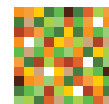




Fondo europeo agricolo
per lo sviluppo rurale:
*l'Europa investe
nelle zone rurali*

Unione Europea



PSR14:20
Campania

CompEcoCast

*Compostaggio in situ per la tutela,
la valorizzazione e la gestione Ecosostenibile dei Castagneti*

Progetto CompEcoCast - CUP B38H19005500009 - Sottomisura 16.1 Az. 2 del PSR Campania 2014/2020

L'esaurimento delle risorse naturali, il degrado ambientale, la cattiva gestione dell'acqua e la perdita della biodiversità, sono tra le più importanti sfide che l'umanità si troverà a fronteggiare in modo sempre più pressante. Da qui l'esigenza da parte dei membri dell'ONU di elaborare un documento in cui si immagina *“un mondo dove vige il rispetto universale per i diritti dell'uomo e della sua dignità; un mondo in cui ogni paese gode di una crescita economica duratura, aperta a tutti e sostenibile, un mondo in cui i consumi, i processi di produzione e l'uso delle risorse naturali (dall'aria alla terra, dai fiumi, i laghi e le falde acquifere ai mari e agli oceani) sono sostenibili, un mondo in cui lo sviluppo e l'impiego della tecnologia sono sensibili al clima, rispettano la biodiversità e sono resilienti, un mondo in cui l'umanità vive in armonia con la natura e in cui la fauna selvatica e le altre specie viventi sono protette”* (Agenda ONU 2030). Questo programma sottoscritto nel settembre 2015 dai 193 paesi membri dell'ONU, presenta 17 obiettivi per lo sviluppo sostenibile che mirano a realizzare i diritti umani e a interconnettere le varie dimensioni economiche, sociali ed ambientali. Uno degli obiettivi da raggiungere entro il 2030 è la protezione dell'ambiente dalla degradazione attraverso un consumo consapevole delle risorse, adottando misure per contrastare il cambiamento climatico e attuare politiche future per la mitigazione. A

questo proposito assumono rilevanza tutti quei sistemi volti a valorizzare le capacità produttive, l'occupazione e la produzione, garantendo al contempo la tutela della biodiversità e limitando l'impiego di sostanze chimiche come anticrittogamici, nocivi alla salute delle persone e all'ambiente. La tutela dell'acqua, del suolo e dell'aria diventa quindi una parte integrante di questo processo di sviluppo. A tal fine molti paesi sono giunti alla consapevolezza che la sostenibilità in agricoltura può rappresentare uno tra i più validi strumenti. La sostenibilità in agricoltura ha come obiettivo lo sviluppo e l'utilizzo razionale delle risorse, ottimizzando al meglio l'uso di queste ed evitando ogni tipo di spreco. Una definizione precisa e assoluta di agricoltura sostenibile è impossibile poiché questa deve essere concepita come il saper affrontare situazioni e cambiamenti con l'utilizzo di adeguate tecnologie, tecniche e conoscenze. Non si tratta quindi di un modello prefissato, ma un processo di costante apprendimento e adattamento che si adegua a diversi ambiti e situazioni nel rispetto dei diversi bisogni e di differenti contesti. Questo modello agricolo vuole favorire e stimolare nei consumatori la crescita di un atteggiamento alternativo ai modelli economici dominanti, incrementando la ricerca di nuovi modelli di sviluppo, soddisfacendo sempre la domanda agricola globale e garantendo comunque un reddito equo ai lavoratori.

Una delle risorse più utilizzate nell'agricoltura sostenibile è il compost. Per compost si intende, in maniera generica, un fertilizzante derivato dalla trasformazione dei rifiuti organici di vario tipo. Il suo utilizzo in agricoltura è estremamente efficace ed è per molti la soluzione da prediligere rispetto ai fertilizzanti chimici. Esistono vari metodi di compostaggio, tra cui quello più primitivo, cosiddetto passivo, utilizzato tutt'oggi in gran parte delle aziende agricole per il trattamento delle deiezioni animali. Questo consiste nell'accumulare la parte organica e lasciarla indisturbata per molti mesi senza influenzarne la degradazione e la trasformazione. Anche se ancora molto praticata, questa tecnica non è rilevante nel panorama biotecnologico moderno in cui predominano tre gruppi generali di metodi: il compostaggio in cumuli periodicamente rivoltati, il compostaggio in cumuli statici aerati, il compostaggio in bioreattori. I compost possono essere diversi per caratteristiche chimico-fisiche e per l'origine dei materiali da cui vengono generati. La caratterizzazione chimica del compost è generalmente basata su due criteri: il valore agronomico del compost e il controllo del contenuto di inquinanti organici ed inorganici. La valutazione considera in particolare il contenuto in azoto, fosforo, potassio ed elementi in traccia come rame, zinco, manganese, ferro, cobalto, molibdeno, etc., mentre per gli inquinanti esistono diverse leggi che descrivono le specifiche soglie nel compost.

Quest'ultimo aspetto è di enorme interesse presso l'opinione pubblica alla luce dei gravi fatti, persino penalmente rilevanti, continuamente alla ribalta della cronaca, connessi all'utilizzo di sostanze nocive e pericolose che nulla hanno a che vedere con il compost. Oltre a ciò, il compost presenta anche la capacità di ripristinare la fertilità del suolo, nonché di proteggere dall'impoverimento della frazione organica del terreno. Lo sviluppo di un modello agricolo imperniato sulla monocoltura, sulla monosuccessione e le forzature colturali dell'attuale sistema produttivo, sono fattori che hanno portato ad un deficit di sostanza organica in numerosi terreni coltivati. L'elevato fabbisogno di sostanza organica emerge chiaramente in tutti i comparti ed in tutte le zone a forte vocazione agricola. In questo contesto, l'utilizzo del compost in agricoltura contribuisce a far sì che gli scarti organici derivanti dalle diverse attività antropiche ritornino al terreno mantenendo adeguati livelli di fertilità, cosa che non è possibile ottenere con l'esclusivo ricorso a concimi chimici. Un ulteriore beneficio nell'utilizzo di questo materiale è la prevenzione di malattie nelle piante e l'incremento della crescita delle piante stesse. Il costante uso di questi compost produce infatti effetti positivi sulla crescita di germogli e radici e quindi un incremento di sviluppo della pianta, ma grazie ai loro effetti di inibizione dei patogeni e attivazione delle difese immunitarie della pianta, rappresentano anche una

alternativa ed un coadiuvante a fungicidi sintetici.

In molte aree di agricoltura eroica, come le Cinque Terre, la Penisola sorrentina e tantissime altre meno note ma altrettanto difficili, la gestione delle biomasse residue costituisce una sfida notevole. Una soluzione anche economicamente sostenibile consiste certamente nell'utilizzazione del compostaggio.

Con queste idee di base si è avviata la sperimentazione sugli scarti derivati dalla pulizia di aree forestali per la produzione di un ammendante compostato verde. Il processo si è sperimentato *in situ* nel Parco di Roccamonfina Foce Garigliano, dove sono stati assemblati fermentatori naturali, contenitori per il compostaggio

creati utilizzando i frascami derivanti dalle potature dei castagni stessi, al cui interno sono stati accumulati foglie, polloni, ricci e altri cascami, uniti a materiale derivante dalla pulizia delle sterpaglie e del sottobosco, e dalla lavorazione della legna. I cumuli sono stati poi ricoperti con uno strato di terreno spesso circa 5 cm per ritenere l'umidità e consentire l'isolamento termicamente, così da promuovere l'attività microbica che consentirà la trasformazione del materiale vegetale in compost. Questo fertilizzante può rappresentare una strategia promettente per l'adozione di sistemi di produzione ecosostenibili, sicuri e a impatto ambientale nullo o, meglio, addirittura positivo.



Il processo di compostaggio avviene già di per sé in natura, ma in maniera discontinua come, ad esempio, nella decomposizione naturale della lettiera del bosco e del sottobosco. L'ausilio di compostiere invece garantisce che il processo avvenga in maniera controllata, garantendo un corretto svilupparsi delle fermentazioni e quindi un prodotto finale dalle qualità desiderate.

I microrganismi responsabili della decomposizione della sostanza organica sono funghi, batteri, lieviti e attinomiceti che, sfruttando i componenti del terreno per le loro attività metaboliche, liberano anidride carbonica, acqua e sali minerali creando una massa

stabilizzata e ricca di humus e di elementi nutritivi. Per queste caratteristiche il compost rappresenta sicuramente un ottimo fertilizzante utile su svariate colture, che con una lenta degradazione della sostanza organica arricchisce il terreno portando molti benefici anche alla struttura, alla porosità, all'aerazione, migliorando i processi di azotofissazione e nitrificazione e trattenendo meglio i nutrienti, in modo tale che essi non vadano persi per percolazione, con ulteriore svantaggio per la qualità delle falde.

Infine, utilizzando materiali residui di origine diversa si contribuisce ad un virtuoso ciclo dei rifiuti, favorendo l'economia circolare e le produzioni sostenibili.



Il castagno (*Castanea sativa*), pianta originaria dell'Asia Minore, diffuso in tutta la zona del Mediterraneo, ad oggi rappresenta una considerevole fonte di reddito per i frutti e per la produzione del legno, oltre a ricoprire un ruolo importante nella tutela dell'ambiente nonché nella stabilità idrologica dei paesaggi collinari e montani. Dalla necessaria pulizia dei boschi di castagno si accumulano però molti residui come foglie, ricci, frutti, rami, polloni, radici e tutte le essenze tipiche del sottobosco, che vengono tradizionalmente bruciati sul posto provocando oltre ai ben noti danni all'ambiente anche il concreto pericolo di incendi. In questo contesto il compostaggio ottenuto da questa procedura di pulizia rappresenta un possibile approccio alla gestione sostenibile dei boschi di castagno ed una soluzione ecologicamente e tecnologicamente più efficiente per recuperare biomassa, limitando i possibili danni provocati dall'incendio di tali scarti. Inoltre, può essere considerato come un prodotto finale di alta qualità in agricoltura perché privo di xenobiotici e metalli pesanti e perché fornisce al suolo i microrganismi utili alla promozione e crescita delle piante.

Il processo di compostaggio realizzato in bosco, nei castagneti di Roccamonfina, è stato portato avanti per lungo tempo, anche oltre un anno. Questo particolare compost, grazie alle sue caratteristiche

fisico-chimiche e alla composizione microbiologica, ha portato ad un notevole incremento nella crescita e nella qualità delle piante. L'attività microbica coinvolta nel processo di compostaggio è riferibile a organismi batterici e fungini in grado di degradare i materiali lignocellulosici. Al suo interno sono presenti generi fungini come *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Mucor*, e specie procariotiche affiliate con Bacilli, Actino-batteri, Flavobatteri e g-Proteobatteri. Il processo di degradazione per ottenere questo prodotto è stato portato avanti in bosco, nei castagneti di Roccamonfina, Caserta, dove sono stati utilizzati i residui della pulizia dell'area come foglie, rami, bucce e corteccia per creare delle pile e lasciati a decomporre per lungo tempo, anche oltre un anno, fino alla completa formazione del compost maturo. La caratterizzazione delle popolazioni microbiche attive nelle diverse condizioni e repliche è stata operata attraverso l'uso di metodi molecolari di nuova generazione basati su tecnologie di sequenziamento massivo (High-Throughput Sequencing). Il DNA metagenomico estratto dai campioni di compost è stato sottoposto ad amplificazione PCR utilizzando primer per regioni specifiche per procarioti ed eucarioti. Gli ampliconi sono stati utilizzati per l'allestimento di librerie ed infine sequenziati. L'analisi bioinformatica di migliaia di sequenze ottenute ha permesso di raggruppare per l'assegnazione tassonomica a diversi livelli, permettendo,

così di stabilire l'incidenza dei diversi taxa microbici dominanti l'ecosistema.

Per quanto riguarda i procarioti sono risultati dominanti i phyla Actinobacteria e Proteobacteria, circa il 60-70% della biodiversità batterica totale, seguiti da Planctomycetes, Chloroflexi, Acidobacteria, Firmicutes e Gemmatimonadetes. Inoltre, sono presenti in tutti i campioni Actinomycetales, Rhizobiales, Acidimicrobiales, Solirubrobacterales, Pirellulales, Bacillales, Rhodospirillales

e Gemmatales.

Nell'analisi bioinformatica delle sequenze derivanti da miceti sono state identificati sette phyla, di cui tre con un'incidenza preponderante: Ascomycota, Basidiomycota e Mortierellomycota; mentre a livello di ordine, era possibile notare la presenza di dieci taxa, Agaricales, Eurotiales, Pleosporales, Polyporales, Sordariales, Hypocreales, Coniochaetales, Mortierellales, Xylariales, Helotiales.



Durante il processo di compostaggio è stata seguita inoltre l'evoluzione ed il contributo della microfauna, ed in particolare dell'artropodofauna. Tutti gli individui raccolti sono stati separati per morfospecie al microscopio ottico e fotografati ad alta risoluzione impiegando la tecnica image-stacking con assemblaggio tramite software Leica, al fine di realizzare un archivio microfotografico. I campioni, dopo essere stati identificati in via preliminare mediante l'utilizzo di chiavi sistematiche reperite in letteratura, sono stati conservati in etanolo a -20°C gradi, per poter effettuare successivamente l'indagine molecolare. I campioni sono stati sottoposti ad identificazione molecolare mediante tecniche di estrazione di DNA di tipo distruttivo e conservativo. La prima tecnica è stata realizzata tramite l'impiego di appositi kit (Host zero, Zymo Research), seguendo il protocollo suggerito dalla ditta produttrice. L'estrazione di DNA di tipo conservativo è stata eseguita con l'utilizzo di 40ul di Chelex (Bio-Rad) e 5ul di Proteinasi K (Sigma), incubazione a 55 gradi per circa 2 ore e recupero del surnatante dopo breve centrifugata a 12 000 rpm distruttivo e conservativo con l'impiego di Chelex e di Proteinasi K. L'analisi molecolare è stata eseguita tramite amplificazione di una regione della COI (Citocromo ossidasi subunità I) con i primer LC01490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HC02198 (5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'). I prodotti di

amplificazione sono stati controllati con corsa elettroforetica su gel di agarosio, e i campioni che hanno dato un'amplificazione pulita e non ambigua sono stati purificati tramite kit di purificazione (QIAquick PCR Purification Kit, Quiagen). Il prodotto purificato è stato quantizzato al QBIT, e sequenziato presso FINgenomics. Le sequenze nucleotidiche sono state analizzate nel database Genbank con l'utilizzo dell'applicazione BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) e BOLD (<https://www.boldsystems.org/>)



I risultati, in corso di analisi per completare l'identificazione delle specie e la loro evoluzione nel tempo, nonché il calcolo dei principali indici di biodiversità, hanno individuato specie di collemboli del genere *Folsomia*, acari dei generi *Lasioseius* e *Oppia*, ditteri del genere *Bradysia* e delle famiglie *Liimonidae* e *Hybotidae*, coleotteri dei generi *Monotoma*, *Oryctes*, imenotteri parassitoidi delle famiglie *Diapriidae*, *Scoliidae*, pseudoscorpioni del genere *Lamprochernes* e plattelminti del genere *Rhynchodemus*. La sicurezza sanitaria del prodotto è stata assicurata verificando, mediante conta batterica, la presenza di Enterobacteriaceae, streptococchi fecali e *Salmonella* spp., tutti risultano assenti a dimostrazione dell'elevata qualità del processo anche rispetto a questa fondamentale caratteristica.

Per valutare la qualità del compost, sono stati effettuati saggi di fitotossicità utilizzando semi di *Lepidium sativum*. L'indice di germinazione indica totale assenza di inibizione della germinazione.

Il terreno a cui viene aggiunto questo compost presenta una migliore stabilità strutturale ed un aumento della sua fertilità, grazie all'apporto di nutrienti, ma un ulteriore fattore di notevole interesse è la capacità soppressiva del compost di castagno verso *Sclerotinia minor* e *Rhizoctonia solani*. Tale attività nei confronti dei due patogeni è dovuta alla presenza di agenti putativi di controllo biologico e di rizobatteri appartenenti ai generi *Azotobacter*,

Pseudomonas, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Streptomyces* e *Actinomyces*. Per valutare l'attività soppressiva del compost di castagno sulle piante sono stati effettuati esperimenti *in vitro* e *in vivo*. I saggi *in vitro* sono stati analizzati utilizzando cinque diversi mezzi solidi: estratto in acqua di torba al 100%; di compost e torba al 50/50; di compost e torba al 30/70; ed estratto di compost al 100%. Dopo l'incubazione, sono state misurate la riduzione lineare di crescita di ogni patogeno e la percentuale di inibizione della crescita miceliare. Per valutare l'effetto del compost sulle piante sono stati messi a dimora semi di pomodoro in diversi substrati: 100% di torba come controllo (P); torba e compost in un rapporto di 1:1 (v/v) (PC) e 100% di compost (C). In entrambe le condizioni sperimentali di *in vitro* e *in vivo* il compost ha mostrato un'alta attività soppressiva contro *S. minor* e *R. solani*.

Per valutare l'effetto del compost di castagno sul benessere delle piante, sono stati valutati: area fogliare, lunghezza fuori terra e delle radici, biomassa secca di parte aerea e radici, e spessore della corona.

L'uso del compost come supplemento ha esercitato un effetto positivo sullo sviluppo delle piante, in particolare, l'aumento significativo delle parti aeree e la lunghezza delle radici.



L'attività soppressiva e protettiva del compost come integratore del suolo è stata valutata anche su foglie di pomodoro e lattuga. L'induzione della resistenza del compost in pianta è stata valutata attraverso bio-saggi con agenti patogeni su foglie recise.

Al fine di valutare l'effetto del compost sull'induzione di resistenza ad artropodi in piante di pomodoro è stato messo a punto un allevamento dell'afide *Macrosiphum euphorbiae*. Sul fitomizo è stato messo a punto un biosaggio valutando la sua sopravvivenza e fecondità per un periodo di 30 giorni su 12 piante controllo e 12 piante coltivate su compost di castagno. I dati sono stati analizzati statisticamente con il software Prism tramite l'analisi della sopravvivenza (log-rank test). La sopravvivenza tra i controlli e le piante su compost non hanno mostrato differenze significative, mentre per la fecondità le piante di compost hanno mostrato un incremento di circa il doppio rispetto ai controlli. Inoltre, la risposta delle piante all'infestazione dell'afide, sia su compost sia su terriccio, è stata valutata mediante analisi di Volatiloma (VOCs).

Analogo biosaggio è in corso sul lepidottero *Tuta absoluta*.

Attraverso un materiale semplice, quale lo scarto derivante dalla pulizia dei boschi di castagno, si può ottenere un prodotto finale di alta qualità per tutte le sue caratteristiche di promozione della crescita delle piante. L'adeguamento biotecnologico di metodi tradizionali apre potenzialmente incalcolabili strategie per il futuro nel campo della sostenibilità economica dei territori montani e delle aree marginali, in grado di assicurare il soddisfacimento dei bisogni dei consumatori che richiedono prodotti sempre più sicuri, di qualità e a basso impatto ambientale e che non compromettano la possibilità delle generazioni future di realizzare i propri bisogni. In sintesi, favorire "sistemi di produzione alimentare sostenibili e implementare pratiche agricole resilienti che aumentino la produttività e la produzione, che aiutino a proteggere gli ecosistemi, che rafforzino la capacità di adattamento ai cambiamenti climatici, a condizioni meteorologiche estreme e che migliorino progressivamente la qualità del suolo" Agenda ONU 2030.

- VENTORINO V. *et al.* Chestnut biomass biodegradation for sustainable agriculture, *BioResources*, 8,3,4647-4658, 2013.
- VENTORINO V. *et al.* Chestnut green waste composting for sustainable forest management: microbiota dynamics and impact on plant disease control, *Journal of environmental management*, 166,168-177, 2016.
- PARILLO R. Chestnut green waste “in situ” composting for sustainable forest management: biomass composting monitoring, microbiota dynamics, and plant defence induction. 2015, Joint international Ph.D. Italy - Chile in Environmental Resources Sciences.
- PARILLO R. *et al.* Use of compost from chestnut lignocellulosic residues as substrate for tomato growth, *Waste and Biomass Valorization*,8,2711-2720, 2017.
- VETTRAINO A.M. *et al.* Ozone gas as a storage treatment to control *Gnomoniopsis castanea*, preserving chestnut quality, *Journal of the Science of Food and Agriculture*,99,13,6060-6065, 2019.
- ROMANO I. *et al.* Development and application of low-cost and eco-sustainable bio-stimulant containing a new plant growth-promoting strain *Kosakonia pseudosacchari* TL13, *Frontiers in Microbiology*,11,557001, 2020.
- GOFFI V. *et al.* Utilizzo dell’ozono gassoso nella postraccolta della castagna, *ACTA Italus Hortus* ISSN 1127-3496,25,143-145, 2019 .
- MELCHIONNA G. *et al.* Sostenibilità Ambientale, Agricoltura e Qualità del Cibo TRANSLATIONAL MEDICINE@ UNISA 2019.
- BOSSI FEDRIGOTTI, V. *et al.* e servizi ecosistemici, *Castanea 2019*. Convegno Nazionale sul Castagno, 11-14 giugno 2019 San Michele a/Adige.
- ROMANO, I. *et al.* Probiotic activities and root colonization of new *Kosakonia pseudosacchari* strains isolated from wheat rhizosphere under stress conditions., “5th Conference on Microbial Diversity, “Microbial diversity as source of novelty” 25-27 September 2019, Catania.
- VENTORINO V. *et al.* Chestnut green waste composting for sustainable forest management, 7 Th International Conference On Microbial Diversity Agrifood Microbiota As A Tool For A Sustainable Future 2023.