UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI UDINE

FACOLTÀ DI AGRARIA

Corso di laurea in Viticoltura ed Enologia
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali

TESI DI LAUREA

COMPOSTAGGIO DEL MATERIALE DI POTATURA DELLA VITE E POTENZIALE INFETTIVO DI *Phomopsis viticola*

Relatore:
Chiar.mo Prof. Ruggero Osler

Laureando:
Enrico Battiston

Correlatori:
Dott. Marco Contin
P.A. Stefano Borselli

ANNO ACCADEMICO 2010 – 2011

INDICE

RIASSUNTO **4**

ABSTRACT **5**

1 INTRODUZIONE **6**

1.1 LA VITE 6

1.1.1 CENNI DI MORFOLOGIA, ANATOMIA E FISIOLOGIA 7

1.1.1.1 I tralci *8*

1.1.1.2 La bacca e la buccia *9*

1.1.1.3 Ciclo vitale e ciclo annuale della vite *10*

1.1.2 DIFFUSIONE E IMPORTANZA ECONOMICA 11

1.2 LE MALATTIE DELLA VITE 12

1.2.1 L'ESCORIOSI DELLA VITE 14

1.2.1.1 Sintomatologia *14*

1.2.1.2 Eziologia *15*

1.2.1.4 Biologia *17*

1.3 IL COMPOSTAGGIO 19

1.3.1 MATRICI ORGANICHE COMPOSTABILI 19

1.3.2 I MICRORGANISMI DEL PROCESSO DI COMPOSTAGGIO 20

1.3.3 LE FASI DEL PROCESSO 22

1.3.3.1 Prima fase: decomposizione della sostanza organica *22*

1.3.3.2 Seconda fase: maturazione *23*

1.3.4 PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO 23

1.3.4.1 Temperatura di processo *23*

1.3.4.2 Umidità del substrato *24*

1.3.4.3 Presenza di O_2 e produzione di CO_2 ..... *24*

1.3.5 IMPORTANZA DEL COMPOST IN VITICOLTURA 25

2 SCOPI DELLA TESI **27**

3 MATERIALI E METODI **28**

3.1 PROVA DI COMPOSTAGGIO 28

3.1.1 ALLESTIMENTO E CONDUZIONE DEI CUMULI 28

3.1.1.1 Matrici organiche impiegate *30*

3.1.1.2 Gestione dei cumuli *31*

3.1.2 CONTROLLO DEI PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO 32

3.1.2.1 Rilievo della temperatura di processo *32*

3.1.2.2 Determinazione della concentrazione di CO_2 ..... *33*

3.1.2.3 Determinazione dell'umidità del substrato *33*

3.1.3 DETERMINAZIONE DELLE CARATTERISTICHE DEL COMPOST 34

3.1.3.1 Campionamento *34*

3.1.3.2 Determinazione dei solidi volatili e delle ceneri *34*

3.1.3.3 Determinazione del pH *34*

3.1.3.4 Determinazione della conducibilità elettrica specifica *35*

3.1.3.5 Determinazione del contenuto in carbonio organico, azoto totale e carbonio organico solubile (DOC) *35*
3.1.3.6 Determinazione dei parametri di umificazione *36*
3.1.3.7 Test di germinazione *38*
3.1.3.8 Determinazione del contenuto in elementi inorganici *39*
3.2 VERIFICHE FITOPATOLOGICHE 40
3.2.1 STUDIO DEL MATERIALE INFETTO 40
3.2.1.1 Riconoscimento della malattia *40*
3.2.1.2 Incubazione del patogeno in camera umida *40*
3.2.1.3 Isolamento del patogeno *41*
3.2.1.4 Identificazione del patogeno *42*
3.2.2 PREPARAZIONE DEL MATERIALE PER IL COMPOSTAGGIO 42
3.2.3 MONITORAGGIO DEI CAMPIONI DURANTE IL COMPOSTAGGIO 43
3.2.4 VERIFICHE DEL MATERIALE COMPOSTATO 44
4 RISULTATI 45
4.1 RISULTATI DELLA PROVA DI COMPOSTAGGIO 45
4.1.1 PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO 45
4.1.2 CARATTERIZZAZIONE DEL COMPOST 50
4.1.2.1 Solidi volatili e ceneri *51*
4.1.2.2 pH e conducibilità elettrica specifica *51*
4.1.2.3 Carbonio organico, azoto totale e carbonio organico solubile *52*
4.1.2.4 Parametri di umificazione *53*
4.1.2.5 Indice di germinazione *55*
4.1.2.6 Elementi inorganici *56*
4.2 RISULTATI DELLE VERIFICHE FITOPATOLOGICHE 58
4.2.1 STUDIO DEL MATERIALE INFETTO 58
4.2.2 MONITORAGGIO DEI CAMPIONI DURANTE IL COMPOSTAGGIO 60
4.2.3 VERIFICHE DEL MATERIALE COMPOSTATO 61
5 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI 65
5.1 QUALITÀ DEL COMPOST PRODOTTO 65
5.2 EFFETTO DELL'INOCULO STARTER 66
5.3 EFFETTO DELLA VINACCIA 67
5.4 RIDUZIONE DEL POTENZIALE INFETTIVO DOPO IL COMPOSTAGGIO 68
5.5 CONCLUSIONI 69
BIBLIOGRAFIA 71

RIASSUNTO

La competitività del mercato vitivinicolo impone scelte aziendali che rispondano a scenari di sostenibilità della coltivazione della vite e a nuove strategie per il riutilizzo dei sottoprodotti, primi fra tutti, i sarmenti e le vinacce. Oggi, è in crescita la produzione di materiale pellettato per la produzione di energia termica, anche se ancora molti viticoltori interrano i residui di potatura in campo o li bruciano nonostante tale pratica sia vietata. In questo contesto, il compostaggio rappresenta una valida alternativa alle pratiche tradizionali, restituendo alla fine del processo, un materiale utile al reintegro della sostanza organica e dei nutrienti al suolo. Tuttavia l'applicazione di questo processo per il riutilizzo dei sarmenti e delle vinacce presenta alcuni problemi, tra i quali, la difficoltà di compostare un materiale prevalentemente ligno-cellulosico e il potenziale inoculo di alcune ampelopatie.

Nel presente lavoro, è stato studiato, in modo fattoriale, il compostaggio di sarmenti e vinacce, valutando l'effetto dell'inoculo di microrganismi selezionati sulle prestazioni complessive del processo. Sono stati allestiti quattro cumuli di tipo semi-statico, nei quali sono stati monitorati i parametri di processo, analizzando infine il compost sotto il profilo chimico-fisico. Parallelamente è stato studiato il potenziale infettivo di *Phomopsis viticola* in sarmenti infetti posti all'interno di un cumulo per i primi 28 giorni di compostaggio e, poi, sono stati sottoposti alle verifiche fitopatologiche e confrontati con i sarmenti di controllo mantenuti nel vigneto.

Il compost, ottenuto in 126 giorni, di cui 40 assimilabili alla tipica fase termofila, è risultato di buona qualità e conforme ai termini normativi per l'"*ammendante compostato misto*". L'inoculo ha favorito la maturazione del compost, mentre la vinaccia ha inciso positivamente su alcuni standard qualitativi del materiale ottenuto.

Il compostaggio ha permesso la riduzione totale del potenziale infettivo di *P. viticola* conseguita mantenendo per 15 giorni temperature superiori a 50°C al centro del cumulo, con un picco di massima temperatura pari a 69°C per 24 ore. I campioni infetti, mantenuti in vigneto, hanno invece conservato il potenziale infettivo, risultando positivi alle verifiche di germinabilità delle spore fungine.

In conclusione, la pratica del compostaggio, combinato di sarmenti e vinaccia, è risultata idonea alla produzione di un compost di qualità e alla riduzione totale del potenziale infettivo di *P. viticola*.

ABSTRACT

Nowadays, the competitiveness of the wine market requires business decisions that respond also to the sustainability of grape cultivation, and modern strategies in utilization of by-products, such as pruned wood and marc. Alternative practices as the pellets production for thermal energy, are developing, although still many farmers incorporate the remains of pruning in the soil or burn them in spite of this practice is forbidden. In this context, composting is a viable alternative to traditional practices, producing a material useful for soil amendment and fertilization. However, composting of pruned wood and marc has two mains problems: i) difficulty of temperature rising due to the mainly ligno-cellulosic material; ii) spread of some grapevine's diseases by inoculation trough infected material.

The aim of this work was to evaluate the possibility of using pruned wood and marc to produce a fertilizer of high quality, and to reduce the *Phomopsis viticola* infectivity.

We studied, in factorial design, the addition of marc (up to 15%) and an inoculum of selected microorganisms (10 L/pile) to pruned wood, mixed with 20% of chicken manure on the overall performance of the process. Four semi-static piles were set up in the open-field, in which, temperature, CO_2 and moisture were monitored during 3 months and final compost properties analysed. Moreover, we studied the infection of *P. viticola* in the infected canes, placed in a pile during the first 28 days of composting. These were then subjected to pathological test and compared with infected canes kept in the vineyard for the same period.

The composting process ended in 126 days, the typical thermophile phase lasted about 40 days. The resulting compost was particularly suitable for vineyards fertilization. The inoculum accelerated the maturation of compost by reducing their DOC, while marc had a positive effect on certain chemical properties. Composting allowed a total reduction of the *P. viticola* infectivity, keeping the temperature above 50°C at the centre of the pile, for 15 days, with a maximum peak of temperature around 69°C for 24 hours. The infected canes, kept in the vineyard, have conserved their infectivity, resulting positive at the tests of germination of fungal spores.

In conclusion, the composting of pruned wood and marc was suitable for the production of high quality compost and a total reduction of the *P. viticola* infectivity.

1 INTRODUZIONE

La presente tesi prende spunto dall'attuale problema di smaltimento e di riutilizzo del legno di potatura del vigneto e della vinaccia quale sottoprodotto di vinificazione dell'uva, in relazione anche al potenziale infettivo – di diversi funghi patogeni – che tale materiale conserva se distribuito in campagna anche dopo frantumazione.

Nell'ultimo decennio sono state sperimentate diverse modalità di recupero dei sarmenti di vite e nello specifico hanno trovato applicazione la produzione di pellet ed ecoballe per caldaie domestiche o impianti industriali, in ragione del ritorno economico che questa attività assicura. Tuttavia il peggioramento della fertilità dei nostri suoli, legato alla riduzione della sostanza organica, sta mettendo in luce la possibilità di utilizzare i residui di coltivazione per la produzione di materiale organico da reintegrare nelle colture, attraverso la pratica del compostaggio.

La presente ha sviluppato uno studio sulla tipologia di compost che può essere prodotto utilizzando il materiale in questione; monitorando, durante il compostaggio, l'evoluzione del potenziale infettivo di *Phomopsis viticola* nei sarmenti infetti.

L'attività di ricerca ha coinvolto il Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali dell'Università degli Studi di Udine ed è stata realizzata presso l'azienda agricola "La Ganga" di San Giorgio della Richinvelda (PN).

1.1 LA VITE

La vite comune o vite euroasiatica (*Vitis vinifera* L., 1753) è un arbusto rampicante della famiglia delle *Vitaceae*, ordine *Rhamnales*. La suddivisione sistematica del genere *Vitis* comprende circa 40 specie asiatiche e circa 30 specie americane, appartenenti ai due sottogeneri *Muscadinia* e *Vitis*. Quest'ultimo detto anche *Euvitis*, identifica specie

con un corredo cromosomico diploide composto da 19 coppie di cromosomi (2n = 38) e contempla differenti suddivisioni articolate in serie. La vite comune sarebbe l'unica specie della serie *Vinifera* e s'identifica con la vite di origine euroasiatica perché è ivi presente anche come specie spontanea. Nell'ambito della specie si distinguono due sottospecie: *V. vinifera* subsp. *sativa*, con piante ermafrodite a fiori bisessuali, comprendente le varietà coltivate e denominate vitigni; *V. vinifera* subsp. *silvestris*, con piante dioiche, è la sottospecie spontanea ampiamente diffusa negli ambienti boschivi delle regioni temperate calde euroasiatiche e dal punto di vista agronomico è del tutto priva d'interesse [1].

1.1.1 CENNI DI MORFOLOGIA, ANATOMIA E FISIOLOGIA

La pianta ha un portamento naturale irregolare, con ramificazione rada ma molto sviluppata in lunghezza anche per diversi metri. Per tale ragione la vite è coltivata con sistemi di allevamento che definiscono l'architettura e la disposizione spaziale della vegetazione.

Il fusto è irregolare, di varia lunghezza, con ritidoma persistente che, forzato a mano, si distacca a nastro. La colorazione, grigiastra nei rami di un anno, diventa marrone con lo sviluppo del ritidoma; la vigoria del fusto e dei rami è strettamente condizionata dal portinnesto. Il legno ha una colorazione bruno-giallastra.

La ramificazione è originata da tre tipi di gemme: da quelle pronte si sviluppano nello stesso anno germogli di secondo ordine, comunemente detti femminelle; dalle gemme latenti, che restano in quiescenza per un numero indefinito di anni, si sviluppano germogli più o meno vigorosi, comunemente detti succhioni; dalle gemme dormienti si sviluppano i germogli di primo ordine nella primavera successiva.

Sui tralci dell'anno, in corrispondenza dei nodi, si inseriscono tre diversi organi: i cirri, le foglie, le infiorescenze. I primi, comunemente detti viticci, sono organi di sostegno opposti alle foglie, che hanno uno sviluppo a spirale elicoidale permettendo l'ancoraggio del germoglio ad un supporto di qualsiasi natura. Le foglie sono palmate, con lembo intero o suddiviso in genere in 3 o 5 lobi più o meno profondi; il profilo varia secondo il vitigno, ma nella maggior parte è asimmetrico e irregolarmente orbicolare, in altri termini senza uno sviluppo prevalente in lunghezza o in larghezza. Il margine è

irregolarmente dentato, nel punto d'inserzione del picciolo forma un'insenatura più o meno marcata (seno peziolare) che può essere del tutto assente oppure conformato a U o a lira, di apertura e profondità variabile. In genere la superficie della pagina superiore è glabra, mentre la pagina inferiore può essere rada, aracnoidea (peli radi e distribuiti come a formare una ragnatela) o fittamente tomentosa fino ad essere cotonosa. In autunno le foglie perdono la clorofilla assumendo, secondo il vitigno, una colorazione gialla o rossa. Con l'entrata in riposo vegetativo le foglie possono persistere per un tempo variabile sulla pianta.

I fiori sono riuniti in infiorescenze a pannocchia, dapprima erette, poi pendule (grappolo composto). Un grappolo è formato da un asse principale, detto rachide, che si ramifica in assi laterali, a sua volta ramificati. I fiori sono primariamente bisessuali ma secondariamente possono essere maschili o femminili per aborto dei rispettivi organi o per perdita di funzionalità [2].

1.1.1.1 I tralci

I rami giovani allo stato erbaceo sono detti germogli o pampini, una volta lignificati sono detti tralci (figura 1.1), sarmenti, dopo potati. I tralci lignificati hanno un colore bruno-giallastro, con evidente striatura longitudinale; i nodi sono ingrossati e gli internodi relativamente brevi [2].

Sotto il profilo anatomico (figura 1.1), le ramificazioni presentano una struttura primaria costituita all'esterno dall'epidermide, provvista di cuticola, stomi e peli. Segue all'interno la corteccia formata da 8-20 strati di cellule parenchimatiche primitive contenenti cloroplasti e cristalli di ossalato di calcio; il parenchima è rinforzato da cordoni di collenchima, corrispondenti alle striature longitudinali, che si notano all'esterno dei germogli. Verso l'interno la corteccia termina con l'endoderma, formato da cellule ricche di amido e di ossalato di calcio. Più internamente si trova il cilindro centrale che inizia dal periciclo e che comprende i fasci fibrovascolari, disposti in modo circolare e collegati dal cambio. Tra un fascio e l'altro si trovano i raggi midollari, ricchi di amido, confluenti in un abbondante midollo centrale, costituito da grandi cellule lacunose che si svuotano e muoiono. Nel fusto ci sono due zone generatrici che sono il fellogeno e il cambio. Il fellogeno produce verso l'esterno sughero e verso l'interno felloderma cioè parenchima corticale secondario. Sughero, fellogeno e

felloderma costituiscono il periderma. Mentre, l'attività del cambio da luogo ogni anno a nuovo libro all'esterno ed a nuovo legno all'interno. [1].

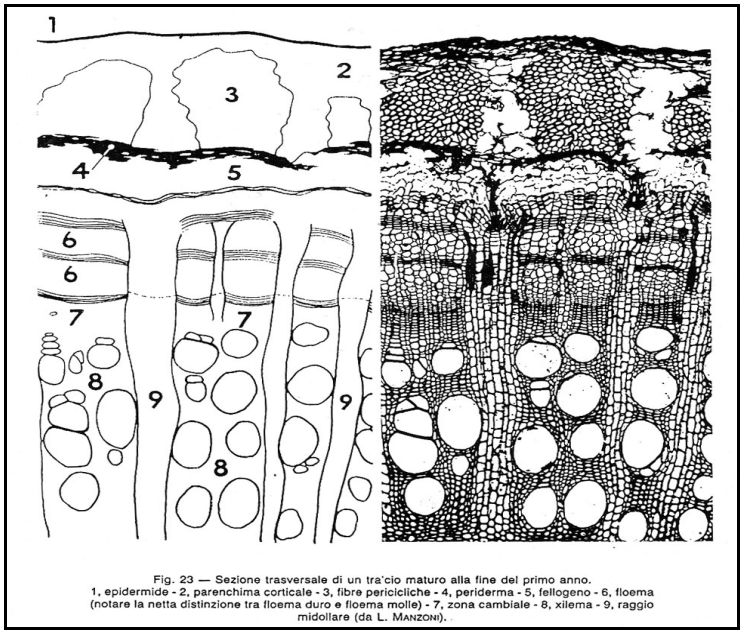

Fig. 23 — Sezione trasversale di un tra'cio maturo alla fine del primo anno.
1, epidermide - 2, parenchima corticale - 3, fibre pericicliche - 4, periderma - 5, fellogeno - 6, floema (notare la netta distinzione tra floema duro e floema molle) - 7, zona cambiale - 8, xilema - 9, raggio midollare (da L. MANZONI).

Figura 1.1: sezione trasversale di un tralcio maturo

1.1.1.2 La bacca e la buccia

Il frutto è una bacca, detta acino (figura 1.2), il cui colore a maturità, varia, secondo il vitigno, dal verde al giallo, dal roseo al rosso-violaceo, al nero o al nero-bluastro, ma l'intensità e la tonalità del colore possono variare anche in funzione delle condizioni ambientali, in particolare l'illuminazione. La forma degli acini è in genere sferica, subsferica, ellittica o ovoidale a seconda della varietà; mentre la conformazione del grappolo varia tra cilindrico, conico o piramidale [2].

L'epicarpo (buccia) è membranoso con un'epidermide cutinizzata (cutina) priva di stomi. Sulla cuticola si può formare, maggiormente in alcune varietà che non in altre, uno strato di natura cerosa detto pruina. Nella buccia sono contenuti: acido tartarico, composti fenolici (antociani e flavoni), tannini, aromi (terpenoli e norisoprenoidi) ed enzimi.

Sotto la buccia vi è una serie di strati di grosse cellule piene di succo che costituiscono il mesocarpo; più internamente si trova l'endocarpo contenente i semi, o vinaccioli, non distinguibile dal resto della polpa. Nella polpa vi sono zuccheri (glucosio e fruttosio),

acido tartarico e acido malico, pectine, sostanze colloidali varie, composti azotati e sostanze minerali [1].

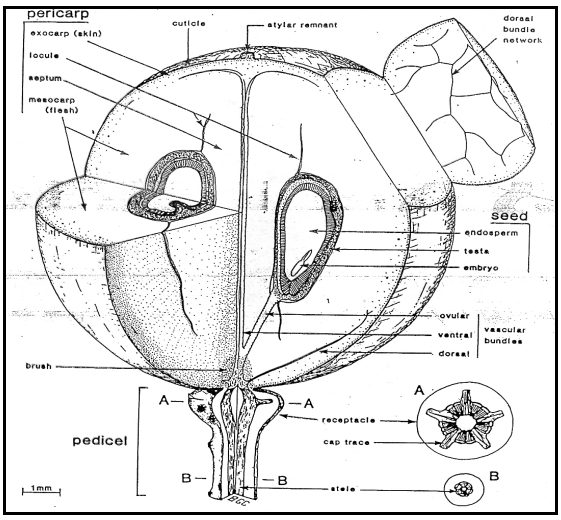

Figura 1.2: struttura anatomica dell'acino [1]

1.1.1.3 Ciclo vitale e ciclo annuale della vite

Nel corso della sua vita, la pianta attraversa quattro diversi periodi:

1 – pianta giovane: dalla messa a dimora fino ai 2-3 anni in cui la vite è praticamente improduttiva e attraverso la potatura, il viticoltore da forma alla pianta affinché questa soddisfi le esigenze fisiologiche ed economiche;

2 – pianta in fase di produttività crescente: periodo che va dai 2-3 anni ai 5-6 anni, in cui la pianta raggiunge gradatamente la sua maturità e il suo rendimento ottimale;

3 – pianta adulta: va dai 6-7 anni ai 20-25 anni, periodo in cui la produzione risente di variazioni stagionali, ma nel complesso si mantiene abbastanza costante;

4 – pianta in fase di vecchiaia: dai 20-25 in poi, dove la vigoria e la produzione calano progressivamente per cui le cure colturali variano nel tempo.

L'entità di potatura e quindi la quantità di legno asportato varia in funzione non solo all'età della vite, ma anche delle fasi fenologiche che si ripetono ogni anno. Si possono così definire fasi vegetative, che comprendono:

- pianto-germogliamento delle gemme (marzo-aprile);
- accrescimento dei germogli (aprile-luglio);
- agostamento dei tralci (agosto-novembre);
- riposo vegetativo (dicembre-marzo);

e le seguenti fasi riproduttive:

- differenziazione, entrata in dormienza e dormienza delle gemme miste ibernanti (anno precedente);
- comparsa dei grappoli e loro sviluppo (aprile-maggio);
- fioritura (fine maggio-metà giugno);
- allegagione (metà giugno);
- accrescimento e stadio erbaceo dell'acino (metà giugno-metà agosto);
- fase translucida e invaiatura (metà agosto);
- maturazione degli acini (metà agosto-ottobre).

La lunghezza delle fasi dipende dal vitigno e il periodo varia anche dall'ambiente. Entrambi le fasi si verificano sullo stesso germoglio e possono essere modificate dal clima [1].

1.1.2 DIFFUSIONE E IMPORTANZA ECONOMICA

La vite comune è una pianta eliofila. Ha una resistenza intrinseca alle basse temperature in fase di dormienza (-20°C), mentre diventa particolarmente sensibile nel corso della fase vegetativa, con una certa variabilità nel corso delle diverse fasi. Le alte temperature (45°C all'ombra) hanno influenza negativa soprattutto sull'accrescimento degli acini, che subiscono allessatura o, in casi estremi, disseccamento [1].

Per queste esigenze ambientali la viticoltura mondiale è circoscritta oggi tra il 30° e 50° di latitudine nord e tra il 30° e 50° di latitudine sud; su altitudini comprese tra 0 e 1.200 m s.l.m. e con esposizioni differenti, per una superficie globale stimata di 7.660.000 ha, della quale l'Unione Europea occupa circa il 57,9%.

La produzione mondiale di uve, ottenuta dalla coltivazione di *Vitis vinifera*, comprende le uve destinate alla produzione di vino (largamente più importante), quella delle uve da tavola e da essiccare, quella per i succhi, con una produzione globale stimata di 67.532.300 t, alla quale il continente europeo contribuisce per il 44%.

Fra i paesi maggiori produttori di uva, l'Italia si colloca al primo posto. Secondo i dati dell'OIV del 2010 la superficie vitata italiana è di 818.000 ha, con una produzione complessiva di 8.150.000 t di uva. Questi dati fanno dell'Italia il leader di settore nell'export di vino nel mercato globale, con 18,6 milioni di hl annui [3].

Da molti anni le 4 regioni italiane più vitate sono: al nord il Veneto e l'Emilia Romagna, al sud la Sicilia e la Puglia. Il Friuli Venezia Giulia si colloca al 13° posto con una superfice vitata di 20.404 ha; tuttavia se si considerano i vigneti atti a dare V.q.p.r.d., la stessa regione passa al 7° posto con 16.947 ha iscritti all'albo [4]. Inoltre in Friuli si trova il centro mondiale di riferimento per la produzione di barbatelle, che fornisce annualmente circa 90 milioni di talee innestate e franche. La sola provincia di Pordenone ospita la maggior parte degli appezzamenti a piante madri portainnesti e piante madri marze, coltivati in Itali [5].
Dal punto di vista economico, si evince dunque, che la produzione vitivinicola occupa una posizione di rilievo nell'ambito del settore agricolo nazionale e regionale. Oltre all'uva raccolta, generalmente trasformata in vino, è opportuno ricordare che la filiera vitivinicola produce ogni anno una notevole quantità di sottoprodotti, dal vigneto alla cantina. Tra questi vi sono i sarmenti e le vinacce, considerati nel presente lavoro sperimentale.

1.2 LE MALATTIE DELLA VITE

Nella naturale evoluzione delle specie vegetali, lo sviluppo di patogeni e fitofagi ha contribuito alla profonda selezione e sopravvivenza di individui dotati di differenti resistenze genetiche, assumendo così un ruolo centrale nella differenziazione biologica dei vegetali. Tuttavia con l'antropizzazione degli ecosistemi naturali e l'addomesticazione di numerose piante, l'ordinario processo di coevoluzione fra entità antagoniste o competitrici è stato via via compromesso.
Fin dagli albori della viticoltura, la produttività dei vigneti è stata minacciata dagli insetti fitofagi, dalle malattie provocate da funghi, batteri e virus e dalle erbe infestanti. Nel passaggio tra i secoli 1800-1900, la coltivazione della vite ha subito una profonda mutazione, conseguente alla comparsa delle più temibili ampelopatie. Nel 1845, in Inghilterra, un giardiniere di nome Tucker notò i sintomi di un fungo che nel 1847 venne descritto e nominato *Oidium tuckeri*. La malattia invase, a partire dal 1851, la quasi totalità dei vigneti dell'Europa e quasi contemporaneamente fu trovato nello zolfo un rimedio curativo sicuro. Nel 1863, a Oxford, vennero osservate alcune galle su foglie di vite create da un insetto presente anche sulle radici. Ben presto l'analogia tra il

parassita delle radici delle viti europee e quello presente nelle galle delle foglie di vite americane, fu confermata e l'agente patogeno venne nominato *Viteus vitifoliae*. Il vigneto europeo fu drasticamente decimato e mentre una notevole quota del patrimonio ampelografico veniva distrutto, fu messo appunto il metodo di prevenzione attraverso l'innesto delle viti europee su piede americano. Questa pratica segnò l'inizio della viticoltura moderna o post-fillosserica. Nel 1878 si diffuse dal sud-ovest della Francia un'altra terribile malattia fungina: la peronospora. Il rimedio, tuttora utilizzato, fu messo appunto dal francese Millardet e consisteva in una miscela di solfato di rame e calce spenta da distribuire sulle foglie. Tuttavia, i notevoli danni procurati da questo patogeno alimentarono ancor di più l'interesse di molti ricercatori allo studio delle ampelopatie anche al di fuori dei confini europei. Ne risultò un sostanziale cambiamento della fitopatologia, dovuto alla scoperta delle nuove eziologie, batteriche e virali, oltre che fungine, che affermarono la centralità dell'aspetto fitopatologico nella produzione viticola.

Nei decenni successivi sono stati identificati altri patogeni fungini, tra questi, la *Botrytis cinerea* agente della muffa grigia, assurta a protagonista come conseguenza di errate cure colturali alla vite e *Phomopsis viticola* agente dell'escoriosi della vite, nota per i suoi danni sui tralci. Nel presente lavoro è stata considerata quest'ultima malattia crittogamica, ma entrambe possono essere studiate nell'ambito del compostaggio dei sarmenti proprio per la capacità dei suddetti funghi di conservarsi durante il periodo di riposo vegetativo sugli organi legnosi in forma di sclerozi (botrite) o picnidi (escoriosi della vite).

Oggi, molta attenzione viene dedicata allo studio di malattie fungine come il mal dell'esca, l'eutipiosi e il marciume nero, di fitoplasmosi come la flavescenza dorata e il legno nero, e di virosi tra cui il legno riccio e l'accartocciamento fogliare. Queste avversità compromettono la vitalità della pianta e dell'intero vigneto fino a rappresentare un serio rischio per la produttività di tutto l'areale viticolo. La loro diffusione è, per alcune di esse, legata all'attività di fitofagi della vite, che oltre a procurare danni alla pianta fungono da vettori, in particolare di fitoplasmosi e batteriosi. Un'altra fonte di propagazione è rappresentata dall'ambiente vivaistico, nel quale vengono attuati rigorosi piani di controllo e test immunologici per certificare l'assenza di virosi [6, 7, 8].

1.2.1 L'ESCORIOSI DELLA VITE

L'escoriosi della vite o necrosi corticale è un'ampelopatia nota sin dall'inizio del secolo scorso, il cui termine deriva dall'espressione francese "excorier" che significa "rimuovere una striscia di pelle". La malattia è stata segnalata per la prima volta da Anderson e Colby nel 1904 che ne avevano riferito come di una particolare forma di antracnosi; nel 1907 Selby e Van Hook la descrissero come un marciume localizzato del fusto [9].

La malattia si diffuse rapidamente negli Stati Uniti, dallo stato di New York fino alla California, identificata da Hewitt nel 1935 [10]. Alla fine degli anni '30, fu segnalata per la prima volta in Sud Africa da Du Plessis [11] e in Australia da Brittlebank [12]. In Europa, alla prima segnalazione francese di Diffloth nel 1923 [13], hanno fatto rapidamente seguito segnalazioni da Olanda, Portogallo, Germania e Grecia nel 1965. In Italia la malattia fu osservata per la prima volta da Goidanich nel 1937 [14], in vigneti nei dintorni di Trieste, quindi in Liguria da Ciccarone nel 1953 e in Sardegna da Prota nel 1967 [15].

Per lungo tempo indicata come "Dead-Arm disease of Grapevine", oggi è più propriamente detta "Phomopsis Cane and Leaf Spot".

1.2.1.1 Sintomatologia

I sintomi della malattia cominciano ad apparire poco dopo la ripresa vegetativa e sono visibili su tutti gli organi verdi della pianta.

Sulle foglie dei primi quattro o cinque nodi appaiono inizialmente minutissime aree clorotiche circolari che in seguito necrotizzano nella parte centrale. Tali lesioni possono determinare bollosità e distorsioni fogliari.

I piccioli delle foglie colpite possono presentare tacche allungate e fessurate simili a quelle presenti sui germogli, generalmente localizzate nella loro parte basale. Sovente, i piccioli restano saldamente attaccati al tralcio durante l'inverno [16].

Sugli internodi basali dei germogli di qualche centimetro di lunghezza, compaiono tacche brune o nero-violacee che si accrescono confluendo e interessando l'intera circonferenza del germoglio. Con il loro progredire, tali lesioni causano depressioni sulla superficie del tralcio che assume un colore grigiastro. La pressione dei tessuti interni in attiva crescita può provocare fessurazioni longitudinali dei tralci più o meno

profonde (figura 1.3). Sui nodi si possono riscontrare lesioni analoghe, con il rischio di rottura del tralcio in seguito a sollecitazioni meccaniche. Durante l'inverno, il periderma assume una colorazione bianco – grigiastra e su queste aree si possono notare minuscole strutture scure che rappresentano i picnidi del fungo.

Una volta che il patogeno ha invaso il tessuto midollare e perimidollare dell'ospite può diffondersi sistematicamente verso internodi distali dei tralci che esteriormente possono apparire sani. Tutto ciò porta all'inconsapevole diffusione del patogeno con il materiale di propagazione [17].

Sugli acini dei grappoli (figura 1.4), l'infezione appare come piccole aree bruno-violacee che assumono una tonalità marrone con l'avanzare dell'epidemia. Durante la maturazione i picnidi appaiono come pustole scure disposte su più cerchi concentrici. Tale alterazione può essere confusa con il marciume nero, però, a differenza di quest'ultima malattia, le bacche dell'escoriosi non avvizziscono.

Figura 1.3: sintomi della malattia sul tralcio

Figura 1.4: sintomi della malattia sull'acino

1.2.1.2 Eziologia

Phomopsis viticola, originariamente descritta come *Phoma viticola* Sacc. da Saccardo nel 1880, fu rinominata dallo stesso Autore, nel 1915 come *P. viticola* [18]. Nel 1909 venne isolata su piante di *Vitis lambrusca* L. da Reddick che la nominò *Fusicoccum viticolum* Reddick [19]; successivamente questa specie sulla base delle caratteristiche morfologiche e colturali, fu riconosciuta come *P. viticola* (Reddick) Goid. da Goidànich nel 1937 [14]. Il cambiamento del binomio era motivato dalla presenza di due tipi di picnidiospore, elemento caratteristico del genere *Phomopsis*.

Nel 1995, in Australia, Merrin *et al*. hanno distinto 4 taxa nella specie *P. viticola*, sulla base della morfologia dei conidi α, delle modalità di formazione, del colore e struttura

dei picnidi, del colore dei cirri e della velocità di crescita del micelio. I taxa 3 e 4 sono stati rinvenuti raramente, mentre i taxa 1 e 2, ritrovati più frequentemente, sono stati ascritti a *P. viticola* e *Fusicoccum viticolum* rispettivamente [20].
Sempre in Australia, recentemente si è giunti alla conclusione che *Diaphorthe perjuncta* è il telomorfo di *P. viticola* taxon 1, mentre quello di *P. viticola* taxon 2 non è noto. Di seguito viene riportata la classificazione tassonomica attuale.

Regno:	*Fungi*
Divisione:	*Ascomycota*
Sottodivisione:	*Pezizomycotina*
Classe:	*Sordariomycetes*
Sottoclasse:	*Sordariomycetidae*
Ordine:	*Diaporthales*
Famiglia:	*Valsaceae*
Genere:	*Phomopsis*
Specie:	*Phomopsis viticola*

1.2.1.3 Caratteristiche morfologiche

In natura il ciclo biologico del fungo è svolto quasi esclusivamente in forma agamica.
Il micelio costituisce un feltro di colore variabile con tonalità dal biancastro al grigio-bruno, in funzione dell'età. Il micelio è settato, ialino, intra e intercellulare nei tessuti dell'ospite.
I picnidi si differenziano entro le masse miceliari e si sviluppano abbondanti sui tralci di un anno e raramente su quelli di due anni. I picnidi, larghi 430 μm, alti 190-300 μm, scuri, subepidermici, aggregati o dispersi, generalmente uniloculari, a maturità diventano globosi e presentano, alla sommità di un corto collo, un ostiolo. Attraverso l'ostiolo fuoriesce un filamento (cirro) giallo-cremeo costituito da conidi α e β immersi in una sostanza mucillaginosa (figura 1.5).
I conidi α sono ialini, unicellulari, ovali o fusiformi (7-13 x 1,5-3,5 μm) con l'apice arrotondato e la base da ottusa a subtroncata. Questi, in seguito a germinazione, sono responsabili delle nuove infezioni. I conidi β sono scolecospore ialine, unicellulari, filiformi, spesso incurvate a "boomerang", appuntite all'estremità (20-25 x 0,5-1 μm). Questi non germinano e il loro ruolo biologico non è noto. La produzione dell'una o dell'altra forma conidica è strettamente dipendente dalle condizioni nutrizionali o ambientali (figura 1.6).

Figura 1.5: emissione di un cirro dall'ostiolo

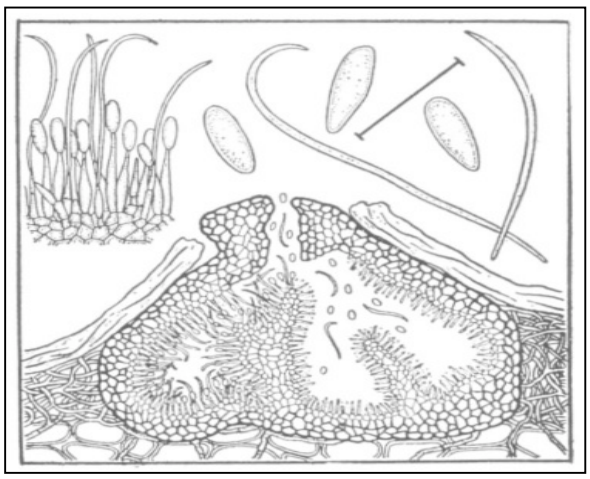

Figura 1.6: picnidio, spore α (ovali) e β (a boomerang)

I periteci di *D. perjuncta*, hanno pareti sottili, distinte in due regioni, quella esterna marrone scuro e quella interna più chiara. Il collo è allungato, senza ife esterne, rosso-bruno all'apice, bruno scuro alla base. Gli aschi sono numerosi, da subclavati a cilindrici, con pareti sottili unitunicate, sessili, misurano 55-61 x 5-8,5 µm e contengono 8 ascospore, ialine, ellissoidi o fusiformi, unisettate in posizione mediana e misurano 8-15 x 2,5-4 µm [21].

1.2.1.4 Biologia

Il patogeno si conserva sotto forma di micelio nei tessuti dei tralci infetti e di picnidi che costituiscono la principale modalità di svernamento del fungo (figura 1.7). I picnidi originatesi prima del mese di ottobre esigono un tempo relativamente lungo, valutato in sei settimane a 21°C. Alla fine di gennaio si hanno le prime emissioni conidiogeniche; e in seguito la conidiogenesi aumenta gradualmente fino a raggiungere il picco in aprile [17, 22]. La proporzione di conidi di tipo α o β prodotti dai picnidi è dipendente da fattori ambientali e nutrizionali e nello specifico la sporulazione β conidica sembra favorita da una maggior disponibilità di carboidrati e dall'incremento della temperatura.
In primavera i conidi fuoriescono dall'ostiolo dei picnidi maturi, sospesi in essudati giallastri, detti "cirri conidici", i quali proteggono efficacemente le spore dal disseccamento e ne inibiscono la germinazione [16]. I conidi possono germinare a temperature comprese fra 1 e 37°C, con optimum a 23°C. Inoltre una elevata umidità relativa favorisce lo sviluppo del patogeno e la stessa germinazione delle spore [23]. La

pioggia invece non è indispensabile alla germinazione dei conidi ma svolge un importante ruolo nella loro diffusione.

Sin dal risveglio vegetativo della vite possono verificarsi infezioni precoci su tutti gli organi verdi della pianta. Il patogeno penetra attraverso gli stomi o le ferite, principalmente causate dalla potatura verde primaverile o estiva. Inizialmente il fungo invade i tessuti più superficiali; in seguito può spingersi fino ai tessuti legnosi e midollari per espandersi poi nell'intera sezione del tralcio e diffondersi verso l'alto [17].

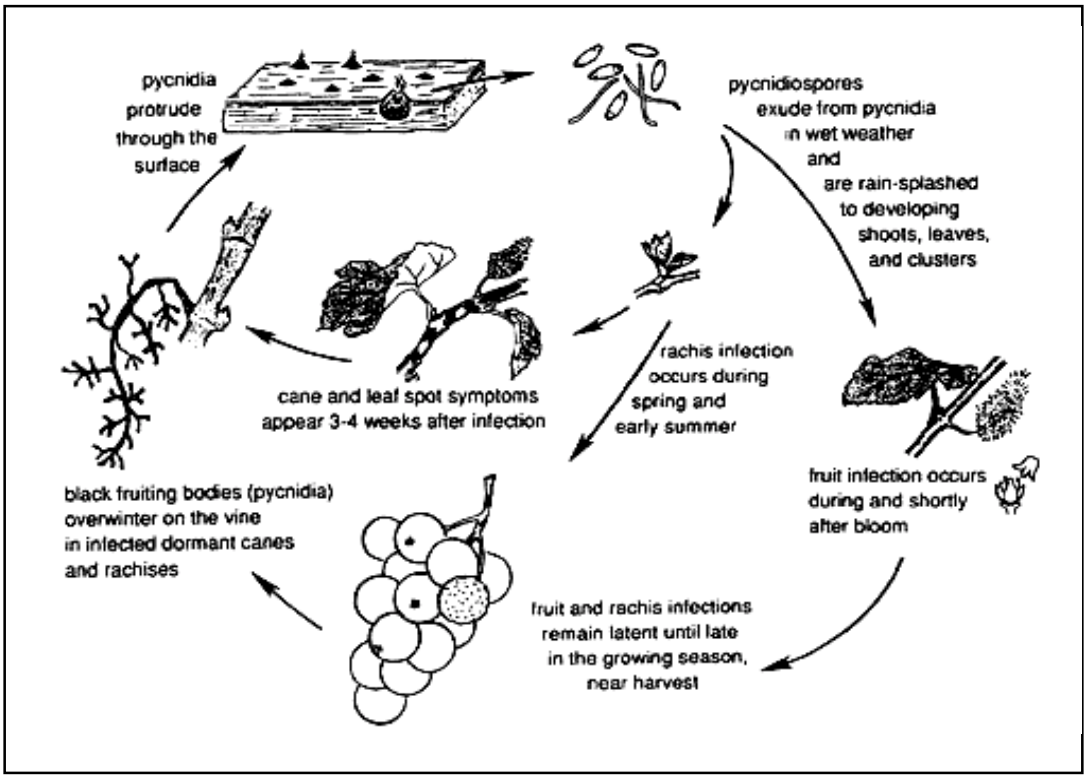

Figura 1.7: Ciclo del patogeno

1.3 IL COMPOSTAGGIO

Con il termine compostaggio viene definito il processo di maturazione biologica controllata, in ambiente aerobico, della sostanza organica di residui animali e vegetali attraverso il quale si ha produzione di materiali a catena molecolare più semplice, più stabili, igienizzati, ricchi di composti umici utili, in definitiva, per la concimazione delle colture agrarie e per il ripristino della sostanza organica nei suoli.

Il processo avviene ad opera di diversi ceppi di microrganismi operanti in ambiente aerobico: batteri, funghi, attinomiceti, alghe, protozoi, presenti naturalmente nelle biomasse organiche o artificialmente apportati con l'eventuale inoculo.

Il processo di compostaggio è oggi di grande interesse sotto molteplici punti di vista:

- *ecologico-ambientale*, perché trasforma biomasse provenienti dal ciclo urbano, da selezioni di reflui agroalimentari, agricoli e zootecnici, nonché fanghi derivanti dalla depurazione di acque reflue civili, in materiali utili alla fertilizzazione dei terreni agricoli, perché non più tossici, apportatori di nutrienti e miglioratori delle caratteristiche strutturali del terreno;
- *igienico-sanitario*, perché il materiale organico viene sanitizzato nel processo, grazie alle elevate temperature che si ingenerano;
- *energetico*, dato che il processo si autosostiene energeticamente, con l'energia derivante dalla demolizione dei legami biochimici caratterizzanti le complesse molecole della sostanza organica.

1.3.1 MATRICI ORGANICHE COMPOSTABILI

Da un punto di vista prettamente tecnico, il materiale di partenza deve avere caratteristiche biochimiche tali da garantire una regolare attuazione del processo; in particolare devono contenere, in quantità sufficiente, composti di facile degradabilità, per garantire il nutrimento dei microrganismi agenti del processo.

I materiali organici utilizzabili per la produzione del "compost di qualità" sono regolamentati con Decreto Ministeriale 5 febbraio 1998 [24].

Ai fini del compostaggio, i tralci lignificati rappresentano una matrice dotata di scarsa fermentescibilità e caratterizzata da un rapporto C/N vicino a 30. Mentre si stima che i

sarmenti finemente macinati nel vigneto, apportino le seguenti unità (kg ha^{-1}) fertilizzanti: N = 15, P_2O_5 = 5, K_2O = 25, MgO = 10; riferite ad una produzione annua di circa 2 t ha^{-1} di s.s. o di 4 t ha^{-1} di prodotto fresco [6].

La buccia dell'uva che risulta dalla vinificazione contiene una certa quantità di etanolo, per fermentazione spontanea della vinaccia vergine o per sua fermentazione durante la vinificazione. Nel corso del compostaggio, si suppone che l'etanolo e la componente fenolica possano influire sulle dinamiche biologiche del processo.

Il prodotto ottenuto, per poter esser commercializzato ed utilizzato in agricoltura senza controindicazioni come materiale ammendante, deve possedere le specifiche caratteristiche e requisiti stabiliti dalla normativa relativa ai fertilizzanti, cioè dal *D.lgs. 75/2010* (allegato 2).

1.3.2 I MICRORGANISMI DEL PROCESSO DI COMPOSTAGGIO

Tra le diverse popolazioni di microrganismi che si alternano all'interno della matrice organica nelle diverse fasi del processo di compostaggio si ha una interazione sinergica: i prodotti metabolici di un microrganismo possono essere utilizzati come nutriente per altri.

In merito alla distribuzione dei microrganismi nel cumulo, i batteri si trovano un po' ovunque, mentre gli attinomiceti, i funghi e le alghe si collocano prevalentemente sullo strato superficiale dei cumuli. In termini numerici i batteri rappresentano la parte dominante degli agenti del processo, nella misura di cento volte rispetto alle altre categorie di microrganismi.

I diversi microrganismi operano a regimi termici definiti e la loro attività è strettamente influenzata dalle temperature di processo, tanto da poter essere classificati in psicrofili (0-30°C), mesofili (30-45°C) e termofili (45-90°C). Durante il compostaggio, al variare della temperatura, variano le popolazioni microbiche attive. Nelle prime fasi che comportano una rapida metabolizzazione dei composti carboniosi più semplici (monosaccaridi, lipidi e peptidi), operano gli agenti psicrofili e mesofili. Successivamente, a causa dell'innalzamento della temperatura, conseguente ad una intensa attività metabolica si ha una forte selezione tra le popolazioni batteriche a vantaggio delle specie termofile, il cui campo di attività ottimale è di 50-60°C.

Se la temperatura supera i 50-60°C si verifica la morte della maggior parte dei microrganismi ad eccezione di alcune specie ultra-termofile. Il conseguente raffreddamento porta alla riattivazione dei microrganismi sporigeni.

Nell'ambito degli agenti operanti, appare indispensabile attuare una distinzione tra microrganismi aerobi, che necessitano di ossigeno per il loro metabolismo, e i microrganismi anaerobi, attivi in ambienti privi di ossigeno. Il compostaggio è per definizione un processo aerobico; tuttavia oltre alle popolazioni aerobie si sviluppano ceppi anaerobi che producono composti gassosi come metano, acido butirrico, ed altri acidi grassi dal caratteristico odore sgradevole.

Si riassume nel seguente prospetto la classificazione dei microrganismi considerati in ordine della loro funzione biochimica (figura 1.8).

CICLO DEL CARBONIO		MICRORGANISMI ATTIVI
funzione:	amidolitica	batteri, attinomiceti, funghi
	pectinolitica	batteri, attinomiceti, funghi
	emicellulosolitica	batteri, attinomiceti, funghi
	cellulosolitica	attinomiceti, funghi
	ligninolitica	funghi , attinomiceti
	chitinolitica	attinomiceti, funghi
CICLO DELL'AZOTO		
funzione:	fissazione azoto libero	batteri
	proteolitica	batteri
	ammonificante	batteri
	nitrificante	batteri
	denitrificante	batteri
CICLO DELLO ZOLFO		
funzione:	mineralizzazione zolfo	batteri

Figura 1.8: Microrganismi attivi nelle diverse trasformazioni del compostaggio [24]

I batteri sono distinti in eterotrofi e autotrofi. I primi, che nel compostaggio sono nettamente prevalenti, utilizzano esclusivamente come fonte di carbonio quello organico e possono utilizzare anche l'azoto organico; i secondi utilizzano come fonte di carbonio quello minerale (anidride carbonica e carbonati) e come fonte di azoto l'ammoniaca, i nitriti, i nitrati e l'azoto gassoso.

Nell'ambito del compostaggio i funghi sono rappresentati da muffe e lieviti. Le muffe svolgono un importante ruolo nelle fasi finali del processo, con l'ossidazione dei materiali ricchi di lignina. I lieviti, tendenzialmente unicellulari, hanno metabolismo aerobico e anaerobico e svolgono un ruolo importante nei fenomeni di umificazione.

Gli attinomiceti presenti nel processo di compostaggio sono aerobi e termofili; attaccano la sostanza organica non degradata da batteri e funghi, come ad esempio la chitina. Operano nella fase finale del processo e divengono visibili nei cumuli statici sotto forma di polvere o filamenti di colore dal bianco grigio al verde chiaro.
Oltre ai suddetti consumatori primari, che si cibano di sostanza organica in decomposizione, nei cumuli di compostaggio si ritrovano anche nematodi, lombrichi, alcune specie di acari e millepiedi. Il loro ruolo durante il processo è di contribuire alla disgregazione fisica della matrice organica e di favorire l'azione dei microrganismi, creando tunnel che migliorano l'areazione [24, 25, 26].

1.3.3 LE FASI DEL PROCESSO

Le trasformazioni che subisce la sostanza organica nel processo di compostaggio possono essere ricondotte a due fasi successive: decomposizione e maturazione.

1.3.3.1 Prima fase: decomposizione della sostanza organica

Il processo di compostaggio inizia con la destrutturazione delle frazioni organiche facilmente degradabili (zuccheri, amminoacidi, acidi organici) ad opera dei microrganismi aerobi, con consumo di O_2, liberazione di CO_2 e produzione di energia.
Questa fase, prettamente termofila, può durare per alcune settimane e anche più di un mese, ciò dipende dal tipo di substrato e dalla tecnica di compostaggio adottata. Nelle prime 12-48 ore si assiste ad un incremento marcato della temperatura fino a 55-60°C. A questo regime termico l'areazione forzata o il rivoltamento del cumulo sono indispensabili per consentire il raffreddamento del substrato oltre che per mantenere l'ossigenazione della biomassa. La fase termofila permette, dunque, la devitalizzazione dei semi delle piante infestanti e delle forme di conservazione di eventuali patogeni presenti nelle matrici di partenza [24].
Le condizioni di temperatura, umidità e pH che si ingenerano in questa fase, fanno sì che i batteri siano i microrganismi più attivi. Alla fine della prima parte del processo si dispone di un compost definito "fresco".

1.3.3.2 Seconda fase: maturazione

In questa fase i processi metabolici di decomposizione interessano le molecole organiche più complesse e si attuano con processi più lenti, anche a seguito della morte di una parte della popolazione microbica per carenza del nutrimento facilmente degradabile.
Con il conseguente abbassamento della temperatura, cambiano le popolazioni dei microrganismi attivi, con passaggio da quelle termofile, a quelle mesofile e psicrofile successivamente.
In questa fase, che può durare anche alcuni mesi, le temperature scendono a valori di 40-45°C per poi diminuire e stabilizzarsi poco sopra la temperatura ambiente.
Già nella fase mesofila appaiono gli attinomiceti, la cui attività risulta indispensabile per l'umificazione: la loro presenza è rilevabile per la produzione di composti aromatici, come la geosmina, che conferiscono al prodotto finale il tipico odore di terriccio di bosco. Essi degradano attivamente amido, cellulosa, lignina, composti indispensabili per la sintesi delle sostanze umiche. Alla fine della seconda fase si dispone di compost "maturo", cioè stabilizzato [24, 27].

1.3.4 PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO

L'andamento e la velocità del processo sono strettamente dipendenti dai fattori che influenzano le condizioni ottimali per la vita dei microrganismi operanti nelle diverse fasi del processo.
Nel presente lavoro sono stati considerati: temperatura, umidità e CO_2. Possono essere utilizzati altri parametri che influenzano le condizioni di vita dei microrganismi ed in particolare: la porosità del substrato, il rapporto C/N e la disponibilità dei nutrienti, il pH e l'eventuale presenza di sostanze inibenti.

1.3.4.1 Temperatura di processo

La temperatura della massa in compostaggio è il parametro che meglio indica l'andamento del processo ed è anche quello di più facile monitoraggio.

L'indagine patologica contestualizzata nel presente lavoro, prende spunto proprio dalle potenzialità della fase termofila che conduce a:

- l'igienizzazione del prodotto, con la distruzione dei microrganismi patogeni, che si verifica a partire da temperature superiori ai 55°C;
- l'inattivazione dei semi di erbe infestanti e dei parassiti delle piante, che si ottiene dai 60°C in su.

Al fine di evitare l'innalzamento della temperatura oltre i 70°C, in questa fase, si ricorre al rivoltamento della massa. Questa operazione permette il raffreddamento del cumulo, ma allo stesso tempo, il ripristino delle condizioni aerobiche determina l'aumento delle attività esotermiche.

Va ricordato che la produzione di calore varia in funzione del materiale degradato. Una bassa fermentescibilità è caratteristica degli scarti ligno-cellulosici, fra i quali i sarmenti di vite, per il cui compostaggio si ricorre all'aggiunta di materiale più degradabile [24, 25, 27].

1.3.4.2 Umidità del substrato

I valori di umidità ottimali del materiale sono compresi tra il 40% e il 65%: con valori inferiori al 40% si ha un notevole rallentamento dell'attività biologica, che si ferma raggiunto il limite del 25-30%. Con umidità superiore al 65% per contro, la diffusione dell'ossigeno nella massa risulta difficoltosa, conducendo anche a condizioni anossiche.

Utilizzando materiali di partenza secchi, come i sarmenti di vite, risulta necessario aspergere i cumuli in allestimento con una quantità d'acqua tale da raggiungere i suddetti valori ottimali. La stessa operazione viene ripetuta anche durante il processo di compostaggio al fine di ripristinare l'acqua persa per effetto della sua evaporazione [24, 25, 27].

1.3.4.3 Presenza di O_2 e produzione di CO_2

In condizioni aerobiche la degradazione di un substrato ricco di carbonio determina un forte consumo di ossigeno, con produzione di anidride carbonica, acqua e calore.

I microrganismi aerobi utilizzano circa 1,6 kg di ossigeno per elaborare 1 kg di materia organica. Tale esigenza deve essere soddisfatta dall'ossigeno introdotto nei cumuli mediante il rivoltamento, il quale permette simultaneamente l'allontanamento della CO_2,

la dispersione del calore in eccesso e l'eliminazione del vapore acqueo e dei gas formatisi.
La maggior necessità di apporto di O_2 si ha all'inizio del processo, quando è massima l'attività di demolizione della sostanza organica da parte dei microrganismi: in questa fase la disponibilità di ossigeno negli spazi lacunari deve mantenersi nel campo 5-15% in volume. La fase di maturazione richiede un livello di O_2 compreso tra l'1% e 5%.
Talvolta, in campo, risulta più semplice la determinazione della CO_2 rispetto all'O_2, per cui è sufficiente controllare che negli spazi lacunari all'interno del cumulo, il volume occupato dalla CO_2 non superi il 14%, valore oltre il quale si procede al rivoltamento della massa [24, 25, 27].

1.3.5 IMPORTANZA DEL COMPOST IN VITICOLTURA

Nel mondo della viticoltura troppo spesso si ricorre a concimazioni "a calendario", con la somministrazione di elementi che talvolta alla pianta non servono, senza dunque accertarsi preventivamente se sussiste una reale e specifica carenza nutritiva.
La coltivazione della vite, come del resto tutte le colture, necessita una concimazione. Ogni anno la pianta asporta dal terreno ingenti quantità di sostanze minerali per sviluppare l'apparato vegetativo e ovviamente per produrre l'uva, di conseguenza è compito del viticoltore sopperire a queste inevitabili perdite. Un vigneto di 1 ha, assorbe annualmente dal terreno i seguenti quantitativi di macro elementi (kg): N = 22-84, P = 2,3-15, K = 34-123, Ca = 30-146 e Mg = 4-10 [1].
Pratica comune è quella di apportare sostanze nutritive in quantità prestabilite ogni anno sotto forma di composti minerali; questi sono spesso concimi ternari aventi quantità fisse di N, P, K. Altre volte si utilizzano concimi contenenti anche oligoelementi come B, Zn, Mg; tutti questi elementi vengono apportati in quantità spesso approssimative sotto forma di prodotti solidi sparsi direttamente sul terreno oppure per assorbimento fogliare. Questa pratica è stata ed è tuttora fonte di squilibri vegetativi che provocano malattie e un deprezzamento della qualità dell'uva. La concimazione deve essere fatta solamente al momento giusto, e soprattutto tenendo conto del reale fabbisogno della vite.

Il compost, pur non essendo in grado di soddisfare pienamente le esigenze nutritive delle piante, risulta molto utile al fine di recuperare la fertilità dei terreni agricoli. Il compost è anzitutto un buon ammendante organico capace di favorire una migliore strutturazione del terreno attraverso la formazione di complessi umo-argillosi, risolvendo così i problemi derivanti dal ristagno idrico o dall'eccessivo compattamento del suolo durante i periodi aridi.

Il suo impiego consente l'attuazione di un modello di agricoltura sostenibile, in cui si raggiunga un equilibrio tra prelievo e restituzione di materiale organico. Grazie poi al recupero e riutilizzo dei sottoprodotti del vigneto e della cantina è possibile estendere il concetto di sostenibilità all'intera filiera vitivinicola, anche se ad oggi, la realizzazione del compostaggio nell'ambito di questa, è ancora molto limitato.

D'altra parte, i dati relativi al sistema compostaggio in Italia, indicano che il settore ha assunto negli ultimi anni una dimensione industriale, con 215 impianti di trasformazione dislocati in tutto il territorio nazionale. Sono 3 milioni le tonnellate di biorifiuto trattate (su un potenziale di circa 25 milioni di t), 2/3 delle quali provengono dalla raccolta differenziata, che quindi rappresenta la fonte più cospicua di matrici per la produzione di ammendante compostato [28, 29].

2 SCOPI DELLA TESI

La presente tesi si è concentrata sull'applicazione del sistema di compostaggio in un'azienda del settore vitivinicolo, prendendo in considerazione come matrice organica di partenza i sarmenti e la vinaccia.
In questo quadro sperimentale si è posta particolare attenzione sulla possibilità di ridurre il "potenziale infettivo" di patogeni presenti sui residui di potatura.
Nel presente lavoro di ricerca, "riduzione del potenziale infettivo" va inteso come l'inattivazione delle spore del micete *Phomopsis viticola,* l'agente causale dell'escoriosi della vite.
Gli scopi di questo lavoro sono pertanto, i seguenti:

1. confronto delle dinamiche di processo rilevate nei cumuli inoculati e non inoculati con ceppi microbici e valutazione sull'utilità del loro impiego;
2. caratterizzazione delle proprietà chimiche e biologiche del compost prodotto a partire dalla fermentazione combinata di sarmenti e vinaccia;
3. studio della riduzione del potenziale infettivo di *P. viticola* nei residui di potatura in seguito al compostaggio e ipotesi dei parametri di processo favorevoli al risanamento;
4. confronto del potenziale infettivo dei sarmenti che hanno subito il processo di compostaggio con quelli distribuiti in vigneto senza trattamento di compostaggio.

3 MATERIALI E METODI

Il lavoro è stato sviluppato in 2 fasi distinte (compostaggio e verifiche fitopatologiche) ognuna delle quali articolata in due momenti: quello di campo e quello di laboratorio.
La prova di compostaggio è iniziata con la disposizione delle matrici organiche e l'allestimento dei cumuli; è proseguita con il controllo dei parametri di processo ed è terminata con l'analisi in laboratorio del compost prodotto.
Con le verifiche fitopatologiche, si è determinato il potenziale infettivo di *Phomopsis viticola* nei sarmenti infetti prima e dopo il compostaggio e nei campioni posti in vigneto, valutando la presenza di picnidi maturati e in seguito, la vitalità delle spore.

3.1 PROVA DI COMPOSTAGGIO

La prova di compostaggio è stata svolta dapprima in campo, presso l'azienda agricola "La Ganga" di San Giorgio della Richinvelda (PN) e successivamente presso i laboratori della sezione di Chimica Agraria del Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali dell'Università degli Studi di Udine.

3.1.1 ALLESTIMENTO E CONDUZIONE DEI CUMULI

In conformità agli obiettivi della tesi, si è provveduto alla realizzazione di 4 cumuli, le cui differenze compositive vengono di seguito riportate:

- cumulo A: sarmenti + inoculo starter sterilizzato
- cumulo B: sarmenti + inoculo starter

- cumulo C: sarmenti + vinaccia + inoculo starter sterilizzato
- cumulo D: sarmenti + vinaccia + inoculo starter

Per mezzo di una pala meccanica, le matrici organiche impiegate sono state disposte in successione a formare i 4 cumuli (figura 3.1). In seguito, l'omogeneizzazione degli elementi è stata assicurata da 2 rivoltamenti consecutivi. Infine le masse sono state coperte con un telo tecnico (Toptex), in grado di garantire la traspirazione della biomassa e l'impermeabilizzazione dalle acque piovane (figura 3.2). All'inizio della prova, ciascun cumulo avente sezione trapezoidale, presentava le seguenti dimensioni:

- lunghezza 540 cm;
- altezza colmo 90 cm;
- larghezza base 160 cm (larghezza a h/2 120 cm);
- volume di 5-6 m^3.

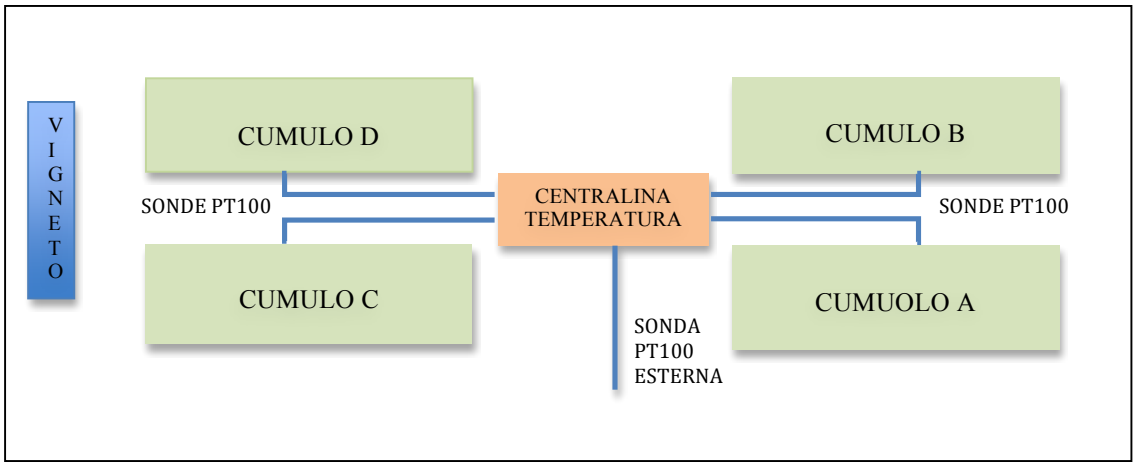

Figura 3.1: disposizione dei cumuli in compostaggio

Figura 3.2: cumuli in compostaggio

3.1.1.1 Matrici organiche impiegate

In fase di allestimento dei cumuli, sono stati miscelati i seguenti materiali organici, aggiunti nelle percentuali riportate in tabella 3.1.

- *Cippato di tralcio di vite*: realizzato a partire da sarmenti di vite Refosco p.r., potati in autunno e successivamente sfibrati per mezzo di un'apposita macchina (cippatore Caravaggi).

- *Vinaccia*: ottenuta dalla vinificazione di uve Refosco p.r., quindi ricca in sostanze polifenoliche (uva a bacca nera) e fermentata. La vinaccia, separata dal vino è stata conservata in bins chiusi fino alla preparazione dei cumuli.

- *Erba fresca falciata*: utilizzata al fine di bilanciare il consistente impiego di materiale legno cellulosico.

- *Paglia*: utilizzata come materiale strutturante allo scopo di ridurre il rischio di compattamento della matrice legnosa.

- *Pollina di galline ovaiole*: impiegata come fonte di nutrienti, soprattutto azoto e sostanze facilmente decomponibili.

- *Zeolite* (EMBio) ultra fina (0,08 mm): indicata nel protocollo di inoculo dello starter per il ruolo favorevole allo sviluppo dei microrganismi.

- *Acqua* di fonte e non clorata: aggiunta nel volume di 400 L/cumulo in fase di allestimento e impiegata poi per le successive bagnature.

- *Inoculo starter* (Semi-Static COMPOST STARTER® - European Bioremediation): costituito da ceppi microbici selezionati appositamente per il compostaggio semi statico e da un'attivante contenente concentrati d'alghe, acidi umici, acidi fulvici e melassa. Sono stati distribuiti 5 L/cumulo di starter in fase di preparazione, più 5 L/cumulo dopo una settimana. Il medesimo starter è stato preventivamente sterilizzato in autoclave a 120°C per 20 minuti, prima della distribuzione nei cumuli A e C.

MATRICE ORGANICA	% nei cumuli C-D	% nei cumuli A-B
CIPPATO DI TRALCIO DI VITE	35	40
VINACCIA	15	assente
ERBA FALCIATA FRESCA	25	30
PAGLIA	10	15
POLLINA DI GALLINE OVAIOLE	10	10
ZEOLITE	5	5

Tabella 3.1: composizione percentuale dei cumuli di compostaggio

3.1.1.2 Gestione dei cumuli

Nel corso del processo di compostaggio, sulla base dei parametri di controllo rilevati, sono state eseguite le seguenti operazioni (tabella 3.2):

- *rivoltamento del materiale*, effettuato mediante macchina scavallatrice (Sandberger) portata lateralmente da trattore, con apparato di lavoro costituito da un rotore avente due spire di lame, una destrosa e una sinistrosa, capaci di rivoltare verso l'interno il materiale esterno e viceversa (figura 3.3). Nell'esecuzione di quest'operazione si è fatta attenzione nel rivoltare prima i cumuli non inoculati e solo dopo aver risciacquato la macchina quelli inoculati. Questa operazione è stata eseguita anche allo scopo di areare la massa. L'epoca di rivoltamento è stata scelta in base alla concentrazione di CO_2;
- *bagnatura,* eseguita innaffiando il cumulo prima del rivoltamento con un volume di acqua determinato in base alla percentuale di umidità rilevata.

Rivoltamenti	**Data**	**Descrizione**	**Bagnatura**
1°	17/12/10	Preparazione cumuli	400 L/cumulo
2°	21/12/10	Aggiunta 10% pollina ai 4 cumuli e omogenizzazione	-
3°	28/12/10	Aerazione	-
4°	30/12/10	Aerazione	30 L/cumulo
5°	30/12/10	Aerazione	-
6°	4/1/11	Aerazione	-
7°	13/1/11	Aerazione e prelievo campioni escoriosi nel cumulo D	-
8°	8/3/11	Aerazione	15 L/cumulo
9°	23/3/11	Aerazione	15 L/cumulo
10°	14/4/11	Aerazione e campionamento compost maturo	15 L/cumulo

Tabella 3.2: riepilogo delle operazioni di gestione dei cumuli

Figura 3.3: rivoltamento dei cumuli con macchina scavallatrice Sandberger

3.1.2 CONTROLLO DEI PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO

3.1.2.1 Rilievo della temperatura di processo

Il rilievo della temperatura è avvenuto per mezzo di sonde (PT100). In ciascun cumulo e ad un'altezza di 50 cm dalla base sono state disposte su di un'asta due sonde, la prima inserita fino al centro del cumulo (60 cm) e la seconda più esterna (20 cm). Inoltre una sonda è stata posta all'aperto lontano dai cumuli al fine di rilevare la temperatura esterna dell'aria.

Le sonde sono state collegate ad una centralina (Micros M93) collocata all'interno del sito sperimentale e alimentata dalla linea elettrica aziendale. La centralina è stata preventivamente impostata per interrogare le sonde ogni minuto e memorizzare la media delle temperature ogni 30 minuti (per la prima fase termofila) o ogni 120 minuti (per la seconda fase di maturazione). Infine i dati sono stati trasferiti su PC ed elaborati mediante foglio di calcolo Exel.

Parallelamente si è proceduto anche al rilievo occasionale della temperatura mediante una sonda digitale a lettura manuale, al fine di confrontare i dati raccolti con il sistema automatico.

3.1.2.2 Determinazione della concentrazione di CO_2

La CO_2 prodotta dal processo di compostaggio, è stata misurata in campo nel corso della fase termofila, prima del rivoltamento del materiale. A tal fine è stato utilizzato un rilevatore manuale (Brigon CO_2 Indicator Testoryt) in grado di fornire in modo approssimativo e all'istante la % di gas carbonico presente all'interno dei cumuli.
Un volume di gas è aspirato mediante un apposito apparato e pompato all'interno dello strumento. L'assorbimento della CO_2 da parte di una soluzione crea un'aspirazione responsabile della salita del diaframma e con esso il livello del liquido assorbente, il quale sale in una colonnina in modo proporzionale al gas carbonico assorbito. Sulla colonnina si legge la % di CO_2 in una scala compresa tra 0-20%.

3.1.2.3 Determinazione dell'umidità del substrato

Questo parametro è stato rilevato ogni 15 giorni durante la prima fase del processo e ogni 20 giorni nel corso della fase di maturazione del compost. Il prelievo dei campioni è stato eseguito dopo il rivoltamento dei cumuli, poiché oltre all'omogeneizzazione ed ossigenazione del materiale, quest'operazione contribuiva alla riduzione dell'umidità per evaporazione.
Il principio su cui si basa la determinazione dell'umidità sfrutta l'evaporazione dell'acqua dal materiale sottoposto a essicamento in stufa a 105°C. Il parametro si ottiene per differenza tra il peso del campione prima e dopo l'essicamento. A tal fine è stato utilizzato il metodo gravimetrico proposto dall'ANPA [30].
Un'aliquota di campione fresco pari a circa 500-600 g è stata pesata con precisione ± 0,1 g, in contenitori di opportune dimensioni. Si è posto il materiale in stufa preriscaldata a 105°C per 12 ore, si è fatto raffreddare in essiccatore per 10 minuti e si è quindi pesato con una bilancia tecnica. L'umidità, espressa come % in peso sull'umido, è stata ricavata sulla base della seguente formula:

$$U\,\% = \frac{\text{PESO UMIDO} - \text{PESO SECCO}}{\text{PESO UMIDO}} \cdot 100$$

3.1.3 DETERMINAZIONE DELLE CARATTERISTICHE DEL COMPOST

3.1.3.1 Campionamento

Alla fine del processo di compostaggio e a conclusione della prova di campo si è proceduto al campionamento del compost. Dopo 2 rivoltamenti consecutivi, per ciascun cumulo sono stati prelevati in più punti circa 5 kg di compost.
I campioni umidi sono stati conservati in frigorifero a 5°C e quindi sottoposti a trattamenti diversi in funzione dell'analisi da eseguire.

3.1.3.2 Determinazione dei solidi volatili e delle ceneri

La procedura applicata, proposta dall'ANPA [30], è di tipo gravimetrico ed è basata sulla volatilizzazione della sostanza organica per incenerimento a 550°C, quantificabile in base alla differenza di peso riscontrata prima e dopo la calcinazione.
A tal fine si è posta un'aliquota del compost essiccato all'aria pari a 10 g, in un apposito contenitore precedentemente esposto a 550°C per 2 ore in muffola e quindi tarato. Per ciascuna tesi sono state eseguite 3 repliche.
Si è proceduto con l'essicazione del campione in stufa a 105°C per 6 ore, si è raffreddato a temperatura ambiente in essiccatore e si è pesato (tara + campione essiccato). Le capsule contenenti i campioni sono state sottoposte a incenerimento in muffola a 550°C per 8 ore. Dopo raffreddamento in essiccatore, il residuo rimasto (ceneri) è stato pesato.
Per differenza tra il valore della sostanza secca e il valore del residuo, è stato determinato il valore dei solidi volatili (SV perdita all'incenerimento), e da questo il valore delle ceneri.

$$SV\ (\%\ s.s.) = \frac{P\ essiccato - P\ incenerito}{P\ essiccato - tara\ capsula} \cdot 100 \qquad CENERI\ (\%\ s.s.) = 100 - SV\ (\%)$$

3.1.3.3 Determinazione del pH

Il principio su cui si basa la metodica considerata per la determinazione del pH e proposta dall'ANPA [30], è l'estrazione degli ioni idrogeno dal materiale in esame

mediante utilizzo di acqua, in rapporto 1:10. La successiva determinazione del pH è stata effettuata mediante pH-metro (Crison micro pH 2001).
Un'aliquota di campione fresco pari a 5,0 g è stata posta in una beuta da 100 ml e addizionata di 50 ml di acqua distillata. La miscela è stata posta in agitazione con agitatore rotativo per 30 minuti, al termine della quale è stata filtrata con filtro veloce a pieghe. L'estratto è stato infine sottoposto alla misura del pH a 20°C, previa calibrazione dello strumento mediante lettura delle apposite soluzioni tampone. Per ciascuna tesi sono state eseguite 3 repliche.

3.1.3.4 Determinazione della conducibilità elettrica specifica

Il metodo di riferimento è descritto dall'ANPA [30]. Il principio che sottende a tale metodo è la capacità delle specie ioniche disciolte in soluzione di condurre elettricità; l'estrazione dei sali solubili in acqua contenuti nella matrice in esame permette di ottenere una soluzione in cui la misura della conducibilità elettrica, eseguita in opportune condizioni, è direttamente proporzionale al contenuto di sali presenti.
Il parametro è stato determinato a partire dall'estratto preparato al punto precedente. Dopo filtrazione, i campioni sono stati sottoposti alla misura a 25°C per mezzo di un conduttimetro (Crison CM 35), preventivamente calibrato facendo la lettura su 3 standard a conducibilità nota. Per ciascuna tesi sono state eseguite 3 repliche.

3.1.3.5 Determinazione del contenuto in carbonio organico, azoto totale e carbonio organico solubile (DOC)

I campioni sottoposti alla determinazione del carbonio e dell'azoto, sono stati preventivamente essiccati all'aria e macinati prima con un mulino a lame e poi con un mulino a biglie. I campioni sono stati poi pesati in capsule di argento e, al fine di rimuovere l'eventuale presenza di $CaCO_3$ nei campioni, è stato eseguito un trattamento acido con una soluzione di HCl diluito 1:2, fino a scomparsa dell'evaporazione.
È stato utilizzato l'analizzatore elementare "Carlo Erba Instruments, NA 155 Series 2, Nitrogen/Carbon/Sulphur Analyzer". Lo strumento è costituito da una fornace per la combustione del campione collegata ad un sistema di separazione e rilevazione dei gas sviluppati nel processo.

I campioni sono stati immessi in un tubo di quarzo verticale, mantenuto ad una temperatura di 1020°C, attraverso il quale fluisce una corrente di He, temporaneamente arricchita, dopo l'introduzione del campione, con ossigeno puro per ottenere una combustine rapida e completa.
La miscela di gas prodotta è stata fatta passare all'interno del tubo di combustione su un catalizzatore di Cr_2O_3 e poi in un reattore contenente Cu alla temperatura di 650°C per la rimozione dell'O_2 in eccesso e la riduzione degli ossidi di azoto a N_2. I singoli componenti della miscela gassosa sono stati separati con metodo gascromatografico e quantificati attraverso passaggio in un rilevatore a termoconducibilità (TCD), il cui segnale è stato registrato e integrato automaticamente dal software che gestisce lo strumento. Per ogni tesi sono state effettuate 4 ripetizioni.
Sull'estratto del compost acquoso del compost, preparato per il test di germinazione, è stato determinato il contenuto in carbonio organico solubile (DOC) mediante l'analizzatore "Shimadzu – Total Organic Carbon Analyzer TOC-Vcpn ".

3.1.3.6 Determinazione dei parametri di umificazione

I parametri dell'umificazione sono stati determinati applicando la metodica proposta dall'ANPA [30]. Seguendo la procedura di preparazione del materiale prevista dal metodo, i campioni sono stati preventivamente essiccati all'aria e macinati mediante un mulino a lame fino a dimensioni inferiori ai 2 mm. L'analisi è stata eseguita in cinque fasi successive.

1. *Estrazione*: una quantità di campione pari a 5 g è stata posta in una beuta da 250 ml e aggiunta di 100 ml di soluzione estraente (NaOH e $Na_4P_2O_7$ 0,1 M). Dopo aver insufflato azoto per un minuto, la beuta, ermeticamente chiusa, è stata posta in agitatore (200 oscillazioni al minuto) per 1 ora. Terminata l'estrazione, il contenuto è stato travasato in un provettone idoneo e centrifugato a 4000 rpm per 20 minuti, filtrando infine il surnatante su filtri in nitrato di cellulosa da 0,2 μm mediante apparecchiatura per il vuoto, al fine di eliminare microrganismi e particelle sospese. Il filtrato così ottenuto e definito come estratto totale (ET), è stato conservato in frigorifero a 4°C.

2. *Frazionamento degli Acidi Umici per acidificazione*: eseguito operando sull'estratto allo scopo di separare la parte non umificata (SN) e gli acidi fulvici (FA), dagli acidi umici (HA). A tal fine, 25 ml di estratto sono stati prelevati e posti in una

provetta da centrifuga, poi sono stati acidificati con H_2SO_4 concentrato fino ad un pH < 2 e quindi centrifugati a 4000 rpm per 15 minuti. Il surnatante, contenente SN + FA è stato sottoposto ad un ulteriore processo di separazione (punto seguente), mentre il sedimento (HA) è stato raccolto in un matraccio da 50 ml, risolubilizzandolo con una soluzione 0,5 M NaOH.

3. *Frazionamento per cromatografia su colonna:* al termine della centrifugazione il surnatante è stato versato in una colonnina riempita con resina in PoliVinilPoliPirrolidone (Polyclar) preventivamente condizionata con H_2SO_4 0,005 M. La frazione non trattenuta (SN) è stata raccolta in un matraccio da 50 ml dopo successivi lavaggi con H_2SO_4 0,005 M per eluirla completamente. Una volta raccolti 45 ml sono stati aggiunti sopra la colonnina alcuni ml di NaOH 0,5 M, con il conseguente desorbimento della frazione trattenuta (FA). Alla comparsa alla base della colonnina di tale frazione, di colore bruno, il matraccio da 50 ml è stato sostituito e portato a volume con NaOH 0,5 M. Gli FA rimasti adsorbiti sulla colonna sono stati raccolti mediante 3 lavaggi con NaOH 0,5 M nel matraccio da 50 ml contenente gli HA precedentemente solubilizzati in ambiente basico. Il matraccio contenente la SU è stato quindi portato a volume con NaOH 0,5 M.

4. *Determinazione del carbonio organico umificato per ossidazione umida (Metodo Walkley Black)*: per ciascuna tesi sono state prelevate aliquote pari a 1 ml di ET, 2 ml di SU, 5 ml di SN e versate poi in appositi becker. A questi sono stati aggiunti 10 ml di $K_2Cr_2O_7$ 0,1 M e 20 ml di H_2SO_4 concentrato. Le prove in bianco sono state preparate senza l'aggiunta del campione ai suddetti reagenti. Dopo 30 minuti di digestione acida, la reazione è stata bloccata con l'aggiunta di acqua distillata portando i becker al volume di 200-250 ml. Si è proceduto, mediante titolatore automatico (Mettler Toledo DL 50), alla titolazione del bicromato che non ha reagito con una soluzione di $FeSO_4$ 0,2 M in grado di ridurre il cromo per ossidazione dello ione ferro. Lo strumento ha fornito i ml di $FeSO_4$ 0,2 M impiegati per titolare il Cr (VI) in eccesso dopo la sua reazione con la sostanza organica.

5. *Calcolo dei parametri di umificazione*:

$$\text{Grado di umificazione – DH \%} = \frac{(HA + FA)}{ET} \cdot 100$$

$$\text{Tasso di umificazione – HR \%} = \frac{(HA + FA)}{TOC} \cdot 100$$

$$\text{Indice di umificazione – HI} = \frac{SN}{(HA + FA)}$$

Infine si è valutato l'eventuale errore di frazionamento, dato dalla differenza percentuale tra il carbonio totale dell'ET e quello di SN+SU. Sono stati considerati accettabili errori percentuali inferiori al 10%. Per ciascuna determinazione sono state eseguite 2 ripetizioni.

3.1.3.7 Test di germinazione

Il presente test, proposto dall'APAT [31], rientra fra le metodologie ufficiali di valutazione della fitotossicità del compost. Il principio si basa sull'effetto dell'estratto acquoso del compost in esame sulla germinazione di una pianta test: *Lepidium sativum*. Una quantità pari a 200 g di campione da saggiare, è stata portata all'umidità del 85% e lasciata per 2 ore a contatto con l'acqua aggiunta. Dopo centrifugazione a 6000 rpm per 15 minuti, il surnatante è stato filtrato su membrana sterilizzante. L'estratto acquoso è stato quindi diluito con acqua distillata al 50% e al 75%. Cinque aliquote di 1 ml ciascuna (più altrettanti controlli con acqua distillata), per le 2 diluizioni di ogni tesi, sono state aggiunte in capsule di Petri (Ø 90 mm) contenenti un disco di carta da filtro (Ø 80 mm). In ogni capsula sono stati disposti 10 semi di *Lepidium sativum,* fatti preventivamente rigonfiare per 1 h in acqua distillata. Le capsule sono state poste ad incubare a 27°C per 24 ore. Trascorso tale periodo, sono stati contati i semi germinati e si è misurata la lunghezza delle radichette mediante un calibro.

L'indice di germinazione (I_g) è stato calcolato come segue: $I_g = (G_c \times L_c / G_t \times L_t) \times 100$ dove:

- G_c = n° medio dei semi germinati nel campione
- G_t = n° medio dei semi germinati nel testimone
- L_c = lunghezza radicale media nel campione
- L_t = lunghezza radicale media nel testimone

3.1.3.8 Determinazione del contenuto in elementi inorganici

Il metodo utilizzato per la determinazione del contenuto dei principali elementi inorganici (Al, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S e Zn) si basa sulla solubilizzazione di tutti gli elementi legati alle frazioni minerale ed organica del compost, sottoponendo i campioni ad attacco acido mediante aggiunta di HNO_3 concentrato e digestione eseguita in forno a microonde "CEM Mars 5" secondo un programma di mantenimento a 175°C per 20 minuti (US EPA 3050).

I campioni sono stati preventivamente essiccati all'aria e macinati prima con un mulino a lame e poi con un mulino a biglie. Per ciascun campione, sono stati pesati con una bilancia analitica 0,5 g, direttamente dentro i tubi di digestione, e aggiunti di 10 ml di HNO_3 concentrato. Dopo la digestione, i campioni sono stati portati a volume in matracci da 20 ml con acqua bidistillata e quindi filtrati a 0,2 μm con filtri in PTFE e diluiti 1:20 con acqua bidistillata.

La determinazione qualitativa e quantitativa degli elementi estratti in soluzione è avvenuta mediante ICP-OES "Varian Vista-MPX", strumento che si basa sulla tecnica di analisi ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer). La spettrometria ottica di emissione con sorgente al plasma ad accoppiamento induttivo utilizza il plasma, un gas ionizzato ad alta temperatura, come sorgente di eccitazione degli atomi.

Lo strumento presenta un policromatore che separa le diverse lunghezze d'onda (λ) emesse dagli atomi eccitati e le indirizza a un detector in grado di misurare l'intensità della radiazione corrispondente a una determinata transizione atomica o ionica e di calcolare per ogni λ il numero di atomi o ioni che hanno effettuato la transizione, ricavando quindi la concentrazione di un determinato elemento nel campione [32].

La concentrazione di ogni metallo espressa in mg kg^{-1} o g kg^{-1} di s.s. è stata calcolata utilizzando una retta di taratura, costruita dal software di gestione dello strumento in seguito all'analisi di una soluzione ICP-standard multielemento (Merk solution IV) a diverse concentrazioni (0.5, 1, 10, 25, 50 mg L^{-1}). Per ogni tesi sono state eseguite 3 repliche.

3.2 VERIFICHE FITOPATOLOGICHE

Contestualmente alla prova di compostaggio sono state svolte le indagini sul fungo *Phomopsis viticola*. Le verifiche hanno avuto luogo presso i laboratori di Patologia Vegetale del Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali dell'Università degli Studi di Udine.

3.2.1 STUDIO DEL MATERIALE INFETTO

3.2.1.1 Riconoscimento della malattia

Il riconoscimento della malattia, su sarmenti di vite della varietà Cardinal, visibilmente infetti, con estese zone sintomatiche, è stato eseguito osservando i campioni allo stereomicroscopio con ingrandimento 6,3-40x, individuando, in prossimità delle necrosi longitudinali, i classici picnidi del fungo [33].
Inoltre, per una conferma diagnostica, si sono osservati alcuni picnidi al microscopio ottico a luce trasmessa con ingrandimento 400x potendo, così, osservare le spore α e β del fungo.
Successivamente, il materiale sintomatico è stato suddiviso in 4 categorie per relativa gravità d'infezione [34]:

- categoria – : sarmenti con assenza di sintomi;
- categoria + : sarmenti con una superficie sintomatica compresa tra 10 e 20%;
- categoria ++ : sarmenti con una superficie sintomatica compresa tra 20 e 30%;
- categoria +++ : sarmenti con una superficie sintomatica compresa tra 30 e 50%.

I sarmenti sono stati quindi tagliati in pezzi di 20 cm e conservati in frigorifero a 4°C.

3.2.1.2 Incubazione del patogeno in camera umida

Per l'isolamento dell'agente causale sono messi a incubare nelle camere umide alcuni dei campioni, preparati come sopra, al fine di indurre la maturazione dei picnidi e l'emissione dei cirri conidici.

Per la preparazione dei campioni si operato come segue: si è pulita la superficie del campione mediante una spazzolatura per eliminare parti morte o, comunque, grossolane e si è quindi preparata una soluzione di ipoclorito di sodio al 2% in acqua deionizzata. In questa soluzione sono stati immersi i campioni per 60-90 secondi, a seconda delle dimensioni. Dopo la disinfezione, il campione è stato lavato con due passaggi in acqua distillata ed in seguito posto su panno assorbente sterile e coperto per evitare inquinamenti.

Parallelamente sono state preparate le camere umide predisponendo 3 scatole Petri (Ø 15 cm) con uno strato di carta assorbente inumidita e una retina metallica di supporto; una volta chiuse, le scatole sono state sterilizzate in autoclave per 20 minuti a 121°C e 1,5 atm.

Infine i sarmenti, divisi per categoria, sono stati posti nelle 3 camere umide, poi sigillate, coperte con un foglio di alluminio e mantenute in laboratorio a 17°C. Le osservazioni dei campioni sono state ripetute a cadenza settimanale, allo stereomicroscopio (40x), distinguendo fra le evasioni saprofite, l'emissione dei cirri.

In seguito, il procedimento è stato ripetuto, ponendo a incubare le camere umide in un'apposita cella termostatica a 23°C (±1) e confrontando le letture con quelle delle Petri mantenute in laboratorio a 17°C.

3.2.1.3 Isolamento del patogeno

L'isolamento del patogeno è stato eseguito in vitro in un terreno agarizzato selettivo per *Phomopsis sp.* a partire dai cirri conidici prelevati nelle camere umide e diluiti in 400 µl di acqua sterile in Eppendorf da 0,5 ml. L'inoculo delle conidiospore è stata fatta su piastre Petri (Ø 90 mm) preparate con Agar malto. Questo substrato di crescita, ideale per lo sviluppo di funghi lignicoli, è costituito da una piccola parte di glucosio, malto in polvere e da Agar (una sostanza gelatinosa estratta dal materiale mucillaginoso delle pareti cellulari di numerose alghe rosse). Il terreno di coltura è stato preparato aggiungendo e mescolando, in bottiglia di vetro da laboratorio, 0,5 L di acqua distillata, 19,5 g di Agar malto e, dopo omogeneizzazione, è stato autoclavato con un ciclo di 20 minuti a 120°C e 1,5 atm. Dopo la sterilizzazione, il substrato è stato raffreddato a 56°C e aggiunto degli antibiotici selettivi: 0,5 ml di Rifampicina e 0,42 ml di Nistatina (precedentemente diluite alla concentrazione opportuna). Tutte le operazioni successive sono condotte in ambiente sterile utilizzando una cappa a flusso laminare.

Il substrato aggiunto dei vari ingredienti è stato versato nelle piastre sterili. Una volta solidificato, al substrato agarizzato sono stati aggiunti 15 µl di sospensione di spore; le piastre sono state quindi sigillate con Parafilm e infine, sono state poste nella cella termostatica di incubazione a 23°C (±1) avvolte da un foglio di alluminio per simulare il buio naturale.
A cadenza settimanale sono state controllate le piastre e registrate le caratteristiche delle colonie fungine che si sono sviluppate.

3.2.1.4 Identificazione del patogeno

A sporulazione avvenuta si è proceduto all'identificazione del patogeno utilizzando il microscopio ottico a luce trasmessa. La procedura prevedeva la preparazione di un vetrino da microscopia: dopo aver posto una goccia d'acqua su un vetrino porta-oggetto, con un'ansa sterile si prelevava un picnidio dalla scatola Petri, rilasciato poi nell'acqua del vetrino, si ricopriva con un vetrino copri-oggetto e poi si osservava il campione a diversi ingrandimenti (63x, 250x, 400x).
Nel nostro caso l'identificazione del fungo ha riguardato la specie; questo, considerando le caratteristiche delle colonie, il colore delle ife, la presenza di essudati, la morfologia delle spore e, quindi, consultando le chiavi dicotomiche specifiche.

3.2.2 PREPARAZIONE DEL MATERIALE PER IL COMPOSTAGGIO

Una parte dei sarmenti divisi nelle 4 categorie, sono stati preparati per il processamento in uno dei quattro cumuli di compostaggio.
Per ciascuna delle 4 categorie d'infezione, è stato predisposto un filo di ferro zincato lungo circa 2 m, sul quale sono stati legati trasversalmente 5 campioni, lunghi 20 cm ciascuno, e posti alla distanza di circa 20 cm l'uno dall'altro. I quattro fili sono stati distesi uno accanto all'altro all'interno del cumulo D, in maniera trasversale, all'altezza di 55 cm dalla base del cumulo e in fase di allestimento dello stesso. Così facendo, ciascun grado di infezione è stato esposto alle diverse condizioni che si sono generate durante il compostaggio nei diversi punti del cumulo (figure 3.4 e 3.5).

Altrettanti campioni, per ciascuna delle quattro categorie, sono stati depositati in un'area all'interno di un vigneto adiacente al sito di compostaggio (figura 3.6), allo scopo di osservare l'evoluzione del patogeno nelle condizioni ambientali.

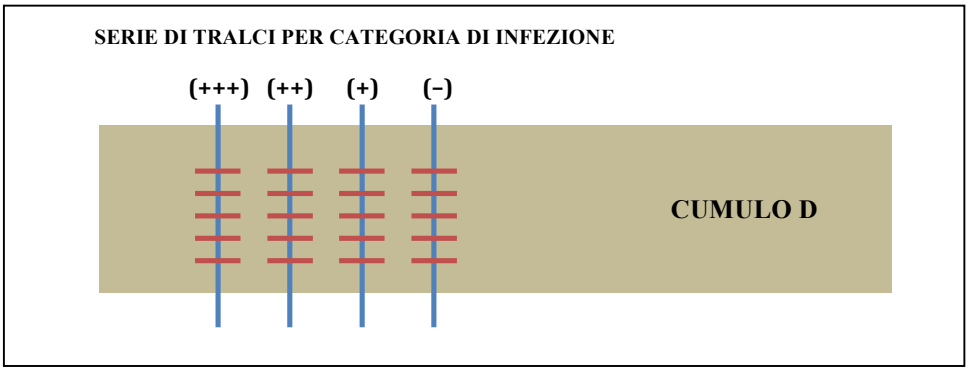

Figura 3.4: disposizione dei campioni infetti nel cumulo D (visto dall'alto)

Figura 3.5: campioni infetti nel cumulo D

Figura 3.6: campioni infetti nel vigneto

3.2.3 MONITORAGGIO DEI CAMPIONI DURANTE IL COMPOSTAGGIO

L'avvio del processo di compostaggio, provoca l'aumento progressivo della temperatura nel cumulo, tipico della fase termofila. Contestualmente alla corretta gestione del processo, si rende necessario il rivoltamento della massa [24], in corrispondenza del quale, durante la prova si è provveduto al controllo dei campioni posti nel cumulo. Prima di ogni rivoltamento si è fatta attenzione nel prelevare i campioni dal cumulo e, successivamente, nel riporli nella stessa posizione.

Nello specifico, perché il materiale non fosse alterato oltre la soglia di accettabilità per le analisi successive, veniva monitorata la qualità del tessuto corticale. Valutato il limite

massimo di alterazione dei campioni, sono stati raccolti sia quelli nel cumulo, sia quelli di controllo posti nel vigneto e portati in laboratorio e conservati in frigorifero a 4°C.

3.2.4 VERIFICHE DEL MATERIALE COMPOSTATO

Dopo il compostaggio, i campioni sono stati sottoposti alle verifiche di laboratorio con l'obiettivo di valutare l'evoluzione del potenziale infettivo di *P. viticola*.
Ciascun campione, dopo una pulizia della sporcizia più grossolana, è stato misurato e tagliato in 2 parti per facilitare lo scortecciameto. Non potendo, infatti, decontaminare i campioni in esame, si è proceduto all'asportazione del tessuto sottocorticale, per limitare successive evasioni della popolazione saprofita, colonizzante i tessuti midollari. Il materiale scortecciato, suddiviso per campione, è stato posto in una provetta e quindi pesato; infine è stato analizzato secondo due metodi.

1. *Incubazione in camera umida:* per favorire la maturazione dei picnidi e l'emissione dei cirri conidici, al fine di prelevare le spore, isolarle e verificarne la germinabilità. Si è proceduto come descritto al paragrafo "studio del patogeno".

2. *Frantumazione del materiale organico ed osservazione delle spore:* il tessuto corticale, asportato dai campioni, è stato frantumato in un mortaio con l'aggiunta di acqua sterile. L'estratto ottenuto è stato diluito con acqua sterile e, a partire da questo, si è tentata l'individuazione e la conta delle spore di *P. viticola* mediante la camera di Thoma, prima della semina su piastra per verificarne la germinabilità.

Nello specifico, la procedura al primo punto, permette di verificare per stadi successivi lo stato del potenziale infettivo, valutando, dapprima la maturità dei picnidi e la diffusione dei cirri, poi, in questi, la presenza di conidi ed infine la vitalità delle spore attraverso la semina e la germinazione.
La procedura al secondo punto, si propone di quantificare le spore, attraverso la conta immediata di quelle presenti in un estratto acquoso opportunamente diluito. In seguito, l'estratto viene seminato su piastra per verificare la vitalità delle spore.

4 RISULTATI

4.1 RISULTATI DELLA PROVA DI COMPOSTAGGIO

4.1.1 PARAMETRI DI EVOLUZIONE DEL PROCESSO

A complemento dei dati termici raccolti durante la prova di compostaggio, si fornisce un riepilogo dell'andamento termopluviometrico, rilevato in prossimità del sito di sperimentazione (stazione Osmer di Vivaro - PN) durante il periodo della prova (figura 4.1).

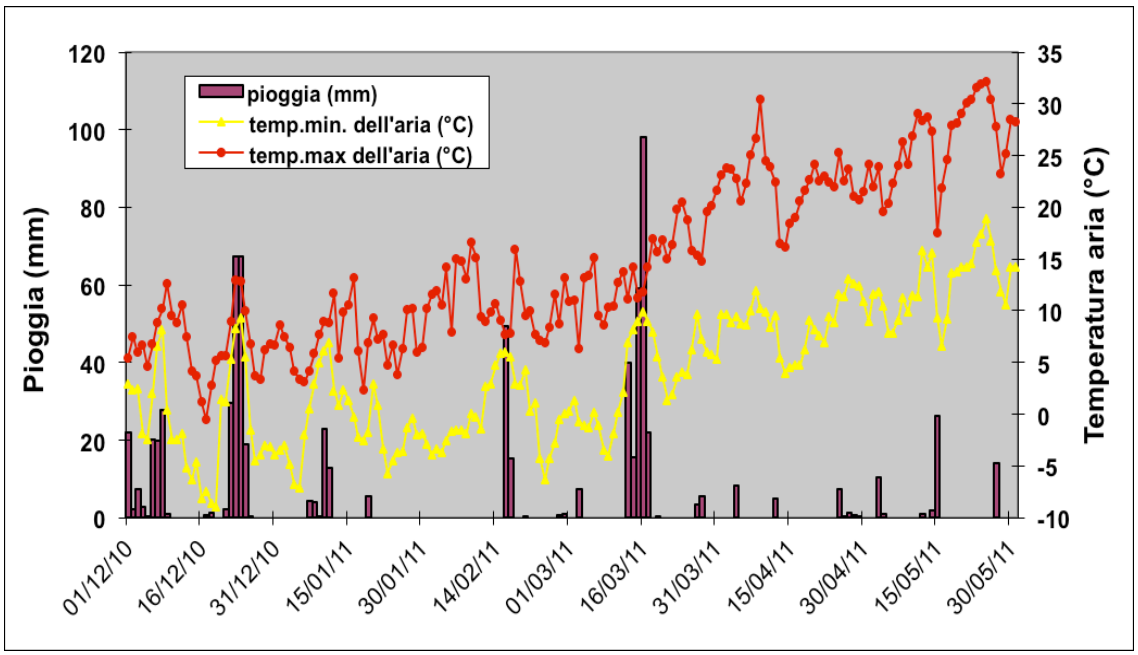

Figura 4.1: andamento termo pluviometrico (stazione Osmer di Vivaro - PN)

I grafici seguenti riportano l'andamento della temperatura relativa ai cumuli durante il processo di compostaggio. Per ciascun cumulo sono riportate le temperature rilevate a 60 cm e a 20 cm dall'esterno.

In tutti i cumuli è stato registrato un andamento della temperatura pressoché analogo e proprio del processo di compostaggio: il rapido incremento della temperatura, caratteristico della fase termofila, è stato seguito da una più lunga fase di maturazione, contraddistinta da un regime termico inferiore, via via decrescente e tendente alla temperatura ambientale [24].

Inoltre, osservando l'andamento termico nei diversi cumuli, si possono individuare le operazioni di rivoltamento del materiale (frecce gialle nei grafici), responsabili del repentino abbassamento della temperatura e della sua successiva risalita in seguito alla riattivazione e all'ossigenazione della biomassa.

Nel cumulo A (figura 4.2), la temperatura è salita in modo esponenziale già nella settimana successiva alla preparazione dei cumuli, superando i 60°C dopo solo 4 giorni e raggiungendo dopo 10 giorni un picco massimo pari a 72°C. Nei giorni successivi, la temperatura è progressivamente scesa, sia per il naturale rallentamento del processo fermentativo, sia per il raffreddamento della massa conseguente al rivoltamento del materiale e all'evaporazione dell'acqua. Dopo 5 settimane, la temperatura si è stabilizzata sotto i 20°C ed è risalita fino a 28°C solo verso la fine del processo, in seguito all'aumento della temperatura esterna. La differenza fra i valori rilevati nel punto più interno, rispetto a quello più esterno, è risultata maggiore nella prima fase, con uno scarto massimo di circa 40°C, mentre nella seconda fase le differenze sono risultate minime e inferiori a 5°C.

Il cumulo B (figura 4.3) ha iniziato il processo qualche giorno più tardi rispetto il cumulo A, raggiungendo un picco di 67°C entro il decimo giorno e mantenendo, durante tutta la fase termofila, una temperatura interna di circa 10°C in più rispetto al cumulo A. Durante la seconda fase la differenza di temperatura fra i due punti di rilievo è risultata minima, e i valori non hanno superato i 12°C, se non durante gli ultimi 20 giorni.

Nei cumuli C (figura 4.4) e D (figura 4.5) si è rilevato un andamento termico simile: in entrambi, il processo è iniziato 5 giorni dopo rispetto ai cumuli A e B, motivo per cui, è stato deciso di apportare un'ulteriore aggiunta di pollina, pari al 10% sul volume. Al fine di mantenere le stesse condizioni in tutte e 4 le tesi, tale apporto è stato effettuato anche nelle tesi A e B.

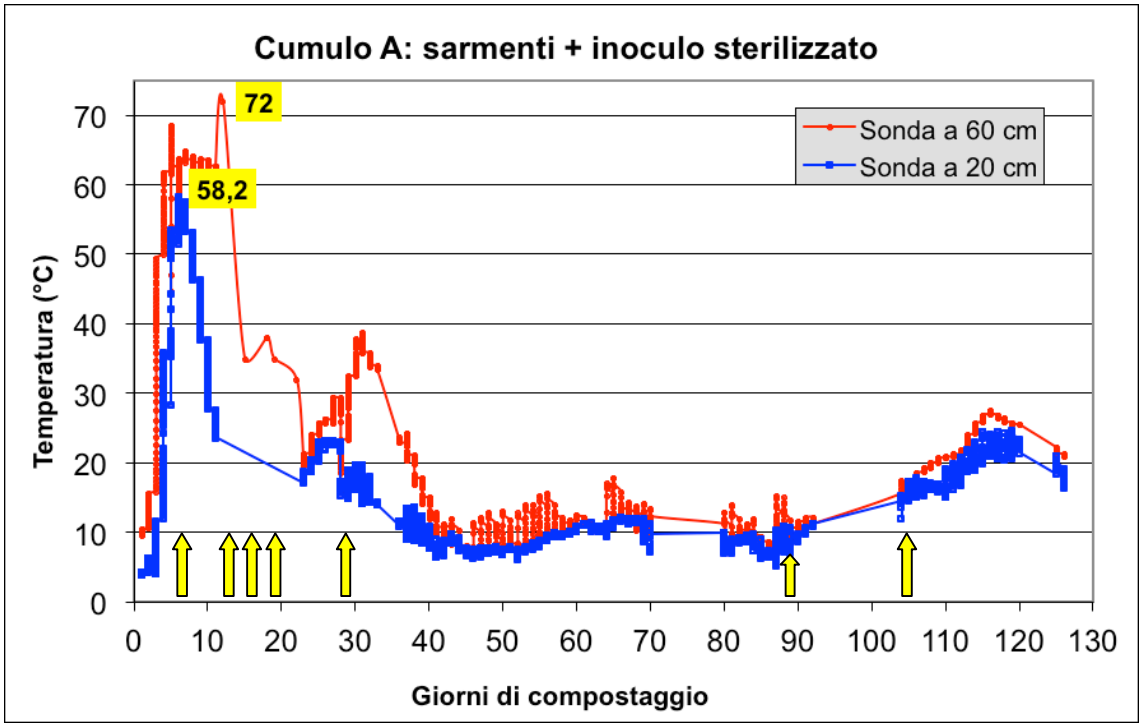

Figura 4.2: andamento termico nel cumulo A (sarmenti + inoculo sterilizzato)

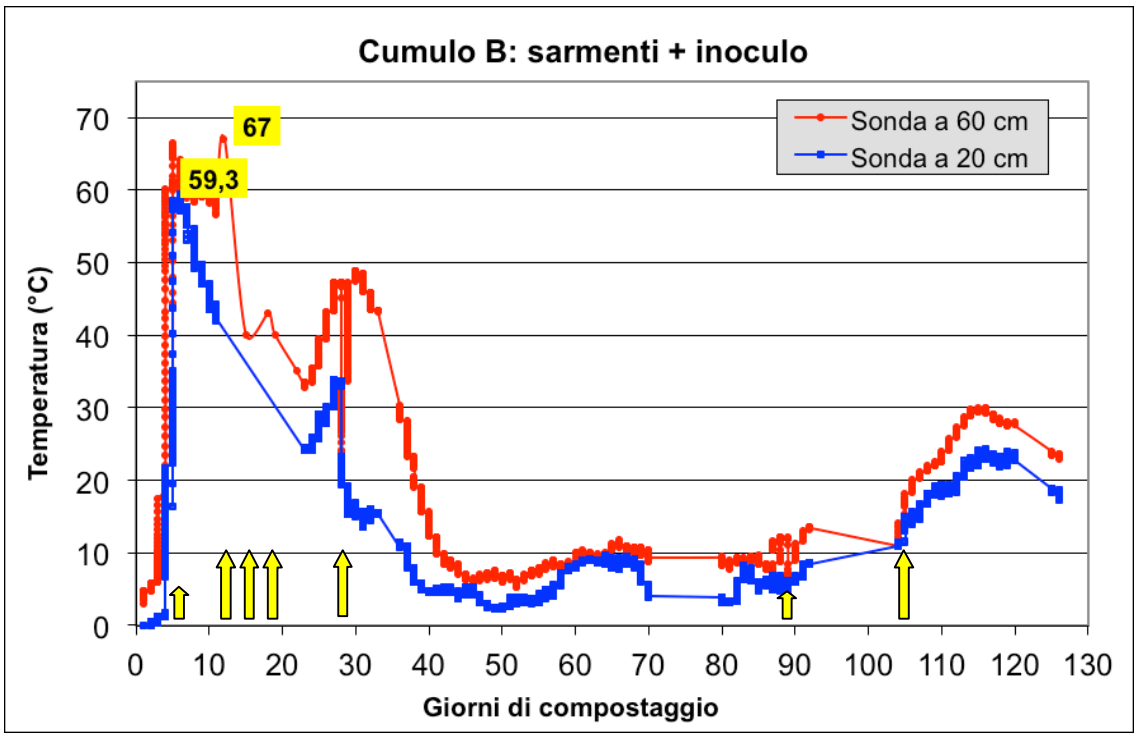

Figura 4.3: andamento termico nel cumulo B (sarmenti + inoculo)

Durante la fase termofila i cumuli C e D hanno raggiunto, rispettivamente, un picco di temperatura di 65°C e 69°C, mantenendo verso la fine di questa, un regime termico compreso tra 45°C e 55°C, superiore ai cumuli A e B. Nel corso della maturazione, nei

cumuli C e D sono stati registrati valori compresi tra 5°C e 12°C, con un notevole incremento durante le ultime settimane, durante le quali, nel cumulo D sono state rilevate temperature leggermente superiori a 30°C.

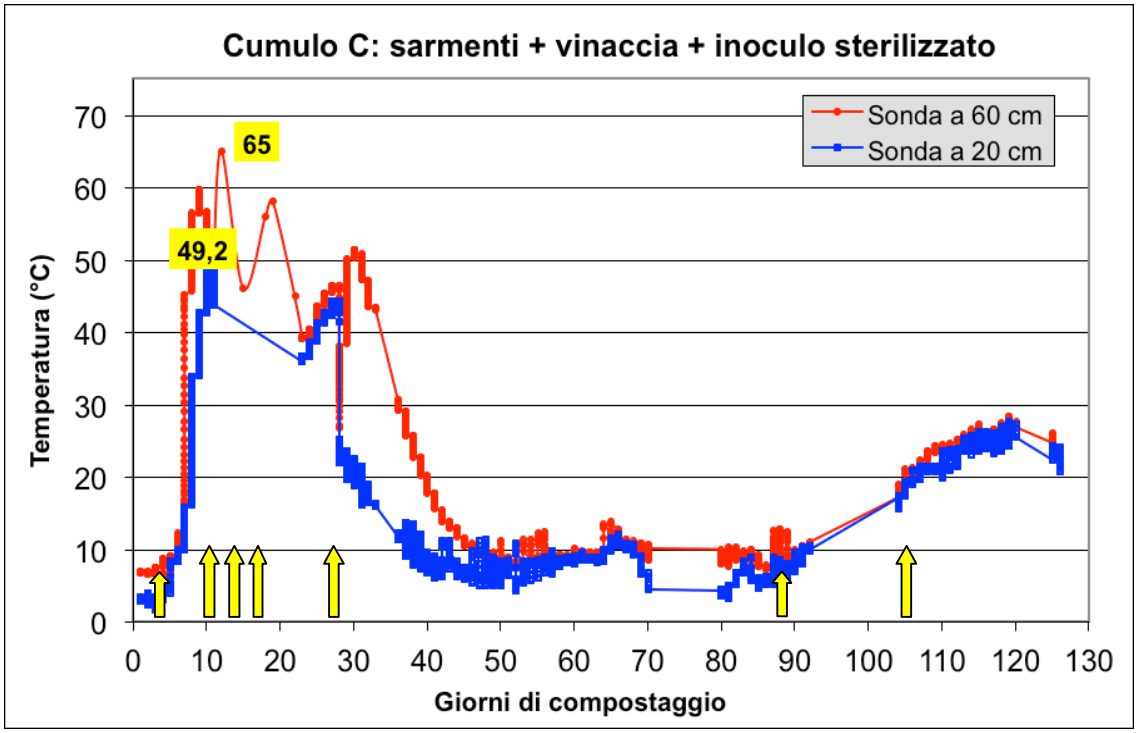

Figura 4.4: andamento termico nel cumulo C (sarmenti + vinaccia + inoculo sterilizzato)

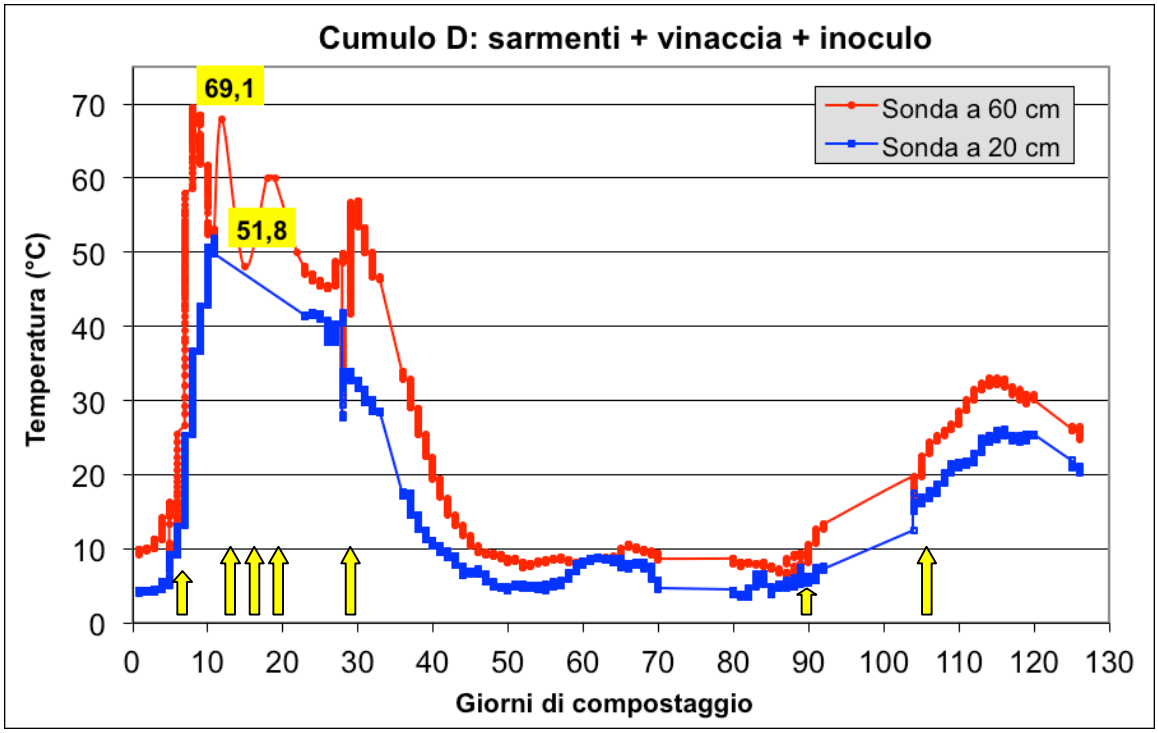

Figura 4.5: andamento termico nel cumulo D (sarmenti + vinaccia + inoculo)

Durante la prova di compostaggio, non è stato possibile registrare automaticamente le temperature nei periodi 28/12/10 - 7/1/11 e 11/3/11 - 23/3/11, a causa di un malfunzionamento del sistema elettronico. Per questo motivo, i valori delle misurazioni manuali (con sonda digitale) sono stati inseriti nel grafico come punti singoli e collegati tra loro da una retta, al fine di avere una proiezione continua dell'andamento termico nei cumuli.

Durante la fase termofila sono state rilevate le concentrazioni di CO_2 e riportate nella figura 4.6. I dati raccolti descrivono l'andamento del processo in maniera analoga ai valori termici. Infatti, al primo rilievo eseguito a 12 giorni dall'inizio del processo, è stata rilevata in tutti i cumuli una concentrazione di CO_2 pari al 20%. Per questo valore, e in generale, per valori superiori al 14% si è proceduto ogni volta al rivoltamento del materiale, allo scopo di ossigenare le matrici in decomposizione. Nei 10 giorni successivi, come evidenziano i dati, i cumuli A e B hanno progressivamente rallentato la respirazione, terminando la fase termofila con valori di CO_2 del 4%. Nei cumuli C e D, sono stati evidenziati valori leggermente più alti tra il 14° e il 22° giorno, come conseguenza del ritardo nell'inizio del processo.

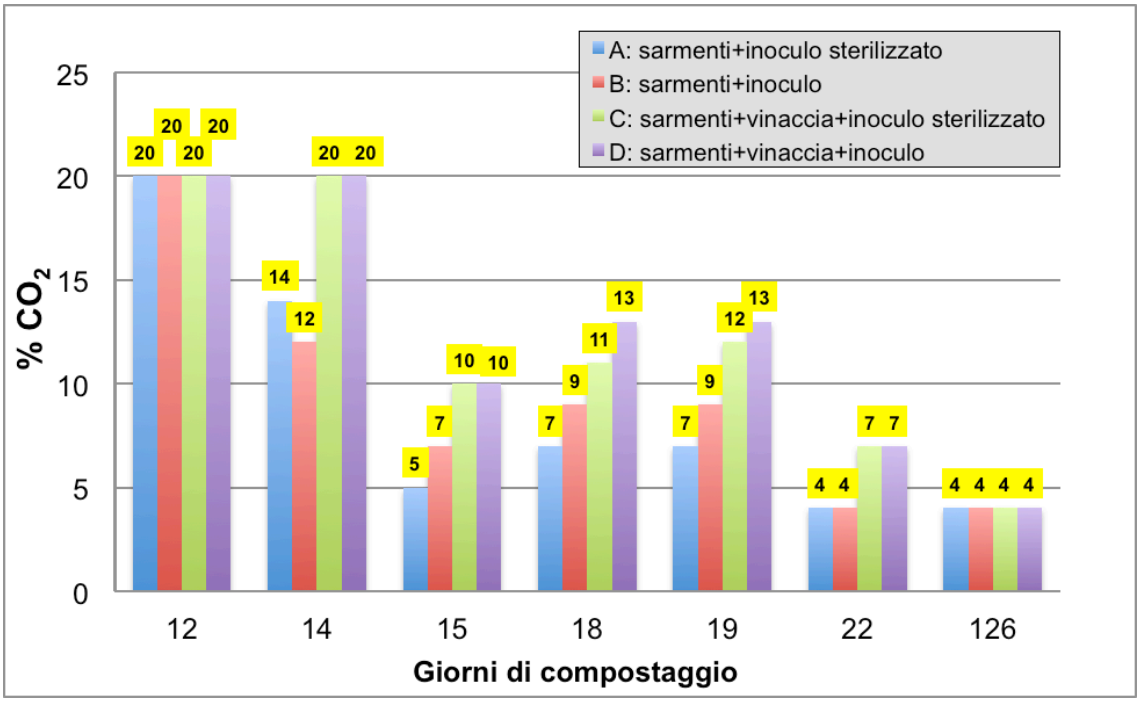

Figura 4.6: concentrazione di CO_2 nei cumuli di compostaggio

Infine, è stata valutata l'umidità del substrato nei diversi cumuli, i cui valori sono riportati in figura 4.7. Nel complesso, durante tutto il periodo di compostaggio, sono stati registrati valori compresi tra il 50% e il 70%, considerati ottimali per un buon andamento del processo [25]. In funzione di questo parametro sono stati programmati gli apporti idrici nei cumuli, eseguiti al fine di reintegrare l'acqua persa per evaporazione ed evitare il brusco arresto dell'attività microbica. In ogni caso, la stabilità dell'umidità nel corso del processo è stata certamente garantita dalla copertura dei cumuli con il telo tecnico, impermeabile alle piogge ma traspirante.

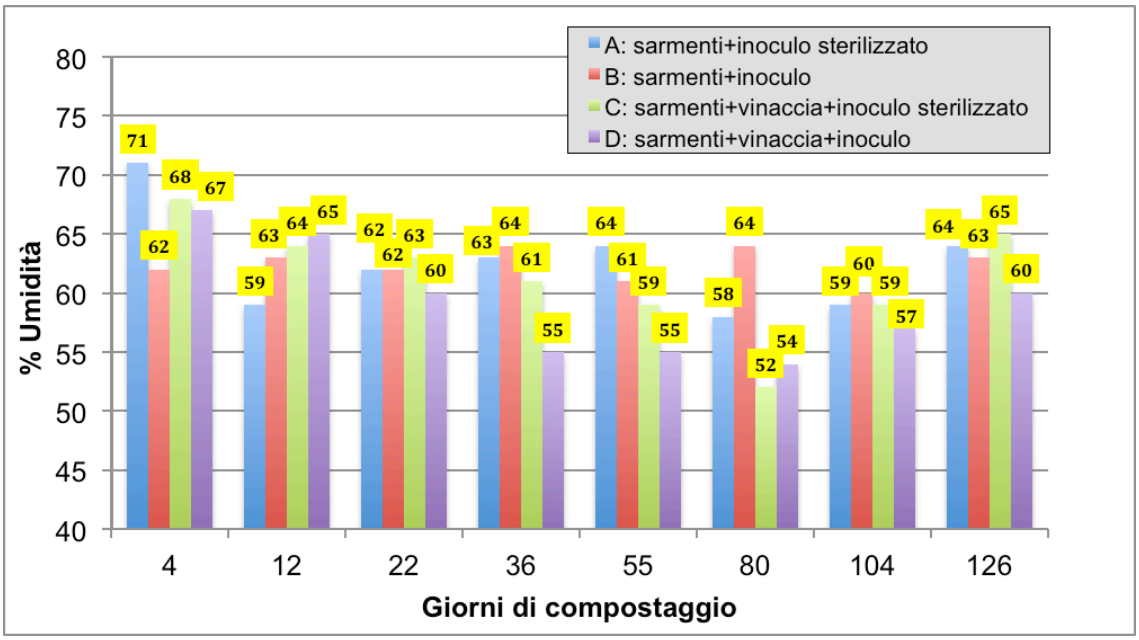

Figura 4.7: umidità del substrato nei cumuli di compostaggio

4.1.2 CARATTERIZZAZIONE DEL COMPOST

Di seguito vengono illustrati i risultati delle analisi condotte sui campioni di compost al termine del processo di compostaggio. Per alcuni parametri è stata valutata la conformità ai valori regolamentati dalla normativa vigente, *D.lgs. 75/2010* (allegato 2), e riferita all'"*ammendante compostato misto*", definito come "prodotto ottenuto attraverso un processo controllato di trasformazione e stabilizzazione di rifiuti organici che possono essere costituiti dalla frazione organica dei RSU proveniente da raccolta differenziata, da rifiuti di origine animale compresi liquami zootecnici, da rifiuti di

attività agroindustriali e da lavorazione del legno e del tessile naturale non trattati, da reflui e fanghi, nonché dalle matrici previste per l'ammendante compostato verde".

4.1.2.1 Solidi volatili e ceneri

La tabella 4.1 riporta i valori percentuali in solidi volatili e ceneri, determinati sul compost maturo. Tutte le tesi sono state caratterizzate da valori simili e particolarmente alti per le ceneri. Ciò potrebbe derivare in parte dalla presenza nei cumuli di materiale inorganico (suolo), presente nel terreno, raccolto e integrato nelle matrici organiche durante le operazioni di rivoltamento dei cumuli, e in parte dalla zeolite aggiunta in fase di allestimento dei cumuli.

Tesi	Solidi volatili % s.s.	Ceneri % s.s.
A	55,1 ± 1,2*	44,9 ± 1,2
B	58,2 ± 0,8	41,8 ± 0,8
C	57,4 ± 1,2	42,6 ± 1,9
D	53,8 ± 2,6	46,2 ± 2,6

Tabella 4.1: contenuto in solidi volatili e ceneri nei campioni di compost (*Deviazione Standard)

4.1.2.2 pH e conducibilità elettrica specifica

I campioni di compost analizzati hanno un pH tendenzialmente neutro-subalcalino (tabella 4.2) e conforme ai valori prescritti per la commercializzazione del materiale. Le tesi C e D, caratterizzate dalla presenza di vinaccia, hanno evidenziato valori significativamente più alti, rispetto alle tesi A e B. La stessa osservazione può essere fatta se si considerano le tesi A e C, derivanti dal compostaggio con inoculo sterilizzato, rispetto alle tesi B e D con inoculo attivo.
I valori di conducibilità elettrica specifica (C.E.), riportati nella tabella 4.2, risultano più alti nelle tesi A e B, ottenute dal compostaggio di soli sarmenti, e fra questi la tesi B presenta il valore maggiore. In ogni caso rientrano nella norma per l'ammendante compostato misto.

Tesi	pH a 20°C	C.E. mS/cm a 25°C
A	7,31 ± 0,03*	4,01 ± 0,02
B	7,15 ± 0,02	4,37 ± 0,12
C	8,01 ± 0,03	2,30 ± 0,00
D	7,74 ± 0,02	3,03 ± 0,06

Tabella 4.2: pH e conducibilità elettrica dei campioni di compost (*Dev. St.)

4.1.2.3 Carbonio organico, azoto totale e carbonio organico solubile

Dall'analisi dei risultati relativi alla determinazione del contenuto in carbonio organico (tabella 4.3) emerge che tale contenuto supera il limite minimo richiesto per la commercializzazione dell'ammendante compostato misto (20% s.s.).
Confrontando le quattro tesi, questi presentano valori simili, con un contenuto leggermente maggiore nei campioni di compost con vinaccia.
Il contenuto in azoto totale varia da un minimo di 13,7 g kg^{-1} a un massimo di 18-18,1 g kg^{-1} nel cumulo D e B, ottenuti dal compostaggio con inoculo dei microrganismi.
Valori ottimali per il rapporto C/N, alla fine del processo di compostaggio, sono compresi tra 15 e 20. Un valore troppo basso, potrebbe indurre il compost a creare fitotossicità per le piante, a causa del potenziale rilascio di ammoniaca, mentre valori maggiori a 20 causano una temporanea immobilizzazione dell'azoto [24]. Le tesi A e C presentano valori normali o prossimi alla normalità, mentre le tesi B e D sono caratterizzate da valori più bassi dato il loro maggiore contenuto in azoto totale. Si nota quindi un marcato effetto dell'inoculo nell'abbassare questo rapporto.
Il carbonio umico e fulvico, calcolato a partire dai dati ottenuti nella determinazione dei parametri di umificazione si attesta su valori sensibilmente maggiori nei cumuli A e B, cioè in assenza di vinaccia.

Tesi	C organico (g kg^{-1})	N totale (g kg^{-1})	Rapporto C/N	C fulvico + C umico (g kg^{-1})
A	204,3 ± 12,8*	13,7 ± 1,2	15,0	30,28
B	216,9 ± 33,4	18,1 ± 4,1	12,0	27,02
C	222,1 ± 12,3	15,7 ± 0,7	14,1	22,01
D	219,4 ± 41,8	18,0 ± 3,1	12,2	24,27

Tabella 4.3: C fulvico, C umico e C organico, N totale e rapporto C/N dei campioni (*Dev. St.)

Considerando il DOC (tabella 4.4), valutato sull'estratto acquoso preparato per il test di germinazione (4.1.2.5), i valori rilevati indicano l'ottima maturazione del compost in tutti i campioni. Alcuni autori suggeriscono un valore DOC inferiore a 4 g kg^{-1} come indice di maturità del compost [35]. Per questo parametro si osserva un marcato effetto positivo dell'inoculo non sterilizzato che ha portato ad un abbassamento del DOC di circa il 30-50%. Questo calo del DOC è confermato anche dal minore contenuto in azoto totale. Il rapporto C/N si è mantenuto stabile anche se leggermente più basso con l'inoculo attivo (tesi B e D).

Tesi	**C organico (DOC)**		**N totale**		**Rapporto C/N**
	(mg L^{-1})	**(g kg^{-1})**	**(mg L^{-1})**	**(g kg^{-1})**	
A	456,3	0,91	70,8	0,14	6,4
B	219,8	0,46	44,0	0,09	5,0
C	375,1	0,75	52,0	0,10	7,2
D	260,1	0,60	46,8	0,11	5,6

Tabella 4.4: DOC, N totale e rapporto C/N sull'estratto acquoso di compost

4.1.2.4 Parametri di umificazione

Il processo di umificazione è un insieme di trasformazioni che portano ad un progressivo arricchimento in gruppi funzionali fenolici della sostanza organica. Al progredire del processo di umificazione devono, quindi, corrispondere da una parte la formazione e l'accumulo di sostanze umiche (che hanno natura prevalentemente polifenolica) e, dall'altra, la diminuzione della frazione estraibile della sostanza organica labile. La valutazione del grado di stabilizzazione della sostanza organica è fondamentale per il rispetto delle normative, che fissano i requisiti minimi per il compost utilizzabile in agricoltura [24]. In merito, si riportano i risultati relativi ai parametri di umificazione.

L'indice di umificazione (HI), assume valori tanto più piccoli quanto maggiore è la quantità di sostanze umiche presenti nell'estratto: in genere valori inferiori a 0,5 per substrati umificati (compost maturi), mentre valori >1 per materiali non umificati (compost non maturi).

Nei campioni analizzati (figura 4.8), l'indice HI varia entro valori compresi tra 0,26 e 0,33, attestando la buona maturazione delle matrici compostate.

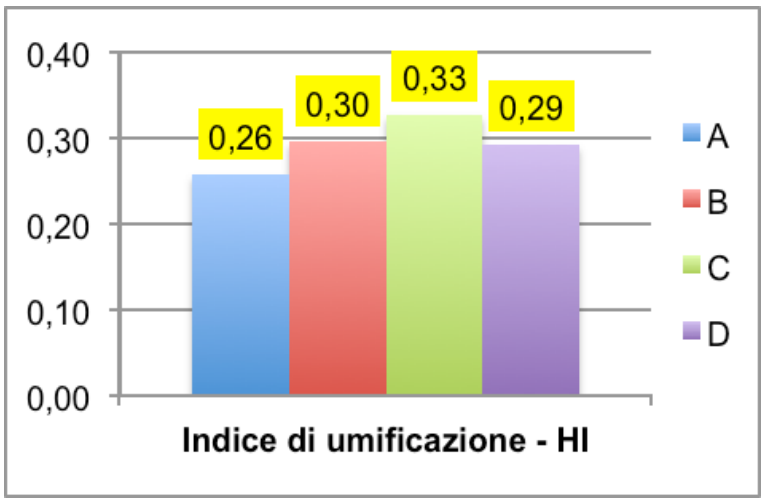

Figura 4.8: indice di umificazione (HI) dei campioni di compost

Il grado di umificazione (DH) esprime invece la percentuale di carbonio organico umificato (HA+FA) presente nell'estratto rispetto al carbonio estraibile. Nella figura 4.9 sono confrontate le quattro tesi, le quali presentano un DH variabile tra 75% e l'81,5%.

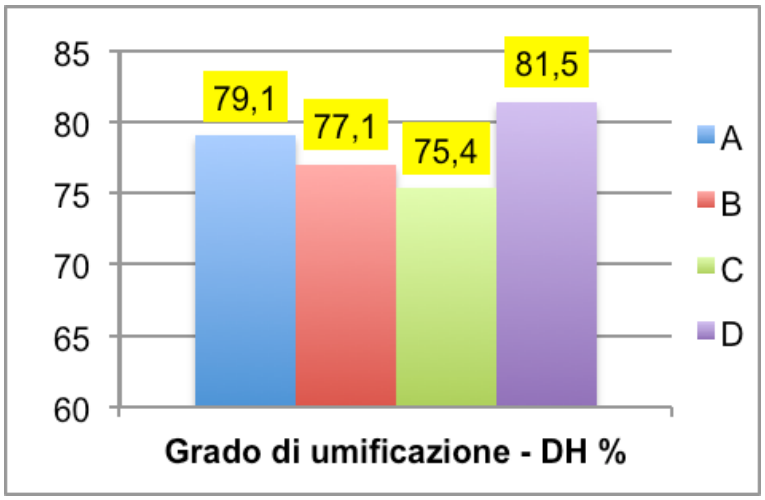

Figura 4.9: grado di umificazione (DH) dei campioni di compost

Il tasso di umificazione – HR indica la percentuale di carbonio organico umificato (HA+FA) presente nell'estratto rispetto al carbonio organico totale del campione. Le tesi analizzate (figura 4.10) hanno fornito valori compresi tra il 9,9% e il 14,8%. Nel materiale compostato senza vinaccia sono state rilevate le percentuali più alte (tesi A e B), rispetto alle tesi con vinaccia (tesi C e D).

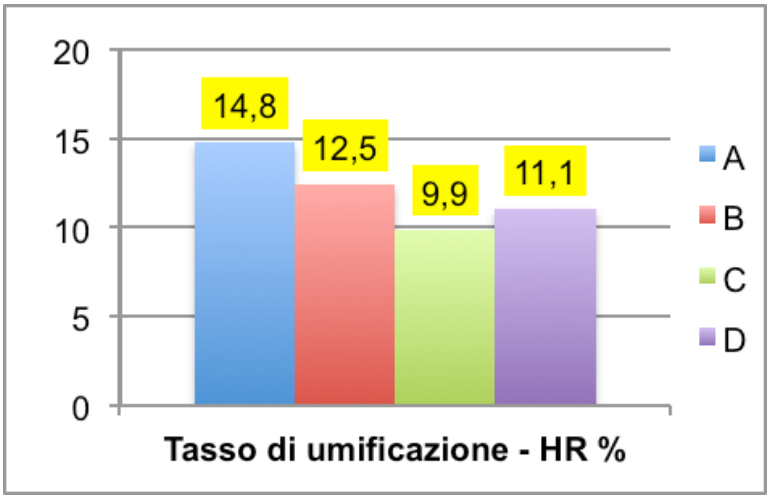

Figura 4.10: tasso di umificazione (HR) dei campioni di compost

4.1.2.5 Indice di germinazione

Il saggio ha consentito di valutare la presenza di sostanze fitotossiche che è correlata negativamente con la maturità del compost. Le sostanze fitotossiche sono rappresentate prevalentemente da composti labili prodotti di trasformazioni intermedie (acido acetico, acidi grassi volatili, fenoli, ecc.) legati anche all'andamento del processo di compostaggio (condizioni di anaerobiosi). Con la maturazione della matrice i prodotti intermedi subiscono processi di mineralizzazione e complessazione evolvendo verso composti più stabili e meno fitotossici [24]. Valori dell'indice inferiori al 50%, alla concentrazione considerata, indicano la tendenza del compost ad indurre fenomeni di fitossicità per le piante e raccomandano la possibilità di saggiare nuovamente la matrice a concentrazioni inferiori. L'indice è inoltre influenzato negativamente dalla salinità del compost.

Nella figura 4.11 sono posti a confronto gli indici di germinazione valutati, per ciascuna tesi, a due rapporti di diluizione. L'estratto al 75% mostra valori al limite dell'accettabilità, eccezione fatta per la tesi C. Il saggio alla diluizione del 50% ha fornito invece valori leggermente più alti e distinti in maniera analoga alla prova al 75%: ad eccezione della tesi B, l'indice di germinazione sembra essere maggiore per la tesi C e inferiore, rispettivamente nelle tesi D e poi A. I valori trovano spiegazione anche osservando la conducibilità elettrica (C.E.): le tesi C e D, caratterizzate da una C.E. più bassa mostrano un indice di germinazione più alto.

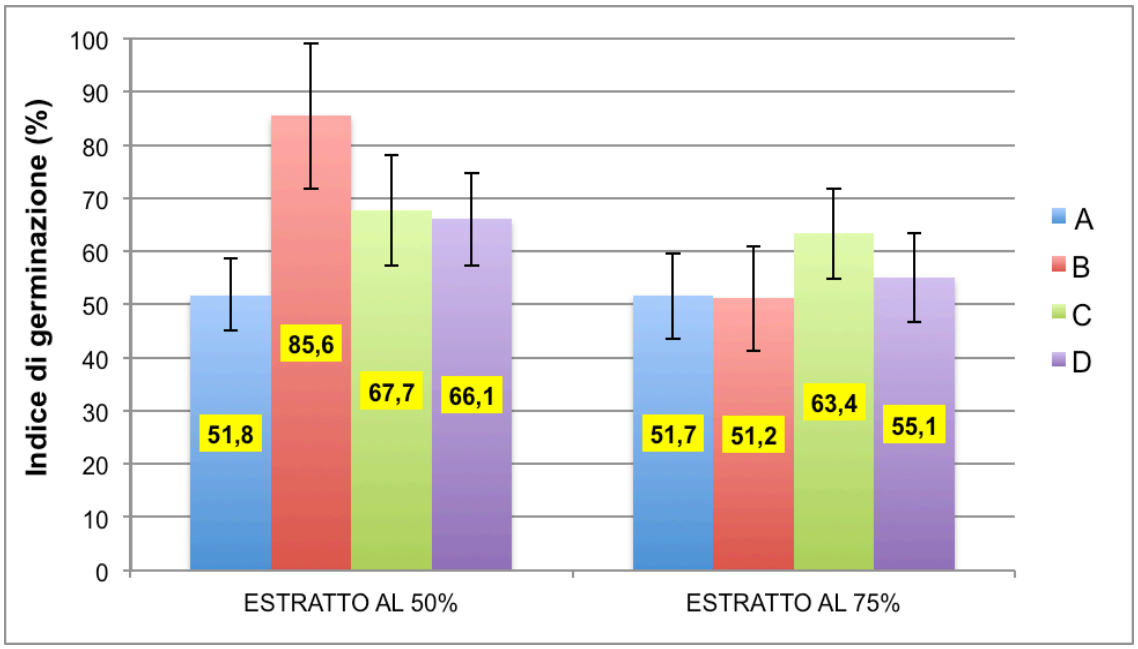

Figura 4.11: indice di germinazione (I_g) degli estratti dei campioni compost (le barre indicano la Dev. St.)

4.1.2.6 Elementi inorganici

Di seguito sono riportate le concentrazioni degli elementi inorganici rilevati nei campioni di compost. La tabella 4.5 riassume i contenuti in macro elementi. Le tesi A e B (senza vinaccia) presentano un contenuto maggiore in fosforo e una concentrazione più bassa in magnesio rispetto alle tesi C e D. Per quanto riguarda invece il potassio, calcio, zolfo e sodio, non sono state rilevate differenze significative.

Tesi	P g kg^{-1}	K g kg^{-1}	Ca g kg^{-1}	Mg g kg^{-1}	S g kg^{-1}	Na g kg^{-1}
A	18,0 ± 0,3*	17,0 ± 0,4	100,4 ± 19,3	21,7 ± 4,8	3,2 ± 0,0	1,3 ± 0,0
B	21,4 ± 1,5	17,7 ± 1,2	91,7 ± 13,6	20,6 ± 2,8	3,6 ± 0,3	1,8 ± 0,1
C	15,4 ± 1,3	15,6 ± 0,9	97,0 ± 15,9	24,9 ± 1,3	2,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1
D	15,3 ± 0,7	17,1 ± 1,1	92,5 ± 21,2	23,3 ± 0,6	3,1 ± 0,2	1,4 ± 0,1

Tabella 4.5: concentrazione dei macro elementi nei campioni di compost (*Dev. St.)

Nella tabella 4.6 sono riportati i valori di alcuni micro elementi. Il boro ha assunto concentrazioni molto variabili fra le diverse tesi. Lo zinco è presente in concentrazioni

maggiori nelle tesi A e B (senza vinaccia). Per quanto riguarda il contenuto in ferro, cobalto, rame e manganese, non sono state rilevate differenze significative.

Infine sono stati analizzati i principali elementi potenzialmente tossici per le piante (tabella 4.7). È stata rilevata una notevole presenza di alluminio nei campioni analizzati, e probabilmente riconducibile alla zeolite aggiunta in fase di allestimento dei cumuli. Confrontando le tesi, sono state osservate differenze nel contenuto di cromo, circa due volte più alto nel materiale compostato con la vinaccia. Mentre per gli altri elementi (cadmio, nichel e piombo) non si sono rilevate differenze significative.

Tesi	Fe mg kg^{-1}	B mg kg^{-1}	Co mg kg^{-1}	Cu mg kg^{-1}	Zn mg kg^{-1}	Mn mg kg^{-1}
A	1800 ± 90*	< DL[1]	2,01 ± 0,09	85,1 ± 1,1	302,8 ± 6,2	588,1 ± 18,4
B	2050 ± 310	104,4 ± 22,2	2,33 ± 0,55	98,8 ± 11,8	331,5 ± 28,5	625,9 ± 44,5
C	2610 ± 900	0,9 ± 1,6	2,26 ± 0,33	105,4 ± 5,6	260,1 ± 10,7	522,7 ± 25,8
D	1840 ± 720	30,0 ±15,4	1,87 ± 0,50	98,8 ± 9,1	261,1 ± 20,8	525,2 ± 25,0

Tabella 4.6: Concentrazione dei micro elementi nei campioni di compost (*Dev. St.)

[1](<DL: inferiore al limite di determinazione)

Tesi	Al mg kg^{-1}	Cd mg kg^{-1}	Cr mg kg^{-1}	Ni mg kg^{-1}	Pb mg kg^{-1}
A	1918 ± 94*	0,40 ± 0,06	16,48 ± 1,96	8,37 ± 0,51	< DL[1]
B	1002 ± 270	0,48 ± 0,10	17,06 ± 1,32	9,22 ± 0,45	< DL
C	3048 ± 789	0,44 ± 0,09	38,16 ± 4,07	9,22 ± 1,11	< DL
D	2301 ± 499	0,42 ± 0,08	35,29 ± 1,91	9,28 ± 0,75	< DL

Tabella 4.7: concentrazione degli elementi tossici nei campioni di compost (*Dev. St.)

[1](<DL: inferiore al limite di determinazione)

I risultati sono stati confrontati con i limiti stabiliti dal *D.lgs. 75/2010* (tabella 4.8), e si è osservato che tutti gli elementi rientrano nei limiti della legge di riferimento. In particolare, anche il rame e lo zinco risultano entro tali limiti nonostante le matrici utilizzate provenissero da un vigneto biologico.

METALLO	Cd mg kg^{-1}	Ni mg kg^{-1}	Pb mg kg^{-1}	Cu mg kg^{-1}	Zn mg kg^{-1}
Tenore massimo	1,5	100	140	230	500

Tabella 4.8: Tenori massimi consentiti in metalli pesanti D.lgs. 75/2010

4.2 RISULTATI DELLE VERIFICHE FITOPATOLOGICHE

4.2.1 STUDIO DEL MATERIALE INFETTO

La presenza dell'escoriosi della vite sul materiale di potatura in esame è stata verificata identificando la presenza dei picnidi del fungo in prossimità delle necrosi longitudinali dei tessuti corticali e, in un secondo momento, grazie al riconoscimento delle spore α e β del fungo, osservate al microscopio ottico a luce trasmessa.

Riconosciuta la malattia, sono stati ricavati (per ogni categoria d'infezione) 10 campioni, rappresentati da porzioni dei sarmenti, di lunghezza compresa tra 15 e 30 cm, per un totale di 45 campioni.

Osservando le camere umide incubate (figura 4.12), in prossimità dei picnidi non è stato possibile rilevare la formazione di alcun cirro e questo fatto è stato attribuito alla temperatura d'incubazione troppo bassa (17°C) e alla mancata maturazione delle formazioni conidiche al momento della lettura. Infatti, secondo alcuni autori, i picnidi originatesi prima del mese di ottobre esigono un tempo di maturazione relativamente lungo, valutato in sei settimane a 21°C [17, 22].

Dopo sei settimane (non rilevando alcun cirro e a causa delle abbondanti evasioni conidiche da parte di funghi saprofiti sui campioni in esame) sono state preparate altre tre camere umide utilizzando il medesimo materiale infetto di partenza, conservato in

frigorifero a 4°C. Dopo una settimana, sono stati rilevati sui 3 campioni incubati a 23°C, attiguamente alle zone sintomatiche, i filamenti giallo-cremeo, tipici di *P. viticola.*

Figura 4.12: camere umide dei campioni divisi per 3 categorie d'infezione (+, ++. +++)

La coltura dei cirri in vitro, su terreno agarizzato selettivo per *Phomopsis sp*, ha permesso di giungere all'isolamento e identificazione di *P. viticola*, osservando prima le colonie allo stereomicroscopio e rilevando in seguito la morfologia delle spore α e β al microscopio ottico a luce trasmessa (figura 4.13).

Lo studio effettuato sul materiale infetto ha consentito, quindi, di accertare la presenza dell'agente causale dell'escoriosi della vite, ma soprattutto di accertarne la vitalità, presupposto fondamentale ai fini sperimentali del presente lavoro.

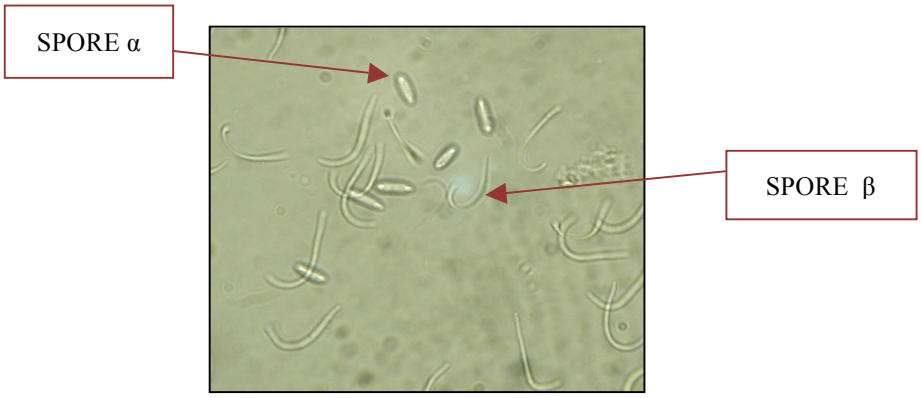

Figura 4.13: spore α e β di *P. viticola*
(nei campioni infetti prima del compostaggio)

4.2.2 MONITORAGGIO DEI CAMPIONI DURANTE IL COMPOSTAGGIO

Avviato il processo di compostaggio, nelle settimane successive si è reso necessario il rivoltamento dei cumuli. La seguente tabella 4.9 riassume le valutazioni dell'integrità del tessuto corticale dei campioni sottoposti al compostaggio, effettuate nelle stesse giornate in cui si praticavano i rivoltamenti delle matrici organiche.

Nr. rivoltamento	Data	Descrizione
1°	17/12/10	Introduzione dei campioni integri nel cumulo D
2°	21/12/10	Tessuto corticale integro
3°	28/12/10	Tessuto corticale integro
4°-5°	30/12/10	Tessuto corticale integro e tessuti midollari in decomposizione
6°	4/1/11	Tessuto corticale colonizzato da batteri filamentosi
7°	13/1/11	Tessuto corticale in via di decomposizione

Tabella 4.9: monitoraggio dei campioni durante il processo di compostaggio

In data 13/1/11, dopo un'attenta valutazione dei campioni, si è deciso di concludere il trattamento di compostaggio. Assieme ai campioni compostati (figura 4.14), sono stati prelevati e portati in laboratorio anche i campioni di controllo posti nel vigneto.

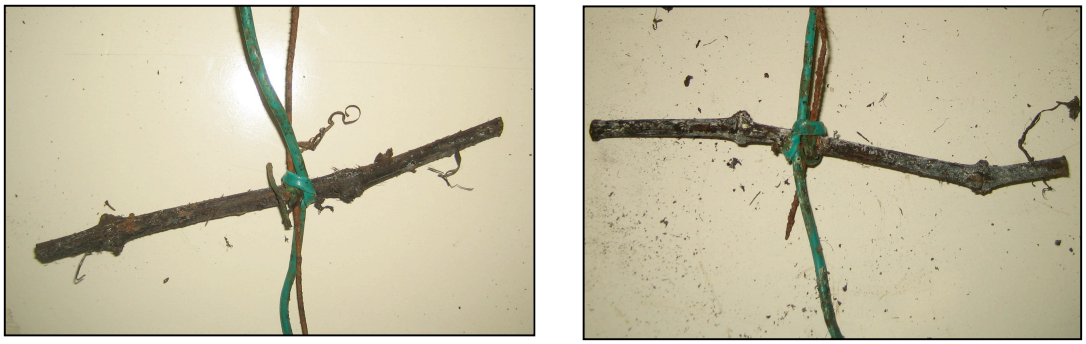

Figura 4.14: campioni infetti dopo il trattamento di compostaggio

4.2.3 VERIFICHE DEL MATERIALE COMPOSTATO

Nella tabella 4.10 sono riassunti i dati relativi alla registrazione dei campioni prima del loro processamento.

CODICE CAMPIONE		CATEGORIA D'INFEZIONE	LUNGHEZZA (cm)	PESO (g) del tessuto prelevato
CAMPIONI COMPOSTATI	**1 A**	+++ a 20 cm	17	1,30
	1 B	+++ a 20 cm	17	1,16
	2 A	+++ a 40 cm	17	1,45
	2 B	+++ a 40 cm	16	0,93
	3	+++ a 60 cm	20	1,08
	4 A	++ a 20 cm	18	0,97
	4 B	++ a 20 cm	17,5	1,08
	4 A	++ a 40 cm	17	0,39
	5 B	++ a 40 cm	18	1,36
	6	++ a 60 cm	18	0,90
	7 A	+ a 20 cm	18	0,41
	7 B	+ a 20 cm	11	0,10
	8 A	+ a 40 cm	18,5	1,03
	8 B	+ a 40 cm	17,5	0,55
	9	+ a 60 cm	21	1,53
	10 A	- a 20 cm	20	2,26
	10 B	- a 20 cm	20	2,16
	11 A	- a 40 cm	20	2,08
	11 B	- a 40 cm	20	2,48
	12	- a 60 cm	20	2,10
CAMPIONI NEL VIGNETO	**13 A**	+++ vigneto	30	1,66
	13 B	+++ vigneto	27	2,75
	14 A	++ vigneto	28	0,80
	14 B	++ vigneto	30	1,66
	15 A	+ vigneto	15	0,49
	15 B	+ vigneto	21	1,43
	16 A	- vigneto	18	1,02
	16 B	- vigneto	19	1,04

Tabella 4.10: registrazione dati dei campioni da analizzare

Il rilevamento del peso e della lunghezza risultava utile per la quantificazione del potenziale infettivo sui campioni in esame. Questo obiettivo è stato inizialmente perseguito mediante la frantumazione (in mortaio) del tessuto sottocorticale (ad

esclusione dei campioni 3, 6, 9 e 12 processati solo in camera umida). Si è così ottenuto un estratto acquoso poi sottoposto ad osservazione al microscopio ottico a luce trasmessa ed infine alla conta delle spore di *P. viticola*. Questo metodo di analisi dei campioni è stato abbandonato per la difficoltà incontrata nella conta delle spore utilizzando una camera di Thoma. Le trasformazioni biologiche a carico del materiale infetto durante il compostaggio, hanno favorito la colonizzazione dei campioni da parte di numerosi microrganismi saprofiti, le cui forme di conservazione confondevano l'individuazione delle spore ricercate.

Ai fini della presente ricerca, si è privilegiata la valutazione della presenza e della vitalità delle spore del patogeno studiato, sul materiale compostato e sul materiale di controllo posto in vigneto. Per tale motivo, le verifiche patologiche sono state condotte mediante l'incubazione dei tessuti corticali dei sarmenti di vite in camera umida.

Le camere umide, sono state osservate con cadenza settimanale. Dopo 3 settimane è stata rilevata la diffusione dei cirri sui tessuti del materiale di controllo posto in vigneto. Al contrario, i campioni sottoposti a compostaggio non hanno mostrato alcuna emissione di filamenti giallo-cremeo. Si è proceduto quindi alla registrazione dei risultati relativi all'incubazione dei campioni (tabella 4.11).

CODICE CAMPIONE		**DESCRIZIONE DELLE CAMERE UMIDE (21 giorni d'incubazione a 23°C)**
CAMPIONI COMPOSTATI	**1 A**	Presenza di evasioni saprofite anche con mucillagini
	2 A	Presenza di evasioni saprofite anche con mucillagini
	3	Presenza di evasioni saprofite anche con mucillagini
	4 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	5 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	6	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	7 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	8 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	9	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	10 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	11 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
	12	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)
CAMPIONI NEL VIGNETO	**13 A**	Presenza di cirri freschi e cirri secchi di *P. viticola* (spore α e β visibili al m.o.)
	14 A	Presenza di cirri freschi e cirri secchi di *P. viticola* (solo spore β visibili al m.o.)
	15 A	Presenza di cirri freschi e cirri secchi di *P. viticola* (spore α e β visibili al m.o.)
	16 A	Presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp* (spore visibili al m.o.)

Tabella 4.11: lettura delle camere umide dopo incubazione dei campioni

Figura 4.15: c.u. dei tessuti corticali (1 A)

Figura 4.16: c.u. dei tessuti corticali (13 A)

Dalla tabella 4.11 si osserva che nei campioni sottoposti a compostaggio (1A – 12), originariamente infetti da escoriosi della vite secondo diversi gradi d'infezione, non è stata riscontrata alcuna forma di sporulazione o di diffusione del fungo *P. viticola* (figura 4.15). Questa osservazione è certamente riconducibile all'effetto del trattamento termico subito dai campioni nel corso del processo di compostaggio, responsabile dell'alterazione delle strutture di conservazione del fungo sui tessuti corticali e della mancata maturazione dei picnidi. Nei campioni è stata accertata l'assenza di spore vitali del fungo *P. viticola* ed è stata rilevata la sola presenza di evasioni saprofite e picnidi di *Phoma sp*., le cui spore sono state identificate al microscopio ottico a luce trasmessa.

I campioni di controllo posti fuori dal cumulo, in vigneto, (13A – 15A, ad eccezione del campione esente 16A) hanno invece prodotto cirri di *P. viticola.* Come confermato dalle osservazioni al microscopio ottico delle spore α e β del fungo, si è così accertata la maturità e la vitalità dei picnidi sul materiale lasciato in vigneto, fuori dal cumulo (figura 4.16).

Successivamente, a seguito della semina su terreno agarizzato selettivo per *Phomopsis sp*, di una sospensione acquosa dei cirri e di porzioni dei picnidi prelevati dai suddetti campioni, è stata accertata la vitalità delle spore del fungo. Le piastre inoculate e poste a incubare a 23°C, sono state osservate con cadenza settimanale.

Dopo due settimane, è stato possibile osservare allo stereomicroscopio il micelio in espansione di *P. viticola* e i piccoli picnidi di colore scuro.

I vetrini, preparati utilizzando porzioni dei picnidi (figura 4.17) prelevati dalle piastre di ciascun campione, sono stati osservati al microscopio ottico ed hanno permesso di rilevare la presenza di spore α e β caratteristiche del fungo (figura 4.18).

Il potenziale infettivo di *P. viticola,* sul materiale di potatura posto in vigneto, è stato dunque accertato per tutti i livelli d'infezione considerati.

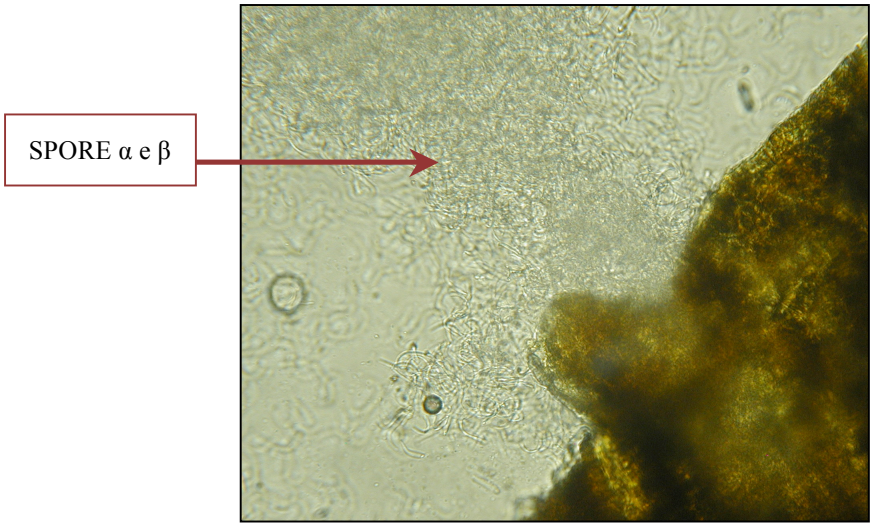

Figura 4.17: emissione spore α e β da picnidio (13 A)

Figura 4.18: spore α (13 A)

5 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

5.1 QUALITÀ DEL COMPOST PRODOTTO

Le miscele iniziali e la conduzione delle varie operazioni di copertura, rivoltamento e bagnatura, hanno consentito un andamento ottimale del processo di compostaggio e l'ottenimento di un prodotto di buona qualità. Il rilevamento della temperatura di processo ha descritto l'andamento del compostaggio sotto il profilo termico, permettendo la distinzione delle due fasi tipiche di processo, che si sono svolte e succedute in tempi regolari: la fase termofila, durata circa 40 giorni, nella quale si sono raggiunte temperature di 65-70°C (per 24 ore) e la fase di maturazione, conclusa in circa 86 giorni e caratterizzata da temperature comprese tra 5°C e 30°C. In questa situazione operativa, il puntuale controllo dell'umidità e della CO_2, si è rivelato indispensabile per una razionale gestione del processo. Ugualmente, le operazioni di rivoltamento e bagnatura hanno garantito il corretto decorso del processo di compostaggio.

In generale, i quattro tipi di compost prodotti, diversi per la presenza o meno di vinaccia e per l'inoculo starter attivo o sterilizzato, sono risultati conformi agli standard normativi prescritti nel *D.lgs. 75/2010* (allegato 2) e rientrano nel range dei principali parametri chimici del compost commerciale ottenuto a partire da vinaccia e legno di potatura [36].

Sotto il profilo chimico-fisico, il compost prodotto è risultato grossolano ma con un buon grado di maturazione, valutati in base ai parametri di umificazione. La percentuale dei solidi volatili è risultata bassa per effetto del notevole contenuto in ceneri riconducibile al materiale inorganico proveniente dal terreno e dall'aggiunta di zeolite. Si sono rilevati alti valori di C.E., imputabili anche all'utilizzo della pollina, e valori normali di pH. Il carbonio organico, è risultato regolare e con esso il rapporto C/N. A riguardo del carbonio umico e fulvico, il compost prodotto rientrerebbe nella norma se

considerato "*ammendante compostato verde*", ma secondo i parametri riferiti all'"*ammendante compostato misto*" risulta carente. Essendo le matrici di partenza prevalentemente vegetali, e solo la pollina è di origine diversa, il compost è più assimilabile al compostato verde che a quello misto. Il DOC molto basso, ha confermano la buona maturità del compost.

La qualità del compost prodotto è stata confermata anche dal test di germinazione, che ha fornito valori di germinabilità appena sopra la soglia, anche se bassi a causa, in tutta probabilità, dell'elevata C.E. La bontà del materiale organico è verificata anche dal basso contenuto in metalli pesanti. Questi ultimi sono di gran lunga inferiori ai valori forniti da altre esperienze condotte nella filiera vitivinicola utilizzando raspi e vinaccia [37].

Il compost ottenuto nell'ambito della presente sperimentazione, può essere impiegato nelle fertilizzazioni in pieno campo delle colture in genere, al fine di garantire adeguati livelli di sostanza organica (funzione ammendante), mentre per la vite e le altre frutticole può soddisfarne parallelamente le esigenze nutritive (funzione concimante) [29].

5.2 EFFETTO DELL'INOCULO STARTER

L'inoculo di microrganismi selezionati attivi, diversamente da ciò che ci si aspettava, non ha influito sulla velocità di raggiungimento del picco di temperatura massima, anzi le tesi con l'inoculo attivo sono state in genere più lente. Tuttavia nei cumuli inoculati è stata rilevata una temperatura media superiore per circa 10 giorni verso la fine della fase termofila. Questo comportamento ha trovato conferma nel minore DOC del compost trattato con l'inoculo attivo.

Risultati favorevoli alla pratica dell'inoculo, hanno riguardato la maturità del compost. Il carbonio organico solubile ha mostrato valori, più bassi per le tesi con inoculo dello starter attivo, con differenze di 0,15 g kg^{-1} fra le matrici con la vinaccia e 0,45 g kg^{-1} fra quelle senza. Inoltre, le stesse hanno presentato un tenore di azoto totale più alto, con differenze di 6 g kg^{-1} (fra B ed A) e 2,5 g kg^{-1} (fra D e C). Questi valori si sono riflettuti sul rapporto C/N, più basso di 3 punti in B rispetto ad A, e di 2 punti in D rispetto a C. Questo fa ipotizzare il contributo dei microrganismi nella formazione delle complesse

strutture aromatiche della componente umica che ingloba parte dell'azoto totale, e quindi a minor perdite di azoto, oppure una maggiore degradazione del materiale ligno-cellulosico con conseguente minor carbonio organico residuo.
L'inoculo di microrganismi selezionati viene proposto allo scopo di indurre uno sviluppo equilibrato della microflora nel compost durante la fase di maturazione e giungere così alla produzione di materiale organico maturo sotto il profilo chimico e biologico. I microrganismi inoculati, infatti, non sono adatti alla fase termofila quanto invece alla fase di maturazione del compost.
In conclusione si ritiene quindi che, sebbene l'inoculo non abbia mostrato l'"effetto starter" e non si sia dimostrato essenziale alla produzione di un compost dalle buone caratteristiche qualitative, esso possa trovare una utilità nella riduzione dei tempi per l'ottenimento di un compost maturo e nella diminuzione del rapporto C/N finale.

5.3 EFFETTO DELLA VINACCIA

I cumuli allestiti con sarmenti e vinaccia hanno iniziato il processo di compostaggio circa 5 giorni dopo i cumuli costituiti da soli sarmenti. Temperature leggermente superiori sono state rilevate in quest'ultimi anche se i cumuli con la vinaccia hanno mantenuto un regime termico più elevato fino alla fine delle fase termofila.
Il ritardo nell'inizio del processo, può essere ricondotto alla presenza di etanolo nella vinaccia fermentata o all'elevato contenuto in polifenoli solubili, ai quali viene attribuito un effetto batteriostatico.
A livello analitico, la vinaccia ha determinato valori di pH del compost più elevati, di 0,7 unità fra le matrici inoculate con starter sterilizzato e di 0,5 unità fra quelle inoculate con starter attivo. Differenze sono emerse anche per il carbonio umico e fulvico: più basso di 8 g kg^{-1} con inoculo sterilizzato e di 3 g kg^{-1} con inoculo attivo. Anche il tasso di umificazione ha evidenziato valori inferiori del 5% in C e dell'1,5% in D. Ugualmente, i bassi valori della C.E. nelle tesi C e D sono riconducibili alla presenza della vinaccia e si sono riflessi in percentuali superiori dell'indice di germinazione, rispettivamente del 12% e del 4%. Il compost di sarmenti e vinaccia ha rivelato concentrazioni più basse in piombo e zinco.

Questi risultati hanno accertato la possibilità di condurre con successo il compostaggio combinato di vinaccia e sarmenti, confermando le potenzialità del processo, come mezzo di trasformazione dei sottoprodotti dell'intera filiera vitivinicola, ottenendo, a partire da questi, un ammendante compostato utilizzabile nei vigneti aziendali con funzioni anche concimanti, e permettendo così la chiusura del ciclo degli elementi nutritivi.

5.4 RIDUZIONE DEL POTENZIALE INFETTIVO DOPO IL COMPOSTAGGIO

Contestualmente ai risultati qualitativi del compost sono stati conseguiti interessanti risultati nello studio del fungo *P. viticola*. Le verifiche fitopatologiche sul materiale infetto, sottoposto al compostaggio, hanno accertato la possibilità di abbattere con questo processo il potenziale infettivo presente nel materiale di potatura. L'effetto ottenuto è riconducibile al regime termico che s'instaura nella prima fase del processo e che provocherebbe l'alterazione delle forme di sporulazione del fungo.

A 28 giorni dall'inizio del processo di compostaggio, non è stato rivelato alcun "potenziale infettivo" sui campioni analizzati, ne in quelli più profondi (60 cm), ne in quelli meno profondi (20 cm) nel cumulo in compostaggio. L'inattivazione delle spore di *P. viticola* nei campioni posti all'interno del cumulo D (sarmenti + vinaccia + inoculo attivo), è stata conseguita raggiungendo temperature superiori a 50°C al centro del cumulo, con un picco di massima temperatura pari a 69°C per 24 ore, e temperature maggiori di 40°C a 20 cm di profondità. Questa situazione termica si è realizzata per 15 giorni consecutivi, durante la fase termofila.

Considerando poi che nell'ambito della prova di compostaggio, il cumulo D ha raggiunto temperature massime più basse rispetto agli altri 3 cumuli, è possibile supporre che anche in quest'ultimi si sarebbe conseguito un esito analogo.

Durante il compostaggio dei campioni infetti, il rivoltamento dei cumuli, eseguito quattro volte, ha in ogni caso assicurato l'omogeneizzazione della matrice organica, garantendo a tutta la massa, l'esposizione a temperature più alte nel centro del cumulo.

In letteratura non sono state rilevate prove analoghe a riguardo di *P. viticola*. Tuttavia, alcuni autori hanno studiato la possibilità di ridurre il potenziale infettivo di *P. viticola*

nelle barbatelle di vite, con trattamenti a base di acqua calda. Gli stessi hanno conseguito la riduzione dell'infezione dal 75,6% al 0,7% ponendo le marze in acqua a 50°C per 30 minuti, evidenziando altresì, l'impossibilità di abbattere totalmente l'infezione mediante il trattamento [39].

Esperienze di laboratorio condotte dal dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale dell'Università di Bari, nell'ambito di un più ampio studio sui patogeni della vite, hanno individuato in 40°C, la temperatura minima che condurrebbe in 30 minuti all'inattivazione delle spore di *P. viticola.*

Ulteriore prova dell'effetto igienizzante del compostaggio è riportata da autori francesi: questi, sperimentando il compostaggio dei sarmenti di vite, hanno valutato la possibilità di inattivare gli agenti causali di due gravi ampelopatie: l'eutipiosi e l'esca. Raggiungendo nei cumuli temperature di 75°C e 65°C per pochi giorni e mantenendo un regime termico non inferiore ai 40°C nel corso del processo durato sei mesi, il potenziale infettivo dei funghi studiati è stato abbattuto allo 0% [38].

La presente tesi ha potuto inoltre dimostrare l'evoluzione del patogeno nei sarmenti infetti posti in vigneto. Le verifiche patologiche hanno rilevato, l'attività delle spore di *P. viticola* nel materiale infetto non compostato, per tutte le categorie d'infezione considerate (ad eccezione dei campioni negativi).

In definitiva, il processo di compostaggio dei sarmenti, offre la possibilità di eradicare efficientemente il potenziale infettivo di patogeni fungini della vite, in particolare di quelli che svernano nel materiale di potatura. Fra questi, il fungo *P. viticola*, è stato inattivato a temperature di processo ordinarie, per le matrici organiche considerate.

5.5 CONCLUSIONI

A conclusione della presente sperimentazione, emerge chiaramente come il compostaggio sia una valida alternativa alle pratiche tradizionali di smaltimento dei sottoprodotti della filiera vitivinicola, quali sarmenti e vinaccia.

Fra le altre possibilità di recupero del materiale legnoso, sta trovando un crescente consenso, in ragione del suo vantaggio economico, la produzione di materiale pellettato destinato ad alimentare le caldaie domestiche o gli impianti industriali. Allo stesso tempo, molti viticoltori si ostinano tutt'oggi a bruciare i sarmenti al termine della

potatura, non curanti dei divieti territoriali che da molti anni regolano questa pratica. Si tratta, in ogni caso, di azioni che conducono alla distruzione totale della sostanza organica e alla perdita di buona parte dei macro nutrienti, oltre all'inquinamento dovuto alla combustione del materiale legnoso.

In quest'ottica il processo studiato risulta del tutto vantaggioso rispetto alla distruzione dei sarmenti, combinando i benefici connessi alla produzione di un buon ammendate per il vigneto, a quelli legati alla sua igienizzazione nei confronti di alcuni patogeni della vite, tra i quali *P. viticola*. Inoltre, come hanno suggerito alcuni autori, nell'ambito del compostaggio combinato di raspi e vinaccia, il compost maturo e conforme ai parametri standard, è particolarmente indicato per l'applicazione nel vigneto in quanto: (i) la natura della sostanza organica facilita la sua integrazione nel terreno migliorandone la capacità di ritenzione dell'acqua, fattore importante per la qualità nella produzione di uva da vino; (ii) il rilascio nel suolo di elementi mobili come l'azoto avviene in maniera graduale, con effetti positivi nei vigneti che ne soffrono la carenza; (iii) il compost, contente moderati valori di macro elementi e tracce irrilevanti di elementi tossici, costituisce un fattore di qualità nel bilancio nutritivo del vigneto [37].

BIBLIOGRAFIA

[1] Fregoni M. (2005). *Viticoltura di qualità*. Ed. Phytoline, Affi

[2] Pàstena B. (1990). *Trattato di viticoltura italiana*. Ed. Edagricole, Bologna

[3] OIV (2010). *Statistiche mondiali*. Assemblea generale di Tbilisi

[4] ISMEA (2007). *Filiera vino – Enotria*. Ed. Unione Italiana Vini, Milano

[5] VCR (2004). *Dati statistici del vivaismo viticolo*

[6] Giorgessi F., Sancassani G.P., Antoniazzi P. (2004). *Guida per il viticoltore*. Ed. Veneto Agricoltura, Legnaro

[7] Ferrari M., Marcon E., Menta E. (2006) *Fitopatologia, entomologia agraria e biologia applicata*. Ed. Edagricole, Bologna

[8] Goidanich G. (1981). *Manuale di Patologia vegetale*. Ed. Edagricole, Bologna

[9] Selby A.D., Van Hook J.M. (1907). *Dying of bearing grape vines*. Ohio Exp. Sta. Circ., 64: 1-6

[10] Hewitt W.B. (1935). *Dead-arm disease of grapes in California*. Pl. Dis. Reptr., 19: 309-310

[11] Du Plessis S.I. (1938). *The dead arm disease of the vine*. Fung S. Afr., 143: 79-83

[12] Brittlebank C. (1940). *Australian Fungi Index*

[13] Diffloth P. (1923). *Les ennemies de la vigne. Galles et Cryptogames*. La vie agric., 22: 367-370

[14] Goidanich G. (1937). *Notizie su una malattia della vite poco conosciuta*. Atti Reale Acc. Naz. Lincei, 26: 107-112

[15] Prota U. (1967). *Presenza in Sardegna di una malattia della vite caratterizzata dalla necrosi corticale*. Informatore Fitopatol., 17: 3-6

[16] Pezet R. (1976). *L'excoriose de la vigne: géneralités et conassaincès nouvelles*. Revue suisse Vitic. Arboric., 8: 19-26

[17] Prota U. (1968). *La necrosi corticale della vite in Sardegna*. Studi Sass. (Sez. III Agr.), 16: 90-118

[18] Saccardo P.A. (1915). *Notae mycologicae*. Ann. Mycol., 13: 115-138

[19] Reddick D. (1909). *Necrosis of the grape vine*. Agric. Exp. Sta. Bull., 263: 323-343

[20] Merrin S.J., N.G. Nair, J. Tarran (1995). *Variation in Phomopsis recorded on grapevine in Australia and its taxonomic and biological implications*. Austrl. Pl. Pathol., 24: 44-56

[21] Mostert L., P.W. Crous, J.C. Kang, A.J.L. Phillips (2001). *Species of Phomopsis and Libertella sp. occurring on grapevines with specific references to South Africa*. Mycologia, 93: 146-147

[22] Bugaret Y. (1986). *Donnéès nouvelles sur l'épidémiologie de l'excoriose de la vigne et leurs conséquences pour la lutte*. Phytoma, 2: 36-41

[23] Brendel G. (1970). *Der Einfluss von temperatur und Luftfeuchrigkeit auf die Spornkeimung von P. viticola Sacc.* Weinb. Kell., 17: 380-388

[24] Chiumenti R., Chiumenti A. (2002). *La tecnologia del compostaggio*. Ed. ARPAV, Padova

[25] Metting F.B. (1992). *Soil Microbial Ecology*. Ed. CRC Press

[26] Rechcigl J.E. (1995). *Soil admendments and environmental quality*. Ed. CRC Press

[27] Fogarty A.M., Tuovinen O.H. (1991). *Microbiological Degradation of Pesticides in Yard Waste Composting*. Microbiological Reviuws, 55: 225-233

[28] Centemero M., Newman D. (2007). *Cresce e punta sulla qualità il sistema compostaggio*. Supplemento a L'informatore Agrario, 13: 6-7

[29] Pinamonti F. (1997). *L'impiego del compost sui terreni agricoli*. Supplemento a L'informatore Agrario, 44: 45-49

[30] Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (2001). *Metodi di analisi del compost*. Ed. Manuali e Linee Guida ANPA, 3

[31] Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (2003). *Metodi microbiologici di analisi del compost*. Ed. Manuali e Linee Guida APAT, 20

[32] Minoia C., Bettinelli M., Sabbioni E. (1993). *Applicazioni Dell'ICP – AES nel laboratorio chimico e tossicologico*. Ed. Scientifiche Morgan

[33] Rawnslay B., J. Wicks T. (2002). *P. viticola*: *pathogenicity and management*. South Australian Research and Development Institute – SARDI

[34] Erincik O., Madden L.V., Ferree D.C., Ellis M.A. (2003). *Temperature and Wetness-Duration Requirements for Grape Leaf and Cane Infection by P. viticola*. Plant Disease, 87, 7: 833-834

[35] S. Zmora-Nahum, O. Markovitch, J. Tarchitzky, Y. Chen (2005). *Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity*. Soil Biology and Biochemistry, 37: 2109-2116

[36] S. Zmora-Nahum, Y. Hadar, Y. Chen (2007). *Physico-chemical properties of commercial compost varying in their source materials and country of origin*. Soil Biology & Biochemistry, 39: 1263-1276

[37] E. Bertran, X. Sort, M. Soliva, I. Trillas (2004). *Composting winery waste: sludges and grape stalks*. Bioresource Technology, 95: 203-208

[38] P. Lecomte, G. Louvet, B. Vacher, P Guilbaud (2006). *Survival of fungi associated with grapevine decline in pruned wood after composting*. Phytopathologia Mediterranea, 45: 127-130

[39] K. Clarke, V. Sergeeva, R. W. Emmett, N. G. Nair (2004). *Survival of P. viticola in grapevine cuttings after hot water treatment*. Australian Plant Pathology, 33: 317-319