



Bando sottomisura 16.2

RELAZIONE FINALE

Aumento della produttività olivicola attraverso l'impollinazione artificiale

Acronimo: OLIMPOLLI MONTAGNANI

Il Gruppo Operativo Olimpelli Montagnani, finanziato con la sottomisura 16.2 del Piano di Sviluppo Rurale 2014-2020 della Regione Toscana, ha avuto come obiettivo l'aumento dell'allegagione delle olive, aspetto critico che tende a condizionare la produttività complessiva degli impianti. Il progetto ha voluto verificare dal punto di vista pratico l'effetto della dispersione programmata di quantità aggiuntive di polline negli impianti olivicoli al momento della fioritura. L'effetto dell'impollinazione assistita è stato verificato in diversi impianti olivicoli tradizionali ed in uno superintensivo calcolando sia l'aumento registrato a carico della produzione che i costi/benefici di questo tipo di intervento che era completamente innovativo e mai tentato prima per l'olivo a livello "professionale" al momento del finanziamento da parte della Regione Toscana.

CHI FA COSA

CAICT Formazione s.r.l. (Partner Capofila)

In quanto soggetto capofila, CAICT è stato responsabile del coordinamento del partenariato e della buona riuscita di tutte le attività previste dal progetto.

Nell'espletamento del proprio ruolo si è avvalso di metodologie di lavoro strutturate, prodotte dal Centro di Comunicazione Generativa dell'Università di Firenze, e di supporti informativi appositamente messi a punto, al fine di elevare la qualità del lavoro condiviso e mettere a sistema in maniera attiva le conoscenze apportate da ogni partner di progetto.

CAICT si è inoltre occupato delle azioni di informazione verso altri agricoltori potenzialmente interessati, dell'organizzazione delle visite studio aziendali e dell'erogazione di corsi di formazione inerenti tematiche collegate al progetto.

Consiglio Nazionale delle Ricerche – Istituto per la Bioeconomia

CNR-IBE è stato il partner tecnico-scientifico responsabile della progettazione degli interventi da attuare nei diversi impianti di olivo oggetto della sperimentazione, della messa a punto degli interventi agronomici e della distribuzione del polline tramite drone, nonché del monitoraggio degli esiti della sperimentazione nei vari siti di collaudo. Ha inoltre provveduto a fornire il partenariato di informazioni utilizzabili per la fase di divulgazione ed ha fornito supporto alle aziende nei momenti di richieste specifiche relative alla conduzione agronomica degli oliveti. Ha contribuito alla fase di divulgazione portando l'esperienza di Olimpolli in varie sedi istituzionali nei quali era chiamato ad esporre i progetti in corso presso il CNR creando interesse verso il progetto.

Dipartimento di Scienze della Vita (DSV) dell'Università di Siena

Il Dipartimento di Scienze della Vita si è occupato della selezione del polline e del controllo delle caratteristiche varietali, specialmente in relazione a varietà attualmente soggette a problematiche di allegagione, come l'olivastra seggianese. Il DSV è stato, quindi, responsabile della raccolta e caratterizzazione dei requisiti biologici di polline e ovario, nonché della valutazione delle potenzialità riproduttive delle varietà olivicole presenti nei campi sperimentali.

Società agricola Tenuta Montagnani

Tenuta Montagnani è un'azienda agricola a prevalente carattere familiare, i cui terreni si estendono per circa 30 ettari nel comune di San Gimignano. Federico Montagnani è un giovane imprenditore agricolo. Con il suo subentro l'azienda ha effettuato la conversione delle coltivazioni alle tecniche dell'agricoltura biologica.

Presso Tenuta Montagnani sono state ospitate le prove agronomiche collegate all'impollinazione. In particolare sono state verificate le tecniche agronomiche adottate verificando il tipo di lavorazione, di potatura e di concimazione eseguita normalmente per poi suggerire eventuali modifiche nella conduzione. Per innalzare la dotazione organica dei suoli è stata prevista una concimazione invernale da effettuare con prodotti organici pellettati. Le lavorazioni sono state modificate anticipando i lavori per ridurre l'impatto delle erbe infestanti sullo stress estivo dovuto alla mancanza di piogge.

L'impollinazione assistita degli oliveti della Tenuta Montagnani sono stati eseguiti per tre diversi anni escludendo soltanto l'anno contraddistinto da inferiore differenziazione a fiore delle gemme durante il quale l'intervento sarebbe stato inutile o comunque troppo oneroso rispetto alla produzione potenziale attesa.

Azienda Montagnani
San Gimignano (Siena)
43°29'42"N 11°2'0"E

Oliveta tradizionale
4 quadri

Passaggio del drone solo su
metà dell'impianto (1 ha)

A/B conduzione agronomica



Olearia Santella

L'azienda si trova nel sud della Toscana, nella zona DOP dell'olivastra seggianese e vanta oltre cinquecento esemplari e molti ultrasecolari.

Olearia Santella è stata selezionata, dopo una attenta analisi dei fabbisogni, in quanto, nell'ambito dell'olivicultura toscana, rappresenta una tipicità che necessita senza dubbio di miglioramento in termini di produttività, ossia quella della DOP Olivastra Seggianese. L'azienda possiede sia impianti con olivi adulti giunti ormai a grandezza tipica (oltre 6 metri di altezza delle chiome ultradecennali) e disposte a sesto di impianto largo e tradizionale che un nuovo impianto con olivi di recente piantumazione a sesto specializzato e ridotto. Le prove quindi sono state impostate individuando plot che potessero includere le due tipologie di impianto. L'impollinazione è stata eseguita nell'impianto per tre diversi anni evitando soltanto di intervenire durante il primo anno (2019) in quanto le piante erano state appena potate e presentavano a primavera un numero troppo basso di infiorescenze e l'intervento sarebbe stato falsato completamente dalla scarsa propensione produttiva degli olivi.

Azienda Santella
Castel del Piano (Grosseto)
42°54'51.44"N 11°30'31.56"E

Piante secolari di Seggianese
10x 12 m

Impianto specializzato
5x5 m

Drone su circa 0,5 ettari



Impresa Verde Siena e Impresa Verde Grosseto

Grazie al contatto diretto che vantano con le aziende dei rispettivi territori, Impresa Verde Siena e Grosseto, sono interlocutori privilegiati di un gran numero di imprese del settore. La loro partecipazione ha garantito un supporto prezioso nell'analisi costi/benefici dell'innovazione proposta (IV GR) nonché nelle azioni di coinvolgimento delle imprese agricole e nelle azioni di monitoraggio interno al GO (IV SI).

FORNITORI DEL GRUPPO OPERATIVO

Center for Generative Communication - UNIFI

Il CfGC ha affiancato il capofila in tutte le attività di comunicazione organizzativa, di community building e di comunicazione esterna, al fine di massimizzare l'efficacia e la diffusione delle attività messe in atto dal Gruppo Operativo. Nel corso degli anni di progetto ha provveduto a mantenere alta la qualità della relazione comunicativa tra tutti i partecipanti.

Aermatica 3D

Aermatica 3D ha partecipato alle attività di distribuzione del polline sugli oliveti sperimentali per mezzo di droni integrati con appositi dispositivi. In associazione con UNISI e IBE CNR ha realizzato numerose prove sia in laboratorio che in campo per verificare la possibilità di individuare sostanze capaci di “diluire” il polline da distribuire negli oliveti. Ha realizzato quindi prove di mappatura in modo da definire le metodologie più rapide per costruire mappe di volo stabili adattabili alle diverse orografie verificando con UNISI e IBE CNR l’altezza ideale soprachioma ai fini di distribuire con sicurezza il polline senza incorrere in problematiche di dispersione eccessiva nell’ambiente. Ha verificato le esigenze tecniche in modo da capire il grado di esperienza dei piloti per compiere l’impollinazione assistita.

Biotac

Biotac ha messo a disposizione del progetto la propria esperienza legata sia alla raccolta che alla distribuzione da terra del polline. Ha messo a disposizione i dispositivi a motore utilizzabili per l’aspirazione del polline e per la distribuzione manuale. Ha partecipato agli eventi di divulgazione confrontandosi con le esigenze delle aziende e dei partner anche modificando le attrezzature in funzione delle problematiche riscontrate a livello pratico. Ha partecipato alla collezione dei dati utili per quantificare i tempi tecnici necessari a raccolta e distribuzione utili per i calcoli economici ed ha condotto alcune prove di impollinazione in campo previste nel progetto.

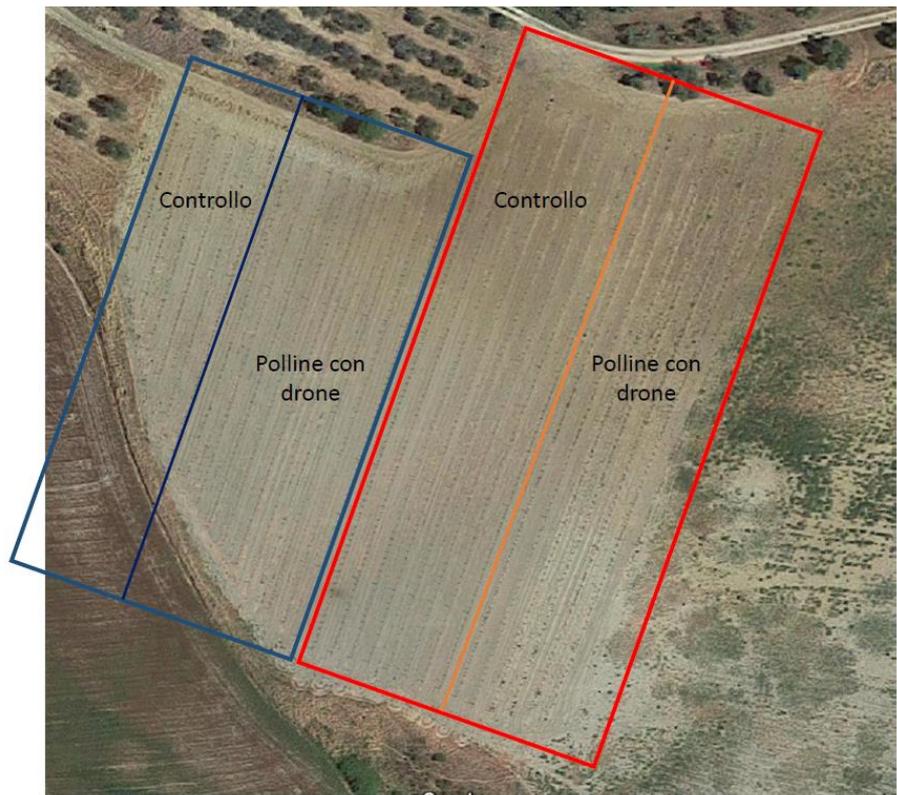
Azienda Agricola Bianca Mascagni

L’Azienda Agricola Bianca Mascagni ha ospitato le prove di impollinazione che sono state eseguite su un impianto superintensivo della cultivar Arbequina in tutti e 4 anni di svolgimento del progetto. L’impianto è quello che ha risentito meno degli andamenti stagionali in quanto molto giovane e quindi ancora non soggetto ad alternanza di produzione. I risultati realizzati su questo oliveto sono trasferibili ai moderni impianti olivicoli realizzati ormai in tutto il mondo. Rispetto agli altri impianti ha permesso di programmare il volo dei droni a bassa quota garantendo una distribuzione del polline con minori perdite in quanto la copertura del suolo da parte delle chiome è più elevata rispetto ad esempio a quelli di olivastra seggianese adulta con sestri molto larghi.

Azienda Bianca Mascagni
Torrenieri (Siena)
43°06'29.1"N 11°34'56.1"E

Oliveta superintensiva
4 quadri

Passaggio del drone solo su
metà dell'impianto (1,5 ha)



Podere Crispino

Presso Podere Crispino sono state ospitate sia le prove di impollinazione che la verifica della capacità dell'irrigazione di mantenere una eventuale maggiore produzione dovuta all'impollinazione. L'impianto rappresenta una forma classica dell'olivicoltura toscana ovvero un ex seminativo arborato soggetto a infittimento con una mescolanza di piante ultradecennali ed altre sempre adulte ma di più recente piantagione. La proprietà ha eseguito una serie di lavori di adeguamento dell'impianto di irrigazione in modo da individuare i plot da sottoporre alle prove. E' però quello che ha fatto riscontrare maggiori problemi dovuti alle potature intense, alle modifiche nelle porzioni irrigate ed agli andamenti stagionali. L'ambiente della pianura grossetano vicino al paese di Roselle è stato caratterizzato da forti venti e da importanti escursioni termiche durante i periodi di fioritura che hanno reso difficile un'ottimale distribuzione del polline.



1. INNOVAZIONE MESSA A PUNTO

Il progetto si è occupato di mettere a punto e collaudare un tipo di intervento agronomico completamente innovativo per l'olivo. La distribuzione del polline infatti viene applicata in altre colture arboree quali il kiwi ma non era mai stata ritenuta utile ed applicata in modo estensivo nella olivicoltura specializzata.

L'innovazione definibile come "impollinazione assistita in olivicoltura" si compone di una serie di passaggi ognuno dei quali in realtà rappresenta una innovazione proposta al settore olivicolo:

- **Raccolta del polline:** scelta varietale, tempistiche e modalità
- **Stoccaggio del polline:** conservazione a breve e lungo termine
- **Uso di disperdenti:** dosaggi del *Lycopodium clavatum* L.
- **Distribuzione con drone:** preparazione dei piani di volo
- **Distribuzione a terra:** uso di soffiatore in diverse tipologie di olivete

2. METODOLOGIA SEGUITA E TEMPISTICA

I due partners scientifici Dipartimento di Scienze della Vita dell'Università di Siena (Unisi) e IBE CNR hanno lavorato insieme partecipando attivamente, ognuno per le proprie competenze, ai numerosi e complessi lavori richiesti per la messa a punto dell'innovazione.

UNISI si è focalizzato principalmente sull'aspetto infiorescenze, con particolare attenzione al polline, cioè alla componente biologica che doveva essere poi disseminata tramite droni per favorire l'impollinazione delle piante di olivo. In pratica, l'attività di Unisi si è focalizzata nel definire alcune caratteristiche del polline di olivo, passando dalla raccolta, alla modalità di conservazione e di preparazione ed alla successiva impollinazione assistita.

Lo scopo principale del lavoro effettuato si può riassumere in alcuni punti principali.

1. Definizione delle ottimali condizioni di stoccaggio.

In pratica, definire principalmente le condizioni di temperatura e del tempo di stoccaggio in modo da comprendere quale sia la temperatura ottimale ed anche il tempo di stoccaggio ottimale. Quest'ultimo parametro è sicuramente il più importante perché il polline ha comunque una sua vita, mostra un optimum di performance e vitalità per poi decrescere nel corso del tempo. Comprendere la tempistica è sicuramente un dato rilevante perché consente di ottimizzare il tempo di conservazione del polline in modo che il polline sia quanto più vitale nel momento in cui viene depositato artificialmente sulle piante.

2. Tempistiche di analisi e di utilizzo.

Tutto ciò ha significato effettuare una serie di analisi di controllo periodiche sulla vitalità del polline di olivo. Lo scopo era di effettuare un monitoraggio continuo e di determinare il decadimento della vitalità del polline in funzione del tempo. Pertanto, sono state pensate e predisposte una serie di analisi adeguatamente periodiche per avere un quadro della vitalità del polline nel corso del tempo.

3. Valutazione dei metodi e dei tempi di conservazione del polline, così come la sua qualità prima delle fasi di impollinazione artificiale mediante droni o soffiatori spalleggati.

Le analisi sono state ripetute per tutti gli anni del progetto in modo da avere un dato valido statisticamente.

Queste analisi sono risultate tanto più importanti riflettendo sulla struttura e sul funzionamento del polline. Il polline è un microorganismo adatto ad essere veicolato attraverso agenti impollinatori biotici (insetti, uccelli, ecc.) ed anche agenti abiotici come vento e acqua. Esso ha comunque una sua vita ed è stato costruito nel corso dell'evoluzione per resistere a determinate condizioni ambientali. È opportuno ricordare che il polline è semplicemente un veicolo che trasporta i gameti maschili delle piante. Questi devono essere conservati nel modo più appropriato possibile fino al momento in cui il polline cade sulla superficie di uno stigma ricevente e viene quindi attivato per produrre una struttura tubulare, cioè il tubetto pollinico. Quest'ultimo è un prolungamento digitiforme del granulo di polline ed è considerato una sorta di canale cellulare attraverso cui i

gameti contenuti nel granulo di polline possono abbandonare il granulo e muoversi all'interno di questo canale cellulare per raggiungere l'ovario dove è situata la cellula uovo da fecondare. Il polline nella sua semplicità è estremamente adatto a svolgere questo compito. È circondato da una parete cellulare molto complessa, costituita principalmente da sporopollenina, un componente idrofobico che da un lato impedisce all'acqua di uscire dal polline, dall'altro impedisce a condizioni ambientali drastiche di danneggiare il polline. All'interno del polline troviamo i due gameti maschili ed il nucleo del polline. I due gameti sono due piccole cellule molto compatte, assai protette, che dovranno essere veicolate fino alla cellula uovo (Figura 1).

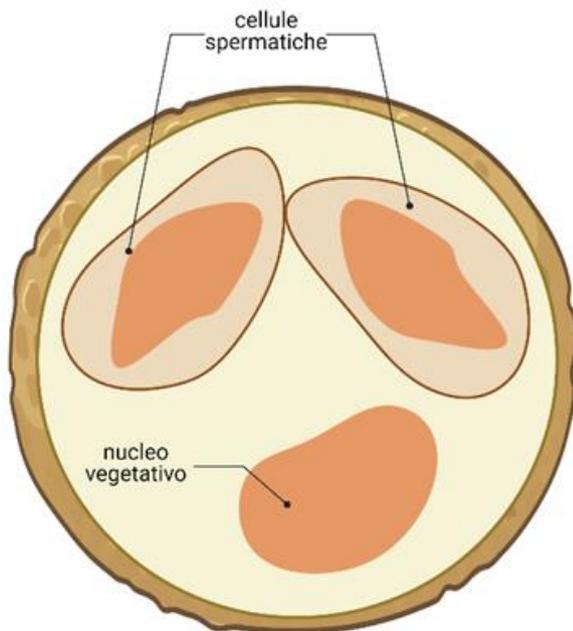


Figura 1. Schema del granulo di polline. Sono evidenziate le due cellule spermatiche, cioè i due gameti contenuti al suo interno, ed il nucleo del granulo di polline denominato nucleo vegetativo.

Come indicato in precedenza, quest'ultima fase spetta al tubetto pollinico, cioè al prolungamento tubulare del granulo di polline, che percorre tutta la distanza che lo separa dalla cellula uovo, attraversando lo stigma e lo stilo fino all'ovario e quindi agli ovuli. Il tubetto pollinico ha una struttura cellulare estremamente adatta allo scopo di trasportare le cellule spermatiche fino all'ovario. Cresce molto velocemente soltanto al suo apice e periodicamente viene circoscritto dalla deposizione dei cosiddetti tappi di callosio, depositi di un polisaccaride molto resistente che hanno il compito di segregare le cellule spermatiche nella parte più vitale del tubetto pollinico (Figura 2).

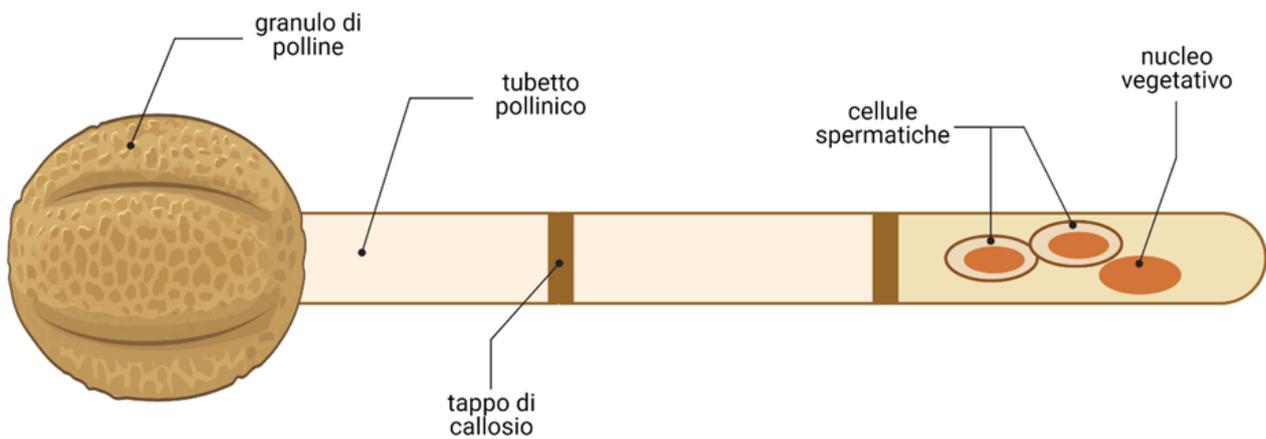


Figura 2. Schema del tubetto pollinico. Si nota la sua struttura tubulare, con la parte attiva terminale che contiene le due cellule spermatiche, ed il nucleo vegetativo. Il tubetto pollinico è una cellula che si accresce soltanto all'apice e questo le permette una crescita polarizzata e molto veloce.

Come affermato, il polline è una struttura particolarmente resistente ma non completamente. Si è evoluto per contrastare abituali condizioni climatiche e per impedire il danneggiamento dei due gameti al suo interno. Oggi si ritiene che, con il progredire dei cambiamenti climatici dovuti al riscaldamento globale, i danni ambientali al polline possano incrementare ed essere maggiormente rilevanti. La letteratura scientifica attuale testimonia come il fiore, e quindi anche il polline, sia una struttura particolarmente sensibile a svariate condizioni ambientali; per esempio, innalzamenti o abbassamenti repentini della temperatura, prolungati periodi di siccità o di temperature anomale, così come la presenza di contaminanti rilasciati dalle attività umane. Tutti questi fattori contribuiscono a deteriorare la capacità del polline di funzionare. Oggi è noto che queste condizioni globali, definite come stress abiotici, possono influenzare tantissimo il funzionamento del fiore. Esse sono capaci di ritardare lo sviluppo del fiore, l'apertura del fiore, la quantità di polline e la qualità del polline prodotto, possono interferire con il tempo di produzione del polline. In definitiva, esse possono causare molteplici danni al funzionamento del fiore e anche del polline. Il polline è resistente come indicato in precedenza, ma non sempre allo stesso modo. Oggi è noto che il polline può presentare diversi gradi di resistenza a seconda del momento in cui le condizioni di stress lo colpiscono. Durante il suo sviluppo, cioè durante la formazione del polline nelle antere, esso risulta particolarmente sensibile a condizioni stressanti ambientali. Si tratta di un momento molto critico in quanto il polline può vedere interrotto il suo sviluppo e quindi restare ad uno stadio immaturo. In casi più gravi, il polline può anche non formarsi per niente. Chiaramente questa è la condizione peggiore perché porta completamente alla mancanza della capacità riproduttiva della pianta. Se il polline passa indenne questa fase, poi viene disidratato per essere trasportato dagli agenti impollinatori. Quando è disidratato il polline è in uno stato quiescente, metabolicamente poco attivo ed anche particolarmente resistente a condizioni stressanti esterne. Si ritiene che questo sia il momento in cui il polline è particolarmente più resistente e quindi è meno suscettibile a condizioni climatiche estreme. La fase successiva è quella di idratazione, che avviene quando il polline si

deposita sulla superficie dello stigma di un fiore ricevente. Il polline riacquista vitalità e la maggior parte delle sue funzioni; in queste condizioni è parzialmente resistente a sollecitazioni esterne, ma non del tutto. È sicuramente più resistente rispetto alla fase iniziale di sviluppo, ma lo è meno rispetto a quella successiva di dispersione. L'ultima fase del funzionamento del polline è la germinazione, cioè la produzione del tubetto pollinico. Questa condizione è particolarmente sensibile al variare delle condizioni climatiche; anche se il granulo di polline è comunque resistente, viceversa il tubetto lo è molto meno. Questo dipende dalla struttura cellulare del tubetto pollinico che è nato non per essere resistente, ma per trasportare le cellule spermatiche; quindi, questa fase è abbastanza critica tanto quanto quella iniziale di sviluppo del polline (fig 3).

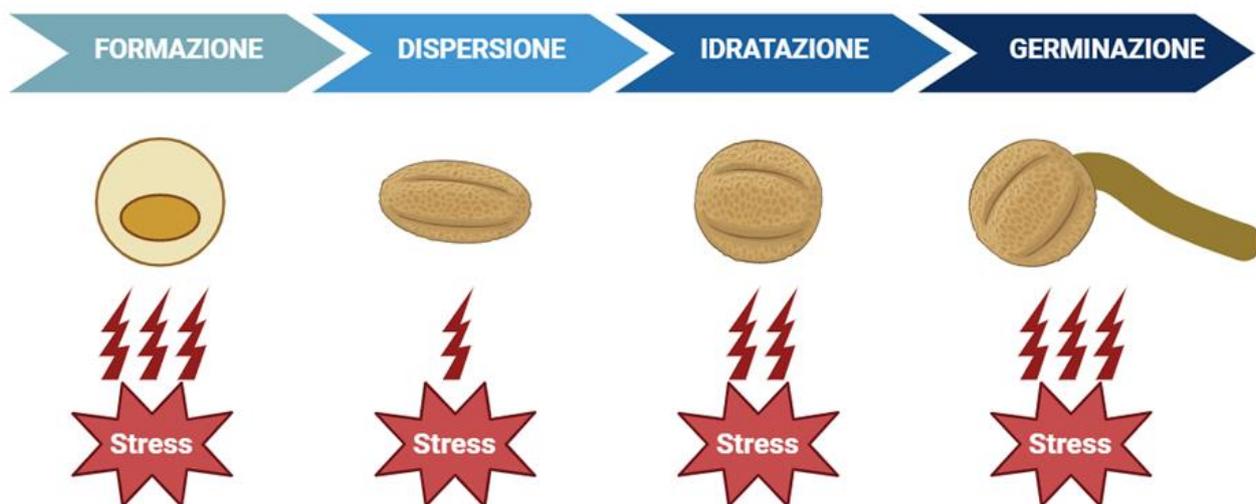


Figura 3. Diversi effetti degli stress ambientali sul polline. A sinistra, il polline in via di formazione nelle antere. In questo caso le condizioni stressanti agiscono pesantemente causando la morte del polline. Quando il polline è disidratato, ed ha generalmente una forma ovale, è particolarmente resistente a condizioni stressanti. Quando il polline si idrata (terzo caso) mantiene una sua resistenza ma comincia ad essere maggiormente suscettibile. A destra, il polline sta emettendo il tubetto pollinico. In questo caso variazioni delle condizioni ambientali sono pericolose perché il tubetto pollinico non è resistente.

3. PRODOTTI E RISULTATI RAGGIUNTI

Unisi si è occupata di attività intese a monitorare tutta una serie di step, dalla conservazione alla preparazione e dispersione del polline di olivo. Le fasi che abbiamo monitorato (ed in cui siamo stati coinvolti) hanno riguardato la raccolta e disidratazione del polline, il successivo stoccaggio, la fase di acclimatazione precedente alla riattivazione del polline, la successiva fase di idratazione e quindi quella di germinazione, cioè l'emissione del tubetto pollinico. Arrivati a questa ultima fase, è qui che abbiamo effettuato la maggior parte dell'analisi sperimentali volte a comprendere la vitalità e funzionamento del polline. È da osservare che la dispersione tramite drone, quindi l'impollinazione artificiale, avviene successivamente alla fase di acclimatazione, quando cioè il polline precedentemente stoccato in congelatore viene riportato alla temperatura ambiente, ma non

prevede la successiva fase di reidratazione e germinazione, che invece avverranno quando il polline cadrà sulla pianta ricevente (Figura 4).

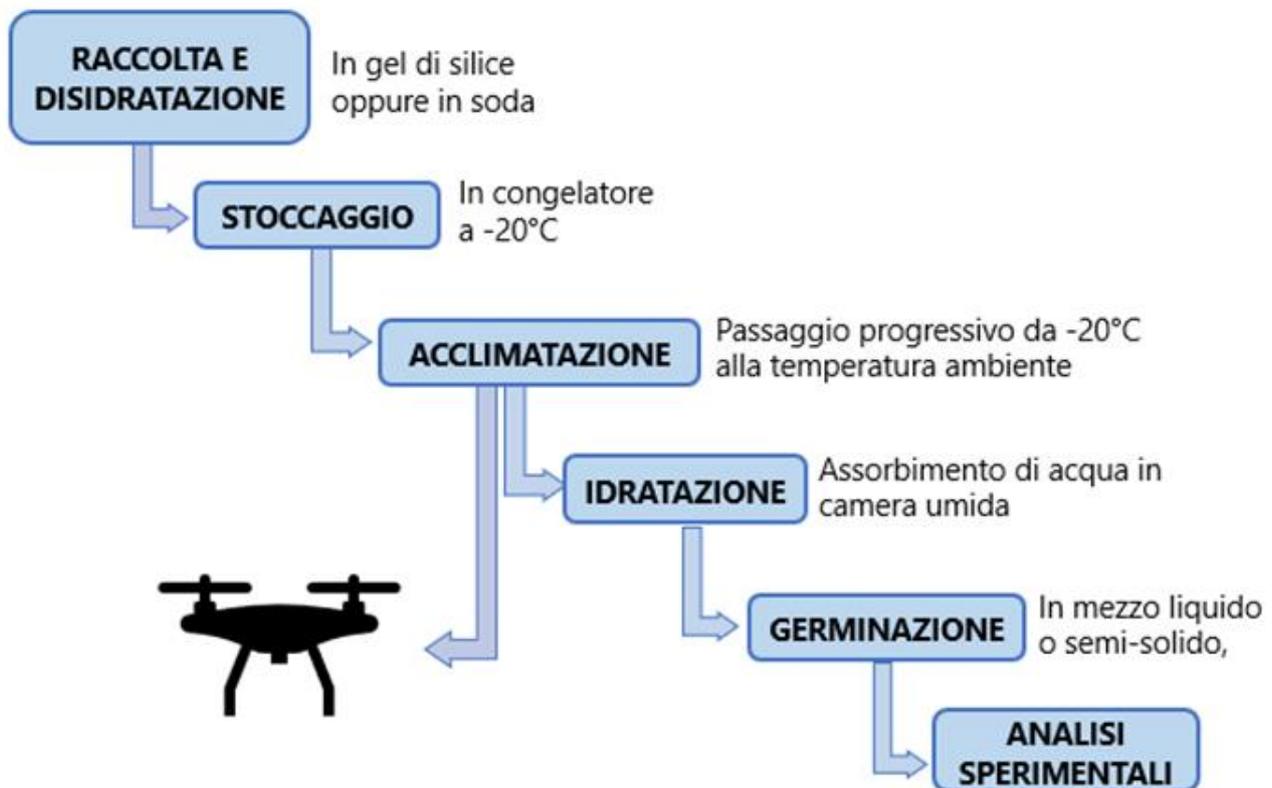


Figura 4. Schema delle fasi di lavoro che ha visto coinvolta l'unità dell'Università di Siena, dalla raccolta e disidratazione del polline di olivo fino alle analisi sperimentali. Da notare che la dispersione tramite drone era prevista dopo la fase di acclimatazione del polline alla temperatura ambiente.

La disidratazione del polline è un momento abbastanza critico nelle attività di stoccaggio del polline. Durante questa fase il polline viene disidratato, quindi viene tolta acqua in modo progressivo, non drastico, fino a una certa percentuale, che è abbastanza variabile da specie a specie. La disidratazione è stata effettuata mediante gel di silice, contenuto in una camera chiusa, che assorbe umidità dall'aria e quindi sottrae acqua al granulo di polline. Normalmente la disidratazione del polline di olivo è stata effettuata per un periodo molto lungo, circa una notte, allo scopo di ottimizzare questa fase ritenuta assai critica (Figura 5).

Per valutare la migliore qualità di stoccaggio del polline, quest'ultimo è stato immagazzinato a temperature molto diverse: a -80 °C in congelatori professionali, a -20 °C in tipici congelatori da casa, a 4 °C, cioè all'interno di frigo, oppure a temperatura ambiente. Sono quattro condizioni assai diverse ma era nostro interesse comprendere la temperatura ottimale per una valutazione della

vitalità del polline. Come riportato ampiamente anche nella letteratura scientifica, le temperature migliori sono risultate quelle di $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e di $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Viceversa, il polline mantenuto a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, ancor peggio, quello mantenuto a temperatura ambiente mostrava un decadimento molto rapido della vitalità in funzione del tempo, tanto che non poteva essere utilizzato per le successive analisi e neppure per l'impollinazione tramite droni. Per una questione di comodità e per proporre un protocollo che risultasse usabile anche da non specialisti del settore, abbiamo optato per uno stoccaggio a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, cioè in congelatori come quelli presenti nelle nostre abitazioni.



Figura 5. Disidratazione del polline di olivo in gel di silice. Il metodo può essere effettuato su quantità particolarmente elevate di polline di olivo, come è indicato a sinistra, oppure su piccole quantità contenute all'interno di tubi eppendorf, come indicato nell'immagine in basso a destra. Al termine del processo, il polline risulta facilmente stoccabile in congelatore.

Alla fase di disidratazione e stoccaggio segue la fase di acclimatazione. È un momento assai critico nella vita del polline, perché il passaggio da una temperatura di $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ad una temperatura ambiente, quindi intorno a $20\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$, può risultare assai deleteria per il suo funzionamento. A tale scopo abbiamo messo a punto una serie di passaggi graduali da temperature basse fino alla temperatura ambiente, in modo da ridurre la probabilità di tali rischi. Il polline è stato prelevato dal congelatore a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, lasciato in ghiaccio, cioè intorno a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ per circa 10-15 minuti (questo valore temporale dipendeva anche dalla quantità di polline che stavamo utilizzando). Successivamente il polline è stato posto a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, cioè in frigo, per ulteriori 10-15 minuti ed infine il polline è stato lasciato alla temperatura ambiente per un tempo equivalente. In questo modo abbiamo assicurato una progressiva climatizzazione, riducendo al minimo i danni causati al polline (Figura 6).

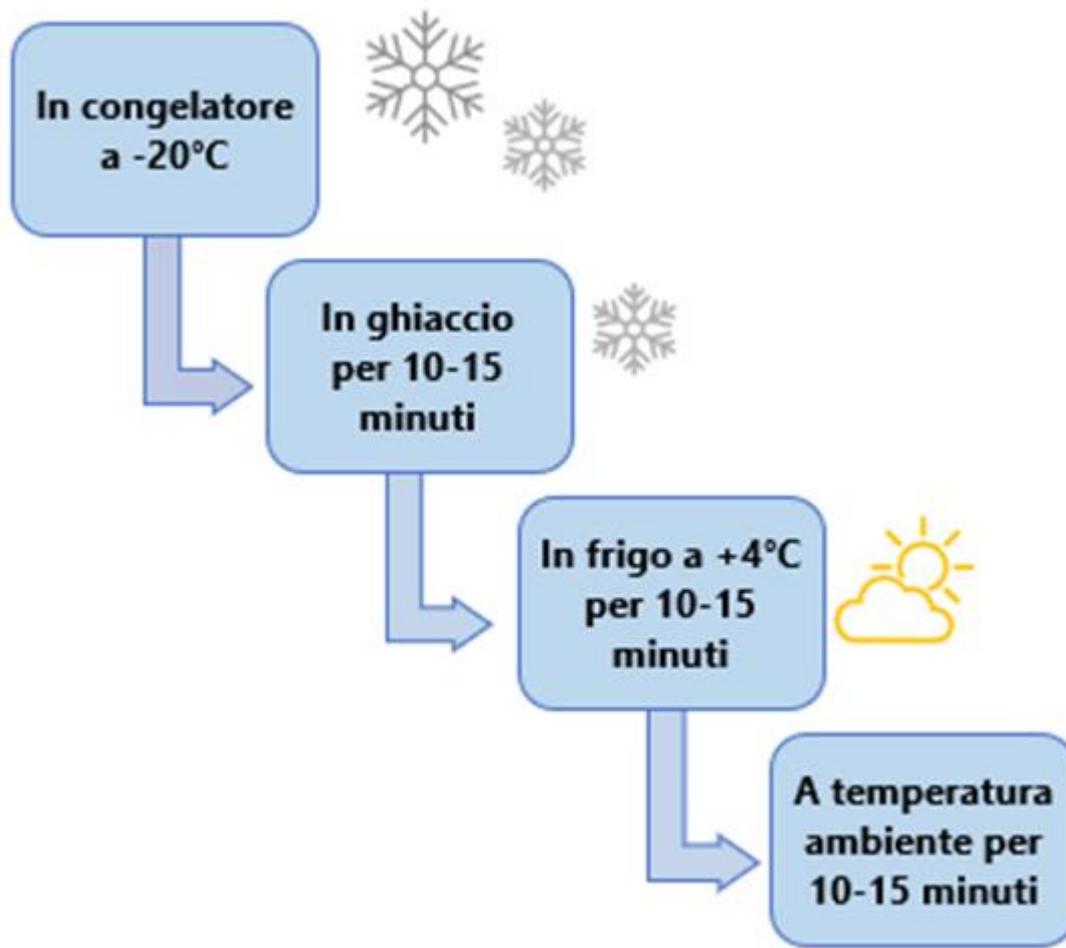


Figura 6. Schema del processo di acclimatazione del polline, dalla temperatura di -20 °C in congelatore fino alla temperatura ambiente. Per ogni step è stato previsto un tempo di incubazione di circa 10-15 minuti.

La reidratazione del polline è la fase successiva dopo l'acclimatazione. Il polline deve essere stimolato a riprendere vita e per questo è sufficiente (almeno in laboratorio) sottoporlo ad un ambiente particolarmente umido. In pratica è la fase opposta alla disidratazione. La reidratazione è stata effettuata ponendo il polline all'interno di capsule di Petri; queste ultime sono state poste dentro un contenitore più grande, a sua volta contenente carta molto bagnata. Il tutto ovviamente è stato chiuso in modo che il vapore acqueo non uscisse al di fuori. Il polline di olivo è stato lasciato in questa condizione per tempi anche molto lunghi, una notte almeno, allo scopo di fornirgli una sufficiente reidratazione. Abbiamo anche verificato tempi di reidratazioni più brevi, di 1-2 ore, ma purtroppo solitamente queste non garantiscono lo stesso livello di successo del polline reidratato per tutta una notte. La reidratazione è quindi un altro punto particolarmente critico su cui è stato necessario porre attenzione (Figura 7).

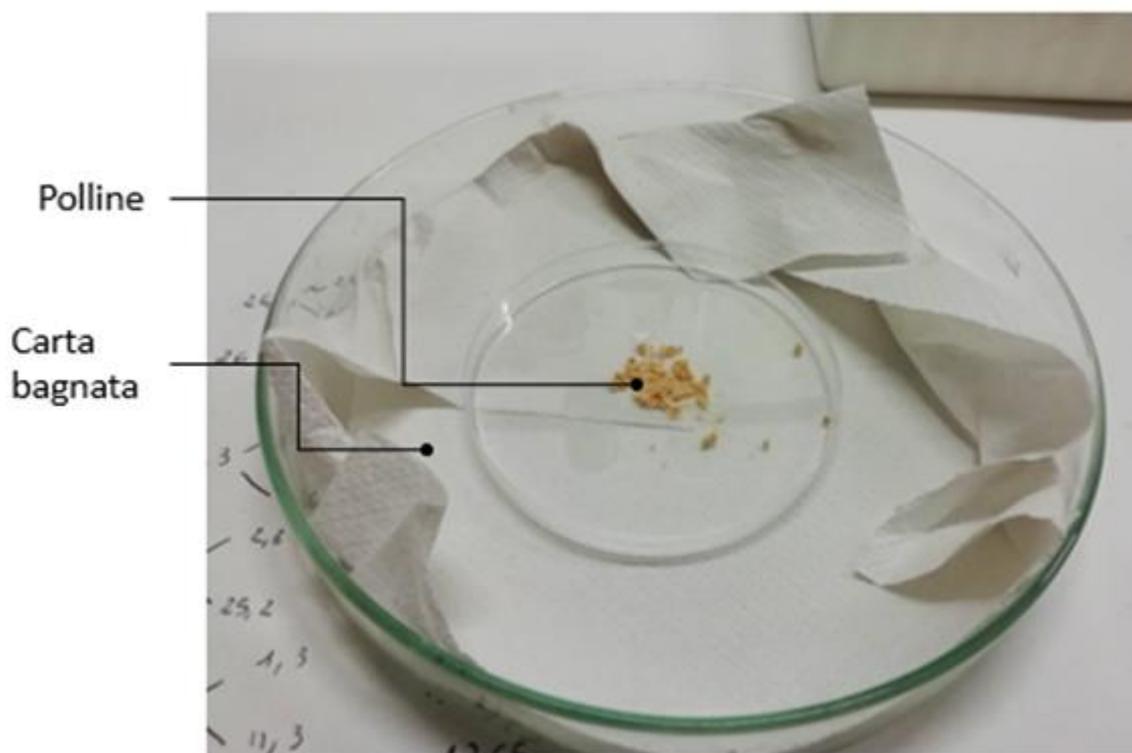


Figura 7. Fase di reidratazione del polline. Come si vede in figura, il polline è posto in piastre di Petri. Queste ultime sono poste all'interno di un contenitore più grande, a sua volta contenente carta umida. Il tutto è ovviamente chiuso per impedire la fuoriuscita di vapore acqueo. In questo caso il coperchio non è mostrato.

Un ulteriore aspetto su cui è stato necessario investire del tempo è stata la messa a punto del medium di germinazione. In letteratura sono descritti diversi terreni utili alla germinazione del polline. Tra tutti questi abbiamo iniziato a testare quello più utilizzato, cioè il medium BK, dal nome dei due autori (Brewbaker & Kwack) che lo hanno inizialmente definito nel 1963. Il medium contiene alcuni sali minerali e saccarosio. I sali minerali servono a fornire nutrienti al tubetto pollinico ed anche componenti che faranno parte della parete cellulare. Il saccarosio ha una duplice funzione, serve sia come molecola energetica sia come osmotico, cioè serve a regolare la pressione osmotica e a controbilanciare la pressione di turgore delle cellule vegetali e quindi anche del tubetto pollinico. Abbiamo fatto una serie di prove variando principalmente la quantità di saccarosio e anche talvolta dei sali minerali. Siamo quindi arrivati alla conclusione che una percentuale di saccarosio del 10% era ottimale per la germinazione del tubetto pollinico di olivo. Valori più alti o più bassi non fornivano le stesse percentuali di germinazione. La composizione del medium BK utilizzato è riportata nella tabella sottostante.

Componente	Valore ottimale	Scopo
Saccarosio	10%	Regola la pressione osmotica

H ₃ B ₃	1,62 mM	stabilizza la parete cellulare
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1,25 mM	stabilizza la parete cellulare ed è necessario per la crescita del tubetto pollinico
KN ₃	2,97 mM	Fornisce nitrato e potassio alla cellula
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,65 mM	Il magnesio è richiesto come cofattore da diversi enzimi

Lo step successivo è stato quello di mettere a punto la modalità di germinazione. Quest'ultima può avvenire in due condizioni principali: il polline è in sospensione liquida oppure è fatto aderire ad una matrice solida. Nel primo caso il polline viene risospeso nel medium di germinazione e posto in agitazione. L'agitazione ha il compito di impedire l'aggregazione dei granuli di polline; inoltre, serve anche a fornire un'efficace ossigenazione del medium. D'altronde il tubetto pollinico è una cellula vegetale e come tale ha necessità di respirare. Nel secondo caso il polline viene appoggiato su una superficie solida costituita da una matrice di agar disciolta nel medium di germinazione. Il vantaggio del secondo metodo è che il polline si trova su una matrice solida che in qualche modo mima la superficie dello stigma su cui il polline andrà a cadere. Dalle prove effettuate è risultato che il metodo di agitazione si dimostrava più pratico e forniva comunque dei valori adeguati e comparabili con la geminazione su mezzo solido. Abbiamo quindi optato per la prima soluzione. Abbiamo dovuto valutare anche la temperatura a cui far germinare il polline, ma su questo ci siamo ovviamente riferiti ai valori presenti in natura. L'impollinazione avviene in un periodo intorno maggio con temperature che possono variare tra 20 e 25 °C; questo è il range di temperatura che è stato selezionato.

Durante la fase iniziale della sperimentazione abbiamo anche dovuto individuare il metodo migliore per valutare la vitalità del polline. Nella letteratura scientifica sono riportati diversi metodi, ognuno si basa su un principio differente; alcuni di questi sono molto veloci, magari meno accurati, altri sono più sofisticati, più lenti ma più precisi. Valutando i diversi metodi e basandoci su alcune prove sperimentali, abbiamo deciso di utilizzare il metodo del FDA, cioè della fluoresceina diacetato. Tale metodo si basa su una molecola, la fluoresceina diacetato, che normalmente in queste condizioni non è fluorescente ed è permeabile alle membrane cellulari. Per cui quando questa molecola viene in contatto con una cellula, entra al suo interno; se la cellula è morta o comunque non vitale, la fluoresceina diacetato resta inalterata e può diffondere fuori dalla cellula. Viceversa, se la fluoresceina diacetato entra in una cellula viva, alcune attività enzimatiche al suo interno convertono la fluoresceina diacetato in fluoresceina; quest'ultima, una volta illuminata da una sorgente UV, emette un segnale visibile. Grazie a questa metodica è possibile distinguere granuli di polline non vitali, che appariranno di un verde molto pallido, da granuli di polline vitali, che invece appariranno di un verde molto brillante (Figura 8). Questa metodica ha un ulteriore vantaggio; è

possibile sottoporre l'immagine ottenuta a un'analisi mediante software utilizzando programmi anche liberamente accessibili. Istruendo in maniera opportuna il software, si può valutare in modo quasi automatico la percentuale di vitalità del polline; il software diventa capace di distinguere tra un segnale molto debole e un segnale molto forte. In questo modo è possibile analizzare in maniera estremamente rapida un numero molto elevato di campioni e quindi ottenere una base numerica importante. Grazie all'utilizzo di tale metodica abbiamo determinato che il polline di olivo era adeguatamente vitale al momento della sua raccolta e risultava vitale anche dopo un certo periodo di stoccaggio a temperature molto basse e per periodi anche abbastanza lunghi. Questo è servito a rassicurare che il materiale vegetale, cioè il polline, fosse pronto e sufficientemente vitale per essere poi trasportato e veicolato tramite drone o soffiatore spalleggiato.

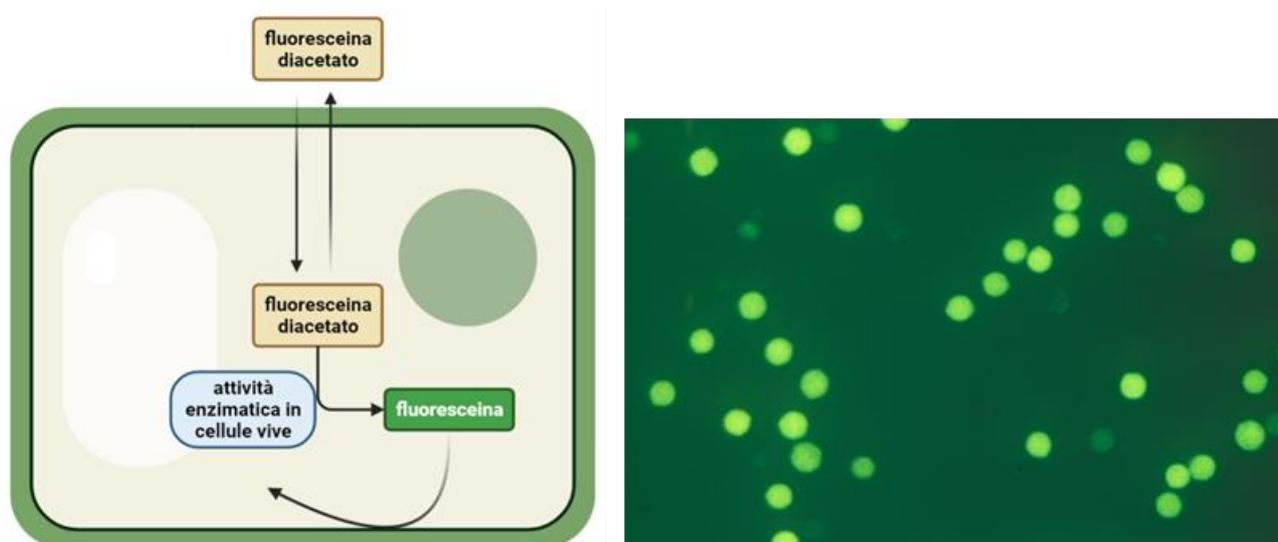


Figura 8. A sinistra lo schema di funzionamento della fluoresceina diacetato. La molecola entra liberamente all'interno delle cellule e, se non modificata chimicamente, può fuoriuscire. Se la cellula è viva, alcune attività enzimatiche al suo interno possono convertire la fluoresceina diacetato in fluoresceina che è incapace di uscire ed emette un segnale visibile quando illuminata da UV. A destra, un esempio di granuli pollinici sottoposti a tale colorazione. Quelli verde brillante sono vitali, quelli di colore verde pallido non lo sono.

Dato che la funzione di base del polline è di emettere il tubetto pollinico, un test altrettanto importante è quello della germinazione, cioè la valutazione della emissione e allungamento del tubetto pollinico. Per fare ciò è sufficiente prelevare una goccia di medium contenente il polline germinato e osservarlo al microscopio ottico. Ciò che si osserva è visualizzato nella figura sottostante (Figura 9), che mostra un campo visivo in cui sono presenti numerosissimi granuli di polline di olivo, la maggior parte dei quali ha prodotto il tubetto pollinico, cioè il prolungamento cilindrico. I dati di germinazione, cioè il numero di granuli di polline che emettevano un tubetto pollinico, non è sempre in accordo con i dati ottenuti tramite FDA, nel senso che i dati di FDA sono generalmente più alti rispetto alla percentuale di germinazione. Questo è un dato normale, non sorprendente, perché la vitalità non significa essere capaci di emettere un tubetto pollinico, ma semplicemente di funzionare. L'emissione del tubetto pollinico richiede anche alcune condizioni che vanno al di là della semplice conversione di fluoresceina diacetato in fluoresceina.

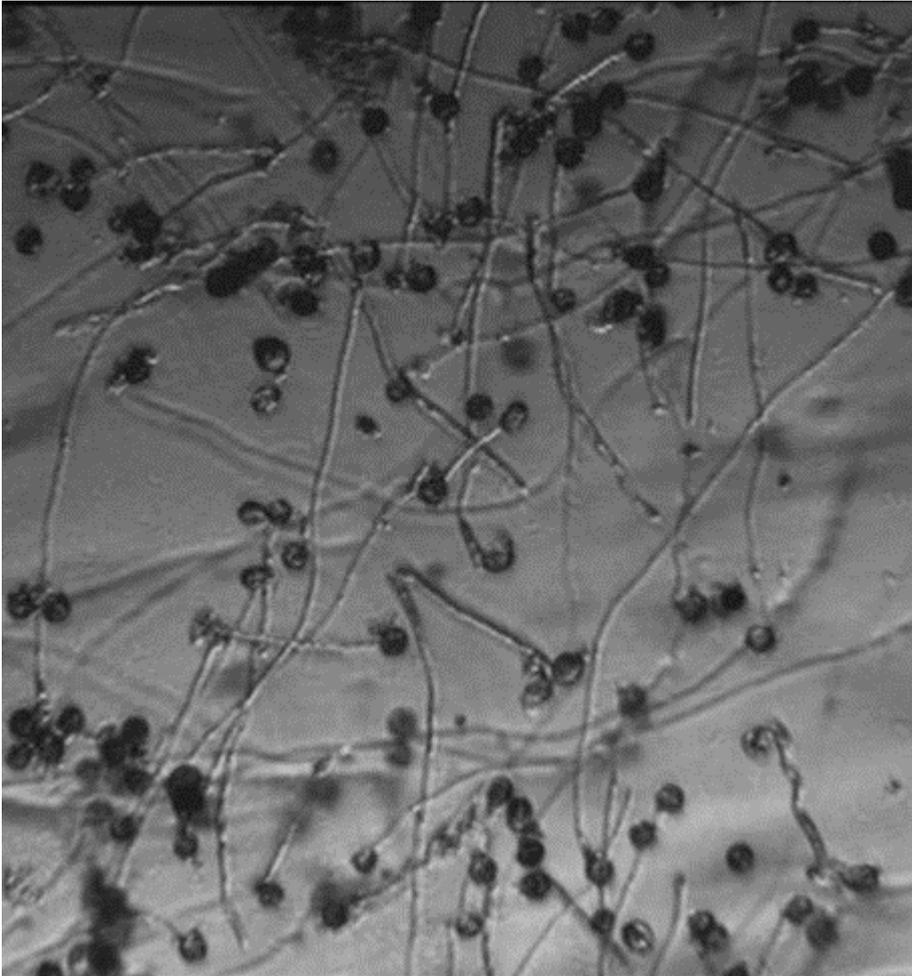


Figura 9. Immagine al microscopio ottico di un campo visivo contenente numerosissimi granuli di polline di olivo. L'estensione tubulare che parte da essi è il tubetto pollinico. Dalla fitta rete di tubetti pollinici osservabili nell'immagine si può dedurre che i granuli pollinici sono molto vitali e funzionanti e che quasi ognuno di essi è stato capace di emettere un tubetto pollinico.

La valutazione della percentuale di germinazione è stata quindi effettuata tramite conteggio dei granuli germinati utilizzando un software. In particolare, abbiamo utilizzato il software ImageJ, un software liberamente accessibile online ed utilizzato da una stragrande maggioranza di addetti ai lavori nel campo della ricerca. Grazie al software è molto semplice effettuare una conta dei granuli di polline che hanno emesso un tubetto pollinico e confrontarli percentualmente con il totale dei granuli di polline, come è mostrato nella immagine sottostante (Figura 10). Questa è stata la metodica che al termine della sperimentazione abbiamo utilizzato con maggiore frequenza in quanto volevamo essere sicuri che il polline fosse capace di emettere un tubetto pollinico e non fosse semplicemente vitale. Questa metodica è come tempistica più lenta rispetto a quella di FDA, però fornisce un dato funzionalmente più convincente.

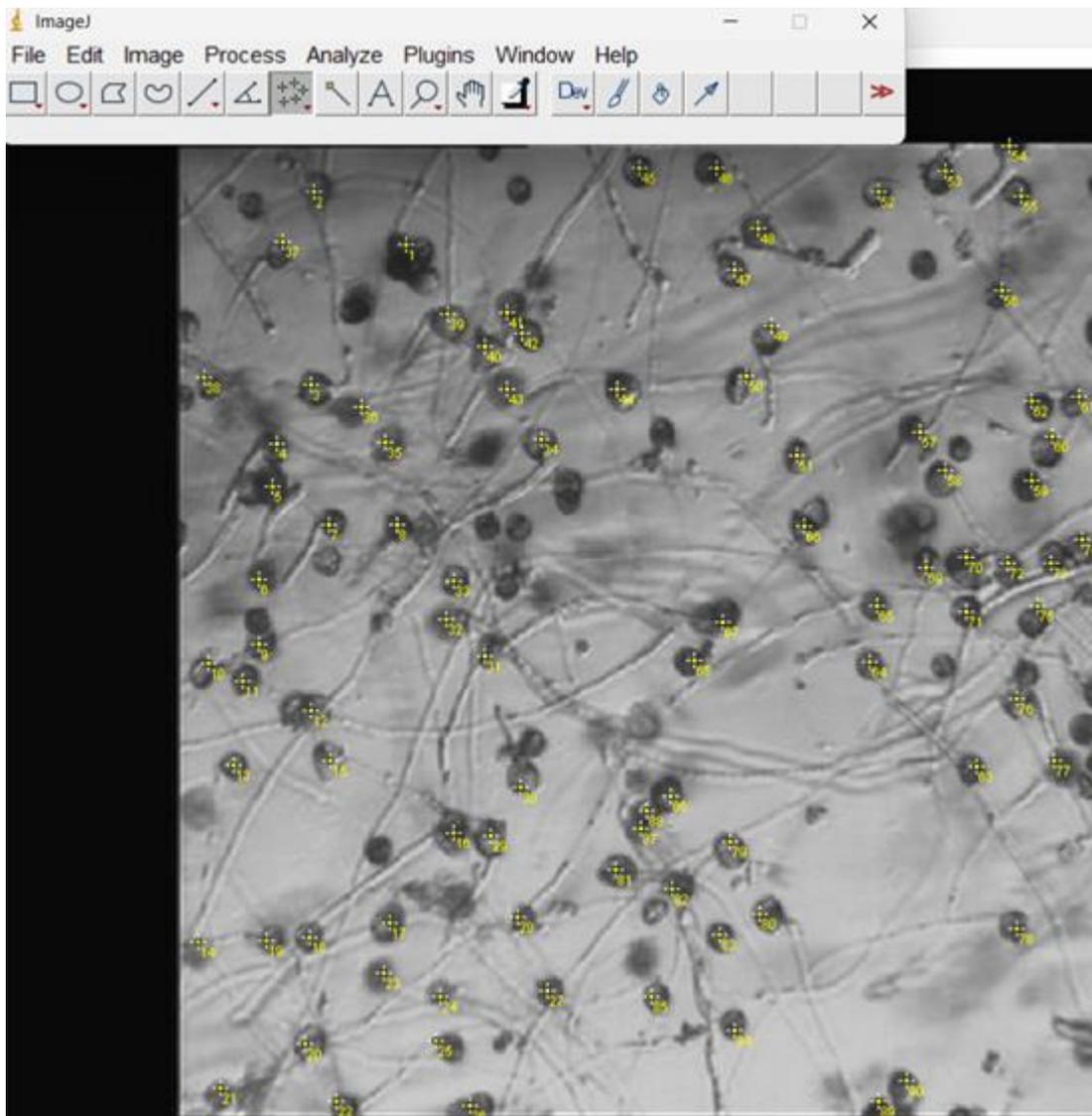


Figura 10. Esempio di conteggio di granuli pollinici di olivo mediante il software ImageJ. La barra di comando del software è mostrata in alto a sinistra. Ogni granulo di polline viene identificato da un numero progressivo. È necessario conteggiare sia i granuli di polline germinati sia quelli non germinati per stimare una percentuale di germinazione. I dati sono stati raccolti su un numero elevatissimo di granuli pollinici per tutte le analisi e per tutte le varietà considerate.

Vediamo adesso una panoramica dei dati ottenuti per quanto riguarda la percentuale di germinazione del polline di olivo ottenuto da diverse varietà. Le varietà considerate sono quelle mostrate nella figura sottostante (Figura 11); in particolare, il Correggiolo, il Frantoio, il Grappolo, il Leccino, il Leccino del Corno, la Madremignola, il Maurino, il Moraiolo, il Pendolino, il Piangente, il Rossellino e la Seggianese. Il polline è stato raccolto in maggio-giugno ed analizzato immediatamente dopo il prelievo. È stato quindi analizzato in due successivi momenti, dopo stoccaggio per alcuni mesi (ottobre) e dopo stoccaggio per circa un anno (aprile), cioè prima della successiva impollinazione.

Dopo un'attenta valutazione dei risultati, si possono trarre alcune conclusioni.

1. Anzitutto, la percentuale di germinazione del polline appena raccolto è sempre molto elevata. I dati della raccolta maggio-giugno indicano percentuali di germinazione dal 60% fino quasi

al 100%. Il polline del Grappolo è quello che si è mostrato molto più vitale rispetto a tutti gli altri. Vero è che una germinazione mediamente intorno al 80% viene considerata un valore decisamente ideale. Questo ci ha confortato sulla procedura di raccolta del polline che quindi non subiva danni particolarmente significativi ed una volta trasportato al laboratorio mostrava ancora una vitalità decisamente ottimale. Soltanto nel caso del polline della Seggianese abbiamo riscontrato valori di germinazione decisamente più bassi, intorno al 40%, un dato che non è facile da spiegare in termini biologici.

2. La valutazione dei dati di germinazione del polline effettuata a ottobre ha mostrato che il polline era conservato in modo ottimale e che la sua vitalità era praticamente identica a quella del momento della raccolta. Questo dato è stato ottenuto in modo simile per tutte le varietà analizzate, dal Correggiolo alla Seggianese. Il dato quindi ci ha confortato sia sulla modalità di raccolta che sulla modalità di stoccaggio del polline.

3. Diverso risultava il dato ottenuto nell'anno successivo (aprile). In questo caso abbiamo riscontrato un certo calo della percentuale di germinazione del polline per quasi tutte le varietà analizzate. Il decremento della percentuale di germinazione non era uguale per tutte le varietà, ma mostrava differenze importanti. Se il dato era significativo per il Correggiolo, il Frantoio, il Grappolo, il Leccino, il Leccino del Corno, la Madremignola e il Moraiolo, era invece poco significativo per il Maurino e il Pendolino. Per queste due varietà la percentuale di germinazione misurata a distanza di 11 mesi era praticamente sovrapponibile a quella misurata nei due casi precedenti. Abbastanza particolare risultava il caso della Seggianese. Il polline di questa varietà mostrava fin dall'inizio una bassa percentuale di germinazione che però rimaneva praticamente inalterata sia durante l'analisi effettuata in ottobre, sia durante l'analisi effettuata in aprile dell'anno successivo.

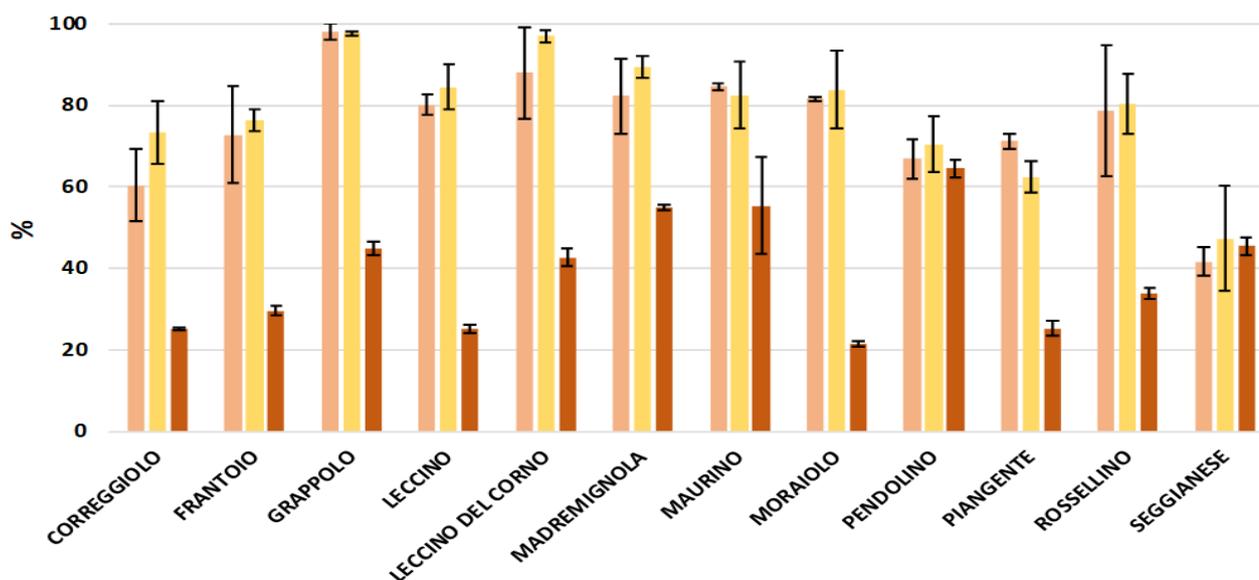


Figura 11. Dati di germinazione del polline delle varietà di olivo analizzate. I dati sono stati ottenuti al momento della raccolta (maggio-giugno) e successivamente dopo pochi mesi (ottobre) e quasi ad un anno (aprile anno successivo) dallo stoccaggio.

Per quanto riguarda le prove pratiche di impollinazione in campo il punto più delicato da risolvere è stato in realtà quello logistico ovvero ipotizzare la data di schiusura dei fiori ed immaginare l'inizio e la durata della "finestra" ideale per effettuare la distribuzione del polline negli oliveti.

Le fasi fenologiche che precedono la fioritura infatti vedono la completa distensione delle infiorescenze (stadio BCCH Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry num 55 nell'immagine seguente) o mignole ed il loro progressivo viraggio da una colorazione verde intensa ad una verde giallastra ed infine quasi gialla per poi arrivare all'apertura dei primi fiori (stadio 60), che sono quelli potenzialmente più portati ad allegare anche perché immediatamente, se fecondati, possono inibire ulteriori fecondazioni sulla stessa infiorescenza o sui rami sui quali sono inseriti.

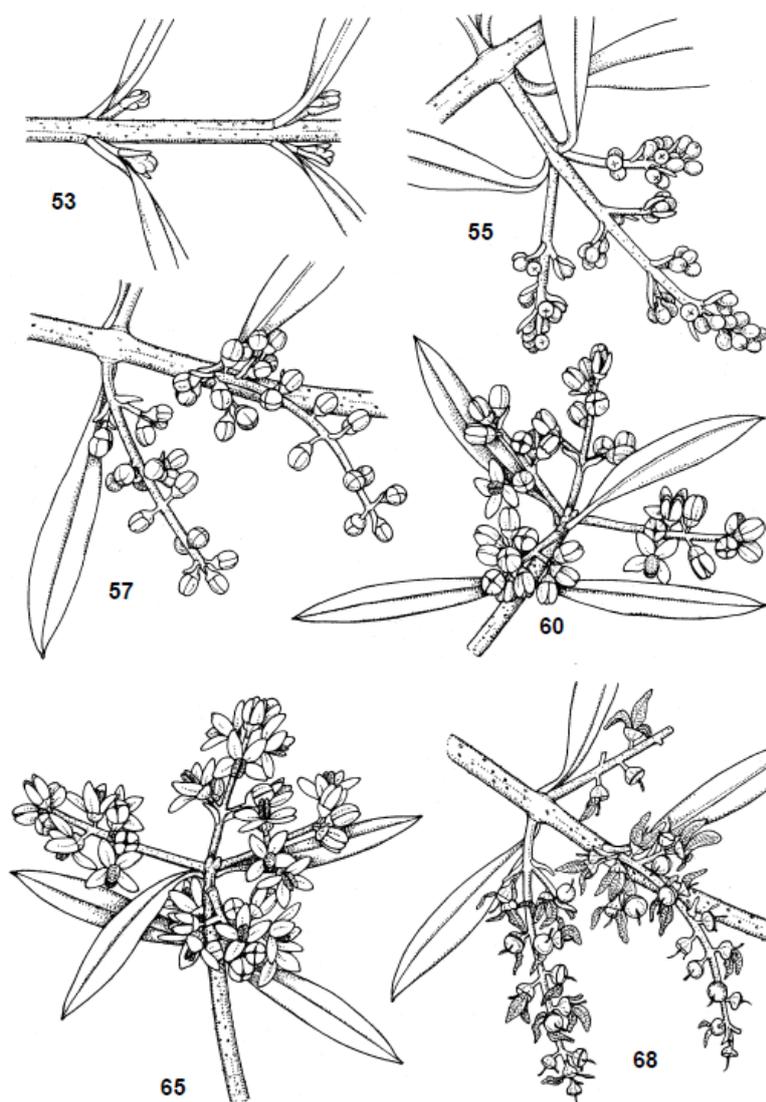


Figura 12. Stadi fenologici della fioritura dell'olivo codificati secondo lo standard BCCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry) che vanno dall'apertura del primo fiore (60) allo stadio in cui la maggior parte dei fiori hanno perduto le corolle (68). Dopo questo stadio i fiori non fecondati cadono a terra e rimangono solo gli abbozzi dei frutticini dei fiori fecondati che comunque saranno soggetti ad ulteriore cascola nel corso della stagione estiva ed autunnale fino alla maturazione definitiva.



Figura 13. A sinistra un mignola giunta quasi al termine del periodo di fioritura. Le corolle bianche sono in gran parte cadute ma al centro del calice di ogni fiore si notano gli ovari verdi non ingrossati e la parte dove si deve depositare il polline (stigma) di colore più chiaro, tendente al giallo, non ancora secco ma anzi ancora umido e lucente, vitale. La distribuzione del polline può essere ancora fatta perché i fiori sono ancora ricettivi. Questo stadio, nel caso di un unico intervento di impollinazione sembrerebbe migliore rispetto a quello di inizio fioritura quando solo un piccola percentuale rispetto al totale dei fiori potrebbe essere aperta. A destra una mignola apparentemente allo stesso stadio. Si noti il colore della parte centrale dei fiori. L'apice è di colore marrone chiaro e si mostra già disseccato. I giochi sono ormai fatti anche se gli ovari non appaiono ancora ingrossati e fecondati. La parte femminile non è più ricettiva e sarebbe inutile eseguire l'impollinazione a questo stadio avanzato.

La fioritura dell'olivo complessivamente ha una durata di 12-15 giorni e al termine della fioritura i petali cadono a terra lasciando scoperti gli ovari. Guardando ogni singolo fiore è possibile notare che la parte femminile ancora non risulti disseccata (colore marrone) ma si presenti invece ancora verde ed integra anche quando l'infiorescenza sia ormai arrivata allo stadio 68 della figura precedente ovvero la parte maschile abbia esaurito il proprio compito. I fiori che non sono disseccati sono fecondabili fino allo stadio 68 e la finestra utile quindi è quella che va dalla fase di 30% di fiori aperti a quella di fine fioritura. Deve essere considerato però lo scarto di fase presente sia all'interno dell'oliveto che a livello di pianta. Sulla pianta infatti si aprono prima i fiori posti nelle parti più alte e soleggiate mentre a livello di oliveto ci possono essere variazioni di alcuni giorni tra le varietà e differenze tra le piante poste in zone più o meno umide e soleggiate dell'oliveto. In genere quindi meglio attendere 7-10 giorni dalla schiusura dei primi fiori per effettuare l'impollinazione anche se abbiamo notato che con temperature molto alte realizzate in alcune annate la durata delle fioritura

è molto breve e si riduce la finestra utile a 5-7 giorni. Da un punto di vista pratico quindi per l'olivicoltore la difficoltà più grande è di ordine logistico. Quando l'infiorescenza comincia a cambiare colore infatti le temperature giocano un ruolo essenziale e talvolta induce a pensare che manchino circa 7/10 giorni alla fioritura. Ma se nel frattempo le temperature salgono oltre i 25 gradi nel giro di due giorni avviene una "esplosione" dei fiori e l'intervento deve essere realizzato a breve. Se la dispersione del polline viene fatta da terra in azienda quindi esiste una flessibilità massima mentre nel caso di uso di droni noleggiati o diretti da una azienda esterna occorre programmare bene la data dell'intervento. Nei quattro anni delle nostre prove la fioritura nelle zone più calde vicine alla costa tirrenica è iniziata in una finestra che va dal 10 al 30 maggio mentre nelle zone interne più fredde della toscana si sono avute fioriture e quindi impollinazioni anche nella prima quindicina di giugno. Gli andamenti climatici quindi incidono decisamente sulle date di operatività e lo sfalsamento di fioriture può facilitare la raccolta del polline che può iniziare nelle zone più precoci per impollinare le più tardive. Occorre qui ricordare che la raccolta del polline non danneggia le piante dove viene effettuata e non riduce il movimento naturale del polline all'interno degli impianti. Quindi chiedere ad un agricoltore di una zona precoce se è disponibile a far prelevare il polline dai propri impianti può essere accompagnato dall'informazione che tale prelievo non danneggia affatto la produzione ma anzi stimola la dispersione del polline presente che è enormemente più abbondante di quanto necessario alle piante vicine. Le informazioni raccolte a livello genetico in merito alla fecondazione inoltre indicano che la maggior parte delle olive delle varietà autofertili sono state ottenute da incrocio con altre varietà quindi la movimentazione di polline tra le piante effettuate con la raccolta ancora una volta rappresenta un vantaggio e non un problema per gli impianti soggetti a raccolta del polline.

La raccolta del polline da distribuire sia con il drone che con il soffiatore a terra è stata eseguita in gran parte dal personale dell'IBE CNR e di UNISI su piante particolarmente ricche di infiorescenze. La raccolta non è particolarmente difficile e può essere eseguita da qualsiasi tipo di personale anche non specializzato. La resa di raccolta oraria può variare molto in funzione della quantità di fiore e di polline presente sulle piante e nelle esperienze effettuate direttamente varia da 15 a 30 g per ora. Esperienze precedenti avevano dato indicazioni con forbice ancora più larga (si veda tabella sottostante).

Qtà	Cultivar	Tempo impiegato	Orario di raccolta	T. media in °C
6 g	Pendolino, Frantoio	2 h	10:00 - 12:00	22
5 g	MISTO	2 h	14:00 - 16:00	25.1
12 g	MISTO (Prevalente Casaliva)	2,5 h	14:00 - 16:30	25
24 g	MISTO (Prevalente Leccino)	1,5 h	16:30 - 18:00	18.5
72 g	MISTO	2 h	14:00 - 16:00	20
48 g	CASALIVA	1 h	15:00 - 16:00	27
102 g	ASCOLANA	1/2 h	17:30 - 18:00	24.9
48 g	REGINA DEL GARDA	1/2 h	18:00 - 18:30	24.9
6 g	MISTO	1 h	11:30 - 12:30	25

La raccolta su piante molto ricche di infiorescenze può essere effettuata anche per due o tre giorni di seguito in quanto l'apertura, come detto, procede nel corso di diversi giorni ed un buon indicatore

di quando il passaggio e la raccolta può cessare può essere fornito dalla resa oraria in polline. Dal momento che il passaggio con l'aspiratore calcolato sul primo quanto d'ora rende circa la metà di quello del passaggio precedente conviene spostarsi su piante che hanno le infiorescenze più vicine al picco di fioritura dove la resa è maggiore. Rimane sottinteso che queste sono indicazioni di massima che possono essere modificate in funzione delle condizioni e delle proprie possibilità di lavoro. Per quanto riguarda l'orario di raccolta del polline le rese migliori si hanno nelle ore più calde dalla metà del mattino fino al pomeriggio inoltrato. L'operazione, anche se facile, richiede una certa manualità che si apprende bene lavorando con l'aspiratore. Un movimento delle braccia che vada a scuotere la chioma infatti facilita la caduta del polline dalle antere e si riflette in una maggiore resa alla raccolta. Il rumore delle macchine non è piacevole da sopportare a lungo e quindi si raccomanda l'uso delle cuffie o meglio di tappi per le orecchie ed un altro inconveniente può essere dato dalla quantità di polline che può essere aspirata dall'operatore e non dalla macchina. L'esperienza con il COVID, tra l'altro elemento di disturbo di questo progetto, ci ha abituato ad indossare le mascherine a protezione delle vie respiratorie che indichiamo fortemente per le persone impiegate nella raccolta del polline. Le ore più calde quindi sono le più indicate ma anche quelle che fanno stancare di più gli operatori soprattutto se l'andamento stagionale, come succede spesso negli ultimi anni, conduce a temperature superiori ai 25 gradi.



Figura 14. Modelli di aspiratori di polline utilizzati per le prove del progetto. A sinistra un modello a terra a destra una versione a spalla, molto più comodo da utilizzare in caso di terreni con asperità od inerbimenti.

Il polline raccolto con l'aspiratore deve essere ripulito da eventuali oggetti estranei aspirati in campo quali porzioni di fiore e di erbe tramite l'apposito filtro di solito fornito come accessorio e poi chiuso in un barattolo di vetro e messo in frigorifero per la conservazione a breve o lungo termine secondo le indicazioni fornite precedentemente. Si deve solo prestare attenzione che non si inumidisca e se deve essere impiegato nei giorni immediatamente successivi può andare bene anche la sua conservazione inserendo il barattolo di vetro aperto in un contenitore a tenuta stagna dove viene messo anche un contenitore di sali essiccanti come quelli utilizzati normalmente per la casa. Tale soluzione è di facile applicazione e basso costo per qualsiasi azienda.

La fase di distribuzione del polline può essere effettuata sia con un distributore manuale (soffiatore) che con un drone che passa sopra la chioma degli olivi. La prima soluzione è senz'altro più indicata per le piccole aziende anche se il "piccolo" non è facilmente quantificabile perché dipende in gran parte dalle capacità anche fisiche di chi deve provvedere alla distribuzione e dalla giacitura degli impianti. Di fatto occorre "passeggiare" a buona andatura lungo le file e distribuire la ventilazione su quanta più chioma possibile. La quantità di polline che viene distribuita per ettaro può variare ed occorre di conseguenza variare la velocità dell'ingranaggio che inserisce il polline nella ventilazione. Seguire le indicazioni del costruttore è la via più facile anche se un aggiustamento, come sempre, dovrà essere fatto in funzione delle tipologie di impianto. Considerando un impianto con sesto a 6x6 m i km da percorrere a piedi con il soffiatore in mano sono stimabili in circa 3,5 km per ettaro ad una velocità che difficilmente può essere stimata inferiore a 15/20 minuti per km. Per effettuare la distribuzione quindi può essere stimata una esigenza di circa un'ora alla quale vanno aggiunti i tempi per la preparazione del polline. La ventilazione in questo caso raggiunge più facilmente le zone basse e medie delle chiome e può essere più difficoltosa nelle zone più alte soprattutto degli olivi di grande dimensione.

La distribuzione con i droni è senz'altro molto più veloce perché richiede pochi minuti per ettaro. Questa soluzione si presta quindi alla distribuzione sia su grandi superfici che su superfici contraddistinte da difficile orografia e piante di grande dimensione come presenti in molte zone dell'Italia. I droni da utilizzare non sono di grandi dimensioni ma neppure piccoli come quelli muniti di una semplice fotocamera per riprese, ormai alla portata di tutti e che vediamo frequentemente volare nelle zone più diverse. Al momento può essere ipotizzato l'uso del drone mediato da una azienda fornitrice di servizi. Forse questo è il punto più delicato al momento perché come descritto sopra l'individuazione del periodo ottimale per l'intervento e la decisione della data per la distribuzione del polline a volte andrebbe presa improvvisamente e questo mal si concilia con la programmazione da parte di una ditta magari non presente sul territorio e che deve venire da località lontane da quella dell'intervento. Questo aspetto senz'altro troverà soluzione negli anni a venire se la tecnica prenderà campo.



Figura 15. Modelli di droni utilizzabili in agricoltura. Il modello più piccolo a destra è stato uno di quelli utilizzati per la dispersione del polline all'interno degli oliveti.

Il volo del drone sull'oliveto può essere programmato velocemente e richiede, se tutto va bene e l'operatore è molto abile, pochi minuti. Nella nostra esperienza è stato visto che una buona preparazione del piano di volo è utilizzabile anche negli anni successivi quindi sarebbe meglio eseguire il piano dei voli all'interno degli oliveti aziendali, di solito suddivisi in più campi, in un momento più "tranquillo" per gli operatori e per gli agricoltori. Per la programmazione corretta del volo da compiere per distribuire il polline occorre prendere in considerazione alcune variabili facilmente gestibili: la forma del campo e la conseguente lunghezza delle file, l'altezza degli olivi, la pendenza del terreno e la direzione dei venti prevalenti. Quest'ultima variabile è la più incerta ma il piano di volo adeguatamente studiato e predisposto può essere leggermente modificato al momento della distribuzione nel caso in cui la direzione o l'intensità del vento fossero diverse da quelle ipotizzate in sede di programmazione. Il piano di volo dovrebbe prevedere il passaggio al di sopra delle chiome all'altezza minima possibile ovvero, per rimanere in sicurezza, almeno un paio di metri. Naturalmente il limite di sicurezza o stabilisce il pilota e dipende anche dall'omogeneità dello sviluppo delle piante e dalla pendenza del terreno (curve di livello). Se alcune piante hanno branche più alte della media quelle dovrebbero fare da riferimento per la quota. Il volo viene bene programmando i passaggi lungo le file più lunghe in modo da perdere meno tempo durante il giro per il cambio di direzione. Il pilota non dovrebbe mai perdere di vista il proprio drone quindi in alcuni impianti si è preferito rimanere in una zona non proprio dentro l'oliveto ma nelle immediate vicinanze in una posizione tale da poter agevolmente controllare cosa stesse avvenendo. Durante il primo volo può aiutare avere una o due persone che si posizionano nella zona più lontana rispetto al pilota in modo da verificare se i passaggi alternati del drone coprono l'oliveto in modo perfetto. Dal punto di vista della distribuzione ottimale del polline l'ideale sarebbe quello di passare non proprio sulla perpendicolare delle piante ma leggermente sopra vento così che i materiali vengano dispersi verso le chiome e non nell'interfila soprattutto quando questa fosse molto ampia (anche 9-12 m nel caso di olivete ultradecennali allevate a vaso tradizionale). Il volo in sé richiede pochi minuti ad ettaro (meno di 10) e come detto una volta verificato che funziona è valido non solo per il primo anno. Il pilota può, come detto, modificare leggermente il piano di volo in caso di vento da altra direzione semplicemente variando il punto di attacco del tracciato rispetto a terra spostandolo, se il vento fosse più forte leggermente sopra vento oppure se avesse cambiato direzione verso il lato opposto.

Il polline può essere utilizzato senza altri coadiuvanti se la distribuzione avviene con il soffiatore manuale mentre la sua consistenza e le quantità ridotte occorrenti mal si conciliano con il distributore a tramoggia attualmente presente sui droni. Probabilmente sarebbe utile che fosse la tecnica ad individuare una modalità migliore di prelievo di polline dal deposito ma al momento attuale l'unica soluzione valida è quella di mescolare il polline di olivo con una sostanza inerte individuata nelle spore di licopodio. Le spore del licopodio (*Lycopodium spora*) possiedono una serie di caratteristiche che le rendono ideali per questo tipo di applicazione in 1 mg sono contenute circa 94.000 spore omogenee in dimensione e molto resistenti alle degradazioni ma soprattutto fortemente idrofobe. La sostanza, impalpabile, si presenta di colore giallastro ed è assolutamente

asciutta ma si comporta dal punto di vista fisico come un fluido. Il polline quindi viene perfettamente disperso nella massa che riesce a percorrere gli ingranaggi della tramoggia senza creare nessun tipo di impaccamento o blocco. Il costo del licopodio può variare così come il reperimento. Al momento in cui si scrive, alcuni rivenditori on line richiedono meno di 50 euro al Kg mentre alcuni negozi fisici italiani hanno un prezzo di 120 Euro più IVA. ATTENZIONE le spore di licopodio sono altamente infiammabili e vengono usate nei fuochi artificiali. Non esiste alcun pericolo nella manipolazione e nella dispersione e questo può suggerire una via economica di approvvigionamento. Le ditte pirotecniche ne acquistano in grandi quantità a prezzi molto più convenienti rispetto a quelle erboristiche o farmaceutiche e su internet per acquisti più consistenti i prezzi sono decisamente più bassi (a partire da 18/20 euro al Kg). Abbiamo tentato di individuare sostanze naturali alternative a questa ma tutti i nostri tentativi sono andati a vuoto e nessun tipo di farina, sfarinato e derivato di origine vegetale provato è stato in grado di avvicinarsi alle proprietà fisiche delle spore. Il quantitativo utilizzabile ad ettaro è di circa 1 litro ed un Kg sviluppa circa 2,0 litri. Quanto sopra per far capire che essendo questa dell'impollinazione in olivicoltura una tecnica completamente nuova alcuni costi per prodotti o servizi possono risultare alti ma che se la tecnica si affermasse questi potrebbero scendere anche notevolmente.

La quantità di polline distribuibile per ettaro può essere diversa ma questa variabile è stata solo parzialmente scandagliata nel corso del progetto per problemi di ripetibilità delle prove e dei risultati ottenibili. Nelle prime prove realizzate sull'olivo a livello amatoriale erano stati distribuiti circa 1,7 g a pianta ma le piante erano pochissime e quindi il quantitativo totale di polline raccolto e distribuito era molto basso. Nel caso delle prove eseguite per il progetto si è scelto un quantitativo di 40 g per ettaro. Questo quantitativo potrebbe essere innalzato se la disponibilità aziendale o la capacità di raccolta fosse più alta ma secondo le nostre esperienze potrebbe arrivare ad un massimo utile di 80/100 g per ettaro. Questo aspetto rimane da approfondire ma sarebbero necessarie delle rigorose prove su un numero limitato ma ripetuto di parcelle/piante per verificare l'effettivo impatto sull'allegagione e sulla produzione finale di olive.

I risultati delle nostre distribuzioni hanno mostrato comunque un impatto positivo sulle produzioni di olive come mostrato nella tabella sottostante.

Olivastra Seggianese

Anno	Controllo	Impollinato	Aumento	%
2020	857	1028	171	20
2021	379	484	105	28
2022	1396	1537	141	10

Arbequina

Anno	Controllo	Impollinato	Aumento	%
2019	2,75	7,25	4,5	164
2020	5	5,85	0,85	17
2021	19,75	24,75	5	25
2022	24,5	35,25	10,75	44

A questi dati può essere sommato il dato realizzato in due anni nell'oliveta Montagnani dove si sono realizzati incrementi rispettivamente del 30% e 22% rispetto al controllo nei due anni in cui si è potuto lavorare e raccogliere senza interferenze ambientali.

In olivicoltura è sempre difficile esprimere giudizi univoci per la difficoltà creata dalla fisiologia e caratteristiche botaniche della pianta soggetta ad alternanza di produzione e per non generare aspettative troppo alte è ipotizzabile con la distribuzione del polline di registrare un incremento medio della produzione del 20% rispetto alle olivete impollinate in modo naturale.

Impresa Verde Grosseto ha provveduto a redigere un'analisi sulla fattibilità economica dell'impollinazione assistita. L'analisi ha ipotizzato di prendere in considerazione una azienda – tipo di dimensioni medio piccole, con 5 ettari ad olivo; la varietà considerata è la Olivastra Seggianese.

Si è prodotto un conto colturale riferito a 1 ettaro, ipotizzando: giacitura di media pendenza; fertilità terreno medio buona; piante per ettaro 200; olive per anno in media, 20 kg per pianta; produzioni media, 40 q per ettaro di olive da molire; resa 16%; senza irrigazione. Si sono sviluppati tre scenari: il primo riferito all'attualità, senza impollinazione assistita; il secondo con impollinazione assistita e incremento delle produzioni del 10%; il terzo sempre con impollinazione assistita ma incremento delle produzioni del 20%.

Il conto colturale è stato ipotizzato seguendo le indicazioni già contenute nel progetto e utilizzando il seguente schema contabile:

- PLV = PL - reimpieghi
- PN = PLV - STOT
- MOL = PN - SOS

- $MON = MOL - AMM$
- $VA = PLV - STOT$
- $FC = MOL - AFF - INT$

dove:

- PLV = produzione lorda vendibile, meno i reimpieghi;
- STOT = spese totali quali sementi, fertilizzanti, antiparassitari, noleggi passivi, acqua, assicurazioni, combustibili, elettricità, altri servizi (che costituiscono l'aggregato delle spese dirette per colture in produzione) a cui si aggiungono le altre spese di produzione: macchinari, trasformazione (frantoio), spese fondiari e spese generali;
- $PN = PLV - STOT$. Produzione Netta, che equivale al VA, Valore Aggiunto;
- SOS = salari e oneri sociali.
- AMM – si tratta degli ammortamenti. Riguardano: macchine operatrici, fabbricati aziendali, impianto arboreo, eventuali impianti tecnici. Inserito anche il valore d'uso del capitale terra
- $MOL = PN - SOS$. Si tratta del Margine Operativo Lordo.
- $MON = MOL - AMM$. È il Margine Operativo Netto.
- AFF = affitti.
- INT = interessi sul capitale di anticipazione.
- **$VA = PLV - STOT$.**
- **$FC = MOL - AFF - INT$. È il flusso di cassa e indica le risorse finanziarie a disposizione dell'impresa**

Si sono determinati: il valore della PLV che da circa 10 mila euro nella prima ipotesi a circa 12 mila euro nella terza; i costi derivanti dalle lavorazioni, dall'acquisto e impiego dei mezzi tecnici e dal personale; gli altri costi espliciti (assicurazioni, costi associativi, molitura, confezionamento ed etichettatura, ecc.) e impliciti (ammortamenti fabbricati e impianto arboreo, beneficio fondiario). STOT, SOS e AMM sono stati ulteriormente suddivisi con riferimento alle attività di coltivazione e a quelle di vendita.

Si è poi stimato il costo per la raccolta del polline, ipotizzando che avvenga da terra e che sia eseguito dall'impresa. Per la distribuzione del polline, si è andati direttamente sullo scenario che prevede l'uso del drone.

I risultati che si sono ottenuti sono positivi. Per l'ipotesi 1 si sono riportati solo i valori assoluti; per le ipotesi 2 e 3 anche lo scostamento % (sempre positivo) rispetto ai valori dell'ipotesi 1.

Nel caso dell'ipotesi 2, si ha un incremento di STOT del 10,35% ma il VA aumenta del 9,08% e il FC del 10,58%. Nel caso dell'ipotesi 3, si ha un incremento di STOT del 15,81% ma il VA aumenta del 21,32% e il FC del 27,51%.

Le criticità vanno ricercate nella effettiva presenza di un servizio di impollinazione con droni ad opera di terzi specializzati. E nella conferma, nel tempo, di un costo non proibitivo anche grazie a un'offerta concorrenziale che si dovrebbe sviluppare.

I files prodotti consentono comunque di disegnare diversi scenari, con costi più elevati rispetto allo scenario di base (maggiori costi colturali). Ma l'andamento di VA e FC nelle due ipotesi (+10% e +20%) elaborate mostra un buon margine in ogni caso.

4. RICADUTE ECONOMICHE E AMBIENTALI

Le ricadute economiche del progetto sono a nostro avviso piuttosto importanti. Innanzitutto la pratica dell'impollinazione assistita può innalzare il livello produttivo degli oliveti in modo anche importante ma soprattutto apre prospettive interessanti per iniziative economiche collaterali. La richiesta di attrezzature dedicate e personale specializzato indicano la possibilità di incrementare i redditi legati sia alla vendita che all'uso delle tecnologie così come alla fornitura di servizi "chiavi in mano" legati alla raccolta e distribuzione del polline. Per le aziende agrarie è ipotizzabile anche una fonte di reddito alternativa in quanto alcune potrebbero specializzarsi anche nella raccolta e conservazione del polline da fornire ad imprenditori agricoli sia della propria area che soprattutto di zone diverse per epoca di fioritura e presenza di varietà. Per quanto riguarda le ricadute ambientali è ipotizzabile che l'impollinazione possa rendere più remunerative alcune olivete adesso in condizioni di abbandono rendendo possibile la coltivazione di zone adesso molto svantaggiate e soggette a minori manutenzioni idrauliche.

5. QUADRO DELLE ATTIVITÀ DI TRASFERIMENTO DI CONOSCENZE REALIZZATE

Rispetto al piano delle attività previsto nell'ambito della **sottomisura 1.2**, sono stati interamente realizzati i **materiali informativi** previsti nel progetto (sito web del progetto, videoracconto, cartelloni da collocare nei siti di collaudo del progetto, news) ai quali si sono aggiunti ulteriori prodotti (logo del progetto, roll up, video risposte alle FAQ) utili ad una migliore divulgazione di tutti gli aspetti legati al progetto.

Il **sito web** dedicato al progetto (<https://www.olimpolli.eu/>) è articolato in sei pagine. Nella sezione "Eventi e news" sono state pubblicate 14 news legate al progetto; nella sezione "Documenti" è possibile scaricare la **scheda sintetica** del progetto, i **report** delle attività svolte, i file dei **roll up** realizzati in versione italiano e inglese, il **videoracconto**, le presentazioni utilizzate dai relatori in

occasione del convegno finale, oltre ad rassegna stampa e una “Photogallery” contenente una sintesi delle immagini legate alle attività progettuali. Nella sezione “FAQ” sono caricati sei video che rispondono ai dubbi emersi con maggiore frequenza in occasione degli incontri con gli agricoltori.

La foto dei **cartelloni** di segnalazione apposti nei campi prova sono presenti nella “Photogallery” alla sezione “Documenti” del sito web.

In merito agli eventi divulgativi, viste le restrizioni imposte per il contenimento del contagio da Covid-19 e, anche successivamente, all’esitazione di utenti e relatori agli spostamenti sul territorio e alla partecipazione a incontri in presenza, si è reso necessario, in un primo momento, rinviare le iniziative programmate. In particolare, ciò ha influito sulla realizzazione degli **incontri tematici**, per i quali si è ritenuta opportuna la partecipazione in presenza, comportando la rinuncia alla realizzazione di uno dei due incontri tematici previsti.

L’incontro tematico dal titolo *Potenzialità, limiti e ricadute produttive della distribuzione guidata del polline negli impianti olivicoli* si è svolto il 04.06.2021 presso l’Istituto Tecnico Agrario di Siena. All’iniziativa hanno partecipato 90 tra agricoltori, professori e studenti frequentanti il V anno dell’Istituto, molti dei quali già impegnati nell’azienda agricola di famiglia o comunque proiettati verso l’inserimento nel settore agricolo ove costituiranno la generazione futura, verosimilmente più orientata verso l’innovazione. Nel corso dell’iniziativa è stata anche effettuata una simulazione delle attività di impollinazione assistita effettuata su un appezzamento di olivi tramite drone dotato del kit di distribuzione mentre, grazie al supporto di ATOM Production, le attività sono state riprese anche da una video camera posta su un secondo drone. L’evento ha avuto un positivo riscontro anche mediatico sul TGR Toscana del 05.06.2021

(<https://www.rainews.it/tgr/toscana/notiziari/index.html?tgr/video/2021/06/ContentItem-45bd8949-4835-4d97-b177-a0d4c04ef31d.html>).

Sono invece stati realizzati tutti e tre i **convegni** previsti in domanda d’aiuto.

Il primo convegno *Innovazione e olivicoltura: impollinazione assistita* si è svolto il 21.02.2020 a Follonica (GR) presso l’Azienda agraria sperimentale Santa Paolina del CNR. L’iniziativa ha confermato un tangibile interesse per l’argomento tra gli olivicoltori, presenti in 42 dei quali la maggioranza uomini (36).

Il webinar *Innovatori di natura* del 13.11.2020 ha costituito un’opportunità per raccontare le potenzialità legate alle innovazioni introdotte nell’ambito di quattro Gruppi Operativi: OLIMPOLLI, GO-CARD, TINIA e IOCONCIV. L’evento ha goduto di un’ampia risonanza, grazie al coinvolgimento di tutto il personale CAICT e dei partner impegnati nei quattro progetti, nonché attraverso la rete di contatti stabili con gli agricoltori interessati alle quattro tematiche e con altri potenziali utenti maturati sin dal progetto mis.16.1. Sebbene sul registro risultino 62 presenze, tale numero non tiene conto di coloro che si sono collegati via Zoom e via FaceBook dei quali non è stato possibile reperire le richieste di iscrizione. Il bacino di utenti raggiunti si amplia ulteriormente, considerando le attuali 4.314 visualizzazioni della registrazione del webinar, tutt’ora disponibile sulla pagina FaceBook Coldiretti Toscana (<https://www.facebook.com/coldiretti.toscana/videos/451349705854401>).

Il terzo e ultimo convegno *Olivicoltura Toscana 4.0* è stato realizzato in presenza a Firenze presso l’aula formativa CAICT, con l’intento di illustrare il percorso delle attività progettuali e i risultati

ottenuti sia in termini di produttività, sia in termini di sostenibilità economica. Le presentazioni dei relatori sono scaricabili dalla pagina “Documentazione” del sito di progetto. L’iniziativa è stata trasmessa in diretta Facebook sul profilo Coldiretti Toscana dove è tuttora disponibile la registrazione (<https://www.facebook.com/coldiretti.toscana/videos/260150203084531>). Pertanto, sebbene sul registro risultino 33 presenze, occorre aggiungere le attuali 461 visualizzazioni della registrazione del convegno tramite FaceBook.

In merito alle iniziative formative previste nell’ambito della **sottomisura 1.1**, sono stati realizzati tre corsi brevi sui sei previsti.

Di fatto, con la cessazione dell’obbligo di frequenza di appositi corsi ENAC per il conseguimento del “patentino”, si è resa necessaria una revisione della tematica trattata nei due corsi brevi appositamente dedicati. Pertanto, nel febbraio 2021, è stata presentata una richiesta di variante grazie alla quale si sono realizzati due corsi su *Strumenti e strategie innovative per accrescere la competitività delle aziende agricole*. Ai corsi di 20 ore ciascuno svolte in modalità a distanza nei mesi di aprile maggio 2021, hanno partecipato complessivamente 34 agricoltori con una predominante componente femminile (26).

Per quanto concerne i due *Corsi pratico-applicativi per il settaggio e l'impiego del drone nelle attività di impollinazione*, essendo concepiti in consecuzione ai corsi per il conseguimento del patentino ENAC ed essendo venuto meno il presupposto e quindi il fabbisogno formativo, si è dovuto rinunciare alla loro attuazione.

A conclusione del progetto (maggio 2023), così come progettato, si è svolto uno dei due corsi previsti su *Tecniche e strumenti per incrementare l'impollinazione e la produzione dell'olivo* nell’ambito del quale sono state riportate le conoscenze ed esperienze maturate nell’ambito del progetto. Al corso hanno partecipato conseguendo l’idoneità 14 agricoltori.

Visto il ritardo maturato anche a seguito della cessione del ramo d’azienda dell’agenzia formativa, non è stato possibile avviare la seconda edizione del medesimo corso.

In conclusione, le attività di trasferimento delle conoscenze hanno coinvolto in prima persona i 275 partecipanti alle iniziative divulgative e formative, interessando tuttavia un bacino di oltre 15.000 utenti considerato coloro che hanno visualizzato le registrazioni dei convegni, le pagine del sito di progetto e di CAICT, oltre ai numerosi post pubblicati sui social media, nonché gli articoli su riviste e giornali.

6. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il progetto Olimpelli Montagnani comprendeva anche un'indagine conoscitiva sull’interesse degli olivicoltori verso il sistema dell’impollinazione assistita con raccolta di polline e successivo uso del drone. L’indagine è stata svolta da Impresa Verde di Siena coinvolgendo oltre 200 aziende che hanno risposto ad un questionario scritto. Di queste, solo alcune non hanno olivi ma hanno comunque risposto sul tema grazie a una conoscenza generale delle problematiche di settore.

Il questionario era suddiviso in parti: 1 – dati anagrafici; 2 – informazioni sull'azienda agricola; 3 – propensione all'innovazione; 4 – valutazione dell'innovazione proposta; 5 – utilità dell'iniziativa (solo per le aziende che hanno partecipato a un evento informativo).

Il campione: era prevalentemente maschile (per circa 2/3); ha età media superiore a 56 anni; è composto da aziende con superfici ad olivo di ridotte dimensioni, con una media inferiore a 3 ettari per azienda. Gli impianti ad olivo sono disetanei, anche per l'opera di costante rinnovo.

L'indagine ha mostrato che la maggioranza degli intervistati ha l'interesse generale verso l'innovazione ma che il metodo di impollinazione assistita ancora non era molto conosciuto.

Gli intervistati più giovani hanno manifestato maggiore interesse verso l'innovazione in generale e verso la tematica dell'impollinazione assistita, nello specifico.

La rilevazione ha conferma che:

- nel complesso vi è un bacino potenziale di olivicoltori che guardano o potranno guardare all'impollinazione assistita e all'utilizzo del drone in questo ambito;

per la comunicazione, vi è propensione a utilizzare strumenti quali l'e-mail o whatsapp, privilegiandoli rispetto a un evento tradizionale o materiale cartaceo. E di questo si potrà tener conto nella organizzazione di servizi di informazione/divulgazione così come nell'ambito di possibili servizi consulenziali futuri.

ABSTRACT ANCHE IN LINGUA INGLESE

The OLIMPOLLI Montagnani project was directed to test if the olive yield could be increased by the distribution of pollen previously collected. The pollen must be aspirated by a small manual vacuum machinery within external orchards in full blossom and then re-distributed inside the orchard of interest. The pollen can be used within a few days from the harvesting just keeping it dry at low temperature (2-3°C). It can also be stored for a longer period, even one year, at -20°C. The cultivars involved as donor or receiver must be taken into consideration because of olive plant infertility that can lower or hinder the pollination and the fruit set. The pollen (40 g per hectare) must be mixed with 1 liter of lycopodium spores to be distributed by drone flying above the canopies at full blossoming. The distribution could take place also by using a small machinery (blower) and in this case the lycopodium could be less or even absent. The increase in yield of the olive orchards subjected to distribution of external pollen could be estimated 20% with respect to a control under standard open pollination. The cost of the operation made by drone and the superior cost for olive harvesting and milling seems to be compensated by the adjunctive revenue so that the assisted pollination seems to be convenient in both traditional and modern super intensive olive orchards.