

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AGRICOLTURA, LE FORESTE,
LA NATURA E L'ENERGIA**

DAFNE

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA

Ortoflorofrutticoltura - XXIV Ciclo

TITOLO TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

**Sviluppo di una filiera produttiva sostenibile nel settore vivaistico: studio
dell'effetto di substrati di coltivazione derivati da scarti vegetali sulla crescita di
piante in vaso**

settore scientifico-disciplinare
AGR/03

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Elena Luccioli

Coordinatore del corso

Dr. Giuseppe Colla

Tutore

Dr. Massimo Muganu

Co-tutori

Dott.ssa Maria Pia Aleandri

Dr. Marco Paolocci

Data della discussione: 7 giugno 2013

INDICE

CAPITOLO I

PARTE GENERALE

1.1	INTRODUZIONE.....	1
1.2	LA TORBA.....	3
1.3	ESIGENZE DI CRESCITA DELLE PIANTE IN VASO.....	4
1.4	IL COMPOST.....	6
1.5	IL PROCESSO DI COMPOSTAGGIO.....	7
1.6	MECCANISMI DI SOPPRESSIVITA' NEL COMPOST.....	9

CAPITOLO II

PARTE SPERIMENTALE

2.1	SCOPO DELLA RICERCA.....	12
2.2	MATERIALI E METODI.....	12
2.2.1	Identificazione delle matrici compostabili, loro condizionamento e determinazione delle principali caratteristiche chimiche del compost.....	12
2.2.2	Rilievi microbiologici.....	13
	<i>a) Determinazione della composizione della comunità microbica durante il processo di compostaggio: campionamento, isolamento ed identificazione morfologica</i>	13
	<i>b) Identificazione di specie e di ceppi di Trichoderma spp. ed analisi “in vitro” della loro attività antagonista nei confronti di patogeni tellurici</i>	14
2.2.3	Prove di coltivazione.....	16
	<i>a) Scelta dei substrati ed analisi chimiche preliminari</i>	16
	<i>b) Prove su Lavanda</i>	19

CAPITOLO III

RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1	Caratteristiche chimiche del compost usato nelle prove.....	20
3.2	Risultati dei rilievi microbiologici.....	20

3.3	Risultati delle prove di coltivazione	26
	<i>a) Caratteristiche chimiche dei substrati impiegati nelle prove</i>	<i>26</i>
	<i>b) Risultati delle prove di crescita in piante di Lavanda</i>	<i>30</i>
	<i>c) Risultati delle prove di crescita in piante di Olivo</i>	<i>38</i>
	CONCLUSIONI	44
	RINGRAZIAMENTI	46
	BIBLIOGRAFIA	47

CAPITOLO I

PARTE GENERALE

1.1 INTRODUZIONE

L'evoluzione dello scenario internazionale, la globalizzazione dei mercati, il progresso tecnologico e quindi il subentrare di nuove variabili in grado di influenzare le dinamiche dei mercati interni ed internazionali, hanno esercitato il loro effetto anche nel settore florovivaistico.

Il florovivaismo è un segmento dell'agricoltura molto caratteristico che presenta delle specifiche peculiarità sia sotto l'aspetto culturale che economico e sociale, per la notevole variabilità delle tipologie produttive, per le esigenze colturali delle specie interessate, per le molteplici destinazioni finali che possono dare origine ad una domanda di mercato particolarmente complessa e diversificata.

Questo comparto, pur inserito in una situazione di crisi generale ed in una fase economica che vede l'affacciarsi di nuovi Paesi sul mercato mondiale, continua ad avere un *trend* di sviluppo crescente, manifestando una notevole dinamicità al suo interno. Questa dinamicità dimostra che alla base c'è una rilevante capacità imprenditoriale che permette di superare sia i notevoli ostacoli strutturali sia la mancanza di una organizzazione comune di mercato capace di dare adeguate garanzie a livello di legislazione dedicata.

A livello nazionale l'entità della superficie investita, in termini di superficie agricola utilizzata (SAU), corrisponde al 30% circa della superficie europea complessiva, conferendo così all'Italia una posizione dominante nell'ambito dell'Unione Europea (UE). L'importanza del settore nel contesto della nostra economia, è testimoniato dal fatto che esso contribuisce per circa il 6% al totale del valore della produzione agricola, al pari del settore vitivinicolo, con la differenza di un indotto assai più ampio che comprende, sia a monte che a valle, una serie di attività di tipo agricolo ed industriale.

La produzione in valore è di circa 3 miliardi di euro ed è suddivisa in 1,7 miliardi per fiori e piante in vaso e per quasi 1,4 miliardi per i prodotti vivaistici (alberi e arbusti). Il valore delle attività del comparto presentano negli ultimi quattro anni rispetto ad un'annata media (2002-2004) un incremento medio annuo del 2,6% dove il segmento delle piante in vaso, alberi e arbusti mostra una dinamicità nella crescita molto più pronunciata del segmento del reciso (fiori e fronde).

Per mantenere alti i propri livelli di competitività però l'azienda vivaistica ha, nella maggior parte dei casi, dovuto rivedere profondamente la propria organizzazione e sviluppare processi produttivi spesso complessi dal punto di vista tecnologico. Questo è stata la principale causa della trasformazione del comparto florovivaistico da sequestratore e fissatore di carbonio in produttore di carbonio in conseguenza dell'uso diretto o indiretto di energie fossili legate ai fabbisogni di energia,

al largo impiego di concimi, di substrati di coltivazione e di materiali plastici ed alla contemporanea perdita di materia organica derivata dai residui di coltivazione, di potatura o di piante non commercializzabili. L'80% circa dell'energia consumata nell'UE deriva dai combustibili fossili ovvero petrolio, gas naturale e carbone. Di questa percentuale, una parte considerevole in costante aumento, proviene dai Paesi terzi. La dipendenza dalle importazioni di petrolio e di gas, che attualmente è del 50%, potrebbe salire al 70% di qui al 2030. L'UE deve, inoltre, ridurre il consumo di combustibili fossili per invertire la tendenza al riscaldamento globale e rispettare gli impegni sottoscritti nell'ambito della Convenzione delle Nazioni Unite sui cambiamenti climatici (UNFCCC) ed in particolare del suo strumento operativo noto con il nome di Protocollo di Kyoto. I cambiamenti climatici, l'aumento del prezzo del petrolio e i timori per le forniture future, hanno concentrato sempre di più l'attenzione sulle potenzialità offerte dalle biomasse per la produzione di energia che mirano ad accrescere la qualità ambientale, l'uso sostenibile ed efficiente delle risorse naturali e lo sviluppo locale. Nell'ambito del settore florovivaistico, tale processo, assume una profonda rilevanza, in quanto gli input energetici incidono significativamente sui costi di produzione.

Il mercato dei terricci per il vivaismo professionale e per l'hobbistica si è molto sviluppato negli ultimi trent'anni; prima di allora le necessità delle aziende vivaistiche venivano soddisfatte con l'utilizzo di materie prime reperite in loco (stallatici, foglie di faggio, aghi di pino). Il materiale oggi più diffuso in Europa è sicuramente la torba, utilizzata nella preparazione di miscugli largamente usati nel vivaismo.

Da qualche tempo una serie di motivazioni di carattere economico ed ambientale spingono a ricercare dei materiali alternativi alla torba per la coltivazione di piante in vivaio. Infatti, i prezzi di questo materiale aumentano sempre di più in seguito all'incremento dei costi energetici che incidono su tutte le fasi del processo produttivo, compreso il trasporto dai paesi del Nord-Europa o del Canada (principali esportatori). Inoltre, aumenta la richiesta di substrati "*peat free*" come conseguenza di una campagna ambientalista condotta contro lo sfruttamento delle torbiere, in considerazione del valore naturalistico di questi particolari habitat e della natura di risorsa "non rinnovabile" di questo materiale, la cui formazione richiede migliaia di anni. Occorre ricordare, inoltre, che la Commissione della Comunità Europea (CE) nel 2001 ha escluso dal rilascio del marchio comunitario di qualità ecologica (Ecolabel) i substrati di coltivazione che contengono torba o derivati. Pertanto, in molte nazioni come in Olanda e anche nel nostro Paese, si sono avviati progetti per individuare substrati alternativi alle torbe che associno il basso costo a qualità fisiche, chimiche e biologiche ottimali.

1.2 LA TORBA

Il substrato attualmente più utilizzato per le produzioni in vivaio è la torba. Essa si origina da residui dei vegetali di specie del genere *Sphagnum*, *Tricophorum*, *Carex*, *Eriophorum*, in condizioni di anaerobiosi e basse temperature in ambienti saturi d'acqua (fondo di laghi, paludi e stagni), in condizioni cioè che rallentano la completa decomposizione della sostanza organica.

Le torbe si dividono in alte e basse, in dipendenza delle condizioni pedoclimatiche in cui sono originate.

I Paesi maggiori produttori di torbe sono: Russia, Paesi del Baltico, Inghilterra, Irlanda, Canada, Germania, Finlandia, Svezia, Norvegia.

Le torbe alte si dividono in torbe brune, originatesi dallo strato più profondo molto decomposto e torbe bionde originatesi dallo strato più superficiale di colore chiaro. Sono caratterizzate da scarsa concentrazione in elementi nutritivi, buona stabilità strutturale e pH acido.

Le torbe basse, tipiche delle zone temperate, provengono principalmente da Italia e Francia Occidentale.

Sono di colore molto scuro, infatti sono dette torbe nere, presentano porosità libera quasi nulla, salinità sovente eccessiva, pH lievemente superiore all'optimum, eccessiva concentrazione di elementi nutritivi. La torba, e in particolare quella bionda (torba di sfagno), rappresenta generalmente il costituente di base dei terricci per la coltivazione in contenitore; in Italia è diffuso sia l'impiego di terricci importati o confezionati da aziende specializzate (la cui composizione è differenziata per settori d'impiego), sia di substrati fatti in azienda, costituiti dal vivaista in funzione delle esigenze della specie coltivata, delle disponibilità del materiale di base e dell'esperienza acquisita. (Centemero, 2001).

Per l'allevamento delle colture si preferiscono generalmente le torbe alte per le loro caratteristiche di pH e dotazione di elementi nutritivi. La torba, infatti, risulta essere il substrato più richiesto da coloro che operano nel settore e tale esigenza ha determinato, nel corso degli anni, un intenso sfruttamento delle già limitate torbiere con diminuzione della qualità, incremento del prezzo ed esaurimento progressivo delle fonti di approvvigionamento (Rea, 2005). Anche lo sfruttamento delle torbiere dell'ex URSS, che ha avuto un boom negli ultimi 10 anni, non potrà risolvere il problema; infatti per un materiale "povero" come la torba, i costi di movimentazione possono rappresentare anche il 70% del valore finale. In Italia, a partire dagli anni '60, con il forte sviluppo del settore ortoflorovivaistico il fabbisogno di torba ha raggiunto i 3 milioni di metri cubi, soddisfatti quasi interamente con prodotto importato (Melis e Cattivello, 1999). Nasce così la

necessità di sostituire questo materiale di coltura con altre fonti organiche di più opportune caratteristiche economiche (Sogni, 1998).

La torba viene normalmente utilizzata in miscela, allo scopo di migliorarne le caratteristiche fisiche. I materiali più comunemente utilizzati a questo scopo sono sia naturali come le foglie e le lettiera che inorganici come pozzolana, pomice o sabbia, o di tipo industriale come la vermiculite e/o la perlite.

1.3 ESIGENZE DI CRESCITA DELLE PIANTE IN VASO

I tentativi di coltivare piante in contenitore e l'utilizzazione di substrati alternativi al terreno non sono un fenomeno così recente. Già nel 1982, la torba, il terriccio e gli aghi di pino erano utilizzati per la preparazione di substrati di crescita per allevare le azalee, anche se le prime esperienze risalgono agli anni '20, quando Laurie in Ohio (USA) sperimentò l'uso della torba e sabbia come mezzi di crescita per diverse piante. Fin dalle prime ricerche, una volta stabilita la convenienza di allevare le piante in queste particolari condizioni, si è cercato di mettere a punto una tecnica che soddisfacesse al meglio le esigenze per un loro equilibrato sviluppo.

La produzione di piante in vaso necessita di un adeguato substrato per poter ottenere dei livelli qualitativi e quantitativi accettabili. Le caratteristiche fisico-chimiche del substrato incidono direttamente sullo sviluppo radicale, interagendo a livello di contenuto e disponibilità di aria e di acqua per le piante, unitamente a quella degli elementi nutritivi.

I più importanti requisiti fisici che un substrato ideale deve possedere sono un'adeguata costituzione, struttura, capacità di ritenzione idrica, aerazione e potere isolante; tra le caratteristiche chimiche è invece fondamentale un adeguato potere adsorbente, valori idonei di pH, contenuto in elementi nutritivi e conducibilità elettrica. Il materiale da impiegare deve essere inoltre di facile reperibilità e dal costo compatibile con le esigenze di mercato.

Il substrato ideale dovrebbe avere una porosità totale di almeno il 75% con percentuali variabili di macro e micropori e che il 40-60% di questa dovrebbe essere interessata dalla fase liquida e il restante 15-35% da quella gassosa (porosità libera o macroporosità). Altro requisito importante è che la struttura si mantenga stabile nel tempo e resista al compattamento e alla riduzione di volume in fase di disidratazione. Alcuni substrati di natura organica, come la torba, una volta essiccati, possono manifestare caratteristiche di idrofobicità con conseguente aumento del tempo necessario per la reidratazione.

La capacità di ritenzione idrica deve assicurare livelli di umidità del substrato costanti e ottimali per le colture, senza dover ricorrere ad irrigazioni troppo frequenti e non deve essere eccessiva per non incorrere in problemi di asfissia radicale. Nel caso delle colture in vaso, bisogna tener presente che

questo parametro varia con l'altezza del contenitore e tende ad aumentare man mano che si riduce lo spessore del substrato (in quanto si riduce l'acqua di percolazione). Per tale motivo, nei contenitori poco profondi, è necessario aumentare i componenti drenanti del substrato.

Se da un lato la pianta deve avere garantita la maggiore quantità possibile di acqua facilmente disponibile, dall'altro non può rinunciare anche ad un'adeguata aerazione dell'apparato radicale. La macroporosità deve garantire un adeguato apporto di ossigeno e permettere il rilascio di CO_2 formatasi nel corso della respirazione.

Il potere isolante è preferibile sia elevato al fine di ridurre le escursioni termiche. Questa proprietà è correlata alla capacità di ritenzione idrica ma può essere influenzata anche dal colore e dalla conducibilità termica del materiale. E' noto infatti che con l'aumento della temperatura le escursioni termiche di un substrato sono minori quanto maggiore è il suo contenuto d'acqua. Substrati organici inoltre si riscaldano meno di quelli sabbiosi poiché possiedono un più elevato calore specifico.

Il potere adsorbente del substrato dovrebbe essere basso, evidenziato da scarsa capacità di scambio cationico (CSC) nel caso in cui la fertirrigazione è continua, in caso contrario può essere più alto per evitare il dilavamento degli elementi nutritivi con gli apporti di acqua successivi garantendo anche una piccola riserva di nutrienti disponibili per le piante. In generale, i materiali di origine organica, al contrario di quelli minerali, presentano un'elevata CSC ed un alto potere tampone.

Il pH del substrato deve adeguarsi alle esigenze della specie coltivata per evitare squilibri dovuti all'insolubilizzazione di alcuni elementi. La maggior parte delle specie coltivate su substrato sia da fiore che da orto hanno esigenze di pH che coprono un intervallo piuttosto ristretto passando da valori subacidi alla neutralità.

La conducibilità elettrica (EC) è strettamente correlata con la pressione osmotica; essa dovrebbe essere relativamente bassa a testimonianza della scarsa presenza di sali solubili. Tale misura è indice non solo del contenuto degli elementi, ma anche della presenza di ioni che, pur non importanti sotto il profilo nutrizionale (ad esempio il sodio), possono rivestire un ruolo determinante nel valutare l'idoneità di impiego del substrato. L'eccesso di sali infatti provoca squilibri nutrizionali e tossicità di alcuni ioni, in particolare sodio, cloro e boro.

Per la maggior parte delle colture, la EC non dovrebbe superare $1,5\text{--}2,5 \text{ mS cm}^{-1}$, ma bisogna anche considerare che la tolleranza delle singole specie varia anche in relazione allo stadio di accrescimento della pianta.

1.4 IL COMPOST

Una possibile alternativa all'uso della torba nel florovivaismo, potrebbe essere rappresentata dall'uso di compost di qualità, almeno per una sostituzione parziale.

Il compost (dal latino “compositum”), è il risultato di un processo di bio-stabilizzazione aerobica (ossigeno-dipendente) di matrici fermentescibili di diversa provenienza dalla cui degradazione è possibile ottenere un prodotto finito stabile dal punto di vista fisico e microbiologico, di colore brunastro e con le caratteristiche di un ammendante (Vallini, 1995).

A livello legislativo, secondo quanto previsto dalla normativa nazionale sui Fertilizzanti (Decreto Legislativo 217/06), il compost viene definito e classificato in tre categorie:

Ammendante Compostato Verde (ACV)

Ammendante Compostato Misto (ACM)

Ammendante Torboso Compostato (ATC)

L'ammendante Compostato Verde è il prodotto che deriva dal trattamento di scarti della manutenzione del verde ornamentale, residui delle colture e altri rifiuti di origine vegetale. Gli ACV, presentando caratteristiche fisico-idrologiche apprezzabili ed una limitata salinità rispetto ad altri ammendanti, risultano essere di facile collocazione nel settore florovivaistico per la costituzione di substrati. In presenza di una elevata componente legnosa gli ACV svolgono essenzialmente la funzione di apportatori di sostanza organica umificata in grado di migliorare le proprietà fisico-strutturali e biologiche del terreno agrario in caso di siti poveri di sostanza organica e tendenti alla riduzione del potenziale biologico.

L'Ammendante Compostato Misto è un prodotto che deriva dalla frazione organica proveniente da raccolta differenziata, da rifiuti di origine animale compresi liquami zootecnici, da rifiuti di attività agroindustriale e da lavorazione del legno e del tessile non trattati, da reflui e fanghi, nonché dalle matrici previste per l'ACV.

L'Ammendante Torboso Composto è un prodotto ottenuto da una miscela di torba (minimo 50%) con ammendante compostato verde o misto.

Il potere tampone del compost e la sua capacità di scambio cationico, nettamente superiori a quelli della torba, conferiscono ai substrati che lo contengono una maggiore stabilità dei parametri chimici rispetto a substrati che ne siano privi, e una superiore potenzialità di immagazzinamento e graduale rilascio degli elementi nutritivi (Scagliarini, 2003).

Il principale attuale ostacolo da superare perché il compost possa essere utilizzato in larga scala come substrato è che possieda qualità stabili nel tempo, in grado di rispondere meglio alle esigenze del settore vivaistico. Il compost di qualità presenta caratteristiche chimico-fisiche-biologiche che

possono essere considerate complementari rispetto alle torbe, in particolare per quei parametri che in queste spesso appaiono deficitari (attività biologica, reazione, caratteristiche idrologiche, contenuto di elementi nutritivi). Il compost presenta inoltre una variabilità microbiologica, derivata dalla complessità delle popolazioni microbiche coinvolte nei processi di compostaggio, che talvolta determinano l'attivazione di meccanismi di repressione in grado di contrastare lo sviluppo di patogeni potenzialmente pericolosi per gli apparati radicali delle specie coltivate (Scagliarini, 2003). I risultati delle differenti attività sperimentali che recentemente sono state messe in atto indicano che, in generale, l'impiego ottimale del compost come componente dei substrati di coltivazione prevede una sua miscelazione con le torbe in proporzioni volumetriche variabili dal 25-30% e fino al 50%, percentuali da determinarsi in relazione a sue specifiche caratteristiche, in gran parte derivanti dalle matrici organiche di partenza da cui vengono ottenuti.

Le percentuali inferiori di sostituzione della torba sono spesso indicate per i materiali prodotti a partire dalla frazione umida dei rifiuti solidi urbani, spesso a causa della loro elevata salinità, mentre percentuali più elevate vengono indicate per i compost ottenuti solo da scarti verdi (Zorzi, 1997). Oltre alla giusta percentuale di compost nei substrati, è fondamentale che quest'ultimo venga utilizzato quando ha raggiunto il giusto grado di maturità. La maturità del compost coincide con l'assenza di fitotossicità residua, associata alle trasformazioni biochimiche ancora presenti in prodotti non maturi. Proprio l'assenza di un giusto grado di maturità appare essere il fattore che ha maggiormente condizionato l'applicazione specialistica di compost nel settore della costituzione dei terricci per il florovivaismo (Centemero, 2001).

La messa a punto di substrati alternativi a base di compost, da utilizzare nel florovivaismo, si coniuga ad un'altra improrogabile esigenza: ridurre la produzione di rifiuti ed incentivare forme di smaltimento eco-compatibili. Si fa sempre più strada una concezione dei rifiuti come materia da trasformare in beni utilizzabili.

L'impiego del compost può costituire, quindi, una valida arma per far fronte alle limitazioni di valenza ecologica e ambientale dettate dalla politica agricola comunitaria (PAC) e dal regolamento CE che prevedono uno sviluppo del settore agricolo all'insegna della sostenibilità e della salvaguardia ambientale.

1.5 IL PROCESSO DI COMPOSTAGGIO

In condizioni aerobiche ottimali, il processo di compostaggio si svolge attraverso tre stadi principali: fase mesofila, fase termofila e fase di maturazione.

Fase mesofila o di latenza (0-7 giorni): la matrice iniziale viene colonizzata dai microrganismi il cui metabolismo causa il progressivo riscaldamento del substrato (50°C). In questa fase, la

decomposizione del substrato è dovuta all'intervento di specie mesofile che utilizzano rapidamente i composti solubili (zuccheri) e facilmente degradabili (Chen e Inbar, 1993; Hoitink *et al.*, 1996).

Fase termofila o di stabilizzazione (7-27 giorni): in questa fase la temperatura raggiunge valori molto elevati anche superiori ai 70°C e si ha l'igienizzazione del substrato, infatti le specie patogene per l'uomo e per le piante e i semi delle infestanti vengono inattivate e le sostanze prontamente degradabili, come zuccheri, acidi grassi e proteine vengono rapidamente consumate (Hoitink *et al.*, 1996; De Bertoldi *et al.*, 1983).

Fase di maturazione (27-365 giorni): con il ridursi della disponibilità di composti ricchi di energia, la temperatura della matrice in trasformazione diminuisce (circa 50°C), consentendo alle popolazioni microbiche mesofile, responsabili dei processi di umificazione, di colonizzare il substrato (De Bertoldi *et al.*, 1983). Le sostanze più resistenti quali lignine, cellulose ed emicellulose sono soggette a degradazione da parte dei microrganismi termofili che invadono nuovamente il materiale di compostaggio, ed infine la microflora mesofila e microfauna colonizzano il compost. Da questa fase si ottiene un prodotto costituito da sostanza organica stabilizzata formata da composti ad alto peso molecolare.

Nella terza fase del processo di compostaggio prende forma una forte competizione tra i microrganismi per le sostanze nutritive rimaste e si può sviluppare una forte attività antagonista attraverso la produzione di antibiotici (Chen e Inbar, 1993).

La richiesta di ossigeno è molto elevata nella fase termofila per poi decrescere lentamente durante l'avanzamento del processo: esiste infatti una relazione tra consumo di ossigeno e attività microbica, consumo che risulta massimo a temperature tra i 39-55°C. La scarsa ossigenazione della massa può portare allo sviluppo di una microflora artefice di fermentazioni indesiderate, di accumulo di composti ridotti (acidi grassi volatili, idrogeno solforato, mercaptani) e rilascio di odori sgradevoli (Vallini, 1995). Per assicurare una buona ossigenazione la biomassa deve essere areata tramite rivoltamento o insufflazione d'aria. Fondamentali nel metabolismo microbico sono il carbonio e l'azoto, il primo usato come fonte energetica, l'altro per la sintesi del protoplasma. Un rapporto troppo alto tra carbonio e azoto ($C/N > 35$) limiterà lo sviluppo microbico, che procederà con l'ossidazione del carbonio in eccesso.

Con un rapporto C/N troppo basso, invece, sono favorite perdite di azoto sotto forma ammoniacale. Il rapporto ottimale è di 20-25 parti di carbonio su una di azoto (Vallini, 1995).

Durante il processo di compostaggio si verifica una perdita di azoto imputabile alla volatilizzazione sia di ammoniaca che di azoto elementare. La perdita di azoto, dovuta ai processi anaerobici di denitrificazione, può essere limitata attraverso l'aerazione della massa. Nelle ultime fasi del

processo si ha comunque un parziale recupero dell'azoto perduto grazie all'attività dei batteri azoto-fissatori liberi (Nuntagij, 1990).

Un giusto equilibrio tra la fase acquosa e la fase gassosa della biomassa consente, nel primo caso, di veicolare il trasporto degli elementi nutritivi e il movimento dei microrganismi e, nel secondo caso, di garantire una sufficiente ossigenazione. Il valore ottimale di umidità dovrebbe essere intorno al 45-65% e mai al di sotto del 40%. Il valore del pH, durante il processo, varia notevolmente a seconda della fase in cui ci troviamo: durante la prima fase, in cui si ha il rilascio di acidi organici, il pH tende a diminuire, per poi subito aumentare durante la fase termofila in cui la proteolisi ed il rilascio di ammoniaca provocano un innalzamento. Nelle fasi finali tende di nuovo ad abbassarsi ritornando a valori intorno alla neutralità.

La fase termofila del processo di compostaggio è, come già accennato, molto importante dal punto di vista sanitario e fitosanitario: tuttavia, temperature elevate per tempi prolungati, possono portare ad un rallentamento del processo di compostaggio, problema comunque controllabile attraverso una buona aerazione.

Durante la fase mesofila, invece, la sostanza organica si avvia verso la stabilizzazione che consiste prevalentemente in un arricchimento di composti umici. Tali composti, una volta applicati al terreno, andranno lentamente incontro a processi di mineralizzazione rilasciando nutrienti utili alla crescita delle piante.

1.6 MECCANISMI DI SOPPRESSIVITA' NEL COMPOST

Accanto alle variabili temperatura e umidità, altri fattori concorrono nei compost a sopprimere o controllare la carica fitopatogena. Tra questi la presenza di alte concentrazioni di metabolici tossici come acidi organici e ioni ammonio, e soprattutto l'azione antagonista, postulata da Hoitink e Boehm (1999) come la principale responsabile dell'azione soppressiva dei compost sugli organismi fitopatogeni.

Sono soppressivi i suoli in cui il patogeno non trova condizioni idonee al suo sviluppo, oppure, pur sviluppandosi determina danni contenuti (Tagliavento, 2010; Baker & Cook, 1974). Si possono quindi distinguere suoli soppressivi nei confronti del patogeno e suoli soppressivi nei confronti della malattia, in cui il patogeno è presente ma non è in grado di instaurare un processo patogenetico.

Si conoscono due tipologie di soppressività (Weller *et al.*, 2002):

- La *soppressività generale*. È imputabile all'attività ed alla biomassa microbica totale presente nel substrato; l'attività soppressiva è dovuta a diversi tipi di microrganismi e si esplica attraverso meccanismi di antibiosi, competizione, iperparassitismo e induzione della resistenza nella

pianta ospite. Ad esempio, i patogeni *Phythium* e *Phytophthora* spp. sono controllati attraverso il fenomeno della soppressività generale (Chen *et al.*, 1988b; Chen *et al.*, 1988a; Hardy & Sivasithamparam, 1991). In alcuni substrati l'attività e la biomassa microbica riconducibili alla microflora generale prevengono la germinazione delle spore del patogeno (Chen *et al.*, 1988b). Questo tipo di soppressività non è trasferibile fra diversi suoli.

- La *soppressività specifica*. È determinata da gruppi specifici di microrganismi, (Tagliavento, 2010; Hoitink *et al.*, 1991; Stone *et al.*, 2004), i quali esplicano un'azione soppressiva nei confronti del patogeno. Si basa su meccanismi specifici ed è trasferibile tra i suoli. Se suoli soppressivi vengono sottoposti a trattamenti fisici che ne riducono o eliminano la componente microbica, questi diventano conduttivi, cioè non ostacolano o addirittura favoriscono la malattia. La soppressività viene ripristinata se aliquote di suolo soppressivo vengono aggiunte a quello conduttivo. Alcuni fattori come l'attività enzimatica, l'attività microbica e alcuni parametri chimici (pH, conducibilità elettrica, carbonio umico ed estraibile) sono utilizzati come indici della soppressività del compost ed hanno un peso diverso anche in base a diversi patogeni (Pane *et al.*, 2011).

I meccanismi attraverso cui si esplica la soppressività nel compost sono diversi e complementari tra loro:

- aumento dell'attività degli organismi antagonisti (Hoitink & Boehm, 1999);
- incremento della competizione per gli elementi nutritivi a discapito dei patogeni (Lockwood, 1990);
- rilascio di composti fungitossici durante la decomposizione della sostanza organica (Tenuta & Lazarovits, 2002);
- induzione di una resistenza sistemica nelle piante ospiti (Zhang *et al.*, 1996).

Nel compost la soppressività biologica si esplica attraverso complesse interazioni tra il microrganismo antagonista, il patogeno e la pianta. L'attività di questi microrganismi "benefici" all'interno della comunità microbica e la loro risposta alle riserve energetiche disponibili nei compost sono alla base del controllo delle malattie (Hoitink & Boehm, 1999). Alcuni fattori influiscono fortemente sulle capacità soppressive del compost, tra cui: la composizione della materia prima utilizzata per la preparazione dell'ammendante, il suo grado di maturazione, le condizioni esterne che possono influenzare le dinamiche di ricolonizzazione del compost da parte dei microrganismi antagonisti e la disponibilità di elementi nutritivi.

La concentrazione e la disponibilità di nutrienti e fonti di carbonio (carboidrati, lignina, cellulosa, chitina e lipidi) giocano un ruolo fondamentale nella regolazione dell'attività degli antagonisti (Hoitink *et al.*, 1997). La comunità microbica residente nella sostanza organica, infatti, sopravvive

in condizioni di forte pressione competitiva per i materiali organici prontamente degradabili e per i nutrienti energetici nell'ambiente tellurico. Tipicamente, la competizione per i nutrienti, come zuccheri ed amminoacidi, inizia con la competizione per gli essudati radicali e dei semi in germinazione (Tagliavento, 2010; Hoitink & Boehm, 1999). La maggior parte dei patogeni vegetali sono deboli saprofiti, quindi, scarsi competitori per i nutrienti nei sistemi organici. Questa lotta per le sostanze energetiche termina con la repressione della germinazione e dello sviluppo miceliare del patogeno (microbiostasi) (Lockwood, 1990).

CAPITOLO II

PARTE SPERIMENTALE

2.1 SCOPO DELLA RICERCA

L'obiettivo della ricerca è stato quello di sviluppare una filiera produttiva sostenibile di piante in vaso ottenute attraverso un ciclo aziendale chiuso che ha previsto la produzione e l'impiego di compost verde proveniente da scarti di lavorazioni aziendali. La strategia proposta può permettere di aiutare a risolvere alcune criticità tipiche delle aziende vivaistiche, in particolare quelle di piccola e media dimensione, legate sia alla necessità di limitare i costi di produzione derivanti dall'impiego di torbe che alle difficoltà di smaltire rifiuti agricoli o speciali prodotti dai residui colturali e da reflui provenienti da concimi chimici e di fitofarmaci.

L'attività sperimentale è stata svolta nel periodo 2010-2012 presso l'Azienda vivaistica "Orticola Pistoiese" di Vasco Michelini, di Viterbo.

2.2 MATERIALI E METODI

Le attività previste dal piano sperimentale sono state articolate in fasi successive.

2.2.1 Identificazione delle matrici compostabili, loro condizionamento e determinazione delle principali caratteristiche chimiche del compost.

Considerando la specifica attività produttiva del vivaio sono state preparate due diverse tipologie di residui vegetali da avviare al compostaggio: una formata da soli derivati di conifere, in prevalenza pino domestico (*Pinus pinea*), denominata tipologia A, l'altra formata da un miscuglio di 80% di latifoglie in prevalenza platano e tiglio (*Platanus spp.* e *Tilia spp.*), 10% di conifere e 10% di sfalci di tappeti erbosi, denominata tipologia B. In entrambi i casi il materiale vegetale, prima di essere avviato alla fase di compostaggio, è stato preventivamente triturato attraverso l'utilizzo di una cippatrice (Figura 1) ed è stato poi posizionato su di una platea in cemento coperta (Figure 2 e 3).



Fig. 1: cippatrice



Fig. 2 e 3: platea e cumulo di matrici in fase di compostaggio

E' stato effettuato settimanalmente il monitoraggio della temperatura rilevata, in quattro punti diversi, all'interno dei cumuli mediante una sonda portatile HI 9060 (Hanna instruments, Ronchi di Villafranca, Padova, Italy). Inoltre al termine del processo sono state effettuate in entrambe le tipologie di residui compostati analisi per la determinazione dei principali parametri chimici. Il campionamento è stato effettuato prelevando 10 campioni elementari di 0,2 l ciascuno, che sono stati riuniti in un campione composito costituente il campione finale. Sui campioni così prelevati, dopo una setacciatura con vaglio di 2 cm per eliminare le frazioni più grossolane, sono state eseguite le seguenti analisi:

- determinazione del pH, tecnica analitica pH-metria, riferimento metodo ufficiale n.III.1 S.O. G.U. 248 21.10.99 (modificato);
- determinazione della conducibilità elettrica, tecnica analitica conduttimetria, riferimento metodo ufficiale n.IV.1 S.O. G.U. 248 21.10.99 (modificato);
- azoto totale, tecnica analitica N-analyzer, riferimento metodo ufficiale n.VII.1 S.O. G.U. 248 21.10.99 (standard di calibrazione parzialmente modificato con l'utilizzo di EDTA);
- carbonio organico, tecnica analitica C-analyzer, riferimento metodo ufficiale n.VII.1 S.O. G.U. 248 21.10.99 (modificato);
- rapporto C/N, calcolo.

Le analisi sono state eseguite presso un laboratorio accreditato.

2.2.2 Rilievi microbiologici

a) Determinazione della composizione della comunità microbica durante il processo di compostaggio: campionamento, isolamento ed identificazione morfologica.

I campioni per le analisi della microflora sono stati prelevati in quattro diversi punti al centro del cumulo in entrambe le tipologie in compostaggio. Il monitoraggio è stato fatto con tecniche di isolamento convenzionali. Allo scopo il compost è stato sottoposto a diluizioni seriali e piastrato su terreno agarizzato. Da ciascun campione di compost di circa 4 Kg sono stati prelevati 10 g e sono stati aggiunti a 90 ml di acqua deionizzata sterile. I campioni sono stati agitati per 1 ora. Dopo filtrazione, il tal quale è stato piastrato in piastre Petri contenenti diversi terreni agarizzati selettivi e non; i substrati di crescita usati sono stati: i) Potato Dextrose Agar (Oxoid) addizionato dell'antibiotico streptomicina solfato (Applichem), ii) Peptone PCNB Agar (PPA/Nash-Snyder medium) selettivo per *Fusarium spp.* e un terreno selettivo per i *Trichoderma* (PDA + Rose Bengala, Chloranphenicolo, Streptomicina-S.). Un'aliquota di 1 ml è stata diluita in tubi contenenti 9 ml di acqua sterile, agitata e piastrata 0,5 ml in S-PDA. Il campione è stato quindi sottoposto ad ulteriori diluizioni seriali. Le piastre così inoculate sono state incubate al buio a 25°C per 5 giorni. Dopo l'incubazione sono state contate le colonie fungine sviluppatesi in base alle diverse diluizioni seriali e calcolate le Unità Formanti Colonia (UFC) per grammo. I microrganismi fungini isolati sono stati messi in purezza e caratterizzati attraverso tecniche morfologiche. E' stata inoltre monitorata la comunità batterica presente durante il processo di compostaggio. I batteri sono stati isolati attraverso la tecnica delle diluizioni seriali precedentemente descritta, e successivo piastramento su terreno selettivo Plate Count Agar-PCA (triptone 5 g, glucosio 2,5 g, estratto di lievito 1 g, cycloexamide 100 mg) e incubati a 25°C per l'isolamento dei batteri totali e a 70°C per l'isolamento dei batteri sporigeni.

b) Identificazione di specie e di ceppi di Trichoderma spp. ed analisi “in vitro” della loro attività antagonista nei confronti di patogeni tellurici

Successive prove di crescita sono state condotte per l'identificazione di eventuali differenti specie del genere *Trichoderma* sulla base di caratteristiche morfologiche e fenotipiche. L'identificazione morfologica è stata eseguita attraverso l'analisi delle forme agamiche prodotte; i funghi antagonisti sono stati allevati su PDA e CMD (Corn Meal Agar+2% destrosio) per 7 gg a 25°C e fotoperiodo di 12 ore di buio e 12 ore di luce fredda fluorescente bianca. Le spore agamiche prodotte sono state quindi sottoposte ad analisi microscopica per caratteri quali forma e dimensioni dei conidi e dei conidiofori e per le estensioni terminali delle ife. Tutte le caratteristiche micro-morfologiche sono state rilevate su colonie di una settimana cresciute su CMD.

Tra le specie isolate è stata successivamente determinata la presenza di eventuali differenti ceppi da utilizzare in prove di antagonismo nei confronti di cinque specie telluriche notoriamente patogene per le piante in prova, in particolare: *Rhizoctonia solani* (R6), *Sclerotinia sclerotiorum* (S10),

Phytophthora nicotianae (P28) e *Phytophthora cinnamomi* (P17) I saggi di antagonismo sono stati eseguiti secondo tre diverse metodologie: prove duali, metaboliti volatili e metaboliti non volatili.

b. 1) Prove duali

Per ogni coppia di microrganismi da saggiare (antagonista/patogeno) sono state allestite cinque piastre Petri contenenti ciascuna 20 ml di PDA. In ciascuna piastra così preparata sono stati collocati due dischetti di agar di 5 mm di diametro, posti equidistanti dal bordo della piastra e tra loro, colonizzati, rispettivamente, dal micelio dell'antagonista da saggiare e del patogeno. Tali dischetti sono stati prelevati dal margine di piastre madri di 4 giorni di età. Nel testimone il micelio del patogeno è stato confrontato con agar sterile; le piastre così ottenute sono state incubate in termostato a 25°C ed in assenza di luce. Per il metodo degli accrescimenti, dopo 24 ore dall'inoculazione è stato misurato l'accrescimento radiale del patogeno verso l'antagonista (Edington *et al.*, 1971 e Morton, Stroube, 1975). I rilievi sono continuati fino a quando le colonie del testimone raggiungevano il margine della piastra. L'inibizione percentuale dell'accrescimento (I) è stata calcolata applicando la seguente formula:

$$I = \frac{R1-R2}{R1} \times 100$$

dove R1 è la crescita del patogeno senza l'antagonista e R2 è la crescita del patogeno in presenza dell'antagonista.

b. 2) Metaboliti volatili

Al fine di selezionare ceppi di *Trichoderma* in grado di produrre composti organici volatili biologicamente attivi, è stato utilizzato il metodo descritto da Dennis e Webster nel 1971 in parte modificato. Piastre Petri (Ø 9cm) contenenti PDA sono state inoculate al centro con dischetti di 5 mm di diametro di micelio di ciascuno degli isolati di *Trichoderma* identificati e ciascuno dei patogeni, prelevati da colture in attiva crescita ed incubate al buio alla temperatura di 25°C. Dopo aver tolto i coperchi, le piastre dei patogeni sono state capovolte e posizionate sulle piastre di *Trichoderma*. Le piastre sono state bloccate con nastro adesivo al fine di evitare la fuoriuscita dei composti volatili eventualmente prodotti dagli antagonisti. Come controllo ciascun patogeno è stato sovrapposto a se stesso. Le piastre sono state poste al buio alla temperatura di 25°C. Sono state fatte 4 repliche per ciascuna tesi. Giornalmente sono stati misurati i diametri di accrescimento delle colonie per valutare l'inibizione della crescita dei patogeni, dovuta alla presenza dei tricotermi.

b. 3) Metaboliti non volatili

L'antibiosi è stata studiata relativamente ai metaboliti non volatili rilasciati nel terreno di coltura da parte degli antagonisti. Tale metodologia prevede l'utilizzo dei filtrati culturali degli antagonisti. Le colture liquide dei tricotermi, allestite su PDB (Potato Dextrose Broth), sono state poste a crescere a 25°C su agitatore orbitale, quindi il terreno di coltura è stato centrifugato per 20 minuti a 10.000 rpm ed infine il surnatante è stato prelevato e sterilizzato con filtri monouso da 0,22 µm. Il filtrato culturale così ottenuto è stato aggiunto al PDA e versato in piastre Petri da 9 mm. Al centro di ogni piastra è stato depositato il patogeno (dischetto di 5 mm di diametro ottenuto da piastre in accrescimento). Le piastre di controllo erano costituite da ciascun patogeno inoculato su piastre di PDA addizionate con filtrato PDB nel quale non erano stati inoculati i funghi antagonisti (Bridge, 1985). I rilievi sono stati fatti misurando il diametro della colonia fungina, con cadenza giornaliera. I dati ottenuti sono stati analizzati mediante analisi della varianza (ANOVA).

2.2.3 Prove di coltivazione

Terminata la fase di maturazione del compost è stata impostata una prova di coltivazione in vaso di due specie: Lavanda (*Lavandula angustifolia*) ed Olivo (*Olea europea*). Le due specie in esame sono state scelte principalmente in base alle esigenze richieste dal vivaio, in quanto specie di rilievo all'interno del ciclo produttivo aziendale, ma anche per la durata del loro ciclo culturale, rispettivamente annuale e biennale, in modo da ottenere risultati nel breve (Lavanda) e nel lungo termine (Olivo).

a) Scelta dei substrati ed analisi chimiche preliminari

L'obiettivo è stato quello di valutare differenti substrati di coltivazione ottenuti mediante l'impiego della tipologia B (latifoglie e conifere) di compost ACV le cui matrici compostabili sono disponibili con maggiore regolarità e quindi più funzionali alle esigenze produttive dell'azienda. In base a quanto premesso, lo schema sperimentale per la prova di coltivazione ha previsto cinque tesi suddivise in quattro ripetizioni a blocchi randomizzati.

Tesi A: miscuglio standard aziendale 60% di torba e 40% di pomice; concimazione con Osmocote al 100% (2,5 Kg m⁻³).

Tesi B: 25% di compost in sostituzione della torba (equivalente al 15% sul miscuglio totale), 40% di pomice; concimazione con Osmocote al 100%.

Tesi C: 50% di compost in sostituzione della torba (equivalente al 30% sul miscuglio totale), 40% di pomice; concimazione con Osmocote al 100%.

Tesi D: **50%** di compost in sostituzione della torba (equivalente al 30% sul miscuglio totale), 40% di pomice; concimazione con Osmocote al 50%.

Tesi compost: **100%** compost, 40% pomice.

La scelta di mantenere nei substrati una percentuale piuttosto elevata di pomice, trova la sua giustificazione nella necessità di avere un materiale drenante che limiti gli eventuali problemi di asfissia radicale dovuti all'eccessiva ritenzione idrica indotta da alte percentuali di compost. L'aggiunta di concime completo a lento rilascio Osmocote Yara Italia (NPK 12, 12, 17 con MgO, SO₃ e Zn), con durata 5-6 mesi, è prevista nella composizione del substrato aziendale con l'obiettivo di mantenere un adeguato livello nutrizionale nel corso della stagione vegetativa delle piante.

I diversi substrati utilizzati nelle cinque tesi sperimentali sono stati sottoposti ad analisi di laboratorio al fine di determinare i principali parametri chimici all'inizio della coltivazione: pH, conducibilità elettrica, azoto totale, carbonio organico, rapporto C/N, secondo le metodologie utilizzate per l'analisi del compost. Inoltre sono stati determinati i contenuti di piombo e rame, secondo il metodo ICP/MS. In aggiunta è stata condotta nei diversi substrati in prova la misurazione dell'azoto potenzialmente mineralizzabile, utilizzando il metodo di Stanford & Smith (1972) parzialmente modificato da Benedetti (1983). Il metodo si basa sull'incubazione di imbuti Buchner (figura 4) corredati di filtro in fibra di vetro, contenenti 90 g di campione dei diversi substrati in condizioni di temperatura e umidità controllati e costanti. Prima di mettere ad incubare i campioni, questi sono stati portati a capacità di campo (pF 2,5 corrispondente ad una tensione di -33,3 KPa).



Figura 4: *imbuti Buchner*

L'incubazione ha avuto una durata complessiva di 30 settimane, durante le quali ad intervalli di tempo prestabiliti (1 giorno, 2-4-8-12-16-30 settimane), l'azoto minerale prodotto dalla mineralizzazione è stato dilavato utilizzando una soluzione di CaSO₄ 0,01M. Per tutta la durata della prova il peso degli imbuti è stato tenuto costante utilizzando acqua. Il dilavamento è stato effettuato

utilizzando 180 ml di CaSO_4 e ripetuto 2 volte riutilizzando ogni volta la soluzione ottenuta. Il dilavamento comporta l'allontanamento non solo dell'azoto ma anche degli altri elementi nutritivi, i quali vengono reintegrati utilizzando una soluzione nutritiva priva di azoto contenente CaSO_4 0,002 M, MgSO_4 0,002 M, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 0,005 M, K_2SO_4 0,025 M. Tale soluzione è stata aggiunta alla fine del dilavamento in ragione di 20 ml. La soluzione ottenuta dal dilavamento è stata analizzata per il contenuto di azoto nitrico e ammoniacale, utilizzando le metodologie di seguito descritte.

a. 1) Determinazione dell'azoto nitrico

La determinazione dell'azoto nitrico è stata effettuata secondo il metodo colorimetrico riportato da Cataldo *et al.*(1975). Dalla soluzione ottenuta dal dilavamento si è prelevata una aliquota di 0,5 ml per ogni campione. Si è aggiunto successivamente 1 ml di acido salicilico al 5% sciolto in H_2SO_4 concentrato, agitato per 10 secondi e dopo 30 minuti sono stati aggiunti 10 ml di NaOH 4M. La lettura dell'assorbanza è stata effettuata dopo un'ora a 410 nm. La retta di taratura è stata determinata utilizzando concentrazioni crescenti (0 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 ml) di una soluzione standard di KNO_3 , $50 \mu\text{g N-NO}_3 \text{ ml}^{-1}$, diluite con CaSO_4 fino a 50 ml.

Calcoli:

$$\mu\text{g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} = (\text{C} \cdot \text{V}) / \text{W}$$

Dove:

C: concentrazione corretta della soluzione ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

V: volume di estraente (ml)

W: peso del campione (g)

a. 2) Determinazione dell'azoto ammoniacale

La determinazione dell'azoto ammoniacale è stata effettuata secondo il metodo riportato da Anderson J. M. & Ingram J. S. I. (1989). Dalla soluzione ottenuta dal dilavamento si è prelevata un'aliquota di 1 ml per ogni campione. Si è aggiunto 5 ml del reagente 1 (34 g di salicilato di sodio, 25 g di citrato di sodio, 25 g di tartarato di sodio e 0,12 g di nitroprusside di sodio), si è agitato e dopo 15 minuti si è aggiunto 5 ml di reagente 2 (30 g di idrossido di sodio, 10 ml di ipoclorito di sodio). La lettura dell'assorbanza è stata effettuata dopo un'ora a 655 nm. La retta di taratura è stata determinata utilizzando concentrazioni crescenti (0 - 0,25 - 0,50 - 1,00 - 1,50 - 2,00 - 2,50 ml) di una soluzione standard di ammonio solfato, $10 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ ml}^{-1}$, diluite con CaSO_4 fino a 10 ml.

Calcoli:

$$\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} = (\text{C} \cdot \text{V}) \text{ W}^{-1}$$

Dove:

C: concentrazione corretta della soluzione ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

V: volume di estraente (ml)

W: peso del campione (g)

b) Prove su Lavanda

I rilievi sono stati condotti in due diverse annate (2011 e 2012). Per ogni tesi sono state trapiantate in vasi da 3 litri 60 piante di lavanda, suddivise in quattro ripetizioni a blocchi randomizzati, sistemate in vivaio in una serra aperta nei mesi estivi, dotata di impianto di irrigazione per aspersione. La prova è iniziata in entrambe le annualità nel mese di giugno e condotta secondo la tecnica colturale adottata in uso nell'azienda vivaistica. Sono stati eseguiti i seguenti rilievi:

- determinazione incrementi in altezza della pianta;
- determinazione volume della pianta, calcolato usando la formula del volume del cilindro $V = r^2 \pi h$ (Bielenin, Joustra, 2000);
- numero di infiorescenze totali prodotte, tempi di emissione e dimensioni finali degli steli fiorali;
- peso fresco e secco della parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo. Le pesate sono state effettuate mediante bilancia dopo essiccamento dei campioni in stufa a 80°C per 72 ore.
-

c) Prove su Olivo

Per ogni tesi sono state invasate 60 piante di olivo della stessa cultivar (Frantoio) in vasi da 2 litri suddivisi in quattro ripetizioni a blocchi randomizzati, sistemati in vivaio in una serra aperta nei mesi estivi, dotata di impianto di irrigazione per aspersione. La prova è iniziata nel mese di giugno 2011 e condotta secondo la tecnica colturale adottata in uso nell'azienda vivaistica. Sono stati eseguiti i seguenti rilievi:

- determinazione incrementi in altezza del fusto;
- determinazione incrementi del diametro al colletto;
- peso fresco e secco della parte epigea (foglie e fusto) e della parte ipogea a fine ciclo;
- area fogliare (LAI);
- biomassa fogliare.

I dati ottenuti sono stati analizzati mediante analisi della varianza (ANOVA).

CAPITOLO III

RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Caratteristiche chimiche del compost usato nelle prove

In tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche chimiche al termine del ciclo di compostaggio della biomassa tipologia B (latifoglie e conifere) di compost ACV utilizzato per le prove di coltivazione.

Tab. 1: *principali caratteristiche chimiche della biomassa al termine del ciclo di compostaggio.*

Parametro rilevato		Unità Misura	Valore
Reazione		pH	6,11
Conducibilità elettrica		mS/cm	1,44
Carbonio organico	C	%	29,4
Azoto totale	N	%	0,88
Rapporto C/N		-	33,4

Le caratteristiche del compost ottenuto sono sostanzialmente in linea con le caratteristiche che si riscontrano nei compost originati da analoghe matrici di scarto. I valori di pH rimangono nei limiti normativi. La buona presenza di sostanza organica indica, potenzialmente, anche buone proprietà ammendanti. Al termine del processo di trasformazione il discreto contenuto di azoto totale, anche se a fronte di un rapporto C/N piuttosto elevato, suggeriscono che siamo in presenza di un compost con una buona capacità fitonutritiva. Ulteriore nota positiva per l'impiego nell'attività vivaistica è il valore della conducibilità elettrica specifica che non risulta limitante per la coltivazione di piante in vaso.

3.2 Risultati dei rilievi microbiologici

La temperatura è stato il parametro che ha condizionato l'intensità del processo di compostaggio, fornendo indicazioni sull'andamento della comunità microbica presente nel materiale organico. Nelle prove eseguite, durante la prima fase termofila del processo, si è evidenziato il significativo innalzamento della temperatura della biomassa che è conciso con l'incremento delle Unità Formanti Colonie (UFC) fungine totali monitorate (figura 5). Lo sviluppo di queste colonie è stato condizionato dal processo di gestione tecnologica delle biomasse, che ha previsto il periodico ricorso ad operazioni di aerazione attraverso rivoltamento e ripristino delle condizioni ottimali di umidità attraverso bagnature, che hanno condizionato determinato la dinamica di crescita della

popolazione fungina. La fase termofila è stata caratterizzata da temperature massime di 53°C e si è protratta fino alla diciannovesima settimana. Successivamente si è avuta una progressiva riduzione della temperatura media (30°C) della biomassa e l'instaurarsi della fase mesofila che è coincisa con l'attenuarsi della proliferazione della microflora fungina. La regolarizzazione della temperatura all'interno del cumulo e la contemporanea stabilizzazione della popolazione fungina presente, sono stati indici di maturazione della biomassa.

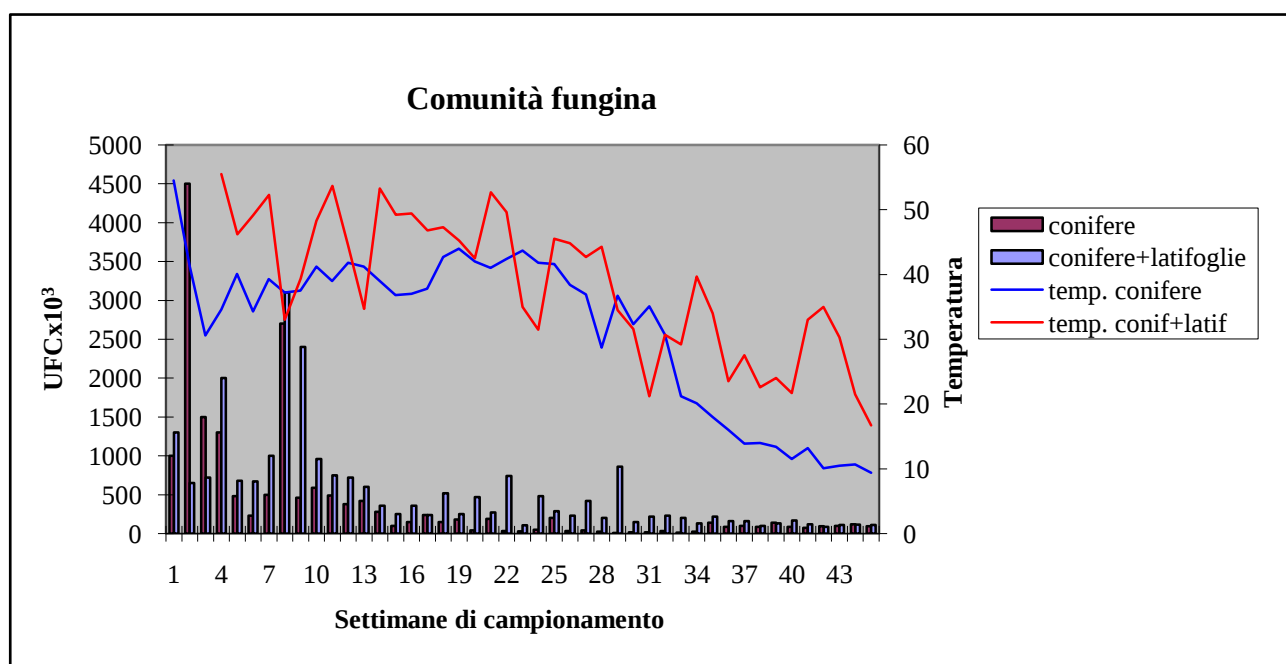


Fig. 5: Unità Formanti Colonie (UFC) fungine totali monitorate durante il processo di compostaggio

Il monitoraggio della microflora ha messo in evidenza un gran numero di specie fungine che partecipano attivamente al processo di degradazione della sostanza organica. L'identificazione morfologica attuata su terreni selettivi e non ha permesso di caratterizzare le specie fungine più rappresentative che sono risultate appartenenti ai generi *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. e *Rhizopus* spp. Durante il processo di compostaggio non sono state identificate specie fungine appartenenti a generi patogeni sia per le piante che per l'uomo. Di conseguenza sotto il profilo sanitario il compost ottenuto è stato ritenuto idoneo per la coltivazione delle piante.

Di particolare interesse è stata la determinazione nel compost di *Trichoderma* spp., che notoriamente include specie con provata capacità antagonista nei confronti di alcuni patogeni tellurici (Torresi 2011). Le specie appartenenti al genere *Trichoderma* sono funghi ubiquitari, presenti soprattutto su materiale vegetale in decomposizione (Kubicek *et al*, 2008; Jaklitsch, 2009)

così come nella rizosfera, dove instaurano rapporti simbiotici con le piante ospiti (Harman, 2000). Sono funghi versatili in grado di svilupparsi negli ambienti più diversificati. I loro meccanismi ecologici di competizione includono la produzione di sostanze antibiotiche, enzimi litici, e micoparassitismo, tanto che molti isolati sono stati utilizzati direttamente come bio-agenti nella prevenzione delle malattie fungine delle piante (Spiegel & Chet, 1998; Vinale *et al.*, 2006; Navazio *et al.*, 2007; Vinale *et al.*, 2009). L'attività antagonistica è polivalente ed integrata e riguarda la produzione di enzimi litici (Kubicek *et al.*, 2001; Viterbo *et al.*, 2002), enzimi proteolitici (Kredics *et al.*, 2003; Suarez *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2009), pompe trasportatrici di membrana ABC (Ruocco *et al.*, 2009), metaboliti con attività antibiotica diffusibili o volatili (Calistru *et al.*, 1997; Eziashi *et al.*, 2006.), ed altri metaboliti secondari (Grinyer *et al.*, 2005; Reino *et al.*, 2008; Tseng *et al.*, 2008). Ad oggi, le specie più interessanti sono *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. asperellum* (Benitez *et al.*, 2004), mentre *T. reesei*, rappresenta una specie modello nel campo delle biotecnologie (Seidl *et al.*, 2006). *Trichoderma* spp. sono in grado di controllare ascomiceti, basidiomiceti, oomiceti (Monte, 2001; Benitez *et al.*, 2004) e nematodi. (Dababat *et al.*, 2006; Kyalo *et al.*, 2007; Goswami *et al.*, 2008).

I risultati ottenuti indicano come nel compost derivato dagli scarti verdi dell'azienda vivaistica, alberghino specie di *Trichoderma* di assoluto interesse. In particolare le specie isolate sono state *Trichoderma atroviride* e *Trichoderma harzianum*. All'interno di ciascuna di queste due specie sono stati identificati alcuni ceppi, in particolare: i ceppi denominati ltc4 ctc6 per la specie *T. atroviride*, i ceppi ltc3 e ctc4 per *T. harzianum* (Figura 6). Questi ceppi hanno tutti evidenziato, nelle diverse prove di antagonismo effettuate, una significativa capacità antagonista nei confronti di alcuni dei microrganismi patogeni scelti. I risultati ottenuti dalle prove duali mostrano che gli isolati di *Trichoderma* sono in grado di inibire la crescita del micelio dei patogeni con diversa efficienza. Gli isolati di *T. harzianum* e di *T. atroviride* hanno mostrato una spiccata attività antagonista nei confronti di *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, anche se con differenze statisticamente significative tra gli isolati di *Trichoderma*. Tale attività è risultata meno marcata nei confronti degli oomiceti *Phytophthora cinnamomi* e *Phytophthora nicotianae* (Figura 7 e 8).

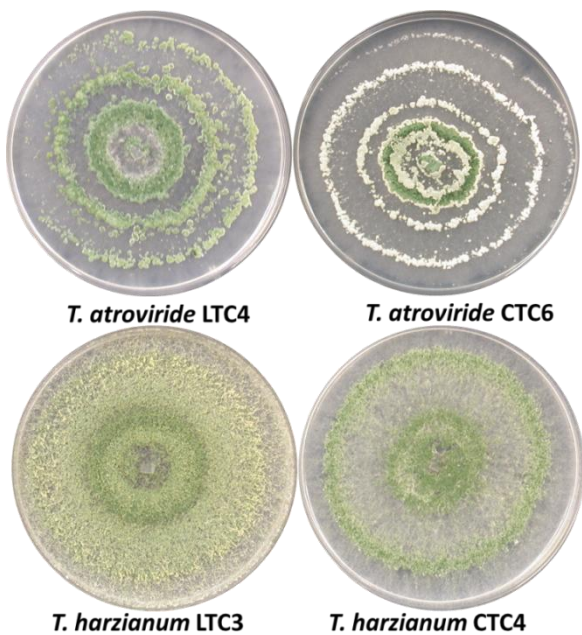


Fig. 6: ceppi di *Trichoderma atroviride* e *Trichoderma harzianum*.

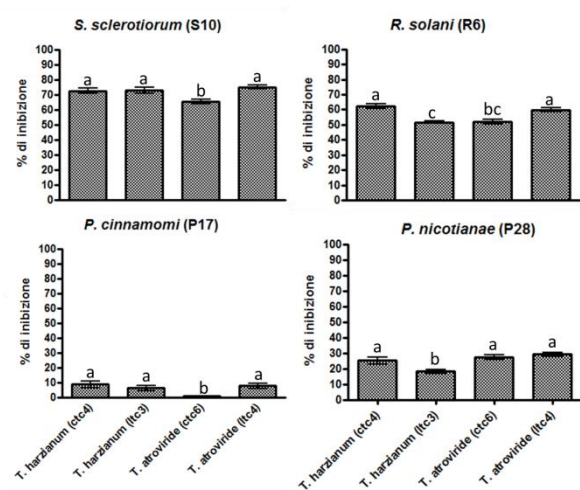
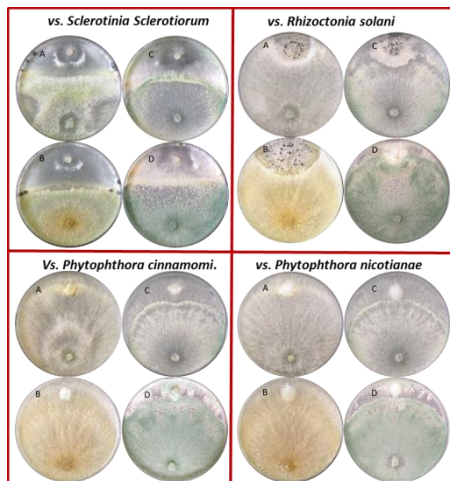


Fig. 7 e 8: attività antagonista di tricotermi (colture duali) nei confronti di *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi* e *Phytophthora nicotianae*. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

I risultati ottenuti dalle prove basate sul rilascio di composti volatili hanno mostrato una significativa inibizione da parte degli isolati di *T. atroviride* nei confronti di *S. sclerotiorum*. *R. solani* è stato inibito in modo maggiore da *T. harzianum* ltc3 ed in misura minore dagli isolati di *T. atroviride*. L'inibizione è risultata pressoché nulla nel caso di *P. cinnamomi*. I composti volatili prodotti dagli isolati di *Trichoderma* hanno inibito quasi al 50% lo sviluppo di *P. nicotianae*, se si eccettua *T. harzianum* ltc3, risultato inefficace (figure 9 e 10).

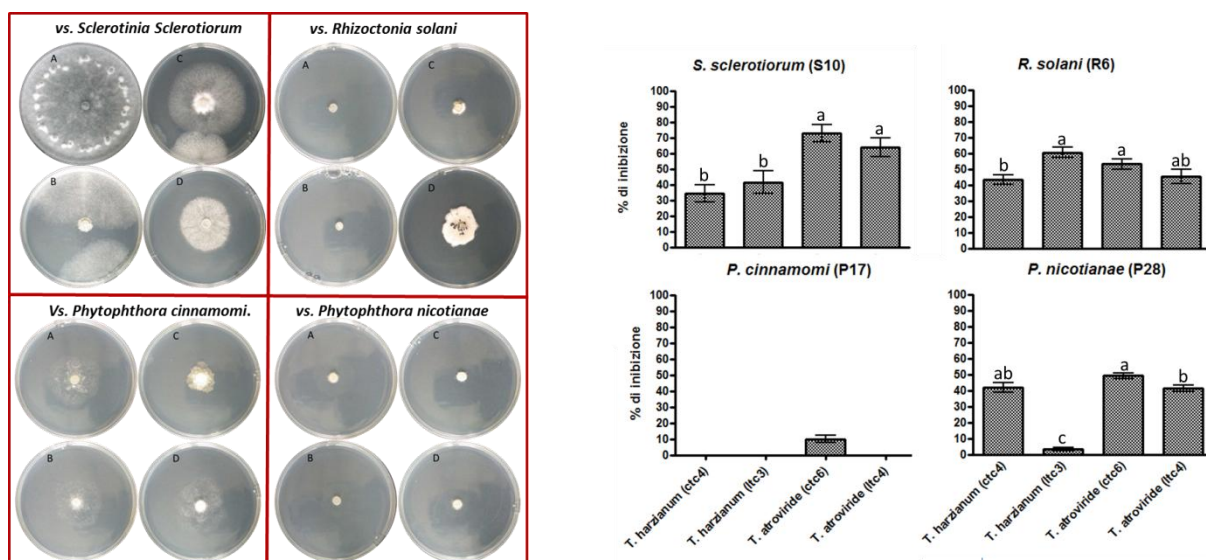


Fig.9 e 10:attività antagonista di tricodermi (metaboliti volatili) nei confronti di *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi* e *Phytophthora nicotianae*. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

I composti non volatili (diffusibili) prodotti dagli isolati di *T. harzianum* ctc4 e ltc3 hanno inibito in modo significativo lo sviluppo di *S. sclerotiorum*, mentre l'inibizione nei confronti di *R. solani* è risultata significativamente maggiore da parte del solo ctc4. Al contrario, gli isolati di *T. harzianum* hanno mostrato complessivamente una minore capacità antagonista nei confronti degli oomiceti *P. cinnamomi* P17 e *P. nicotianae* P28 rispetto a quella osservata per *S. sclerotiorum* e *R. solani*. In modo complementare, i composti non volatili prodotti da *T. atroviride* hanno mostrato un'attività antagonista significativamente maggiore nei confronti di *P. cinnamomi* P17, e, nel caso del solo *T. atroviride* ltc4 nei confronti di *P. nicotianae* P28 (figure 11 e 12).

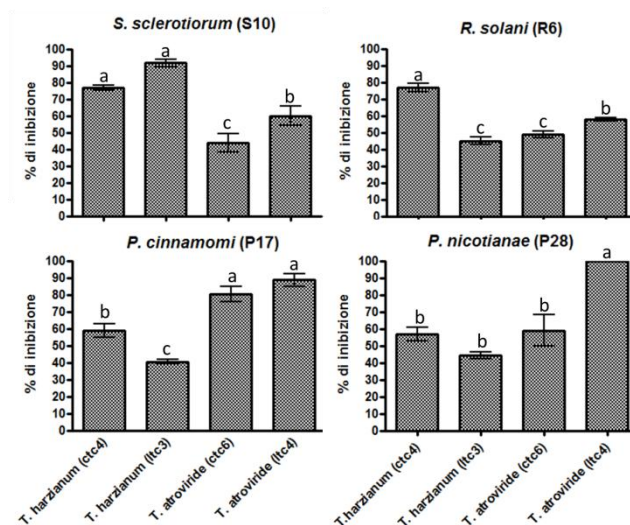
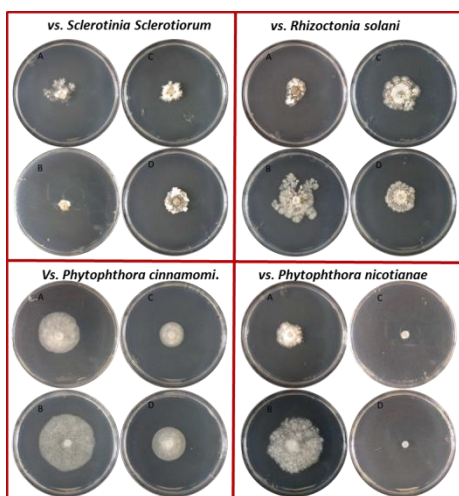


Fig.11 e 12: attività antagonista di tricotermi (metaboliti non-volatili) nei confronti di *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi* e *Phytophthora nicotianae*. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

In figura 13 è riportato l'andamento della comunità batterica totale presente durante il processo di compostaggio, mentre in figura 14 è riportato l'andamento della comunità batterica sporigena.

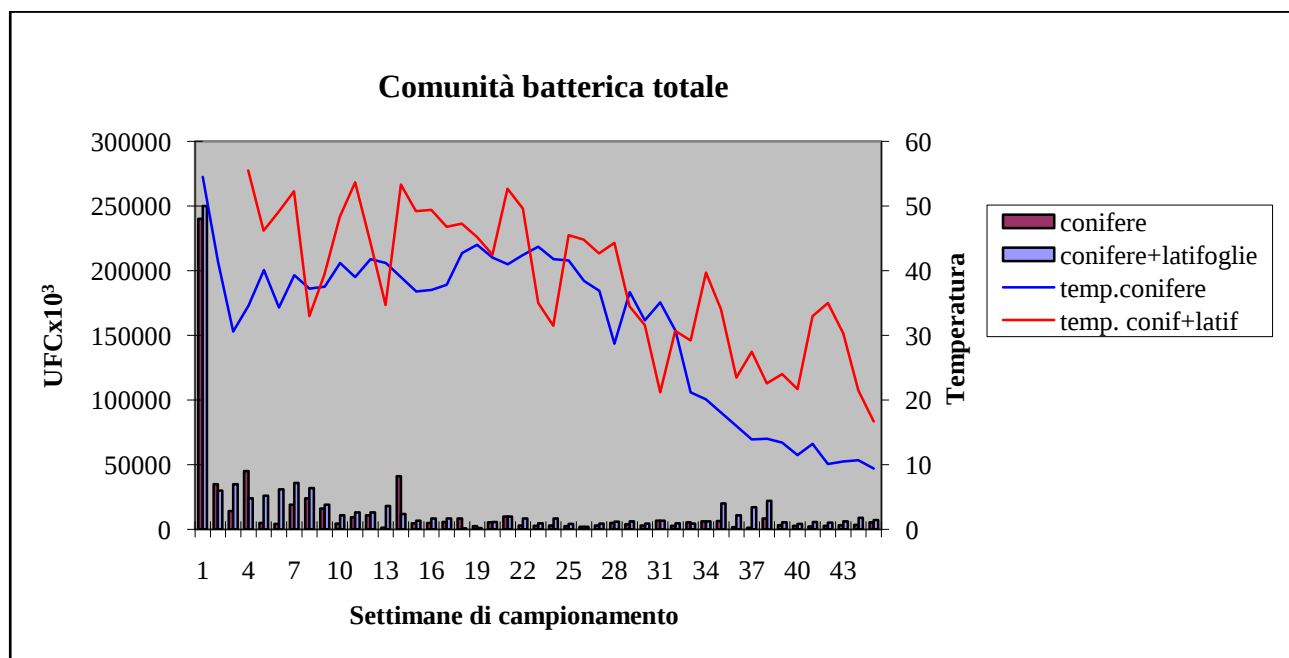


Fig.13: Unità Formanti Colonie (UFC) di batteri totali monitorate durante il processo di compostaggio

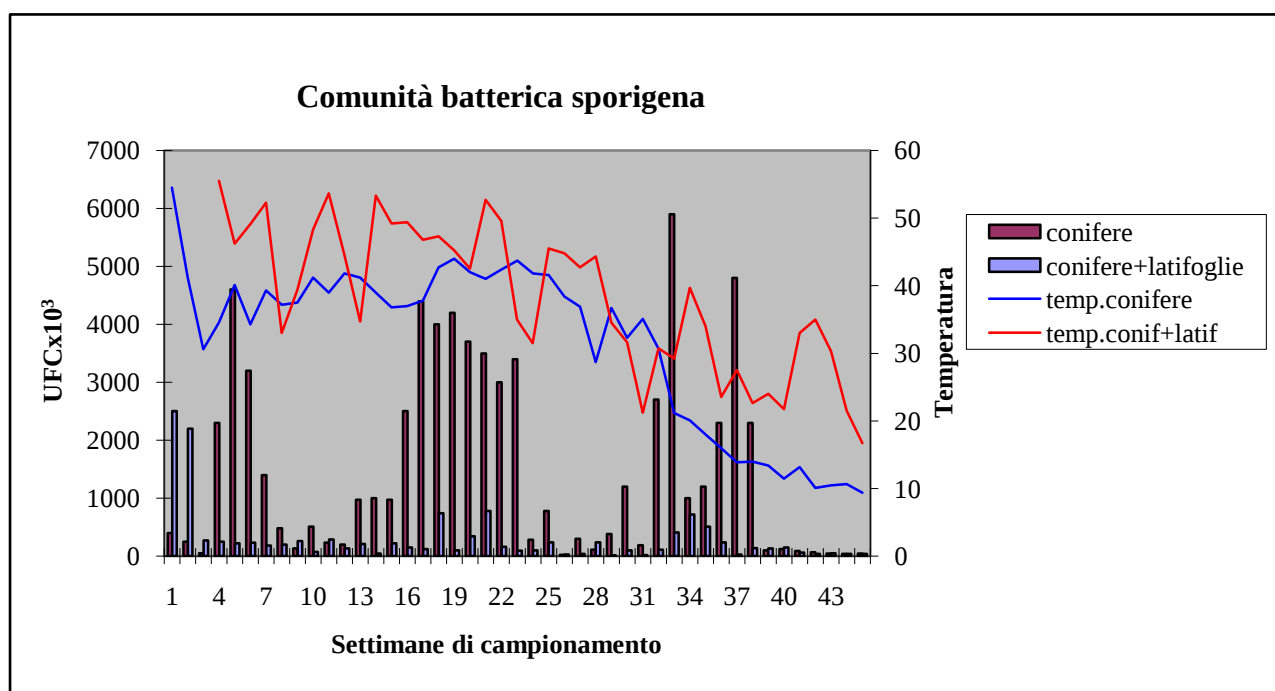


Fig. 14: Unità Formanti Colonie (UFC) di batteri sporigeni monitorate durante il processo di compostaggio

Nel compost, la dinamica della popolazione batterica non sporigena, è aumentata durante i primi stadi della fase termofila per poi declinare nelle fasi successive, quando la temperatura si è innalzata limitando lo sviluppo di queste specie; mentre la popolazione batterica sporigena è riuscita a sopravvivere anche ad elevate temperature per un tempo prolungato, grazie all'intrinseca capacità di queste specie batteriche di formare spore resistenti a quelle condizioni ambientali, per poi diminuire durante la fase di stabilizzazione e maturazione.

3.3 Risultati delle prove di coltivazione

a) Caratteristiche chimiche dei substrati impiegati nelle prove

In tabella 2 sono riportati i valori dei principali parametri chimici dei substrati in prova determinati all'inizio del ciclo culturale.

Tab. 2: *principali caratteristiche chimiche dei substrati all'inizio del ciclo colturale*

Parametro		Unità Misura	Tesi A	Tesi B	Tesi C	Tesi Compost
Reazione		pH	5,75	5,94	6,37	6,57
Conducibilità elettrica		mS cm ⁻¹	0,525	0,688	1,03	0,39
Azoto totale	N	%	0,3	0,41	0,44	0,45
Carbonio organico	C	%	37,4	38,3	35,2	66
Rapporto C/N		-	>50	>50	>50	>50
Piombo	Pb	ppm	20	29	21	5
Rame	Cu	ppm	29	15	20	10

Le caratteristiche del substrato aziendale evidenziano valori di pH e di conducibilità ottimali per la coltivazione di numerose piante in contenitore. Il basso contenuto di azoto totale e l'elevato rapporto C/N (superiore ai limiti normativi) suggeriscono che siamo in presenza di un substrato con una limitata dotazione nutrizionale che necessariamente richiede l'impiego di apporti di concimazione. I valori di pH e di conducibilità dei diversi substrati aggiunti di compost sono risultati idonei alla coltivazione delle specie olivo e lavanda. La dotazione di azoto totale aumenta all'aumentare della percentuale di compost nel substrato. I valori di piombo e rame, determinati considerando l'origine delle matrici compostate, sono risultati al di sotto dei limiti normativi. Relativamente al rapporto C/N si evidenziano in tutti i substrati valori molto elevati, in particolare in presenza delle maggiori concentrazioni di torba.

Le prove di mineralizzazione effettuate hanno evidenziato in tutti i substrati un graduale rilascio di azoto minerale fino circa 100 giorni, dopodiché tale rilascio si è progressivamente ridotto con andamento analogo nelle varie tesi a confronto. Nell'arco temporale esaminato, si è evidenziato che, all'aumentare della quantità di compost nella miscela dei substrati, è corrisposto un minore quantitativo di azoto minerale disponibile per le piante. In particolar modo nel controllo e nella tesi B, quest'ultima con il 25% di compost in sostituzione della torba, la disponibilità di azoto minerale è stata costantemente maggiore, rispetto agli altri substrati, in tutto il periodo di monitoraggio, mentre i valori minimi sono stati ottenuti nella tesi compost (figura 15).

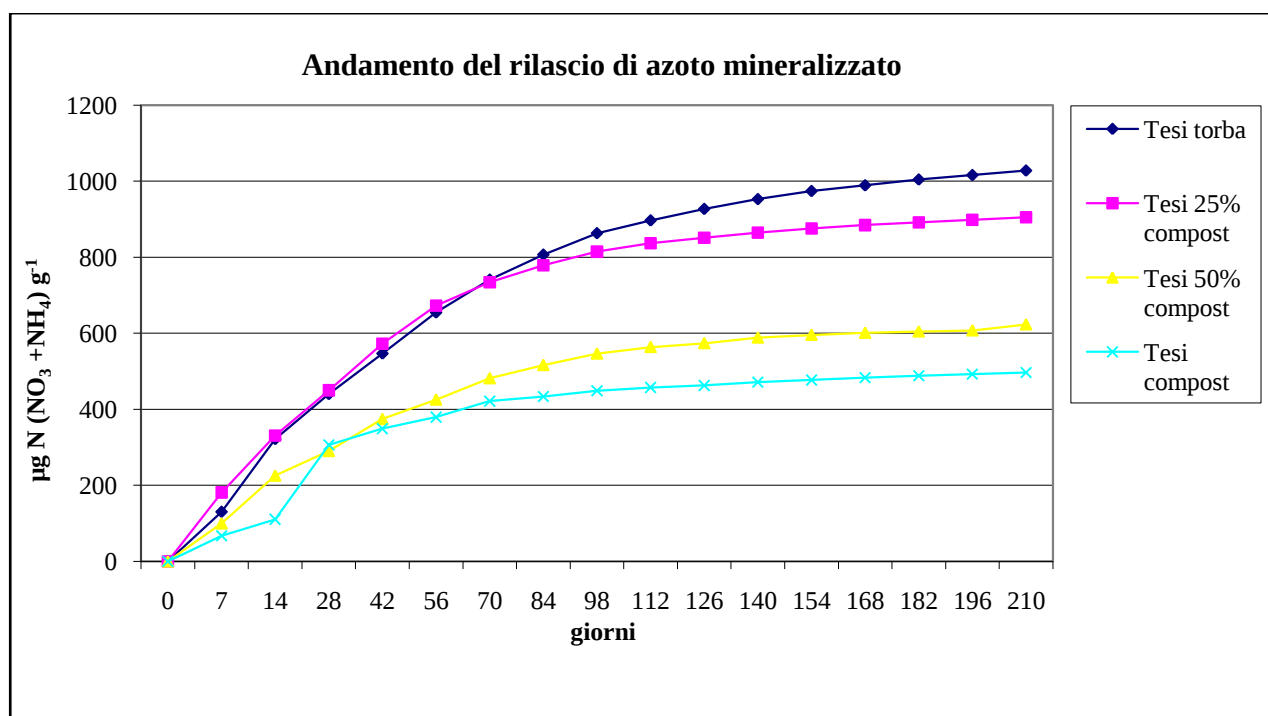
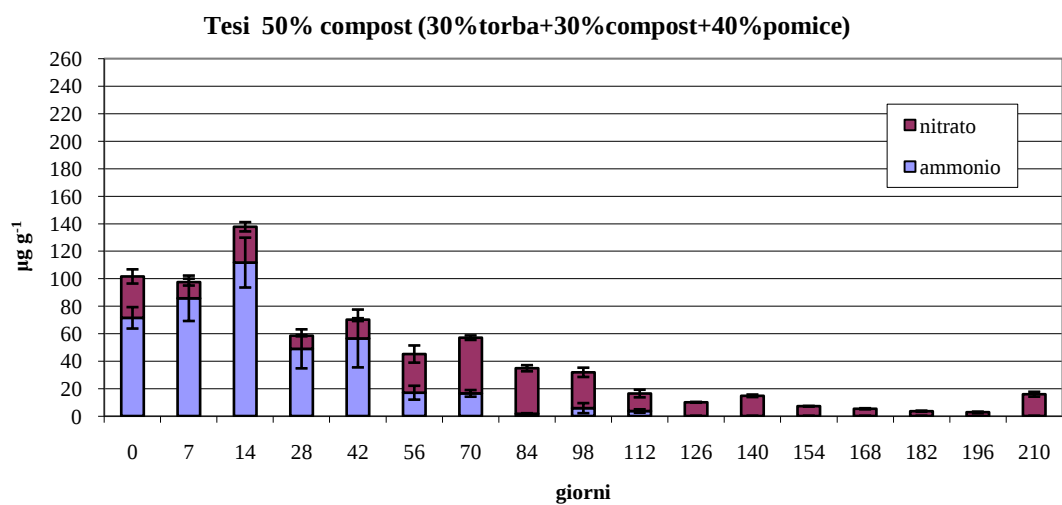
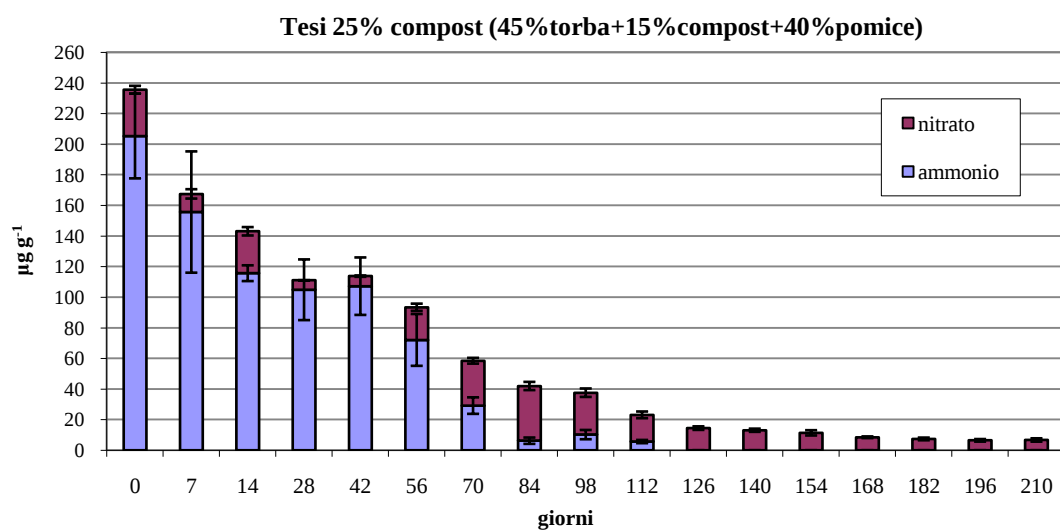
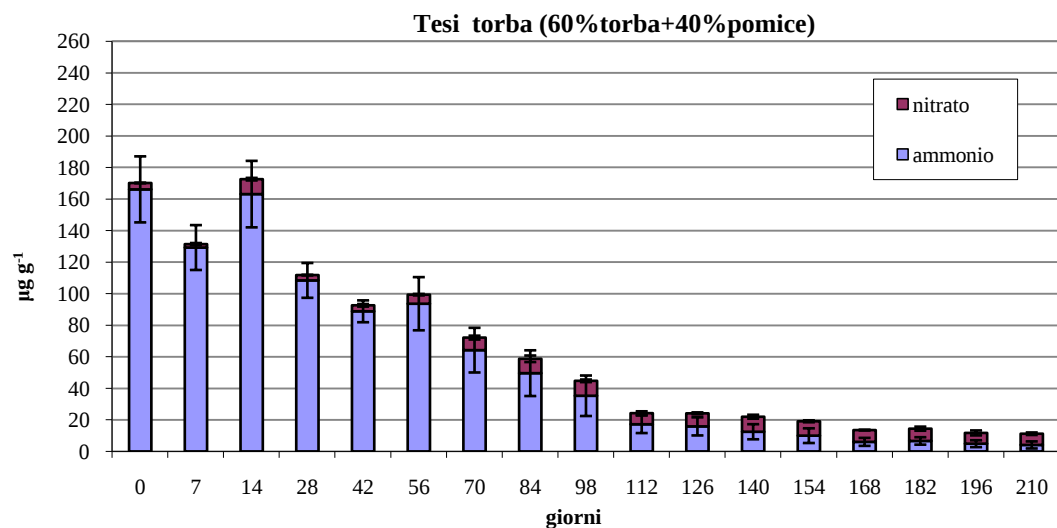
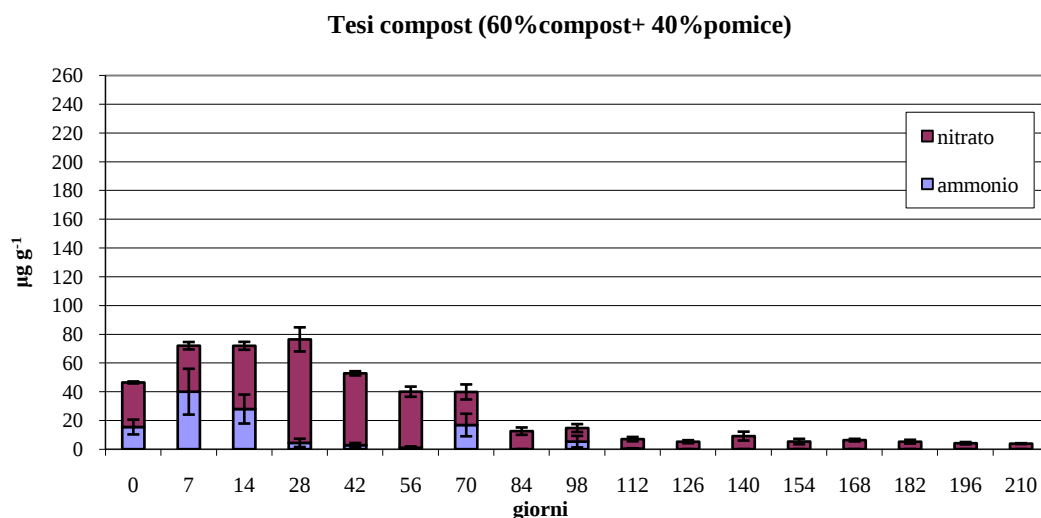


Fig. 15: andamento del rilascio di azoto mineralizzato nei diversi substrati.

Le prove di mineralizzazione effettuate hanno evidenziato che l'aggiunta di compost ha modificato i rapporti tra le forme di azoto minerale rilasciato. Nella tesi contenente soltanto torba, la forma di azoto minerale prevalente, almeno fino a 100 giorni, è stata quella ammoniacale a fronte di una limitata disponibilità di azoto nitrico. Nelle tesi contenenti compost, pur evidenziandosi nelle fasi iniziali e fino a circa il cinquantesimo giorno un prevalente rilascio di azoto ammoniacale come nella tesi controllo, si è avuta una costante maggiore formazione di azoto nitrico rispetto al substrato controllo che, successivamente al cinquantesimo giorno, è divenuta la forma prevalente. Tra le tesi B e C contenenti rispettivamente il 25% ed il 50% di compost i rapporti tra frazioni nitrica ed ammoniacale sono state simili, anche se come già accennato, il quantitativo totale maggiore di azoto minerale è stato determinato nella tesi B.

Nelle tesi compost, che ha previsto la sostituzione completa della torba con compost, a partire dal ventottesimo giorno, si è riscontrato il quasi totale abbattimento della forma ammoniacale ed il prevalere della forma nitrica (figure 16, 17, 18 e 19).





Figg. 16, 17, 18 e 19: andamento del rilascio delle forme di azoto nitrico ed ammoniacale nei diversi substrati in prova. Le barre indicano l'errore standard.

b) Risultati delle prove di crescita in piante di Lavanda

Nelle figure 20 e 21 sottostanti sono riportati gli andamenti della crescita delle piante di lavanda determinati misurando gli incrementi in altezza ed in volume ottenuti nelle singole tesi nel corso della stagione 2011.

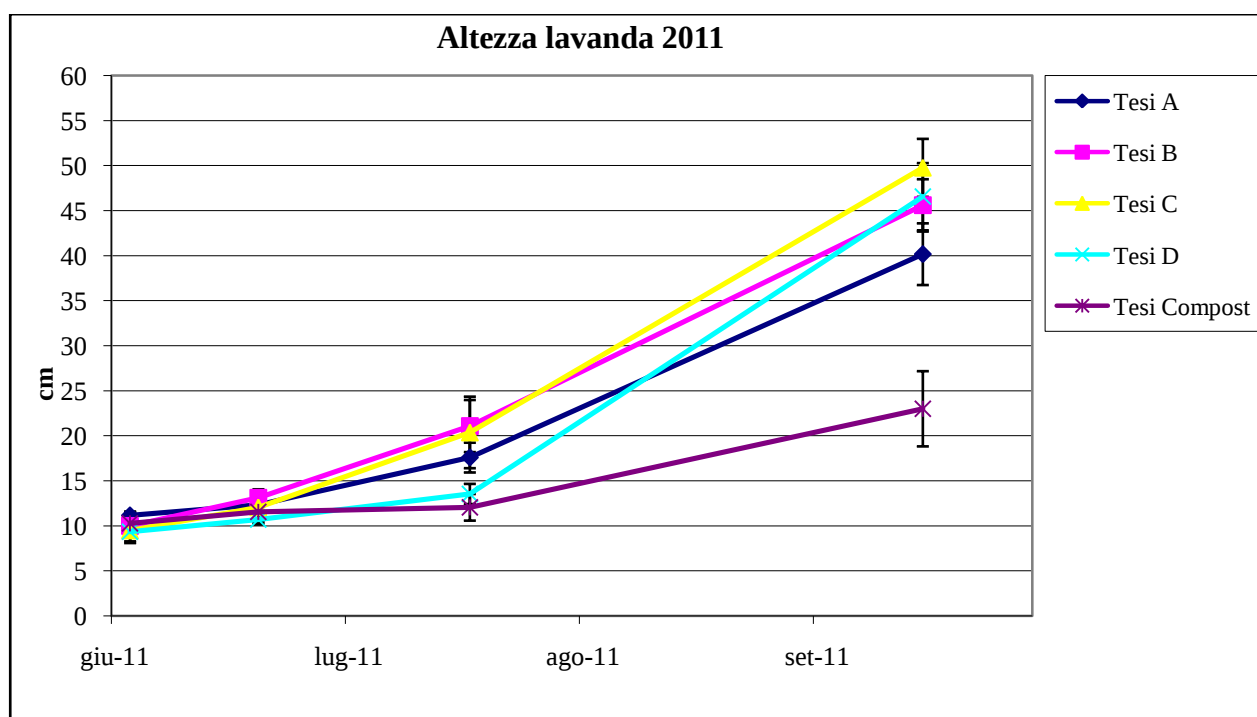


Fig. 20: andamento del parametro altezza della pianta rilevato nei diversi substrati nel 2011. Le barre indicano la deviazione standard.

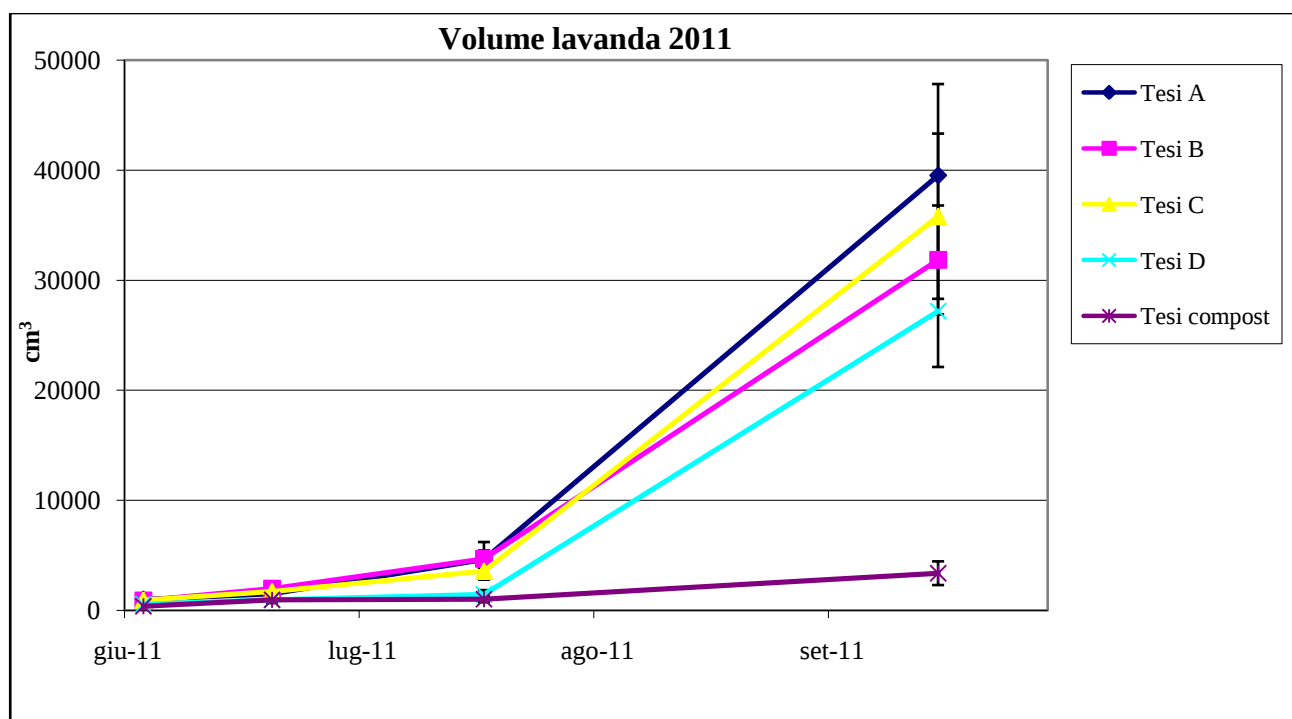


Fig. 21: andamento del parametro volume della pianta rilevato nei diversi substrati nel 2011. Le barre indicano la deviazione standard

I dati ottenuti dimostrano come i parametri di altezza e volume delle piante siano rimasti molto simili nelle diverse tesi nei primi 40 giorni di coltivazione. Successivamente si è evidenziato un rapido incremento dei valori di crescita con un andamento simile in tutte le tesi ad eccezione della tesi Compost in cui le piante hanno mostrato incrementi molto limitati.

In tabella 3 sono riportati i valori finali di altezza e volume delle piante di lavanda rilevati al termine del ciclo colturale 2011. Questi dati dimostrano come tra i parametri biometrici finali non ci siano state differenze significative tra le varie tesi, evidenziando che la sostituzione della torba con il compost aziendale fino al 50% ha garantito una crescita delle piante paragonabile a quella ottenuta utilizzando il substrato aziendale con il 100% di torba.

Tab. 3: valori medi dei parametri biometrici delle piante di lavanda al termine del ciclo colturale. Lettere diverse sulla stessa colonna indicano differenze statisticamente significative al test di Tuckey ($P < 0,05$)

TESI	ALTEZZA (cm)	VOLUME (cm ³)
A	40,17 a	39537,77 a
B	45,58 a	31845,73 a
C	49,75 a	35820,45 a
D	42,66 a	27194,97 a
COMPOST	23 b	3771,16 b

Relativamente alle determinazioni della biomassa, in figura 22 sono riportati i valori relativi alla parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo 2011.

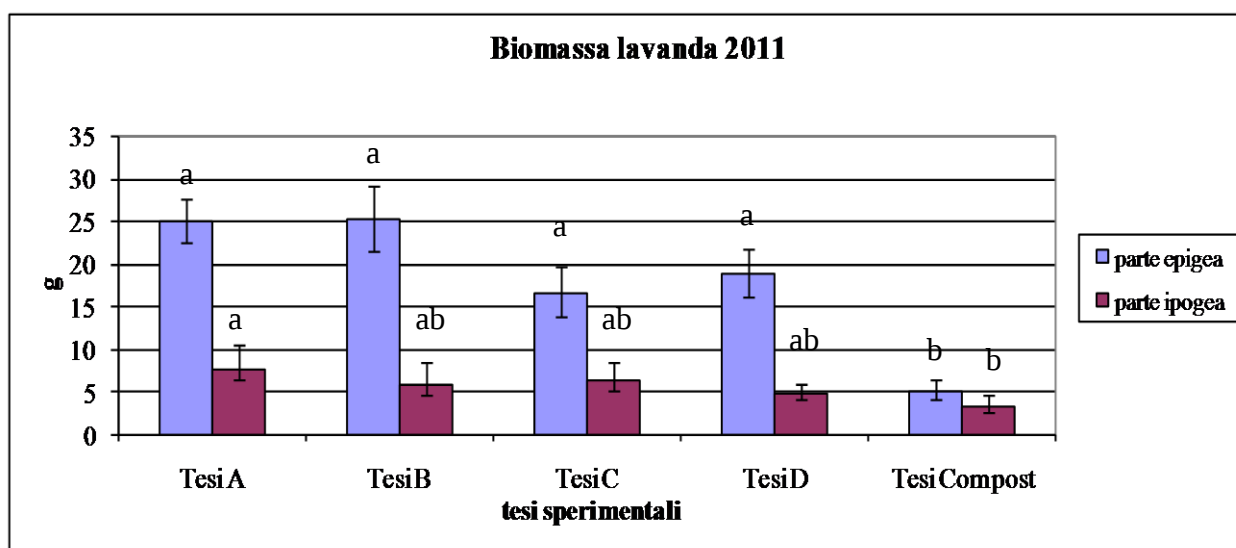


Fig. 22: valori del parametro biomassa della parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo 2011. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

L'elaborazione statistica dei dati ottenuti per la biomassa non indica la presenza di differenze significative sia a livello epigeo che ipogeo tra le tesi con differenti percentuali di compost e la tesi controllo. Tra le tesi con aggiunta di compost la tesi B (25%) è stata quella ha mostrato valori assoluti di biomassa prodotta paragonabili alla tesi controllo. La diversa dotazione di concime minerale apportato (Osmocote) nelle tesi C e D, non ha significativamente influenzato i valori di

biomassa epigea e radicale prodotta. La ridotta crescita delle piante ottenuta nella tesi Compost, evidenziata dai bassi indici di crescita ottenuti e dalla significativa minore produzione di biomassa aerea, potrebbe essere legata sia alla minore disponibilità di azoto minerale nelle fasi iniziali del ciclo di crescita che alle possibili meno favorevoli caratteristiche fisiche del substrato ottenuto con totale sostituzione della torba, così come anche indicato dai limitati valori della biomassa radicale ottenuta (figura 23).



Fig. 23: radici di lavanda

L'uso del compost nella lavanda ha avuto influenza anche sulla fase di fioritura. Relativamente al numero medio di fiori prodotti si è evidenziata una differenza non significativa tra la produzione media di spighe per pianta nella tesi controllo rispetto alle tesi B e C mentre differenze significative si sono avute tra la tesi controllo e la tesi D in cui si è avuta la produzione più bassa con circa 8 infiorescenze per pianta (figura 24). Nelle piante coltivate su solo compost come substrato non si è avuta la differenziazione florale, probabilmente a causa del limitato sviluppo vegetativo raggiunto dalle piante al momento della differenziazione (Whitman *et al.* 1996).

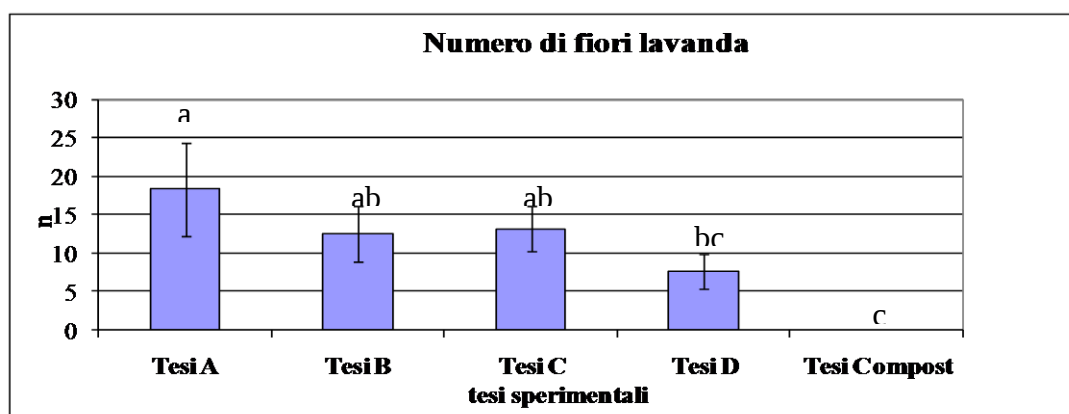


Fig.24: andamento del parametro numero di fiori prodotti. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

L'impiego del compost nelle prove eseguite sembra aver mostrato un'influenza anche sui tempi di emissione degli scapi fiorali. In particolare la tesi B ha mostrato un anticipo nella emissione delle spighe sia rispetto alla tesi controllo che alle tesi C e D. Questo anticipo potrebbe essere messo in relazione con una maggiore dotazione di azoto minerale complessivo del substrato B nelle fasi iniziali di coltivazione. I dati ottenuti non sono mostrati in quanto necessitano maggiori evidenze sperimentali. In ogni caso occorre rilevare che una influenza del compost nei tempi di fioritura di piante in vaso è stata già osservata da Pinamonti *et al.* (1992).

Con riferimento alla lunghezza degli steli fiorali si è evidenziata una concordanza con l'habitus di crescita vegetativo delle piante nei diversi substrati. Infatti, pur non risultando significative le differenze nella lunghezza degli steli fiorali tra le tesi, i valori assoluti maggiori si sono avuti nelle tesi contenenti compost e le piante cresciute in sola torba hanno mostrato anche per gli steli un portamento di crescita più compatto (figure 25 e 26).

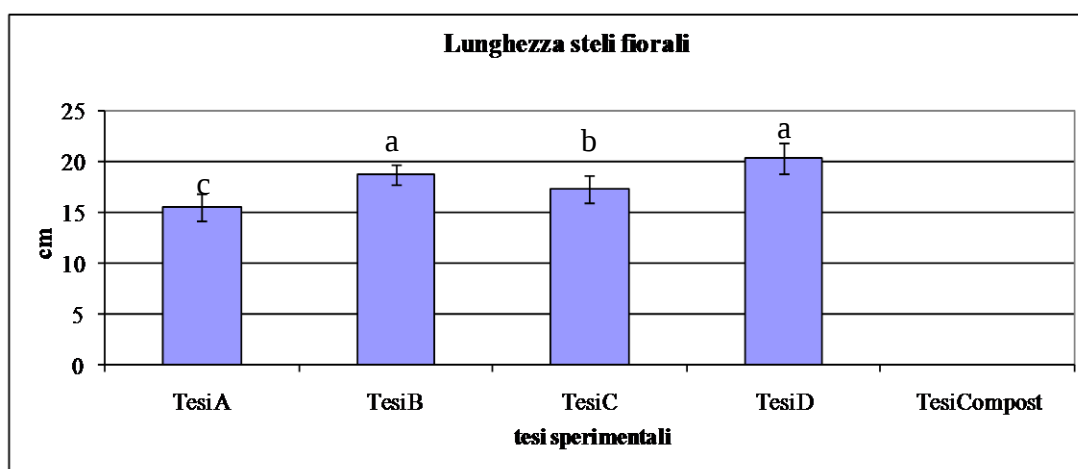


Fig. 25: andamento del parametro lunghezza steli fiorali nel 2011. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

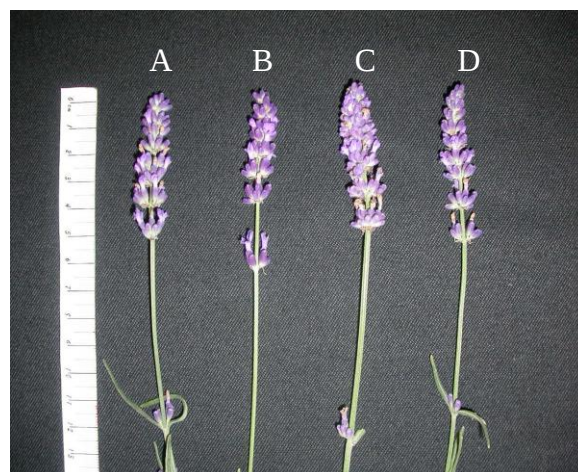


Fig. 26: piante di lavanda e steli fiorali a fine ciclo colturale

Nelle figure 27 e 28 sottostanti sono riportati gli andamenti della crescita delle piante di lavanda determinati misurando gli incrementi in altezza ed in volume nelle singole tesi nel corso della stagione 2012, durante la quale è stato impiegato come base per la preparazione dei diversi substrati a confronto lo stesso compost prodotto nel 2011.

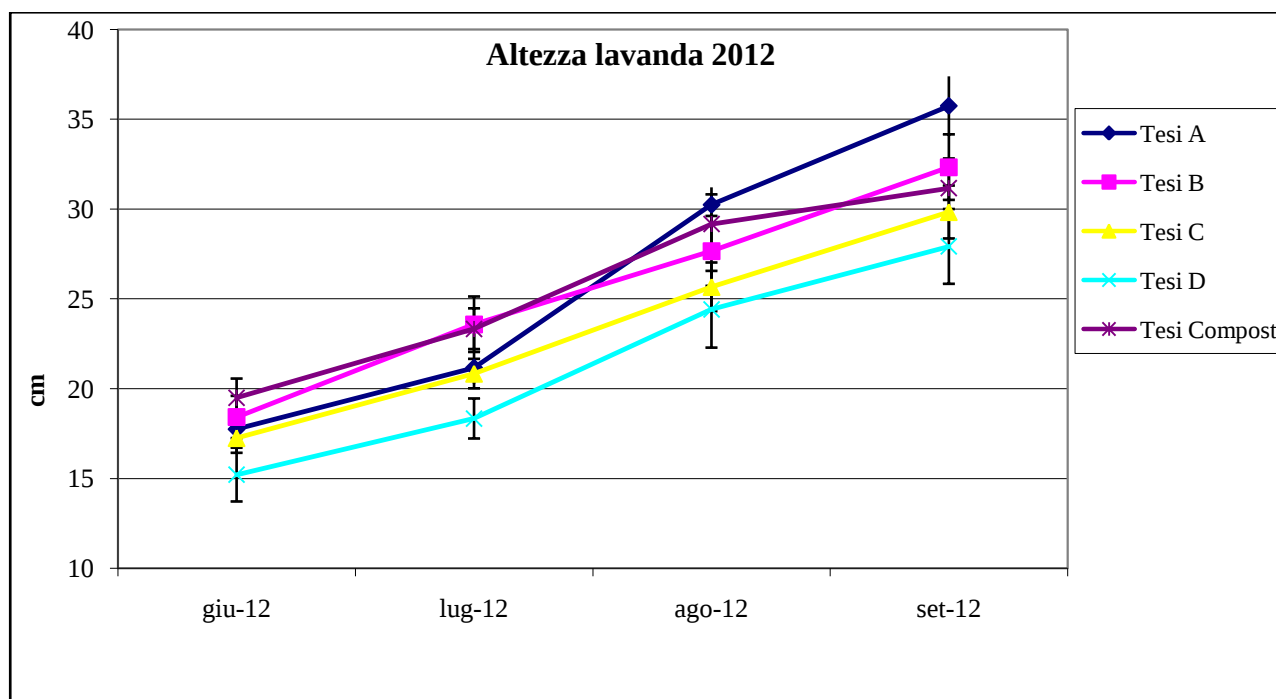


Fig. 27: andamento del parametro altezza della pianta rilevato nei diversi substrati nel 2012. Le barre indicano la deviazione standard.

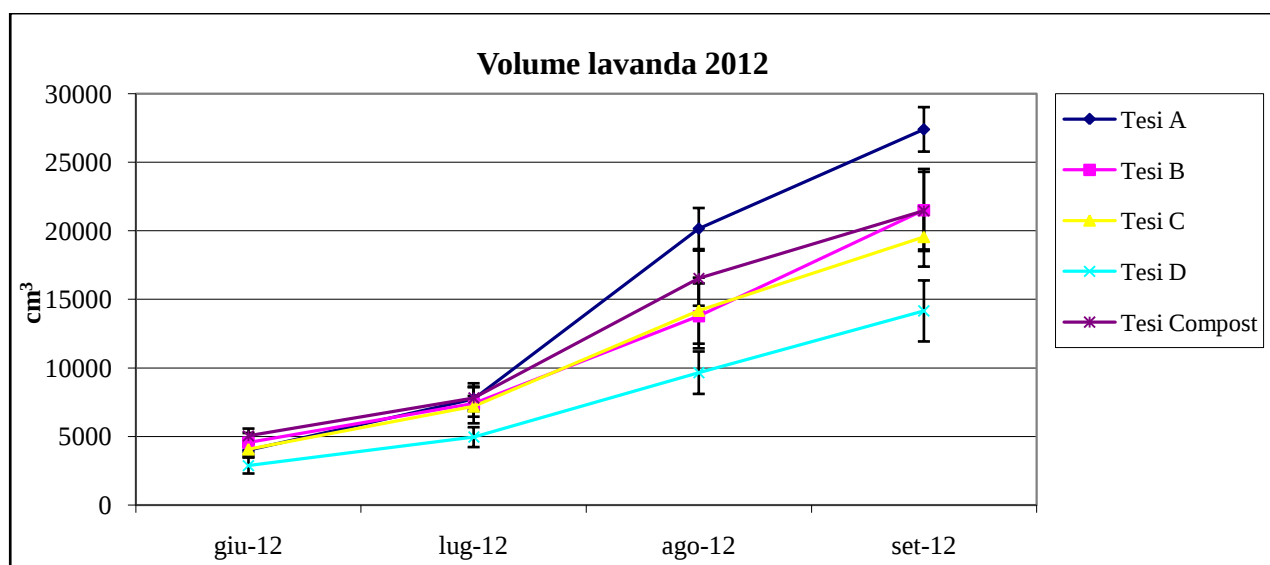


Fig.28: andamento del parametro volume della pianta rilevato nei diversi substrati nel 2012. Le barre indicano la deviazione standard.

Relativamente all'anno 2012, in cui è stato impiegato un compost più maturo rispetto alle prove eseguite nella stagione precedente, i parametri di altezza e volume delle piante di lavanda mostrano andamenti simili tra le tesi a confronto. In generale si evidenzia in tutti i substrati un più rapido incremento dei due parametri rilevati, in particolare dell'altezza, rispetto a quanto rilevato nel 2011 in cui la fase iniziale di crescita delle piante era stata più lenta in tutte le tesi a confronto. Questa maggiore velocità di crescita può essere messa in relazione con la maggiore dotazione di azoto minerale, in particolare nitrico, che ha interessato soprattutto la tesi B contenente il 25% di compost. In tabella 4 sono riportati i valori di altezza e volume delle piante di lavanda rilevati al termine del ciclo colturale 2012. I valori misurati di altezza non indicano differenze significative tra la tesi controllo e la tesi B mentre per l'indice volume la tesi controllo ha mostrato i valori significativamente maggiori rispetto a tutte le altre tesi. Sostanzialmente questi dati confermano i risultati di crescita ottenuti nella stagione precedente, con eccezione della tesi Compost che nel secondo anno di prove e con l'impiego di compost più "maturo" ha determinato nelle piante indici di crescita paragonabili a quelli della tesi B. Questa migliore performance ottenuta dalla tesi Compost può essere messa in relazione alla maggiore disponibilità di azoto minerale già nella fase di inizio del ciclo di coltivazione, a differenza di quanto verificatosi nella stagione precedente.

Le tesi C e D, differenziate per la dotazione iniziale di concime Osmocote apportato, anche nel secondo anno di prove non si sono evidenziate tra loro differenze significative riferite sia ai parametri biometrici che ai valori di biomassa prodotta, confermando che la riduzione di concime

apportato non ha influito in maniera significativa sullo sviluppo finale delle piante (tabella 4 e figura 29).

Tab. 4: valori medi dei parametri biometrici delle piante di lavanda al termine del ciclo colturale. Lettere diverse sulla stessa colonna indicano differenze statisticamente significative al test di Tuckey ($P < 0,05$).

TESI	ALTEZZA (cm)	VOLUME (cm ³)
A	37,75 a	27394,11 a
B	32,33 a	21513,60 b
C	29,83 ab	19558,27 bc
D	27,91 b	14149,57 c
COMPOST	31,16 ab	21464,52 b

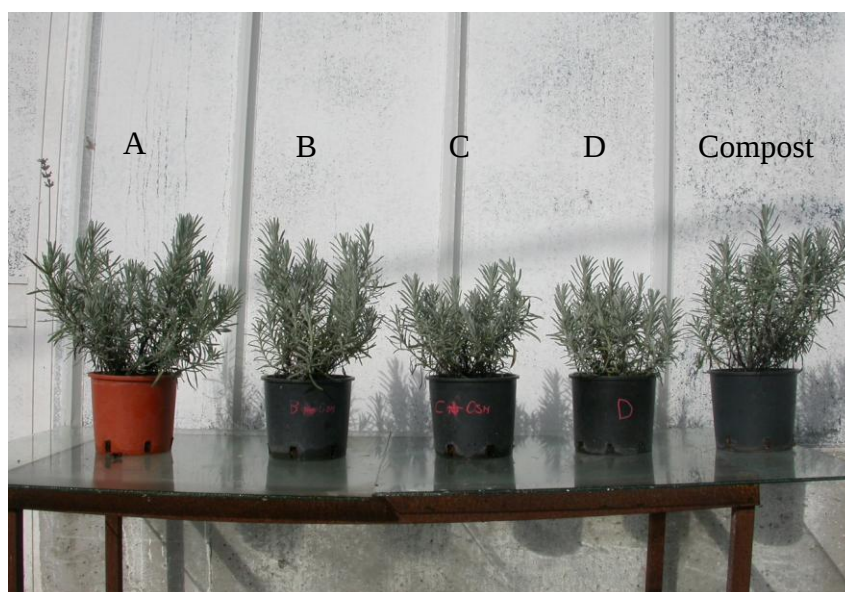


Fig. 29: piante di lavanda alla fine del ciclo colturale 2012

In figura 30 sono riportati i valori finali di biomassa epigea ed ipogea delle piante di lavanda, rilevati a fine ciclo colturale.

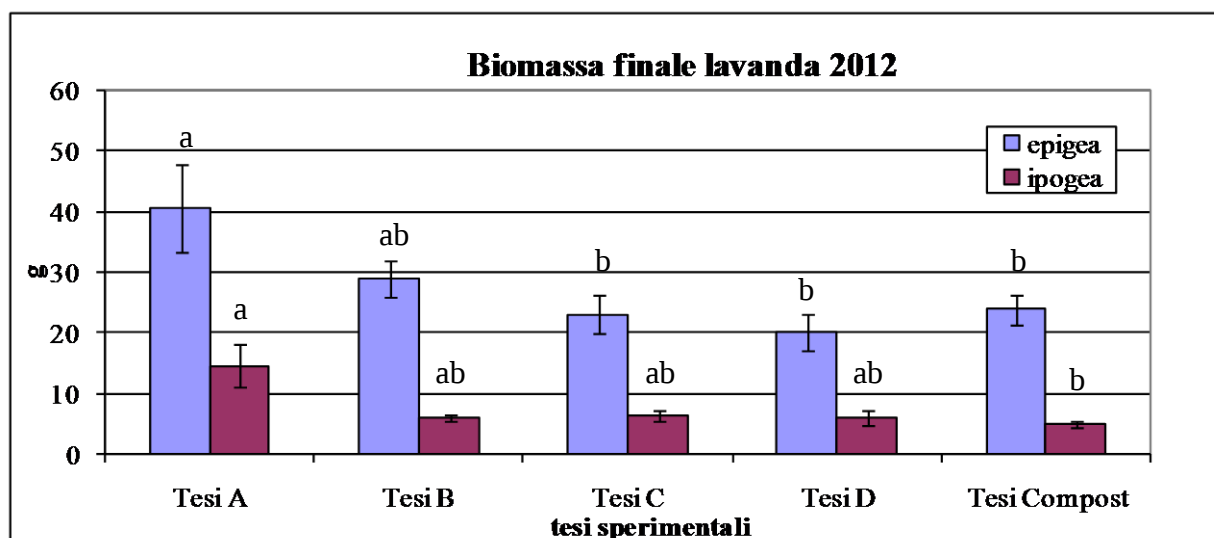


Fig. 30: valori del parametro biomassa della parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo 2012. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

I valori di biomassa finale ottenuti nel corso del 2012 confermano che la tesi B con il 25% di compost non ha mostrato differenze significative rispetto alla tesi controllo. A livello ipogeo i valori di biomassa prodotta sono stati maggiori nella tesi controllo rispetto a tutte le altre tesi, anche se in modo significativo soltanto in confronto con tesi Compost. Questo in particolare è stato rilevato nel secondo anno di prove, a conferma che è utile valutare anche le modifiche delle caratteristiche fisiche del compost che si determinano durante il processo degradativo, in grado di condizionare lo sviluppo radicale.

c) Risultati delle prove di crescita in piante di Olivo

Nelle figure 31 e 32 sono riportati gli andamenti della crescita delle piante di olivo determinati misurando gli incrementi di altezza e del diametro del fusto al colletto durante l'intero periodo di coltivazione. I dati ottenuti dimostrano come i diversi substrati non abbiano influenzato in modo significativo i parametri rilevati. Inizialmente, nei primi due mesi di coltivazione, si è avuto un rapido incremento del parametro altezza del fusto in tutte le tesi, ad eccezione della tesi Compost in cui le piante hanno mostrato incrementi più limitati.

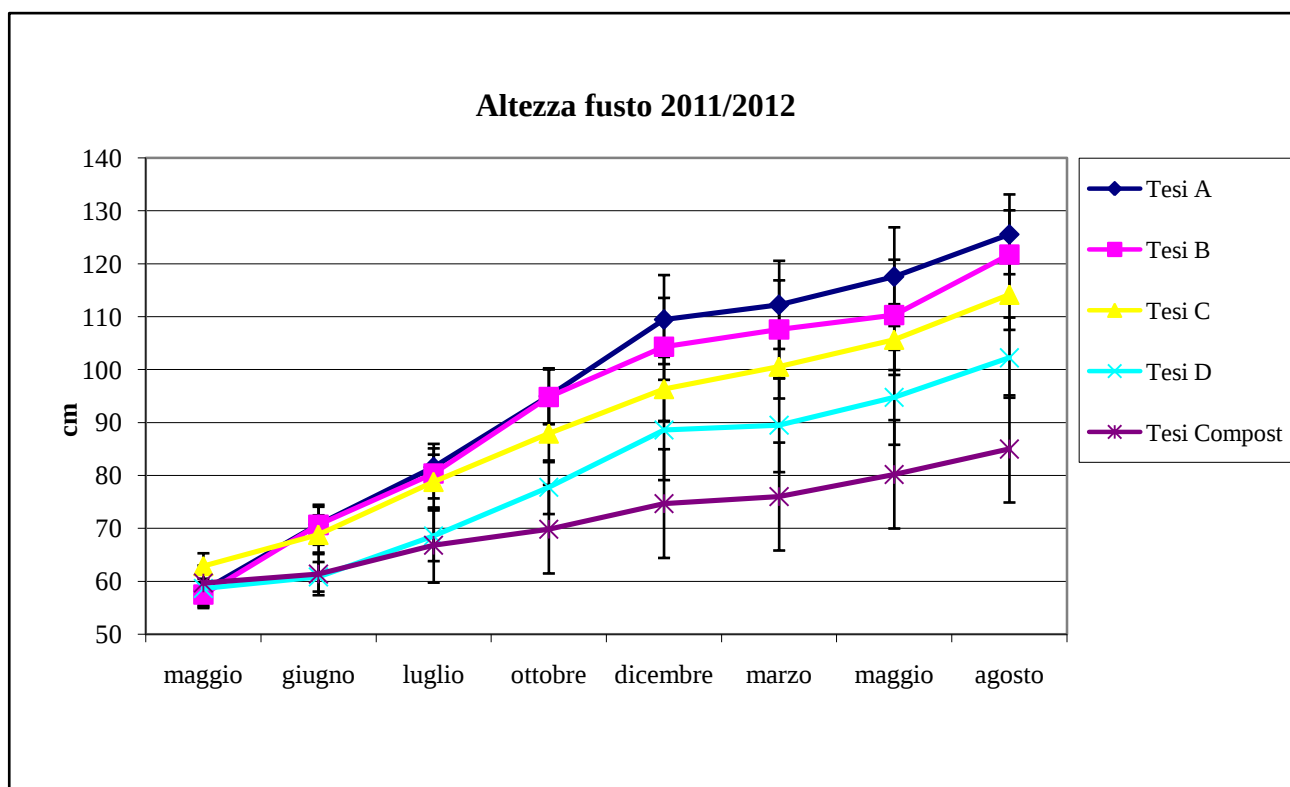


Fig. 31: andamento del parametro altezza del fusto della pianta di olivo rilevato nei diversi substrati nel periodo 2011-2012. Le barre indicano la deviazione standard.

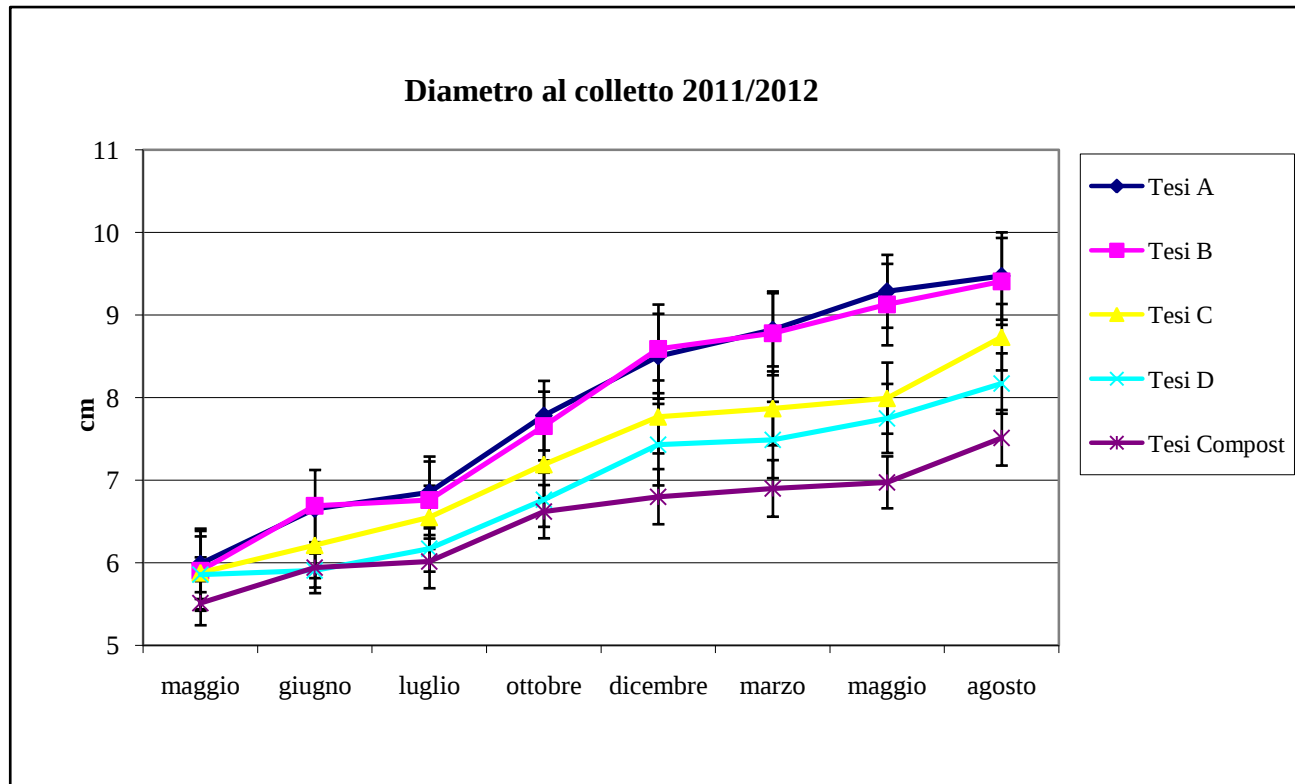


Fig. 32: andamento del parametro diametro al colletto della pianta di olivo rilevato nei diversi substrati nel periodo 2011-2012. Le barre indicano la deviazione standard.

In tabella 5 sono riportati i valori di altezza del fusto e del diametro al colletto rilevati nei mese di ottobre nei due anni di sperimentazione.

Tab.5: valori medi dei parametri biometrici delle piante di olivo rilevati nelle due stagioni di prova. Lettere diverse sulla stessa colonna indicano differenze statisticamente significative al test di Tuckey ($P < 0,05$).

TESI	ALTEZZA (cm)		DIAMETRO AL COLLETTTO (cm)	
	2011	2012	2011	2012
A	109,44 a	125,55 a	8,50 ab	9,47 a
B	104,33 a	121,75 a	8,59 a	9,40 ab
C	96,33 ab	114,16 ab	7,76 abc	8,73 bc
D	88,58 ab	102,25 bc	7,43 bc	8,17 c
COMPOST	74,66 b	85,00 c	7,02 c	7,51 c

In entrambe le stagioni di rilievo i valori maggiori di crescita sono ottenuti nelle piante coltivate nei substrati controllo e B (25% di compost) che non hanno mostrato differenze significative sia relativamente al parametro altezza del fusto che al diametro del colletto. Le tesi C e D, che differivano per la percentuale di concimazione apportata con Osmocote, non hanno mostrato in entrambi i parametri rilevati alla fine del ciclo differenze significative tra di loro, indicando anche per olivo che la riduzione della fertilizzazione minerale non ha influito in modo significativo sui valori finali dei parametri monitorati, anche se è comunque da osservare che nel primo anno di coltivazione, la tesi D, con minore disponibilità di nutrienti, ha evidenziato incrementi di crescita minori.

Relativamente alle determinazioni sulla biomassa, in figura 33 sono riportati i valori relativi alla parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo 2012.

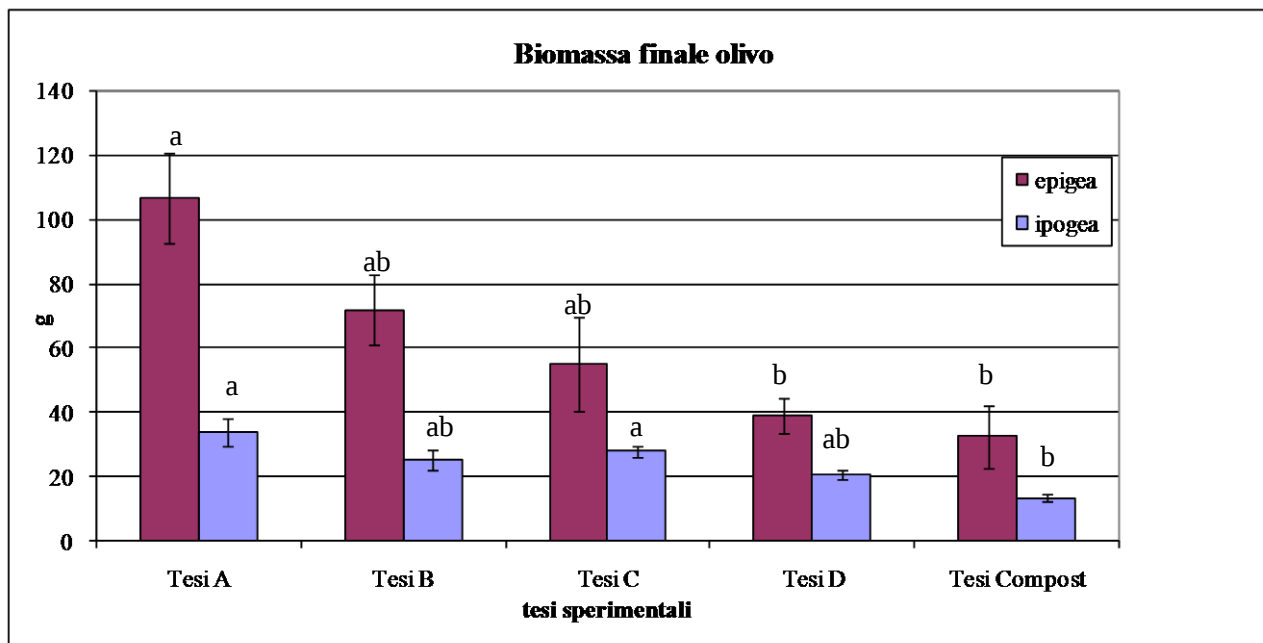


Fig. 33: valori del parametro biomassa della parte epigea ed ipogea rilevati a fine ciclo 2012. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

Anche se i valori medi finali maggiori di biomassa prodotta, particolarmente quella epigea, sono stati ottenuti nella tesi controllo, l'elaborazione statistica dei dati ottenuti non indica la presenza di differenze significative, sia a livello epigeo che ipogeo, rispetto alle tesi B e C. Relativamente alle tesi C e D, i valori di biomassa ottenuti non mostrano differenze significative, confermando quanto osservato durante il monitoraggio della crescita.

Nella tesi Compost, oltre alla già evidenziata minore crescita aerea, si è ottenuto anche il minore sviluppo radicale.

Nelle figure 34 e 35 sono riportati i valori dell'indice di area fogliare (LAI) e la relativa biomassa rilevati nelle piante di olivo al termine del biennio di prove.

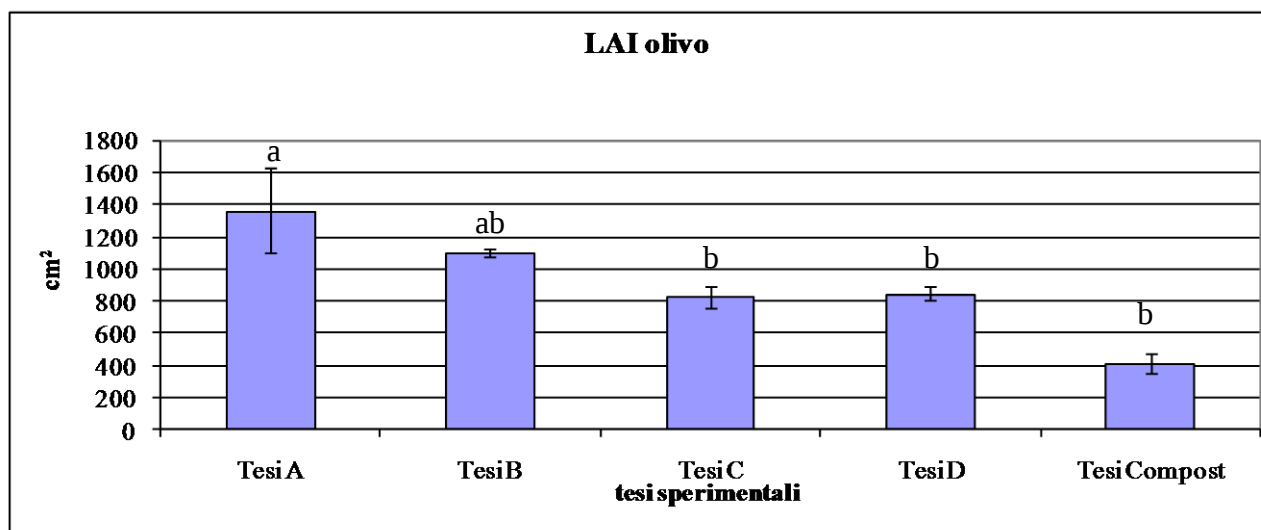


Fig. 34: valori dell'indice di area fogliare (LAI) rilevati a fine ciclo 2012. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

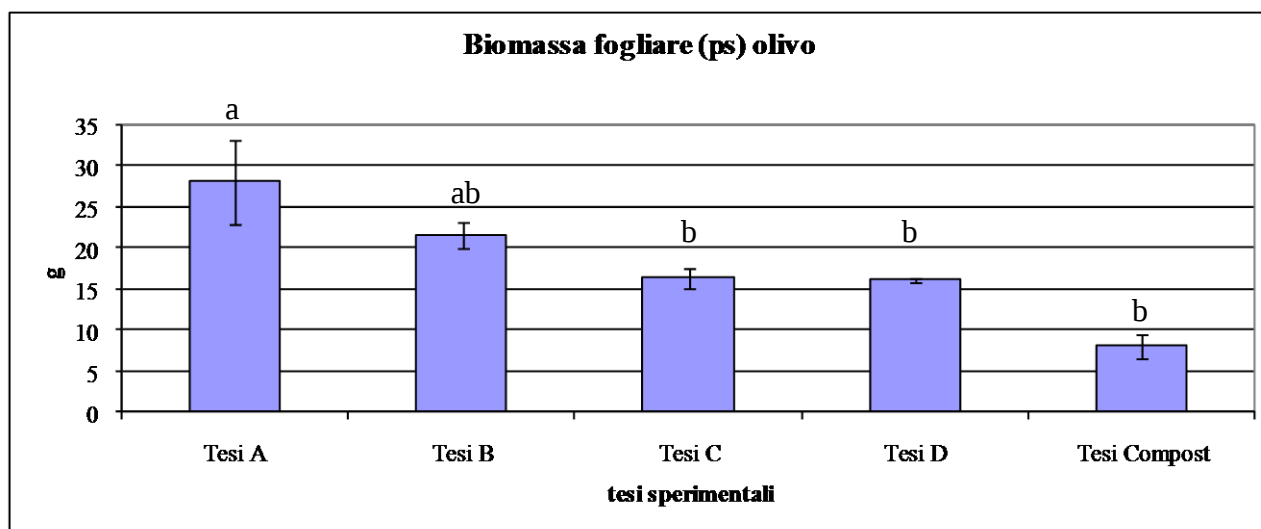


Fig. 35: valori del parametro biomassa fogliare rilevati a fine ciclo 2012. Le barre indicano la deviazione standard. Valori con la stessa lettera non differiscono in maniera significativa al test di Tukey ($P < 0,05$).

I valori di LAI e biomassa fogliare ottenuti confermano che il compost aziendale può essere impiegato in sostituzione parziale della torba garantendo per la specie olivo un ottimale sviluppo della superficie fotosintetizzante, paragonabile a quella delle piante coltivate convenzionalmente.

Da rilevare che tra le tesi C e D ancora una volta non si sono evidenziate differenze significative nei parametri analizzati.

CONCLUSIONI

In un comparto vivaistico inserito in un contesto di salvaguardia ambientale e di gestione sostenibile delle risorse aziendali, la produzione di ammendante compostato verde, a partire da residui aziendali, appare come un punto di forza della filiera produttiva. La sostituzione parziale della torba con il compost, nella preparazione dei substrati aziendali, rappresenta un processo produttivo virtuoso sotto due punti di vista: ambientale ed economico.

Dai dati ottenuti nei due anni di sperimentazione, si è evidenziato che l'organizzazione aziendale è stata in grado di gestire con le proprie risorse umane e strumentali l'intero processo di recupero, condizionamento e compostaggio dei residui vegetali di scarto. Quindi il modello studiato può essere riproducibile in vivai di analoga dimensione ed indirizzo produttivo.

L'analisi del processo di condizionamento delle biomasse ha evidenziato due aspetti di particolare rilievo. Il primo riguarda la composizione microbiologica del compost ottenuto, con particolare riferimento alla presenza di specie utili, caratterizzate da elevata attività antagonista nei confronti di patogeni di origine tellurica responsabili di gravi malattie assai diffuse in vivaio. La possibilità di disporre di substrati addizionati di compost soppressivi può permettere di integrare le strategie di difesa convenzionali e quindi di limitare l'uso di fitofarmaci.

Il secondo aspetto riguarda la composizione chimica del compost e in particolare il rilascio graduale di azoto minerale durante il ciclo colturale. Dai dati ottenuti nei due anni di sperimentazione, si è evidenziato che la sostituzione della torba con percentuali crescenti di compost verde nella composizione dei substrati, non ha determinato una significativa riduzione della crescita sia delle piante di lavanda che quelle di olivo e non ha mostrato effetti negativi sulla loro qualità sanitaria ed agronomica. Di conseguenza il livello qualitativo e commerciale delle piante ottenute è risultato comparabile a quello ottenuto con i metodi convenzionali che prevedono l'uso di torba. In particolare le prove di coltivazione hanno indicato che la parziale sostituzione della torba con il compost (25%), ha dato risultati produttivi del tutto paragonabili a quelli ottenuti impiegando solo torba. Inoltre occorre evidenziare il risultato ottenuto con la riduzione del 50% della dose di concime minerale previsto nei piani colturali dell'azienda. Questa riduzione non ha influenzato in modo significativo la crescita delle due specie vegetali impiegate nelle prove permettendo di ottenere comunque piante di accettabile valore commerciale con un conseguente risparmio economico per l'azienda vivaistica ed un minore impatto ambientale dovuto alla somministrazione di concimi di sintesi.

E', in ogni caso, utile ampliare i saggi di utilizzazione del compost aziendale su un numero maggiore di specie, considerando le differenze esistenti nelle esigenze nutrizionali e nella lunghezza del ciclo colturale. Inoltre sembra opportuna la valutazione delle caratteristiche fisiche ed

idrologiche dei substrati compostati, che sono in grado di condizionare fortemente l'ambiente rizosferico.

RINGRAZIAMENTI

Un ringraziamento particolare al Dott. Massimo Muganu per avermi supportato in questi tre anni di lavoro con totale disponibilità e pazienza.

Grazie alla Dott.ssa Maria Pia Aleandri, amica e compagna di studi da ben vent'anni, per avermi sostenuto e per avermi concesso di svolgere insieme a lei una parte importante del mio lavoro riguardante gli aspetti microbiologici. Grazie al Dott. Marco Paolocci per aver dato il suo prezioso contributo nell'elaborazione statistica dei dati.

Grazie al personale e al proprietario del vivaio, nella persona del Dott. Leonardo Michelini, per aver messo a disposizione le strutture per la realizzazione di questo lavoro.

Infine un ringraziamento va anche a mio marito ed ai miei due bambini per avermi incoraggiato e sopportato pazientemente in questi tre anni, soprattutto nei momenti bui che mi hanno allontanato, senza volerlo, da loro.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson J. M. & Ingram J. S. I. (1989) Colorimetric determination of ammonium. Tropical Soil Biology and Fertility, a handbook of methods. Second Edition. CAB International, Wallingford, U. K., 42-43.
- Baker K.F., Cook R.J., 1974. Biological control of plant pathogens. W.H. Freeman & Co. San Francisco, California, USA. 433pp.
- Benedetti A. (1983) Fertilità biologica del terreno e concimi ad azoto lento. Soil biological fertility and slow-release fertilizers. Annali dell'istituto sperimentale per la nutrizione delle piante. Vol. XII Anno 1983-84 Roma. Pubblicazione 3, 1-14.
- Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology. 7: 249–260.
- Bielenin M., K. Jousstra M., 2000. The effect of day-night temperature regimes and two nutrient solution concentrations on growth of *Lavandula angustifolia* “Munstead” and *Magnolia soulangiana*. Scientia Horticulturae 85 (2000) 113-121.
- Bridge P. D., 1985. An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid to the characterisation of species of *Penicillium* subsection *Fasciculata*. Journal of General Microbiology 131: 1887-1895.
- Calistru C., McLean M., Berjak P., 1997. *In vitro* studies on the potential for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *Trichoderma* species. A study of the production of extracellular metabolites by *Trichoderma* species. Mycopathologia 137: 115–124.
- Cataldo D. A., Haroon M., Schrader L. E., Young V. (1975) Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Communications in Soil Science and Plant Analysis 6, 71-80.
- Centemero M., 2001. Il compost nei terricci per il florovivaismo. Fertilizzanti 3: 24-29.

- Chen W., Hoitink H.A.J., Madden L.V., 1988a. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:1447-1450.

- Chen W., Hoitink H.A.J., Schmitthenner A.F., Tuovinen O.H., 1988b. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78: 314-322.

- Chen Y., Inbar Y., 1993. Chemical and spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. Chen, Y., and Y. Inbar. In: H.A.J. Hoitink and H.M. Keener (eds.) *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiology and Utilization Aspects*. Renaissance Publications, Worthington, OH, U.S.A, 551-600.

- Chen L.L., Liu L.J., Shi M., Song X.Y., Zheng C.Y., Chen X.L., Zhang Y.Z., 2009. Characterization and gene cloning of a novel serine protease with nematicidal activity from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2. *FEMS Microbiology Letters*. 299: 135–142.

- Dababat A.A., Sikora R.A., Hauschild R., 2006. Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 71:953–961.

- De Bertoldi *et al.*, 1983. Biology of composting: a review. *Waste management e Research* 1:157-176.

- Dennis C., Webster J., 1971. Antagonism properties of species group of *Trichoderma* II. Production of volatile antibiotics. *Transaction of the British Mycological Society* 57: 41-48.

- Edington L.V., Khew K.L., Barron G. I., 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, 61: 42-44.

- Eziashi E.I., Uma N.U., Adekunle A.A., Airede C.E., 2006. Effect of metabolites produced by *Trichoderma* species against *Ceratocystis paradoxa* in culture medium. *African Journal of Biotechnology*. 5: 703–706.

- Goswami J, Pandey R.K., Tewari J.P., Goswami B.K., 2008. Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*. Journal of Environmental Science and Health, Part B. 43: 237–240.

- Grinyer J., Hunt S., McKay M., Herbert B.R., Nevalainen H., 2005. Proteomic response of the biological control fungus *Trichoderma atroviride* to growth on the cell walls of *Rhizoctonia solani*. Current Genetics. 47: 381–388.

- Hardy G.E.S.J., Sivasithamparam K. (1991) Suppression of *Phytophthora* Root Rot by a composted *Eucalyptus* Bark Mix. Australian Journal of Botany 39, 153-159.

- Harman G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Disease. 84: 377– 393.

- Harman G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96: 190-194.

- Hoitink H.A.J., Inbar Y., Boehm M.J. (1991) Status of compostamended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. Plant Disease 75, 869-873.

- Hoitink et al, 1996. Suppression of plant disease by compost. In The Science of composting (De Bartoldi M., Sequi P., Lemmes B.e Papi T., eds.) Vol.1 pp 373-381. Blackie Academic and Professional, Glasgow.

- Hoitink H.A.J., Stone A.G., Han D.Y., 1997. Suppression of plant diseases by composts. HortScience 32: 184-187.

- Hoitink H.A.J., Boehm M.J., 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. Annual Review of Phytopathology 37: 427- 446.

- Jaklitsch W.M., 2009. European species of *Hypocrea*. Part I. The green-spored species. Studies in Mycology. 63: 1–91.

- Kredics L., Antal Z., Doczi I., Manczinger L., Kevei F., Nagy E., 2003. Clinical importance of the genus *Trichoderma*. A review. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 50: 105–117.
- Kubicek C.P., Mach R.L., Peterbauer C.K., Lorito M., 2001. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology*. 83: 11–23.
- Kubicek C.P., Komon-Zelazowska M., Druzhinina I.S., 2008. Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *Journal of Zhejiang University, Science B*. 9: 753–763.
- Kyalo G., Affokpon A., Coosemans J., Coyne D.L., 2007. Biological control effects of *Pochonia chlamydosporia* and *Trichoderma* isolates from Benin (West-Africa) on root-knot nematodes. *Communications in Agriculture and Applied Biology Science*. 72: 219–223.
- Lockwood J.L., 1990. Relation of energy stress to behaviour of soilborne plant pathogens and to disease development. In: Hornby D. (ed.), *Biological Control of Soilborne Plant Pathogens*, pp. 197-214. CAB International, Wallingford, UK.
- Melis P., Cattivello C., 1999. Valutazioni analitiche e colturali su alcuni substrati di coltivazione. *Culture Protette*, 4: 65–70.
- Monte E., 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiology*: 4: 1–4.
- Morton D.T., Strube N. H., 1955. Antagonistic and stimulatory effects of microorganism upon *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 23: 23-77.
- Navazio L., Baldan B., Moscatiello R., Zuppini A., Woo S.L., Mariani P., Lorito M., 2007. Calcium-mediated perception and defense responses activated in plant cells by metabolite mixtures secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *BMC Plant Biology*. 7: 41.

- Nuntagij M., Kaemmerer J.R., Bailly L., Andre (1990) Composés phénolique et fixation non symbiotique au cours de la biodégradation de composés lignocellulosiques. *Agrochimica* 34, 311-319.
- Pane C., Spaccini R., Piccolo A., Scala F., Bonanomi G., 2011. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. *Biological Control* 56: 115–124.
- Pinamonti F., T. Zanella and G. Zorzi. 1992. Esperienze di impiego di compost nella preparazione di substrati colturali per la floricoltura. *L'Informatore agrario*, 21: 65-71.
- Possanzini G., 2005. Individuazione di substrati e di fertilizzanti nella produzione di piantine da trapianto da destinare alla coltivazione in biologico. Tesi di Dottorato Università degli Studi della Tuscia (VT).
- Rea E., (2005). Panoramica su substrati per la coltivazione in “fuori suolo”. *Bollettino della Società Italiana della Scienza del Suolo*, 54(3):510-516.
- Reino J.L., Guerrero R.F., Hernandez-Galan R., Collado I.G., 2008. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry*. 7: 89–123.
- Ruocco M., Lanzuise S., Vinale F., Marra R., Turra D., Woo S.L., Lorito M., 2009. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant– pathogenic fungi. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 22: 291–301.
- Scagliarini S., 2003. Gli utilizzi alternativi del compost. *Terra e Vita* n. 43.
- Seidl V., Schmoll M., Scherm B., Balmas V., Seiboth B., Migheli Q., Kubicek C.P., 2006. Antagonism of *Pythium* blight of zucchini by *Hypocrea jecorina* does not require cellulase gene expression but is improved by carbon catabolite derepression. *FEMS Microbiology Letters*. 257: 145–151.

- Sogni S.-1988. Substrati tradizionali e substrati alternativi per la coltivazione in contenitore. L'Informatore Agrario 1: 79-88.
- Spiegel Y., Chet I., 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. Integrated Pest in Management Reviews. 3: 169–175.
- Stanford G., Smith S. J. (1972) Nitrogen mineralization potential of soil. Soil Science Society of America Proceedings 36, 465-472.
- Stone A.G., Scheuerell S.J., Darby H.M. (2004) Suppression of soilborne diseases in field agricultural systems. In Soil organic matter in sustainable agriculture. (F. Magdoff & Weil, R. R., eds.), 131- 178. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.
- Suarez M.B., Vizcaino J.A., Llobell A., Monte E., 2007. Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the TrichoEST functional genomics approach. Current Genetics. 51: 331–342.
- Vallini G.,1995. Voce “Compost” (pp.173-174). In: Dizionario dell'Ambiente, ISEDI/UTET LIBRERIA (TO).
- Tagliavento V., 2010. Tesi di Laurea. Attività soppressiva dell'ammendante compostato misto nei confronti della tracheofusariosi del melone. Facoltà di Agraria di Viterbo, Corso di laurea in “Scienze e Tecnologie per la Qualità delle Produzioni Vegetali”.
- Tenuta M., Lazarovits G., 2002. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 92:255-264.
- Torresi V., Tesi di Laurea. Isolamento, identificazione e caratterizzazione di *Trichoderma* da compost. Facoltà di Agraria di Viterbo, Corso di laurea in “Scienze e Tecnologie agrarie”.
- Tseng S.C., Liu S.Y., Yang H.H., Lo C.T., Peng K.C., 2008. Proteomic study of biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ETS 323 in response to *Rhizoctonia solani*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 6914– 6922.

- Vinale F., Marra R., Scala F., Ghisalberti E.L., Lorito M., 2006. Sivasithamparam K. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 43: 143–148.

- Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M., 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 1–10.

- Vinale F., Ghisalberti E.L., Sivasithamparam K., Marra R., Ritieni A., Ferracane R., Woo S., Lorito M., 2009. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 48: 705–711.

- Viterbo A., Ramot O., Chemin L., Chet I., 2002. Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie van Leeuwenhoek*. 81: 549–556.

- Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B.M., Thomashow L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 40: 309-348.

- Whitman C. M. *et al.*, 1996. Cold treatments, Photoperiod, and Forcing Temperature Influence Flowering of *Lavandula angustifolia*. *Hort Science* 31(7): 1150-1153.

- Zhang W., Dick W.A., Hoitink H.A.J., 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. *Phytopathology* 86: 1066-1070.

- Zorzi G., 1997. Nuovi parametri per il compost. *Supplemento all’Informatore agrario* 44, 5.