dimora.

Sono stati interrati 10 cubetti da 1 in² di composito a base alginato in un terreno presso il Comprensorio Olivetti (sede dell'IPCB) e sono stati prelevato dopo 1, 2 e 3 settimane dall'interramento. **Nelle Fig. 25 - 28** sono riportati i compositi durante le varie fasi del test.



Figura 25: Composito appena interrato

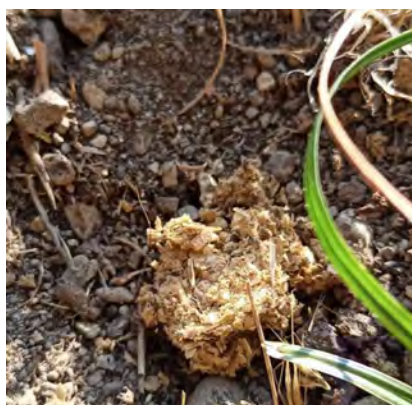


Figura 26: Composito dopo 1 settimana



Figura 27: Composito dopo 2 settimane

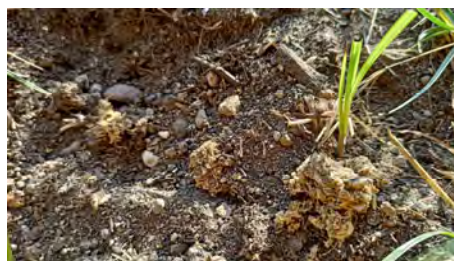


Figura 28: Composito dopo 3 settimane

Dalle foto si vede come questo tipo di composito mantiene una forma durante la prima settimana, per poi diventare sempre più eroso man mano che passa il tempo.

Questo ci conforta circa la possibilità di poter arrivare alla produzione su scala maggiore di compositi anche di altre composizioni e poter procedere a prove di crescita di piante su scala maggiore.



WP6.4: Valorizzazione dei sottoprodotti provenienti dalle attività di campo e dalle attività di prima trasformazione IRET-CNR (ex IBAF).

A cura di Dr. Francesco La Cara, Dr. Elena Ionata e Dr Loredana Marcolongo

L'attività del WP6.4 si è incentrata sulla messa a punto di processi di estrazione ecosostenibile di molecole bioattive con tecnologie enzimatiche a basso impatto ambientale e nel trattamento dei sottoprodotti di scarto allo scopo di ottenere zuccheri fermentabili per la produzione di bioenergia e biochemicals.

La canapa industriale è al centro di rinnovato interesse da parte del mondo agricolo, industriale e più in generale imprenditoriale per sue le caratteristiche e i molteplici usi che la rendono particolarmente vicina ai principi della green economy. Negli ultimi anni è stata rivolta notevole attenzione alla canapa come fonte di biomassa utilizzabile per vari scopi. L'utilizzo più vantaggioso della canapa prevede lo sfruttamento integrato della pianta. Esso consiste nella valorizzazione anche dei suoi residui come importante fonte di lignocellulosa da impiegare a fini bioenergetici e per la produzione di biochemicals dopo aver utilizzato parti diverse della pianta come semi, fiori e foglie per scopi alimentari, nutraceutici, fitoterapici e cosmetici.

Allo scopo di ridurre le emissioni di CO₂ in atmosfera, riveste notevole interesse la produzione di bioetanolo o biogas sfruttando la fermentazione da parte dei microrganismi degli zuccheri di cui i materiali lignocellulosici sono una importante riserva. La produzione di bioetanolo è possibile dalla canapa industriale grazie alla sua composizione caratterizzata da un elevato contenuto in carboidrati (55-79 % del peso secco) che consta del 43-59% di cellulosa, 12-22% di emicellulosa. Inoltre il ridotto contenuto di lignina (8-25% nelle piante adulte e solo il 4% in fibre fresche e verdi) rappresenta un ulteriore vantaggio in quanto riduce notevolmente la recalcitranza della biomassa al processo di biococonversione in zuccheri fermentabili.

L'ottenimento di zuccheri fermentabili dalla canapa prevede il pretrattamento della biomassa per renderne le frazioni cellulosiche ed emicellulosiche suscettibili all'azione idrolitica degli enzimi (emi)cellulolitici che liberano zuccheri fermentabili.

Mediante fermentazione si ottiene la trasformazione di questi ultimi in biocarburanti come il bioetanolo oppure in altri prodotti come polioidrossialcanoati, acido lattico o succinico, ad elevato valore aggiunto e versatili grazie ai loro molteplici utilizzi in campo alimentare, farmaceutico e dei polimeri biodegradabili.

Le prove sperimentali fondamentali sono state svolte utilizzando lo stelo di *C. sativa* privato delle foglie ed essiccato, come residuo della pianta di canapa dopo la raccolta del seme. Tale scelta è stata guidata dal fatto che il maggior quantitativo di polisaccaridi strutturali si trovano nello stelo. Quest'ultimo infatti è composto da 45-49 % di cellulosa e 12-22 % di emicellulosa mentre le foglie, che prevalentemente sono destinate a vevoli utilizzi in ambito alimentare, nutraceutico, fitoterapico e cosmetico, contengono solo il 15-20 % di cellulosa e quantità trascurabili di emicellulosa.

Gli steli di canapa essiccati e finemente triturati, sono stati sottoposti a pretrattamenti fisico-chimici per migliorare la accessibilità della cellulosa da parte degli enzimi idrolitici provocando la rimozione della lignina, la parziale solubilizzazione della emicellulosa e la riduzione del livello di cristallinità della cellulosa stessa.

Inizialmente i pretrattamenti utilizzati sono stati di due tipi:
fisico-chimico (esplosione di vapore o steam explosion SE)
chimico (trattamento con idrossido di ammonio o aqueous ammonia soaking AAS).

ESPLOSIONE DI VAPORE.

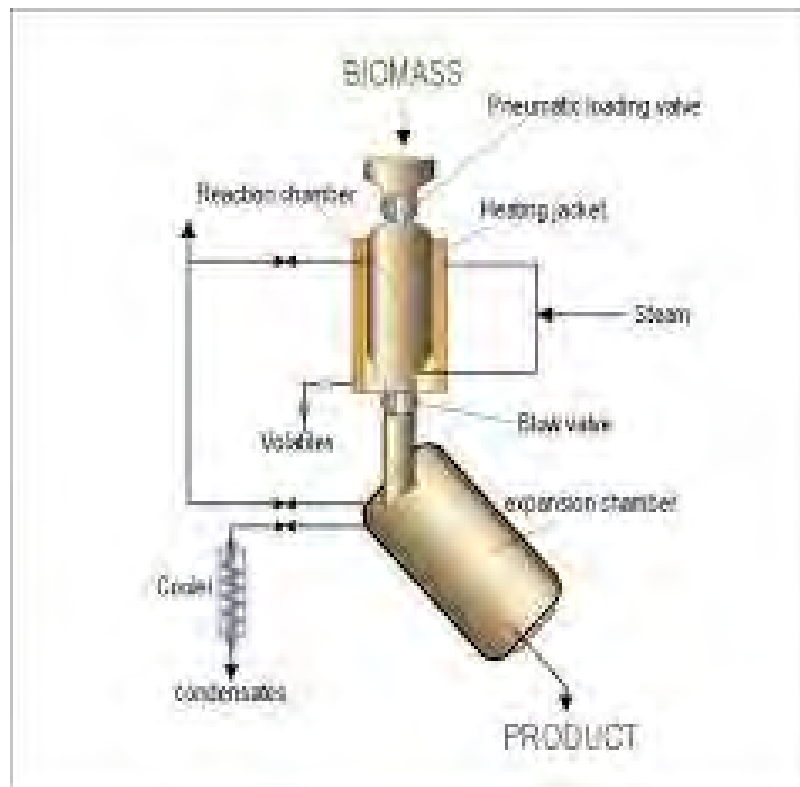


Figura 29- Schema di un impianto per pretrattamento della biomassa per esplosione di vapore.

La esplosione di vapore è stata realizzata in un reattore (**Fig. 29**) dove la biomassa essiccata e finemente triturata è stata sottoposta a trattamento con vapore ad elevate temperatura e pressione. La successiva repentina decompressione alla pressione atmosferica e la temperatura elevata, causando elevate forze di shear, hanno portato alla distruzione della rigida struttura delle fibre della biomassa modificando il materiale di partenza in un solido con aspetto fibroso disperso.

Si è avuta una redistribuzione dei componenti della biomassa lignocellulosica: la emicellulosa è stata degradata e solubilizzata nella frazione acquosa, la lignina è stata depolimerizzata e la cellulosa è stata in larga parte preservata.



Figura 30-Aspetto della biomassa di *C. sativa* dopo triturazione (A) e dopo pretrattamento per esplosione di vapore (B).

TRATTAMENTO CON IDROSSIDO DI AMMONIO.

La biomassa triturata è stata immersa in una soluzione acquosa di ammoniaca al 10% (v/v) a 70 °C per 22 ore. I residui recuperati per centrifugazione sono stati lavati estensivamente con tampone sodio acetato 50 mM fino a raggiungere pH 5,0. Il trattamento ha provocato l'idrolisi della lignina che è stata allontanata, preservando la emicellulosa e cellulosa. Le composizioni delle biomasse trattate e non trattate sono state poi caratterizzata mediante analisi HPLC.

Tab.1 Composizione (% del peso secco) della biomassa da *C. sativa* prima del pretrattamento e dopo aver subito l'esplosione di vapore (steam explosion) oppure il trattamento con idrossido di ammonio (NH₄OH).

Composizione (% peso secco)			
	No pretrattamento	Steam explosion	NH₄OH
Cellulosa	45,3	42,6	65,2
Xilano	21,5	6,3	25,0
Lignina	19,7	25,2	8,7

Come si può notare dai dati riportati in tabella 1, con la steam explosion (SE) la maggior parte dello xilano, il maggior costituente della emicellulosa, è stato rimosso ed il suo contenuto è passato dal 21,5 % al 6,3 % del peso secco della biomassa. Ciò ha reso la cellulosa più suscettibile all'attacco degradativo degli enzimi idrolitici.

La AAS invece ha consentito la riduzione della lignina dal 19,7 al 8,7% e un conseguente arricchimento in cellulosa e xilano che sono passati a rappresentare il 65,2 e 25,0 % della biomassa pretrattata.

Le biomasse pretrattate sono state successivamente sottoposte ad idrolisi della componente cellulosa ed emicellulosica utilizzando un cocktail enzimatico costituito da componenti attive sia sulla cellulosa che sullo xilano.

Il sistema enzimatico in grado di degradare la cellulosa prevede l'azione in sinergia delle endo-glucanasi, comunemente dette cellulasi, che idrolizzano la cellulosa in oligosaccaridi i quali vengono idrolizzati a loro volta in molecole di glucosio da parte delle β -glucosidasi.



Lo xilano viene invece idrolizzato dalle xilanasi che riducono lo scheletro principale di molecole di xilosio in xilooligosaccaridi che vengono degradati a loro volta in xilosio dalle β -xilosidasi. Le ramificazioni vengono invece rimosse mediante l'azione di enzimi deramificanti quali α -arabinofuranosidasi, α -glucuronidasi, acetil esterasi etc.

La biomassa pretrattata è stata risospesa in quantità del 5% (peso /volume) in una soluzione di 50 mM sodio acetato pH 5.0, e sono stati aggiunti gli enzimi nelle dovute proporzioni. La bioconversione è stata condotta a 50 °C in un blocchetto termostato per 72 h e prelievi di sopratanante sono stati effettuati anche a 24 e 48 h. E' stato valutato a bioconversione terminata per HPLC il contenuto degli zuccheri (glucosio e xilosio) presenti nel sopratanante prelevato a 24, 48 e 72 h. I risultati sono stati espressi come percentuali di glucosio e xilosio recuperati rispetto al contenuto dei due monosaccaridi presenti nella biomassa di partenza pretrattata.

La mix enzimatica utilizzata nei nostri esperimenti denominata EC è stata costituita dalla componente cellulolitica (costituita dalla endo-glucanasi da *Trichoderma reesei* e la β -glucosidasi da *Aspergillus niger*) e la componente xilanolitica (costituita dalla xilanasi da *Trichoderma viride* e da una β -xilosidasi) nelle proporzioni di seguito indicate:

cellulasi da *T. reesei* ATCC 26921 (5.4 U g⁻¹ di biomassa pretrattata)

β -glucosidasi da *A. niger* (145 U g⁻¹)

xilanasi da *T. viride* (80 U g⁻¹)

β -xilosidasi (8 U g⁻¹)

Tab. 2 Rese % di glucosio e xilosio ottenute dopo idrolisi enzimatica con la mix EC. I risultati vengono espressi come percentuali di glucosio e xilosio recuperati rispetto al contenuto dei 2 monosaccaridi presenti nella biomassa di partenza pretrattata. Tali rese sono espresse anche come concentrazioni (g/L) di monosaccaridi rilevate nel surnatante dopo bioconversione.

Pretrattamento	% glucosio 24 h	% glucosio 48 h	% glucosio 72 h	% xilosio 24 h	% xilosio 48 h	% xilosio 72 h
Esplosione di vapore	27,2 (5,7 g/L)	43,2 (9,2 g/L)	73,2 (15,6 g/L)	47,5 (1,5 g/L)	71,5 (2,25 g/L)	95,8 (3,1 g/L)
NH₄OH	19,6 (6,3 g/L)	28,5 (9,2 g/L)	60,9 (19,7 g/L)	41,8 (5,2 g/L)	54,7 (6,8 g/L)	75,3 (9,4 g/L)

Come riportato in Tab. 2, i valori più elevati di recupero di entrambi i monosaccaridi si ottenevano dopo 72 h. Inoltre i valori di recupero percentuale maggiori sia per il glucosio che per lo xilosio sono stati quelli ottenuti con la biomassa sottoposta a steam explosion.

Tuttavia analizzando i risultati espressi in termini assoluti in g/L si nota che dopo 72 h in realtà il maggior recupero, sia nel caso del glucosio che dello xilosio, si otteneva utilizzando la biomassa pretrattata con idrossido di ammonio.

Il pretrattamento con l'idrossido di ammonio permette recuperi migliori per entrambi i monosaccaridi perché rimuove una maggior quantità di lignina dalla biomassa rendendo meglio esposte all'attacco enzimatico cellulosa ed emicellulosa.



Inoltre poiché nella biomassa pretrattata con NH_4OH la emicellulosa non viene rimossa e la cellulosa viene lasciata inalterata, il materiale di partenza è più ricco in cellulosa ed emicellulosa. A causa di ciò, le rese percentuali di glucosio e xilosio sono risultate più basse ma i recuperi effettivi espressi in g/L sono stati più elevati.

Successivamente, per migliorare l'idrolisi della emicellulosa e cellulosa, la composizione della mix enzimatica è stata modificata mediante l'aggiunta della α -arabinofuranosidasi da *Clostridium thermocellum*, enzima accessorio xilanolitico che agisce scindendo i legami glicosidici α 1-3 tra le molecole di L- arabinosio e quelle di xilosio della catena lineare principale dello xilano. La nuova mix è stata denominata EC + ara.

Tab. 3 Rese % del glucosio ottenuto con biomassa pretrattata mediante esplosione di vapore (SE) o con NH_4OH utilizzando i cocktail enzimatici EC ed EC + ara. Tali rese sono espresse anche come concentrazioni (g/L) di monosaccaridi rilevate nel surnatante dopo bioconversione.

Mix enzimatica	SE % glucosio 24 h	SE % glucosio 48 h	SE % glucosio 72 h	NH_4OH % glucosio 24 h	NH_4OH % glucosio 48 h	NH_4OH % glucosio 72 h
EC	27,2 (5,7 g/L)	43,2 (9,2 g/L)	73,2 (15,6 g/L)	19,6 (6,3 g/L)	28,5 (9,2 g/L)	60,9 (19,7 g/L)
EC + ara	30,3 (6,4 g/L)	48,5 (10,3 g/L)	75,4 (16,0 g/L)	23,4 (7,6 g/L)	34,7 (11,3 g/L)	63,1 (20,5 g/L)

In tab. 3 sono riportati il recupero di glucosio ottenuto dopo l'aggiunta al cocktail enzimatico della α -arabinofuranosidasi; nella prima riga, per rendere più semplice paragonare i valori delle rese ottenute con e senza l'arabinofuranosidasi, sono riportati i valori, delle rese di glucosio ottenuti con la mix enzimatica (EC) non contenente l'arabinofuranosidasi, già presentati nella tab. 2.

Come si nota dai dati riportati si è verificato un leggero miglioramento nelle rese percentuali di glucosio del 2 e 3 % rispettivamente per le bioconversioni con biomassa pretrattata per SE o con NH_4OH .

L'effetto dell'aggiunta della α -arabinofuranosidasi sul recupero dello xilosio è riportato nei grafici di **figura 31**.

I maggiori incrementi nelle rese percentuali si verificano quando la bioconversione è stata condotta con biomassa pretrattata con NH_4OH (**figura 31B**). Ciò è particolarmente evidente dopo 72 h di bioconversione dove, con la biomassa pretrattata con NH_4OH , si rilevano incrementi del recupero percentuale dello xilosio di circa il 9,4 % mentre con biomassa pretrattata con SE l'incremento è del 1,3 % (**figura 31A**).

Inoltre sebbene il valore percentuale di recupero dello xilosio rilevato dopo 72 h con biomassa pretrattata con NH_4OH (84,6 %) sia inferiore rispetto a quello ottenuto pretrattando mediante esplosione di vapore (97,1 %), il recupero di xilosio effettivo (10,6 g/L) è superiore a quello ottenuto utilizzando la esplosione di vapore (3,15 g/L).

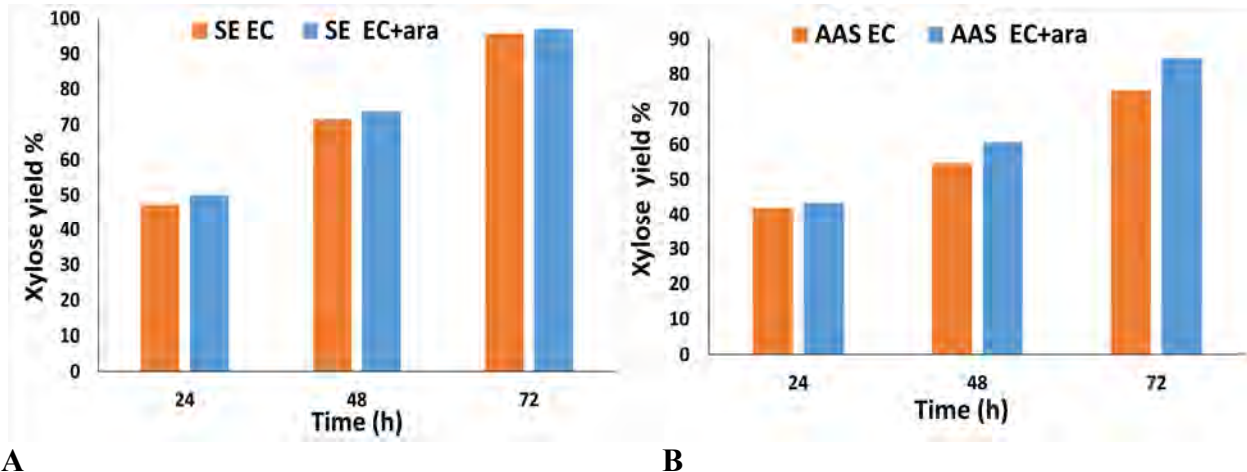


Figura 31- Rese % in xilosio utilizzando la biomassa pretrattata per esplosione di vapore (A) oppure con NH_4OH (B) e le due mix enzimatiche EC ed EC + ara.

Gli esperimenti successivi, volti a migliorare il recupero degli zuccheri fermentabili, hanno visto l'utilizzo di *C. sativa* pretrattata mediante AAS (aqueous ammonia soaking) poiché è un materiale di partenza con un minor quantitativo di lignina e più ricco in cellulosa e xilano. I biocatalizzatori utilizzati sono stati due enzimi xilanolitici dotati rispettivamente di attività endo-xilanasica e β -xilosidasi, prodotti nel nostro laboratorio in sostituzione delle controparti commerciali, in associazione ad attività commerciali costituite dagli enzimi cellulolitici (endo-glucanasi da *Trichoderma reesei* e la β -glucosidasi da *Aspergillus niger*) e da attività xilanolitiche ausiliarie rappresentate dalla α -arabinofuranosidasi e da una α -glucuronidasi (enzima che idrolizza i legami α 1-2 tra le molecole di acido glucuronico e quelle di xilosio della catena lineare principale dello xilano).

Le quantità testate dei diversi biocatalizzatori nella nuova mix enzimatica per la saccarificazione, denominata EC + ara*, sono le seguenti:

cellulasi da *T. reesei* ATCC 26921 (5.4 U g^{-1} di biomassa pretrattata)

β -glucosidasi da *A. niger* (145 U g^{-1})

xilanasasi da *Geobacillus thermodenitrificans* (GtXyn) (70 U g^{-1})

β -xilosidasi da *Anoxybacillus sp* (AbXyl) (12 U g^{-1})

α -arabinofuranosidasi da *C. thermocellum* (28 U g^{-1})

α -glucuronidasi da *Geobacillus stearothermophilus* (5 U g^{-1})

Come si può notare dai risultati preliminari riportati nei grafici di **figura 32** dopo idrolisi enzimatica si è ottenuto un aumento della resa dello xilosio dopo 72 h di biotrasformazione che da 84,6 % (10,6 g/L) ottenuto in precedenza con la mix EC + ara, è arrivata al 92,1 % (11,5 g/L) ed una velocizzazione nel tempo del recupero del monosaccaride, la cui resa dopo 48 h era già del 70,3 %. Il recupero del glucosio non ha subito incrementi significativi rispetto a quelli raggiunti con il cocktail enzimatico EC + ara (massimo valore raggiunto dopo 72 h di biotrasformazione 65,6 % pari a 21,4 g/L).

Gli ultimi esperimenti hanno riguardato l'applicazione di un nuovo metodo di pretrattamento degli scarti di *C. sativa* volto a massimizzare il recupero della frazione cellulosa della biomassa.

La biomassa essiccata e tritata è stata trattata con una miscela acido formico (HCOOH)/ perossido di idrogeno (H₂O₂) alla temperatura di 70 °C per 4 ore. La biomassa delignificata è stata lavata con acqua distillata e poi essiccata.

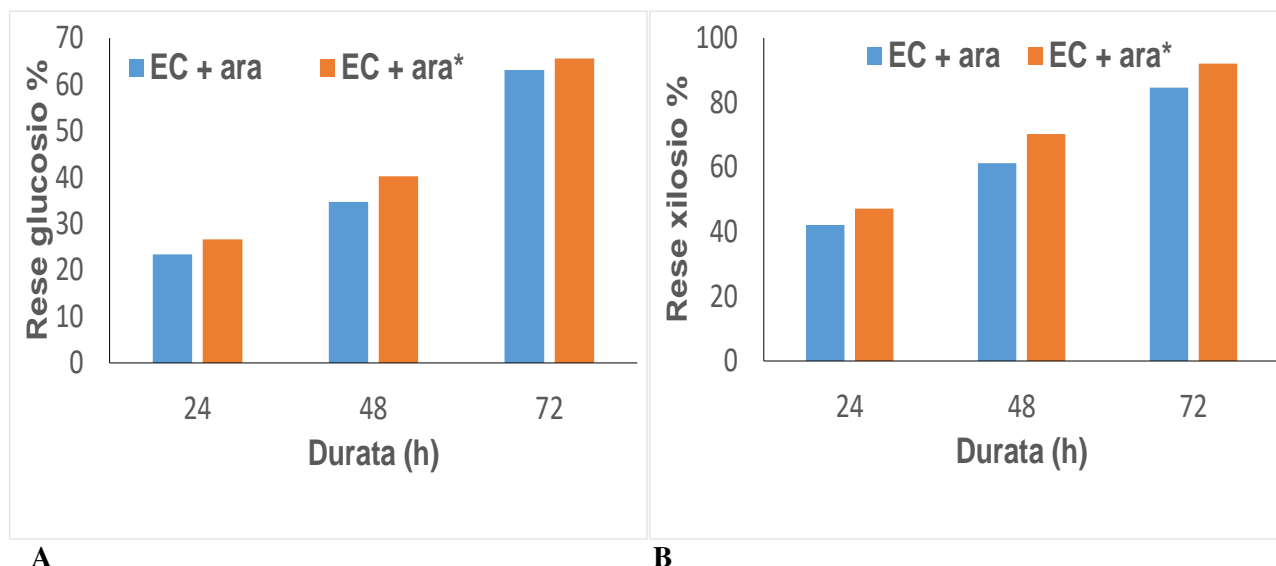


Figura 32- Rese % di glucosio (A) e xilosio (B) ottenute con *C. sativa* pretrattata per AAS utilizzando le due mix enzimatiche EC + ara ed EC + ara*

Tab. 4 Composizione (% del peso secco) della biomassa da steli di *C. sativa* prima del pretrattamento e dopo aver subito il trattamento con HCOOH/H₂O₂

Composizione (% peso secco)		
Cellulosa	45,3	73,4
Xilano	21,5	19,7
Lignina	19,7	3,1

Dai dati riportati in tab. 4 si nota che il pretrattamento effettuato ha permesso di migliorare la rimozione della lignina senza intaccare sostanzialmente la cellulosa.

La presenza percentuale della lignina infatti, si è ridotta notevolmente ed in particolare dal 19,7 % presente nella biomassa non trattata essa è scesa al 3,1 %. Tale valore risulta inferiore (del 5,6 %) anche rispetto al valore più basso raggiunto in precedenza con il pretrattamento con NH₄OH (8,7 %). Inoltre il contenuto di cellulosa è passato dal 45,3 % della biomassa non pretrattata al 73,4 % raggiungendo anche il valore più elevato dopo pretrattamento.



Tab.5 Rese percentuali di glucosio e xilosio dopo saccarificazione enzimatica con mix EC della biomassa pretrattata con acido formico/H₂O₂. Tali rese sono espresse anche come concentrazioni (g/L) di monosaccaridi rilevate nel surnatante dopo bioconversione.

Durata bioconversione (h)	glucosio (%)	xilosio (%)
24	36,2 (13,3 g/L)	38,2 (3,8 mg/L)
48	50,6 (18,6 g/L)	65,6 (6,5 g/L)
72	76,4 (28,0 g/L)	89,2 (8,7 g/L)

L'idrolisi enzimatica della biomassa pretrattata con acido formico/H₂O₂ è stata effettuata con il cocktail enzimatico EC composto dagli enzimi commerciali ad attività cellulase e xilanase.

Come riportato in tabella 5, il recupero del glucosio dopo 72 h è stato pari al 76,4 % (28 g/L) risultando così superiore al miglior recupero finora ottenuto che è stato quello raggiunto con la biomassa pretrattata con AAS dopo saccarificazione con la mix enzimatica EC+ ara* (65,6 % pari a 21,4 g/L).

Il recupero dello xilosio (89,1 %) è molto vicino in termini percentuali a quello del 92,1 % (11,5 g/L) raggiunto mediante la bioconversione della biomassa pretrattata con AAS con la mix enzimatica EC+ara* sebbene il quantitativo in g/L di xilosio ottenuto (8,74 g/L) sia minore.

In conclusione, le nostre attività sperimentali hanno consentito di ottenere risultati utili alla definizione di un protocollo per il recupero di monosaccaridi da scarti della lavorazione della *C. sativa*, materiale caratterizzato da un elevato contenuto di polisaccaridi strutturali che rappresentano una importante riserva di zuccheri fermentabili.

Dei tre pretrattamenti esplorati, quello con HCOOH/H₂O₂ ha consentito l'allontanamento della maggior parte della lignina, il recupero della più elevata quantità di cellulosa e di un buon quantitativo di xilano. Dall'idrolisi enzimatica di tali polisaccaridi, il recupero di zuccheri fermentabili pari a 36,7 g/L, costituito da 28 g/L di glucosio e 8,7 g/L di xilosio, è stato il più elevato tra quelli raggiunti con i pretrattamenti effettuati.

Portici il 28/12/2021

Con Osservanza

Il referente Unità CNR
Dr. Anna Tedeschi

Progetto ProHemPil UniCampania

Al fine di conseguire gli obiettivi di 1) *comparazione di metodi alternativi per l'estrazione di olio di semi di canapa*, 2) *valutazione degli effetti dell'ambiente e delle pratiche agronomiche ed estrattive sulla qualità dell'olio di semi di canapa a destinazione alimentare*, 3) *valorizzazione dei sottoprodotti provenienti dalle attività di campo e dalle attività di prima trasformazione*, le attività dell'Unità UniCampania sono state inizialmente volte alla comprensione della fitochimica del seme e all'ottimizzazione di tecniche estrattive alternative per l'ottenimento dell'olio di canapa. Lo studio chimico del frutto e di altri organi della pianta nelle diverse fasi del ciclo di vita ha consentito la messa a punto di un approccio analitico in spettrometria di massa ad alta risoluzione per la rapida identificazione quali- e quantitativa dei suoi metaboliti specializzati ed il loro utilizzo in nutraceutica e cosmeceutica. Il recupero della componente polisaccaridica dai fusti della specie ha posto altresì le basi per nuove e future applicazioni.

L'unità Unicampania ha, sin dall'inizio delle attività progettuali, anche disponendo di semi non da selezione per le attività di progetto, valutato la possibilità di adottare metodi di estrazione alternativa e a basso impatto ambientale per l'ottenimento dell'olio di semi di canapa, attualmente prodotto mediante spremitura a freddo. Tra le tecniche adottate, anche nella volontà di meglio studiare la fitochimica del frutto di canapa, e preservarne al più l'integrità strutturale e funzionale degli acidi grassi essenziali di cui è ricco, l'applicazione della tecnica macerativa con solvente food-grade, accelerata con ultrasuoni, è risultata di interesse per l'ottenimento di miscele *oil-like* e di un residuo di ulteriore interesse estrattivo.

Le miscele *oil-like*, così come inizialmente ottenute in fase di pre-semina, sebbene con rese diverse per le diverse varietà, presentano, come evidenziato dalle analisi in UHPLC HR-MS/MS, se comparate ad oli dalle stesse varietà da spremitura a freddo, un arricchimento in acidi grassi polinsaturi (Figura 1) e costituenti fenolici. L'estrazione selettiva favorisce un marcato decremento delle clorofille (Figura 2), che si sposa con il mantenimento della stabilità ossidativa dell'olio, come si ulteriormente attesta dalle analisi volte alla

determinazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico e del numero dei perossidi nel tempo (t0, t3g, t7g) e in condizioni analitiche di temperatura differenti (4 °C e 25 °C).

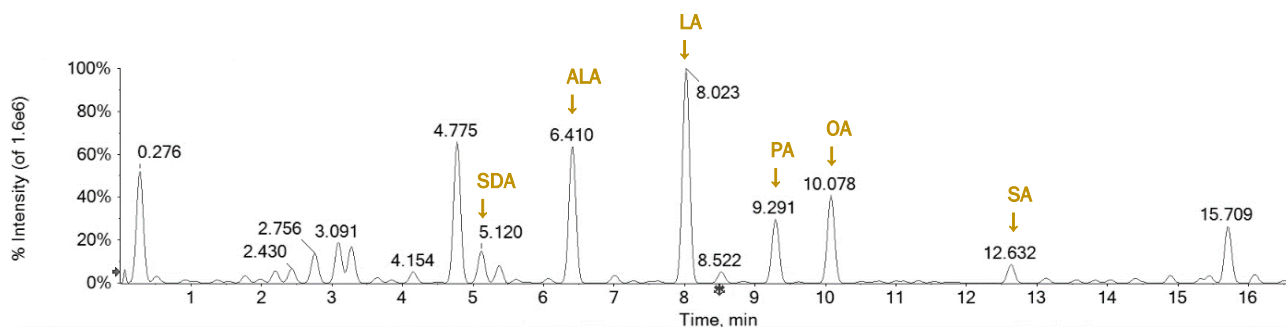


Figura 1. Profilo degli acidi grassi in miscela oil-like da seme di canapa, ottenuta mediante macerazione assistita da ultrasuoni (UAM). SDA = acido stearidonico; ALA = acido α -linolenico; LA = acido linoleico; PA = acido palmitico; OA = acido oleico; SA = acido stearico.

L'impatto dell'essiccazione del seme sulla qualità dell'olio è stato altresì valutato sottoponendo una parte dei campioni di semi a previa crio-essiccazione (Figura 2).

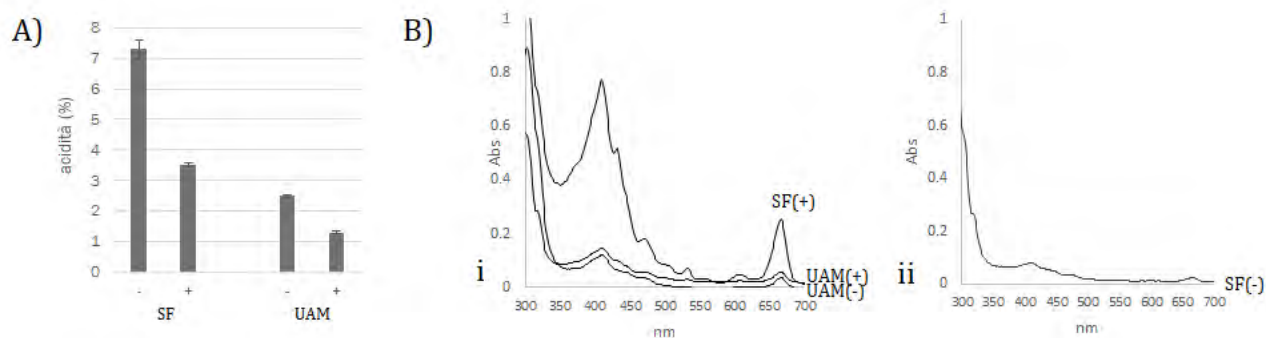


Figura 2. A) Acidità libera di campioni di olio da semi tal quali (-) o previamente crio-essiccati (+), ottenuti mediante spremitura a freddo (SF) o UAM. B) Profilo di clorofille e carotenoidi di i. campione SF(+), UAM(+) e UAM(-); ii. SF(-). Si evidenzia nel panel B)ii. il ruolo dell'essiccazione preventiva del seme.

La valutazione chimico-compositiva delle miscele oil-like e dell'olio da SF, condotta a mezzo delle tecniche di analisi spettroscopica e spettrometrica di massa, ne ha ancora rilevato la presenza di pre-cannabinoidi da tutti i semi delle varietà selezionate [Felina 32 (monoica, certificata SOC France e confezionata a gennaio 2019), Futura 75 (monoica, certificata SOC France e confezionata a dicembre 2018), e Carmagnola (dioica, certificata ex ENSE con cartellino OECD, destinata al commercio internazionale)].

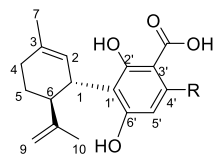
I fitocannabinoidi più abbondanti sono risultati gli isomeri costituzionali acido cannabidiolico, acido Δ^9 -tetraidrocannabinolico ed acido cannabicromenico. Al fine di una quantizzazione di queste sostanze, anche per meglio rispondere ad una necessità del futuro mercato dei prodotti a base di seme di canapa campano, a seguito dell'adeguamento della normativa e dell'entrata in vigore del decreto-legge del Ministero della Salute del 4 novembre 2019, che fissa per la prima volta i valori delle concentrazioni massime di THC totale ammissibili negli alimenti derivati dalla canapa, tra i quali proprio l'olio ottenuto dai semi, si è reso necessario l'isolamento delle sostanze.

La disponibilità di parti aeree della pianta, fornite dai partner aziendali di progetto al termine delle attività del primo anno, ha consentito la messa a punto di una strategia separativa per l'isolamento e la caratterizzazione strutturale di queste molecole. In particolare, strategie analitiche innovative in UHPLC-HR-MS/MS in modalità ionica negativa hanno favorito la discriminazione di cannabinoidi CBD-, THC- e CBC-*type* attraverso l'attento studio di ioni diagnostici. La grossa confusione e le limitanti informazioni dalla vasta letteratura scientifica hanno, partendo dagli oli ottenuti in ProHemPil, favorito dapprima l'isolamento in forma pura dei principali fitocannabinoidi acidi, tutti caratterizzati da un core resorcinolico, e poi lo studio della loro reattività alla dissociazione indotta dalla collisione.

Un primo studio analitico è stato condotto sull'estratto lipofilo da UAM dei campioni esaminati. Lo studio ha permesso di acquisire informazioni sulla presenza e sulla differenziazione di pre-cannabinoidi omologhi, da quelli metilici a quelli eptilici mai prima evidenziati, suggerendo che la complessità cannabinoide del seme e dei suoi prodotti, è ancora lungi dall'essere pienamente nota. Le strutture delle molecole identificate sono riportate in Figura 3.

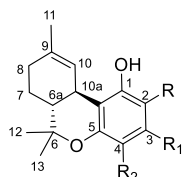
In Figura 4 sono riportati i dati da esperimenti di massa/massa (*Collision-Induced Dissociation* – CID).

CBD-type



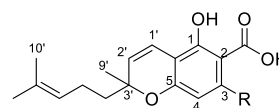
- 1 R = methyl
- 5 R = propyl
- 6 R = butyl
- 8 R = pentyl
- 10 R = hexyl
- 13 R = heptyl

THC-type

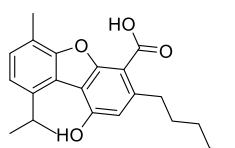


- 4 R = H, R₁ = pentyl, R₂ = COOH
- 7 R = COOH, R₁ = methyl, R₂ = H
- 11 R = COOH, R₁ = propyl, R₂ = H
- 15 R = COOH, R₁ = butyl, R₂ = H
- 19 R = COOH, R₁ = pentyl, R₂ = H

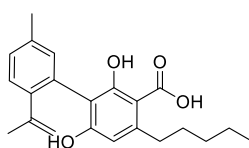
CBC-type



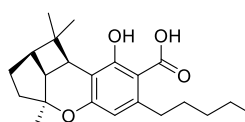
- 9 R = methyl
- 14 R = propyl
- 17 R = butyl
- 20 R = pentyl



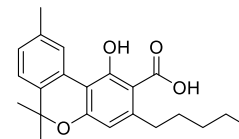
2 CBFA



3 CBNDA



12 CBLA



16 CBNA

Figura 3. Precannabinoidi con scheletro CBD-, THC- e CBC-type identificate a seguito di lavorazione delle parti aeree della pianta dopo collezione del seme.

È stato osservato che i precannabinoidi CBD-, THC- e CBC-type possono essere discriminati sulla base dell'identità del picco base e dell'intensità di frammenti ionici comuni, quando l'energia di collisione frammentava gli ioni precursori per il 70-75%.

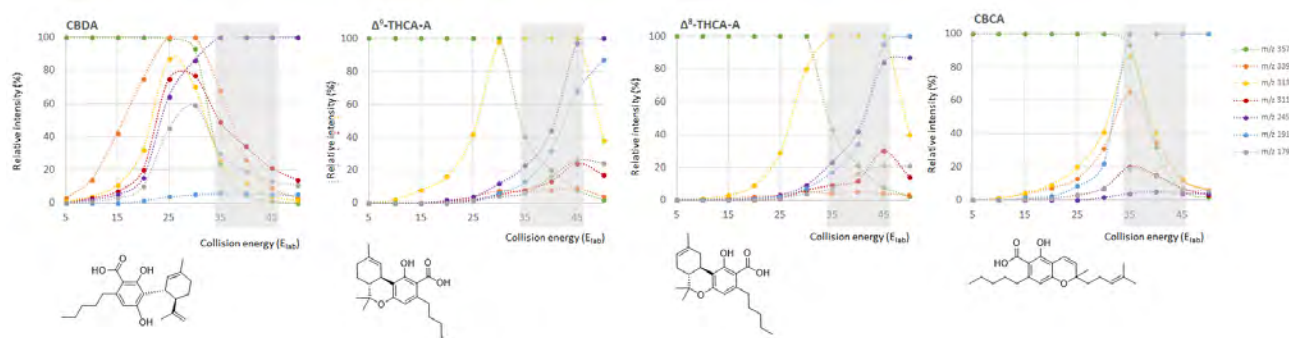


Figura 4. Energy-resolved CID mass spectra di CBDA, Δ^9 -THCA-A, Δ^8 -THCA-A e CBCA. L'energia di collisione migliore per discriminare questi isomeri è colorata in grigio. Sono riportate solo le masse nominali. (Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 201, 2021, 114125, doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114125)

Si è poi proceduto all'isolamento, con una procedura di frazionamento a due step, dei metaboliti più abbondanti la cui caratterizzazione ha beneficiato della spettroscopia NMR, IR, UV-Vis e della spettrometria di massa a tandem.

Le molecole isolate, con un grado di purezza >98%, sono risultate utili come standard di riferimento nell'allestimento delle relative curve di calibrazione per la loro precisa quantizzazione nel prodotto olio. Ai fini della quantizzazione delle molecole fitocannabinoidiche nel prodotto olio, le analisi sono state condotte mediante analisi HPLC-UV-DAD. Comparando il contenuto di CBD totale degli oli da spremitura meccanica a freddo con quelli ottenuti mediante estrazione accelerata da ultrasuoni, risultava evidente che il contenuto di CBDA è fortemente dipendente dalla cultivar considerata, oltre che dal processo di estrazione attuato (Figura 5). In particolare, gli oli da semi della varietà Futura 75 mostravano un maggiore contenuto in pre-cannabinoidi.

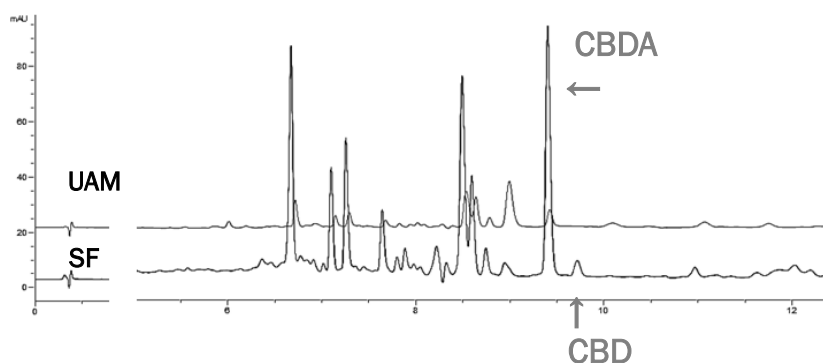


Figura 5. Profilo HPLC-UV/DAD di oli da SF e UAM da semi della cv Futura 75.

I principali precannabinoidi ed il cannabidiolo, cannabinoidi neutri formati dalla decarbossilazione dell'abbondante CBDA, sono stati quantizzati nei semi collezionati dal soggetto Capofila, al termine delle attività agronomiche dell'annualità 2019 e 2021. In Figura 4 sono riportati i dati relativi al contenuto di fitocannabinoidi in semi 2019 dai campi sperimentali di Acerra (az. Hemp Farm Lab srl) e Recale (az. Guarino).

È stata riscontrata un'alta incidenza di frutti vuoti e/o danneggiati (Figura 6). La carenza del vero seme si riflette in un incremento dei livelli di fitocannabinoidi, a sottolineare che i fitocannabinoidi sono parte integrante della costituzione del guscio esterno del frutto.

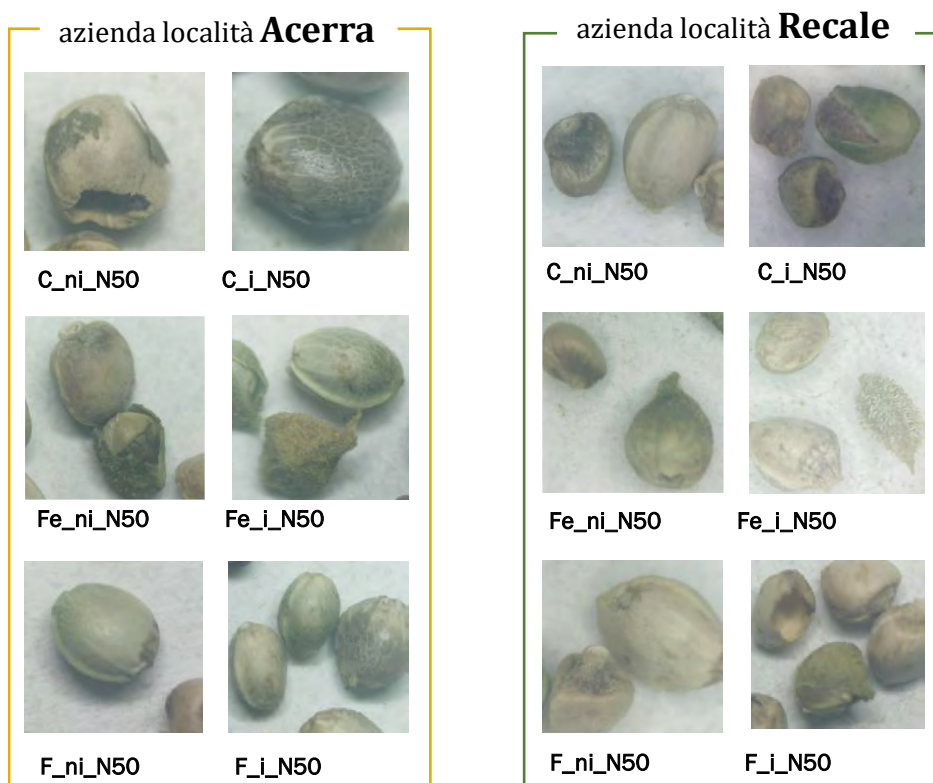


Figura 6. Immagini rappresentative di semi dalla raccolta 2019 sui campi di Acerra e di Recale, acquisiti allo stereomicroscopio. C = Carmagnola; Fe = Felina 32; F = Futura 75. N50 = livello di concimazione azotata 50 kg/ha; n.i. = asciutto; i. = irriguo.

I livelli dei tre cannabinoidi risentono dell'influenza della pratica agronomica adottata e delle condizioni pedoclimatiche nei siti di coltivazione (Figura 7). La varietà gioca un ruolo peculiare. Infatti, considerando i dati acquisiti da campioni da seme collezionato in località Acerra, è possibile osservare che i livelli di CBDA e CBD nei semi della varietà Carmagnola diminuiscono all'aumentare dei livelli di concimazione azotata; i livelli del solo CBD per le varietà Felina 32 e Futura 75 sono elevati in semi da parcella asciutto/assenza di concimazione azotata. I livelli di THCA appaiono, invece, incrementati nei semi della var. Carmagnola dalla località Recale nelle parcelle asciutto con livello di concimazione azotato nullo o pari a 50 kg/ha.

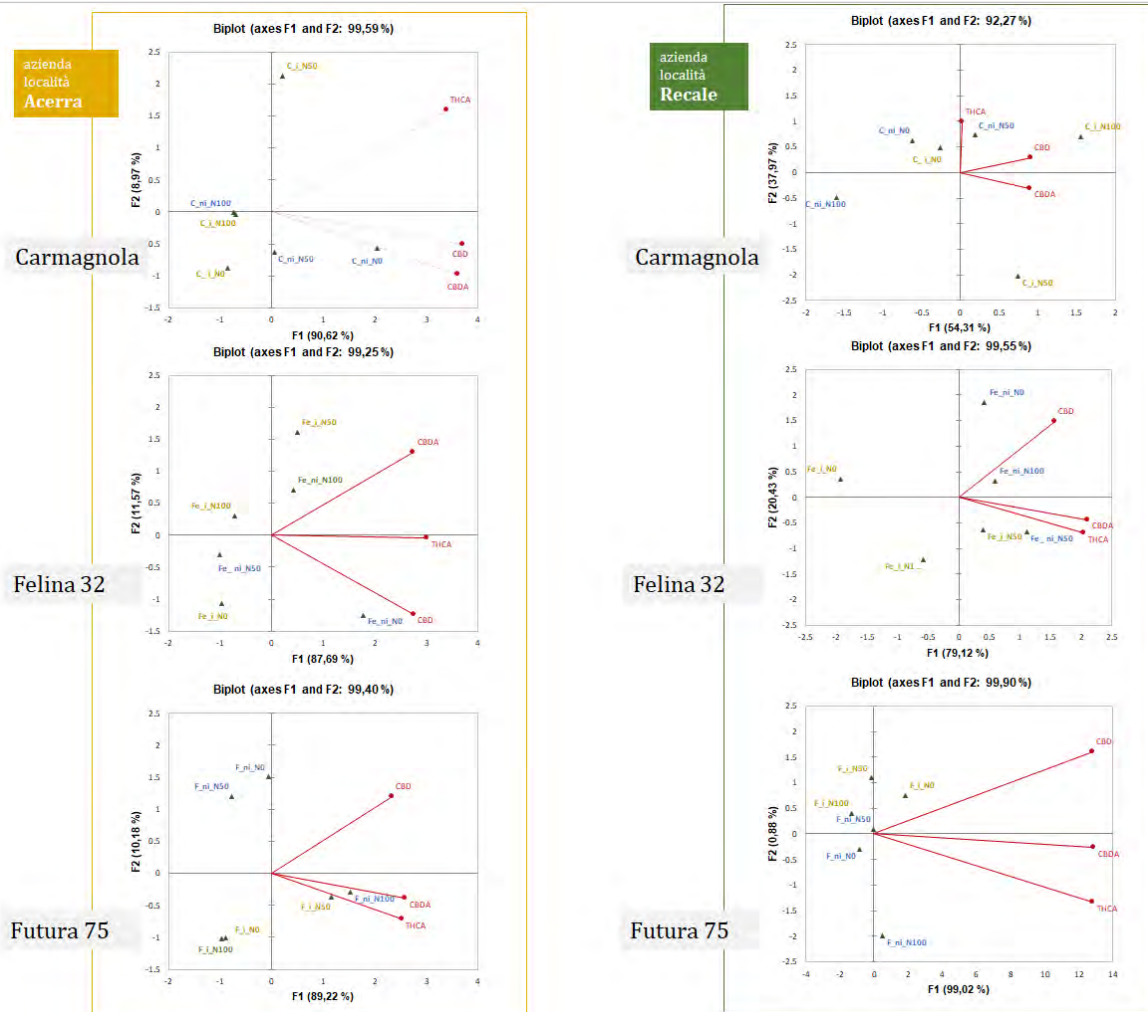


Figura 7. Analisi delle Componenti Principali: biplot dei livelli di CBDA, THCA e CBD e dei campioni “seme” acquisiti nella raccolta 2019 sui campi di Acerra e di Recale sulla prima e sulla seconda componente principale. C = Carmagnola; Fe = Felina 32; F = Futura 75. N0 = livello di concimazione azotata 0 kg/ha; N50 = livello di concimazione azotata 50 kg/ha; N100 = livello di concimazione azotata 100 kg/ha; n.i. = asciutto; i. = irriguo.

L'incremento di THCA nel seme della varietà Carmagnola è osservato anche nei campioni da raccolta 2021, anch'essa caratterizzata da una bassa produttività tale da collezionare un'esigua quantità (per alcune parcelle nulla) di campione per le procedure analitiche. In Figura 8 sono riportati i dati delle analisi condotte sui semi dell'azienda “Don Peppe Green” in Sant'Angelo in Formis.

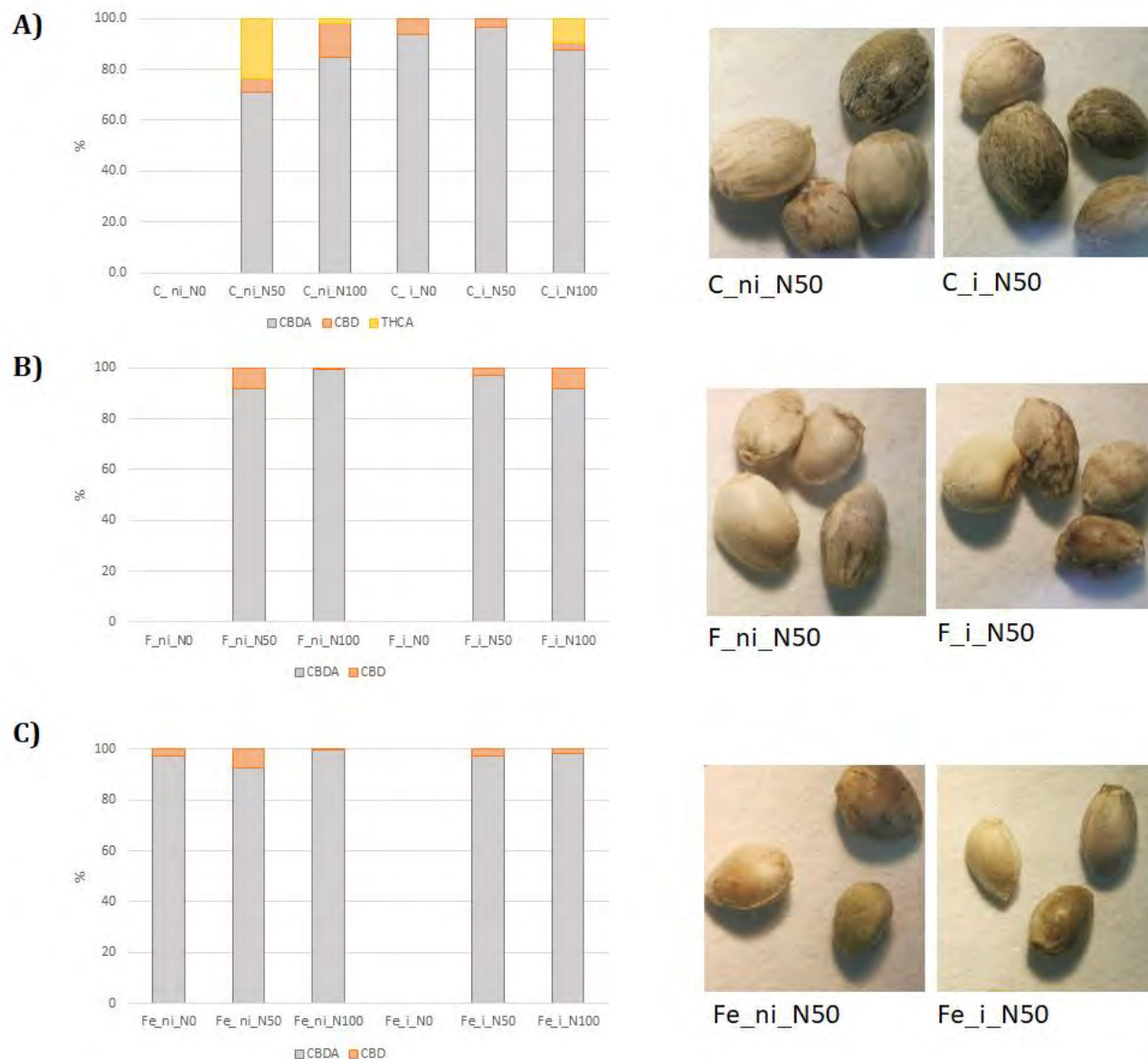


Figura 8. Livelli di CBDA, THCA e CBD di campioni "seme" acquisiti nella raccolta 2021 sui campi di Sant'Angelo in Formis. C = Carmagnola; Fe = Felina 32; F = Futura 75. N0 = livello di concimazione azotata 0 kg/ha; N50 = livello di concimazione azotata 50 kg/ha; N100 = livello di concimazione azotata 100 kg/ha; n.i. = asciutto; i. = irriguo.

Gli oli dalla annualità 2021 mostravano grosse variazioni significative dei livelli di acidi grassi polinsaturi, monoinsaturi e saturi, con la varietà Carmagnola esibente i più bassi livelli di ALA e LA e la presenza solo in tracce di acido stearico ed acido oleico (Figura 9). Nell'impossibilità di una razionalizzazione assoluta del dato, anche considerando il limite della matrice iniziale, si osservava un mantenimento del rapporto LA/ALA solo in campioni della varietà Futura75.

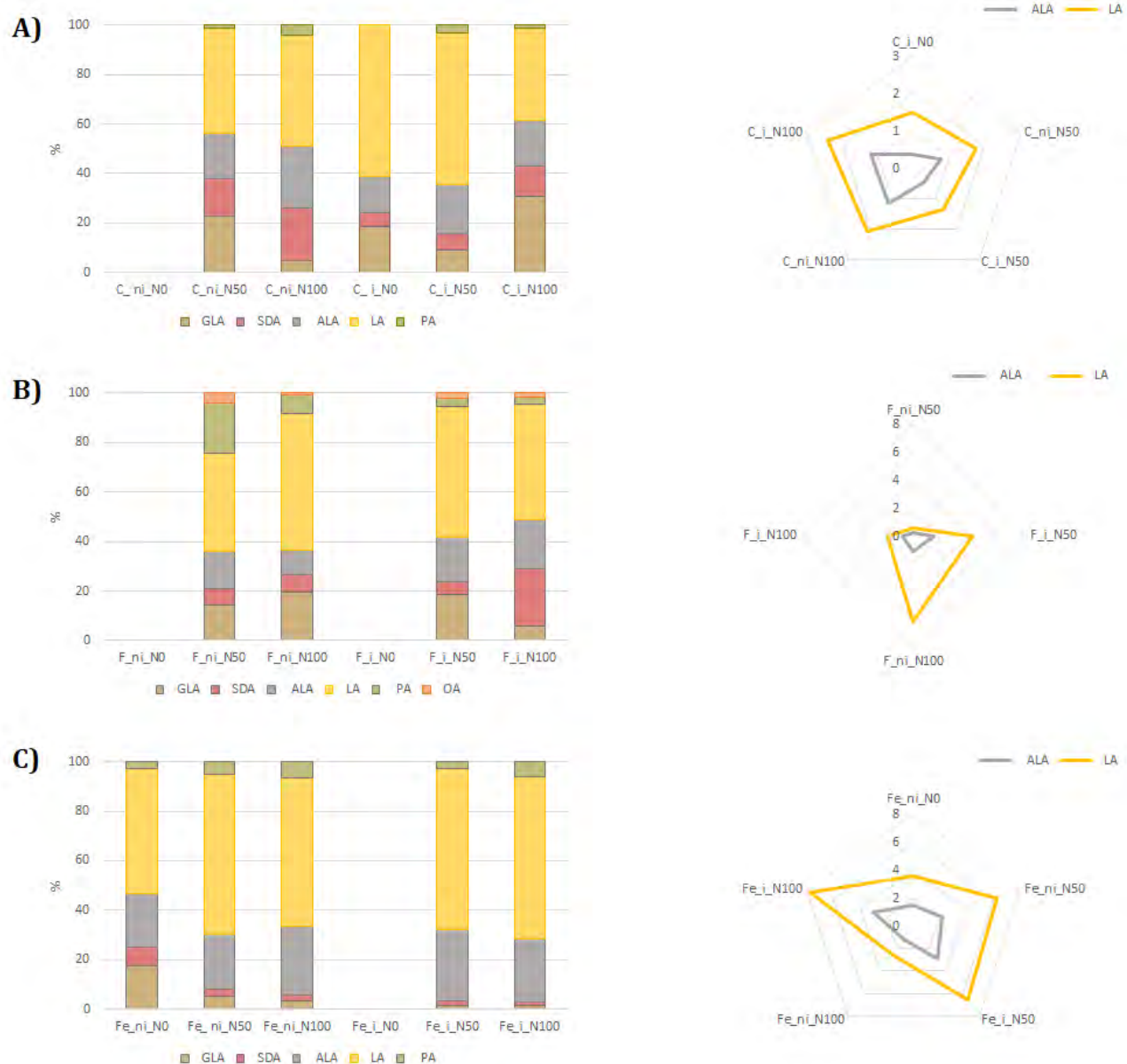


Figura 9. Livelli di acidi grassi saturi, monoinsaturi di campioni "seme" acquisiti nella raccolta 2021 sui campi di Sant'Angelo in Formis. C = Carmagnola; Fe = Felina 32; F = Futura 75. N0 = livello di concimazione azotata 0 kg/ha; N50 = livello di concimazione azotata 50 kg/ha; N100 = livello di concimazione azotata 100 kg/ha; n.i. = asciutto; i. = irriguo.

Sulle diverse parcelle dell'area dedicata in Sant'Angelo in Formis è stata condotta nel solo anno 2021 a partire dall'emergenza delle plantule un'analisi volta a verificare come la pratica agronomica "livello di irrigazione" influenzasse il contenuto di polifenoli nella componente foliare della pianta. Il campionamento della parte aerea è stato condotto sui campi irriguo ed asciutto con livello di concimazione azotata nullo a cadenza bisettimanale. Le analisi hanno

tenuto di conto la rilevazione e la caratterizzazione in UHPLC-HR/MS di ben cinquantuno metaboliti appartenenti alla classe dei fenoli e dei polifenoli in campioni di fiore, foglie e fusto raccolte nell'annualità 2019 a raccolta del seme avvenuta (Tabella).

Tabella. Principali fenoli e polifenoli identificati in parti aeree della pianta

n.	Assegnazione tentativa	[M-H] ⁻ trovata (m/z)	errore (ppm)	n.	Assegnazione tentativa	[M-H] ⁻ trovata (m/z)	errore (ppm)
1	Acido gallico glucoside	331.0677	1.9	27	Apigenina 8-C-esoside	431.0992	1.9
2	Acido diidrossibenzoico glucoside	315.0721	-0.2	28	Apigenina 8-C-soforoside	593.1533	3.5
3	Acido neoclorogenico	353.0876	-0.6	29	Acido <i>p</i> -coumaroil quinico	337.0927	-0.6
4	Acido caffeoil treonico 1	297.0621	1.7	30	Quercetina esuronide	477.0689	3
5	Acido clorogenico 1	353.0884	1.7	31	Apigenina 8-C-(2- <i>O</i> -deossiesosil)esoside	577.1578	2.6
6	Acido <i>p</i> -coumaroil gluconico 1	341.0878	0.0	32	Luteolina esuronide	461.0734	1.8
7	Acido <i>p</i> -coumaroil gluconico 2	341.0878	0.0	33	<i>N</i> -caffeoiltiramina	298.1087	0.7
8	Acido caffeico pentoside 1	311.0767	-1.7	34	Luteolina 4'- <i>O</i> -esoside	447.0939	1.4
9	Acido clorogenico 2	353.0884	1.7	35	Acido 3,5-dicaffeoil quinico	515.1215	3.9
10	Acido caffeoil treonico 2	297.0621	1.7	36	Metil-luteolina 8-C-esoside	461.1091	0.4
11	Acido caffeico pentoside 2	311.0774	0.5	37	<i>N-p</i> -coumaroiltiramina 1	282.1136	0.1
12	Acido caffeico pentoside 3	311.0773	0.2	38	<i>N</i> -feruloiltiramina 1	312.1244	0.9
13	<i>p</i> -coumaroil eptulosio 1	355.1037	0.7	39	Apigenina esuronide	445.0788	2.6
14	<i>p</i> -coumaroil eptulosio 2	355.1035	0.1	40	Acido 3,4-dicaffeoil quinico	515.1213	3.5
15	Acido <i>p</i> -cumarico pentoside 1	295.0827	1.2	41	Metil-luteolina esuronide 1	475.0894	2.5
16	Acido <i>p</i> -cumarico	163.0406	3.3	42	Metilapigenina 8-C-deossiesosilesoside	591.1748	3.8
17	<i>N-p</i> -coumaroil octopamina 1	298.1079	-2.0	43	Metil-luteolina esuronide 2	475.0899	3.6
18	Acido <i>p</i> -cumarico pentoside 2	295.0828	1.6	44	<i>N-p</i> -coumaroiltiramina 2	282.1142	2.2
19	Acido <i>p</i> -coumaroil malico	279.0517	2.4	45	<i>N</i> -feruloiltiramina 2	312.1248	2.1
20	Acido 3- <i>O</i> -caffeoilquinico 2	353.0888	2.8	46	Luteolina	285.0408	1.2
21	Acido 3- <i>O</i> -caffeoilquinico 2	353.0884	1.7	47	Metilapigenina esuronide	459.0942	2.0
22	Eriodictiolo esuronide	463.0888	1.3	48	Apigenina	269.0454	-0.5
23	Luteolina 8-C-esoside	447.0936	0.7	49	Oligomero di lignina 1	701.2257	2.5
24	Luteolina 8-C-soforoside	609.1467	1.0	50	Oligomero di lignina 2	731.2364	2.6
25	Luteolina 8-C-(2- <i>O</i> -deossiesosil)esoside	593.1510	-0.3	51	Oligomero di lignina 3	701.2260	2.9
26	<i>N-p</i> -coumaroil octopamina 2	298.1085	0.1				

Le analisi sono state condotte al fine di considerare la specie come fonte alternativa di bioattivi ad azione antiossidante. In Figura 10 è graficato il *rate* delle quattro classi di metaboliti identificati (idrossicinnamoidi derivati - HcA; idrossifenilammidi HPA; flavonoidi - Fl; oligomeri lignina - Lo) nei diversi organi. I campioni di foglie sono particolarmente ricchi in derivati degli acidi idrossicinnamici, laddove la componente fusto presenta abbondanti i derivati fenilamidici, rilevati anche come componente bioattiva del seme depauperato della componente in acidi grassi.

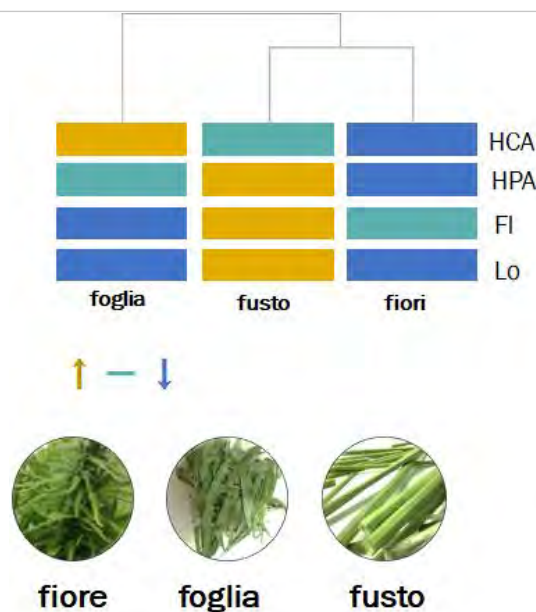


Figura 10. HeatMap dei livelli di idrossicinnamoil derivati - HcA; idrossifenilammidi HPA; flavonoidi - FI; oligomeri lignina - Lo negli organi fiore, foglia e fusto.

I dati delle attività antiradicaliche, stimate nei confronti del radicale probe DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazile) e del catione radicale dal sale dell'acido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-solfonico) - ABTS, e le proprietà riducenti il Fe(III) degli stessi campioni sono riportati in Figura 11.

Tutte le componenti testate sono risultate attive, con la componente fogliare che lo è particolarmente vs il radicale DPPH. L'estratto dalle foglie esibisce un andamento fortemente dose-dipendente.

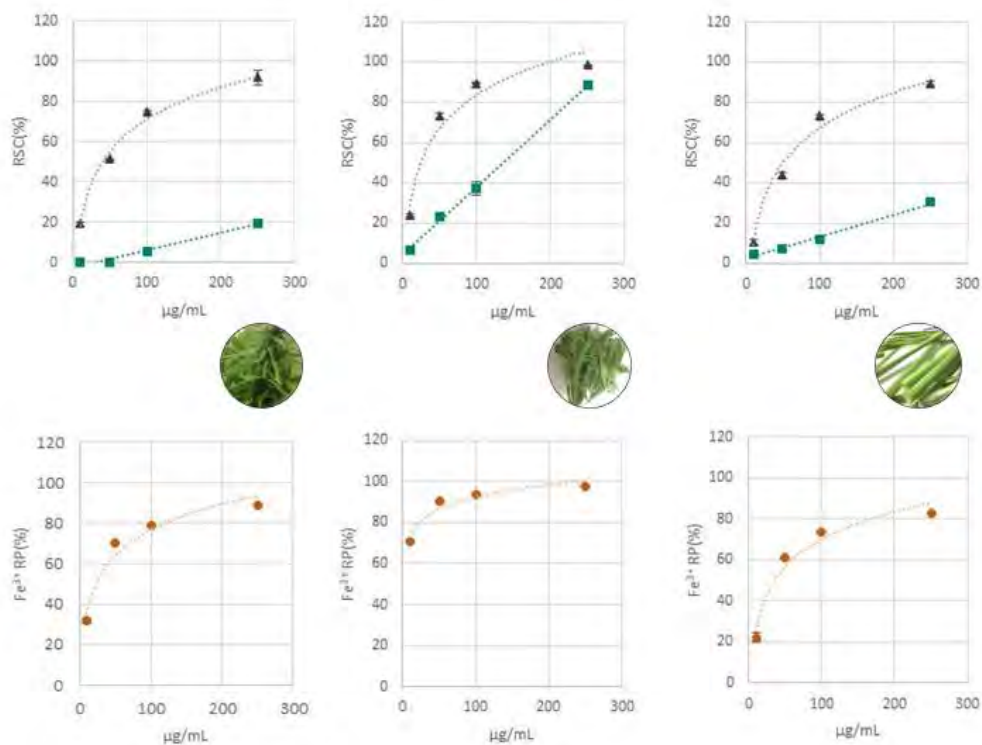
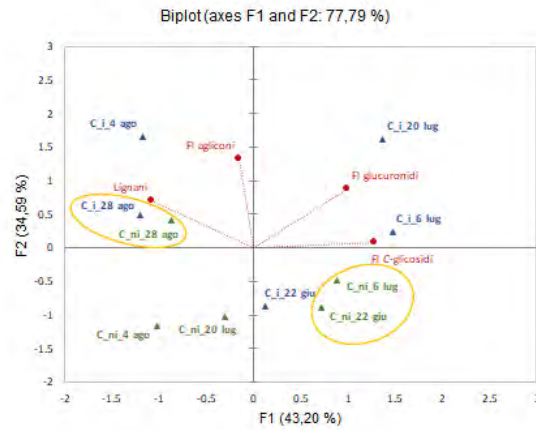


Figura 11. Panel in alto: Attività antiradicalica vs il catione radicale ABTS (▲) e il radicale DPPH (■) di campioni di fiore, foglie e fusto; Panel in basso: Attività riducente il Fe(III) ● di campioni di fiore, foglie e fusto.

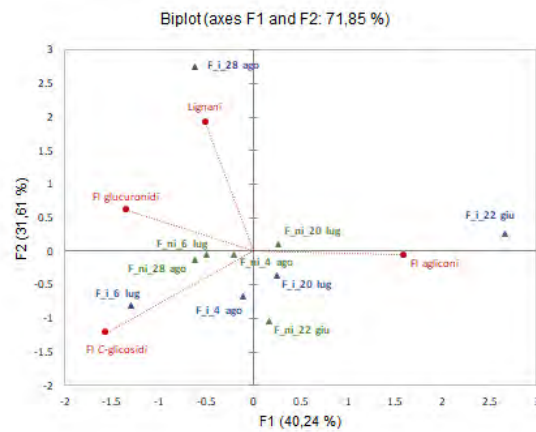
Sulla base del profilo fenolico e polifenolico, a cadenza settimanale, partendo dal 24 giugno 2021, sono state campionate le foglie. La matrice è stata dapprima liofilizzata e poi estratta per l'ottenimento di frazioni arricchite nelle molecole di interesse.

I dati di cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa tandem e ad un rivelatore UV-DAD hanno evidenziato che i C-glicosidi flavonoidici sono maggiormente presenti nei campioni "asciutto" ed "irriguo" nelle prime fasi dello sviluppo, laddove i campioni in agosto risultano maggiormente ricchi in flavonoidi con porzione saccaridica ossidata e ammidi fenoliche (Figura 12). La diversa bioattività di queste diverse classi di sostanze fa sì che un loro pieno utilizzo, che sia anche un utilizzo funzionale della pianta, possa perseguire la raccolta differenziale delle parti aeree per le procedure di estrazione e frazionamento a beneficio di un comparto nutraceutico a base di canapa.

Carmagnola



Futura 75



Felina 32

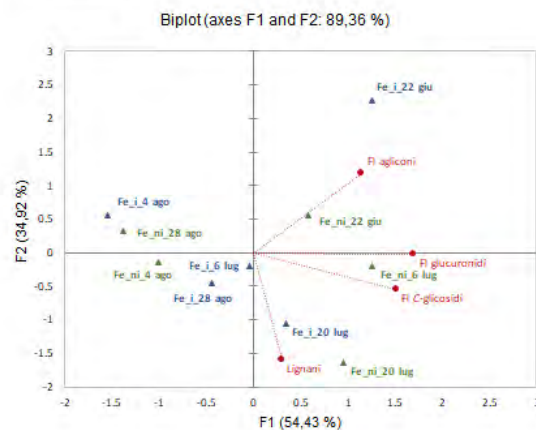


Figura 12. Analisi delle Componenti Principali: biplot dei livelli di CBDA, THCA e CBD e dei campioni "seme" acquisiti nella raccolta 2019 sui campi di Acerra e di Recale sulla prima e sulla seconda componente principale. C = Carmagnola; Fe = Felina 32; F = Futura 75. N0 = livello di concimazione azotata 0 kg/ha; N50 = livello di concimazione azotata 50 kg/ha; N100 = livello di concimazione azotata 100 kg/ha; n.i. = asciutto; i. = irriguo.

La possibilità di recuperare molecole polifenoliche bioattive è stata stimata anche dal sottoprodotto della lavorazione dell'olio, dal quale comunemente si ottiene la farina di canapa. In tale contesto, il sottoprodotto, depauperato della frazione in acidi grassi, è risultato ricco di trentotto molecole a scheletro fenolammidico, lignan-monoammidico e lignan-diammidico. La caratterizzazione delle molecole è stata condotta, anche in questo caso, mediante analisi UHPLC-ESI-QqTOF-MS/MS; le componenti più abbondanti, cannabisina B e *N*-caffeoiltiramina, sono state purificate mediante impiego di tecniche cromatografiche a media e alta pressione. Della frazione tal quale sono state stimate l'attività antiossidante e la citotossicità. Lo screening di attività su cellule è stato condotto su fibroblasti e su linee cellulari di neuroblastoma (SH-SY5Y) e glioblastoma (U87). L'efficacia della frazione vs le cellule di glioblastoma è stata stimata mediante i test MTT, LDH e clonogenico. Studi biochimici volti ad evidenziare l'attivazione dei pathway apoptotici e autofagici hanno ulteriormente confermato la possibilità di nuove ricerche che anche meglio valorizzino la potenzialità del sottoprodotto come risorsa per l'ottenimento di nutraceutici.

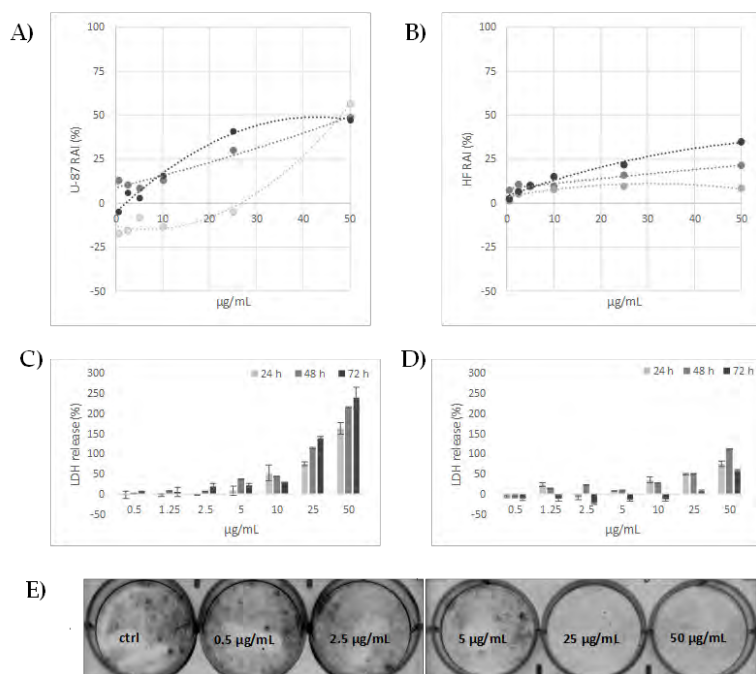


Figure 13. Vitalità cellulare di cellule U-87 e fibroblasti umani (A e B, rispettivamente) da test MTT dopo 24, 48 e 72 h di esposizione. I dati dal saggio di rilascio dell'enzima LDH a 24, 48 e 72 h di esposizione sono presentati in C (cellule U-87) e D (HF fibroblasti umani). I valori sono la media \pm SE di due esperimenti indipendenti condotti in triplicato. * $p < 0.05$ vs. cellule non trattate. (E) Immagini rappresentative dell'efficienza di formare colonie delle U-87 in presenza dell'estratto lignanammidico da semi di canapa o con solo veicolo per 10 giorni.

I risultati delle attività di ricerca sono oggetto delle seguenti pubblicazioni scientifiche:

- 1) Nigro E, Crescente G, Formato M, Pecoraro MT, Mallardo M, Piccolella S, Daniele A, Pacifico S. Hempseed Lignanamides Rich-Fraction: Chemical Investigation and Cytotoxicity towards U-87 Glioblastoma Cells. *Molecules*. 2020 Feb 26;25(5):1049. doi: 10.3390/molecules25051049. PMID: 32110947; PMCID: PMC7179246.
- 2) Formato M, Crescente G, Scognamiglio M, Fiorentino A, Pecoraro MT, Piccolella S, Catauro M, Pacifico S. (-)-Cannabidiolic Acid, a Still Overlooked Bioactive Compound: An Introductory Review and Preliminary Research. *Molecules*. 2020 Jun 5;25(11):2638. doi: 10.3390/molecules25112638. PMID: 32517131; PMCID: PMC7321064.
- 3) Piccolella S, Crescente G, Formato M, Pacifico S. A Cup of Hemp Coffee by Moka Pot from Southern Italy: An UHPLC-HRMS Investigation. *Foods*. 2020 Aug 14;9(8):1123. doi: 10.3390/foods9081123. PMID: 32824076; PMCID: PMC7466224.
- 4) Piccolella S, Formato M, Pecoraro MT, Crescente G, Pacifico S. Discrimination of CBD-, THC- and CBC-type acid cannabinoids through diagnostic ions by UHPLC-HR-MS/MS in negative ion mode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2021 Jul 15;201:114125. doi: 10.1016/j.jpba.2021.114125. PMID: 33989997.

Un quinto manoscritto dal titolo “New chemical insights into polyphenols in by-products and wastes from industrial hemp processing” è stato accettato per la pubblicazione.

I dati ad oggi in possesso sono da considerarsi preliminari alle possibili applicazioni delle molecole bioattive dalla canapa industriale nei settori alimentare e nutraceutico. La conoscenza attuale della chimica compositiva offre l'opportunità di nuove investigazioni per la strutturazione di una filiera alimentare a livello Regionale.

L'implementazione dei dati relativi all'effetto di fattori abiotici e biotici, ivi compresa la pratica agronomica, la pulitura del frutto e la sua conservazione, sulla produzione di prodotti di qualità e l'efficacia estrattiva tempo di sviluppo-dipendente delle molecole bioattive non fitocannabinoidiche appare una necessità.

Referente UniCampania progetto ProHemPil

Prof.ssa Severina Pacifico



WP 7: Trasferimento e divulgazione dei risultati e delle acquisizioni del progetto pilota.

La divulgazione dei risultati del progetto è stata condizionata dalle difficoltà sopravvenute durante lo svolgimento dello stesso, dovute al COVID-19 che per le limitazioni imposte non consentiva gli assembramenti e quindi non ha consentito di svolgere attività visite divulgative durante il secondo anno di attività.

A fine novembre 2020, tramite diverse testate giornalistiche, è stata lanciata una campagna informativa di presentazione del progetto con descrizione della composizione del partenariato, degli obiettivi prefissati e delle attività previste.

Le testate giornalistiche interessate alla campagna informativa sono state:

- **"Agenda Politica" del 30 novembre 2020;**
- **"Agricolae" del 30 novembre 2020;**
- **"Caserta Today" del 30 novembre 2020;**
- **"CRONACHE di CASERTA" del 1° dicembre 2020;**
- **"CRONACHE di NAPOLI" del 1° dicembre 2020;**
- **"Il denaro" del 30 novembre 2020;**
- **"IL MATTINO Caserta" del 1° dicembre 2020;**
- **"La Rampa" del 30 novembre 2020;**
- **"ROMA" del 01 dicembre 2020;**
- **"Terra e Vita" del 30 novembre 2020;**
- **"THE WORLD NEWS" del 1 dicembre 2020.**

Al termine delle attività è stato organizzato un convegno finale, pubblicizzato sia sul sito della Regione Campania ([Canapa e colture industriali \(regione.campania.it\)](http://regione.campania.it)) alla voce **"Eventi"** sia attraverso comunicati stampa su numerose testate giornalistiche. Inoltre, sono state realizzate locandine che sono state affisse in diversi punti del territorio accessibili al pubblico, in modo da ampliare i canali informativi per divulgare efficacemente l'evento ai potenziali interessati.

Il convegno si è tenuto a Caserta il 3 dicembre 2021 ed è stato organizzato sia in presenza che in diretta streaming su <https://www.youtube.com/watch?v=ZhtoXDoXUA4>, al fine di consentire la partecipazione al maggior numero di persone.

Il convegno è stato registrato e inserito su YouTube **all'indirizzo:**

<https://www.youtube.com/watch?v=ZhtoXDoXUA4&t=229s>
(184) Progetto per la rivalutazione olistica della Canapa oltre il PIL (PROHEMPIL) – convegno finale - YouTube

Inoltre, a fine convegno i principali risultati sono stati diffusi su numerose testate giornalistiche, tra cui si citano:

- **"Agenparl" del 3 dicembre 2021**

- "Campaniaslow" del 3 dicembre 2021
- "Casertaprimapagina" del 4 dicembre 2021
- "Casetatoday" del 3 dicembre 2021
- "EFANEWS" del 5 dicembre 2021
- "Il denaro" del 4 dicembre 2021
- "IRPINIATIMES" del 5 dicembre 2021
- "PMIReboot" del 3 dicembre 2021
- "Sudnotizie" del 4 dicembre 2021
- "THE WORLD NEWS" del 3 dicembre 2021
- "VIVICAMPANIA" del 3 dicembre 2021

In tal modo è stato ed è possibile trasferire ad un vasto pubblico informazioni sul progetto finanziato e sulle conoscenze acquisite con le numerose attività condotte.

Conclusioni

I risultati progetto hanno messo in evidenza che la vecchia concezione della coltivazione tradizionale della canapa deve subire necessariamente un cambio di tecniche agronomiche, viste le mutate condizioni sociali e ambientali. Nonostante le difficoltà avute nel corso del suo svolgimento, le prove condotte durante i due anni di attività hanno permesso di acquisire informazioni, anche se indicative, sulle principali caratteristiche biometriche e produttive di alcune varietà di canapa industriale allevate in diversi ambienti della Regione Campania

Le varietà di canapa esaminate nelle aziende partner del progetto sono state Carmagnola, Felina 32 e Futura 75; inoltre, presso il CREA di Caserta, **è stata saggiata l'Eletta Campana**, varietà storicamente coltivata in Campania nei decenni precedenti.

Nei diversi areali, le piante della varietà Carmagnola sono risultate più sviluppate mentre, in linea generale, le piante della varietà Felina 32 hanno presentato minore sviluppo e produttività.

Per quanto riguarda la concimazione è emerso che nei terreni con minore fertilità residua **l'apporto** di 100 unità di azoto ha permesso di ottenere maggiore biomassa e produttività dalla coltivazione.

Relativamente ai **consumi irrigui della canapa, l'andamento climatico dei due anni di progetto, 2019 e 2021**, particolarmente caldi, ha evidenziato che è fondamentale seminare appena le condizioni pedoclimatiche lo consentono per utilizzare le riserve idriche accumulate **in inverno ed evitare, se possibile, il ricorso all'irrigazione, in quanto l'acqua** sta diventando sempre più un bene raro e costoso. Ovviamente, in periodi particolarmente **critici, l'irrigazione si rende necessaria per consentire alla pianta un sufficiente** livello produttivo.

La valutazione dell'**efficienza fotosintetica e le emissioni di gas serra in risposta all'irrigazione** e alla concimazione azotata sulle varietà Felina e Carmagnola non hanno evidenziato particolari differenze tra le varietà, in risposta ai trattamenti irrigui, mentre la varietà Felina ha mostrato una migliore efficienza fotosintetica sulle parcelle concimate con maggiore dose di azoto. Inoltre, sulla varietà Felina le emissioni sono state maggiori **aumentando l'apporto irriguo e la dose di azoto**. Il monitoraggio conoscitivo della componente microbica batterica iniziale dei suoli, finalizzata al confronto con la situazione microbiologica della rizosfera post-raccolta, sembra mostrare una popolazione diversa in funzione del regime irriguo e della concimazione azotata.

Le indagini condotte sulla composizione chimica del seme in risposta ai diversi trattamenti suggeriscono che la concimazione azotata sembra avere poca influenza, mentre le differenze sono state riscontrate tra le diverse varietà. Sembrano avere molta influenza le condizioni pedoclimatiche, in quanto dai risultati ottenuti hanno mostrato di essere determinanti. Anche se necessitano di ulteriori approfondimenti, tali risultati indicano che gli agricoltori sono chiamati ad attuare rapidamente modifiche alle pratiche agronomiche con l'obiettivo di mitigare gli impatti ambientali causati da stagioni particolarmente aride o piovose.

Le attività condotte hanno portato alla messa a punto da processi di estrazione ecosostenibile di biomolecole con tecnologie enzimatiche, a basso impatto ambientale, dei prodotti di scarto. Inoltre, hanno consentito di evidenziare la possibilità di ottenere dalla biomassa di scarto di canapa un elevato recupero di zuccheri fermentabili per la **produzione di bioetanolo e/o molecole ad elevato valore aggiunto come l'acido succinico e l'acido lattico.**

Altrettanto significativo è stato l'approfondimento della comprensione della fitochimica del **seme e l'ottimizzazione di tecniche estrattive alternative per l'ottenimento dell'olio di canapa.** Lo studio chimico del frutto e di altri organi della pianta, nelle diverse fasi del ciclo di vita, ha consentito la messa a punto di un approccio analitico in spettrometria di massa ad alta risoluzione per la rapida identificazione quali-quantitativa dei suoi metaboliti specializzati ed il loro utilizzo in nutraceutica e cosmeceutica. Il recupero della componente polisaccaridica dai fusti della specie ha posto altresì le basi per nuove e future applicazioni. Per quanto riguarda la valorizzazione degli scarti della filiera canapicola, risultati interessanti si sono ottenuti sulla preparazione di contenitori monouso utilizzabili in agricoltura, in sostituzione di oggetti in polistirene.

Le prove condotte nei diversi areali della Regione Campania hanno permesso di rilevare diverse criticità, che possono compromettere la produttività della coltura; tra tali criticità ricordiamo: **la difficoltà nell'approvvigionamento del seme, l'importanza della semina in epoca precoce,** le fallanze nella coltivazione (perdita della germinabilità e/o asportazione dei semi), i danni provocati dalle erbe infestanti e le avversità da patogeni fungini e da insetti.

Inoltre, va sottolineata la difficoltà nel controllo efficace delle avversità biotiche dovuta alla presenza di un ridottissimo numero di sostanze attive registrate.

La sostenibilità della canapa industriale necessita di un piano di innovazione in relazione al territorio ed alle prospettive ed alle opportunità di politica agricola, tenendo conto della necessità di continuare a seguire la canapa industriale con progetti di innovazione riguardanti diversi aspetti della filiera agricola e di prima trasformazione.

Il Responsabile Tecnico Scientifico

Dr. Francesco Raimo

