

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse
Naturali e Ambiente

Corso di laurea magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie

**Valutazione degli effetti
del preparato biodinamico 501
sul vitigno Verdicchio nelle Marche**

Relatore:

Prof. Mario Malagoli

Correlatore:

Dott. Simone Vincenzi

Correlatore:

Dott. Adriano Zago

Laureando:

Giulio Masato

Matricola n. 1082302

ANNO ACCADEMICO 2014/2015

*“Quando cambiamo il modo di coltivare il nostro cibo, cambiamo il nostro cibo
cambiamo la società, cambiamo i nostri valori”*

(Masanobu Fukuoka)

INDICE	i
RIASSUNTO	iii
ABSTRACT	iv
Ringraziamenti	vii
1. Introduzione	1
1.1 Importanza della viticoltura e problematiche attuali	3
1.2 Diversi metodi di gestione del vigneto	5
1.2.1 Il metodo convenzionale	5
1.2.2 Il metodo biologico	6
1.2.3 Il metodo biodinamico	9
1.2.3.1 I preparati biodinamici	10
1.2.3.2 Estratti vegetali, tisane, decotti e difesa fitosanitaria	12
1.2.3.3 I sovesci	13
1.2.3.4 Il cumulo biodinamico (compostaggio)	13
1.2.3.5 Vinificazione	14
1.2.3.6 Il calendario biodinamico	15
1.3 Preparato 501 o "Cornosilice"	16
1.4 Il Silicio	19
1.5 Scopo del lavoro	21
2. Materiali e metodi	23
2.1 Schema sperimentale	27
2.2 Operazioni colturali eseguite durante la stagione vegetativa	31
2.3 Osservazioni fitopatologiche	32
2.4 Campionamento ed analisi del terreno	33
2.5 Trattamento con il preparato 501	38
2.5.1 Analisi della soluzione distribuita con il trattamento	40
2.6 Misurazioni morfo-metriche	40
2.7 Campionamenti	43
2.7.1 Campionamento fogliare	43
2.7.2 Campionamento degli acini	43
2.8 Analisi dei campioni vegetali in laboratorio	44
2.8.1 Analisi delle foglie	44
2.8.2 Analisi degli acini	47
2.9 Analisi statistica dei dati	51

3. Risultati.....	55
3.1 Andamento climatico della stagione vegetativa 2015: temperature e precipitazioni.....	57
3.2 Contenuto di Silicio nella soluzione distribuita con il trattamento	59
3.3 Risultati delle analisi del terreno	59
3.4 Risultati dalle misurazioni morfo-metriche.....	60
3.5 Risultati dalle analisi delle foglie	71
3.5.1 Estrazione delle clorofille	71
3.5.2 Analisi di Azoto, Carbonio e Zolfo al CNS	77
3.5.3 Analisi degli elementi minerali con ICP	79
3.6 Risultati dalle analisi degli acini.....	81
3.6.1 Zuccheri, acidità e polifenoli	81
3.6.2 Risultati dell'analisi con HPLC.....	89
4. Discussione.....	91
4.1 Effetti fisiologici a livello fogliare	93
4.2 Effetti fisiologici sulla maturazione del grappolo.....	94
4.3 Differenze riscontrate tra parcelle innestate e su piede franco	97
5. Conclusioni.	99
BIBLIOGRAFIA.....	103
APPENDICI	109
APPENDICE A - Dati meteorologici	109
APPENDICE B - Scala BBCH vite	111

RIASSUNTO

L'interesse nei confronti dell'agricoltura biodinamica negli ultimi anni sta crescendo, sia da parte dei produttori che dei consumatori. Numerosi sono infatti gli aspetti da considerare e le nuove sfide con le quali ci si deve confrontare in ambito agricolo. In tale contesto sta catturando l'interesse di molti questo approccio produttivo che guarda con attenzione alle complesse interazioni tra uomo, piante, suolo, ambiente e macrocosmo. L'agricoltura biodinamica persegue infatti un modello produttivo basato sulla concezione dell'azienda agricola quale organismo in equilibrio, sulla tutela dell'ambiente in cui essa si trova inserita, in particolar modo attraverso la salvaguardia della fertilità dei suoli, e sulla produzione di alimenti di elevata qualità.

Con questa prova sperimentale si sono voluti indagare gli effetti di uno dei principali "preparati" utilizzati in agricoltura biodinamica, il 501 o "cornosilice". Questo preparato si ritiene agisca sulla parte aerea della pianta stimolandone la capacità di assorbire la luce e quindi regolando una serie di meccanismi interni alla pianta, tra i quali la difesa da agenti patogeni, la risposta a stress biotici, la crescita vegetativa, la maturazione dei frutti. Lo studio è stato impostato in due vigneti marchigiani, ed ha previsto l'applicazioni di quattro trattamenti con il preparato 501 nel corso della stagione vegetativa 2015: dalla pre-fioritura fino a ridosso della maturazione. Durante questo arco temporale sono state effettuate una serie di osservazioni e misurazioni morfologiche ed analitiche al fine di valutare e comprendere meglio i suddetti effetti. Si è scelto in particolare di confrontare due vigneti, entrambi di Verdicchio, ma di età diverse, con la presenza all'interno di quello più giovane di una quota di piante innestate ed una restante parte su piede franco.

Una prima valutazione è stata effettuata direttamente in vigneto attraverso la misurazione di alcuni caratteri di tipo morfologico, durante il periodo di massima crescita vegetativa. In corrispondenza di ogni misurazione morfo-metrica sono stati inoltre raccolti campioni di foglie che successivamente sono stati analizzati in laboratorio per valutarne il contenuto in clorofille e la concentrazione di alcuni elementi. In seguito sono stati effettuati anche tre campionamenti di acini al fine di valutare gli effetti del preparato 501 sulla maturazione del grappolo.

Nel complesso delle valutazioni ed analisi effettuate sono emerse alcune risposte significative della pianta al trattamento biodinamico in oggetto, principalmente in relazione all'accumulo di clorofille e carotenoidi nelle foglie, e per quanto riguarda la maturazione del grappolo in relazione alla concentrazione di solidi solubili ed allo spessore delle bucce.

Si può dunque ritenere che alcune delle ipotesi sugli effetti del preparato 501 siano state confermate, soprattutto in relazione alla capacità di assorbimento della luce ed alla maturazione del grappolo. Nonostante ciò rimane ancora molto da indagare sui meccanismi interni alla pianta legati all'applicazione di questo preparato biodinamico. Sarebbe per di più interessante verificare queste osservazioni anche in ambienti e contesti viticoli diversi, ed approfondire l'indagine valutando anche altri parametri collegati alle risposte fisiologiche della pianta al cornosilice.

ABSTRACT

"Assessment of the effects of the biodynamic preparation 501 on Verdicchio grape variety in the Marche region"

Recently, both producers and consumers have been showing interest to biodynamic agriculture. The factors to consider and the new challenges that must be faced in agriculture are several. In this context, this approach that considers the complex interactions between humans, plants, soil, environment and macrocosm is capturing the interest of many people. Biodynamic agriculture indeed conceives the farm as a balanced organism. In particular it focuses on the protection of the environment, the preservation of soil fertility, and the production of high quality food.

The main objective of this work was the investigation of the effects of one of the main "preparations" used in biodynamic farming, the 501 or "horn-silica". This preparation is believed to act on the aerial part of plants stimulating their ability to catch light and then to adjust a series of internal mechanisms to the plant, including the defence against pathogens, the response to biotic stresses, the vegetative growth and the maturation of the fruits.

The study was set in two vineyards in the Marche region. The experimentation included the application of four treatments with the preparation 501 during the growing season 2015: from pre-flowering, until just before the maturation. A series of morphological and analytical observations and measurements were performed in order to assess and better understand the effects of the considered preparation. The effects on two vineyards, both of Verdicchio but of different ages, were investigated. The younger was characterized by the presence of some rows on rootstock and the remaining of ungrafted plants.

A first assessment was carried out directly in the vineyard by measuring some morphological characters during the period of maximum vegetative growth. For each morpho-metric measurement leaf samples were collected, and then analyzed to evaluate the contents of chlorophylls and the concentration of some significant elements. Afterwards three samples of grape berries were collected in order to evaluate the effects of the preparation 501 on the maturation of the bunch.

The evaluations and the analysis that were carried out revealed significant responses of the plant to the biodynamic treatment. In particular the accumulation of chlorophylls and carotenoids in the leaves were found to be relevant. Another significant finding was related to the maturation of the cluster, in terms of concentration of soluble solids and in relation to the thickness of the skins.

Some of the assumptions about the effects of the preparation 501 have been confirmed, especially the improved capability to absorb the light and the influences on the maturation of the bunch. However, the mechanism that produces these results inside the plants treated with the biodynamic preparation is yet to be investigated. Furthermore it could be interesting to verify these observations in different environments and viticultural contexts, and to deepen the investigation by considering other parameters which are related to the physiological responses of the plant to the horn-silica.

Ringraziamenti

Un primo ringraziamento va al prof. Mario Malagoli per avermi dato la possibilità di intraprendere questo lavoro, per avermi accompagnato nel corso della tesi, per il supporto, le competenze, gli spunti che mi ha fornito e la grande umiltà dimostrata.

Desidero ringraziare il dott. Adriano Zago ed il dott. Simone Vincenzi per la loro disponibilità, per il supporto concreto, e per essere stati un esempio attraverso la grande passione che entrambi mettono nel loro lavoro.

Grazie a Valeria, Corrado e Giovanni che sono prima di tutto amici sinceri. Grazie per avermi fatto intuire il vero significato di questo percorso, per i bellissimi momenti condivisi in questi anni, e per aver creduto in questo lavoro.

Grazie ad ognuno degli amici con cui ho condiviso un pezzo di strada in questi anni.

Nulla sarebbe stato possibile senza il sostegno della mia famiglia, mamma, papà, Davide e Gabriele. Grazie di cuore per avermi supportato sotto ogni aspetto. Ma soprattutto per ogni piccolo ed inconsapevole gesto d'affetto che mi avete donato.

Infine Roberta, che in questo cammino è stata il sostegno più grande, la mia ancora e la mia bussola in ogni momento. Grazie!

Dedico il tempo, l'impegno ed il sudore di questo lavoro ad Antonio.

Capitolo 1.
INTRODUZIONE

1.1 Importanza della viticoltura e problematiche attuali

Al giorno d'oggi uno dei termini più esasperati in ambito agricolo è "sostenibilità"; concetto al quale molti ricercatori hanno spesso dato un'accezione termodinamica, parlando di bilancio tra produzione e consumo di energia. Partendo da questo concetto, però, si può valutare l'efficacia di un sistema agricolo non solo in termini energetici, ma anche in termini ecologici ed economici. Intorno alla definizione di sostenibilità si possono infatti individuare i punti di forza e le problematiche attuali della viticoltura.

Prendendo in esame l'attuale ruolo della viticoltura, è necessario iniziare a focalizzare l'attenzione sulla sua importanza come risorsa nella salvaguardia e tutela del territorio, sia dal punto di vista ambientale ed ecologico, che da quello economico e culturale. Ciò significa che, rispetto ad altre coltivazioni erbacee ed ortofrutticole, la vite assume una posizione di rilievo nell'agricoltura italiana, in relazione alla sua capacità trainante nei confronti del resto del settore. Questo fatto, certamente legato a molteplici aspetti - culturali, storici, economici, ambientali, paesaggistici - ci permette di intuire l'importanza della viticoltura, sebbene non rappresenti di per sé una produzione primaria per l'alimentazione dell'uomo. Nel corso della storia dell'umanità infatti, la coltivazione della vite ha assunto nella società ruoli diversi, che hanno contribuito a determinarne l'attuale posizione di rilievo. Scegliere di produrre vino in territori particolarmente vocati è quindi "la cosa migliore e più naturale che l'uomo può fare (e che ha sempre fatto)" (Mazzilli, 2012).

Dal punto di vista economico il settore vitivinicolo è certamente uno dei settori trainanti in Italia, e sebbene si trovi continuamente ad affrontare nuove sfide con nuovi produttori e mercati emergenti, ciò è significativo per comprendere il ruolo che il vino sta assumendo anche in molti altri Paesi, prima estranei al mondo del vino.

L'Italia trova però i suoi punti di forza nelle profonde radici che la vite affonda in ogni angolo della penisola, e proprio questo legame strettissimo con il territorio ci permette di riconoscere l'importanza che la vite assume non solo dal punto di vista economico ma anche dal punto di vista culturale, sociale e paesaggistico. Parlare di turismo

vitivinicolo significa infatti valorizzare non solo i produttori e le loro aziende, ma anche il territorio in cui si trovano, le città e la loro storia, l'arte e la cultura del luogo.

Ciò dovrebbe bastare per comprendere l'importanza della viticoltura in un Paese come l'Italia, in cui storia, arte e cultura sono alla base di ogni settore economico, a partire proprio dalla produzione enogastronomica, fino all'artigianato ed ovviamente al turismo. Si aggiunge però un ulteriore aspetto di notevole importanza, in relazione a queste considerazioni sulla coltivazione della vite, ovvero la sua funzione nella tutela del paesaggio, sia dal punto di vista puramente estetico, che dal punto di vista ecologico ed ambientale. Una viticoltura sostenibile, in equilibrio con l'ambiente in cui si trova, contribuisce infatti positivamente al mantenimento della biodiversità, e ciò assume notevole importanza in un'ottica di "agricoltura multifunzionale". Nonostante non si possa dire che questa prospettiva sia stata al centro dello sviluppo agricolo moderno, "questo concetto, di natura etica, [...] é coerente col concetto che l'uomo stesso fa parte della "biodiversità" ed è responsabile della tutela di questo "capitale" inestimabile." (Burgio, 2014)

In relazione a ciascuno di questi cardini portanti della viticoltura, sorgono però anche le maggiori problematiche che deve affrontare la viticoltura moderna, ed anche in questo caso, per analizzarle e prenderle in esame, ci si può rifare al concetto di "sostenibilità".

La notevole diminuzione di sostanza organica nei terreni coltivati e dunque la necessità di una diversa gestione del suolo; la comparsa di nuove ampelopatie e di nuovi parassiti e la conseguente esigenza di impostare nuove strategie fitoiatriche; i cambiamenti climatici che comportano l'urgenza di nuovi approcci al bilancio idrico e nutrizionale della pianta, oltre a dinamiche di maturazione sempre più imprevedibili; sono solo alcuni degli aspetti agronomici che deve valutare chi coltiva la vite al giorno d'oggi, senza considerare tutte le nuove sfide economiche legate alla vendita nel vino, in risposta ai nuovi mercati ed alle nuove esigenze dei consumatori. Tali quesiti non vanno però esaminati singolarmente, bensì con un approccio globale, considerando il vigneto, ed ancor prima l'azienda agricola, come un "organismo" individuale costituito da molteplici e complesse interazioni. La scelta di una gestione ragionata dell'inerbimento dell'interfilare, con particolari specie erbacee e con determinati sfalci

o sovesci, ha effetti globali sul vigneto. Allo stesso modo anche la scelta di intervenire con lavorazioni profonde e periodiche del terreno, oppure diserbandando il sottofila, sono interventi che hanno effetti globali sul vigneto. E' dunque fondamentale partire da questo presupposto nell'affrontare tutte le problematiche, nuove e vecchie, che caratterizzano la viticoltura di oggi. Avere un approccio "multifunzionale", significa infatti gestire l'azienda agricola come un organismo individuale che persegue il proprio equilibrio, all'interno di un contesto agroambientale e culturale più ampio.

1.2 Diversi metodi di gestione del vigneto

In risposta a queste esigenze si sono inevitabilmente proposti diversi approcci alla viticoltura, con finalità a volte simili, in altri casi profondamente diverse, ma ciascuno caratterizzato dal focalizzare maggiormente l'attenzione su alcuni aspetti piuttosto che su altri. Si possono quindi distinguere principalmente tre metodi di conduzione del vigneto: convenzionale, biologico, biodinamico.

1.2.1 Il metodo convenzionale

La gestione convenzionale di un vigneto ha lo scopo di ridurre al minimo gli stress a cui sono sottoposte le piante: sia stress biotici (ampelopatie e parassiti), sia stress abiotici (carenza nutrizionale, carenza idrica). A tale scopo vengono utilizzati fertilizzanti ed agrofarmaci di sintesi, il cui utilizzo è regolamentato da direttive europee, decreti ministeriali, e normative del Servizio Fitosanitario Regionale.

La gestione di un vigneto convenzionale generalmente prevede: l'inerbimento spontaneo o artificiale dell'interfila, il diserbo chimico o meccanico del sottofila, la fertilizzazione minerale e concimazione organica, l'utilizzo di eventuali concimi fogliari e l'impiego di prodotti fitosanitari di sintesi (sistemici e di copertura) per la lotta alle malattie fungine ed ai parassiti che attaccano la vite. A questi si aggiungono interventi di cimatura, sfogliatura, diradamento dei grappoli, varie lavorazioni del terreno, sfalci e trinciature, ecc. che sono però pratiche, attuabili con tecniche diverse, sia in viticoltura convenzionale che biologica e biodinamica.

Il termine "convenzionale" associato ad un metodo produttivo agricolo, sta infatti ad indicare un sistema di coltivazione che si distingue da quello biologico principalmente per l'utilizzo di prodotti chimici di sintesi, quali fertilizzanti, agrofarmaci e diserbanti. E' infatti l'utilizzo di questi prodotti che caratterizza il metodo convenzionale, sebbene la Direttiva Europea 2009/128/CE imponga l'adozione di pratiche volte alla riduzione dei pesticidi e ad un loro "utilizzo sostenibile". Questa normativa promuove infatti l'adozione di metodi di difesa integrata, lotta biologica ed altri approcci alternativi all'utilizzo di quei prodotti, autorizzati, ma che è dimostrato che possano avere effetti negativi sul comparto idrico, sugli insetti utili e quindi sull'ambiente e sulla sua biodiversità.

Oltre a comprendere e prevedere le suddette pratiche agronomiche e viticole, a partire dal Regolamento UE 203/2012 esiste anche una distinzione tra vini convenzionali e vini biologici. Prima di tale regolamentazione infatti si poteva parlare esclusivamente di vino ottenuto "da uve biologiche" mentre ora è prevista anche una lista di additivi e coadiuvanti che non sono ammessi per la produzione di un vino che voglia ottenere la dicitura ed il marchio europeo di vino "biologico". Anche per quanto riguarda il lavoro di cantina dunque dal 1 agosto 2012 c'è una differenziazione tra metodo convenzionale e metodo biologico, in quanto quest'ultimo prevede maggiori limitazioni in termini di dosi e tipologie di coadiuvanti ed additivi ammessi.

1.2.2 Il metodo biologico

La viticoltura biologica si pone con maggiore attenzione di fronte ad aspetti quali l'equilibrio del vigneto e dell'ambiente circostante. Ciò significa partire da un miglioramento e mantenimento della fertilità del suolo, come presupposto per promuovere i naturali processi biologici, in modo da "sviluppare la monocoltura del vigneto all'interno di una policoltura, attraverso la promozione della biodiversità", come viene riportato nel testo "*Le Norme UE per la produzione di vino biologico*", realizzato dall' IFOAM EU Group (2013). Gli interventi agronomici che caratterizzano la viticoltura biologica vanno dunque esaminati in base al tipo di intervento ed al comparto interessato. Questi sono principalmente la lotta ad avversità di tipo biotico e

la gestione del suolo, che comprende sia lavorazioni che inerbimento, diserbo e concimazione.

Le pratiche di lotta biologica per la difesa della vite dai parassiti e da alcune malattie comprendono: tecniche di introduzione e/o mantenimento di insetti utili quali predatori e parassitoidi, controllo mediante microrganismi patogeni (virus, batteri, funghi, nematodi), utilizzo di biotecnologie applicate ovvero principalmente la tecnica dell'insetto sterile o auticidio (TIS), impiego di feromoni per la confusione sessuale (ad esempio nella lotta alle tignole). Tutto ciò ovviamente deve poggiare su l'attuazione di pratiche agronomiche volte a favorire un agroecosistema complesso ed equilibrato, come ad esempio l'inerbimento del vigneto, la presenza di siepi e fasce boschive e la riduzione degli interventi con anticrittogamici o insetticidi ad ampio spettro. Per quanto riguarda l'impiego di prodotti fitosanitari, quelli consentiti sono elencati nell'allegato II del Regolamento CE 889/2008. Oltre a sostanze di origine animale e vegetale, microrganismi e sostanze prodotte da microrganismi, vi sono anche sostanze di derivazione minerale ed i principali fungicidi, utilizzati contro peronospora e oidio, ovvero rame e zolfo. Per il rame va però sottolineato che, essendo un metallo pesante, è stabilito un limite massimo di 6 kg per ettaro all'anno.

Gli interventi di lavorazione e gestione del suolo si distinguono invece in: inerbimento, lavorazioni del terreno e concimazioni. L'inerbimento dell'interfilare è ormai una pratica largamente diffusa sia in vigneti biologici che convenzionali, che permette di avere moltissimi effetti positivi sulla struttura del terreno, sul controllo delle infestanti, e della vigoria della pianta, sull'accumulo di sostanza organica e sulla riduzione dell'erosione. Va però considerata la competizione tra la vite e le altre specie vegetali per quanto riguarda acqua e sostanze nutritive, ed in tale ottica diventa importante anche la gestione del sottofila. In ambito di viticoltura biologica si può intervenire in diversi modi nella gestione della flora spontanea del sottofila: con lavorazioni meccaniche per il controllo delle erbe spontanee, con sfalci periodici, con l'inerbimento non solo dell'interfila ma anche dello spazio sottofila. Ad ogni modo è vietato l'impiego di erbicidi chimici.

Le lavorazioni del terreno invece non vengono limitate dal Regolamento CE 889/2008, bensì vengono integrate alle pratiche agronomiche di sovescio, consociazione, concimazione, ecc. Nello specifico solitamente si eseguono lavorazioni di

arieggiamento e concimazione nel periodo post-vendemmia mentre le lavorazioni primaverili-estive sono di contenimento delle infestanti e quindi di gestione dell'inerbimento e dei sovesci.

Nell'allegato I del Regolamento CE 889/2008 per quanto riguarda la concimazione in agricoltura biologica, sono elencati nello specifico tutti gli ammendanti e concimi ammessi, e tra questi i principali utilizzati in viticoltura sono: letame maturo, sovescio con erbai polifiti, sarmenti di patata, vinacce e raspi, formulati organici di origine animale o vegetale, concimi minerali di origine naturale. Anche le concimazioni, in viticoltura biologica, non sono intese come un'operazione a sé, svincolata dal resto delle pratiche agronomiche, ma vengono programmate in un'ottica di mantenimento della fertilità del terreno. In tale senso l'agricoltura biologica si distingue da quella convenzionale: il suolo non è semplicemente un substrato nutritivo per la pianta, ma una risorsa che va conservata e migliorata per le generazioni future, infatti è compito di chi coltiva la terra cercare di comprenderne gli equilibri e le complesse interazioni fisiche, chimiche e biologiche.

La base nel processo di vinificazione per ottenere un vino biologico, viene individuata in un'uva di partenza di ottima qualità, al fine di poter ridurre al minimo gli interventi di cantina, fermo restando l'obiettivo di puntare alla massima qualità. La fermentazione può essere condotta da lieviti indigeni con la tecnica del "pied de cuve", oppure mediante l'inoculo di lieviti commerciali selezionati. Le scelte di vinificazione dipendono però da numerosi fattori, infatti ciò che distingue un vino biologico da uno convenzionale non è tanto la tecnica di vinificazione quanto la limitazione di alcuni interventi e correzioni in fase di trasformazione dell'uva in vino. L'esempio più noto ed evidente è il limite di solforosa totale consentita, che per i vini biologici è fissato a 150 mg/l per i bianchi e rosati, e 100 mg/l per i rossi, a differenza dei vini convenzionali che per legge hanno un limite a 200 mg/l per i bianchi e rosati ed a 160 mg/l per i rossi. Ciascun produttore che desidera ottenere la certificazione del biologico deve quindi scegliere un Organismo di Controllo per l'agricoltura biologica fra quelli accreditati ed un eventuale disciplinare privato.

1.2.3 Il metodo biodinamico

L'agricoltura biodinamica nasce in Europa all'inizio del XX secolo, in seguito agli spunti filosofici ed alle indicazioni pratiche date da Rudolf Steiner durante le conferenze tenute a Koberwitz (Brelsavia) in Polonia, nel giugno del 1924. Rudolf Steiner era un filosofo, fondatore dell'antroposofia, che diede numerosi impulsi in diversi campi del sapere: l'arte, la scienza, la medicina, la pedagogia e l'agricoltura.

Durante queste conferenze Steiner gettò le basi dell'agricoltura biodinamica, tracciandone le linee guida "scientifico - spirituali" (Steiner, 2014), e fornendo una serie di indicazioni per metterle in pratica. In seguito sono derivati numerosi approfondimenti, grazie a contributi di eredi ricercatori tra i quali figurano in Europa: Ehrenfried Pfeiffer, Harald Kabisch, Maria Thun, Leo Selinger, Friedrich Sattler, Manfred Klett, Eckard von Wistinghausen, Volkmar Lust, Claude Monzies, Xavier Florin, Francois Bouchet; mentre un notevole lavoro venne svolto in Australia da Alex Podolinsky (Masson, 2011).

Il metodo biodinamico, "osservando la natura, l'attività agricola e l'alimentazione umana da una diversa prospettiva", si basa infatti sulla "realizzazione di un "organismo agricolo" individuale inserito nel proprio territorio terrestre e cosmico (terroir), garantendo così la salubrità dei prodotti e l'equilibrio duraturo, nell'ottica della salute della terra, dell'agricoltura e dell'uomo" (Masson, 2011). Le basi su cui si fonda l'agricoltura biodinamica comprendono dunque: l'uomo ed il suo coinvolgimento personale nel lavoro in azienda; la produzione di alimenti di qualità per la nutrizione dell'uomo stesso; la salvaguardia di un suolo "vivo"; le relazioni tra l'organismo agricolo - e quindi nello specifico piante, animali e suolo - con le forze cosmiche, derivate da impulsi che si generano in seguito a specifiche opposizioni e congiunzioni tra la luna, i pianeti e la terra. La realizzazione di questo "organismo agricolo" viene quindi perseguita attraverso una serie di pratiche che hanno a che fare con: l'applicazione dei cosiddetti preparati biodinamici "da spruzzo" e "da cumulo", la diversificazione delle produzioni aziendali a tutela della complessità vegetale ed animale, l'allevamento di animali all'interno dell'azienda stessa, la tutela di un suolo fertile attraverso un'attenta gestione del terreno (arature superficiali, diserbo

meccanico, sovescio con leguminose, mantenimento dell'humus, ecc.) ed una specifica tecnica di compostaggio. Tutto ciò tenendo in attenta considerazione gli effetti delle suddette forze cosmiche.

1.2.3.1 I preparati biodinamici

I preparati biodinamici "da spruzzo" sono il 500 o "cornoletame" ed il 501 o "cornosilice". Entrambi vengono prodotti seguendo procedimenti molto specifici, e vanno dunque preparati all'utilizzo, distribuiti e conservati secondo determinate procedure. Il preparato 500 agisce a livello del terreno, stimolando l'attività microbica presente in esso e la crescita radicale delle piante, e viene infatti distribuito al terreno, in vari momenti dell'anno, dopo essere stato diluito in acqua. Il preparato 501 invece agisce sulla parte aerea della pianta al fine di rafforzare gli effetti della luce e del calore sulla crescita e fruttificazione della pianta stessa. L'applicazione avviene dopo diluizione in acqua, tramite gocce finissime spruzzate sopra la parete fogliare, e nonostante questo preparato venga applicato in momenti diversi rispetto al cornoletame, la loro azione è sinergica e secondo il metodo biodinamico vanno utilizzati entrambi al fine di ottenere una crescita equilibrata della pianta.

I preparati biodinamici "da cumulo", ovvero preparati con piante officinali per essere utilizzati durante la tecnica di compostaggio con il cosiddetto cumulo, sono invece:

- 502 o Preparato di Achillea
- 503 o Preparato di Camomilla
- 504 o Preparato di Ortica
- 505 o Preparato di Quercia
- 506 o Preparato di Tarassaco
- 507 o Preparato di Valeriana

Questi derivati vegetali, utilizzati nella formazione del cumulo di compost, hanno diversi effetti sul contenimento della temperatura di fermentazione, sulla riduzione della perdita di sostanza organica e sulla conservazione degli elementi nutritivi, come

fosfati e nitrati. Agiscono infatti come elementi di strutturazione e organizzazione delle sostanze in fase di compostaggio. Anche questi preparati vengono ottenuti seguendo procedure molto specifiche, ed allo stesso modo dei preparati "da spruzzo" devono essere conservati con grande cura fino al momento dell'allestimento del cumulo di compost nel quale vanno inseriti tramite dei fori.

A questi si aggiungono altri preparati come ad esempio:

- il Fladen: "preparato di fatta", ideato da Maria Thun e costituito da letame fresco, basalto e gusci d'uovo;
- il preparato 500K o "cornoletame compostato": viene ricavato da un'ulteriore compostaggio del preparato 500, accompagnato dall'impiego dei preparati da cumulo, per un tempo di 3-4 mesi;
- altri concimi naturali in forma liquida realizzati con ortiche, equiseto (508), e Consolida.

Attualmente l'utilizzo dei preparati biodinamici si basa su conoscenze empiriche e sull'adesione ad un metodo di gestione globale del vigneto piuttosto che ad un singolo principio attivo, pertanto l'interesse del mondo scientifico nei confronti del metodo biodinamico è marginale. Nonostante siano state condotte numerose prove in seguito agli spunti forniti da Steiner nel 1924, e ci siano stati studiosi ed agricoltori che hanno investito molte risorse in questo, il materiale bibliografico rimane comunque limitato. Alle evidenze che sono emerse dallo studio del metodo biodinamico, si associa tuttavia la difficoltà di approcciarsi scientificamente ad un metodo che si pone come obiettivo proprio la ricerca della complessità nel contesto agrario. Un'agricoltura che si approccia in modo globale nei confronti dell'ambiente in cui è inserita, considerando non solo i relativi fattori pedoclimatici e biotici che lo caratterizzano, ma anche le sottili relazioni con le "forze cosmiche", risulta infatti un ambito di studio complesso. Proprio da questa complessità nasce però l'interesse e la volontà di approcciarsi, seguendo il metodo scientifico, all'agricoltura biodinamica, partendo da prove già eseguite, ed accostandosi ad altri lavori condotti parallelamente sullo studio del preparato 501.

1.2.3.2 Estratti vegetali, tisane, decotti e difesa fitosanitaria

In agricoltura biodinamica l'utilizzo dei preparati "da spruzzo" e "da cumulo" rappresenta una "condizione di base per creare un equilibrio favorevole alla salute delle piante, le quali diventano sensibili a trattamenti dolci e naturali come l'uso degli estratti vegetali" (Masson, 2011). Esistono infatti diversi estratti, tisane e decotti ottenuti da numerose specie vegetali, che vengono usati sia preventivamente, che in modo curativo, contro parassiti e malattie delle coltivazioni agrarie. Tra le specie vegetali utilizzate ci sono: ortica, equisetto, salice, achillea millefoglie, corteccia di quercia, tarassaco, artemisia, camomilla, rafano, tanaceto, rabarbaro, calendula, erba cipollina, aglio, cipolla, ma anche foglie di pomodoro e di alberi da frutto. Ciascuna di queste essenze vegetali, preparata secondo precise indicazioni, può svolgere un'azione stimolante e regolativa nei confronti della crescita della pianta e delle proprie difese naturali, preventiva verso alcune malattie, repellente o persino insetticida nei confronti di determinati parassiti. Lo scopo di questi derivati vegetali, utilizzati nel metodo biodinamico, accompagna l'impiego dei suddetti preparati "da spruzzo", i quali possono ad esempio vedere regolato o potenziato il proprio effetto dall'utilizzo di alcuni di questi prodotti.

Per quanto concerne la difesa fitosanitaria del vigneto biodinamico è previsto anche l'utilizzo di rame e zolfo, i quali sono consentiti dal disciplinare di produzione Demeter, che certifica i prodotti realizzati secondo la metodologia biodinamica. Come nel biologico, anche in questo caso l'utilizzo del rame è limitato ad un quantitativo massimo di 15 kg di rame metallo nel corso di 5 anni, ovvero una media di 3 kg/ha all'anno, con una dose massima di 500 g per ogni trattamento. In tale senso le indicazioni riguardanti il metodo biodinamico sono volte ad una riduzione dell'utilizzo sia del rame che dello zolfo nella difesa da peronospora ed oidio, cercando di mettere in atto tutte le pratiche agronomiche e biodinamiche che possano favorire questa riduzione.

1.2.3.3 I sovesci

Un capitolo di notevole interesse in viticoltura biodinamica, per quanto riguarda la gestione del suolo, è quello dei sovesci. In base alle condizioni pedoclimatiche vengono scelti diversi miscugli di varietà da sovescio che vanno seminati, solitamente a filari alterni, nel vigneto. Gli effetti positivi del sovescio riguardano la protezione del suolo dall'erosione, la mobilizzazione degli elementi minerali del suolo ed il contenimento della lisciviazione dei nitrati solubili. Tutto ciò si traduce infatti in un miglioramento della struttura del suolo ed in un'eccellente umificazione della sostanza organica. Secondo il metodo biodinamico, dunque, la gestione del sovescio inizia con la semina in autunno o primavera, va accompagnata durante il ciclo dall'impiego dei preparati biodinamici, e si conclude con lo sfalcio e l'interramento parziale o completo della parte aerea. Al momento dello sfalcio si può però decidere di procedere diversamente: ad esempio con la raccolta ed utilizzo del sovescio come foraggio o anche, come spesso accade, con la distribuzione dello sfalcio come pacciamatura organica.

1.2.3.4 Il cumulo biodinamico (compostaggio)

Come già anticipato, l'azienda agricola biodinamica si costituisce "come una specie di individualità a sé stante, come un'individualità conchiusa in sé stessa" (Steiner, 2014), che deve quindi puntare ad essere più diversificata ed autonoma possibile. In tal senso l'azienda viene considerata "sana" quando "sia in grado di procurarsi il letame attingendo al proprio patrimonio zootecnico" (Steiner, 2014). Ecco dunque che un punto centrale e caratteristico è rappresentato dalla presenza di bestiame all'interno dell'azienda, in funzione della creazione ottimale del cumulo biodinamico per il compostaggio. Il compost in agricoltura biodinamica viene preparato creando il cosiddetto "cumulo" con scarti di origine vegetale (foglie, tralci di potatura, paglia, vinacce, ecc) e letame preferibilmente bovino. Questo cumulo viene coperto con paglia ed al proprio interno vengono inseriti i sopracitati preparati. Anche nel caso di questa pratica le indicazioni da seguire nella scelta del sito di allestimento, nel mescolamento del materiale, nella costruzione e nel rivoltamento del cumulo, sono indicazioni molto

precise e dettagliate. Una volta raggiunta la giusta maturazione del compost, questo viene distribuito in vigneto nel periodo immediatamente successivo alla vendemmia. Molto importante in questa fase è che la distribuzione del compost avvenga quando quest' ultimo si trova alla maturazione ottimale, affinché possa stimolare la vita del suolo esercitando le sue proprietà positive. Secondo il "*Manuale pratico di agricoltura biodinamica*" di Pierre Masson (2011), "un buon compost non deve sporcare le mani, deve profumare di terra buona e di sottobosco, senza puzzare di ammoniaca, di marcio o di bruciato", i materiali di partenza non devono quasi riconoscersi e la paglia deve sbriciolarsi ed essere diventata nera (Pfeiffer, 1981).

1.2.3.5 Vinificazione

Per quando riguarda il lavoro di cantina, come è logico che sia, non esiste una tecnica di vinificazione univoca che contraddistingue un vino biodinamico da un vino biologico o convenzionale. Anche in questo caso però esistono una serie di limitazioni e di indicazioni per la produzione di vini biodinamici, contenute nel documento "*Standards per la vinificazione Demeter in Italia*" (2013). Il rispetto di questi standard è ovviamente funzionale all'utilizzo del marchio internazionale Demeter, che controlla e certifica le aziende produttrici ed i relativi prodotti. Il disciplinare prevede dunque: raccolta manuale di uve certificate Demeter italiane; utilizzo di macchinari che rispettino l'integrità del processo di trasformazione dell'uva in vino (non sono ammesse presse continue, pompe centrifughe, decanter, ecc.); non sono consentite la pastorizzazione, la termovinificazione o l'aumento del grado alcolico; è ammesso il solo utilizzo di lieviti indigeni per la fermentazione ed è possibile controllare la temperatura in fase di fermentazione; i limiti di SO₂ totale nei vini con residuo zuccherino < 2 g/l sono di 90 mg/l SO₂ per vini bianchi e rosati e di 70 mg/l SO₂ per i vini rossi; è consentito esclusivamente l'utilizzo di bentonite come agente esterno per la chiarificazione e di acido tartarico per la correzione dell'acidità; non è ammessa l'aggiunta di prodotti di origine animale; le filtrazioni non possono scendere sotto 1 micron e non è consentito l'uso di tappi in silicone.

1.2.3.6 Il calendario biodinamico

"E' possibile praticare la biodinamica e giudicarne gli effetti senza preoccuparsi dei pianeti. La loro conoscenza però è un preziosissimo asso nella manica in viticoltura."

(Nicolas Joly)

L'aspetto che più contraddistingue l'agricoltura biodinamica dagli altri metodi di coltivazione, e dal quale ne derivano le connotazioni esoteriche, è certamente l'attenzione che viene posta alle influenze derivanti dalle cosiddette forze cosmiche. Steiner poneva infatti al centro dell'attività agricola l'esistenza di una corrispondenza tra microcosmo e macrocosmo, che diventano l'uno il riflesso dell'altro.

Per spiegare queste influenze sull'attività agricola, si ricorre alla distinzione dei quattro stati della materia, ciascuno dei quali è rappresentato da un determinato organo della pianta (Joly, 2002):

- stato minerale: radice;
- stato acquoso: foglia;
- stato della luce: fiore;
- stato del calore: frutto.

Ciascuna pianta risulta, sulla base di ciò, posta al centro di un duplice movimento verso il basso e verso l'alto, che rappresenta il risultato delle forze esercitate, sui diversi organi della pianta, dalle posizioni della Luna o degli altri pianeti rispetto alle costellazioni dello zodiaco, durante il corso dell'anno solare. "Gli angoli formati dalla posizione dei pianeti nei confronti della Terra possono stimolare una particolare qualità e sottolineare gli aspetti "acqua", "luce" o "calore" in maniera differente, secondo che si tratti di un pianeta interno (il cui anno è più corto del nostro) o di un pianeta esterno (con un ciclo annuale più lungo di quello della Terra)" (Joly, 2002). Ad esempio, nel caso della vite i momenti più favorevoli sono quelli legati alle forze di calore, benefiche per la fruttificazione, che vengono emanate dalle costellazioni dell'Ariete, del Leone e del Sagittario, formanti un triangolo equilatero (trigono).

Queste forze favorevoli alla fruttificazione possono derivare anche dai pianeti Mercurio e Saturno. Un esempio teorico, quindi, di disposizione dei pianeti, che determina un impulso colturale di gran beneficio per la vigna, nel periodo estivo è: Saturno davanti alla costellazione del leone, Mercurio in ariete e la Luna in sagittario. Tutte queste forze cosmiche vengono dunque considerate al momento dell'esecuzione di ogni singola pratica agricola. A partire dalla semina, la lavorazione del suolo, il compostaggio, l'utilizzo dei preparati biodinamici, i trattamenti, fino alla raccolta ed alla lavorazione e conservazione dei frutti, il calendario biodinamico fornisce indicazioni molto precise sull'influenza del macrocosmo in relazione alle suddette pratiche, ciascuna delle quali agisce a livello di determinati organi vegetali. In base a ciò può essere quindi deciso il momento ottimale per eseguire ogni lavorazione, sebbene "per la maggior parte dei lavori di campagna, le condizioni del suolo e quelle atmosferiche devono avere la precedenza sull'osservazione del calendario" (Masson, 2011).

1.3 Preparato 501 o "Cornosilice"

"Se invece, nel senso più profondo della parola, le piante vengono utilizzate per il nutrimento, cioè se si sviluppano in modo che le sostanze in loro si trasformino in alimenti per l'uomo e per gli animali, vi partecipano Marte, Giove e Saturno attraverso l'elemento silicico. L'elemento silicico apre l'essere della pianta verso le ampiezze cosmiche e ne stimola i sensi in modo da renderlo capace di accogliere dalla periferia cosmica quel che plasmando emanano i pianeti esterni."

(Rudolf Steiner)

Il preparato biodinamico 501 viene ottenuto da cristalli di quarzo frantumati fino all'ottenimento di una polvere molto fine, ovvero Silice allo stato colloidale. Nel periodo dopo Pasqua, questa polvere di quarzo viene impastata con acqua piovana ed inserita all'interno di corna di vacca, che vengono interrate per alcuni mesi fino ad estate inoltrata. Le corna devono essere di vacche biodinamiche che abbiano figliato almeno una volta. Tra fine Settembre ed inizio Ottobre le corna vengono quindi

estratte, il contenuto viene prelevato dal corno e conservato in barattoli di vetro, non ermetici, in luoghi esposti al sole.

Il cornosilice è un preparato essenziale per qualsiasi coltura agraria biodinamica, e la sua azione è complementare ed opposta a quella del cornoletame. Il preparato 500 stimola la radicazione e l'attività microbica nel terreno, mentre il preparato 501 esalta le forze di luce e di calore nella pianta. Agendo sulla parte aerea delle piante, regola infatti la crescita della vegetazione, stimolando o attenuandone il vigore durante il periodo stesso di crescita vegetativa (Pfeiffer, 1979). Per quanto riguarda la vite, questo preparato assume notevole importanza in quanto ha lo scopo di consentire una migliore relazione tra macrocosmo e microcosmo, risultando essenziale per la strutturazione interna della pianta, il suo sviluppo nel senso verticale, l'irrobustimento e la flessibilità. Si ritiene inoltre abbia effetti qualitativi sull'epidermide delle foglie e dei frutti poiché aumentandone la resistenza ne migliora la qualità nutrizionale, il gusto, l'aroma e la conservabilità (Masson, 2011).

Il quarzo, in quanto cristallo caratterizzato da una precisa geometria e dalla sua capacità di "accogliere" la luce, assume il significato biodinamico di "archetipo", ovvero di modello di crescita per la pianta. Il Silicio infatti, sebbene sia molto presente nel terreno e nelle piante, non è considerato un elemento essenziale nel nutrimento della pianta stessa, ma svolge un ruolo principalmente strutturale, conferendo rigidità, turgore e consistenza coriacea ai tessuti delle monocotiledoni. Alcuni prodotti fitostimolanti a base di silicio, utilizzati al di fuori del contesto biodinamico, hanno anche dimostrato un'azione sul miglioramento di alcuni aspetti fisiologici, come l'efficienza fotosintetica e la resistenza a stress biotici ed abiotici, ma anche su parametri qualitativi di uva e vino. "Tuttavia, le informazioni scientifiche relative ai meccanismi di azione, assorbimento e trasporto dell'elemento, in vite e in altre colture arboree, necessitano di specifici approfondimenti". (Tessarini et al, 2013).

Concentrandosi sul preparato biodinamico 501, questo viene impiegato in vigneto a partire dal raggiungimento della 5° foglia, fino all'epoca di pre-fioritura, con un numero di applicazioni variabile da 1 a 3 per stagione. E' inoltre possibile intervenire con successive irrorazioni nel caso di estati umide e piovose, per stimolare le difese della pianta nei confronti di malattie crittogamiche, oppure qualche settimana prima della raccolta per incrementare la qualità della produzione. Il trattamento va effettuato

nelle prime ore del giorno, dalla levata del sole fino alle 8 del mattino, in giornate limpide, con temperature al massimo di 22°C, con poco vento e possibilmente con la presenza di rugiada nel prato. Prima della distribuzione vanno dinamizzati 2-4 g/ha di 501 in 30-40 l d'acqua, per un'ora esatta di tempo. La dinamizzazione consiste nel creare energicamente dei vortici alternati in un senso e nell'altro, all'interno di un contenitore appositamente scelto, in modo che nel passaggio da un senso di rotazione all'altro si crei uno stato di "caos". Oltre a porre attenzione alla scelta del luogo dove dinamizzare, al contenitore ed alla tecnica di esecuzione è importante l'impiego di acqua di buona qualità: deve essere acqua piovana, o al massimo di fonte o ruscello (ma non di acquedotto), preriscaldata a 37°C tramite fornello a gas o a legna (non elettrico o a gasolio). Nel periodo immediatamente successivo alla dinamizzazione il preparato va distribuito creando una nebulizzazione ad alta pressione, che deve interessare l'aria sovrastante la vegetazione, affinché poi ricada sulle foglie. L'intento infatti non è quello di effettuare un trattamento di copertura della parete fogliare, bensì di formare una nebbia finissima al di sopra di essa, attraverso la quale penetri la luce. Per piccole estensioni è possibile utilizzare una semplice pompa a spalla per la distribuzione manuale, altrimenti sono stati sviluppati atomizzatori particolarmente indicati per la distribuzione meccanica, con pressioni che vanno da 2-3 bar fino ad un massimo di 12 bar. Essendo gli ugelli di distribuzione facilmente ostruibili solitamente viene consigliato di filtrare il preparato nella fase di riempimento del nebulizzatore (Masson, 2011).

Alcuni aspetti da considerare riguardo la distribuzione del corno di silice sono la possibilità del verificarsi di scottature fogliari o della caduta precoce delle foglie, nel caso di applicazioni in ore molto calde e soleggiate della giornata, utilizzo ad intervalli di distribuzione troppo ravvicinati, distribuzione su piante troppo giovani o già indebolite. Inoltre l'applicazione durante la fioritura può determinare problemi di disseccamento fiorale.

Il preparato 501 in viticoltura biodinamica ha dunque un ruolo centrale, che può esprimersi al massimo solamente se vengono seguite in modo preciso e scrupoloso tutte le fasi che intercorrono tra la sua preparazione e la distribuzione.

1.4 Il Silicio

Il Silicio è il secondo elemento più abbondante sul pianeta, dopo l'ossigeno, e compone il 26-27% della crosta terrestre (Trinchera, 2009). Nella soluzione circolante del suolo è presente principalmente come acido silicico (H_4SiO_4) in concentrazioni di 0,1 - 0,6 mM, ovvero nell'ordine di grandezza di altri elementi come Potassio, Calcio, e di altri elementi considerati essenziali nella nutrizione delle piante (Epstein, 1993). Nelle piante viene assorbito e raggiunge concentrazioni in un range che varia tra 1 e 10% della sostanza secca (Epstein, 1993), con eccezioni di piante in cui si raggiungono anche valori superiori (Equisitaceae). Nei tessuti vegetali è localizzato a livello delle pareti cellulari e specialmente nella buccia dei frutti, in cereali, cavolfiore, piselli, fragole, mele, soia, numerosi ortaggi, cipolla, aglio, ecc. (Trinchera, 2009; Ma, 2003 a). Nelle piante si possono infatti osservare diversi meccanismi di assorbimento ed accumulo del Silicio, ma successivamente questo elemento viene trasportato nella parte esterna della parete cellulare dell'epidermide o nei tricomi delle foglie, seguendo il flusso della traspirazione (Tessarini et al., 2013).

Diversi studi hanno evidenziato gli effetti benefici del Silicio sulle piante, sia a livello meccanico che fisiologico (Fauteux et al., 2005), ma nonostante ciò il Silicio non viene considerato come elemento essenziale per le piante ed infatti non viene generalmente fornito nei comuni formulati per il nutrimento vegetale.

Gli effetti del Silicio sulle piante interessano diversi aspetti, tra i quali assumono un ruolo importante i meccanismi di difesa da attacchi patogeni. Questo elemento in particolare, oltre a fornire una maggiore resistenza meccanica dei tessuti, sembra stimolare le difese della pianta (resistenza sistemica acquisita) e la produzione di fitoalessine attraverso la regolazione dell'espressione di alcuni geni vegetali collegati alla produzione di ormoni da stress (Fauteux et al., 2005), anche se i meccanismi precisi sono ancora sconosciuti.

Ulteriori effetti dell'elemento Silicio sulle piante, riguardano anche: meccanismi di difesa in alcune piante da insetti fitofagi (Hunt et al., 2008), regolazione della nutrizione minerale (Trinchera, 2009), regolazione della crescita (Epstein, 1993), resistenza a stress abiotici (Ma, 2003 b).

Recentemente sono stati anche confrontati in vigneto diversi prodotti a base di Silicio (gel di silice, decotto di equiseto, caolino ed anche *Bacillus subtilis*), con l'intento di valutare i loro effetti sulla qualità delle uve. In fase di maturazione si possono infatti incontrare diverse problematiche come il disseccamento del rachide, avvizzimento, scottature e disidratazione, legate a condizioni di stress idrico, stress termico, squilibri nutrizionali e stress salino (Tessarini et al. 2013). Osservazioni in diverse annate hanno, a tale proposito, evidenziato effetti positivi legati specialmente all'impiego del caolino, sulla riduzione della suscettibilità a stress abiotici come temperature troppo elevate, eccessiva irradiazione e siccità nel periodo estivo (Tessarini et al., 2013).

Sulla base di ciò, la nutrizione silicica delle piante può essere vista sotto una luce diversa, soprattutto nell'ambito della viticoltura biologica dove queste conoscenze di tipo agronomico, fisiologico ed ecologico dovrebbero essere alla base della ricerca di un ecosistema culturale sostenibile, che significa anche più efficace nella risposta agli stress biotici ed abiotici (Tessarini et al., 2013).

Ancor di più in agricoltura biodinamica il Silicio assume un ruolo centrale, e viene infatti individuato come una sorta di intermediario che rende la pianta capace di accogliere in sé le forze cosmiche esercitate da Marte, Giove e Saturno sulla Terra (Steiner, 2014). Secondo la visione steineriana infatti, la silice può essere considerata "come i nostri organi di senso i quali nulla percepiscono della loro natura, ma solo le cose esterne" ovvero come "l'esteriore e generale organo sensorio della terra" (Steiner, 2014). Da questa visione deriva dunque il particolare interesse verso l'elemento Silicio, ed anche la necessità di un preparato esterno, il 501 oggetto di studio, che favorisca e stimoli la connessione tra la pianta e le suddette forze cosmiche.

1.5 Scopo del lavoro

In questo lavoro è stata condotta una prova sperimentale per valutare i possibili effetti del trattamento con il preparato 501 durante la stagione vegetativa 2015. Lo studio è stato portato avanti in due vigneti a confronto, siti a Cupramontana (AN), entrambi di proprietà dell'azienda agricola, certificata biologica, "La Distesa".

Lo scopo di questo lavoro era l'osservazione e l'analisi dei possibili effetti del trattamento con il preparato "cornosilice" in vigneti a conduzione biologica, nei quali già da qualche anno si interviene con alcune pratiche biodinamiche, senza aver mai distribuito il preparato 501. Le scelte e l'interesse personale del produttore lo avevano infatti portato ad inserire l'utilizzo del preparato 500 negli interventi annuali di gestione del vigneto, osservando effetti positivi sulla struttura del suolo e più in generale sul benessere del vigneto. Tuttavia non era mai stato utilizzato il preparato 501 all'interno della superficie aziendale. La scelta del luogo in cui impostare la prova, era quindi legata all'intento di correlare, nel modo più diretto possibile, i risultati osservati, su determinati parametri, con l'impiego del preparato 501.

La valutazione degli effetti del trattamento è stata di fatto impostata con osservazioni e misurazioni di carattere morfometrico e con indagini di tipo analitico, al fine di studiare le risposte della pianta al trattamento sia sul piano morfologico che dal punto di vista fisiologico.

Capitolo 2.
MATERIALI E METODI

La prova sperimentale oggetto di questa tesi è stata condotta in due vigneti di Verdicchio situati nelle Marche, e più precisamente a Cupramontana (AN) in Contrada San Michele. Entrambi i vigneti sono di proprietà dell'azienda agricola, a certificazione biologica, "La Distesa". La sperimentazione ha interessato la stagione vegetativa 2015 nell'arco temporale che va da inizio Maggio a metà Settembre. Il comune di Cupramontana, dove sono situati i vigneti in oggetto, si trova all'interno della zona a denominazione dei Castelli di Jesi, e proprio qui dal 2015 è stata istituita una Denominazione Comunale per la produzione e tutela del "vino di Cupramontana De.Co." (Figura 2.1).

I vigneti si trovano ad un'altitudine di circa 350 m s.l.m., in un ambiente di media collina, a metà tra la costa adriatica e l'inizio dell'arco appenninico. In particolare il versante della valle del fiume Cesola in cui sono situati, è tra i più caldi del territorio di Cupramontana trovandosi con un'esposizione a pieno sud. L'ambiente si caratterizza dunque per una piovosità annuale media (700-800 mm) associata a temperature diurne estive piuttosto elevate. Si registrano infatti forti escursioni termiche sia fra estate ed inverno che fra il giorno e la notte. I suoli infine sono calcarei con argille, marne e gessi predominanti rispetto alla presenza di arenaria.

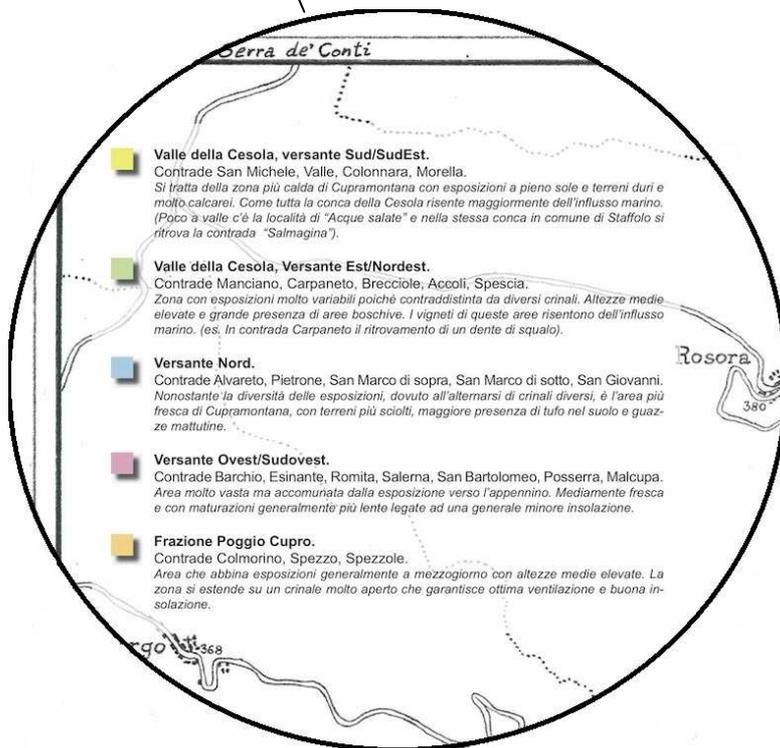
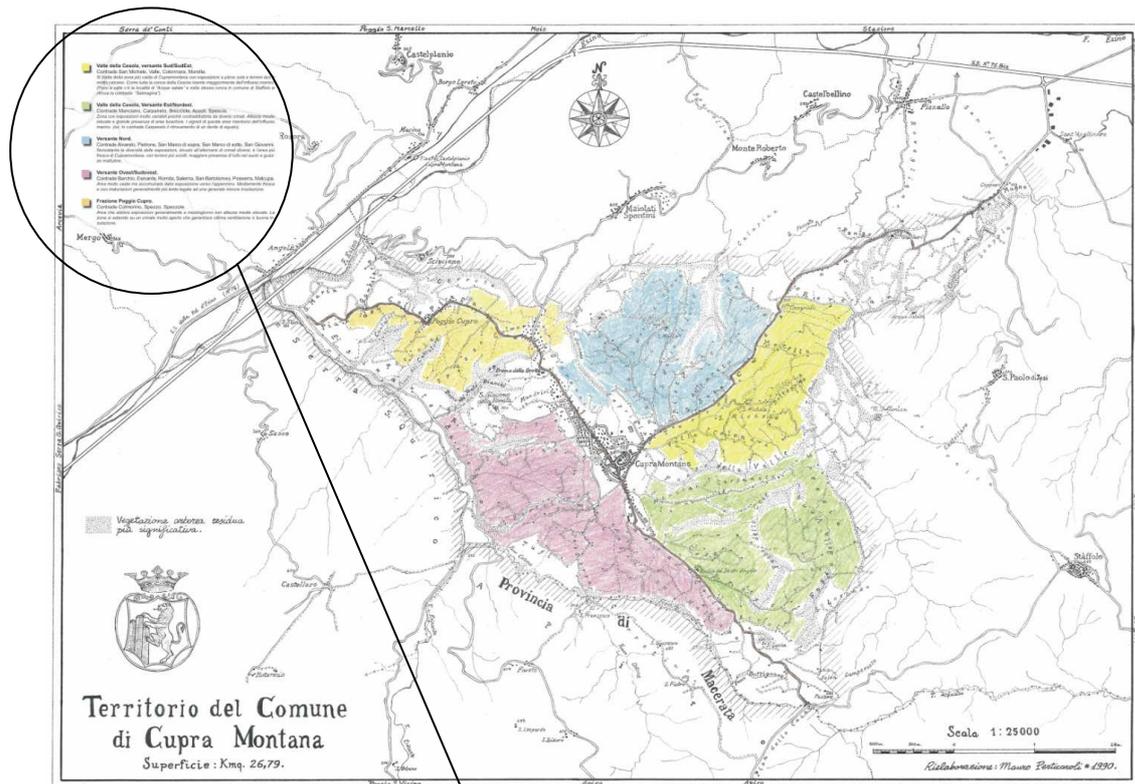


Figura 2.1 - Mappa del territorio comunale di Cupramontana (AN) con evidenziate le principali aree viticole, e la relativa descrizione dei diversi "cru".

2.1 Schema sperimentale

I due vigneti, in cui è stato sperimentato l'impiego del preparato biodinamico 501, sono separati di pochi metri l'uno dall'altro e dunque situati in condizioni pedoclimatiche equiparabili. I due appezzamenti sono stati, per comodità, chiamati con i seguenti nomi: il primo "Eremi" dal nome del vino che viene prodotto da questa vigna, ed il secondo "Nuovo Impianto" per essere un impianto più recente (Figure 2.2 e 2.3). Le informazioni di base riguardanti questi due vigneti sono riportate nella Tabella 2.1.

All'interno di entrambi i vigneti sono state quindi individuate, nel seguente modo, le parcelle sperimentali: nel vigneto Eremi sono stati esclusi 3 filari esterni per ciascun lato mentre nel vigneto Nuovo Impianto sono stati esclusi 6 filari per lato; ciò è stato fatto in modo da ottenere 22 filari per vigneto, tra i quali individuare le unità sperimentali. Essendo il trattamento in oggetto distribuito con irrorazioni di gocce molto piccole (nebulizzazione), è stato scelto di impostare a priori tra ogni coppia di filari sperimentali 2 filari di rispetto, in modo da evitare problemi legati alla deriva del prodotto dai filari trattati a quelli di controllo non trattati. Sono dunque risultate 6 aree sperimentali, ciascuna composta da due filari vicini, per ogni vigneto. Ad ognuna di queste porzioni di vigneto, si è quindi scelto di assegnare o due parcelle adiacenti trattate (T) o due parcelle adiacenti di controllo (C), grazie ad una randomizzazione eseguita con un foglio di calcolo (excel). Lo schema sperimentale ottenuto è il seguente: due vigneti all'interno dei quali sono individuate 12 parcelle sperimentali per ciascuno, delle quali 6 parcelle trattate e 6 parcelle di controllo distribuite a coppie in modo randomizzato, con ogni coppia separata dall'altra da un'area di rispetto, a sua volta rappresentata dall'area di due filari adiacenti (Figura 2.4 e Figura 2.5).



Figura 2.2 - Foto dei due vigneti a confronto: "Eremi" a sinistra e "Nuovo Impianto" a destra.

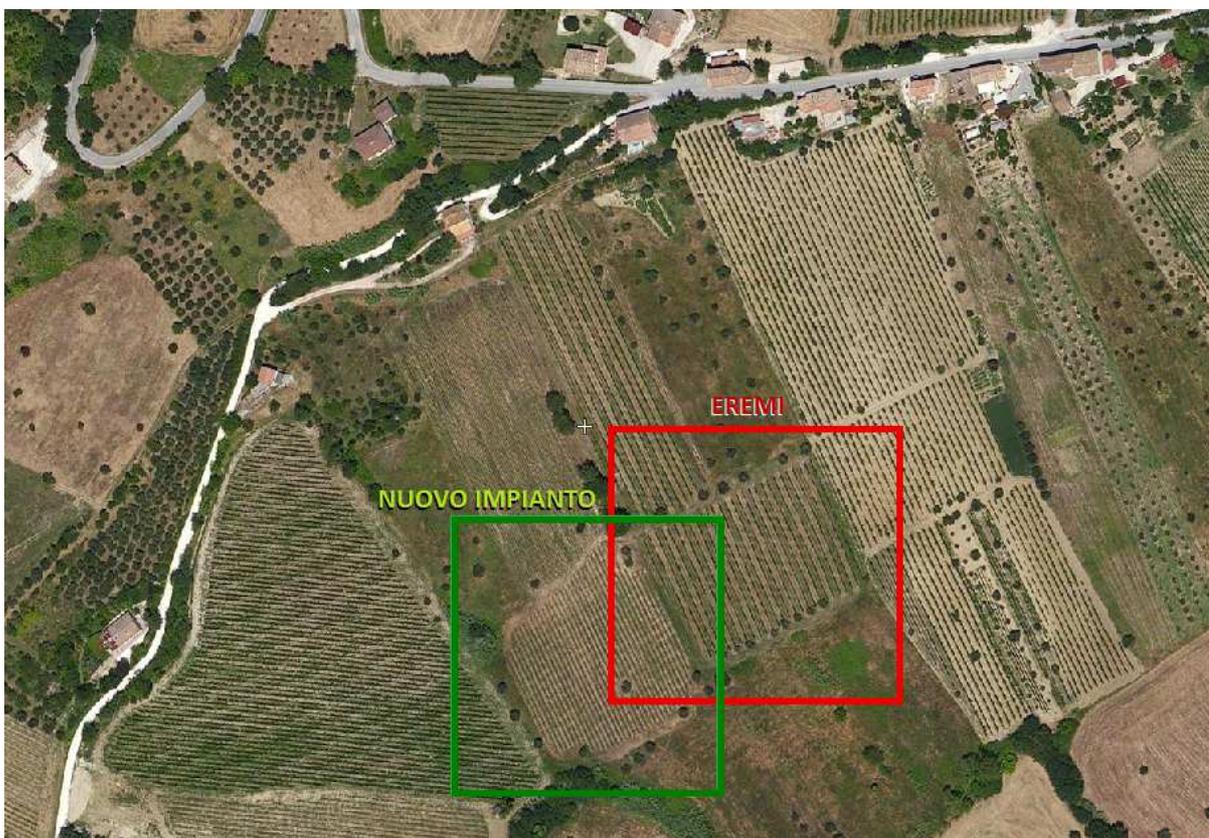


Figura 2.3 - Foto aerea dei due vigneti a confronto: "Eremi" in rosso e "Nuovo Impianto" in verde.

Tabella 2.1 - Informazioni di base relative alle caratteristiche dei vigneti nei quali è stata impostata la prova sperimentale.

	EREMI	NUOVO IMPIANTO
VARIETA'	Verdicchio (qualche pianta sparsa di Malvasia e Trebbiano, le ultime file verso ovest sono di Sangiovese)	Verdicchio
PORTINNESTO	<i>Sconosciuto</i>	50% Kober 5BB 50% piede franco
ANNO D'IMPIANTO	1980	2010
SESTO D'IMPIANTO	3 x 2 m ca.	2,10 x 0,80 m
DIMENSIONI VIGNETO	5000 m ² ca.	5000 m ² ca.
CEPPI/HA	1700-2000	6000
ESPOSIZIONE	Sud	Sud
FORMA D'ALLEVAMENTO	Guyot bilaterale	Guyot singolo
CARATTERISTICHE PEDOCLIMATICHE	Suolo argillo-calcareo con presenza di arenaria e inserzioni gessose (fondali dell'adriatico risalenti al miocene-pliocene inferiore). Esposizione calda con escursioni tra giorno e notte legate all'ambiente di media collina. Piovosità media intorno agli 800 mm annui.	
LAVORAZIONI ANNUALI	Sovescio con miscuglio di favino e vecchia seminati a filari alterni; trattamenti fitosanitari con rame idrossido, zolfo di miniera bagnabile e zolfo di miniera in polvere; utilizzo dei preparati biodinamici 500, 500K e Fladen colloidale.	

Nell'arco di tempo che ha interessato la prova sperimentale sono state effettuate delle misurazioni dirette in vigneto e sono stati raccolti campioni di materiale vegetale, per valutare morfologicamente ed analiticamente gli effetti del trattamento con il preparato 501 su diverse variabili dipendenti. In particolare sono state effettuate misurazioni di tipo morfo-metrico e sono stati raccolti campioni di foglie e di acini che successivamente sono stati analizzati in laboratorio. Dopo aver segnato con del nastro colorato i filari sperimentali, all'interno di ciascuno di questi sono state scelte in modo casuale le piante da campionare, escludendo le prime e le ultime piante di ciascuna fila. Per ogni filare sono state quindi individuate e segnate con nastro colorato 3 piante, sulle quali sarebbero state eseguite le misurazioni morfo-metriche e prelevati i campioni da analizzare. La scelta delle piante è stata casuale, ma trattandosi di solo 3 piante per filare, sono state escluse dalla scelta le piante a crescita stentata e quelle eccessivamente vigorose. Infine a ciascuna delle tre piante è stata attribuita una lettera identificativa: a partire dalla testa del filare sono state assegnate rispettivamente le lettere X, Y e Z. Complessivamente quindi, sia nel caso delle misurazioni che dei campionamenti, il numero totale di repliche è risultato essere di 72, ovvero 36 per ciascun vigneto: 3 campioni per filare e 12 filari oggetto di studio (dei quali 6 trattati e 6 di controllo). Successivamente però, in fase di analisi in laboratorio, si è scelto di raggruppare i campioni per filare in modo da ottenere misurazioni più omogenee, acquisendo quindi 6 repliche per tesi, in ciascun vigneto. Questi numeri sono risultati compatibili con i costi ed il tempo impiegato in campo per la raccolta e per le successive analisi di laboratorio, e sono pertanto stati confermati.

2.2. Operazioni colturali eseguite durante la stagione vegetativa

Nel corso della stagione vegetativa sono state eseguite delle pratiche agronomiche comuni ad entrambi i vigneti, a partire da Novembre 2014 quando è stato effettuato un primo passaggio con il preparato biodinamico 500K e nello stesso mese la semina del sovescio a filari alterni, con un miscuglio di veccia e favino, lasciando un inerbimento spontaneo nelle altre file. Nel corso della stagione il sovescio è stato trinciato due volte, a metà Maggio ed a fine Luglio, sempre a file alterne. A Maggio è

stato effettuato un passaggio con il preparato Fladen colloidale di Maria Thun, e quindi un secondo passaggio con il corno letame (500). Per quanto riguarda la gestione della vegetazione sono stati effettuati normali interventi di potatura verde, senza intervenire mai con cimature bensì attorcigliando gli apici dei tralci lungo il filare. La gestione del sottofila è stata improntata con interventi "manuali" di calpestamento delle erbe spontanee al fine di lasciare più spazio alle piante giovani nei momenti di maggiore stress, ed effettuando quindi una sorta di pacciamatura.

La difesa fitosanitaria all'interno dell'azienda è da diversi anni basata sul solo impiego di rame e zolfo. Nello specifico dell'annata oggetto di studio, sono stati effettuati 2 trattamenti con zolfo in polvere (uno a fine Aprile ed uno a metà Luglio) e 7 con zolfo bagnabile tra Maggio e Giugno; per quanto riguarda il rame invece sono stati effettuati 8 trattamenti totali con rame idrossido (22% di rame metallo) per un totale di poco più di 2 kg/ha distribuiti durante tutto l'anno. Per quanto riguarda invece l'aspetto antiparassitario non viene effettuato nessun intervento specifico, bensì l'insieme delle pratiche di gestione dell'intero organismo aziendale è volto a favorire un ambiente complesso ed equilibrato.

2.3 Osservazioni fitopatologiche

Durante le epoche di campionamento fogliare e degli acini sono state effettuate osservazioni della vegetazione e dei grappoli al fine di rilevare la presenza di danni da patogeni o da parassiti della vite. L'intento iniziale prevedeva infatti di valutare i possibili effetti del preparato 501 sulla stimolazione delle difese interne della pianta da patogeni (Tessarini et al, 2013) e da altri parassiti (Hunt et al, 2008). Di fatto la stagione non ha evidenziato particolari attacchi da patogeni: ad inizio stagione si sono osservate pochissime "macchie d'olio" sulle foglie, ed anche più avanti nel corso della stagione i grappoli attaccati da peronospora larvata e da oidio sono risultati essere in percentuali non rilevanti. Alla vendemmia lo stato sanitario dell'uva era infatti ottimale, non essendosi presentate nemmeno le condizioni idonee per lo sviluppo di botrite o di marciumi acidi.

Per quanto riguarda la presenza di parassiti della vite gli unici sintomi osservati sporadicamente in alcune piante all'interno dei due vigneti sono derivati da attacchi di *Colomerus vitis*, agente dell'erinosi della vite. In nessuno dei suddetti casi è stato pertanto possibile effettuare osservazioni rilevanti sul confronto tra parcelle trattate e testimone, per quanto riguarda la presenza di malattie.

2.4 Campionamento ed analisi del terreno

Al fine di verificare che i due vigneti si trovassero in condizioni equiparabili, sono stati raccolti dei campioni di terreno da entrambi i vigneti e quindi analizzati in laboratorio. La procedura seguita per il campionamento ha previsto l'eliminazione del cotico erboso con una pala, l'escavazione di una buca profonda 20 cm e dunque il prelievo del campione di terreno. Per ciascun vigneto sono stati scelti in maniera casuale 4 punti di campionamento, che comprendessero sia la parte alta che la parte più bassa di ciascuno, e sono quindi stati mescolati i 4 campioni in modo da avere un unico dato che fosse più rappresentativo possibile del vigneto. In totale sono stati raccolti circa 4 kg di terreno per ogni vigneto.

I due campioni finali di terreno, ciascuno rappresentativo di un vigneto, sono stati lasciati a seccare per quattro giorni e quindi pestati in un mortaio e setacciati. Una parte è stata setacciata a 2 mm per la determinazione della granulometria e del carbonio organico, ed una parte è stata invece setacciata a 500 µm per l'analisi al CNS.

Determinazione di Carbonio, Azoto e Zolfo

Per l'analisi degli elementi in oggetto è stato utilizzato un analizzatore elementare CNS (VARIO MACRO, ELEMENTAR) il cui funzionamento si basa sul metodo Dumas. Sono dunque stati preparati i campioni pesando 200 mg di suolo e 200 mg di triossido di tungsteno (WO_3). Questi sono stati racchiusi in apposite "pastigliette", create con piccoli fogli di stagno. Per ciascuno dei campioni è stata effettuata una replica. Inoltre, per la determinazione della retta di calibrazione, sono stati creati 5 standard costituiti

da sulfanilamide (un reagente a concentrazioni note: N=16,23%; C=41,62% e S=18,61%) e triossido di tungsteno in rapporto 1:2 (40 mg sulfanilamide + 80 mg WO₃). Le reazioni che avvengono nello strumento possono essere riassunte nel modo seguente: a livello del tubo di combustione, le alte temperature (1150°C) e la presenza di O₂ (30 ml/min per 30 s e 100 ml/min per 120 s) portano all'incenerimento del campione. Inoltre, tramite il successivo passaggio su catalizzatore nel tubo di post combustione (contenente CuO e Pt come catalizzatore), si verifica la completa ossidazione del campione con la trasformazione di tutte le sostanze organiche ed inorganiche in prodotti gassosi (NO_x, CO₂, SO₂). Questi prodotti sono quindi trasportati da un flusso di He (impiegato come gas carrier) fino al detector. La separazione di NO_x, CO₂ e SO₂, resa necessaria dall'utilizzo di un detector a conducibilità termica non specifica, viene effettuata "bloccando" la CO₂ e la SO₂, per adsorbimento, a livello di specifiche colonne riscaldabili, mentre i NO_x vengono rilevati dal detector. Questa rilevazione corrisponde al primo picco registrato dallo strumento. In seguito, la colonna della CO₂ viene riscaldata a 230°C determinando la liberazione del composto, che in questo modo può essere rilevato dal detector, e si ha infatti la registrazione del secondo picco. Segue il riscaldamento della colonna della SO₂ a 210°C con il conseguente rilascio della molecola. Anch'essa, una volta rilevata dal detector, determinerà il terzo picco di lettura. La retta di calibrazione, generata dagli standard con la sulfanilamide, consente allo strumento di restituire direttamente i valori in percentuale in peso degli elementi (C, N e S) presenti nel campione.

Determinazione della granulometria

Per l'analisi della granulometria del terreno è stato applicato il Metodo dell'idrometro di Bouyoucos (1936), che consiste nel misurare la massa volumica di una sospensione di suolo ed acqua dopo un tempo di sedimentazione prestabilito, risalendo successivamente alla distribuzione delle particelle elementari di dimensione diverse.

Il procedimento prevede lo scioglimento di 50 g di campione di suolo in 100 ml di sodio esametafosfato (35,7 g/l), la cui azione chimica disperdente sommandosi a quella di un agitatore meccanico consente di liberare tutte le particelle argillose contenute nel campione. La soluzione viene infatti lasciata ad agitare, all'interno di un tubo di

plastica chiuso, per due ore. Al termine di questo tempo tutto il contenuto viene trasferito all'interno dell'apposito cilindro di Bouyoucos, portando a volume fino alla prima tacca del cilindro, aggiungendo acqua deionizzata. Segue quindi un'operazione di omogeneizzazione della soluzione tramite 20 "doppi capovolgimenti" del cilindro tappato, al termine dei quali inizia il vero e proprio processo di sedimentazione delle particelle sul quale si fonda questo metodo. Secondo la "Legge di Stokes" esiste infatti una correlazione tra la velocità, e quindi il tempo, di sedimentazione delle particelle in un fluido, in relazione alle caratteristiche del fluido ma anche al raggio ed al peso specifico della particella stessa.

Al termine dei capovolgimenti è partito un cronometro per effettuare una prima misura dopo 4 minuti esatti, che corrispondono al tempo di sedimentazione della sabbia, ed una seconda misurazione dopo 2 ore, che corrispondono invece al tempo di sedimentazione del limo. Trascorso il primo tempo è stato infatti immerso l'apposito densimetro nel cilindro per leggere la misura (in g/l) corrispondente alla concentrazione in sospensione di limo + argilla (A1); dopo due ore invece la lettura ha restituito la concentrazione della sola argilla (A2). Ciò ha permesso di determinare per differenza la concentrazione di ciascuna delle componenti granulometriche dei campioni di suolo.

Al fine di correggere i valori sulla base della viscosità e densità dell'esametafosfato è stata effettuata una prova parallela con un bianco, riempiendo il cilindro con 100 ml di sodio esametafosfato e portando a volume con acqua deionizzata. Misurando anche in tale cilindro la densità ai due tempi di rilievo è stato determinato il fattore di correzione (C1). Rilevando inoltre la temperatura ambiente all'interno di questa soluzione è stato possibile calcolare un ulteriore fattore di correzione legato alla temperatura (C2). Per la determinazione in percentuale delle frazioni granulometriche sono stati quindi effettuati i seguenti calcoli:

- ARGILLA: $(A2 - C1 \pm C2)$
- LIMO: $(A1 - C1 \pm C2) - (A2 - C1 \pm C2)$
- SABBIA: $50 - LIMO - ARGILLA$

Essendo però partiti da 50 g di suolo, i valori sono stati moltiplicati per due al fine di ottenere i valori in percentuale. In base dunque alle frazioni granulometriche determinate è stato possibile classificare i campioni di suolo sulla base delle classi riportate nel triangolo della tessitura (Figura 2.6).

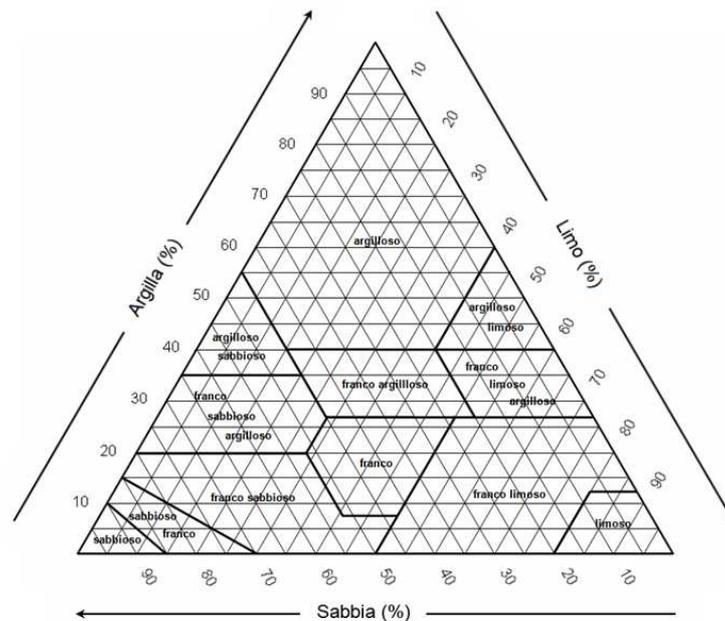


Figura 2.6 - Triangolo della tessitura per la classificazione dei suoli sulla base delle frazioni in percentuale di sabbia, limo e argilla.

Determinazione del carbonio organico

Per la quantificazione del carbonio organico all'interno dei due campioni di suolo è stato utilizzato il Metodo Walkley - Black (1934). Tale metodica si basa sulla completa ossidazione del carbonio organico ad anidride carbonica, mediante l'impiego di una soluzione di bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) 1N, ed acido solforico (H_2SO_4) concentrato al 96%. In seguito a questa reazione, la quota di bicromato di potassio che non ha reagito viene determinata per titolazione con ferro (II) solfato, accertando il punto di viraggio con un opportuno indicatore di ossidoriduzione (Violante, 2000).

E' stato pesato 1 g di suolo e trasferito all'interno di una beuta da 500 ml. Sotto cappa sono stati aggiunti 10 ml di bicromato di potassio e 20 ml di acido solforico. Quest'ultimo, diluendosi nel bicromato, produce una reazione esoergonica che libera

calore, ed in questo modo avvia la reazione di ossidazione tra bicromato e carbonio organico. Dopo 30 minuti di attesa, tempo di completamento della reazione, la soluzione è stata raffreddata con 100 ml di acqua al fine di bloccare la reazione stessa. Si è quindi proceduto con l'esecuzione della titolazione con ferro (II) solfato, aggiungendo preventivamente 3 ml c.a. di acido ortofosforico (H₃PO₄) all'85% e qualche goccia di difenilammina. L'acido ortofosforico è servito per mantenere un ambiente acido ed evitare dunque precipitazioni all'interno del campione, la difenilammina invece è stata utilizzata come indicatore titolometrico, che ha indicato il punto di viraggio con la colorazione verde, passando per il blu. Per la determinazione del carbonio organico in percentuale è stata quindi applicata la seguente formula:

$$C.O. (\%) = \frac{(ml K_2Cr_2O_7 \text{ iniziali} - (ml FeSO_4 \text{ usati} * Fc)) * N * PeqC}{\text{peso campione}} * 100$$

dove:

ml K₂Cr₂O₇ iniziali = 10 ml di bicromato di potassio

ml FeSO₄ usati = ml di ferro solfato utilizzati per la titolazione

Fc = fattore di correzione calcolato grazie alla titolazione di un bianco, come rapporto tra i ml teorici di FeSO₄ per la titolazione del bianco, ed i ml effettivamente impiegati:
10/10,3 = 0,97

N = normalità = 1

PeqC = peso equivalente del carbonio (Peso atomico/valenza) = 12/4 = 3

Peso campione = peso del campione di suolo in mg

Infine per trasformare il contenuto di carbonio organico in percentuale di sostanza organica, è stato considerato che il carbonio nella sostanza organica si assume sia il 58% e la parte restante sia costituita da idrogeno e ossigeno; pertanto:

$$S.O. (\%) = C.O. (\%) * \frac{1}{0.58}$$

2.5 Trattamento con il preparato 501

La prova sperimentale ha previsto l'applicazione di 4 trattamenti con il preparato 501 (Tabella 2.2): i primi due trattamenti sono stati effettuati in pre-fioritura, il terzo in fase di pre-chiusura del grappolo, il quarto circa due settimane prima della raccolta. Il preparato 501 (Cornosilice) è stato acquistato dalla Fondazione "Le Madri". Nella fase di dinamizzazione, sono stati utilizzati 25 l di acqua e 3,5 g di preparato 501, ma solo una parte del volume totale è stata distribuita con il trattamento. Essendo infatti la superficie totale da trattare di 1008 m² nel vigneto Eremi e di 882 m² nel vigneto Nuovo Impianto, si è calcolata la dose esatta di soluzione da distribuire: 3 litri nel primo vigneto e 2,65 litri nel secondo. Il volume di prodotto che è avanzato dalla dinamizzazione non è invece stato utilizzato per la prova.

Non essendo l'azienda dotata di un sistema di raccolta e stoccaggio dell'acqua piovana, per la diluizione del "cornosilice" è stata utilizzata acqua di provenienza diversa in base al momento del trattamento: per il primo trattamento è stata utilizzata acqua piovana con una parte d'acqua di fonte, mentre gli altri tre trattamenti è stata utilizzata acqua piovana. L'acqua, in ogni caso, è stata riscaldata a circa 37°C tramite un fornello a gas e quindi trasferita nel contenitore predisposto per la dinamizzazione.

Una vecchia barrique, a cui era stato tolto il fondo, è stata disposta verticalmente ed utilizzata come contenitore per la dinamizzazione del preparato 501. Questo processo, iniziato con le prime luci dell'alba, è stato eseguito manualmente, con un bastone di legno, per esattamente 60 minuti in modo continuativo. Al termine di questo processo è stata trasferita la quantità di prodotto da distribuire all'interno di una pompa a spalla, filtrando la soluzione in ingresso in modo da evitare la presenza di residui che potessero intasare l'ugello.

La distribuzione è dunque avvenuta nella mezz'ora immediatamente successiva al termine della dinamizzazione, creando una nebulizzazione al di sopra della parete fogliare. Il trattamento è stato effettuato irrorando contemporaneamente, ovvero in un solo passaggio, le coppie di filari vicini, corrispondenti alle parcelle sperimentali. A tale proposito, al fine di stabilire la velocità a cui procedere per distribuire la dose voluta, sono state effettuate delle prove preliminari di distribuzione: la pompa a spalla

è stata caricata d'acqua, si è proceduto all'irrorazione di due filari in un unico passaggio, e si è pesata l'acqua rimasta nella pompa in modo da capire se il volume distribuito fosse troppo o troppo poco, e se fosse quindi necessario aumentare o ridurre la velocità di distribuzione.

Tabella 2.2 - Informazioni riguardanti i quattro trattamenti effettuati con il preparato oggetto di studio.

TRATTAMENTO	DATA	EPOCA FENOLOGICA	DINAMIZZAZIONE e NEBULIZZAZIONE (orario)	CONDIZIONI METEOROLOGICHE
I Trattamento	13/05/15 (Luce *)	Pre-fioritura BBCH 55 - 57**	D: 5.30 - 6.30 h N: 6.45 - 7.15 h	Cielo sereno, vento assente.
II Trattamento	26/05/15 (Calore *)	Inizio fioritura BBCH 60 - 61**	D: 5.45 - 6.45 h N: 7.00 - 7.30 h	Cielo parzialmente nuvoloso, terreno molto bagnato, leggera brezza.
III Trattamento	23/06/15 (Calore *)	Pre-chiusura del grappolo BBCH 73 - 75**	D: 6.15 - 7.15 h N: 7.30 - 8.00 h	Cielo parzialmente nuvoloso, vento leggero da ovest.
IV Trattamento	23/08/15 (Acqua *)	Maturazione BBCH 85**	D: 6.15 - 7.15 h N: 7.30 - 8.00 h	Cielo sereno, abbondante rugiada, vento assente.

* Classificazione dei giorni in base al calendario biodinamico delle semine 2015 di Maria Thun: "nella sua rivoluzione di 27 giorni attorno alla terra, la Luna passa davanti alle 12 regioni zodiacali e trasmette alla terra forze che si manifestano attraverso gli elementi classici" (Thun e Schmidt-Rüth, 2014).

** Fasi fenologiche indicate nella scala BBCH di riferimento per la vite (Allegato B).

2.5.1 Analisi della soluzione distribuita con il trattamento

Al fine di comprendere meglio l'effettivo contenuto di Silicio che era stato distribuito con il trattamento biodinamico oggetto di studio, è stato prelevato un campione d'acqua contenente il 501, dinamizzata e filtrata prima della distribuzione. Su questo campione è quindi stata effettuata una determinazione del Silicio mediante uno spettrofotometro ad emissione ICP SPECTRO CIROS. La metodica di analisi impiegata è la medesima adottata nel caso dell'analisi degli elementi contenuti nelle foglie, riportata al punto 2.8.1.

2.6 Misurazioni morfo-metriche

Il primo tipo di osservazione, effettuata per valutare gli effetti del trattamento con il preparato 501, è stata di tipo morfo-metrico, direttamente in vigneto. Queste misurazioni sono state eseguite in prossimità dei primi tre trattamenti, e più precisamente nelle date 12/05/15, 25/05/15 e 23/06/15, in modo da valutare dei dati che seguissero l'andamento della crescita vegetativa delle piante di vite. Come già anticipato, sono state scelte casualmente lungo ciascun filare oggetto di studio 3 piante campione sulle quali eseguire queste misurazioni, e sono quindi state contrassegnate con del nastro colorato, in modo da poterle individuare anche nelle misurazioni e campionamenti successivi. In totale quindi sono state oggetto di misurazione 72 piante, ovvero 36 piante per ciascun vigneto.

Nello specifico, le variabili dipendenti misurate sono le seguenti:

- numero di germogli o tralci per capo a frutto;
- lunghezza dei tralci;
- numero di foglie per tralcio;
- numero di infiorescenze o grappoli per tralcio;
- numero di femminelle per tralcio;
- angolo di inserzione delle foglie rispetto all'asse del tralcio;
- angolo di inserzione delle femminelle rispetto all'asse del tralcio.

Il numero di tralci per capo a frutto nel vigneto Nuovo Impianto corrisponde al numero totale di tralci per pianta essendo la forma di allevamento un guyot singolo; nel vigneto Eremi invece la misura corrisponde ad una media, del numero di tralci presenti per singolo capo a frutto poiché la forma di allevamento è un guyot doppio.

La lunghezza dei tralci è stata misurata in centimetri, prendendo come riferimento un tralcio di lunghezza media all'interno della pianta.

Il numero di foglie è stato conteggiato considerando solamente le foglie ben distese, ed anche per quanto riguarda il numero di femminelle sono state considerate esclusivamente quelle con lunghezza maggiore di 2 cm, in modo da avere una soglia di riferimento.

Gli angoli di inserzione infine sono stati misurati con l'ausilio di un goniometro osservando l'angolo rispettivamente formato tra il picciolo della foglia e l'asse del germoglio o tralcio, e lo stesso per quanto riguarda la femminella (Figura 2.7). In entrambi i casi è stato considerato l'angolo inferiore ovvero quello sottostante la foglia o la femminella. Nel caso dell'angolo di inserzione fogliare è stata scelta a priori come riferimento la IV foglia per rilevare questa misurazione, mentre, essendo più variabile la posizione delle femminelle, in questo secondo caso la misurazione è stata effettuata su una femminella posta in posizione centrale rispetto alle altre.

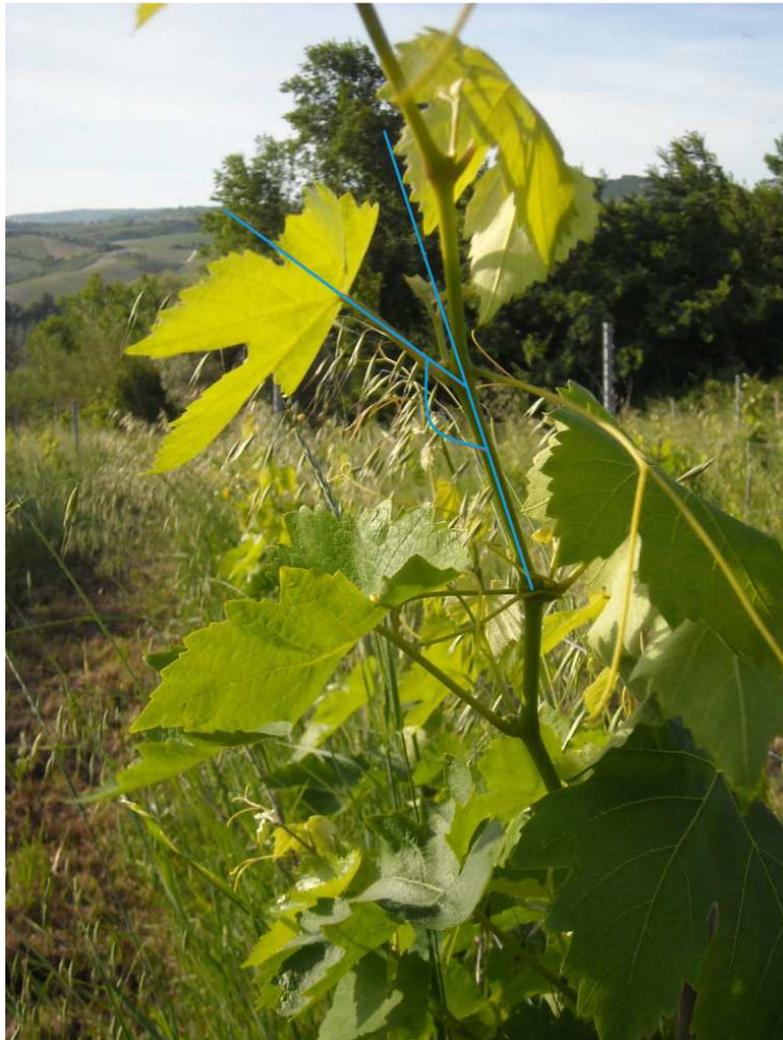


Figura 2.7 - Angolo di inserzione considerato nelle misurazione morfometriche relative a foglie e femminelle.

2.7 Campionamenti

2.7.1 Campionamento fogliare

In corrispondenza dei primi tre trattamenti (13/05/15, 26/05/15 e 23/06/15), dopo aver effettuato l'irrorazione con il preparato 501, sono stati prelevati dei campioni fogliari dalle piante prescelte e precedentemente segnalate con il nastro colorato. Per ciascuna pianta è stata prelevata la IV foglia da un tralcio mediamente vigoroso della pianta, situato indicativamente nella zona centrale del capo a frutto. Le foglie sono state prelevate tagliando il picciolo e sono state chiuse in buste di plastica trasparenti contrassegnate da etichette. In ciascuna etichetta sono state riportate le seguenti informazioni: nome del vigneto, filare (F), pianta (P) e data del prelievo (es: "NUOVO IMPIANTO, F.T3, P.Y, 23/06/15"). I sacchetti contenenti le foglie sono quindi stati riposti immediatamente in una borsa frigo con mattonelle di ghiaccio, ed alla fine del campionamento conservati all'interno di un congelatore, in attesa di eseguire le analisi in laboratorio.

2.7.2 Campionamento degli acini

A partire dall'epoca dell'invasatura sono stati prelevati dei campioni di acini, in modo da poter confrontare alcuni parametri analitici legati alla qualità delle uve provenienti da piante trattate, rispetto a quelle delle piante testimone non trattate. I prelievi sono stati effettuati in tre momenti, a distanza di circa 10 giorni l'uno dall'altro: il 12/08/15, il 23/08/15 e l'ultimo il 07/09/15 in corrispondenza della data di vendemmia. Come piante oggetto del prelievo sono state mantenute quelle precedentemente contrassegnate dal nastro colorato, per il campionamento fogliare. Per ciascuna pianta sono stati individuati 3 grappoli posizionati in tralci diversi disposti lungo il capo a frutto: un tralcio vicino al tronco, uno a metà del capo a frutto ed uno nella zona apicale dello stesso. Da ciascun grappolo sono quindi stati prelevati 7 acini: 2 nella parte alta, 3 nella parte centrale e 2 nella parte bassa di ogni grappolo; per un totale di 21 acini raccolti per ogni pianta. Gli acini sono stati prelevati con delle forbici, in modo

da distaccarli assieme al pedicello, per evitare l'avvio di fenomeni di degradazione dei composti interni, oggetto di studio. La conservazione è avvenuta seguendo la medesima procedura adottata per le foglie: gli acini sono stati messi in buste di plastica etichettate, queste sono state riposte in una borsa frigo e quindi trasferite in congelatore dove gli acini sono rimasti stoccati fino al momento dell'analisi di laboratorio. Per evitare che le bacche raccolte si schiacciassero o rompessero, sono state utilizzate in fase di trasporto e conservazione delle scatole di plastica rigida per ripartire le buste.

2.8 Analisi dei campioni vegetali in laboratorio

2.8.1 Analisi delle foglie

Al fine di valutare l'effetto del preparato 501 nel corso della stagione vegetativa sono state effettuate anche delle indagini analitiche sulle foglie raccolte tra i mesi di Maggio e Giugno. In particolare si è andati a svolgere le seguenti analisi: misura di clorofille (*a*, *b*) e carotenoidi, caratterizzazione degli elementi mediante CNS (Carbonio, Azoto, Zolfo) ed analisi allo spettrometro ICP (Silicio, Ferro, Magnesio, Fosforo, Manganese).

Determinazione delle clorofille

Per l'estrazione della clorofilla, al fine di ottenere dei dati maggiormente rappresentativi, e compatibili con i tempi e costi di esecuzione dell'analisi, sono stati raggruppati i campioni per filare, unendo dunque le tre piante campionate per ciascun filare. Si sono dunque ricavati 12 campioni per vigneto per ogni campionamento, sui quali è stata effettuata l'estrazione di clorofilla in due repliche. Per ogni campione sono state prelevate delle porzioni di foglie, mescolate e quindi sminuzzate. Sono quindi stati pesati 0,2 g di foglie triturate e riposti all'interno di provette siglate, nelle quali sono stati versati 10 ml di etanolo al 95% (v/v). I campioni sono stati riposti in frigo a 4°C, mantenendoli al buio, per circa 72 ore, al fine di ottenere la completa depigmentazione. Passato questo tempo, per ogni campione è stato prelevato 1 ml di

soluzione, diluito 1:1 con acqua distillata e versato nell'apposita cuvetta per la lettura allo spettrofotometro. E' stata quindi effettuata la lettura dell'assorbanza mediante uno spettrofotometro, utilizzando le tre lunghezze d'onda di riferimento: 665 nm, 649 nm, 470 nm. Per ciascun campione sono state effettuate due letture. Dai valori di assorbanza alle tre diverse lunghezze d'onda sono infine state determinate le concentrazioni (in mg/g di peso fresco) della clorofilla *a* (Chl*a*), clorofilla *b* (Chl*b*) e dei carotenoidi (Car), applicando le equazioni di Welburn e Lichtenthaler:

$$\text{Chl}a = \frac{(13.95 * A_{665} - 6.88 * A_{649}) * V}{p.f.}$$

$$\text{Chl}b = \frac{(24.96 * A_{649} - 7.32 * A_{665}) * V}{p.f.}$$

$$\text{Car} = \frac{\left(\frac{1000 * A_{470} - 2.05 * \text{Chl}a - 114.8 * \text{Chl}b}{245} \right) * V}{p.f.}$$

Con:

V = volume finale di etanolo [ml]

p.f. = peso fresco delle foglie [mg]

Determinazione di Carbonio, Azoto e Zolfo

La misura di Carbonio, Azoto e Zolfo, eseguita mediante l'analizzatore elementare CNS (VARIO MACRO, ELEMENTAR), è stata eseguita sui campioni fogliari prelevati all'ultima data di raccolta. Anche in questo caso, come per le clorofille, sono stati riuniti i campioni fogliari per filare e l'analisi è stata effettuata in due repliche. Le foglie sono state preventivamente messe a seccare in stufa per 48 ore a 60°C. Il materiale seccato è stato prelevato e triturato mediante un macinino elettrico, quindi setacciato a 500 µm.

Per la lettura al CNS è stata seguita la stessa procedura utilizzata per i campioni di suolo, ma sono state preparate delle "pastigliette" contenenti dosi diverse: 60 mg di campione vegetale e 60 mg di Triossido di Tungsteno.

Determinazione degli elementi minerali con ICP

Per la determinazione di Silicio, Ferro, Magnesio, Fosforo e Manganese attraverso lo spettrometro ad emissione ICP (SPECTRO CIROS), i campioni fogliari ricavati dal materiale seccato in stufa e triturato, sono stati preventivamente mineralizzati mediante una digestione con una soluzione acida. Per ogni campione si è pesata una quantità di materiale secco compresa tra 0,3 g e 0,4 g, trasferita quindi all'interno di una provetta, nella quale sono stati aggiunti 5ml di acido nitrico ultrapuro. Tale provetta è stata inserita all'interno di particolari contenitori di teflon contenenti 5ml di acqua distillata e 2ml di perossido di idrogeno (H₂O₂). I campioni sono quindi stati trasferiti nel supporto di mineralizzazione, bloccato con una chiave a pressione, il quale è stato a sua volta inserito in un mineralizzatore a microonde Milestone Ethos 1600. Il programma di mineralizzazione adottato è stato impostato nel seguente modo:

- 5 minuti di mineralizzazione a 250 Watt;
- 5 minuti di mineralizzazione a 400 Watt;
- 5 minuti di mineralizzazione a 650 Watt;
- 7 minuti di ventilazione.

Una volta terminato il programma i contenitori sono stati estratti dal mineralizzatore, raffreddati per circa 15 minuti in una bacinella con riciclo di acqua e quindi aperti con la chiave a pressione. Le soluzioni mineralizzate, relative a ciascun campione, sono state inizialmente inserite in matracci di vetro e portate ad un volume di 25ml aggiungendo acqua ultrapura. Infine sono state filtrate utilizzando un filtro monouso Millipore 0,22 µm per rimuovere le impurità.

Per procedere alla lettura dei campioni mineralizzati, e determinare quindi la quantità degli elementi minerali desiderati, è stato necessario impostare le lunghezze d'onda adeguate per ciascun elemento. Ciascuno degli elementi considerati emette infatti su

più frequenze e dunque questa scelta era necessaria al fine di evitare che il picco di emissione di ciascun elemento avesse interferenze con gli altri elementi che emettevano su frequenze simili.

Successivamente è stata eseguita la taratura del sistema, in relazione alle concentrazioni degli elementi previste nei campioni da analizzare. Conoscendo infatti l'intervallo di concentrazione entro il quale gli elementi in oggetto sono caratterizzati nelle rispettive matrici, si è proceduto alla preparazione degli standard di calibrazione. I campioni sono stati trasferiti all'interno di provette da 10ml ed è stato aggiunto loro il relativo standard interno. La misurazione di ciascun campione è stata quindi ottenuta dalla media aritmetica di tre letture. Per aumentare l'affidabilità di tutto il processo, dopo ogni dieci campioni da analizzare è stato inserito uno standard di riferimento contenente la soluzione madre usata per l'esperimento di assorbimento. Alla fine si è ottenuto un tabulato con tutti i valori degli elementi analizzati, espressi in ppm.

2.8.2 Analisi degli acini

Per valutare l'effetto del trattamento con il preparato 501 sulla qualità dell'uva è stato scelto di eseguire delle analisi di laboratorio anche sugli acini. I campioni raccolti e conservati in congelatore sono dunque stati analizzati presso il laboratorio di Chimica Enologica del CIRVE, a Conegliano (TV). Al fine di ottenere dei dati maggiormente rappresentativi si è deciso di raggruppare i campioni per filare, e si sono perciò ricavati 12 campioni per vigneto (costituiti da circa 63 acini ciascuno): 6 campioni corrispondenti ai filari trattati e 6 campioni corrispondenti ai filari di controllo. Per ognuna delle tre date di campionamento si sono quindi analizzati 24 campioni d'uva. Di fatto è stato escluso il campione T6 del vigneto Eremi in quanto non ci si era accorti che le piante scelte ad inizio stagione erano piante di Sangiovese e non di Verdicchio. Dal vigneto Nuovo impianto invece è stato escluso il campione C5 non essendoci grappoli a sufficienza per raccogliere campioni rappresentativi.

Innanzitutto è stato fatto un calcolo del peso medio degli acini, eseguendo tre pesate di 20 acini ciascuna per ogni campione. Facendo quindi la media delle tre pesate si è ricavato il peso medio di 20 acini per ciascun campione.

Le analisi che sono state dunque eseguite su questi campioni di acini sono: contenuto di zuccheri, acidità totale, estrazione dei polifenoli contenuti nelle bucce, quantificazione mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography) di glucosio, fruttosio, acido tartarico ed acido malico.

Gli acini sono stati lasciati a scongelare all'interno di un becher, è stato quindi aggiunto del Metabisolfito di Potassio, e sono stati pigiati con le mani. Attraverso della carta per filtri da laboratorio si è proceduto alla filtrazione del mosto all'interno di un cilindro graduato, dal quale è stato prelevato il mosto filtrato per eseguire le successive analisi. Una parte di questo è servito per misurare i Brix e l'acidità totale, mentre la parte restante è stata conservata per le analisi seguenti. Una quota è stata conservata in provette eppendorf a temperatura ambiente (per evitare la perdita di acido tartarico per precipitazione di tartrato di potassio con il freddo) per l'analisi all'HPLC, mentre la restante parte è stata congelata all'interno di provette falcon.

Determinazione della concentrazione di zuccheri

La concentrazione degli zuccheri nel mosto è stata misurata in gradi Brix, attraverso un rifrattometro da laboratorio. Questa grandezza restituisce la concentrazione in percentuale del contenuto di solidi solubili in una soluzione campione. Per convenzione il grado Brix corrisponde infatti ai chilogrammi di saccarosio per 100 kg di soluzione. Il contenuto di solidi solubili è però il totale di tutte le sostanze disciolte al suo interno. Pertanto, quando si misura una soluzione zuccherina pura il grado Brix corrisponde esattamente al contenuto reale di zuccheri, invece nel caso di soluzioni come il mosto che presentano al loro interno anche altri composti, se si vuole conoscere il contenuto in grammi dei soli zuccheri è necessario utilizzare delle tabelle di conversione (approssimativamente 1° Brix nel mosto corrisponde a 18 g/l di zuccheri). La determinazione dei Brix è stata effettuata tramite un rifrattometro digitale, ovvero uno strumento che misura l'angolo di rifrazione formato dal raggio di luce che attraversa la soluzione in oggetto. Questo dispositivo si basa infatti sul principio fisico secondo il quale l'indice di rifrazione della luce di una soluzione aumenta proporzionalmente alla densità della soluzione stessa.

Determinazione dell'acidità totale

L'acidità totale, espressa in g/l di acido tartarico, è stata determinata attraverso una titolazione del campione di mosto con idrossido di sodio N/10. Portando il campione di mosto a pH 7, tramite l'aggiunta della soluzione alcalina a titolo noto, si misura infatti la somma di tutti gli acidi titolabili presenti nel campione, corrispondenti ai ml di soda impiegati per la loro neutralizzazione. Da questa misura vengono esclusi l'acido solforoso ($\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{SO}_3$) che normalmente non è presente in dosi tali da incidere sul risultato finale, e l'acido carbonico ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{CO}_3$) che viene invece eliminato per agitazione e filtrazione. La procedura eseguita prevede l'impiego di:

- pipetta tarata a 7,5 ml;
- buretta di titolazione;
- becher da 250 ml;
- campione di mosto;
- *reagente 1*: soda caustica normal 10 (NaOH N/10);
- *reagente 2*: blu di bromotimolo.

Nel becher sono stati versati 7,5 ml di campione con l'apposita pipetta, e quindi 3-4 gocce di blu di bromotimolo come indicatore del viraggio. Tenendo in agitazione si è quindi eseguita la titolazione, tramite una buretta contenente la soluzione di NaOH N/10, fino al raggiungimento della colorazione blu (passando per il verde) che indica che si è raggiunto il valore di pH 7. A questo punto i ml di NaOH N/10 impiegati per la titolazione, sono l'equivalente dei g/l di acidità totale, espressa in acido tartarico. Infatti, utilizzando idrossido di sodio 0,1 normale ed un campione di 7,5 ml di vino, la dose finale risulta direttamente in g/l. Questo perché il peso equivalente dell'acido tartarico è 75, ed inoltre 1 ml di alcali N/10 neutralizza $(75 \cdot 0,10) / 1000$ g di acido tartarico che corrispondono ad 1 g/l (in quanto per ottenere il corrispettivo in g/l si deve moltiplicare per $1000/7,5$). Pertanto al punto di equivalenza (viraggio) della titolazione si raggiunge l'uguaglianza tra il numero di equivalenti acidi del campione ed il numero di equivalenti basici della soluzione titolante.

Determinazione dei polifenoli totali nelle bucce

La misurazione del contenuto di polifenoli nelle bucce è stata eseguita, seguendo la metodica del Test Folin-Ciocalteu, su campioni di bucce che erano stati preventivamente pesati e tenuti da parte. Prima di pigiare le uve per preparare ciascun campione di mosto sui quali misurare Brix e acidità totale, sono state separate manualmente le bucce da 10 acini ancora congelati, pesate e quindi conservate in frigorifero all'interno di provette falcon siglate. Per l'estrazione dei polifenoli è stata eseguita una triturazione delle bucce, con un apposito "minipimer" da laboratorio, in 30 ml di soluzione di metanolo ed acido cloridrico (0,1%). Dopo una notte di agitazione meccanica al fine di favorire l'estrazione in soluzione dei polifenoli è stata quindi eseguita una separazione dei residui grossolani mediante una centrifugazione a 3000 giri/minuto per 5 minuti. Eliminato il sedimento è stata mantenuta la parte liquida, che è stata diluita di 10 volte in H₂O. A questo punto si è proceduto con la preparazione della piastra sulla quale effettuare la lettura allo spettrofotometro dell'assorbanza a 725 nm. Nelle prime cellette, una è stata riempita con acqua pura, e nelle 5 successive sono stati inseriti dei campioni con acido gallico in diverse diluizioni (da 12.5 e 200 mg/l). In questo modo, a partire dalla lettura dell'assorbanza di questi campioni, è stata determinata una retta di taratura e da questa l'equazione di riferimento, con la quale ricavare i mg/l di polifenoli per ogni campione di bucce. Sono quindi state caricate le successive cellette, ciascuna con: 20 µl di campione, 100 µl di reagente di Folin-Ciocalteu diluito 1/10 e 80 µl di sodio carbonato 7,5%. La piastra è stata a questo punto incubata in stufa per 30 minuti a 40°C, e nel frattempo è stata eseguita una lettura di una piastra vuota, in modo da poter fare, una volta ricavati i dati, una correzione in base all'assorbanza della piastra stessa. Dopo aver lasciato raffreddare la piastra è stata infine effettuata la lettura allo spettrofotometro, che ha restituito i valori di assorbanza di ciascun campione, dai quali, sostituendo i valori nella retta di calibrazione, sono stati determinati i mg/l di polifenoli. Con una proporzione sono stati ricavati i mg di polifenoli contenuti nei campioni di 30 ml e quindi facendo il rapporto tra questi ed il peso delle bucce sono stati determinati i mg di polifenoli per grammo di buccia. Un'ulteriore valutazione è stata fatta esprimendo il contenuto di polifenoli nelle bucce in mg/kg di uva.

Analisi all'HPLC

Mediante l'analisi con HPLC si è andati ad osservare separatamente la quantità di glucosio e fruttosio, ed allo stesso modo sono stati quantificati anche acido tartarico ed acido malico. E' stato utilizzato un HPLC Waters (1525 binary HPLC pump), con una colonna aminex HPX-87H, 300 x 7,8 mm ed un rivelatore spettrofotometrico Waters (modello 2487).

Per la determinazione degli acidi organici e degli zuccheri i campioni sono stati trattati con 600 mg/ml di carbone attivo decolorante (Sigma), centrifugati e filtrati su membrana in cellulosa a 0,20 µm, mediante appositi filtri a siringa. Sono quindi stati iniettati direttamente 20 µl di campione. Come eluente in modalità isocratica (la cui composizione non varia nel corso dell'analisi) (Frayne, 1986), è stato utilizzato acido solforico 5 mM, ad un flusso di 0,6 ml/min, e con una pressione di esercizio inferiore ai 1500 PSI. La temperatura della colonna è stata mantenuta a 65 °C ed i picchi sono stati rivelati a 210 nm, dopo una corsa cromatografica di 25 minuti per campione. Per la determinazione quantitativa sono quindi stati utilizzati degli standard esterni, preparati con concentrazioni note di acidi organici (da 1,25 a 20 g/l) e di zuccheri (da 6,25 a 100 g/l). Dalla lettura dei picchi registrati dal rilevatore ad assorbanza e da quello ad indice di rifrazione (RI: Refractive Index), dei campioni standard, sono quindi state costruite le rette di calibrazione e ricavate le equazioni per la determinazione del contenuto in g/l dei vari componenti oggetto di studio, a partire dall'area dei picchi registrati per ciascun campione.

2.9 Analisi statistica dei dati

L'elaborazione statistica dei dati raccolti è stata effettuata tramite il "Test T di Student", un test statistico di tipo parametrico che può essere utilizzato per confrontare due medie. In questo caso si trattava infatti di confrontare unicamente due campioni di dati replicati (trattato e controllo) al fine di verificare se la differenza fra le medie risultasse statisticamente significativa. Questo test è risultato inoltre appropriato in quanto ha permesso di confrontare campioni con numerosità diverse

fra loro (Soliani, 2011). L'ipotesi zero (H_0), da accettare o rifiutare attraverso l'applicazione di questo test, è infatti che la differenza fra le due medie sia dovuta al caso e dunque che i campioni appartengano alla medesima popolazione (Soliani, 2001). Il valore "t" è quindi stato calcolato come rapporto fra la differenza delle due medie campionarie e l'errore standard della differenza fra le due medie campionarie medesime (Soliani, 2001). Nel caso specifico del confronto delle medie di due campioni (x_a e x_b) di dati indipendenti, con un numero differente di osservazioni (n_a e n_b), la formula utilizzata per il calcolo del t è la seguente (Soliani, 2001):

$$t = \frac{(x_a - x_b)}{\sqrt{s_p^2 \left(\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b} \right)}}$$

Dove la varianza associata s_p^2 viene ricavata dalle devianze SQ_a ed SQ_b :

$$s_p^2 = \frac{SQ_a + SQ_b}{(n_a + n_b) - 2}$$

E le devianze vengono a sua volta ricavate dalle deviazione standard s dei campioni:

$$SQ = s^2(n - 1)$$

Confrontando dunque il valore calcolato (t_{calc}) con i valori tabulati (t_{tab} con probabilità $\alpha=0.05$), si è potuto stabilire se la differenza fra le medie fosse dovuta al caso (conferma dell'ipotesi H_0) oppure se fosse statisticamente significativa (rifiuto dell'ipotesi H_0): se " $t_{\text{calc}} > t_{\text{tab}}$ " la differenza fra le medie risulta statisticamente significativa. Per convenzione i valori critici di confronto del " t_{calc} " sono stati calcolati con un livello di significatività $\alpha=0.05$.

Al fine di applicare questo test statistico è stato innanzitutto necessario verificarne le due principali assunzioni (Soliani, 2001):

- normalità: trattandosi di campionamenti casuali di dati di tipo biologico, e dunque rappresentativi della normale variabilità presente in vigneto, si è assunto che questi si distribuissero secondo una distribuzione statistica di tipo Normale. Non è stata

pertanto effettuata un'ulteriore verifica matematica, in quanto, essendo il numero di campioni limitato, con pochi dati sarebbe risultato difficile verificare se la distribuzione fosse effettivamente di tipo Normale;

- omoschedasticità: al fine di verificare che i due gruppi di campioni avessero una varianza omogenea (condizione di omoschedasticità) è stato applicato il "test F di Fisher-Snedecor" (Soliani, 2001). Questo test permette infatti di confrontare le varianze di due campioni con diversa numerosità, considerando i gradi di libertà $(n-1)$ di entrambi i gruppi. L'ipotesi H_0 su cui si basa è che le due varianze siano uguali, e questa condizione viene soddisfatta quando il rapporto F tra la varianza maggiore e la varianza minore, è inferiore rispetto ai valori F critici riportati nelle tabelle sinottiche dei valori F di Fisher-Snedecor. Per ogni livello di significatività, esistono infatti delle tabelle che riportano i valori critici di F in base ai gradi di libertà di ciascun campione. I risultati delle misurazioni morfologiche ed analitiche sono stati presentati in tabelle accompagnate da grafici illustrativi, prevalentemente istogrammi e grafici a linee.

Capitolo 3.

RISULTATI

3.1 Andamento climatico della stagione vegetativa 2015: temperature e precipitazioni

Riassumendo la grande mole di dati meteorologici registrati ed elaborati dal Servizio Agrometeo Regionale dell' ASSAM (Agenzia per i Servizi nel Settore Agroalimentare delle Marche) è stato possibile tracciare l'andamento climatico della stagione vegetativa 2015, utile per inquadrare la prova sperimentale in oggetto ed eventualmente per cercare di interpretare alcuni dati riguardanti la fisiologia della pianta.

Un primo inquadramento sull'andamento climatico regionale ha evidenziato, a partire dal periodo primaverile (Marzo, Aprile, Maggio), una temperatura media regionale che si è attestata a 13,1°C con un aumento di +0,8°C rispetto alla media di riferimento del periodo 1981-2010. L'andamento della stagione si è però mostrato discontinuo; in particolare è stato registrato un passaggio repentino dal caldo di fine Marzo, al freddo della prima decade di Aprile, e successivamente un lungo periodo di caldo fino alla terza decade di Maggio quando è nuovamente tornato un periodo di freddo. Per quanto riguarda le precipitazioni, la stagione ha confermato la tendenza degli ultimi anni di un aumento delle precipitazioni nel periodo primaverile, ed in particolare si è registrata la primavera più piovosa per le Marche dopo il 1961, con una media regionale di 345 mm totali di pioggia caduta (+80% rispetto alla media di riferimento 1981-2010). Sebbene il mese di Aprile sia risultato nella norma, a Marzo le piogge sono state molto frequenti anche se non molto intense, invece a Maggio le precipitazioni sono state molto intense ma più rare e concentrate nella parte finale del mese. Tra il 22 ed il 24 Maggio infatti, un'ondata di maltempo ha interessato il territorio regionale ed in particolare l'anconetano, ed in soli tre giorni si è registrata una quantità di pioggia caduta che ha superato il 25% del totale che solitamente cade durante tutto il mese: 78 mm rispetto ai 59 mm di media. Questo brusco cambiamento climatico è stato accompagnato da un calo delle temperature che ha determinato, nell'arco di ventiquattro ore, un passaggio dai 17,4°C medi del 21/05 ai 11,5°C medi del 22/05.

Per quanto riguarda le temperature, anche il mese di Giugno è risultato più caldo della norma, ed infatti, con una media mensile di 21,3°C, si è superata la media di

riferimento 1981-2010 di +0,9°C. In merito alle precipitazioni, invece, Giugno è risultato nella norma rispetto al periodo di riferimento ed infatti si è registrato un totale medio regionale di 68 mm di pioggia caduta (solamente 1 mm in più rispetto alla media del periodo di riferimento 1981-2010). Le maggiori anomalie per quanto riguarda il periodo estivo si sono però registrate nel mese di Luglio. La temperatura media regionale del suddetto mese è stata di 26,7°C con un'anomalia di +3,4°C rispetto alla media 1981-2010, tanto da essere risultato il Luglio più caldo per le Marche dal 1961. Per contro è stato un mese estremamente secco, con una media regionale di solamente 8 mm totali di precipitazioni. Rispetto al solito periodo di riferimento 1981-2010 è risultato esserci infatti un deficit di -33 mm rispetto alla media, e di conseguenza si è attestato al secondo posto come il mese di Luglio più scarso in termini di precipitazioni, dopo lo stesso mese del 1988 quando si registrarono 3 mm totali di precipitazione, come media del territorio regionale. Nonostante ciò i dati nel lungo periodo, a partire da Gennaio 2015, hanno evidenziato comunque una prima parte dell'anno molto piovosa con un totale di 611 mm caduti: il quinto valore regionale più elevato a partire dal 1961.

Lo stress idrico che aveva interessato le colture nel mese di Luglio, nonostante le cospicue riserve idriche accumulate nei mesi precedenti, si è smorzato con un inizio di Agosto più piovoso e moderatamente più fresco. Le temperature sono però aumentate nuovamente fino ai giorni di ferragosto quando si sono verificati altri rovesci temporaleschi. Complessivamente il mese di agosto nelle Marche è stato l'undicesimo mese consecutivo più caldo della norma, con un incremento delle temperature di +0,5°C rispetto al periodo di riferimento 1981-2010. Nonostante ciò è stato un agosto con temperature decisamente più basse rispetto ad annate recenti molto calde come la 2003, la 2011 e la 2012. Per contro, rispetto a queste annate, la piovosità totale mensile è stata nettamente maggiore. Con 55 mm totali di precipitazioni medie regionali il mese di agosto è infatti risultato esattamente nella norma.

Passando da un'analisi macroscopica del clima regionale, ad un'osservazione dei dati specifici in prossimità dei vigneti in cui è stata condotta la prova, sono stati raggruppati i dati meteorologici registrati nelle due stazioni più prossime agli appezzamenti. Come misurazioni di riferimento sono infatti state reperite quelle rilevate nelle stazioni

meteorologiche dell'ASSAM, situate a Castelplano (330 m s.l.m.) ed a Maiolati Spontini (350 m s.l.m.). I relativi dati di temperatura, umidità e precipitazioni, sono riportati nell' Appendice A, in riferimento all'arco di tempo nel quale è stata condotta la prova. L'osservazione di questi rilievi è risultata particolarmente utile in fase di studio ed interpretazione dei risultati ottenuti dalle misurazioni in campo e dalle analisi di laboratorio. A ciascuna misurazione, sia morfologica che analitica, corrispondeva infatti una precisa data di campionamento e dunque uno specifico contesto meteorologico.

3.2 Contenuto di Silicio nella soluzione distribuita con il trattamento

Dalla misurazione all'ICP è risultato un contenuto di Silicio, nella soluzione di trattamento, di circa 4,5 mg/l (4,37 mg/l nella soluzione mineralizzata e 4,76 mg/l nella soluzione filtrata). Considerando che inizialmente erano stati diluiti 3,5 g in 25 l di acqua (0,14 g/l) ciò significa che la filtrazione effettuata con carta assorbente prima del trattamento ha ridotto di moltissimo la concentrazione di Silicio. Sulla base di ciò la quantità di Silicio distribuita è risultata essere decisamente irrisoria, considerando anche che nelle parcelle dei due vigneti (2000 m² c.a. in totale) sono stati irrorati tramite nebulizzazione complessivamente 5,5 l c.a. di soluzione.

3.3 Risultati delle analisi del terreno

Le analisi del suolo hanno permesso di inquadrare le condizioni pedologiche in cui è stato deciso di impostare la prova sperimentale. Per quanto riguarda la granulometria, le frazioni percentuali sono risultate esattamente uguali tra Eremi e Nuovi Impianto con: 34% di sabbia, 20% di limo e 46% di argilla. Secondo il triangolo della tessitura un terreno con queste composizioni percentuali rientra nella classificazione dei terreni argillosi. In relazione alla percentuale di sostanza organica invece, nei due appezzamenti è stato riscontrato un buon contenuto, con valori superiori al 2% in entrambi i vigneti.

I dati relativi alle analisi del suolo dei due vigneti sono riportati nella Tabella 3.1 e per quanto concerne questa tesi si può affermare che le condizioni pedologiche dei due vigneti, in cui è stata impostata la prova, fossero assolutamente paragonabili:

- stessa classe granulometrica;
- contenuto di carbonio organico, carbonio totale, azoto totale e zolfo, molto simili.

Tabella 3.1 - Risultati delle analisi dei due campioni di suolo rappresentativi dei due vigneti (Eremi e Nuovo Impianto) all'interno dei quali è stata impostata la prova sperimentale.

VIGNETO	Azoto totale	Carbonio totale	Zolfo	Carbonio organico	Sostanza organica	GRANULOMETRIA		
						SABBIA	LIMO	ARGILLA
	%					%		
EREMI	0.23	5.14	0.05	1.39	2.40	34	20	46
NUOVO IMP	0.21	5.22	0.04	1.19	2.05	34	20	46

3.4 Risultati dalle misurazioni morfo-metriche

In corrispondenza delle date dei primi 3 trattamenti sono state effettuate le misurazioni morfo-metriche che hanno portato alla raccolta di una serie importante di dati morfologici. Per prima cosa queste misurazioni hanno permesso di tracciare un andamento di crescita delle piante in entrambi i vigneti, caratterizzati da età diversa, diverso sesto d'impianto e differente forma di allevamento. Andando infatti ad osservare la variazione nel tempo di indici come la lunghezza dei tralci (Figura 3.1), il numero di foglie (Figura 3.2) ed il numero di femminelle (Figura 3.3), è stato possibile effettuare una prima analisi della crescita vegetativa delle piante oggetto di studio. Avendo registrato il periodo di massima crescita vegetativa tra Maggio e Giugno, si è deciso di non effettuare misurazioni successive, ipotizzando che non si sarebbero osservate ulteriori differenze significative riguardo questi indici di accrescimento. I valori registrati nel primo rilievo sono stati considerati come una sorta di "punto zero" rappresentativo dello stato delle piante prima dell'inizio della prova sperimentale con

l'applicazione del preparato 501. Sono dunque serviti a definire l'omogeneità all'interno dei vigneti, tra parcelle trattate e non trattate, per poi valutare gli effetti del trattamento sull'andamento di questi parametri.

Nell'arco di tempo trascorso dalla prima misurazione, eseguita il 12 Maggio, alla terza, eseguita invece il 23 Giugno, si è registrato chiaramente un aumento in termini di lunghezza dei tralci, ed anche del numero di foglie e di femminelle presenti per ogni tralcio.

Essendoci però diversità tra i due vigneti, soprattutto in termini di età e sesto d'impianto, si è osservato un diverso andamento della crescita vegetativa, con differenze statisticamente significative tra i due vigneti:

- nel vigneto Eremi si è verificato un incremento di lunghezza dei tralci da 40 cm iniziali a 180 cm, nel vigneto Nuovo Impianto, invece, la lunghezza alla prima misurazione era di circa 30 cm, ma alla fine di Giugno non superava gli 80 cm;
- per quanto riguarda il numero di foglie, i valori registrati nelle prime due misurazioni non sono molto diversi tra i due vigneti, mentre all'ultima misurazione si osserva una netta differenza tra le 24 foglie per tralcio del vigneto Eremi e le 16 foglie per tralcio nel Nuovo Impianto;
- in relazione al numero di femminelle per tralcio, considerandolo anch'esso come un indice di accrescimento vegetativo che prosegue di pari passo con l'allungamento del tralcio stesso, nel vigneto Eremi si è notato un aumento considerevole da 1 a circa 10 femminelle, mentre nel Nuovo impianto si è raggiunto un massimo di 4 femminelle.

Per quanto riguarda il numero di tralci ed il numero di grappoli, sebbene il conteggio sia stato effettuato in tutte e tre le date, come era prevedibile, non si sono osservate variazioni nel corso della stagione. Il numero di tralci viene infatti stabilito in potatura, ed anche il numero di infiorescenze è prestabilito ad inizio stagione principalmente in base al vitigno ed alla forma di allevamento. Entrambi questi indici possono dunque subire variazioni nel corso della stagione vegetativa solamente in seguito ad interventi manuali specifici, come la potatura verde e il diradamento dei grappoli. Le leggere variazioni che si osservano tra le tre rilevazioni non sono infatti significative.

Le ultime due variabili dipendenti misurate sono l'angolo d'inserzione delle foglie e delle femminelle rispetto all'asse del tralcio. Per quanto riguarda l'angolo di inserzione del picciolo fogliare sul tralcio (Grafico 3.4) si è osservata una sua diminuzione, tra la misurazione del 12 Maggio e quella del 23 Giugno, di circa 20° sessagesimali: in entrambi i vigneti si è passati da circa 140° a circa 120°. La stessa constatazione riguarda l'angolo di inserzione delle femminelle sul tralcio (Grafico 3.5) anche se si è osservata una diminuzione leggermente minore rispetto alla precedente: nel vigneto Eremi si è passati da poco meno di 160° a circa 140°, mentre nel vigneto Nuovo Impianto da 150° a 140°. La diminuzione di questi angoli nel corso della stagione concretamente si può tradurre in una progressiva apertura delle foglie e delle femminelle rispetto all'asse del tralcio. Si può infatti supporre che anche questo indice sia legato all'andamento della crescita vegetativa e che dipenda quindi da una serie di fattori tra i quali si possono ipotizzare: l'aumento della densità nella parete fogliare, l'ispessimento del tralcio e l'espansione della lamina fogliare.

I valori presentati finora focalizzano l'attenzione sull'andamento dei dati misurati tra i mesi di Maggio e Giugno, al fine di mettere in risalto le variazioni avvenute nel corso della fase di crescita vegetativa, senza tener conto però delle differenze fra le parcelle trattate e quelle di controllo. In seguito a queste osservazioni preliminari si è infatti potuto procedere con ulteriori valutazioni dei medesimi valori, relativi alle suddette variabili morfologiche, al fine di riscontrare eventuali effetti del trattamento con il preparato 501 nei due vigneti.

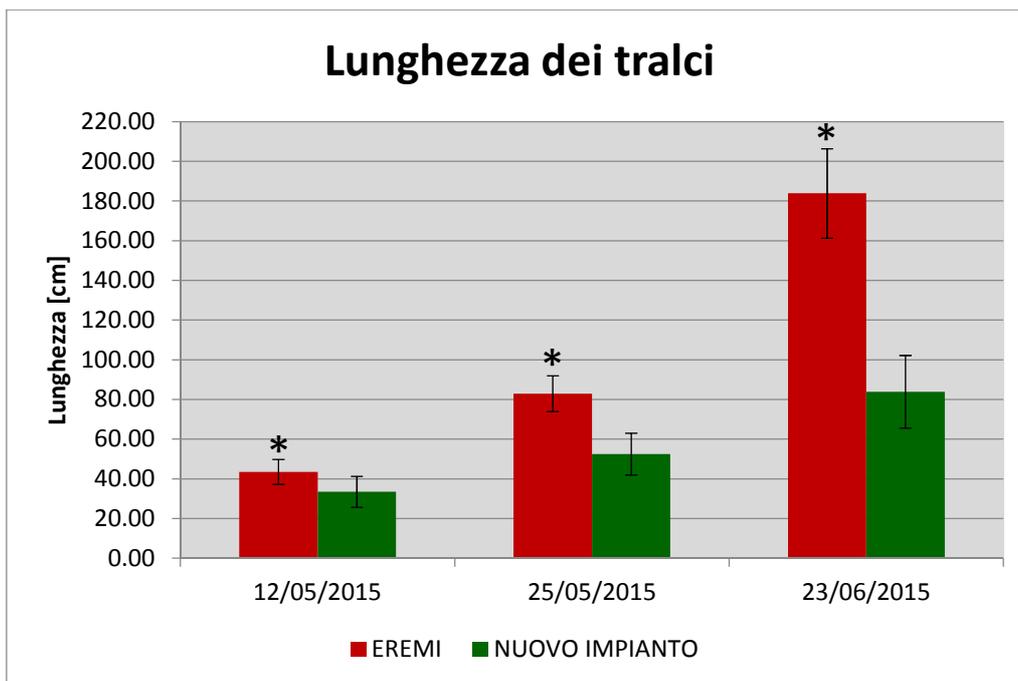


Figura 3.1 - Lunghezza dei tralci [cm]. Andamento nel corso della crescita vegetativa, tra Maggio e Giugno, e confronto tra i due vigneti sperimentali.

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

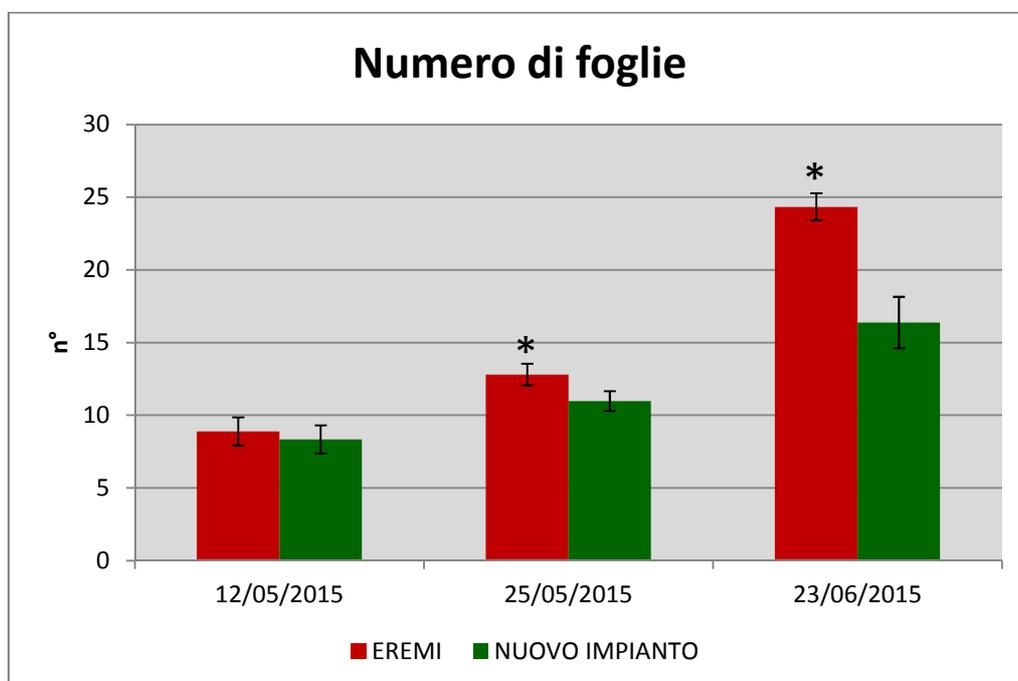


Figura 3.2 - Numero di foglie per tralcio. Andamento nel corso della crescita vegetativa, tra Maggio e Giugno, e confronto tra i due vigneti sperimentali.

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

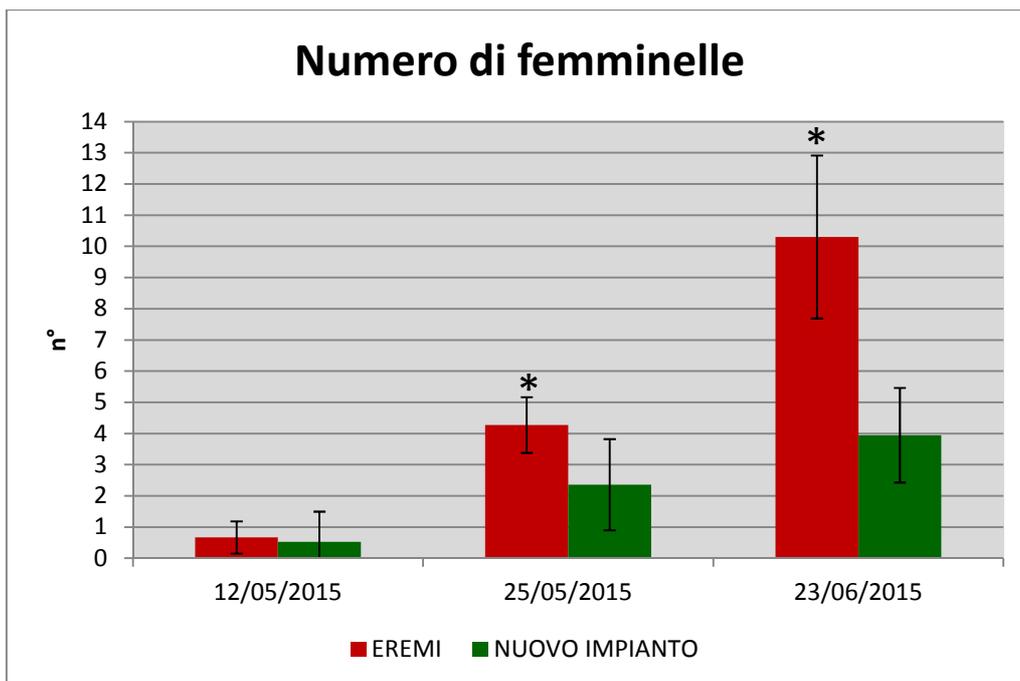


Figura 3.3 - Numero di femminelle per tralcio. Andamento nel corso della crescita vegetativa, tra Maggio e Giugno, e confronto tra i due vigneti sperimentali.

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

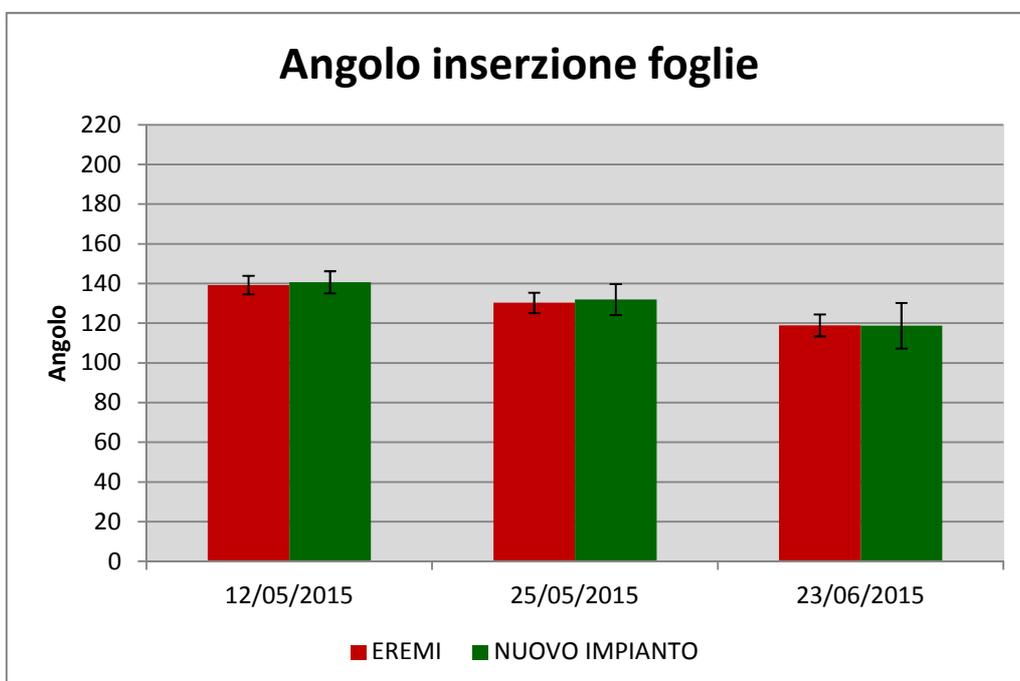


Figura 3.4 - Angolo di inserzione delle foglie sul tralcio. Andamento nel corso della crescita vegetativa, tra Maggio e Giugno, e confronto tra i due vigneti sperimentali.

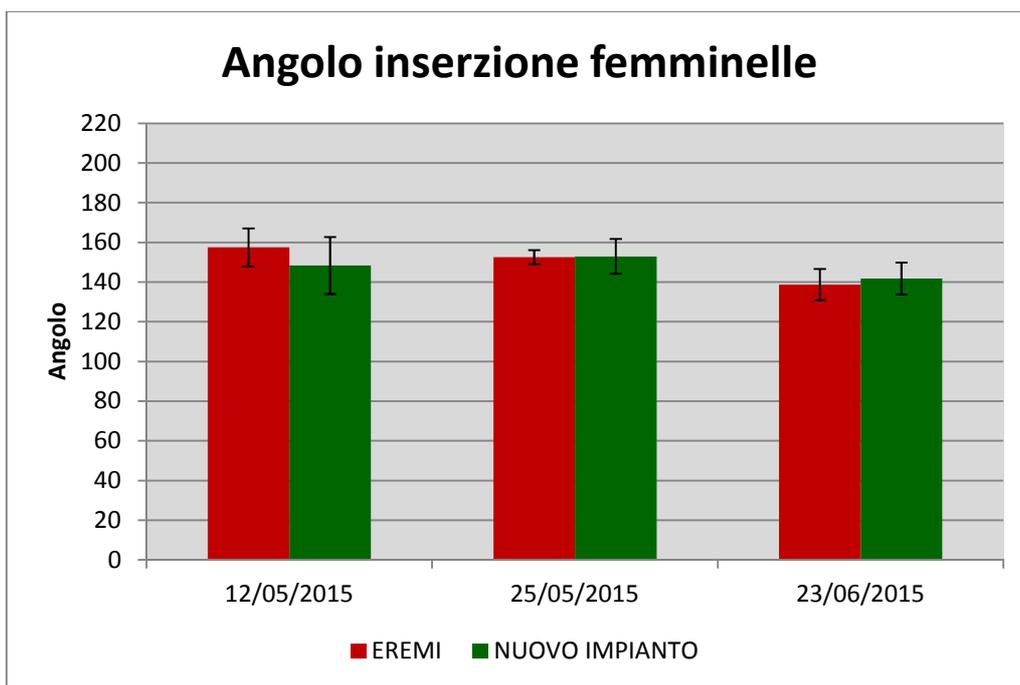


Figura 3.5 - Angolo di inserzione delle femminelle sul tralcio. Andamento nel corso della crescita vegetativa, tra Maggio e Giugno, e confronto tra i due vigneti sperimentali.

Prendendo in esame i precedenti valori, ottenuti dalle misurazioni morfo-metriche, si possono mettere a confronto le parcelle trattate con il preparato 501 con quelle di controllo non trattate (Tabella 3.2). Va ricordato che i dati relativi al primo rilevamento, effettuato in data 12 Maggio, sono da considerarsi una sorta di "punto zero" in quanto sono stati misurati precedentemente al primo trattamento con il 501, che è stato infatti distribuito il 13 Maggio. Nelle due misurazioni successive è stato invece possibile valutare se ci fossero differenze, tra le parcelle trattate e quelle testimone, correlate all'utilizzo del preparato. Sebbene vi siano differenze numeriche legate ad alcune variabili, come la lunghezza dei tralci, l'angolo di inserzione fogliare e l'angolo di inserzione delle femminelle, queste differenze non sono risultate statisticamente significative.

Relativamente al vigneto Nuovo Impianto è stato considerato anche il fattore di variabilità interna legato al fatto che una parte della vigna è su piede franco e la restante parte è innestata (Figure da 3.6 a 3.10). In fase di impostazione dello schema sperimentale era infatti stato considerato questo aspetto, e sebbene potesse rappresentare un'ulteriore fonte di variabilità interna alla parcella, si è deciso di inserire anche il vigneto in oggetto nella prova. Questo perché il Nuovo Impianto si trovava nelle condizioni pedo-climatiche ideali per essere confrontato con la vigna Eremi, ed inoltre per cercare di valutare adeguatamente eventuali differenze tra le piante innestate e quelle su piede franco in risposta al trattamento biodinamico con il preparato 501. Dall'osservazione dei dati rilevati con queste misurazioni su variabili morfologiche, sebbene siano presenti differenze numeriche, non risultano esserci differenze statisticamente valide tra le parcelle su piede franco e quelle con piante innestate. Distinguendo nuovamente le due tipologie di impianto all'interno del suddetto vigneto, e considerando invece gli eventuali effetti del trattamento oggetto di studio, nemmeno in questo caso si sono osservate differenze significative tra le parcelle trattate e quelle di controllo.

Tabella 3.2 - Medie (\pm dev.st) relative alle diverse misurazioni di carattere morfologico. Confronto tra le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) non trattate, nelle tre date corrispondenti ai rilievi morfo-metrici.

MISURE MORFOMETRICHE	12/05/2015		25/05/2015		23/06/2015	
	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato
N° Tralci						
Eremi	7.61 ± 1.20	8.07 ± 1.59	7.78 ± 1.11	7.47 ± 0.74	7.44 ± 1.29	7.27 ± 0.70
Nuovo Impianto	7.28 ± 1.45	6.28 ± 1.74	6.72 ± 2.44	6.33 ± 2.03	5.41 ± 1.80	5.39 ± 1.79
Lunghezza Tralci						
Eremi	43.94 ± 10.87	43.00 ± 7.19	78.72 ± 13.63	88.00 ± 11.69	181.33 ± 32.61	186.87 ± 34.92
Nuovo Impianto	30.67 ± 9.52	36.39 ± 13.75	51.78 ± 14.05	53.17 ± 15.27	79.88 ± 19.82	81.28 ± 16.65
N° Foglie						
Eremi	8.83 ± 1.54	8.93 ± 1.41	12.44 ± 1.34	13.20 ± 1.26	24.17 ± 1.86	24.53 ± 2.00
Nuovo Impianto	8.06 ± 1.39	8.61 ± 1.61	10.94 ± 1.26	11.00 ± 1.88	16.47 ± 2.45	16.28 ± 3.36
N° Grappoli						
Eremi	1.67 ± 0.49	1.53 ± 0.52	1.50 ± 0.51	1.47 ± 0.52	1.50 ± 0.51	1.53 ± 0.52
Nuovo Impianto	0.56 ± 0.51	0.67 ± 0.69	0.44 ± 0.51	0.67 ± 0.59	0.53 ± 0.62	0.50 ± 0.51
N° Femminelle						
Eremi	0.78 ± 1.31	0.53 ± 0.92	3.94 ± 1.80	4.67 ± 1.80	10.17 ± 3.29	10.47 ± 3.80
Nuovo Impianto	0.00	1.06 ± 1.59	2.17 ± 2.31	2.56 ± 2.12	4.06 ± 2.44	3.72 ± 2.49
Angolo foglie						
Eremi	141.11 ± 6.54	137.00 ± 9.73	132.50 ± 10.61	127.67 ± 11.93	117.78 ± 11.91	120.33 ± 11.09
Nuovo Impianto	142.78 ± 7.90	138.61 ± 9.04	133.06 ± 10.73	130.83 ± 12.63	117.94 ± 12.13	119.11 ± 16.51
Angolo femminelle						
Eremi	158.33 ± 5.16	156.25 ± 13.77	154.17 ± 6.91	151.25 ± 8.42	136.94 ± 15.35	142.08 ± 9.30
Nuovo Impianto	n.d.	150.71 ± 12.39	154.29 ± 12.69	152.50 ± 10.33	142.94 ± 9.20	140.00 ± 12.71

*n.d. = dato non disponibile

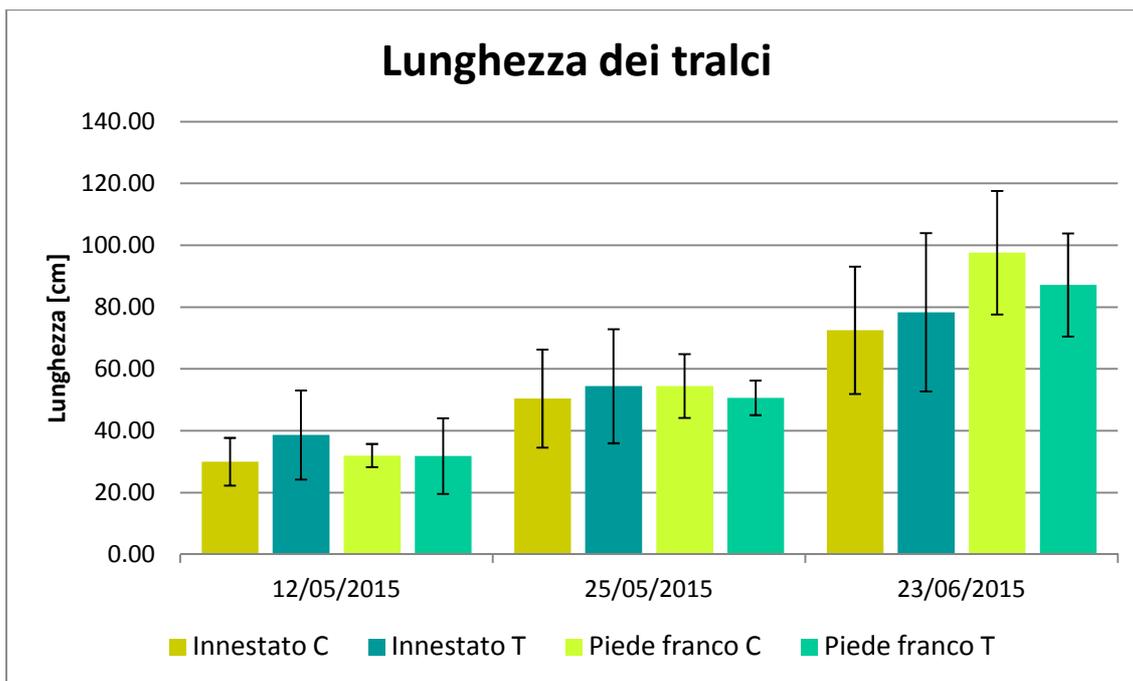


Figura 3.6 - Lunghezza media dei tralci [cm] nel vigneto Nuovo Impianto, nei tre rilievi effettuati. Sono messe a confronto le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) presenti nella parte di vigneto innestata con quelle trattate e di controllo presenti nella parte su piede franco.

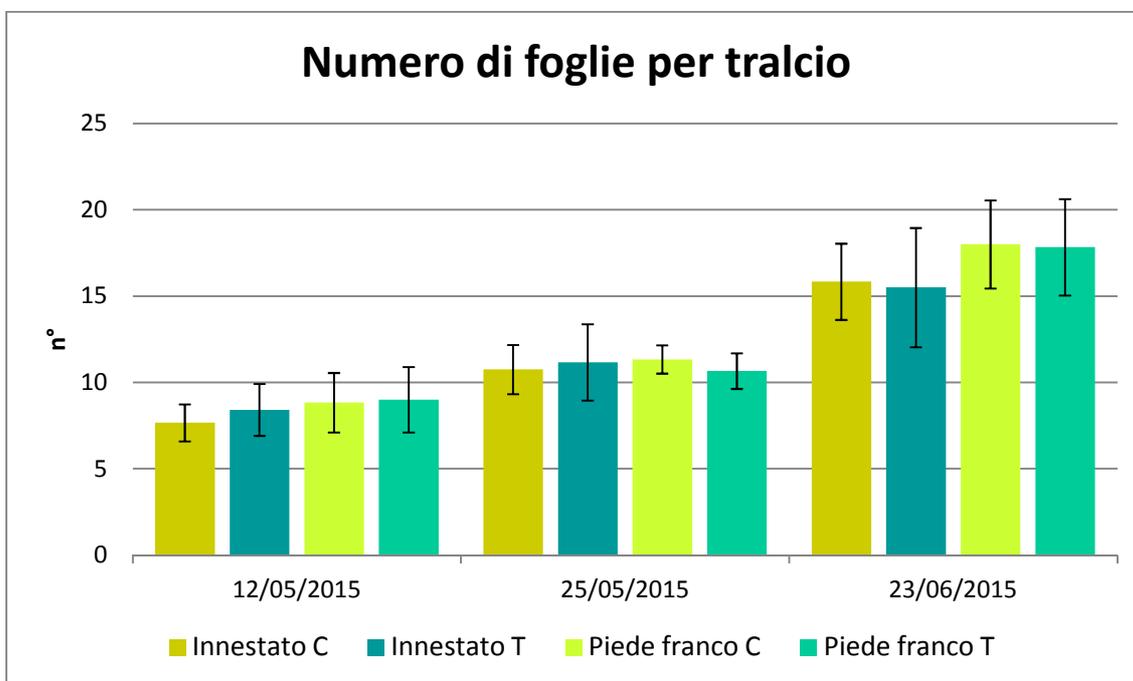


Figura 3.7 - Numero medio di foglie per tralcio, nel vigneto Nuovo Impianto, nei tre rilievi effettuati. Sono messe a confronto le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) presenti nella parte di vigneto innestata con quelle trattate e di controllo presenti nella parte su piede franco.

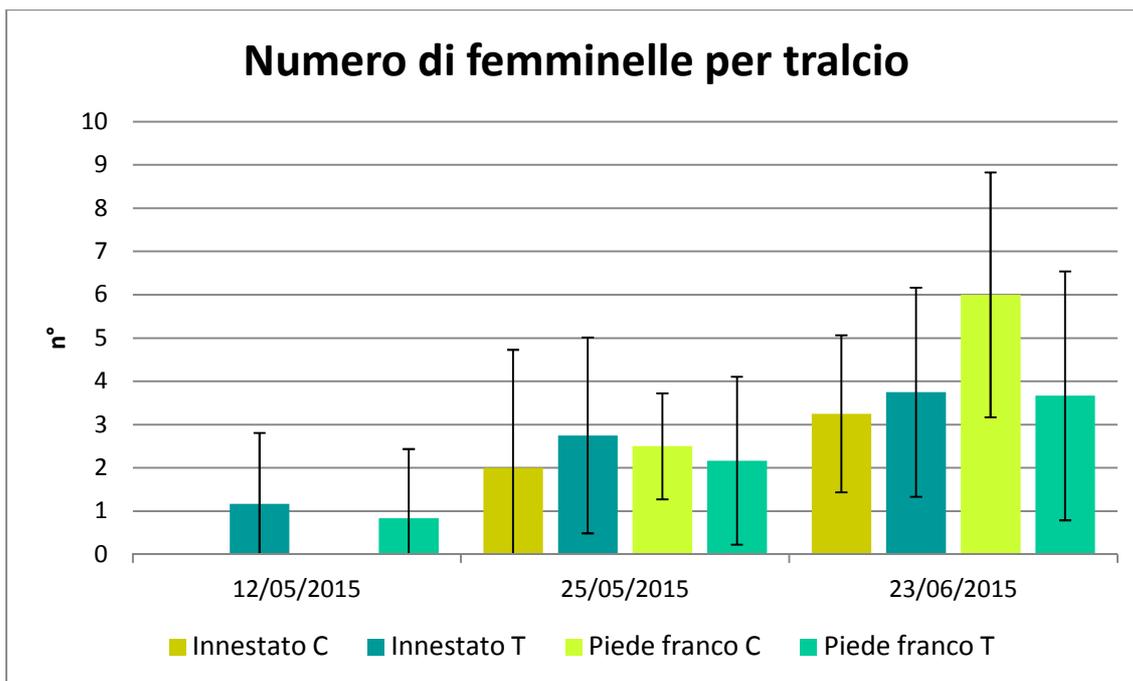


Figura 3.8 - Numero medio di femminelle per tralcio, nel vigneto Nuovo Impianto, nei tre rilievi effettuati. Sono messe a confronto le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) presenti nella parte di vigneto innestata con quelle trattate e di controllo presenti nella parte su piede franco.

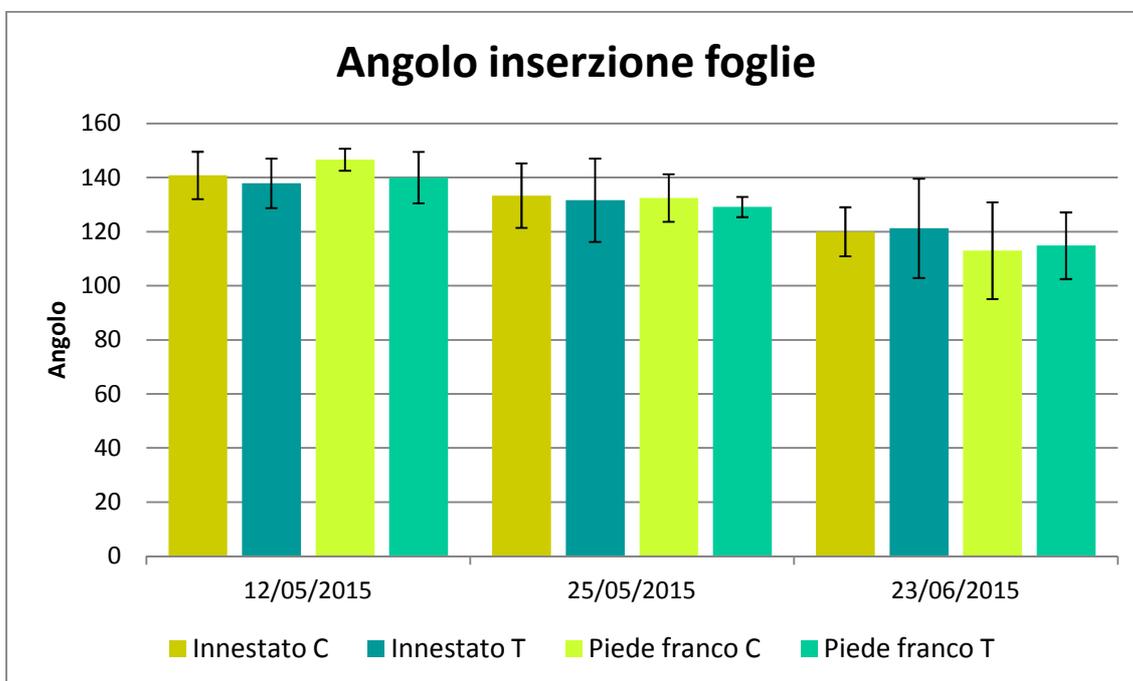


Figura 3.9 - Angolo medio di inserzione delle foglie sull'asse del tralcio, nel vigneto Nuovo Impianto, nei tre rilievi effettuati. Sono messe a confronto le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) presenti nella parte di vigneto innestata con quelle trattate e di controllo presenti nella parte su piede franco.

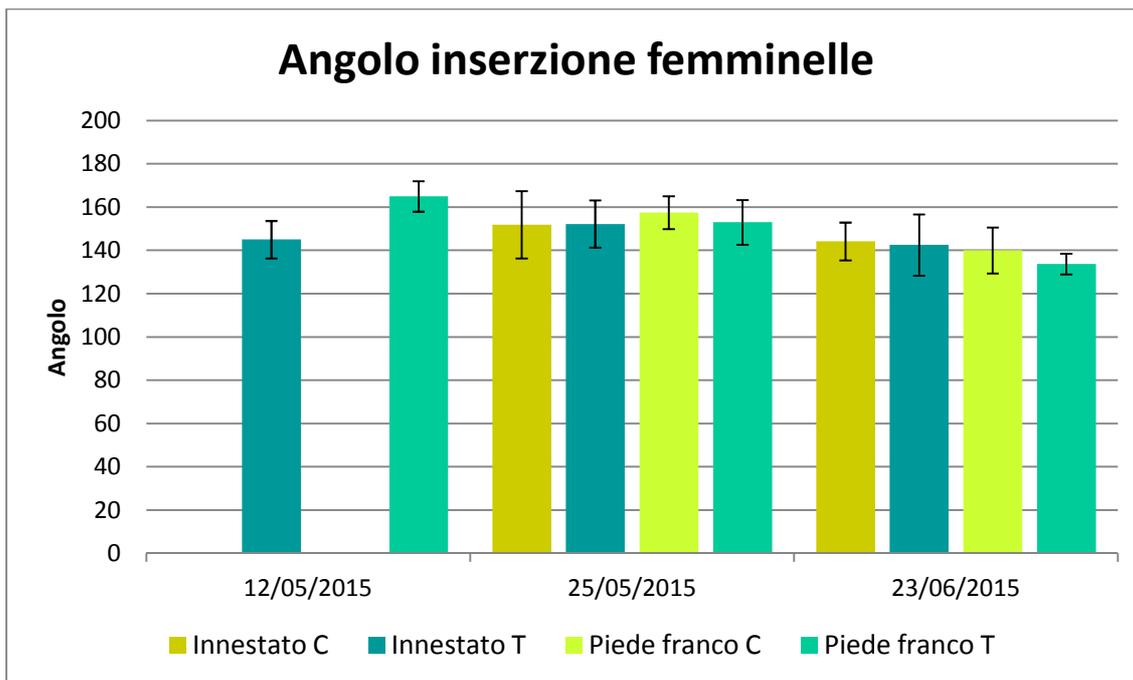


Figura 3.10 - Angolo medio di inserzione delle femminelle sull'asse del tralcio, nel vigneto Nuovo Impianto, nei tre rilievi effettuati. Sono messe a confronto le parcelle trattate (T) e quelle di controllo (C) presenti nella parte di vigneto innestata con quelle trattate e di controllo presenti nella parte su piede franco.

3.5 Risultati dalle analisi delle foglie

3.5.1 Estrazione delle clorofille

Una prima valutazione analitica delle risposte fisiologiche della pianta al trattamento con il preparato biodinamico 501, ha riguardato il contenuto di clorofilla nei tessuti fogliari, considerando la quantità di clorofilla per peso fresco fogliare (mg/g p.f.) come un indicatore della capacità fotosintetica della pianta (Chavarria et al., 2012; Zulini et al., 2012). Le foglie raccolte nelle tre epoche di campionamento sono state analizzate in laboratorio, ed i risultati sono stati osservati focalizzando l'attenzione sull'andamento nel corso della crescita vegetativa, sulle differenze tra parcelle trattate e di controllo, e sulle differenze tra piante innestate e su piede franco nel vigneto Nuovo Impianto. Coincidendo il primo campionamento fogliare con la data del primo trattamento, si è deciso di stabilire come "punto zero" la situazione misurata in questa data, al fine di osservare se ci fossero differenze successive e pertanto stabilire un'eventuale correlazione con il trattamento stesso.

Vigneto Eremi

Partendo dall'osservazione del vigneto Eremi, nell'arco di tempo che comprende i tre campionamenti (13/05/15, 26/05/15 e 23/06/15):

- il contenuto di clorofilla *a* (Figura 3.11) ha evidenziato un leggero calo tra i primi due campionamenti, mentre tra 2° e 3° campionamento nelle parcelle trattate si è osservato un aumento, che ha determinato una differenza significativa, in corrispondenza dell'ultimo campionamento, rispetto al controllo che è rimasto costante;
- il contenuto di clorofilla *b* (Figura 3.12) è rimasto più o meno costante nelle parcelle di controllo, mentre nel trattato si è registrato un aumento, che non ha però determinato alcuna differenza significativa rispetto al controllo;

- il contenuto di carotenoidi (Figura 3.13) dopo un leggero calo tra i primi due campionamenti ha invece evidenziato un aumento piuttosto sostanzioso tra 2° e 3° campionamento, tanto che si è riscontrata una differenza significativa tra le tesi T e C, con il contenuto nel trattato significativamente più elevato che nel controllo.

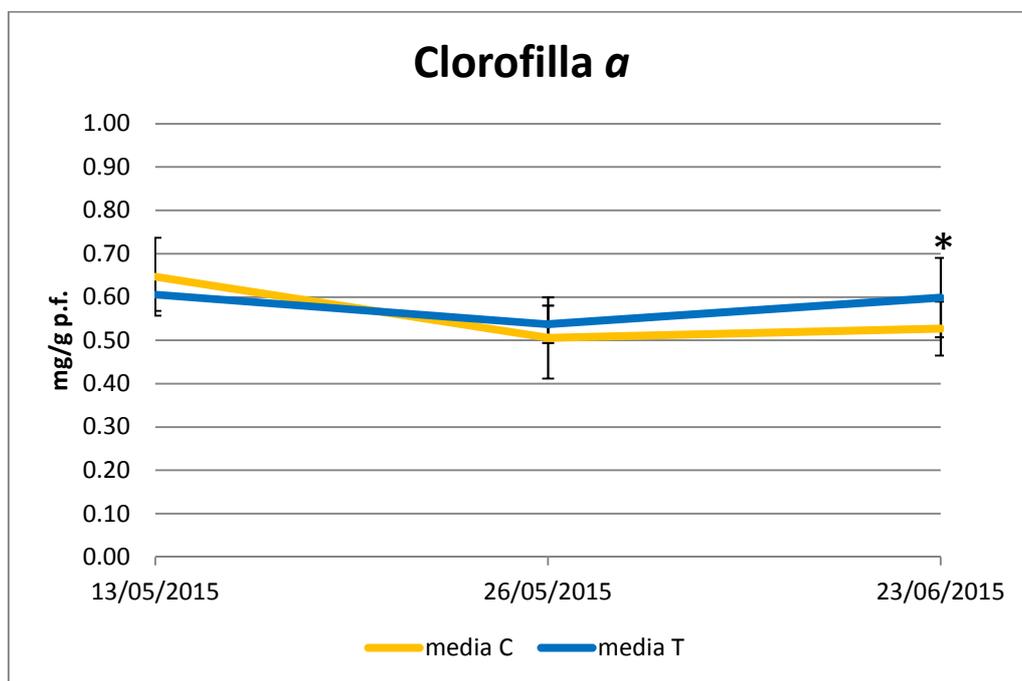


Figura 3.11 - Evoluzione della concentrazione, espressa in mg/g p.f., di clorofilla a (Chl a) nel periodo compreso tra Maggio e Giugno, nel vigneto Eremi. Confronto tra le piante trattate (T) e quelle di controllo (C).

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

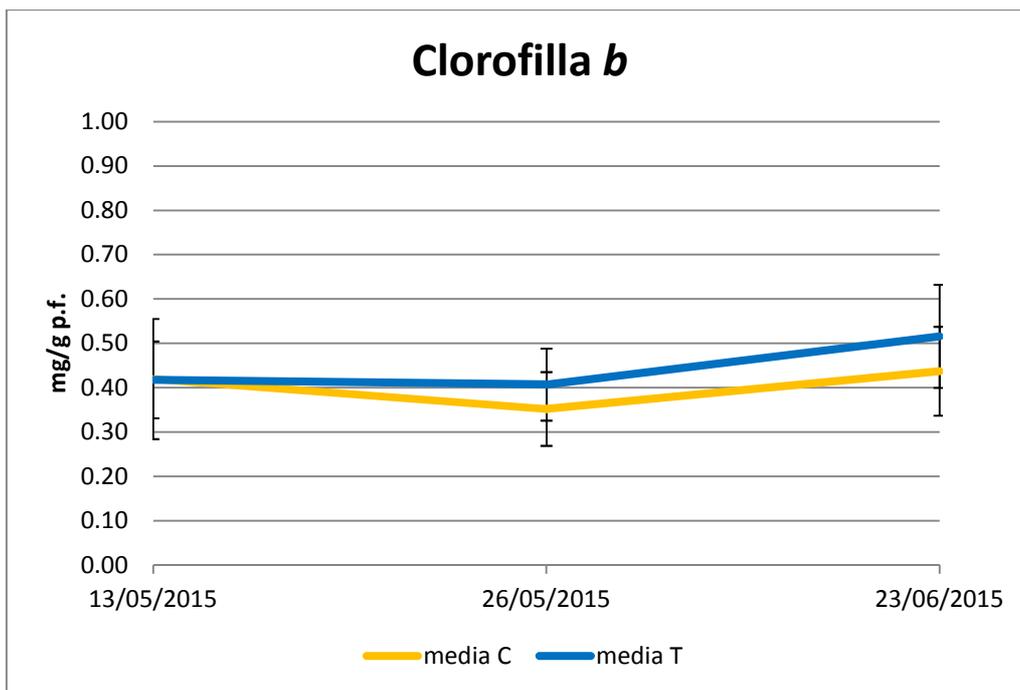


Figura 3.12 - Evoluzione della concentrazione, espressa in mg/g p.f., di clorofilla *b* (Chl*b*) nel periodo compreso tra Maggio e Giugno, nel vigneto Eremi. Confronto tra le piante trattate (T) e quelle di controllo (C).

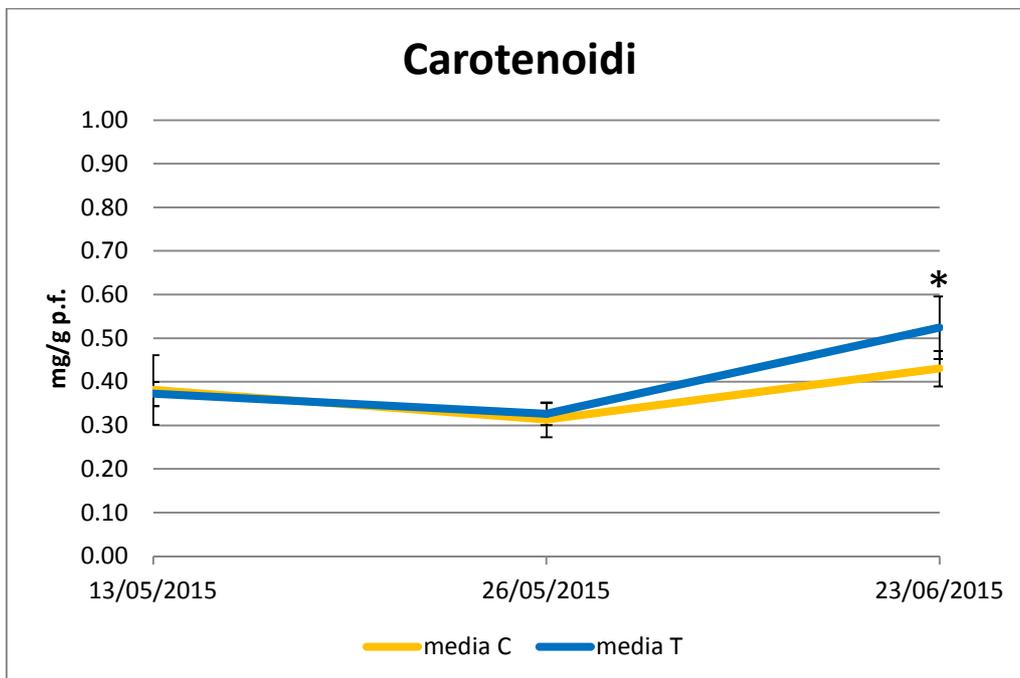


Figura 3.13 - Evoluzione della concentrazione, espressa in mg/g p.f., di carotenoidi nel periodo compreso tra Maggio e Giugno, nel vigneto Eremi. Confronto tra le piante trattate (T) e quelle di controllo (C).

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

Vigneto Nuovo Impianto

Per quanto riguarda l'estrazione delle clorofille dalle foglie, campionate nel vigneto Nuovo Impianto, sono stati raggruppati i dati per area di vigneto innestata ed area su piede franco. Si sono dunque osservate le eventuali differenze tra parcelle trattate e di controllo, all'interno di ciascuna delle due porzioni dello stesso vigneto (Figura 3.14). Anche in questo caso i valori rilevati al primo campionamento sono stati definiti come situazione iniziale non correlata al trattamento, essendo stato effettuato il campionamento solo poche ore dopo la prima distribuzione del preparato cornosilice. Le differenze rilevate in tale data sono state dunque considerate non imputabili al trattamento, bensì alla normale. Per prima cosa è stata riscontrata un'evoluzione nel contenuto di clorofille parallela all'andamento osservato nel vigneto Eremi, ed anche in questo caso sono emerse delle differenze significative tra le due tesi:

- al secondo campionamento le quantità di clorofille *a* e *b* e di carotenoidi erano maggiori nel trattato rispetto al controllo, nella porzione di vigneto innestata. Lo stesso trend è stato riscontrato per ogni parametro anche nel piede franco, ma la differenza è risultata significativa solo nel caso dei carotenoidi;
- al terzo campionamento si è osservato un maggior contenuto di clorofilla *a* e di carotenoidi nel trattato rispetto al controllo, solamente nella parte di vigneto su piede franco.

Ciò che si può complessivamente tracciare sono degli andamenti riguardanti le varie concentrazioni misurate nell'arco di tempo in cui, secondo le misurazioni morfometriche, si è registrata la massima crescita vegetativa (Figura 3.14). In ogni caso, relativamente a ciascuna porzione omogenea di vigneto, sono stati riscontrati i seguenti sviluppi:

- il contenuto di clorofilla *a* è rimasto più o meno costante nelle parcelle di controllo, mentre ha subito un aumento nelle parcelle trattate;
- il contenuto di clorofilla *b* nelle parcelle di controllo ha evidenziato un calo iniziale seguito da un successivo aumento tra 2° e 3° campionamento. Nei filari trattati invece

si è registrato un livello costante tra i primi due rilievi ed un aumento piuttosto considerevole nella fase seguente;

- il contenuto di carotenoidi inizialmente è calato nel caso delle parcelle di controllo per poi tornare a livelli superiori nella seconda fase di campionamento; il trattato invece ha mostrato un andamento di crescita piuttosto lineare ma leggermente più accentuato tra 2° e 3° campionamento.

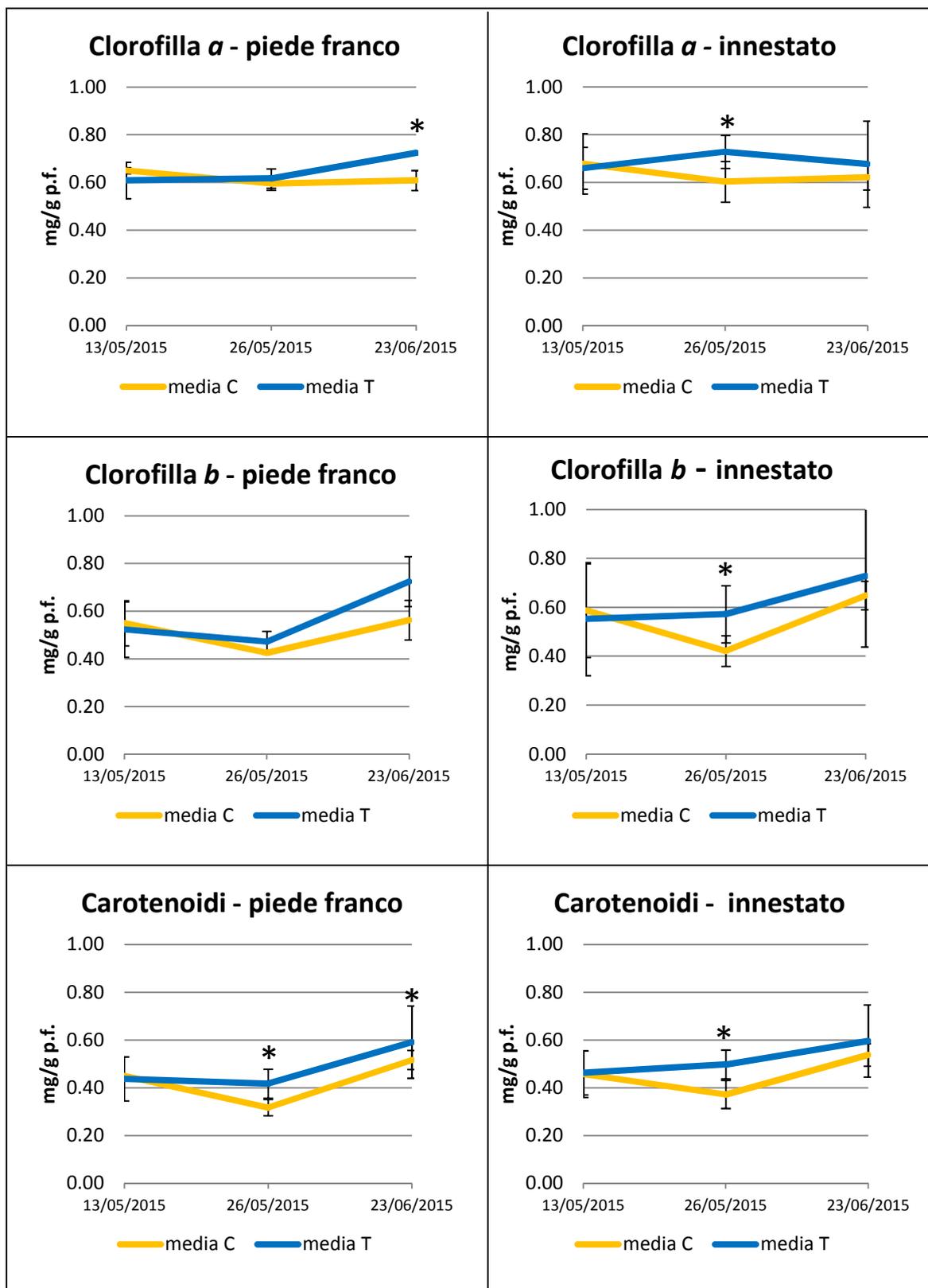


Figura 3.14 - Grafici rappresentativi l'andamento della concentrazione (mg/g p.f.) di clorofille e carotenoidi nelle foglie prelevate dal vigneto Nuovo Impianto, distinguendo "piede franco" da "innestato". Confronto tra parcelle trattate (T) e di controllo (C).

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

3.5.2 Analisi di Azoto, Carbonio e Zolfo al CNS

La seconda indagine condotta per verificare gli effetti del trattamento con il preparato 501 a livello di fisiologia della pianta, e più nello specifico della fisiologia della foglia, è stata la misurazione del contenuto di carbonio ed azoto all'interno delle foglie stesse, al CNS. In base alle risorse disponibili si è deciso di analizzare esclusivamente i campioni di foglie provenienti dall'ultima data di raccolta, ovvero il 23 Giugno. Per ciascun campione è stata effettuata una replica (A e B) e dunque sono state eseguite un totale di 46 analisi, partendo dai 23 campioni iniziali: 11 filari nel vigneto Eremi (è stato escluso l'ultimo filare di sangiovese dai 12 filari oggetto di studio) e 12 filari nel vigneto Nuovo Impianto.

I risultati hanno messo in evidenza un effetto del trattamento con il preparato 501, con differenze significative sia all'interno del vigneto Eremi (Tabella 3.3) che del Nuovo Impianto (Tabella 3.4). Nella vigna denominata Eremi è stata rilevata una maggiore percentuale di azoto totale nelle parcelle trattate rispetto a quelle di controllo.

Nel vigneto Nuovo Impianto è stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra i campioni fogliari raccolti nei filari su piede franco e quelli sui filari innestati, con una percentuale di azoto totale e di zolfo in entrambi i casi maggiore nella porzione su piede franco rispetto a quella innestata. Nella distinzione tra le parcelle trattate e quelle di controllo sono emerse invece differenze significative relative al contenuto di carbonio totale e di zolfo. In entrambe le sottoaree, distinte dal tipo di apparato radicale, è stato evidenziato un maggiore contenuto di carbonio totale e di zolfo nelle parcelle di controllo rispetto a quelle trattate.

Tabella 3.3 - Contenuto di azoto, carbonio e zolfo (medie \pm dev.st) nei campioni di foglie prelevati dal vigneto Eremi. Confronto tra le parcelle trattate e di controllo.

EREMI	Azoto totale	Carbonio totale	Zolfo
	%		
Controllo	1.84 ± 0.10	43.38 ± 0.74	0.25 ± 0.02
Trattato	1.96* ± 0.15	43.46 ± 0.36	0.25 ± 0.02

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$, del Trattato rispetto al Controllo.

Tabella 3.4 - Contenuto di azoto, carbonio e zolfo (medie \pm dev.st) nei campioni di foglie prelevati dal vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra le parcelle trattate e di controllo.

NUOVO IMPIANTO	Azoto totale	Carbonio totale	Zolfo
	%		
Piede Franco	1.95* ± 0.11	43.52 ± 0.94	0.39* ± 0.09
Innestato	1.69 ± 0.07	44.30 ± 0.95	0.26 ± 0.04
PF Controllo	2.01 ± 0.03	44.26* ± 0.57	0.45* ± 0.07
PF Trattato	1.90 ± 0.15	42.77 ± 0.29	0.33 ± 0.05
IN Controllo	1.72 ± 0.08	45.05 ± 0.51	0.29* ± 0.03
IN Trattato	1.66 ± 0.06	43.55* ± 0.58	0.23 ± 0.01

* Differenza significativa, al test t di Student con $\alpha=0.05$.

3.5.3 Analisi degli elementi minerali con ICP

Dall'analisi degli elementi allo spettrometro ad emissione ICP, è stata ricavata la concentrazione in ppm di ferro, magnesio, manganese, fosforo e silicio, all'interno delle foglie. Nello specifico sono state analizzate le foglie prelevate con l'ultimo campionamento eseguito in data 23 Giugno.

Dai risultati ricavati (Tabelle 3.5 e 3.6) non sono emerse differenze significative tra le parcelle trattate e quelle di controllo, per gli elementi considerati, in nessuno dei due vigneti oggetto di studio.

Sono tuttavia emerse differenze significative all'interno del Nuovo Impianto, distinguendo le parcelle innestate da quelle su piede franco. In particolare si è osservato un contenuto significativamente maggiore nelle foglie campionate dai filari su piede franco, in termini di: magnesio, manganese e fosforo.

Tabella 3.5 - Concentrazione nelle foglie (medie \pm dev.st) degli elementi analizzati attraverso spettrometro ICP, in seguito a mineralizzazione dei campioni. Dati relativi al vigneto Eremi per il campionamento del 23/06/2015.

EREMI	Fe	Mg	Mn	P	Si
	[ppm]				
C	84.42 ± 9.97	1442.16 ± 140.58	63.89 ± 14.31	1584.24 ± 418.69	621.29 ± 82.29
T	94.60 ± 7.57	1301.13 ± 162.78	63.08 ± 7.86	1382.07 ± 119.59	677.61 ± 53.42

Tabella 3.6 - Concentrazione nelle foglie (medie \pm dev.st) degli elementi analizzati attraverso spettrometro ICP, in seguito a mineralizzazione dei campioni. Dati relativi al vigneto Nuovo Impianto per il campionamento del 23/06/2015.

NUOVO IMPIANTO	Fe	Mg	Mn	P	Si
	[ppm]				
PF	85.72 ± 11.16	2383.81* ± 208.99	74.47* ± 10.18	1394.91* ± 66.44	759.05 ± 41.93
IN	76.26 ± 5.78	1918.36 ± 288.01	49.55 ± 4.95	1187.11 ± 71.00	760.59 ± 111.92
PF C	84.12 ± 10.51	2553.52 ± 119.98	80.20 ± 1.10	1401.88 ± 44.23	728.15 ± 13.38
PF T	87.33 ± 15.91	2214.10 ± 37.74	68.75 ± 13.36	1387.94 ± 105.33	789.95 ± 35.72
IN C	73.91 ± 5.64	1951.92 ± 253.46	46.78 ± 2.65	1177.91 ± 55.47	781.64 ± 100.84
IN T	78.60 ± 5.60	1884.80 ± 355.39	52.33 ± 5.45	1196.31 ± 91.98	739.53 ± 133.69

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha=0.05$.

3.6 Risultati dalle analisi degli acini

3.6.1 Zuccheri, acidità e polifenoli

I risultati delle analisi degli acini hanno evidenziato innanzitutto l'andamento dell'evento di maturazione, tra i mesi di agosto e settembre, valutato sui parametri zuccheri, acidità totale e polifenoli nelle bucce.

Vigneto Eremi

Nel vigneto Eremi si è osservato chiaramente un aumento del contenuto di zuccheri (Tabella 3.7) nel corso della maturazione, con la tesi trattata sempre maggiore rispetto al controllo, sebbene la differenza sia risultata statisticamente significativa solamente alla prima data di campionamento. Anche l'evoluzione dell'acidità totale (Tabella 3.7) ha seguito il tipico andamento della fase di maturazione dell'uva, con una rapida diminuzione iniziale, poi più attenuata tra 2° e 3° campionamento. Non sono però state evidenziate differenze di alcun tipo tra le parcelle trattate e quelle di controllo. Anche per quanto riguarda la variazione della concentrazione di polifenoli nelle bucce, in mg/g di buccia (Figura 3.15) si è osservata una diminuzione nel corso dell'evento di maturazione, con però un particolare andamento del trattato rispetto al controllo: inizialmente il trattato presentava una concentrazione maggiore di polifenoli rispetto al controllo con una differenza non significativa, mentre all'epoca di vendemmia la situazione si è invertita e si è osservata una minore concentrazione di polifenoli nei campioni trattati rispetto a quelli di controllo, in questo caso con una differenza statisticamente significativa. Questo particolare andamento va però ricollegato alla variazione di peso delle bucce (Figura 3.16) nel corso della maturazione; in relazione a questo parametro si è infatti rilevata una tendenza esattamente contraria rispetto a quella osservata per la variazione nella concentrazione di polifenoli. Rapportando infatti la concentrazione di polifenoli al kg di uva (Figura 3.17) è emerso un calo durante l'evento di maturazione, ed una minore quantità di polifenoli nel trattato rispetto al controllo in ognuna delle tre date di campionamento, senza evidenziare

però alcuna differenza significativa. Questo dato afferma ulteriormente che la differenza significativa tra T e C all'ultimo campionamento sembra essere legata alla variazione nel peso delle bucce piuttosto che alla diversa concentrazione di polifenoli. Infine, l'ultimo dato considerato per il vigneto Eremi, relativamente all'evoluzione dell'uva in maturazione, è il peso degli acini stessi, misurato come peso medio di 20 acini (Figura 3.18). In ciascuno dei tre campionamenti il peso medio degli acini è risultato maggiore nel campione trattato rispetto al controllo. E' stata però evidenziata una differenza significativa solamente in coincidenza del 2° campionamento, mentre al 1° ed al 3° la differenza non è risultata significativa.

Tabella 3.7 - Medie (\pm dev.st) relative a concentrazione di zuccheri ($^{\circ}$ Brix) e acidità totale (g/l di ac. tartarico) delle uve campionate dal vigneto Eremi. Confronto tra parcelle Trattate e di Controllo nelle tre date di campionamento.

EREMI	11/08/2015		24/08/2015		07/09/2015	
	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato
Zuccheri	13.48 ± 0.56	14.46* ± 0.71	17.63 ± 1.25	18.32 ± 1.02	22.70 ± 1.44	23.46 ± 0.78
Ac. totale	9.37 ± 1.73	9.54 ± 2.00	5.60 ± 0.77	5.48 ± 0.56	4.32 ± 0.46	4.34 ± 0.96

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

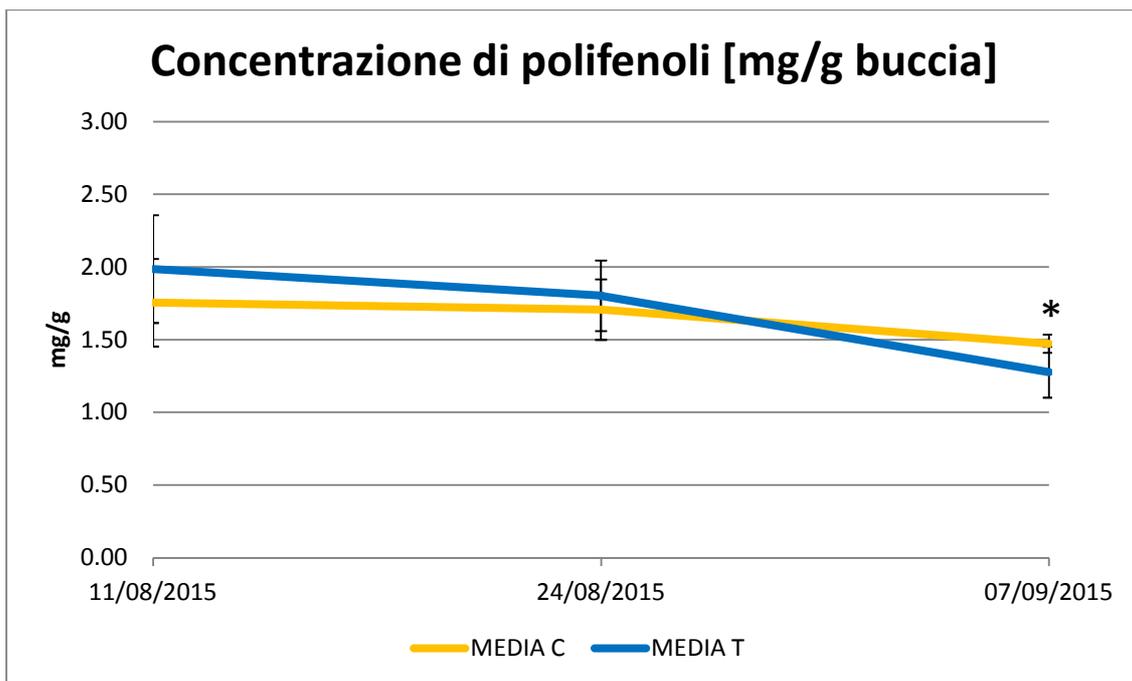


Figura 3.15 - Evoluzione della concentrazione di polifenoli nelle bucce, misurati in mg/g di buccia, durante il corso della maturazione, nel vigneto Eremi. Confronto tra la tesi trattata (T) ed il controllo (C).

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

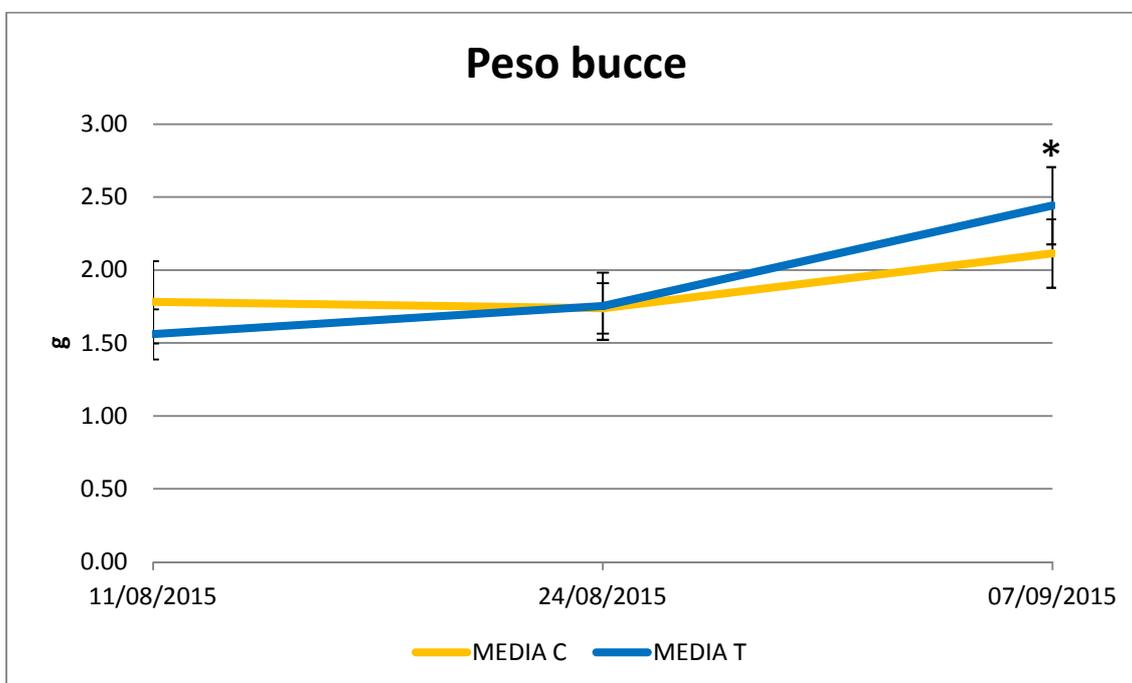


Figura 3.16 - Evoluzione del peso medio delle bucce, nel corso della maturazione, nel vigneto Eremi. Confronto tra la tesi trattata (T) ed il controllo (C).

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

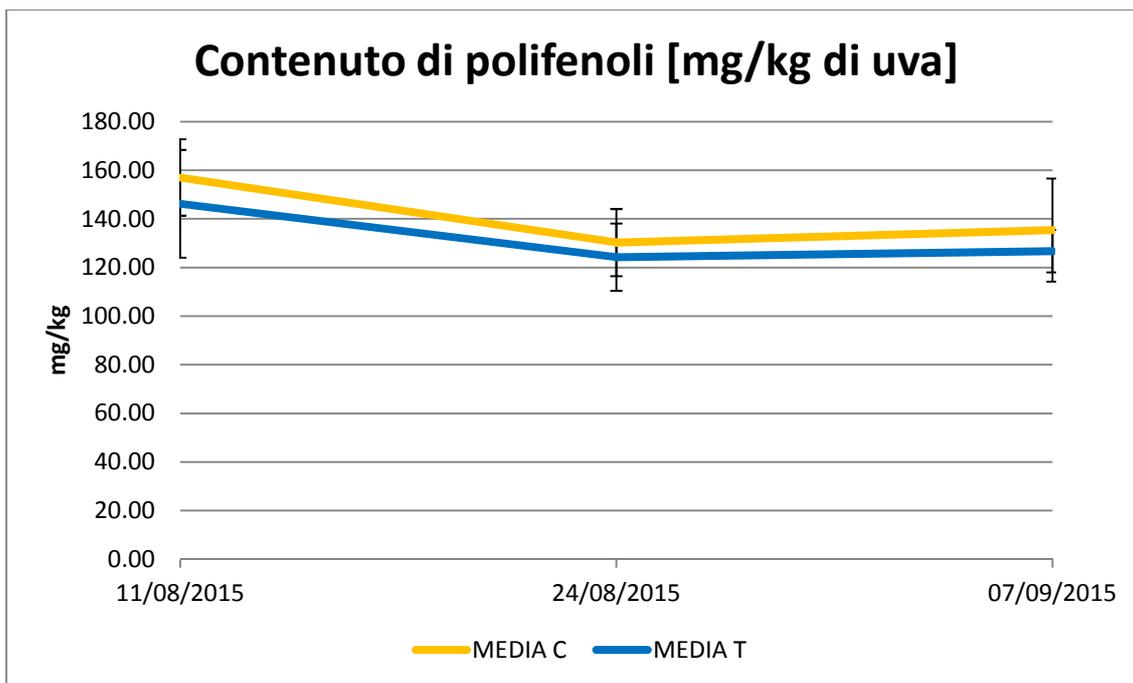


Figura 3.17 - Evoluzione del contenuto di polifenoli nelle bucce, misurati in mg/kg di uva, durante il corso della maturazione, nel vigneto Eremi. Confronto tra la tesi trattata (T) ed il controllo (C).

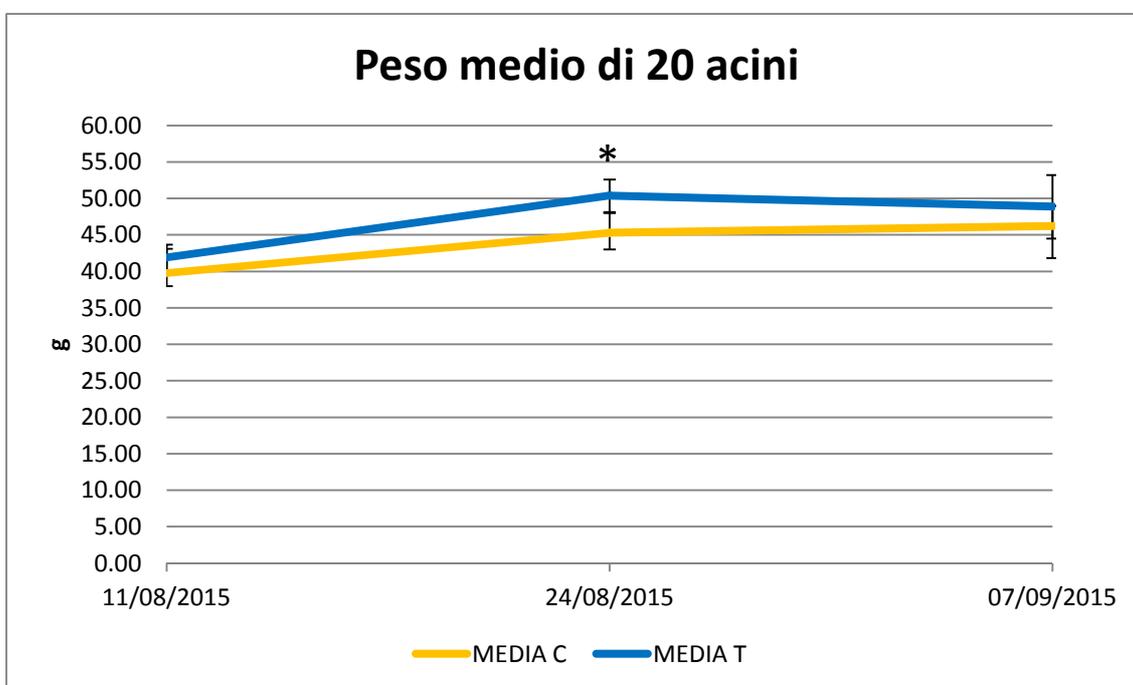


Figura 3.18 - Variazione del peso medio di 20 acini nel corso delle maturazione, nel vigneto Eremi. Confronto tra la tesi trattata (T) ed il controllo (C).

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

Vigneto Nuovo Impianto

Il vigneto Nuovo Impianto è stato considerato a parte, poiché è stata valutata la variabilità interna legata alla presenza di una parte di vigneto su piede franco ed una parte innestata; questo fattore ha infatti messo in risalto alcune differenze tra le due porzioni di vigneto.

In ciascuna delle tre date di campionamento sono emerse differenze statisticamente significative tra i filari innestati e quelli su piede franco, in termini di zuccheri, acidità e peso degli acini:

- la concentrazione di zuccheri (Tabella 3.8) è risultata essere significativamente maggiore nell'innestato rispetto al piede franco in ognuna delle tre date di campionamento;
- l'acidità totale (Tabella 3.8) in corrispondenza dei primi due campionamenti è apparsa significativamente minore nell'innestato;
- il peso medio di 20 acini (Figura 3.22), che al primo campionamento non evidenziava alcuna differenza, al terzo campionamento è risultato essere statisticamente maggiore nel piede franco rispetto alla parte di vigneto innestata.

Per quanto riguarda il contenuto di polifenoli nelle bucce (Figura 3.19), nel complesso si è osservato un andamento in fase di maturazione di diminuzione lineare della concentrazione di polifenoli in rapporto al peso delle bucce (mg/g di buccia) (Figura 3.20), come si era riscontrato nel vigneto Eremi. Questo andamento si è verificato in entrambe le porzioni del Nuovo Impianto, innestata e non, con un contenuto costantemente maggiore nelle piante su piede franco, ed una differenza significativa rispetto a quelle innestate, in corrispondenza della data di vendemmia. Rapportando invece il contenuto in polifenoli al peso di un kg di uva (mg/kg di uva) (Figura 3.21), è stato evidenziato un risultato diametralmente opposto: solo inizialmente il contenuto era maggiore nel piede franco, già al secondo campionamento la situazione si ribaltava per arrivare alla raccolta con un contenuto significativamente maggiore nell'innestato. Ciò può essere spiegato prendendo in esame alcuni dati: al 07/09 il peso medio delle bucce era maggiore nell'innestato, e come si era osservato nel vigneto Eremi a ciò si

accompagnava una minore concentrazione di polifenoli; essendo però caratterizzata la parte innestata da un peso degli acini significativamente minore rispetto al parte su piede franco, ciò si è tradotto in un maggior numero di acini per chilogrammo d'uva e dunque in un maggiore contenuto di polifenoli in mg/kg di uva, sebbene lo stesso contenuto in mg/g buccia fosse risultato minore nell'innestato rispetto al controllo. Si è scelto di esprimere il contenuto di polifenoli in mg/g di buccia poiché questo rapporto dà un'idea della loro concentrazione nel comparto in cui sono maggiormente presenti, tuttavia il riferimento dei mg di polifenoli sui kg di uva dà un'idea maggiormente realistica del contenuto globale per un data quantità d'uva, e quindi una sorta di valore qualitativo più rappresentativo, sebbene in questo caso si tratti di uve a bacca bianca. All'interno del vigneto Nuovo Impianto, distinguendo le due porzioni omogenee caratterizzate da un diverso apparato radicale, non sono però emerse differenze in alcun modo rilevati tra le parcelle trattate e di controllo per quanto riguarda gli indici di maturazione fisiologica delle bacche considerati.

Tabella 3.8 - Medie (\pm dev.st) relative a concentrazione di zuccheri ($^{\circ}$ Brix) e acidità totale (g/l ac. tartarico) delle uve campionate dal vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra parcelle su piede franco (PF) e parcelle innestate (IN) nelle tre date di campionamento.

NUOVO IMPIANTO	11/08/2015		24/08/2015		07/09/2015	
	PF	IN	PF	IN	PF	IN
Zuccheri	11.80 ± 0.74	15.90* ± 1.71	16.28 ± 1.04	21.63* ± 1.44	21.13 ± 1.83	27.16* ± 0.73
Ac. totale	10.53 ± 1.79	7.31* ± 0.60	5.85 ± 0.54	5.01* ± 0.54	4.43 ± 0.49	5.06 ± 0.64

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

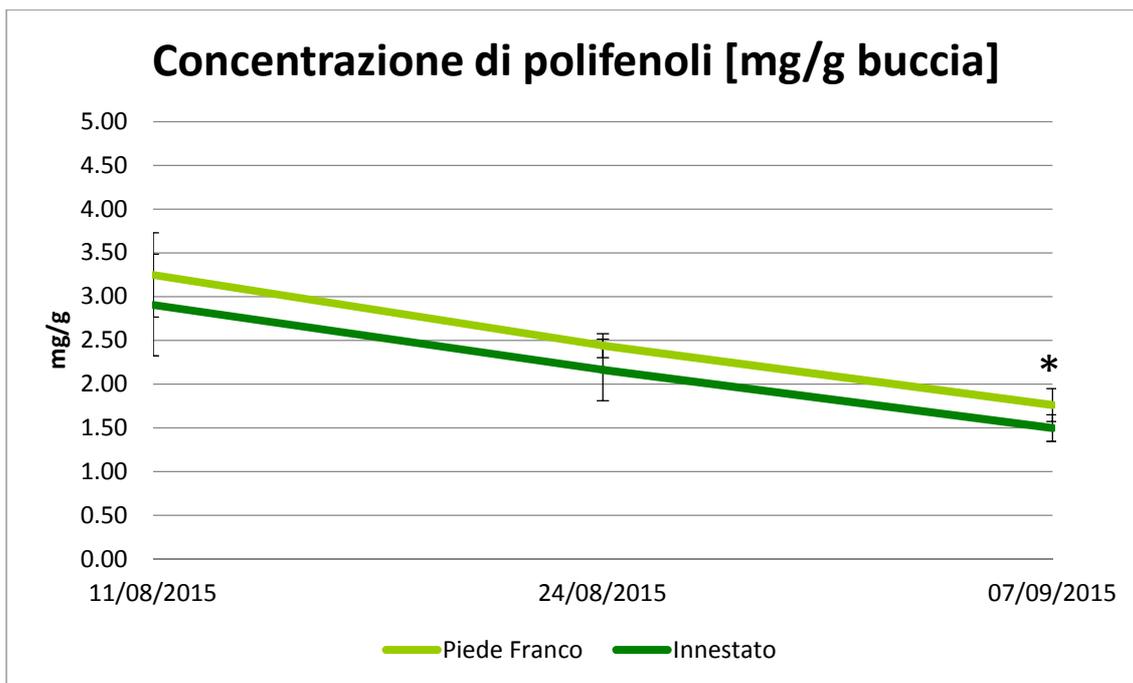


Figura 3.19 - Evoluzione della concentrazione di polifenoli nelle bucce, misurati in mg/g di buccia, durante il corso della maturazione, nel vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra le parcelle su Piede Franco e quelle Innestate.

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

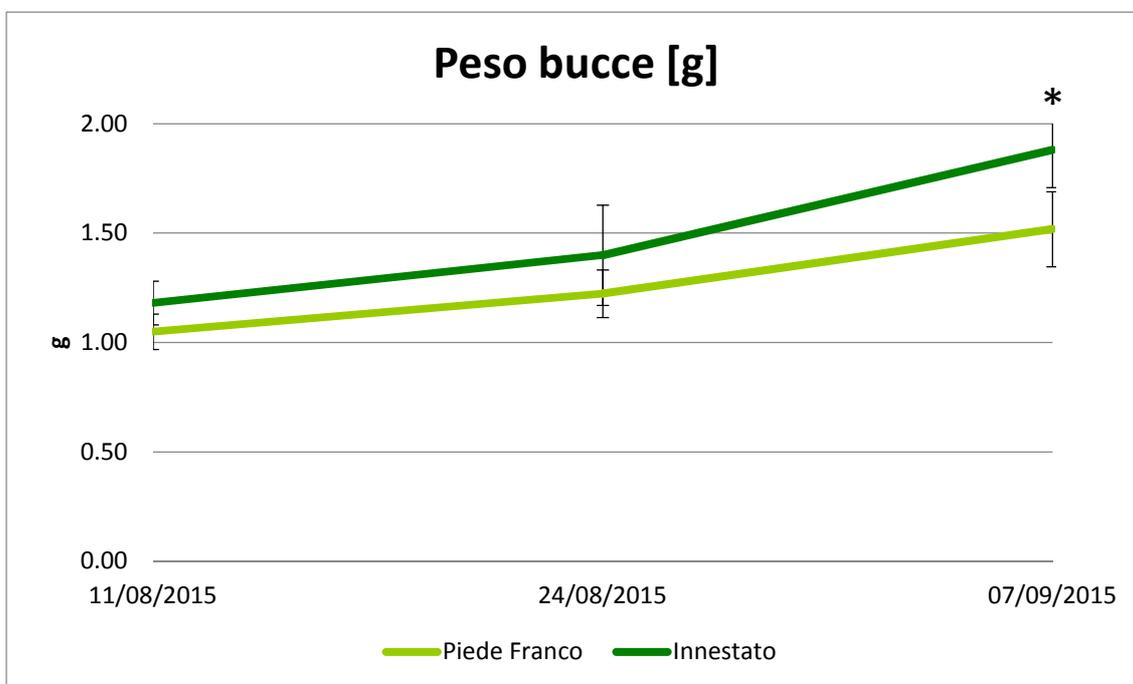


Figura 3.20 - Evoluzione del peso medio delle bucce, nel corso della maturazione, nel vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra le parcelle su Piede Franco e quelle Innestate.

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

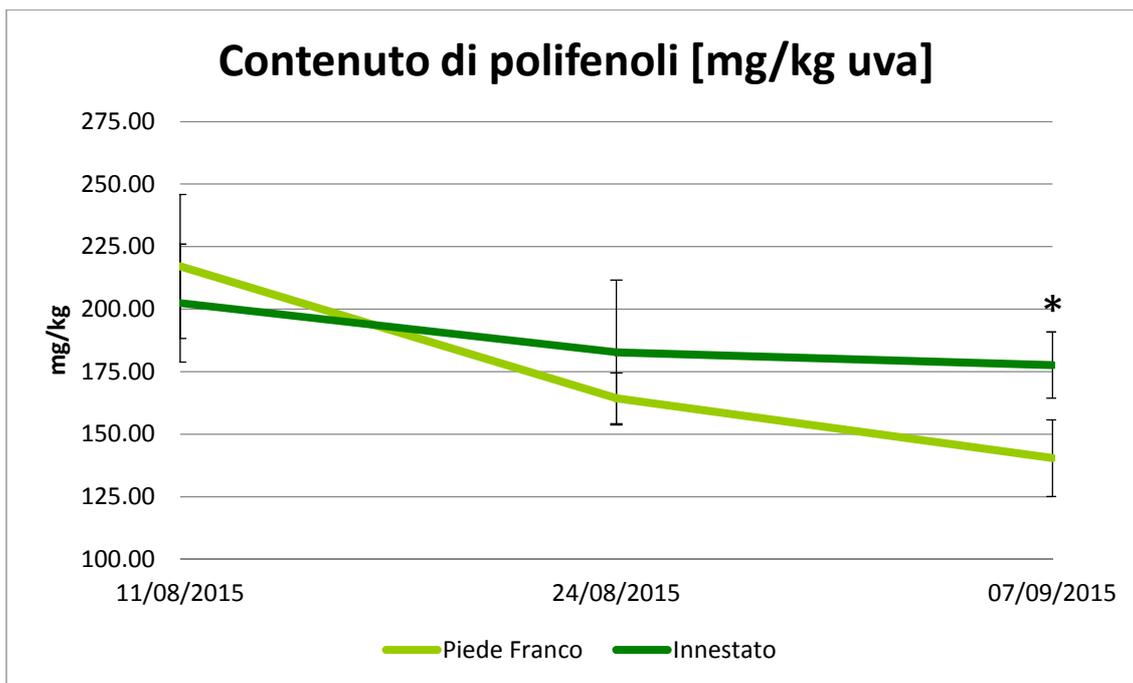


Figura 3.21 - Evoluzione del contenuto di polifenoli nelle bucce, misurati in mg/kg di uva, durante il corso della maturazione, nel vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra le parcelle su Piede Franco e quelle Innestate.

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

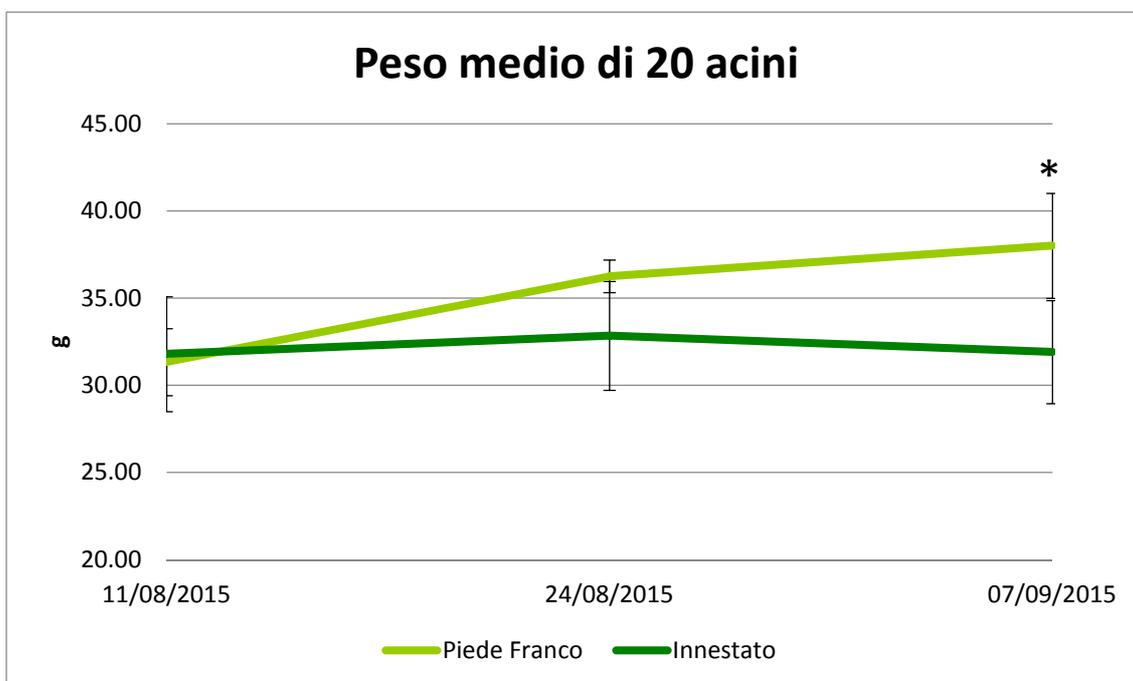


Figura 3.22 - Variazione del peso medio di 20 acini nel corso delle maturazione, nel vigneto Nuovo Impianto. Confronto tra le parcelle su Piede Franco e quelle Innestate.

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha = 0.05$.

3.6.2 Risultati dell'analisi con HPLC

Dall'analisi mediante HPLC sono state ricavate le concentrazioni in g/l di glucosio, fruttosio, acido tartarico ed acido malico, nei campioni d'uva raccolti. Questi dati hanno permesso infatti un'elaborazione più approfondita dei valori ricavati dalle precedenti misure dei solidi solubili al rifrattometro e dell'acidità totale mediante titolazione.

Nel vigneto Eremi (Tabella 3.9) è stato infatti confermato l'andamento della concentrazione di zuccheri rilevato con l'analisi al rifrattometro: in ciascuna delle tre date di campionamento si è osservato un maggiore contenuto di glucosio e fruttosio nel trattato rispetto al controllo, con però una differenza significativa solamente in corrispondenza della prima data di rilievo. Per quanto riguarda invece la vigna denominata Nuovo Impianto non sono state riscontrate differenze significative tra le parcelle trattate e quelle di controllo, bensì è stata confermata il contenuto significativamente maggiore di zuccheri nella porzione di vigneto innestato rispetto a quella su piede franco, in tutte e tre le date di campionamento degli acini.

In merito alla concentrazione dei due principali acidi organici delle uve, nel vigneto Eremi (Tabella 3.9) è stato possibile effettuare alcune osservazioni più dettagliate rispetto a dati ricavati dalla titolazione, dalla quale non risultava infatti nessuna differenza rilevante. Con questo tipo di analisi si è infatti potuta osservare una tendenza del trattato ad avere un maggiore contenuto di acido tartarico ed un minore contenuto di acido malico rispetto alle parcelle di controllo, sebbene questa differenza si sia attenuata verso l'epoca di vendemmia. È risultata infatti una differenza significativa tra il trattato ed il controllo, per quanto riguarda la concentrazione di acido tartarico, solamente in data 11/08 ovvero al primo campionamento. Per quanto riguarda il Nuovo Impianto (Tabella 3.10) è emersa una differenza significativa in corrispondenza della data di vendemmia con un contenuto sia di ac. tartarico che ac. malico superiore nella porzione innestata rispetto a quella su piede franco. Per quanto concerne invece le parcelle trattate e di controllo non è emersa alcuna differenza significativa all'interno del vigneto Nuovo Impianto.

Tabella 3.9 - Concentrazioni di glucosio (Glu), fruttosio (Fru), acido tartarico (Tar) ed acido malico (Mal) nel vigneto Eremi (ER), nelle tre date di campionamento degli acini (medie \pm dev.st). Confronto tra parcelle Trattate (T) e di Controllo (C).

ER	11/08/2015				24/08/2015				07/09/2015			
	Glu	Fru	Tar	Mal	Glu	Fru	Tar	Mal	Glu	Fru	Tar	Mal
	g/l				g/l				g/l			
C	68.20 ± 5.35	55.79 ± 5.97	6.67 ± 0.64	7.40 ± 1.49	92.12 ± 7.43	85.62 ± 7.06	4.79 ± 0.47	5.70 ± 0.68	117.80 ± 8.31	117.41 ± 8.58	5.20 ± 0.83	3.45 ± 0.47
T	76.30* ± 6.38	63.05* ± 3.20	5.47* ± 1.07	8.21 ± 1.95	95.23 ± 6.73	90.81 ± 6.05	4.57 ± 0.40	6.09 ± 0.68	122.99 ± 4.90	122.90 ± 3.56	5.15 ± 0.34	3.68 ± 0.72

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha=0.05$.

Tabella 3.10 - Concentrazioni di glucosio (Glu), fruttosio (Fru), acido tartarico (Tar) ed acido malico (Mal) nel vigneto Nuovo Impianto (NI), nelle tre date di campionamento degli acini (medie \pm dev.st). Confronto tra parcelle Trattate (T) e di Controllo (C) distinguendo inoltre tra filari su piede franco (PF) e filari con piante innestate (IN).

NI	11/08/2015				24/08/2015				07/09/2015			
	Glu	Fru	Tar	Mal	Glu	Fru	Tar	Mal	Glu	Fru	Tar	Mal
	g/l				g/l				g/l			
PF	59.96 ± 4.08	47.77 ± 4.09	7.04 ± 1.19	7.79 ± 0.53	82.63 ± 5.03	78.96 ± 5.85	5.93 ± 0.31	5.00 ± 0.54	106.82 ± 10.89	103.32 ± 10.25	5.19 ± 0.32	3.81 ± 0.27
IN	81.70* ± 9.25	69.75* ± 9.58	6.72 ± 0.98	7.01 ± 0.70	113.16* ± 8.89	108.96* ± 6.82	5.56 ± 0.74	5.61 ± 0.50	141.73* ± 4.27	138.62* ± 4.11	6.44* ± 0.64	4.93* ± 0.39
PF C	61.48 ± 6.16	48.87 ± 5.82	7.55 ± 1.74	8.16 ± 0.17	82.09 ± 5.14	77.75 ± 4.17	5.74 ± 0.28	5.26 ± 0.27	106.54 ± 12.32	102.03 ± 12.50	5.39 ± 0.13	3.84 ± 0.39
PF T	58.43 ± 1.60	46.66 ± 3.39	6.52 ± 0.38	7.42 ± 0.50	83.17 ± 6.95	80.16 ± 8.91	6.12 ± 0.26	4.74 ± 0.73	107.10 ± 14.27	104.62 ± 12.34	5.00 ± 0.37	3.79 ± 0.25
IN C	83.24 ± 1.50	70.65 ± 2.32	6.87 ± 1.36	6.91 ± 1.09	118.45 ± 5.31	111.28 ± 5.71	5.88 ± 0.67	5.87 ± 0.31	142.99 ± 2.08	140.13 ± 2.62	6.46 ± 0.36	4.86 ± 0.31
IN T	80.16 ± 12.81	68.85 ± 13.35	6.57 ± 0.80	7.11 ± 0.41	107.87 ± 8.68	106.65 ± 7.68	5.25 ± 0.75	5.35 ± 0.53	140.47 ± 5.47	137.11 ± 4.91	6.42 ± 0.86	4.99 ± 0.48

* Differenza significativa al test t di Student con $\alpha=0.05$.

Capitolo 4.
DISCUSSIONE

La valutazione degli effetti del preparato 501 in un vigneto a conduzione biologica, nel quale vengono adottate solo alcune delle pratiche biodinamiche, ha fatto emergere alcuni aspetti d'interesse per quanto riguarda la fisiologia della foglia e del grappolo. Per l'interpretazione di questi dati emersi dalle varie analisi, si è partiti dunque dal considerare che tra i diversi ruoli imputati al preparato 501 si ritiene che quest'ultimo agisca come stimolatore ma anche come regolatore della crescita delle piante (Bekkers, 2010).

4.1 Effetti fisiologici a livello fogliare

Partendo dall'osservazione dei risultati emersi dalle analisi eseguite sulle foglie, un primo effetto positivo legato all'impiego del 501 ha riguardato il contenuto di clorofille (*a* e *b*) e carotenoidi nelle foglie. Il medesimo andamento nel corso della crescita vegetativa è stato evidenziato sia nel vigneto Eremi che nel vigneto Nuovo Impianto, con differenze significative tra parcelle trattate e di controllo in entrambi i vigneti. Visto il maggiore contenuto di clorofille e carotenoidi nelle foglie trattate con il preparato 501, si può pertanto ipotizzarne un effetto benefico sull'efficienza fotosintetica (Chavarria et al., 2012; Zulini et al, 2012).

Confrontando le concentrazioni di clorofilla nelle foglie (mg/g p.f.) rilevate in questa prova con quelle emerse da un altro lavoro condotto su vite (Bozzolo, 2010), si osservano alcune differenze. La concentrazione di clorofilla *a* risulta tendenzialmente inferiore (0,5-0,6 rispetto a 0,7-1,0 mg/g p.f.) mentre il contenuto di clorofilla *b* risulta maggiore (0,4-0,6 rispetto a 0,3-0,4 mg/g p.f.) rispetto al caso di studio osservato. Questa differenza comunque potrebbe essere influenzata dalle diverse condizioni pedoclimatiche in cui sono impostate le due prove, alla diversa cultivar oppure ad un effetto dell'annata. Dalla prova a confronto emergono infatti differenze tra le annate 2007, 2008, 2009 in termini di concentrazione di clorofilla (Bozzolo, 2010).

Risultati analoghi riguardo l'effetto del preparato 501 sull'incremento del contenuto di clorofille sono stati evidenziati in un recente studio (Marcolla, 2015), sebbene in tale caso il contenuto di clorofille sia stato misurato in campo attraverso un rilevatore SPAD.

Anche in relazione all'aumento di carotenoidi nelle parcelle trattate rispetto a quelle di controllo si può ipotizzare un miglioramento dell'efficienza fotosintetica. Questi pigmenti assorbono infatti a lunghezze d'onda diverse rispetto alle clorofille, e svolgono un ruolo di protezione della clorofilla stessa dalla foto-ossidazione (Chirico, 2013), oltre ad essere precursori di fitormoni come ABA e strigolattoni (Botton e Bonghi, 2012; Chirico, 2013).

Per quanto riguarda invece il contenuto di azoto nelle foglie i valori misurati rientrano tra gli standard di riferimento per l'analisi fogliare, secondo i quali, per la vite, si devono avere concentrazioni percentuali tra 1,60 e 2,90 (Sansavini et al., 2012). Paragonando inoltre la percentuale di azoto riscontrata durante questa prova, con altri lavori effettuati su vite, si evidenziano valori confrontabili (Bozzolo, 2010; Vercesi, 2000). I risultati appaiono invece inferiori se confrontati con quelli misurati nelle annate 2008 e 2009, tra allegagione ed invaiatura, in una prova condotta nel territorio dei Colli Euganei (Bozzolo, 2010). Anche in questo caso si possono però ipotizzare differenze legate a fattori pedo-climatici, all'annata ed anche alle operazioni colturali. In relazione al maggiore contenuto di azoto totale misurato nelle foglie trattate del vigneto Eremi, potrebbe pertanto esserci anche una correlazione con lo stato nutrizionale della pianta (Bertoldi, 2009; Porro et al., 2001; Zorer, 2008). L'effetto del preparato 501 sull'aumento di clorofilla, e quello sull'aumento della concentrazione di azoto nelle foglie potrebbero infatti risultare correlati, considerando l'importanza di questo elemento nella composizione delle molecole di clorofilla (Bozzolo, 2010; Zulini et al., 2012).

4.2 Effetti fisiologici sulla maturazione del grappolo

Andando a valutare gli effetti del preparato 501 sulla qualità delle uve e sulla fisiologia di maturazione, sono emerse alcune differenze significative legate principalmente alla concentrazione di zuccheri ed al rapporto tra peso delle bucce e contenuto di polifenoli. Queste differenze sono state osservate all'interno del vigneto Eremi, mentre

nel Nuovo Impianto, pur distinguendo le parcelle su piede franco da quelle innestate, è emersa una grande variabilità.

Nel vigneto Eremi è emerso un maggiore contenuto di solidi solubili (°Brix), significativo al "test t di Student", in corrispondenza del primo campionamento di acini in data 11 Agosto. Tale dato è inoltre stato confermato da una concentrazione di glucosio e fruttosio, emerse dall'analisi HPLC, significativamente superiore nel trattato rispetto al controllo. Successivamente, seppure sia perdurata una differenza numerica, la superiorità della tesi trattata non è risultata significativa. Un'ipotesi per giustificare tale andamento potrebbe considerare alcuni eventi climatici registrati a cavallo tra fine luglio ed inizio agosto. Si potrebbe infatti ipotizzare una correlazione tra il trattamento con il preparato 501 ed una sorta di avanzamento dello stato di maturazione, in seguito alle piogge ed al calo di temperature registrato nei primi giorni di Agosto. Il trattamento potrebbe infatti aver favorito le piante sulle quali era stato distribuito, stimolandone una maggiore capacità di assorbimento della luce (Masson, 2009) e quindi un avanzamento nella maturazione rispetto al controllo.

Confrontando i dati misurati con dei parametri di riferimento, riportati nelle schede dell'Associazione Costitutori Viticoli Italiani (www.acovit.it) relative ai diversi cloni di Verdicchio, i valori misurati alla data di raccolta risultano più elevati in questa tesi: 23°Brix contro i 19-20°Brix di riferimento. Questa differenza potrebbe però essere collegata al clima dell'annata in oggetto.

In relazione invece ad altri lavori di questo tipo, in cui sono stati valutati gli effetti della gestione biodinamica del vigneto, compreso l'impiego del cornosilice, in alcuni casi si sono trovati risultati concordi (Reeve et al., 2005); in altri casi invece non si è osservata nessuna variazione in termini di solidi solubili (Mescalchin et al., 2013), bensì si sono osservate differenze significative legate all'acidità, che in questa prova non erano state riscontrate. In entrambi gli studi messi a confronto con questa prova, però, le sperimentazioni erano state condotte in ambienti diversi, con diversi vitigni e valutando gli effetti complessivi della gestione biodinamica, non del singolo trattamento.

Per quanto riguarda i valori di acidità totale, acido tartarico ed acido malico, dal confronto con le schede di riferimento dell'Acovit non sono emerse differenze

significative tra i dati rilevati in questa prova e quelli di riferimento per il vitigno Verdicchio.

Un altro dato interessante, che in relazione all'impiego del 501 è stato registrato in corrispondenza della data di vendemmia, è stato un aumento del peso delle bucce nelle parcelle trattate. Questo dato, non essendo stato accompagnato da una variazione significativa in termini di peso degli acini, può essere altresì valutato come un maggiore ispessimento della buccia nei grappoli trattati, alla data di vendemmia. Tale effetto e la sua correlazione con il trattamento biodinamico andrebbero ad avvalorare la tesi, secondo la quale il preparato 501 è in grado di stimolare i meccanismi di difesa della pianta (Turinek et al., 2009), tra i quali potrebbe mettere in atto proprio un ispessimento delle bucce come difesa da patogeni esterni.

Infine, per quanto riguarda il contenuto di polifenoli totali nelle bucce (espresso in mg/g di buccia), si può affermare che il minore contenuto, osservato in corrispondenza del terzo campionamento, nella tesi trattata rispetto al controllo, sia legato alla variazione di peso delle bucce stesse. Rapportando infatti la misura di polifenoli ad una quantità standard di uva (mg/kg uva) non sono risultate differenze significative. Si può pertanto ipotizzare che la diminuzione della concentrazione di polifenoli nelle bucce, nella tesi trattata rispetto al controllo, sia dovuta ad una sorta di effetto di "diluizione" legato all'aumento significativo di peso delle medesime bucce. Questi risultati però non trovano conferma in altri studi sull'efficacia del preparato 501, bensì in una prova condotta nell'annata 2003 in California, emerge un contenuto significativamente maggiore di polifenoli totali nella tesi biodinamica rispetto a quella "biologica" (Reeve et al., 2005). In questo caso di studio tuttavia non veniva valutato in modo specifico il preparato cornosilice, bensì un insieme di pratiche di gestione biodinamica del vigneto, pertanto tale effetto non si può considerare correlato all'applicazione del 501.

Confrontando anche questi valori con misurazioni effettuate in altre prove, sono emerse differenze rispetto a questo lavoro, relativamente al contenuto di polifenoli nelle bucce. Sia in un primo studio che aveva preso in considerazione la varietà Verdicchio (Moretti et al., 2008), sia in una seconda prova sperimentale, condotta sul Fiano aromatico pugliese (De Palma et al., 2013), emergevano contenuti medi di polifenoli (mg/kg uva) molto più elevati rispetto a quelli riscontrati in questa tesi: 500-800 mg/kg di uva rispetto ai 150-200 mg/kg di uva rilevati dalle suddette analisi. Anche

in questo caso però, se si volessero giustificare tali differenze, andrebbero considerate tutte le numerose variabili che entrano in campo (vitigno e clone, annata, condizioni pedoclimatiche, gestione colturale, etc).

4.3 Differenze riscontrate tra parcelle innestate e su piede franco

All'interno del vigneto denominato Nuovo Impianto sono state individuate delle differenze significative non relative all'impiego del preparato 501, bensì al fattore di variabilità piede franco - innestato. Queste differenze non hanno interessato gli indici vegetativi misurati con i rilievi morfologici, ma sono risultati maggiormente evidenti dalle analisi effettuate su foglie e acini.

Le differenze riguardanti le foglie sono state evidenziate dalle analisi degli elementi con l'analizzatore elementare CNS e con lo spettrofotometro ICP. In particolare si è osservato un contenuto significativamente maggiore di azoto, zolfo, magnesio, manganese e fosforo nelle foglie provenienti dalle parcelle su piede franco rispetto a quelle con portinnesto.

I risultati più evidenti hanno però riguardato la composizione delle uve nel corso della maturazione:

- il contenuto di solidi solubili (°Brix) è apparso superiore nelle parcelle innestate rispetto a quelle di su piede franco, in ognuno dei tre campionamenti;
- l'acidità totale è risultata significativamente inferiore nelle parcelle innestate, in corrispondenza dei primi due campionamenti;
- il peso degli acini alla data di raccolta, ovvero al terzo campionamento, si è dimostrato maggiore nei filari su piede franco rispetto a quelli innestati.

Queste differenze sono state valutate in relazione allo stato di vigoria osservato in vigneto, ed in particolare si è riscontrata un'evidente superiorità in termini di vigoria nei filari allevati a piede franco. In relazione a questa osservazione si è potuto infatti ipotizzare che il minore peso degli acini, il maggiore contenuto di zuccheri e la minore

acidità rilevati nelle uve prodotte da piante non innestate, fossero dati correlati con lo stato di vigore osservato in vigna, e con la minore quantità d'uva presente in questa parte di vigneto. Ciò potrebbe infatti aver determinato una maturazione più precoce delle uve, presenti in quantità minore sulle piante.

Sempre in relazione alla qualità dell'uva, per quanto riguarda il contenuto di polifenoli nelle bucce, anche in questo caso è emersa una differenza significativa tra innestato e piede franco, alla data di vendemmia: si è riscontrato un contenuto più elevato di polifenoli (mg/g buccia) nell'area di vigneto su piede franco, tuttavia il contenuto complessivo in mg/kg d'uva ha dimostrato esattamente l'opposto. Ciò può essere ricollegato all'incremento significativo in peso degli acini delle piante su piede franco in tale data, e di conseguenza alla diminuzione del numero di acini per chilo d'uva, che in altri termini può essere visto come una diminuzione della superficie di buccia per chilo d'uva.

Infine riguardo il contenuto di glucosio, fruttosio, acido tartarico ed acido malico ricavati dall'analisi mediante HPLC, sono state confermate le differenze in termini di zuccheri precedentemente osservate: glucosio e fruttosio sono risultati significativamente superiori nelle parcelle innestate in corrispondenza di tutti e tre i campionamenti. Per quanto riguarda l'acidità invece sono emerse alcune considerazioni più approfondite: la concentrazione di ac. tartarico ed ac. malico nei primi due campionamenti non ha messo in risalto differenze significative mentre alla data di vendemmia è risultato un contenuto dei due acidi organici significativamente superiore nei campioni innestati rispetto a quelli su piede franco.

Capitolo 5.
CONCLUSIONI

I risultati ottenuti da questa tesi hanno evidenziato che l'applicazione del preparato biodinamico 501 in vigneto sembra avere degli effetti positivi sulla fisiologia della pianta in fase di accrescimento vegetativo e sulla maturazione del grappolo. Si è osservata infatti una tendenza all'aumento delle concentrazioni di clorofille, carotenoidi ed azoto nella foglia e ad una regolazione degli eventi interni al grappolo, legati alla maturazione. Tra questi si è riscontrato in modo più evidente un maggiore accumulo di zuccheri ed un ispessimento delle bucce. Sebbene siano state registrate differenze significative ed andamenti piuttosto evidenti, non si può però affermare che gli effetti siano sempre stati confermati in modo significativo in entrambi i vigneti a confronto e nelle diverse date di campionamento.

In questo lavoro si sono volute indagare le interazioni tra il trattamento biodinamico e la pianta, e le risposte di quest'ultima ad un determinato numero di applicazioni, con l'intento di comprendere meglio i meccanismi con i quali il preparato 501 interagisce. Partendo da una conoscenza più approfondita di questi meccanismi è infatti possibile auspicare una più attenta ed efficace gestione ed applicazione del cornosilice, per poter beneficiare al massimo dei suoi effetti, all'interno di un quadro gestionale che comprende molte altre pratiche. In una scelta di conduzione del vigneto, come quella biodinamica, si punta infatti all'ottenimento di rese contenute al fine di dar vita a prodotti di grande qualità, e la lotta contro agli organismi considerati dannosi per la produzione stessa, viene scavalcata dalla ricerca di un ecosistema equilibrato, capace di autoregolarsi, e recettivo nei confronti dell'ambiente circostante, in modo da poter ridurre al minimo gli input esterni (Bekkers, 2010). In questo contesto, una maggiore comprensione degli strumenti che si hanno a disposizione per perseguire tali obiettivi, potrebbe risultare un punto di forza ed una nuova spinta per il consolidamento di questo metodo produttivo. Sebbene venga spesso considerato arcaico, il metodo biodinamico può infatti rappresentare una valida risposta a molte delle attuali problematiche che deve fronteggiare il settore agricolo.

E' pertanto auspicabile che si continui a portare avanti ricerca scientifica in ambito di agricoltura biodinamica, per trovare conferme a questi dati ed aumentarne la significatività in annate diverse ed in zone geografiche diverse, fermo restando il cardine centrale della viticoltura di qualità, rappresentato dalla vocazionalità ambientale.

BIBLIOGRAFIA

Bertoldi D. (2009) - *Elementi minerali anche in traccia nel sistema suolo vite: accumulo e distribuzione nelle bacche e tracciabilità geografica delle uve*. Tesi di Dottorato di ricerca in: Viticoltura, Enologia e Marketing delle Imprese Vitivinicole, Università degli Studi di Padova.

Bekkers T. (2010) - *Biodynamics in viticulture*. Proceedings, Fourteenth Australian Wine Industry Technical Conference, Adelaide SA, 3-8 July.

Botton A., Bonghi C. (2012) - *Impiego dei fitoregolatori in viticoltura: potenzialità e problematiche*. Italus Hortus 19 (1), 2012: 23-35.

Bozzolo A. (2010) - *Influenza dell'apporto di compost sulle caratteristiche del suolo e sull'attività vegetativa e produttiva della vite in vigneti dei Colli Euganei*. Tesi di Dottorato di ricerca in: Viticoltura, Enologia e Marketing delle Imprese Vitivinicole, Università degli Studi di Padova.

Burgio G. (2014) - *La prevenzione come base della sostenibilità*. Ecoscienza, numero 4, p. 22-23.

Chavarria G., Dos Santos H. P., De Castro L. A. S., Marodin G. A. B., Bergamaschi H. (2012) - *Anatomy, chlorophyll content and photosynthetic potential in grapevine leaves under plastic cover*. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 661-668.

Chirico M. (2013) - *Espressione dei geni del metabolismo dei carotenoidi in bacche di Vitis vinifera: effetti della defogliazione*. Tesi di Laurea in Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, corso di studi in Biotecnologie vegetali e microbiche, Università di Pisa.

De Palma L., Tarricone L., Costacurta A., Carparelli P., Novello V. (2013) - *Il Fiano aromatico di Puglia, dal DNA al vino*. (www.aivv.it)

Demeter (2013) - *Standards per la vinificazione demeter in Italia*. (www.demeter.it)

Epstein E. (1993) - *The anomaly of Silicon in plant biology*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 91, pp. 11-17.

Fauteux F., Rémus Borel W., Menzies J. G., Bélanger R. R. (2005) - *Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi*. FEMS Microbiology Letters 249, p. 1-6.

Frayne (1986) - *Direct Analysis of the Major Organic Components in Grape Must and Wine Using HPLC*. R. F., Am. J. Enol. Vitic., 37, 281-287.

Fukuoka M. (1975) - *La rivoluzione del filo di paglia*. Quaderni d'Ontignano, Libreria Editrice Fiorentina, 2011.

Hunt J. W., Dean A. P., Webster R. E., Johnson G. N., Ennos A. R. (2008) - *A novel mechanism by which Silica defends grasses against herbivory*. Annals of Botany 102, p. 653–656.

IFOAM EU Group (2013) - *Norme UE per la produzione di vino biologico. Contesto, valutazione e ulteriore sviluppo del settore*. (www.ifoam-eu.org)

Joly N. (2002) - *Il vino tra cielo e terra*. Porthos edizioni.

Ma J. F. (2003) a - *Functions of Silicon in higher plants*. Progress in Molecular and Subcellular Biology, vol. 33. W.E.G. Müller (Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Ma J. F. (2003) b - *Role of Silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses*. Soil Sci. Plant Nutr., 50 (1), 11 - 18, 2004.

Marcolla E. (2015) - *Valutazione degli effetti del preparato 501 su vigneti biologici e biodinamici in Trentino*. Tesi di laurea in Scienza e Tecnologie Agrarie, Università degli Studi di Padova, Legnaro.

Masson P. (2009) - *Approche biodynamique de la fertilité des sols*. Journées Techniques Nationales Fruits et Légumes Biologiques, 8-9 décembre, Paris.

Masson P. (2011) - *Manuale pratico di agricoltura biodinamica*. Editrice Aem Terra Nuova.

Mazzilli R. (2012) - *Appunti per il vignaiolo naturale*. Stazione Sperimentale per la Viticoltura Sostenibile s.r.l.

Mescalchin E., Zanzotti R., Secchi M., Bertoldi D., Larcher R., Malacarne M., Romàn T., Nicolini G. (2013) - *Grape composition changes during conversion to organic and biodynamic cultivation*. *Ciencia e tecnica vitivinicola, Journal of Viticulture and Enology*, volume 28 tomo II (18° Simposio Internacional GiESCO Proceedings, Porto, Portugal, 7-11 July).

Moretti S., Cedroni A., Comandini M.C., Favale S., Giannini B., Pietromarchi P., Tiberi D. (2008) - *Analisi del contenuto polifenolico delle uve da precloni appartenenti a varietà di interesse vivaistico del Lazio Vendemmia 2006 e 2007*. Programma triennale di ricerca agricola, agroambientale, agroalimentare e agroindustriale della regione Lazio. (www.agricoltura.regione.lazio.it)

Pfeiffer E. (1979) - *Manuale di orticoltura biodinamica*. Quaderni d'Ontignano, Libreria Editrice Fiorentina.

Pfeiffer E. (1981) - *La fertilità della terra*. Editrice Antroposofica, Milano.

Porro, D., Dorigatti, C., Stefanini, M. and Ceschini, A. (2001) - *Use of Spad meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine*. *Acta Hort.* 564, 243-252.

Reeve J. R. (2003) - *Effects of biodynamic preparations on soil, winegrape, and compost quality on California vineyard*. Washington State University, Department of Crop and Soil Science, Dicembre.

Reeve J. R., Carpenter-Boggs L., Reganold J. P., York A. L., McGourty G., McCloskey L. P. (2005) - *Soil and Winegrape Quality in Biodynamically and Organically Managed Vineyards*. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:4.

Regolamento (CE) N. 889/2008 della Commissione, del 5 settembre 2008. Recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli. *Gazzetta ufficiale* L 250.

Sansavini S., Costa G., Gucci R., Inglese P., Ramina A., Xiloyannis C. (2012) - *Arboricoltura generale*. Pàtron Editore, Bologna.

Soliani L. (2001) - *Fondamenti di statistica applicati all'analisi e alla gestione dell'ambiente*. (<http://www.dsa.unipr.it/soliani>)

Steiner R. (2014) - *Impulsi scientifico spirituali per il progresso dell'agricoltura*. Editrice Antroposofica, Milano, Settima edizione italiana.

Tessarini P., Ingrosso E., Pezzi C., Rusin C., Marodin F., di Foggia M., Botelho R., Boliani A., Marodin G., Versari A., Parpinello G., Domenico Rombolà A. (2013) - *Silicio, alleato in vigneto per migliorare la qualità dell'uva*. L'informatore agrario, n. 27, p 47-51.

Thun M., Thun M.K., Schimdt-Rüdt C. (2014) - *Calendario delle semine 2015*. Editrice Antroposofica, Milano.

Trinchera A. (2009) - *Il Silicio, nuove prospettive in agricoltura: panorama delle ricerche internazionali*. "Siliforce day - Silicio: qualità nelle produzioni agricole". Bologna, 24 Marzo.

Turinek M., Grobelnik-Mlakar S., Bavec M., Bavec F. (2009) - *Biodynamic agriculture research progress and priorities*. Renewable Agriculture and Food Systems: 24(2); p. 146–154.

Vastola A. P. (2008) - *Vino biodinamico: un'opportunità economica ed etica*. 31° Congresso Mondiale della Vigna e del Vino, Verona 15-20 Giugno.

Vercese A. (2000) - *Concimi organici a terreno e foglie in viticoltura*. L'Informatore Agrario, n. 6, p. 3-7.

Violante P. (2000) - *Metodi di Analisi Chimica del Suolo*. (Violante P., coordinatore) FrancoAngeli, Milano.

Zorer R., Pedò S., Bertamini M., Porro D., Di Blasi S. (2008) - *Caratterizzazione fisiologica di un vigneto di Sangiovese in fase di pre-maturazione in relazione alla vigoria ed all'equilibrio vegeto-produttivo*. (www.italushortus.it)

Zulini L., Angeli P., Rohregger H., Vecchione A. (2012) - *Studio della correlazione tra il contenuto di clorofilla e l'indice SPAD in foglie di vite*. IV Convegno Nazionale di Viticoltura CONAVI.TO. Asti, 10-11-12 Luglio.

Siti consultati:

www.acovit.it

www.agraria.org

www.agricoltura.regione.lazio.it

www.aivv.it

www.assam.marche.it

www.awitc.com.au

www.biodynamics.net.au

www.demeter.it

www.dsa.unipr.it

www.enotre.com

www.fao.org

www.fmach.it

www.fondazionelemadri.it

www.ifoam-eu.org

www.italushortus.it

www.labuonaterra.it

www.meteo.regione.marche.it

www.paolopistis.it

www.pfeiffercenter.org

www.spevis.it

www.viticolturasostenibile.it

APPENDICI

APPENDICE A - Dati meteorologici

Dati climatici riassuntivi (temperature, umidità e precipitazioni) misurati nelle stazioni meteorologiche dell'ASSAM (Tabelle A1 e A2) vicine ai vigneti in cui è stato distribuito il preparato oggetto di studio, durante l'arco di tempo che ha interessato la prova sperimentale.

Tabella A1 - Dati misurati nella stazione meteorologica di Castelplanio.

	CASTELPLANIO (330 m s.l.m.)				
DATE	T MEDIA (°C)	T MASSIMA (°C)	T MINIMA (°C)	UR (%)	PREC. (mm)
22/04 - 28/04	14.90	23.40	9.10	62.10	23.20
29/04 - 05/05	16.70	25.40	10.10	68.50	2.20
06/05 - 12/05	19.10	27.80	12.70	56.40	0.40
13/05 - 19/05	19.40	29.00	13.80	61.80	0.20
20/05 - 26/05	14.00	26.10	8.70	78.10	144.40
27/05 - 02/06	18.00	27.90	10.80	63.80	26.40
03/06 - 09/06	22.60	30.00	16.20	60.20	2.80
10/06 - 16/06	22.30	31.40	15.20	61.30	12.00
17/06 - 23/06	18.50	28.10	13.00	63.70	57.20
24/06 - 30/06	20.20	29.40	11.50	55.80	14.80
01/07 - 07/07	26.00	34.40	17.70	53.00	0.00
08/07 - 14/07	24.90	33.70	15.30	57.40	0.60
15/07 - 21/07	28.60	36.60	22.10	46.20	1.60
22/07 - 28/07	26.80	35.40	21.30	47.70	0.00
29/07 - 04/08	23.40	33.00	16.50	66.60	15.00
05/08 - 11/08	25.40	34.00	18.40	60.00	0.00
12/08 - 18/08	23.60	34.10	15.90	56.90	21.60
19/08 - 25/08	19.60	30.20	14.10	73.60	28.20
26/08 - 01/09	24.50	34.30	18.00	59.80	0.00
02/09 - 08/09	20.70	31.50	13.10	59.10	1.20
09/09 - 15/09	19.80	29.30	12.10	56.20	0.40
SOMME PERIODO	449.00	645.00	305.60		352.20

Tabella A2 - Dati misurati nella stazione meteorologica di Maiolati Spontini.

	MAIOLATI SPONTINI (350 m s.l.m.)				
DATE	T MEDIA (°C)	T MASSIMA (°C)	T MINIMA (°C)	UR (%)	PREC. (mm)
22/04 - 28/04	16.30	24.90	9.90	62.30	24.40
29/04 - 05/05	17.90	27.50	11.20	71.90	5.20
06/05 - 12/05	20.40	28.60	14.10	59.00	0.60
13/05 - 19/05	20.60	29.00	15.10	64.10	0.20
20/05 - 26/05	15.20	26.60	9.30	81.00	139.40
27/05 - 02/06	19.40	28.50	11.40	64.40	14.00
03/06 - 09/06	24.40	30.10	19.30	59.20	0.00
10/06 - 16/06	23.70	30.70	16.00	63.20	20.60
17/06 - 23/06	19.70	27.30	13.30	66.80	35.00
24/06 - 30/06	21.60	29.10	12.90	55.60	11.20
01/07 - 07/07	27.50	34.50	19.70	52.50	0.00
08/07 - 14/07	26.20	34.50	17.60	58.10	0.20
15/07 - 21/07	30.10	36.40	22.80	45.90	0.60
22/07 - 28/07	28.30	35.60	22.10	46.50	0.00
29/07 - 04/08	24.50	33.20	17.90	59.40	21.00
05/08 - 11/08	26.30	34.50	17.60	45.10	24.20
12/08 - 18/08	24.80	35.20	16.70	42.90	24.60
19/08 - 25/08	20.70	29.40	15.40	61.50	24.60
26/08 - 01/09	25.90	33.50	19.70	45.90	0.00
02/09 - 08/09	21.90	31.10	14.20	45.60	0.60
09/09 - 15/09	21.00	29.60	13.70	42.00	0.00
SOMME PERIODO	476.40	649.80	329.90		346.40

APPENDICE B - Scala BBCH vite

Classificazione e descrizione delle fasi fenologiche per la vite.

Stadio principale di crescita 0: Sviluppo delle gemme

00 - Dormienza: le gemme invernali si presentano appuntite o arrotondate, chiare o marrone scuro in base alla cultivar. Le scaglie che ricoprono le gemme sono più o meno chiuse a seconda della cultivar.

01 - Inizio dell'ingrossamento delle gemme: le gemme iniziano a rigonfiarsi all'interno delle perule che le racchiudono.

03 - Fine dell'ingrossamento delle gemme: le gemme sono rigonfie ma non ancora verdi.

05 - "Gemme cotonose". Una peluria cotonosa è chiaramente visibile.

07 - Inizio dell'apertura delle gemme: le punte verdi dei germogli sono appena visibili.

08 - Rottura delle gemme: le punte verdi dei germogli sono chiaramente visibili.

Stadio principale di crescita 1: Sviluppo delle foglie

11 - La prima foglia si distende e si allontana dal germoglio

12 - Seconda foglia distesa

13 - Terza foglia distesa

15 - Quinta foglia distesa e germogli lunghi 10 cm

... - Lo stadio continua fino a ...

19 - Nove o più foglie distese

Stadio principale di crescita 5: Emergenza delle infiorescenze

53 - Le infiorescenze sono chiaramente visibili

55 - Le infiorescenze sono rigonfie; i fiori sono ancora chiusi e raggruppati tra loro

57 - Le infiorescenze sono pienamente sviluppate e i fiori tra di loro separati

Stadio principale di crescita 6: Fioritura

60 - La prima caliptra si distacca dal ricettacolo

61 - Inizio della fioritura: il 10% delle caliptre è caduto

62 - Il 20% delle caliptre è caduto

- 63 - Il 30% delle caliptre è caduto
- 64 - Il 40% delle caliptre è caduto
- 65 - Piena fioritura: il 50% delle caliptre è caduto
- 66 - Il 60% delle caliptre è caduto
- 67 - Il 70% delle caliptre è caduto
- 68 - L'80% delle caliptre è caduto
- 69 - Fine della fioritura

Stadio principale di crescita 7: Sviluppo dei frutti

- 71 - I giovani frutti iniziano ad ingrossarsi; c'è ancora presenza di residui fiorali (allegagione)
- 73 - Acini delle dimensioni di un granello di pepe (mignolatura)
- 75 - Acini delle dimensioni di un pisello (sviluppo del grappolo)
- 77 - Gli acini cominciano a toccarsi (chiusura grappolo)
- 79 - La maggior parte degli acini si tocca

Stadio principale di crescita 8: Maturazione dei frutti

- 81 - Inizio della maturazione: le bacche iniziano a manifestare il colore tipico della cultivar
- 83 - Le bacche continuano a cambiare il colore
- 85 - "Addolcimento" degli acini
- 89 - I grappoli sono maturi per la raccolta

Stadio principale di crescita 9: Senescenza, inizio della dormienza

- 91 - Dopo la raccolta; fine della maturazione del legno
- 91 - Le foglie iniziano a ingiallire
- 93 - Inizio della caduta delle foglie
- 95 - Il 50% delle foglie è caduto
- 97 - Le foglie sono tutte cadute
- 99 - Prodotto raccolto