



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**APPLICAZIONI DI CHITOSANO PER LA PROTEZIONE
ANTIPERONOSPORICA IN VIGNETI COMMERCIALI**

*Chitosan applications for the control of downy mildew in organic
commercial vineyards*

TIPO TESI: Sperimentale

Studente:

EUGENIO LONGO

Relatore:

PROF. GIANFRANCO ROMANAZZI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

*A tutti coloro che hanno sempre creduto in me,
senza i quali non avrei mai compiuto
il passo più difficile: il primo*

INDICE

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	4
1. INTRODUZIONE	5
1.1. CENNI STORICI SULLA VITE	5
1.2. PRINCIPALI MALATTIE CRITTOGAMICHE DELLA VITE	6
2. LA PERONOSPORA DELLA VITE	8
2.1. INTRODUZIONE	Error! Bookmark not defined.
2.2. CLASSIFICAZIONE.....	8
2.3. SINTOMATOLOGIA.....	9
2.3.1. Sintomi sulle foglie.....	10
2.3.2. Sintomi sui grappoli e sulle infiorescenze	12
2.3.3. Sintomi su tralci e germogli verdi	14
2.4. EPIDEMIOLOGIA E DIFESA	16
2.4.1. Ciclo biologico.....	16
2.5. PREDISPOSIZIONE GENETICA.....	20
2.6. METODI DI LOTTA	21
2.6.1. Patologia vegetale: dagli albori alla lotta integrata	21
2.6.2. Pratiche agronomiche.....	23
2.6.3. Difesa chimica: prodotti a base di rame	24
2.6.4. Difesa chimica: prodotti alternativi al rame e ai fungicidi di sintesi	26
3. IL CHITOSANO	28
3.1. INTRODUZIONE.....	28
3.2. CHITOSANO IN AGRICOLTURA	29
4. OBIETTIVI DELLA RICERCA	31
5. MATERIALI E METODI.....	33
5.1. CARATTERISTICHE GENERALI DEI VIGNETI.....	33
5.2. SCHEMA SPERIMENTALE	35
5.3. DATI CLIMATICI	41

5.4. VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU FOGLIE E GRAPPOLI	41
6. RISULTATI	44
6.1. DATI CLIMATICI	44
6.2. VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU FOGLIE E GRAPPOLI	49
6.2.1. Rilievi sul vigneto di Angeli di Varano	49
6.2.2. Rilievi sul vigneto di Piagge	56
6.2.3. Rilievi sul vigneto di Matelica	63
7. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	67
8. BIBLIOGRAFIA	71
9. RINGRAZIAMENTI	78

RIASSUNTO

La sperimentazione ha avuto come obiettivo quello di comparare l'attività antiperonosporica di un formulato innovativo a base di chitosano rispetto ad altri classici a base di rame. Nello specifico, si sono messi a confronto i risultati ottenuti da quattro tesi: una con i soli trattamenti aziendali (a base di rame), una con l'uso del solo chitosano, una alternando rame e chitosano e in ultimo il testimone non trattato. Le prove sono state condotte su tre vigneti dislocati in aree geografiche diverse e con differenti varietà: Montepulciano ad Angeli di Varano (AN), Verdicchio a Piagge (AN) e Verdicchio di Matelica a Matelica (MC). Lo schema adottato è un disegno sperimentale a tre blocchi. I trattamenti si sono susseguiti settimanalmente da inizio maggio a fine luglio. Sono stati effettuati tre rilievi sulle foglie e due sui grappoli nei vigneti di Piagge e Angeli di Varano, mentre uno su foglie e uno su grappoli nel vigneto di Matelica, al fine di valutare la diffusione, la gravità e l'indice di McKinney. L'annata è stata particolarmente favorevole allo sviluppo di *Plasmopara viticola*. I migliori risultati si sono ottenuti con il solo rame e con l'alternanza di rame e chitosano. L'utilizzo del solo chitosano si colloca in una posizione intermedia: risulta più efficace rispetto al testimone non trattato ma al di sotto delle tesi precedentemente citate.

ABSTRACT

The aim of the trials was to compare the activity in the control of downy mildew of an innovative formulation based on chitosan compared to other conventional based on copper. The obtained results were compared from four treatments: copper, chitosan, copper with chitosan, and the control. The tests were run on three vineyards located in different geographical areas: cv. Montepulciano in Angeli di Varano (AN), cv. Verdicchio in Piagge (AN) and cv Verdicchio di Matelica in Matelica (MC). The three-block design was adopted for the experimental scheme. The treatments were applied each week from the beginning of May to the end of July. Three surveys were carried out on the leaves and two on the bunches in the vineyards of Piagge and Angeli di Varano, while one on the leaves and one on bunches in the Matelica vineyard, in order to evaluate the spread, severity and McKinney index of downy mildew. The season was particularly favorable for the development of *Plasmopara viticola*. The best results have been obtained with copper alone or with the alternation of copper and chitosan. The use of chitosan alone provided intermediate values between copper and copper/chitosan application, and untreated control.

1. INTRODUZIONE

1.1. CENNI STORICI SULLA VITE

Le origini della viticoltura e della vinificazione sono riconducibili ad epoche antichissime: in insediamenti umani appartenenti al neolitico (12000-10000 anni fa) sono state riscontrate delle fosse con un grande accumulo di semi di *Vitis silvestris*, probabilmente riconducibili ad un primitivo metodo di vinificazione. Il primo reperto scritto storico che testimonia la grande importanza di questa coltura è di origine sumerica (L'Epopea di Gilgamesh), in cui è scritto “vive presso il mare la donna della vigna, colei che fa il vino: Siduri siede nel giardino o sulla riva del mare con la coppa d'oro”, un evidente riferimento al consumo (si parla di “vino”) e alla coltivazione (“donna della vigna”) della vite. Altre testimonianze sono di origine egizia, in numerose pitture murarie, e greca (Omero stesso dedica alcuni versi de “L'Odissea” ai prodotti di origine agraria come vino e olio). La viticoltura trovò grande sviluppo presso gli Etruschi (si pensa, infatti, che il nome *vinum* non sia di origine greca ma derivi dall'etrusco *oinos*) e, durante gli scontri con il popolo romano, la cultura della coltivazione della vite iniziò a diffondersi per l'Italia: era il secolo 240 a.C.

La notevole quantità di reperti e di ritrovamenti storici rende difficile stabilire quale sia stata la culla d'origine del genere *Vitis*. Esistono infatti numerose teorie a riguardo, una delle più accreditate resta quella postulata da Nicolaj Vavilov, secondo cui l'origine del genere è riconducibile all'odierna Georgia. Oggi, invece, si possono distinguere tre gruppi di specie: l'americano, l'asiatico e, il più importante, quello euro-asiatico che comprende la sola *Vitis vinifera* L.

Attualmente in Italia la coltivazione della vite ha subito una contrazione, passando da 707.000 ha nel 2013 a 699.000 ha a fine 2017: è interessante constatare come questa

contrazione non si ripercuota sulla produzione di vino, settore in cui l'Italia è leader mondiale indiscusso, i cui dati mostrano un incremento di più di 4 milioni di ettolitri dal 2014 al 2018 (*OIV Statistical Report of World Vitiviniculture, 2018*). Secondo Assovini, nelle Marche la superficie vitata è di 17.563 ha, con una produzione di poco più di 1.000.000 di ettolitri (Assovini, 2013). È concentrata in prevalenza in aree collinari (per circa l'85%), per oltre la metà nelle province di Ascoli Piceno e Fermo, con un panorama varietale estremamente ampio di oltre 200 varietà, ma quasi nella totalità rappresentato da 4 varietà: Montepulciano, Trebbiano Toscano, Sangiovese e Verdicchio. A queste si associano varietà di rilievo come Pecorino, Passerina, Maceratino e Lacrima, alcuni vitigni internazionali, come Chardonnay, Merlot, Cabernet Sauvignon e Syrah, e alcuni vitigni autoctoni, come Garganega, Ciliegiolo e Refosco dal Peduncolo Rosso.

1.2. PRINCIPALI MALATTIE CRITTOGAMICHE DELLA VITE

La lotta alle crittogame della vite è storicamente recente, anche se le problematiche e le necessità legate alla difesa delle piante sono note da tempi più remoti: nel 1562 un vescovo parigino scomunicò degli insetti patogeni (definiti “*Diablotinos*”) nel tentativo di salvare i vitigni in suo possesso e, ancora, intorno al XVIII secolo, la città di Torino acquistò dalla Città del Vaticano una “*maledizione*” contro uno “strano male” che minava la produzione di vino. Molti anni dopo, nel 1845, la prima vera minaccia alla viticoltura europea sbarca in Inghilterra: l'oidio, che a soli 6 anni di distanza si diffuse in tutta Italia. Verso la fine del 1800, probabilmente dall'America Settentrionale, la peronospora colpisce l'Europa e, ad oggi, è tra le malattie più gravi della vite, causando danni sia all'apparato fogliare che ai grappoli.

In relazione alle condizioni ambientali (temperatura e umidità soprattutto), al sistema di allevamento e alla predisposizione genetica (susceptibilità o resistenza), la vite è soggetta ad attacchi di svariate crittogame (Tabella 1), rendendo, pertanto, necessario lo sviluppo di strategie di difesa molteplici e situazionali, esplicate mediante l'utilizzo di principi attivi e secondo i criteri di lotta integrata.

Tabella 1 - Principali malattie crittogamiche della vite

Malattie fungine	Agente causale
Peronospora	<i>Plasmopara viticola</i>
Oidio	<i>Erysiphe necator</i>
Muffa grigia	<i>Botrytis cinerea</i>
Mal dell'esca	<i>Phaeoconiella chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium ultimum</i> , <i>Fomitiporia mediterranea</i>
Escoriosi	<i>Phomopsis viticola</i>
Verticilloso	<i>Verticillium dahliae</i>
Eutipiosi	<i>Eutypa lata</i>
Marciume nero	<i>Guignardia bidwelli</i>
Marciume radicale fibroso	<i>Armillaria mellea</i>
Marciume radicale lanoso	<i>Rosellina necatrix</i>

2. LA PERONOSPORA DELLA VITE

2.1. INTRODUZIONE

L'arrivo della peronospora in Europa coincide con il cosiddetto "secondo periodo della storia della vite" che ha avuto inizio nel 1845, data che rappresenta il limite tra una viticoltura libera da patogeni di rilievo e l'avvento delle principali malattie (peronospora, oidio e fillossera), che hanno caratterizzato l'ultimo secolo (Gessler et al., 2011). Probabilmente originaria dell'America Settentrionale, la peronospora ebbe un impatto devastante sulla viticoltura europea, evidenziando un'elevata suscettibilità di *Vitis vinifera* al patogeno (Belli, 2012).

Qualche anno dopo l'introduzione del fungo in Europa, fu classificato, in un primo momento, come *Botrytis viticola* (Berkeley e Curtis), poi come *Peronospora viticola* (De Bary) e, infine, fu definitivamente riconosciuta come *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni

2.2. CLASSIFICAZIONE

L'agente eziologico della malattia è *P. viticola*. È un parassita obbligato della famiglia delle *Peronosporaceae*, ordine dei *Peronosporales*, classe *Oomycetes*, caratterizzato dalla formazione di un micelio intercellulare da cui si sviluppano gli austori, strutture fungine differenziate all'interno della cellula e deputate ad avviare il rapporto trofico con l'ospite. A partire dal micelio si originano i rami sporangiofori, caratterizzati per avere uno sviluppo monopodiale e ramificazioni terminali ad angolo retto, alla sommità delle quali si osserva l'originarsi di tre sterigmi denticolati. Alla sommità di questi ultimi, avviene la differenziazione degli sporangi: strutture piriformi

di grandezza variabile (15 – 25 μm di diametro), la cui germinazione porta alla liberazione di 5-8 zoospore. Queste ultime si caratterizzano per la presenza di due flagelli (uno a frusta e uno a piuma), che permettono il movimento in acqua, e l'assenza di parete cellulare. La zoospora si ferma in prossimità di un'apertura stomatica e inizia un processo di incistamento, durante il quale si osserva la formazione della parete cellulare e di un tubetto germinativo.

Sono presenti anche le strutture per la riproduzione sessuata: l'anteridio (maschile), di forma allungata, e l'oogonio (femminile), di forma globulosa. La fusione dei nuclei delle due strutture porta alla formazione dell'oospora che, una volta germinata, dà origine al macrosporangio, strutturalmente simile allo sporangioforo, ma diametralmente maggiore (fino a 40 μm) e in grado di differenziare e contenere fino a 60 zoospore.

P. viticola è un patogeno policiclico, caratterizzato cioè dallo svolgimento di più cicli vitali nella stessa annata nella quale, a seguito delle infezioni primarie causate dalla germinazione della zoospora, si evidenziano numerose infezioni secondarie, variabili in base alle condizioni ambientali.

2.3. SINTOMATOLOGIA

Il patogeno *P. viticola* invade i tessuti della pianta mediante penetrazione indiretta e, non essendo in grado di perforare attivamente la cuticola, necessita di aperture naturali o di ferite per infettare l'ospite. Per questo motivo una condizione necessaria affinché ci sia l'infezione è la presenza di stomi attivi (o ferite).

La peronospora colpisce tutti gli organi verdi della pianta e l'attività biologica del patogeno causa danni diretti sull'apparato fogliare, sulle infiorescenze, sui grappoli e,

talvolta, sui giovani tralci. Danni indiretti sono riscontrabili nel prodotto finale, dove la qualità dei vini può essere compromessa a causa di un ridotto accumulo di zuccheri e di sostanze aromatiche nelle bacche.

2.3.1. Sintomi sulle foglie

Il primo sintomo caratteristico della peronospora a comparire, è la tipica “macchia d’olio”. Questa è di forma tondeggianti e dimensioni variabili, con colorazione dal verde chiaro al giallastro, collocata sulla pagina superiore della foglia (Fig. 1). Le chiazze, con l’avanzare dell’incubazione, assumono aspetto traslucido, e sulla pagina inferiore, in corrispondenza della macchia d’olio, si osserva una muffa biancastra rappresentata dai rami sporangiofori di *P. viticola* (Fig. 2).

Affinché le strutture riproduttive del fungo possano essere osservate, sono necessarie opportune condizioni climatiche (Belli, 2012). In cultivar particolarmente suscettibili è possibile osservare la comparsa di sporulazioni sulla pagina superiore o anche sporulazioni in assenza della macchia d’olio.

Con l’avanzare della malattia la macchia d’olio tende a necrotizzare, iniziando dal centro e procedendo verso l’esterno, con aggravio del quadro sintomatologico: in questa fase si evidenziano i danni più gravi causati dalla malattia sulle foglie, con perdita di superficie fotosintetizzante e, nei casi più gravi, perdita dell’intera foglia per filloptosi.

Sulle foglie più vecchie è caratteristica la forma “a mosaico” di *P. viticola*, con macchie tendenzialmente giallastre e di forma regolare, spesso delimitate dalle nervature della foglia. Questo fenomeno è dovuto alla resistenza ontogenetica delle foglie di vite nei confronti del patogeno, che risultano meno suscettibili agli attacchi.

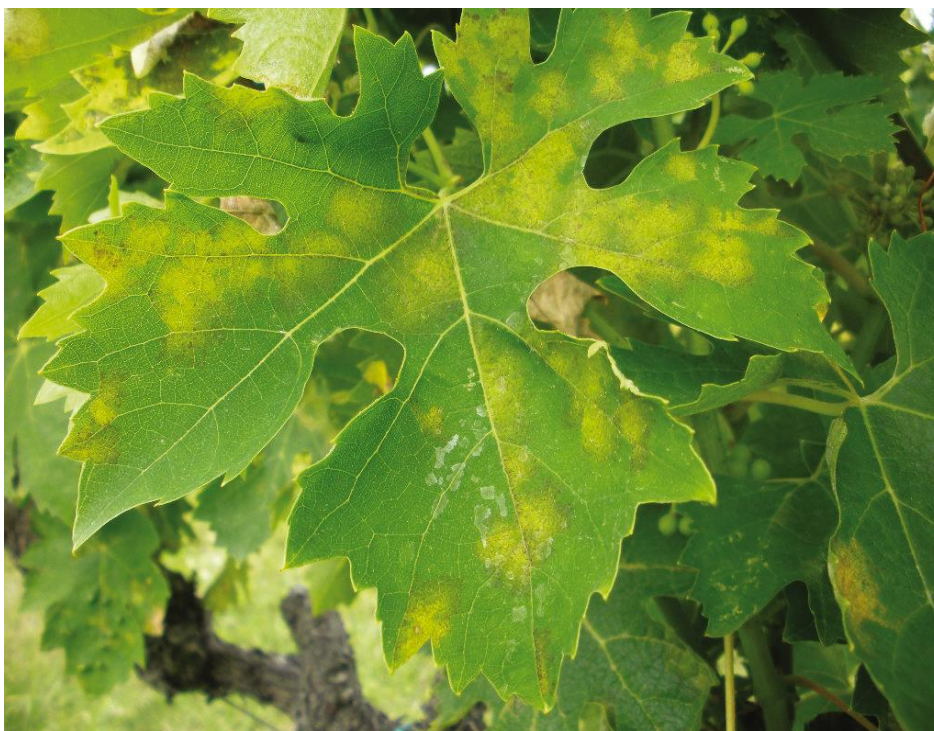


Figura 1 – “Macchia d’olio” sulla pagina superiore della foglia.



Figura 2 – Sporulazione di *Plasmopara viticola* sulla pagina inferiore della foglia, evidenziata dalla presenza dei rami sporangiofori.

2.3.2. Sintomi sui grappoli e sulle infiorescenze

Le infezioni sui grappoli rappresentano il pericolo maggiore dal punto di vista economico-produttivo. La sintomatologia sui grappoli è molto variabile, in relazione sia alla fase fenologica che alle condizioni climatiche (umidità soprattutto). Nel periodo che va dalla prefioritura alla fine della fioritura, le infiorescenze colpite dal patogeno mostrano leggeri imbrunimenti, talvolta poco pronunciati. È invece evidente la presenza di spore su rachide e fiore. L'attacco del patogeno blocca la crescita della sola porzione infetta (fino alla necrosi): il rachide, per questo motivo, assume una forma ad uncino (o "ad esse") (Fig. 3).



Figura 3 - Curvatura "ad uncino" del grappolo infetto causata da *P. viticola*.

Successivamente all'allegagione, precisamente nelle prime fasi di sviluppo del grappolo, la pianta è estremamente suscettibile ed è possibile osservare la sporulazione

del patogeno, che in caso di forti attacchi risulta molto evidente (Fig. 4). La fuoriuscita dei rami sporangiofori attraverso gli stomi presenti sull'acino è resa visibile dalla presenza di una muffa di colorazione grigio-biancastra. Il grappolo assume la classica conformazione "ad esse" e si osserva l'allessamento dell'acino: quando una pianta infettata da *P. viticola* presenta questo quadro sintomatologico, tipico di infezioni primaverili, si parla di marciume grigio. Con il proseguire della crescita degli acini, gli stomi vanno incontro ad atrofizzazione e successivamente degenerano. In questa condizione i rami sporangiofori non evadono all'esterno, pertanto le strutture riproduttive fungine non sono evidenti sul grappolo. L'acino, invece, passa da una colorazione rossa ad una bruno-violacea e raggrinzisce gradualmente fino al suo completo disseccamento (Fig. 5). Questo quadro sintomatologico è tipico di attacchi tardivi di *P. viticola* e prende il nome di peronospora larvata: generalmente estati umide e non eccessivamente calde sono condizioni ideali.

Gli attacchi sui grappoli e sulle infiorescenze sono estremamente pericolosi e, se non controllati, possono portare alla perdita totale della produzione.



Figura 4 – Sporulazione del patogeno su grappolo infetto, evidenziata da una muffa grigio-biancastra.



Figura 5 - Acini raggrinziti causati da peronospora larvata che porterà ad un loro successivo disseccamento.

2.3.3. Sintomi su tralci e germogli verdi

Le infezioni sui tralci sono generalmente meno frequenti e rappresentate da leggere clorosi. Sono limitate ai tessuti superficiali e localizzate nelle immediate vicinanze dei

nodi (Fig. 6), dove con il progredire del processo infettivo si notano aree necrotiche di colore bruno. Anche per i tralci, come per i grappoli, la differenza di sviluppo tra l'area sana e la porzione infetta porta ad una curvatura del tralcio. Va comunque precisato che l'avanzare del processo di lignificazione comporta una diminuzione della recettività del tralcio e i sintomi sono caratterizzati da piccole lesioni e cancri (Pertot et al., 2007).

Sui piccioli i sintomi si riassumono in allessature e imbrunimenti, mentre i viticci assumono portamento contorto a causa di ipertrofia cellulare (Pertot et al., 2007).



Figura 6 – Sintomi di *P. viticola* su tralcio verde: imbrunimento localizzato alla base del tralcio.

2.4. EPIDEMIOLOGIA E DIFESA

2.4.1. Ciclo biologico

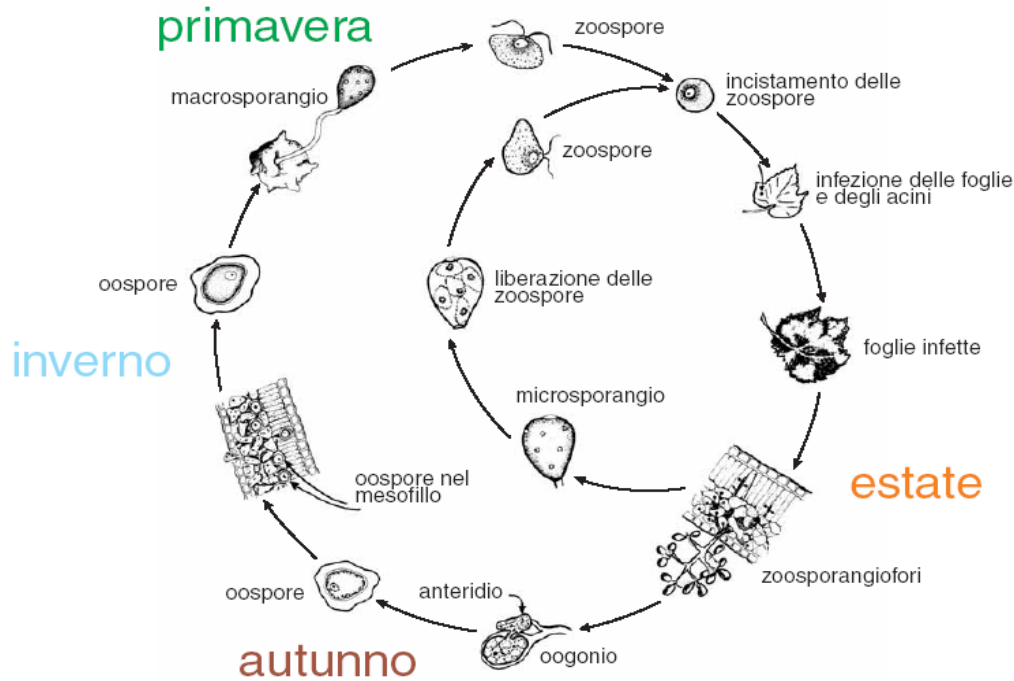


Figura 7 - Ciclo biologico di *Plasmopara viticola* (Belli, 2012).

P. viticola sverna grazie alle oospore presenti sui residui di foglie e bacche infette (Gregory, 1915). La loro germinazione è strettamente legata al superamento di un periodo di maturazione, al termine del quale, a seguito di condizioni ambientali favorevoli, acquisiscono la capacità di germinare. L'oospore matura rappresenta una struttura di conservazione che può restare latente anche 10 anni (Gessler et al., 2011). La germinazione avviene in condizioni microclimatiche favorevoli, soprattutto dal punto di vista delle temperature e delle precipitazioni. Risultano ottimali temperature di 14-18°C, mentre man mano che ci si allontana da questo range la percentuale di oospore germinate si riduce notevolmente: al di sotto dei 10°C e al di sopra dei 27°C (intesi come temperature medie) la germinazione rallenta notevolmente o si interrompe (Laviola et al., 1986). A seguito della germinazione, le oospore producono un

macrosporangio, in grado di rilasciare un numero elevato di zoospore che daranno origine all'infezione primaria. In questa fase risulta fondamentale la presenza di eventi piovosi che permettano il trasporto delle zoospore sugli organi recettivi. È altresì importante la formazione di un "velo d'acqua" sulle foglie: le zoospore, dotate di due flagelli, saranno in grado di muoversi verso gli stomi. È interessante come alcuni studi dimostrino che le zoospore si orientino verso gli stomi attraverso specifici fattori (ad oggi ignoti) rilasciati dagli stomi stessi (Dìez-Navajas et al., 2007). La zoospora a questo punto si incista, perdendo i flagelli, ed emette un tubetto germinativo che, attraverso la rima stomatica, invade i tessuti sottostomatici dell'ospite. La valutazione delle condizioni ambientali in cui il rischio d'infezione primaria è alto tiene conto non solo della temperatura e delle precipitazioni, ma anche della recettività della pianta. Secondo questo metodo, conosciuto come "regola dei tre dieci", sono condizioni di rischio elevato temperature minime superiori ai 10°C, piovosità superiore a 10 mm e sviluppo dei germogli di almeno 10 cm. Inoltre, il verificarsi di due eventi piovosi in 24-48 ore aumenta notevolmente il rischio d'infezione. Questo perché il primo permette la dispersione dei macrosporangii sulla pianta, mentre il secondo consente il movimento delle zoospore verso gli stomi.

Le infezioni secondarie sono rappresentate dall'emissione di rami sporangiofori con produzione di sporangii che evadono dagli stomi (Fig. 8), in grado di generare zoospore. La fuoriuscita delle strutture riproduttive agamiche è visibile sotto forma di muffa biancastra.

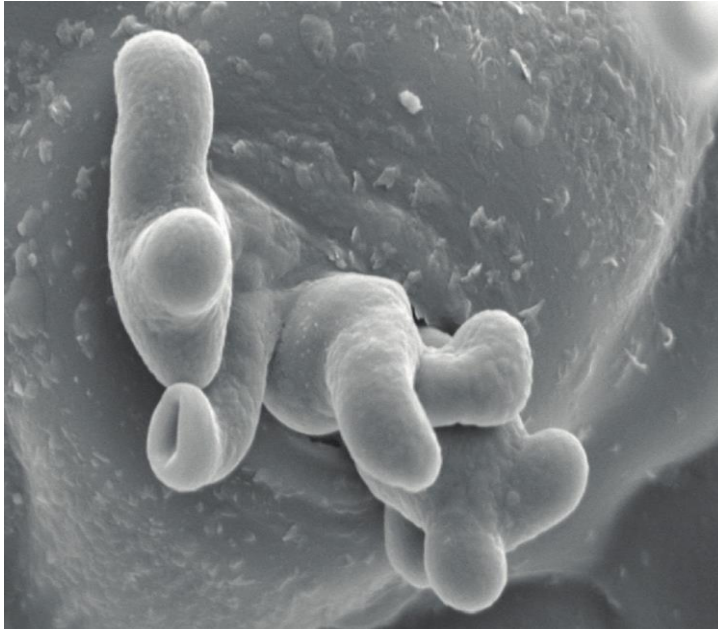


Figura 8 - Rami sporangiofori in uscita da uno stoma, in una foto al microscopio elettronico (Gessler et al., 2011).

Anche in questo caso sono necessarie determinate condizioni climatiche affinché possa esserci l'infezione secondaria. La sporulazione è favorita da un'umidità relativa minima del 98%, con temperatura minima di 13°C (19°C è la temperatura ottimale) e 4 ore di oscurità (Blaeser, 1978). Va considerato, infatti, che la formazione di sporangi è favorita dalle ore di buio (avviene in circa 7 ore), ma soprattutto è inibita da irradiazione con luce bianca UV alla lunghezza d'onda di 310-400 nm (Rumbolz et al., 2002). Anche per le infezioni secondarie, come per le primarie, dal punto di vista quantitativo la formazione di sporangi è legato alla vicinanza delle condizioni ambientali con quelle ottimali per il patogeno e, in generale, si annulla al superamento dei 30°C. Analogamente al ciclo primario, condizione indispensabile per la dispersione dell'inoculo secondario è la pioggia o, in linea più generale, la presenza di acqua libera su organi recettivi dell'ospite.

Per valutare i fattori di rischio correlati alle condizioni climatiche (per le infezioni secondarie) si utilizza l'indice di Blaeser, dal nome dello studioso che per primo mise in relazione la temperatura, il tempo di bagnatura e un valore costante fatto uguale a 50. La formula empirica è:

$$h \times T = 50$$

h = ore di bagnatura; T = temperatura

La temperatura ottimale di germinazione delle zoospore è 22-25°C e, secondo l'indice di Blaeser, sono necessarie 2 ore di bagnatura (rugiada). È questa una differenza sostanziale con l'infezione primaria. Un'altra diversificazione sta nella vitalità delle zoospore: è relativamente breve, infatti con la presenza di condizioni ambientali sfavorevoli la perdita di vitalità avviene molto rapidamente (Belli, 2012), a differenza delle oospore che sono in grado di restare latenti per lunghi periodi.

Studi sperimentali basati sull'utilizzo di marcatori genetici per identificare i genotipi di *P. viticola* hanno evidenziato una notevole diversità genetica sia tra popolazioni di peronospora in diverse aree del pianeta (America Settentrionale, Europa Centrale, Nord Europa e Grecia) e sia tra popolazioni nella stessa area (Gobbin et al., 2006). In queste condizioni la mescolanza genetica, favorita dal ciclo sessuale del patogeno che svolge un ruolo chiave, conferisce a *P. viticola* numerosi vantaggi sia dal punto di vista dell'adattabilità ambientale che della probabilità di prosecuzione della specie (Barton e Charlesworth, 1998). Tuttavia, la trasmissione di zoospore o sporangi tra vigneti anche molto vicini, sembra avere un ruolo secondario nella diffusione della malattia (Pertot et al., 2007).

2.5. PREDISPOSIZIONE GENETICA

L'interazione pianta-patogeno è basata sul riconoscimento, da parte della pianta attraverso dei recettori, degli effettori prodotti dal patogeno. Un effettore ha come funzione principale quella di sopprimere i meccanismi di difesa adottati dalle piante (Anderson et al., 2015). Queste interazioni sono state oggetto di numerosi studi negli ultimi anni, portando ad importanti passi avanti. L'elevata suscettibilità di *Vitis vinifera* (vite europea) nei confronti di *P. viticola* sembra dovuta all'effettore RXLR, prodotto dal patogeno, che nelle ore seguenti all'infezione porta alla mancata risposta immunitaria della pianta, il che si traduce nella comparsa dei sintomi della malattia (Xian et al., 2019). Studi sul genoma di alcuni ceppi di peronospora frequenti in Trentino, hanno evidenziato come in *Vitis riparia* (vite americana) tali effettori inneschino una risposta immunitaria rappresentata da piccoli filamenti di RNA (da 19 a 24 ribonucleotidi) che si legano a quelli prodotti dal patogeno influenzando il metabolismo di *P. viticola* (Brilli, et al., 2018). Questi studi necessitano, ad oggi, di ulteriori approfondimenti, ma potrebbero aprire la strada all'utilizzo di nuove molecole che sfruttano il meccanismo di resistenza a RNA.

Per quanto riguarda il miglioramento genetico, mirato ad ottenere ibridi resistenti o tolleranti a *P. viticola*, è noto che le specie americane, come *Vitis rotundifolia*, *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri* e *Vitis labrusca*, siano resistenti al patogeno. Studi recenti hanno evidenziato una notevole capacità di resistere al patogeno specialmente in *V. labrusca*, che potrebbe essere utilizzata come materiale parentale per il trasferimento dei geni legati alla resistenza alla peronospora (Arif Atak et al., 2017). Ad oggi i risultati ottenuti con l'utilizzo di ibridi mostrano un'ottima risposta

in termini di resistenza al patogeno, ma non forniscono sufficienti standard dal punto di vista qualitativo nelle uve prodotte.

È comunque evidente come la ricerca sia sempre più indirizzata verso una riduzione drastica dell'utilizzo di molecole potenzialmente dannose a livello ambientale, come il rame (metallo pesante), nella lotta contro la peronospora.

2.6. METODI DI LOTTA

2.6.1. Patologia vegetale: dagli albori alla lotta integrata

La storia della patologia vegetale moderna si fa risalire alla seconda metà del '700, quando il padre della disciplina, Giovanni Tarzoni Tozzetti, individuò per la prima volta *Puccinia graminis* (agente eziologico della ruggine del frumento). La necessità di difendere le colture dalla minaccia avanzata dal patogeno portò alla stesura de *l'Alimurgia*, un trattato in cui si indicano metodi “magici e superstiziosi” per risolvere i problemi legati agli organismi che danneggiano il raccolto. Quasi un secolo dopo, le principali avversità della vite (peronospora, oidio e fillossera) spingono gli studiosi dell'epoca a cercare un rimedio valido: fu Pierre-Marie-Alexis Millardet, professore di botanica, a proporre l'utilizzo di una miscela di solfato di rame e idrossido di calcio. Questa miscela, nota oggi come “poltiglia bordolese”, sarà utilizzata per oltre 70 anni dal momento della sua scoperta. Nel 1950 una nuova pietra miliare nella storia della lotta alla peronospora si fa largo in un panorama affollato di prodotti cuprici: è la nascita dei principi attivi a base organica (e.g. mancozeb). Il proseguo della ricerca porta, 30 anni dopo, all'introduzione di nuovi principi attivi di sintesi, fra cui i sistemici, con azione prolungata e, in parte, curativa (e.g. cimoxanil) (Urech et al., 1977). Studi successivi hanno poi portato alla luce non solo le ripercussioni negative

sull'ambiente derivanti dall'utilizzo prolungato e scriteriato dei fitofarmaci, ma anche lo sviluppo di meccanismi di resistenza da parte dei patogeni, soprattutto nei confronti dei principi attivi ad azione sito specifica (Faretra e Gullino, 2000). Alla luce di questo, nel 2009 la Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 rivoluziona il mondo dell'agricoltura in termini di difesa e controllo delle fitopatologie. Si definisce "difesa integrata": *l'attenta considerazione di tutti i metodi di protezione fitosanitaria disponibili e la conseguente integrazione di tutte le misure appropriate, volte a scoraggiare lo sviluppo di popolazioni di organismi nocivi e che mantengono l'uso dei prodotti fitosanitari e di altre forme di intervento a livelli che siano giustificati in termini economici e ecologici, riducendo o minimizzando i rischi per la salute umana e per l'ambiente. L'obiettivo prioritario della "difesa integrata" è la produzione di colture sane con metodi che perturbino il meno possibile gli ecosistemi agricoli e che promuovano i meccanismi naturali di controllo fitosanitario* (L 309/74 del 24.11.2009). Nella Direttiva non solo si fornisce la definizione di difesa integrata in senso generale, ma si introducono concetti nuovi come il controllo costante dell'attrezzatura per l'applicazione dei "pesticidi" e la necessità di una figura professionale ed esperta in materia definita come "consulente di prodotti fitosanitari". Il primo gennaio 2014 diventa obbligatoria in Italia l'attuazione della Direttiva, come riportato sulla G.U. n.35 del 12 febbraio 2014.

Per attuare i concetti della Direttiva, occorre una conoscenza molto vasta dell'agro-ecosistema, che non si limiti solo al ciclo biologico dei patogeni ma si espanda ai rapporti fondamentali tra pianta e clima, alle caratteristiche dei terreni e le loro influenze sui vegetali, alle pratiche agronomiche più idonee nelle diverse situazioni e alla conoscenza dei meccanismi d'azione dei diversi principi attivi. I fungicidi

continuano a svolgere, ad oggi, un ruolo chiave nel controllo integrato della maggior parte delle malattie, nonostante la ricerca continui a dimostrare la costante perdita di efficacia dei prodotti fitosanitari e i loro costi elevati, causati dalla rapidità di insorgenza di fenomeni di resistenza (Zhounghua e Michailides, 2005). Per questo motivo la ricerca in ambito fitosanitario, con lo scopo di fornire nuove molecole rispettose dell'uomo e dell'ambiente, svolge un ruolo chiave nel presente e nell'immediato futuro. Ad oltre un secolo di distanza dall'introduzione del primo fungicida, i progressi tecnologici e scientifici hanno portato alla luce le criticità di un uso dei fitofarmaci troppo spesso sommario (es: "lotta a calendario") e accanito, e la necessità di un'inversione di tendenza.

2.6.2. Pratiche agronomiche

La buona pratica agronomica deve avere come obiettivi non solo la generazione di condizioni sfavorevoli al patogeno, ma anche il mantenimento delle condizioni ottimali alla pianta. Questo perché una pianta sana e priva di stress sarà più difficilmente attaccabile dai patogeni.

Questi obiettivi si raggiungono attuando una serie di accorgimenti che tengono conto di molti aspetti ugualmente importanti tra loro. Innanzitutto, la conoscenza stessa del terreno permette di prevedere il comportamento della vite e la sua risposta ai diversi stress: ad esempio terreni eccessivamente fertili avranno maggior probabilità di andare incontro a ristagni, che causerebbero stress alla pianta.

Altro punto chiave è la concimazione. Particolare attenzione deve essere fatta agli usi eccessivi di azoto. Una gestione integrata dell'agro-ecosistema prevede di considerare, oltre al fabbisogno della pianta, anche la dotazione in N del terreno

(tramite analisi del suolo), in modo da evitare sovra-dosaggi che hanno effetti deleteri dal punto di vista fitopatologico. La conseguenza principale è un eccesso di rigoglio vegetativo che rende difficoltoso il passaggio di aria tra le foglie. Questa condizione genera un “micro-clima” ad elevata umidità, creando le condizioni favorevoli allo sviluppo di *P. viticola*. A questo proposito sono da preferire sistemi di allevamento che permettano l’areazione della chioma, così come sono da evitare densità di impianto eccessivamente fitte.

Altro punto chiave è l’eliminazione dei residui di potatura: le oospore di *P. viticola* si conservano per tempi relativamente lunghi sui residui vegetali, portando allo sviluppo di focolai per l’infezione primaria.

2.6.3. Difesa chimica: prodotti a base di rame

Gli anticrittogamici a base di rame rappresentano un pilastro nella difesa contro la peronospora della vite. I vantaggi nell’uso del rame, che hanno spinto per diversi anni ad un enorme utilizzo di tale molecola, stanno nei costi relativamente bassi e in un’efficacia che si è mantenuta costante nel tempo. Queste caratteristiche positive hanno nascosto, per diversi anni, quelle che sono le problematiche principali legate ad un uso prolungato dei prodotti cuprici. Tra queste c’è quella legata all’accumulo di rame nei suoli, in grado non solo di minare alla fertilità del suolo, ma anche di interferire con numerosi processi biologici della componente microbica del terreno (Wightwick et al., 2013). Da non sottovalutare sono anche le criticità legate all’inquinamento delle acque sotterranee, in cui si evidenziano grandi accumuli di rame (Robinson et al., 2006). Studi recenti hanno anche dimostrato come accumuli eccessivi di questo metallo pesante nel suolo comportino uno squilibrio nutrizionale e

un'inibizione, più o meno marcata, dell'attività fotosintetica delle piante e questo si esplica con crescite e produzioni ridotte (Cambrollé et al., 2015).

L'azione fungicida è rappresentata dalla liberazione dello ione Cu^{++} che avviene grazie all'anidride carbonica contenuta nell'atmosfera, in varie sostanze prodotte dalla pianta e, soprattutto, in molte spore fungine. Queste assorbono lo ione rame che, una volta all'interno della spora, esplica la sua attività tossica a livello delle membrane cellulari: lo ione Cu^{++} si sostituisce agli ioni Ca^{++} e Mg^{++} portando ad una denaturazione della membrana che risulta irrimediabilmente compromessa (Belli, 2012). Il rame è anche in grado di modificare l'attività respiratoria del fungo, nonché bloccare la biosintesi delle proteine portando alla morte del patogeno (Stefanelli, 1993).

I formulati commerciali disponibili a base di rame sono molteplici, così come sono molte e diversificate le forme di queste molecole che vengono utilizzate. Seguirà un breve elenco delle principali:

- *Solfato di rame* ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$): viene utilizzato sia come fungicida che come concime. Si produce facendo reagire acido solforico (H_2SO_4) e ossido di rame (CuO) in presenza di aria. Ha un pH acido (3,7-4,5) e va utilizzato disciolto in acqua per evitare fenomeni di fitotossicità;
- *Poltiglia Bordolese* ($\text{CuSO}_4 + 3\text{Cu}(\text{OH})_2 + 3\text{CaSO}_4$): è il più antico antiperonosporico. Si ottiene utilizzando solfato di rame, idrossido di calcio e acqua, alle dosi di 1 kg più 1 kg di solfato di rame e idrossido di calcio diluiti in 100 l di acqua. L'idrossido di calcio permette di abbassare il pH del preparato, portando ad un'azione più lenta ma prolungata nel tempo ed evitando problemi di fitotossicità;

- *Idrossido di rame (Cu (OH)₂):* si ottiene tramite trattamento a freddo di sali di rame con idrossido alcalino. Ha un'azione estremamente rapida. Risulta essere meno tossico per le piante rispetto ad altre formulazioni ma, rispetto alla poltiglia ad esempio, ha minore persistenza (Delaiti & Sandri, 2005).

2.6.4. Difesa chimica: prodotti alternativi al rame e ai fungicidi di sintesi

Negli ultimi anni sono molte le molecole alternative al rame e ai fungicidi di sintesi comparse sul mercato. La necessità dell'utilizzo di formulati alternativi è da ricercare non solo in un tentativo di ridurre l'impatto ambientale dei trattamenti con prodotti cuprici, ma anche nella possibilità di fornire ai singoli agricoltori un'alternativa valida a quella che da sempre rappresenta una colonna portante nella lotta alla peronospora. Inoltre, le recenti limitazioni poste dall'Unione Europea sulle quantità di rame utilizzabili per ettaro hanno limitato ulteriormente le possibilità di difesa dalla peronospora, soprattutto per quanto riguarda i vigneti a conduzione biologica, in cui i prodotti a base di rame continuano ad essere i soli in grado di garantire un livello di protezione adeguato dagli attacchi di *P. viticola*. Nonostante queste problematiche, che dovrebbero fornire un trampolino di lancio ai nuovi formulati alternativi, ad oggi la fiducia in queste molecole (soprattutto da parte degli utilizzatori finali) tende a scarseggiare. Di seguito un elenco di alcuni formulati antiperonosporici alternativi al rame:

- *Bicarbonato di sodio e potassio (Na₂CO₃ e KOH):* sono sostanze non tossiche e con attività antimicrobica. L'azione antimicrobica pare essere esplicata dalla variazione di pH nella linfa delle piante che induce ad un aumento della pressione osmotica. A questo si associa una disattivazione di

alcuni enzimi del patogeno. Le condizioni avverse create dalle due molecole possono contrastare lo sviluppo della malattia. Va in ogni caso ricordato che un utilizzo non idoneo comporta le stesse problematiche per le piante: è alta la possibilità di alterare il pH del terreno con conseguenze anche gravi (Quarles, 2000);

- *Estratto di semi di pompelmo*: gli oli vegetali di pompelmo apportano sostanze stimolanti della crescita e delle autodifese, rappresentate maggiormente da vitamina C e vari flavonoidi.

3. IL CHITOSANO

3.1. INTRODUZIONE

Il chitosano (Fig. 9) è un polisaccaride composto da D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina. Queste due molecole sono legate tra loro da legami $\beta(1-4)$.

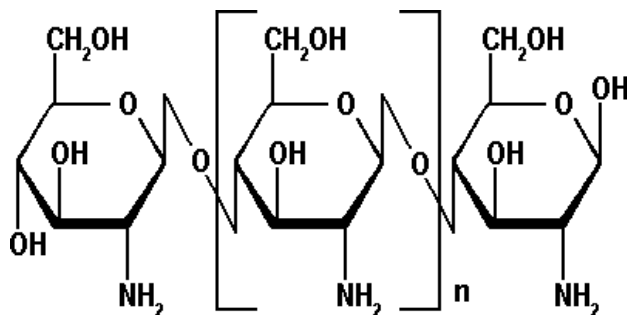


Figura 9 - Molecola del chitosano.

Viene ricavato mediante trattamento della chitina, uno dei principali componenti dell'esoscheletro dei crostacei, con soluzione basica e ad alta temperatura, condizione che porta alla deacetilazione della chitina stessa. Fu casualmente scoperto da uno scienziato francese nel 1859. Qualche anno dopo, nel 1970, iniziano gli studi per applicazioni in campo agricolo, fino a quando, verso la fine degli anni '80, fu brevettato dalla Bentech Laboratories, un'azienda farmaceutica. Questa azienda lo brevettò come protezione antigelo nelle colture di fagioli, un traguardo molto importante se si considera che nel 1997 la NASA lo utilizzò in un esperimento per la coltivazione di fagioli nello Space Shuttle.

Ad oggi, gli utilizzi del chitosano sono molteplici: nel settore tessile migliora la qualità delle tinteggiature, nel settore sanitario viene utilizzato per migliorare la

veicolazione dei farmaci, in ambito alimentare viene spesso utilizzato come integratore o nelle diete ipocaloriche (anche se quest'ultimo utilizzo è oggetto di pareri discordi), ma anche nella produzione di imballaggi e, infine, negli ultimi anni numerosi studi lo hanno accostato all'agricoltura nella lotta contro alcune malattie.

3.2. CHITOSANO IN AGRICOLTURA

L'interesse per la molecola del chitosano deriva da numerosi e interessanti studi svolti nel corso degli anni. Nonostante questo, in agricoltura l'uso di questa molecola è piuttosto arretrato rispetto ad altri settori, come quello medico e farmaceutico. Le proprietà benefiche sulle piante sono molteplici: è considerato un promotore della crescita delle piante, influenzando non solo lo sviluppo delle dimensioni del fusto, ma anche la superficie fogliare (Abdel-Mawgoud et al., 2010; El-Sawy et al., 2010), ha un'azione antitraspirante, grazie alla formazione di una pellicola sulle foglie, permettendo un uso più sostenibile dell'acqua (Bittelli et al., 2000; Romanazzi et al., 2016), ha un'attività antimicrobica esplicita contro diversi organismi (Rabea et al., 2003) e, inoltre, c'è la possibilità di un suo utilizzo sotto forma di nanoparticelle con la funzione di carrier di materiale genetico (Kashyap et al., 2015).

Il meccanismo d'azione del chitosano nei confronti di organismi antagonisti delle piante non è del tutto noto. La molecola ha mostrato la capacità di inibire la propagazione sistemica dei virus causando nella pianta la risposta di ipersensibilità (Pospieszny et al., 1991). Contro le malattie fungine, inoltre, non solo induce la pianta a produrre lignina e callosio, ma porta ad un accumulo di fitoalessine e inibitori delle proteinasi del fungo (El Hadrami et al., 2010). Oltre ad un'azione diretta sul patogeno,

è dimostrata un'attività di induzione di resistenza sistemica indotta, portando ad una reazione più intensa durante uno stress (Vasyukova et al., 2001; Conrath et al., 2006).

Altro utilizzo è quello di ammendante del suolo. Studi dimostrano che in suoli trattati con chitosano risultano rallenate o inibite le attività di *Fusarium* e *Aspergillus* (Laflamme et al., 1999; El Ghaouth et al., 1992). Molto importanti sono anche gli studi che dimostrano l'efficacia del chitosano nel controllo delle malattie in pre- e post-raccolta (Romanazzi et al., 2016).

Gli studi su questa molecola hanno evidenziato come il chitosano può essere un alleato nella lotta antiperonosporica e non solo. L'elevata biodegradabilità fornisce, inoltre, un margine di movimento nella lotta biologica e in un'agricoltura sostenibile. La necessità di salvaguardare le colture con un occhio di riguardo all'ecosistema funge da stimolo per lo sviluppo e la ricerca di metodi e strategie di difesa dei vegetali sempre meno impattanti nei confronti dell'ambiente.

4. OBIETTIVI DELLA RICERCA

Il rame è da sempre una certezza dal punto di vista della lotta antiperonosporica. Negli ultimi anni, numerosi studi hanno evidenziato molteplici criticità relative all'uso di questo elemento dal punto di vista ambientale. Le evidenze sperimentali hanno mostrato un accumulo del rame sia nei suoli (Kabata-Pendias e Pendias, 2001) che nei corsi d'acqua (Fernández-Calvino et al., 2008), con numerose ripercussioni dal punto di vista ambientale. Come conseguenza della nuova presa di coscienza sulle problematiche relative all'uso eccessivo del rame in agricoltura, l'Unione Europea ha deciso di aggiornare il Regolamento 473/2002/CE, che limitava le quantità di rame a 6 kg/ha/anno. La recente modifica ha abbassato ulteriormente questo limite a 28 kg/ha nell'arco di 7 anni, in modo da dare agli agricoltori un margine di utilizzo nel corso del singolo anno in caso di forte incidenza della malattia. A questo, si aggiunge il Regolamento di Esecuzione UE n°1981 del 13 dicembre 2018, che rinnova l'approvazione di sostanze attive a base rameica come candidate alla sostituzione (in conformità con il Regolamento di Esecuzione CE n°1107/2009). Per questi motivi nel corso degli anni si è incoraggiata non solo la pratica dell'agricoltura biologica, per limitare l'uso di molecole di sintesi, ma anche la ricerca di prodotti alternativi (Romanazzi et al., 2016) e di ottimizzare l'utilizzo del rame (Mancini et al., 2018).

La presente tesi ha avuto come obiettivo la valutazione dell'efficacia antiperonosporica di un formulato alternativo, a base di chitosano, applicato singolarmente e in strategia con formulati rameici. La sua efficacia è stata messa a confronto con quella dei prodotti a base di rame.

La prova sperimentale è stata svolta in 3 vigneti, dove i formulati sono stati applicati con atomizzatori aziendali. Nel corso della stagione vegetativa sono stati eseguiti rilievi sulla vegetazione e sui grappoli, tramite l'utilizzo di scale empiriche, per la valutazione della presenza di *P. viticola*. Successivamente i dati sono stati elaborati con l'applicazione di modelli statistici.

5. MATERIALI E METODI

5.1. CARATTERISTICHE GENERALI DEI VIGNETI

Le prove sono state svolte presso tre vigneti diversi, di cui di seguito si elencano le caratteristiche:

- Vigneto dell'azienda agricola "Belisario s.r.l.", ubicato a Matelica (MC) (Fig. 10). Il vigneto è adibito alla cv. Verdicchio di Matelica, allevato a Guyot e con un sesto di impianto 2,6 x 1,2 m. La prova sperimentale riguarda una superficie di 0,6 ha circa.
- Vigneto dell'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agr." (Fig. 12), ubicato ad Angeli di Varano (AN). Il vigneto è adibito alla cv. Montepulciano, allevato a Guyot e con un sesto d'impianto 2,2 x 1 m. La prova sperimentale riguarda una superficie di quasi 1 ettaro;
- Vigneto dell'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agr." (Fig. 11), ubicato a Piagge (AN). Il vigneto è adibito alla cv. Verdicchio, allevato a Guyot e con un sesto d'impianto 2,6 x 1 m. La prova sperimentale riguarda una superficie di 0,7 ettari circa.



Figura 10 - Vigneto di Matelica, vista dall'alto.



Figura 11 - Vigneto di Piagge, vista dall'alto.



Figura 12 - Vigneto di Angeli di Varano, vista dall'alto.

5.2. SCHEMA SPERIMENTALE

Lo schema sperimentale ha previsto 4 tesi: una con trattamenti aziendali (a base di rame), una con l'utilizzo di solo chitosano, una con la combinazione di rame e chitosano (prima metà di trattamenti consecutivi a base di rame e seconda metà a base di chitosano) e in ultimo il testimone non trattato. Le tesi sono dislocate in tutti i vigneti secondo un disegno sperimentale a 3 blocchi. I formulati commerciali a base di rame, con relativi principi attivi, utilizzati nei diversi vigneti sono riportati nelle tabelle 2, 3 e 4.

Tabella 2 - Formulati commerciali usati a Matelica nei trattamenti antiperonosporici.

MATELICA	
Formulato commerciale	Principio attivo
Tri-Base	Rame da solfato tribasico (14,8)

Tabella 3 - Formulati commerciali usati ad Angeli di Varano nei trattamenti antiperonosporici.

ANGELI DI VARANO	
Formulato commerciale	Principio attivo
Bordoflow New	Rame metallo (10)
Cobre Nordox 75 WG	Rame da ossido rameoso (75)
Poltiglia Disperss	Rame metallo (20)
Kop-Twin	Solfato tribasico (13,3) + Idrossido di rame (8,9)

Tabella 4 - Formulati commerciali usati a Piagge nei trattamenti antiperonosporici.

PIAGGE	
Formulato commerciale	Principio attivo
Bordoflow New	Rame metallo (10)
Cobre Nordox 75 WG	Rame da ossido rameoso (75)
Poltiglia Disperss	Rame metallo (20)
Kop-Twin	Solfato tribasico (13,3) + Idrossido di rame (8,9)
Mexiram Hi Bio	Idrossido di rame (22)

Per quanto riguarda il prodotto a base di chitosano, in tutti i vigneti è stato usato il formulato Chito Plant, con chitosano al 99,9%.

Le strategie adottate in tutti i vigneti sono due. Nelle tabelle 5, 6 e 7 sono riportate le diverse strategie con i relativi trattamenti effettuati. Verrà indicata con la lettera “A” la strategia che prevede l’utilizzo di un solo prodotto, che sia rame o chitosano, e con la lettera “B” quella che alterna il prodotto rameico con applicazioni del formulato contenente chitosano.

Tabella 5 – Strategia antiperonosporica adottata nel vigneto di Matelica, con relativi formulati commerciali, principi attivi e dosi.

Matelica			
Strategia	Formulati	Dosi applicate (kg/l)	Data trattamenti
A	Tri-Base	1	02/05 – 10/05 – 16/05 – 22/05 – 31/05 – 13/06 – 28/06 – 08/07
A	Chitoplant	5	Dal 02/05 al 08/07 come per strategia “A”
B	Tri-Base	1	Dal 02/05 al 31/05 come per strategia “A”
	Chitoplant	5	13/06 – 28/06 – 08/07

Tabella 6 - Strategia antiperonosporica adottata nel vigneto di Angeli di Varano, con relativi formulati commerciali, principi attivi e dosi.

Angeli di Varano			
Strategia	Formulati	Dosi applicate (kg/l)	Data trattamenti
A	Bordoflow new + Cobre Nordox 75 WG	0,9 + 2,25	02/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Poltiglia Disperss	0,11 + 1,63	10/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Poltiglia Disperss	0,1 + 1,56	17/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin + Poltiglia Disperss	0,16 + 0,16 + 0,32	23/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin	0,14 + 0,27	03/06/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin	0,17 + 0,37	13/06/2019
	Bordoflow New + Kop-Twin	0,1 + 0,99	28/06/2019
	Bordoflow New	3,2	04/07/2019
	Bordoflow New + Idrorame Flow + Kop-Twin + Mexiram Hi Bio	2,52 + 0,06 + 0,26 + 0,19	16/07/2019
	Cobre Nordox 75 WG	0,17	01/08/2019
A	Chitoplant	5	Dal 02/05 al 01/08 come per strategia "A"
B	Come per la strategia "A" fino al 13/06/2019 incluso	Vedi strategia "A"	Vedi strategia "A"
	Chitoplant	5	28/06 – 04/07 – 16/07 – 01/08

Tabella 7 - Strategia antiperonosporica adottata nel vigneto di Piagge, con relativi formulati commerciali, principi attivi e dosi.

Piagge			
Strategia	Formulati	Dosi applicate (kg/l)	Data trattamenti
A	Kop-Twin + Mexiram Hi Bio + Poltiglia Disperss	0,10 + 0,21 + 2,25	26/04/2019
	Bordoflow New + Cobre Nordox 75 WG	2,25 + 0,90	02/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Poltiglia Disperss	0,11 + 1,63	10/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Poltiglia Disperss	0,10 + 1,56	21/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin + Poltiglia Disperss	0,16 + 0,16 + 0,32	24/05/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin	0,14 + 0,27	03/06/2019
	Cobre Nordox 75 WG + Kop-Twin	0,17 + 0,37	13/06/2019
	Bordoflow New Kop-Twin	0,10 + 0,99	27/06/2019
	Bordoflow New	3,2	05/07/2019
	Bordoflow New + Idrorame Flow + Kop-Twin + Mexiram Hi Bio	2,52 + 0,06 + 0,26 + 0,19	17/07/2019
	Cobre Nordox 75 WG	0,17	03/08/19
A	Chitoplant	5	Dal 26/04 al 03/08 come per strategia "A"
B	Come per la strategia "A" fino al 13/06/2019 incluso	Vedi strategia "A"	Vedi strategia "A"
	Chitoplant	5	Dal 27/06 al 03/08 come per strategia "A"

I trattamenti sono stati eseguiti in tutti i vigneti mediante l'uso degli atomizzatori aziendali (Fig. 13) e con volumi d'acqua variabili in relazione allo stadio fenologico della vite.



Figura 13 - Atomizzatori usati nelle prove (Angeli di Varano a sinistra, Matelica a destra)

Lo schema sperimentale prendeva in considerazione un diverso numero di filari, dipeso dalla conformazione dei diversi appezzamenti:

- Angeli di Varano: si sono considerati 27 filari (dal filare n. 46 al n. 72), ogni filare è stato suddiviso in 3 blocchi. Ogni interpalo era composto mediamente da 6 viti per un totale di 720 piante circa;
- Piagge: si sono considerati 37 filari (dal filare n. 1 al n. 37), ogni filare è stato suddiviso in 3 blocchi. Ogni interpalo era composto mediamente da 6 viti per un totale di 504 piante circa;
- Matelica: si sono considerati 29 filari, ogni filare è stato suddiviso in 3 blocchi, ogni blocco aveva un numero variabile di interpali e la raccolta dei dati ha tenuto conto della totalità delle piante per un totale di circa 1500 viti.

5.3. DATI CLIMATICI

I dati climatici, in particolar modo quelli relativi a precipitazioni, umidità relativa e temperatura massima, media e minima, sono stati ricavati dal bollettino agrometeorologico pubblicato da Agrometeo, ASSAM. Sono stati considerati i dati della stazione meteorologica più vicina ai vigneti:

- Angeli di Varano: stazione meteorologica di Camerano (AN);
- Piagge: stazione meteorologica di Castelplanio (AN);
- Matelica: stazione meteorologica di Matelica (MC).

5.4. VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU FOGLIE E GRAPPOLI

La valutazione delle infezioni è stata effettuata mediante rilievi su foglie e grappoli. Nel primo caso si sono considerate 100 foglie/pianta, nel secondo caso, dopo il conteggio del numero totale di grappoli/pianta, si sono valutate le infezioni per ogni grappolo. In entrambi i casi l'uso di una scala empirica, riportata in tabella 4, ha permesso il calcolo della gravità delle infezioni. In tutti i vigneti non sono stati effettuati i rilievi nei filari di bordo tra una tesi e l'altra. Nel vigneto di Angeli di Varano i rilievi sono stati effettuati sulle piante presenti nei primi due interpali per ogni blocco, mentre nei vigneti di Piagge e Matelica sono state considerate tutte le piante della prova sperimentale.

I dati così ottenuti hanno consentito il calcolo di:

- diffusione (D): esprime la percentuale di superficie fogliare/grappoli infetta/i sul totale di foglie/grappoli analizzate/i. La formula a cui si fa riferimento è:

$$D=n*100/N$$

dove:

n: numero di foglie/bacche infette

N: totale delle foglie/bacche considerate

- gravità (G): esprime l'intensità media della malattia, relativa a foglie e bacche infette. Si esprime con la formula:

$$G = \frac{\sum(c*f)}{n}$$

dove:

c: valore della classe empirica

f: frequenza della classe

n: numero di foglie/bacche infette

- indice di McKinney (I): esprime la gravità, in percentuale, della malattia rispetto a quella massima possibile. Si ricava con la formula:

$$I = \frac{\sum(c*f)}{(N*X)}$$

dove:

c: valore della classe empirica

f: frequenza della classe

N: numero totale delle osservazioni

X: valore della classe massima della scala empirica

Tabella 8 - Scala empirica usata nella quantificazione dei sintomi durante i rilievi.

Foglie		Grappoli	
Classe	Superficie infetta	Classe	Porzione infetta
0	Foglia sana	0	Grappolo sano
1	1-10 %	1	1-5 bacche
2	11-20 %	2	6-11 bacche
3	21/30 %	3	12-25 bacche
4	31-40 %	4	25% grappolo
5	41*50 %	5	26-50 % grappolo
6	51-60 %	6	51-75 % grappolo
7	61-70 %	7	> 75 % grappolo
8	71-80 %		
9	81-90 %		
10	91-100 %		

I valori di diffusione, di gravità e dell'indice McKinney ricavati sono stati sottoposti ad elaborazione statistica, attraverso la quale sono state calcolate le medie e la deviazione standard per ciascuna tesi e per ciascun vigneto. Successivamente, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) per verificare l'influenza dei trattamenti sui valori di gravità, di diffusione e dell'indice McKinney. Si sono inoltre separate le medie con il test di Tukey secondo il livello di probabilità $P < 0,05$.

I rilievi sono stati eseguiti nelle seguenti date:

- Angeli di Varano: sulle foglie nelle date 13/06/2019, 15/07/2019 e 23/09/2019; sui grappoli nelle date 31/07/2019 e 23/09/2019;
- Piagge: sulle foglie nelle date 13/06/2019, 16/07/2019 e 23/09/2019; sui grappoli nelle date 29/07/2019 e 23/03/2019;
- Matelica: sulle foglie in data 09/07/2019 e sui grappoli in data 29/07/2019.

6. RISULTATI

6.1. DATI CLIMATICI

L'analisi delle condizioni climatiche ha tenuto conto dei parametri di precipitazioni, umidità relativa e temperature (minime, medie e massime). Dai dati ricavati presso le stazioni metereologiche più vicine ai vigneti oggetto delle prove, si è evidenziata una piovosità piuttosto elevata distribuita nell'arco dell'intero periodo in esame (dal 01 maggio al 24 settembre per Piagge e Angeli di Varano; dal 01 maggio al 23 luglio per Matelica) con rari periodi in cui le precipitazioni si sono mantenute al di sotto di 1 mm. Per quanto riguarda la temperatura massima ci sono stati dei picchi di oltre 35°C in tutti i vigneti, con temperature medie che sono aumentate in maniera più che proporzionale fino al mese di luglio per poi diminuire al progredire della stagione. L'umidità relativa è stata generalmente elevata, più bassa a Piagge rispetto agli altri vigneti.

Nelle tabelle 9, 10 e 11 sono riportati i dati, prelevati dalle stazioni metereologiche del ASSAM più vicine alle aree di interesse (vedi sottocapitolo 5.3), con la quantificazione dei parametri di precipitazioni, umidità relativa e temperature (minime, medie e massime).

Tabella 9 - Dati climatici dalla stazione metereologica di Camerano (Fonte: Bollettino

Agrometeo dell'ASSAM)

Angeli di Varano (Staz. Meteo di Camerano)					
Settimana	Precipitazioni (mm)	Umidità Relativa (%)	Temperatura (°C)		
			Minima	Massima	Media
01/05 – 07/05	50,6	74,3	7,7	24,1	14,4
08/05 – 14/05	104,4	83,1	8,1	23,8	14,1
15/05 – 21/05	11,4	79,6	5,8	24,1	15,2
22/05 – 28/05	26,2	83,5	12,6	26,5	18,3
05/06 – 11-06	0,0	74,4	16,4	34,2	23,6
12/06 – 18/06	0,0	65,8	17,6	35,4	25,7
19/06 – 25/06	2,8	70,8	17,0	34,7	25,4
26/06 – 02/07	0,0	61,2	17,6	37,8	27,8
03/07 – 09/07	33,6	65,7	18,5	36,6	27,8
10/07 – 16/07	20,6	73,2	15,1	30,1	22,6
17/07 – 23/07	2,2	65,1	15,3	35,2	25,9
24/07 – 30/07	22,6	70,1	18,7	37,3	26,7
31/07 – 06/08	0,6	67,3	17,5	35,2	25,8
21/08 – 27/08	1,2	77,3	19,5	35,7	25,7
28/08 – 03/09	21,6	77,2	17,2	33,7	25,0
04/09 – 10/09	15,8	74,1	15,5	29,8	21,1
11/09 – 17/09	0,0	74,7	14,8	32,1	21,9
18/09 – 24/09	41,4	78,7	10,9	30,9	19,3

Tabella 10 - Dati climatici dalla stazione meteorologica di Castelplanio (Fonte: Bollettino Agrometeo dell'ASSAM).

Piagge (Staz. Meteo di Piagge)					
Settimana	Precipitazioni (mm)	Umidità Relativa (%)	Temperatura (°C)		
			Minima	Massima	Media
01/05 – 07/05	17,8	63,4	5,4	24,3	13,3
08/05 – 14/05	91,4	68,1	6,3	25,4	13,2
15/05 – 21/05	5,6	68,8	5,8	23,2	13,6
22/05 – 28/05	25,2	70,9	12,5	25,3	17,3
05/06 – 11-06	22,0	60,4	11,7	29,5	18,7
12/06 – 18/06	0,0	55,7	15,1	32,1	23,3
19/06 – 25/06	4,6	56,6	15,7	33,3	24,1
26/06 – 02/07	0,0	50,3	16,1	35,4	26,3
03/07 – 09/07	44,2	55,5	17,0	35,8	26,3
10/07 – 16/07	33,0	62,2	14,9	27,9	21,3
17/07 – 23/07	0,2	53,9	14,7	33,0	24,6
24/07 – 30/07	62,4	57,4	18,4	35,3	25,9
14/08 – 20/08	0,4	55,2	15,0	33,4	23,7
21/08 – 27/08	9,4	67,3	18,8	31,2	24,1
28/08 – 03/09	40,4	64,0	16,9	32,0	23,8
04/09 – 10/09	4,8	64,2	12,2	28,0	19,2
11/09 – 17/09	0,0	59,1	14,8	30,4	20,9
18/09 – 24/09	46,2	69,9	9,8	28,9	17,5

Tabella 11 - Dati metereologici dalla stazione di Matelica (Fonte: Bollettino Agrometeo dell'ASSAM).

Matelica (Staz. Meteo di Matelica)					
Settimana	Precipitazioni (mm)	Umidità Relativa (%)	Temperatura (°C)		
			Minima	Massima	Media
01/05 – 07/05	18,0	81,9	2,4	22,8	12,1
08/05 – 14/05	79,6	84,7	4,4	22,9	12,8
15/05 – 21/05	4,0	88,0	4,1	21,6	13,0
22/05 – 28/05	39,4	91,0	8,8	25,7	16,1
29/05 – 04/06	42,4	85,0	8,2	30,9	17,0
05/06 – 11/06	0,0	71,0	11,8	35,2	23,9
12/06 – 18/06	6,0	77,5	13,7	35,1	23,8
19/06 – 25/06	0,6	78,5	14,3	33,9	23,3
26/06 – 02/07	0,0	72,3	10,5	37,2	25,0
03/07 – 09/07	8,6	71,2	17,0	36,3	26,6
10/07 – 16/07	66,2	88,6	11,2	29,0	19,7
17/07 – 23/07	17,6	77,2	10,1	35,3	23,5

Dal punto di vista fitopatologico sono stati stilati dei grafici per mettere in relazione la regola empirica “dei tre 10”, considerando temperatura minima e precipitazioni, con l’andamento stagionale di questi due parametri (Fig. 14). Si osservi come al di sopra della linea rossa si sono verificate le condizioni favorevoli allo sviluppo delle infezioni primarie. I primi sintomi di peronospora sulle foglie nei vigneti di Piagge e Angeli di Varano si sono palesati il 31 maggio. Dal grafico si noti come qualche giorno prima di tale data, le condizioni imposte dalla “regola dei 3 dieci” si siano verificate. Per quanto riguarda il vigneto di Matelica in un arco temporale molto breve (dal 9 giugno al 11-12 giugno) si sono verificate le condizioni di rischio: i primi sintomi sono comparsi il 13 giugno.

Soprattutto nei vigneti di Piagge e Angeli di Varano, le precipitazioni costanti durante tutta la stagione hanno creato un ambiente favorevole allo sviluppo delle

infezioni secondarie. Nel vigneto di Matelica le temperature relativamente basse e le precipitazioni incostanti hanno creato un ambiente poco favorevole allo sviluppo della malattia.

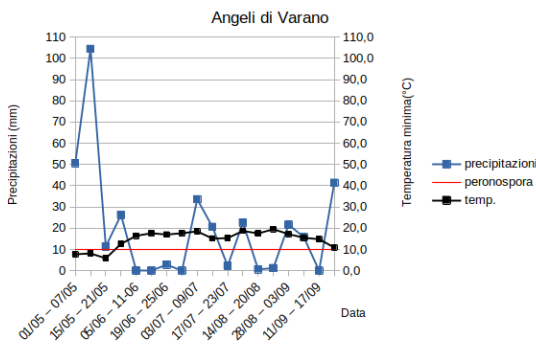
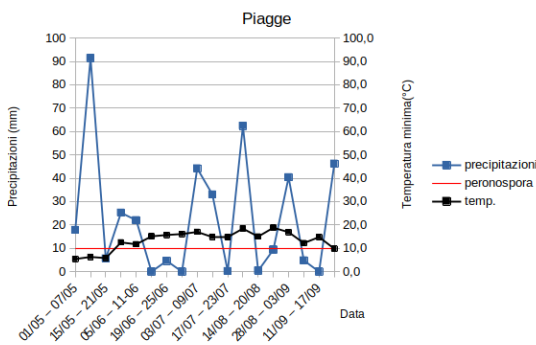
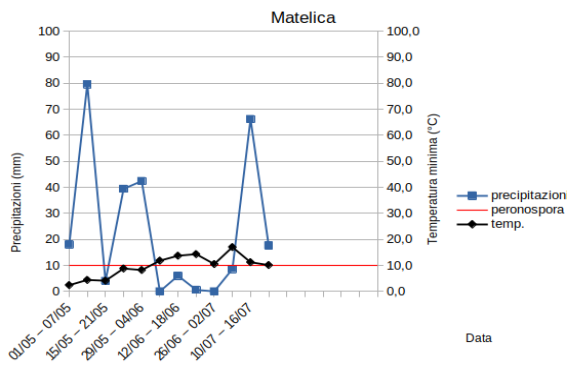


Figura 14 - Analisi delle condizioni di rischio per l'insorgenza delle infezioni primarie di peronospora. La linea rossa rappresenta i valori al di sopra dei quali le infezioni primarie sono favorite.

6.2. VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU FOGLIE E GRAPPOLI

6.2.1. Rilievi sul vigneto di Angeli di Varano

Le condizioni climatiche favorevoli al patogeno hanno permesso l'individuazione dei sintomi della malattia sulle foglie già dal primo rilievo, avvenuto in data 13 giugno. In questa condizione è stato possibile osservare differenze significative nelle diverse tesi considerate. I risultati sono riportati in Tabella 12. Per tutti i parametri: diffusione, gravità e indice McKinney, tutte le tesi hanno evidenziato valori significativamente più bassi rispetto alla tesi "testimone non trattato". Inoltre, nelle tesi "rame + chitosano" e "aziendale (solo rame)", i valori ottenuti sono significativamente inferiori anche rispetto alla tesi "chitosano". I risultati, tenendo conto dell'indice McKinney, sono osservabili nel grafico in figura 15.

Tabella 12 - Risultati del primo rilievo ad Angeli di Varano su foglie. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 13/06/2019 ad Angeli di Varano			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	1,17±2,98 a	3,30±0,29 a	0,42±0,48 a
Chitosano	1,12±2,80 b	1,94±0,33 b	0,24±0,48 b
Rame + Chitosano	1,04±0,80 c	0,33±0,16 c	0,034±0,08 c
Aziendale (solo rame)	1,05±0,77 c	0,33±0,24 c	0,034±0,08 c

Nel secondo rilievo, effettuato in data 15 luglio, si è osservata l'espressione della malattia sulle foglie in tutto il vigneto. I risultati mostrano differenze significative tra le tesi (tabella 13).

Tabella 13 - Risultati del secondo rilievo ad Angeli di Varano su foglie. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 15/07/2019 ad Angeli di Varano			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	60,89±16,49 a	3,05±0,58 b	18,13±5,47 a
Chitosano	56,20±17,41 b	2,64±0,52 c	15,47±7,34 b
Rame + Chitosano	58,91±24,77 ab	3,23±0,73 a	19,87±10,52 a
Aziendale (solo rame)	35,92±9,50 c	3,11±0,74 ab	11,45±4,68 c

Le percentuali di diffusione vanno dal 35,92% al 60,89%, con valori significativamente più basse in tutte le tesi rispetto al testimone non trattato ed in particolare nella tesi “aziendale (solo rame)”. Per il parametro di gravità, in particolar modo i filari trattati con il solo chitosano, presentano valori significativamente più bassi rispetto alle altre tesi. Per l'indice McKinney ci sono variazioni significativamente più basse per le tesi “chitosano” e “aziendale (solo rame)”. I risultati, tenendo conto dell'indice di McKinney, sono osservabili in figura 16.

Il terzo rilievo è stato effettuato in data 31 luglio, ma in questo caso ha interessato i grappoli. I dati ottenuti evidenziano differenze significative tra le tesi (tabella 14). La

diffusione della malattia risulta particolarmente elevata nel testimone non trattato (92,3%) e nel chitosano (81,05%) in cui non si evidenziano variazioni significative, che sono invece presenti nei filari trattati con rame e chitosano e in quelli aziendali. La gravità mostra differenze significative tra le tesi “testimone non trattato” e “chitosano” rispetto a quelle “rame + chitosano” e “aziendale (solo rame)”. L’indice McKinney mostra valori significativamente inferiori in tutte le tesi rispetto al testimone non trattato, con valori decrescenti partendo dalla tesi “chitosano”, passando per quella “rame + chitosano”, arrivando a toccare il valore minimo in “aziendale (solo rame)”. Questi ultimi dati sono riportati nel grafico in figura 17.

Tabella 14 - Risultati del terzo rilievo ad Angeli di Varano su grappoli. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su grappoli del 31/07/2019 ad Angeli di Varano			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	92,30±21,57 a	4,69±1,51 a	61,65±24,71 a
Chitosano	81,05±27,18 a	4,35±1,29 a	50,58±23,56 b
Rame + Chitosano	67,27±38,80 b	2,99±1,39 b	28,77±22,05 c
Aziendale (solo rame)	27,66±21,08 c	3,30±1,84 b	13,19±13,41 d

L’ultimo rilievo è stato effettuato in data 23 settembre su foglie e grappoli. Anche in questo caso ci sono differenze significative tra le tesi, osservabili nelle tabelle 15 (foglie) e 16 (grappoli). Per quanto riguarda i dati ricavati dai rilievi sulle foglie, per il

parametro di diffusione si evidenziano differenze significative rispetto al testimone, in cui le tesi “chitosano” e “rame + chitosano” mostrano valori percentuali più alti, mentre nell’aziendale il valore è significativamente più basso. Stesso andamento si riscontra nel parametro di gravità, con la sola differenza della tesi “aziendale (solo rame)” che mostra un valore senza differenze significative rispetto al testimone. L’indice McKinney presenta lo stesso andamento del parametro di diffusione. Per quanto riguarda i dati relativi ai grappoli si sono evidenziate differenze significativamente più basse di diffusione, rispetto al testimone, da parte di tutte le tesi, con andamento decrescente partendo dalla tesi “chitosano” fino a “aziendale (solo rame)”. Per l’indice di gravità, l’aziendale trattato con solo rame ha offerto i risultati migliori, più bassi rispetto alle altre tesi. Per l’indice di McKinney, l’aziendale risulta avere il valore più basso, con “rame + chitosano” che, se pur non presenti variazioni significative rispetto a “testimone non trattato”, ha percentualmente il valore più basso dopo l’aziendale. I risultati sono graficamente osservabili nelle figure 18 e 19.

Tabella 15 - Risultati del quarto rilievo ad Angeli di Varano (foglie). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 23/09/2019 ad Angeli di Varano			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	72,84±22,19 b	3,44±1,57 c	26,97±18,84 b
Chitosano	92,13±15,54 a	4,52±1,42 b	41,80±15,84 a
Rame + Chitosano	87,30±22,83 a	5,37±1,98 a	48,05±23,86 a
Aziendale (solo rame)	15,90±8,46 c	3,25±1,60 c	5,63±5,01 c

Tabella 16 - Risultati del quarto rilievo ad Angeli di Varano (grappoli). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su grappoli del 23/09/2019 ad Angeli di Varano			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	75,15±24,90 a	3,97±1,81 b	42,46±22,04 b
Chitosano	76,43±25,57 a	4,89±1,36 a	54,53±25,97 a
Rame + Chitosano	57,22±37,80 b	4,45±1,65 b	38,99±31,43 b
Aziendale (solo rame)	16,99±20,82 c	2,95±2,05 c	7,75±12,65 c

Di seguito sono riportati i grafici del parametro “indice di McKinney” relativi ai rilievi.

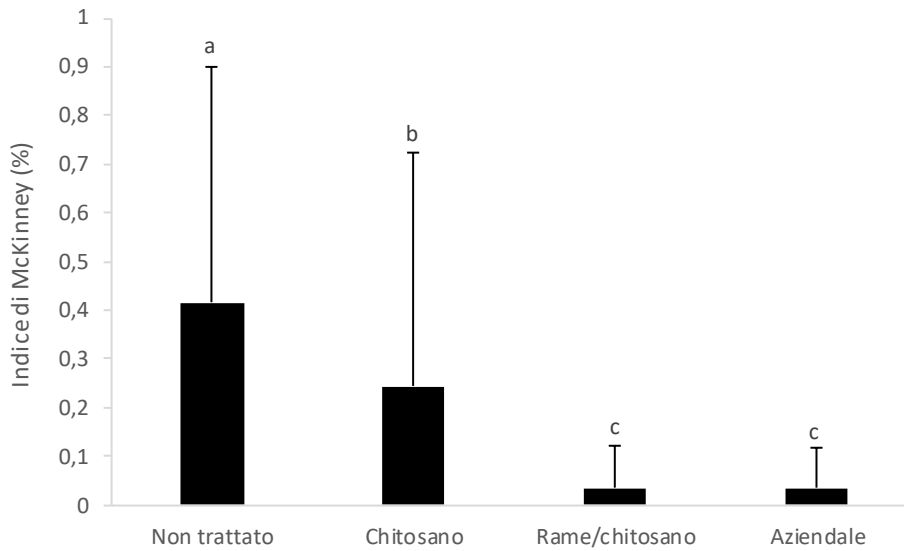


Figura 15 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 13/06/2019 ad Angeli di Varano su foglie.

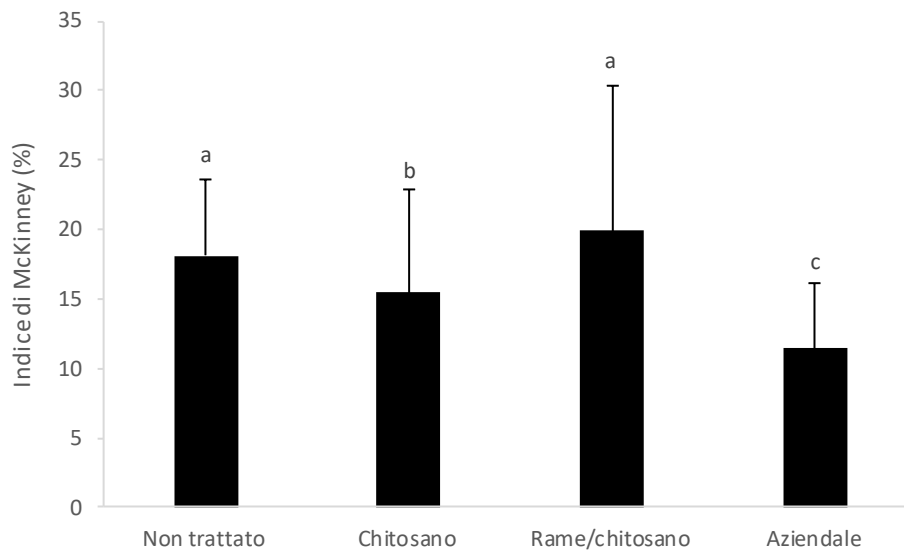


Figura 16 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 15/07/2019 ad Angeli di Varano su foglie.

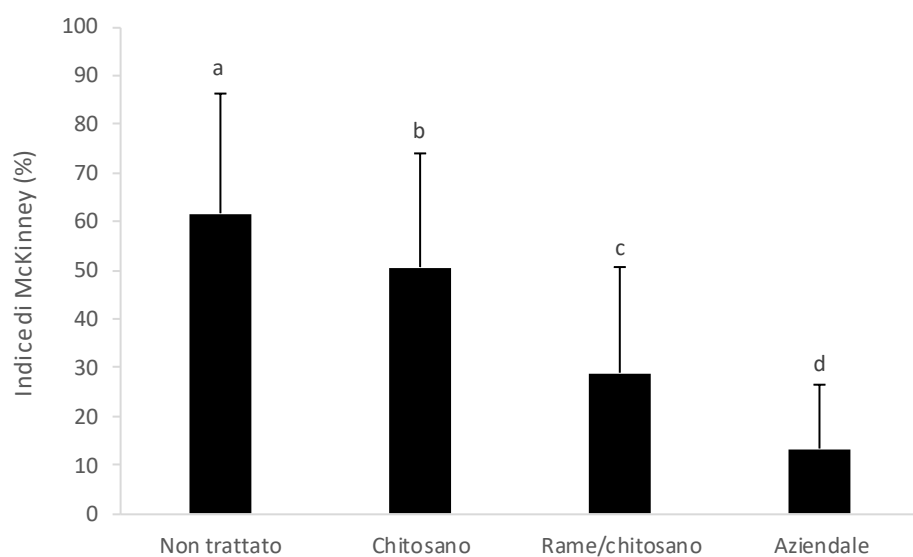


Figura 17 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 31/07/2019 ad Angeli di Varano su grappoli.

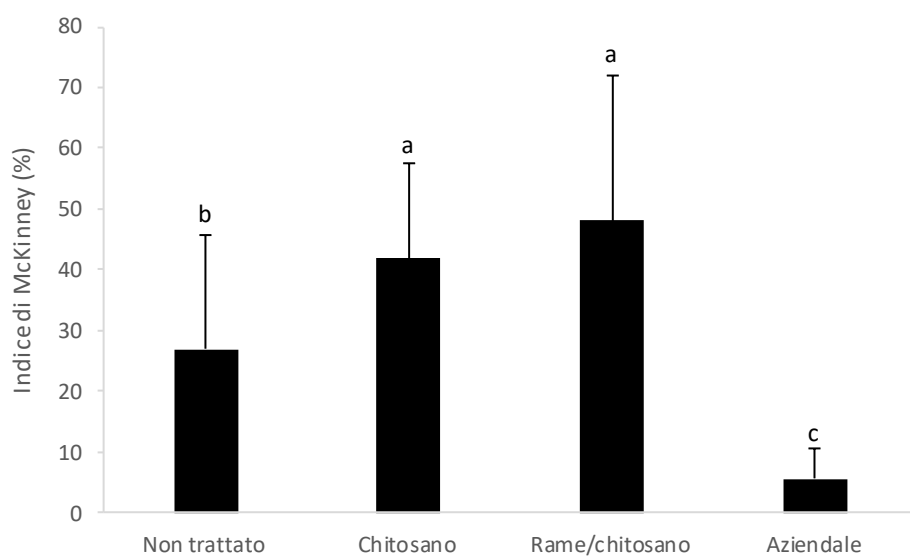


Figura 18 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 23/09/2019 (foglie) ad Angeli di Varano.

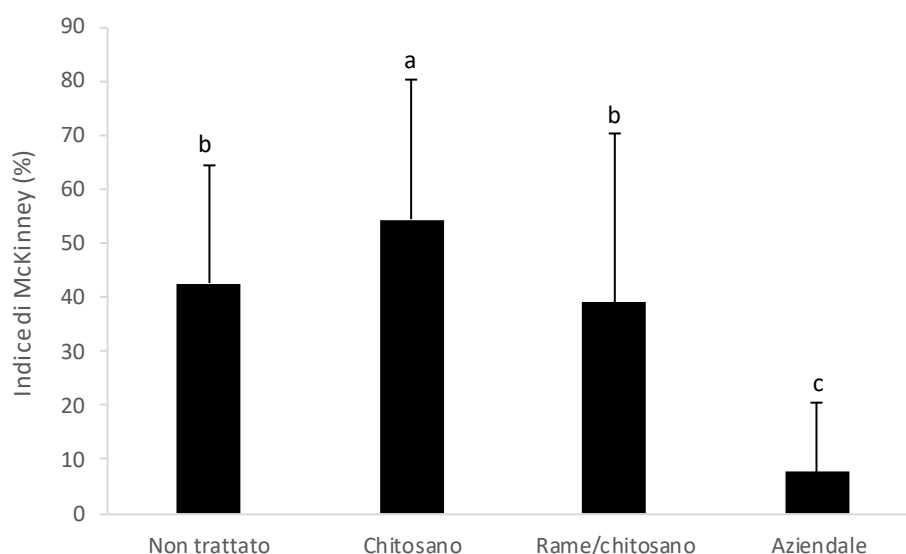


Figura 19 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 23/09/2019 (grappoli) ad Angeli di Varano.

6.2.2. Rilievi sul vigneto di Piagge

Il giorno 13 giugno è stato effettuato il primo rilievo su foglie nel vigneto di Piagge. Il quadro sintomatologico evidenziava la presenza di *P. viticola*, pertanto è stato possibile ricavare i primi dati ed eseguire l'analisi statistica. I dati sono riportati nella tabella 17 e il grafico relativo all'indice di McKinney è riportato in figura 20.

In particolar modo per i parametri di diffusione e indice di McKinney, ci sono differenze rilevanti nelle varie tesi: nello specifico nel testimone non trattato i valori risultano essere più elevati rispetto ai filari trattati con chitosano. Ancora più bassi sono i valori risultati nelle tesi "rame + chitosano" e "aziendale (solo rame)", che sono tra loro simili. La gravità risulta essere più bassa nelle tesi "chitosano" e "rame + chitosano".

Tabella 17 - Risultati primo rilievo a Piagge su foglie. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 13/06/2019 a Piagge			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	6,18±6,20 a	1,21±0,26 b	0,76±0,84 a
Chitosano	3,12±2,70 b	1,13±0,22 c	0,35±0,33 b
Rame + Chitosano	0,04±0,22 c	1,14±0,36 c	0,05±0,02 c
Aziendale (solo rame)	0,03±0,22 c	1,26±0,22 a	0,04±0,03 c

In data 16 luglio è stato effettuato il secondo rilievo su foglie. L'aumento dei parametri di diffusione indica un aumento della pressione della malattia. In tabella 18 sono riportati i risultati, mentre il grafico dell'indice di McKinney è in figura 21.

I dati evidenziano valori significativamente inferiori rispetto al testimone non trattato per il parametro di diffusione. Particolarmente discostanti, nonché simili tra loro, sono i risultati delle tesi "rame + chitosano" e "aziendale (solo rame)". Per la gravità il testimone non trattato rappresenta il valore più alto mentre tra le altre tesi (tutte significativamente inferiori) il valore minimo si riscontra in quella con rame e chitosano. L'indice di McKinney segue lo stesso andamento del parametro di diffusione.

Tabella 18 - Risultati secondo rilievo a Piagge su foglie. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 16/07/2019 a Piagge			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	12,66±6,06 a	1,55±0,48 a	2,12±1,53 a
Chitosano	8,40±3,58 b	1,15±0,18 b	0,98±0,48 b
Rame + Chitosano	0,54±0,99 c	1,05±0,25 d	0,06±0,10 c
Aziendale (solo rame)	0,28±0,72 c	1,09±0,28 c	0,03±0,08 c

Il terzo rilievo è stato effettuato in data 29 luglio ed ha interessato i grappoli. I dati evidenziano la forte pressione della malattia, favorita dalle condizioni ambientali particolarmente idonee al suo sviluppo. I dati sono riportati in tabella 19 e il grafico riferito all'indice di McKinney in figura 22. In tutte le tesi e per tutti i parametri i valori ottenuti nelle tesi "chitosano", "rame + chitosano" e "aziendale (solo rame)" sono significativamente inferiori rispetto al testimone non trattato. In particolare, per i filari trattati con rame e chitosano e per quelli trattati con rame i valori di diffusione e indice di McKinney sono molto inferiori anche rispetto alla tesi "chitosano". Per il parametro di gravità il valore più basso è riscontrabile nel trattamento a base di solo rame, con valori crescenti nelle altre tesi fino al valore maggiore riscontrato nel testimone non trattato.

Tabella 19 - Risultati terzo rilievo a Piagge su grappoli. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su grappoli del 29/07/2019 a Piagge			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	52,77±34,82 a	6,44±0,98 a	49,12±33,97 a
Chitosano	41,51±27,13 b	6,01±1,34 b	36,21±25,91 b
Rame + Chitosano	0,76±4,09 c	5,22±2,06 c	0,59±3,48 c
Aziendale (solo rame)	0,96±4,48 c	4,25±2,39 d	0,57±3,04 c

L'ultimo rilievo è stato effettuato in data 23 settembre ed ha riguardato sia le foglie che i grappoli. L'aumento dei parametri di diffusione dimostra la forte pressione di *P. viticola* nel vigneto in oggetto. I dati sono riportati nelle tabelle 20 (foglie) e 21 (grappoli) e i relativi grafici riferiti all'indice di McKinney nelle figure 23 e 24. Nei rilievi effettuati sulle foglie i valori più alti si riscontrano nel testimone non trattato per tutti i parametri. Valori significativamente inferiori si osservano in tutte le altre tesi: nella diffusione la tesi "aziendale (solo rame)" ha il valore più basso rispetto alle altre mentre "rame + chitosano" presenta un valore molto inferiore rispetto a "chitosano"; nella gravità i valori delle tesi "chitosano" e "rame + chitosano" sono statisticamente simili e il più basso è rappresentato dai filari con trattamenti aziendali; l'indice di McKinney evidenzia valori statisticamente simili tra l'aziendale e la porzione trattata con rame e chitosano, mentre valori maggiori si riscontrano per la tesi "chitosano".

Tabella 20 - Risultati quarto rilievo a Piagge (foglie). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 23/09/2019 a Piagge			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	60,98±10,79 a	3,09±0,95 a	19,39±8,33 a
Chitosano	51,26±17,18 b	2,66±0,74 b	14,38±8,74 b
Rame + Chitosano	9,72±7,48 c	2,51±0,82 b	2,24±1,39 c
Aziendale (solo rame)	3,09±4,56 d	1,97±0,88 c	0,64±1,07 c

Tabella 21 - Risultati quarto rilievo a Piagge (grappoli). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su grappoli del 23/09/2019 a Piagge			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	45,79±38,50 a	6,09±1,15 a	39,96±34,41 a
Chitosano	30,47±30,47 b	5,56±1,77 b	24,75±28,25 b
Rame + Chitosano	13,90±17,65 c	1,97±1,64 c	4,67±10,56 c
Aziendale (solo rame)	11,21±17,99 c	1,40±0,99 d	1,40±6,09 c

Di seguito sono riportati i grafici relativi all'indice di McKinney.

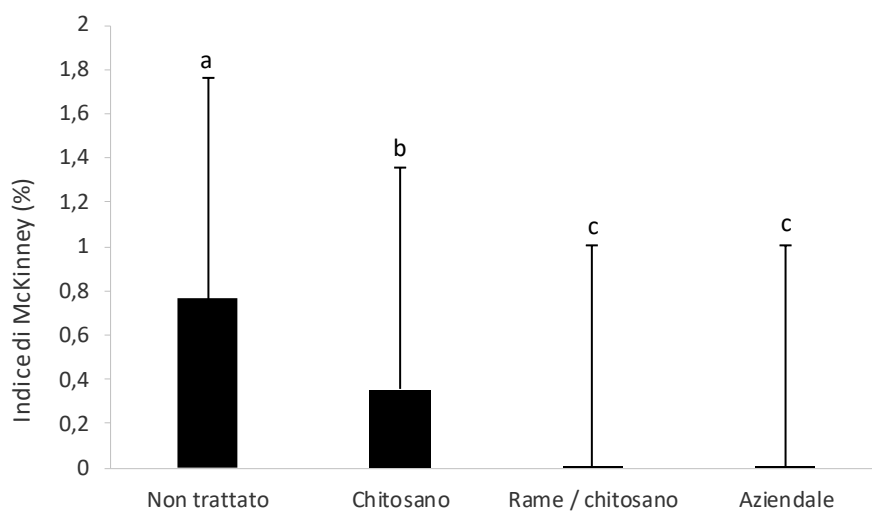


Figura 20 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 13/06/2019 a Piagge su foglie.

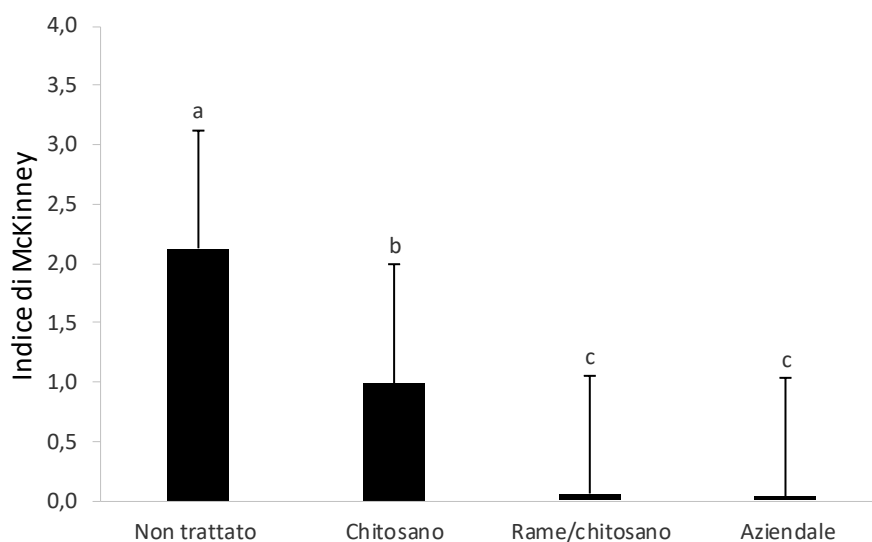


Figura 21 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 16/07/2019 su foglie a Piagge.

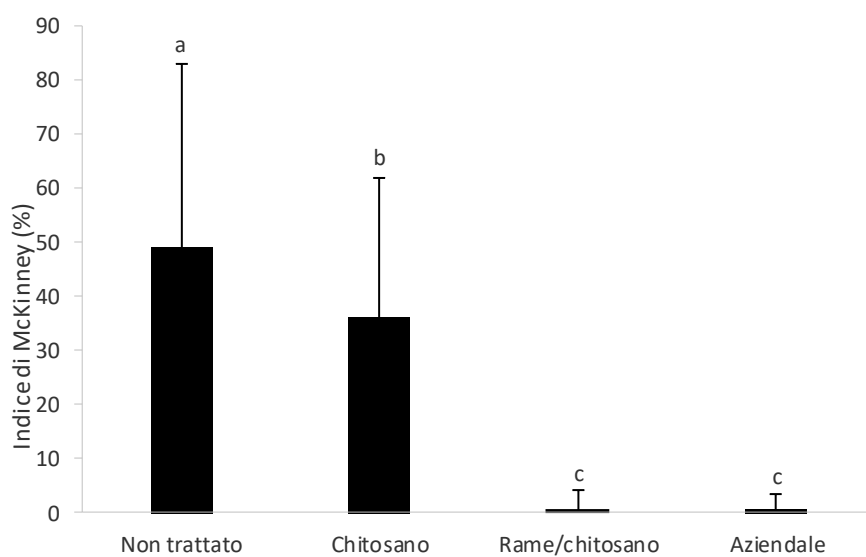


Figura 22 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 29/07/2019 su grappoli a Piagge.

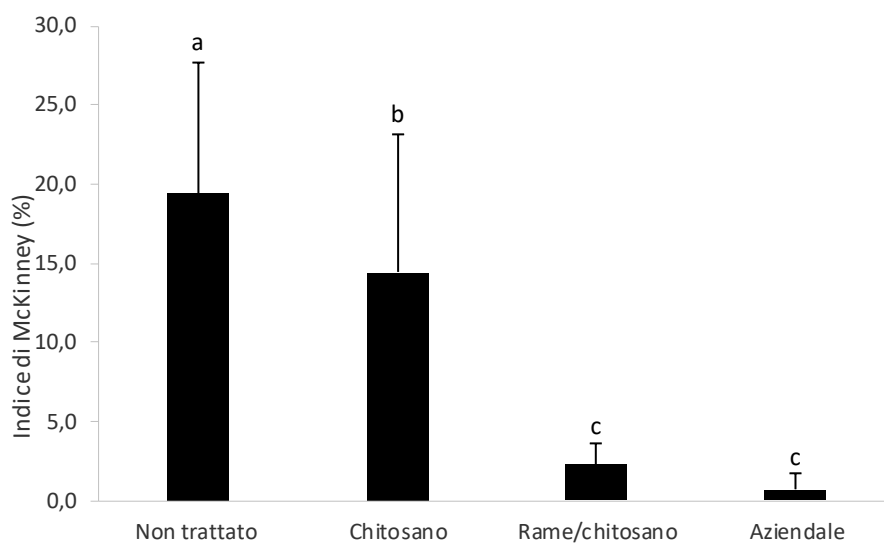


Figura 23 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 23/09/2019 (foglie) a Piagge.

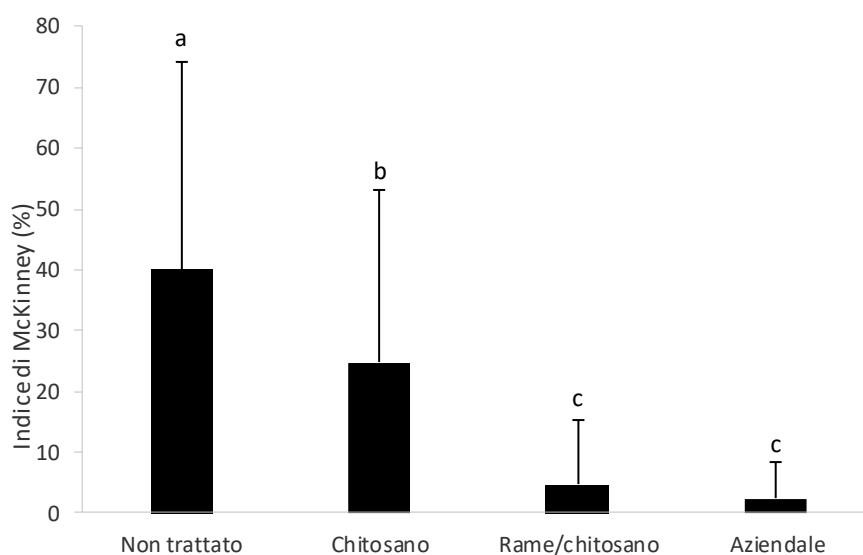


Figura 24 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 23/09/2019 (grappoli) a Piagge.

6.2.3. Rilievi sul vigneto di Matelica

Il primo rilievo sulle foglie è stato effettuato in data 09 luglio. Dall'analisi dei dati, soprattutto quelli relativi alla diffusione della malattia, si evince che nel vigneto la pressione della malattia è stata piuttosto bassa. Questo è imputabile sia alle condizioni climatiche sia alla posizione: l'appezzamento in questione sorge su una collina caratterizzata da un ottimo ricambio d'aria. Nonostante ciò, i dati rilevati hanno permesso l'analisi statistica, come riportato in tabella 22. In tutti i parametri si nota un andamento costante dei risultati: il testimone non trattato presenta i valori più alti, seguito dalla tesi "chitosano" mentre, i valori inferiori, sono nelle tesi "rame + chitosano" e "aziendale (solo rame)". Il grafico dell'indice di McKinney è in figura 25.

Tabella 22 - Risultati primo rilievo a Matelica su foglie. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su foglie del 09/07/2019 a Matelica			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	0,18±0,39 a	1,20±0,77 a	0,02±0,06 a
Chitosano	0,07±0,26 b	1,10±0,45 b	0,01±0,03 b
Rame + Chitosano	0,02±0,13 c	1,00±0 c	0±0,01 c
Aziendale (solo rame)	0 c	0 c	0 c

Un secondo rilievo, questa volta sui grappoli, è stato effettuato in data 29 luglio dove è stato rilevato un leggero aumento della pressione della malattia, osservabile nella tabella 23.

Tabella 23 - Risultati secondo rilievo a Matelica su grappoli. Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ($P < 0,05$).

Rilievo su grappoli del 29/07/2019 a Matelica			
Tesi	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice McKinney (%)
Testimone non trattato	3,62±14,83 ab	1,34±0,45 b	0,75±3,38 ab
Chitosano	6,42±15,93 a	1,34±0,87 b	1,12±2,81 a
Rame + Chitosano	2,19±8,65 b	1,51±1,29 a	1,51±1,69 b
Aziendale (solo rame)	1,99±6,62 b	1,35±1,22 b	1,35±1,26 b

La diffusione maggiore è risultata nella tesi “chitosano” mentre le minori nelle tesi “rame + chitosano” e “aziendale (solo rame)”. La gravità risulta superiore nella tesi “rame + chitosano” rispetto a tutte le altre, in cui non si apprezzano variazioni significative. L’indice di McKinney è inferiore nella tesi “testimone non trattato” e maggiore nelle tesi “rame + chitosano” e “aziendale (solo rame)” (figura 26). I valori risultano molto bassi, a conferma della scarsa pressione esercitata dalla malattia sul vigneto di Matelica. Di seguito ci sono i grafici relativi all’indice di McKinney.

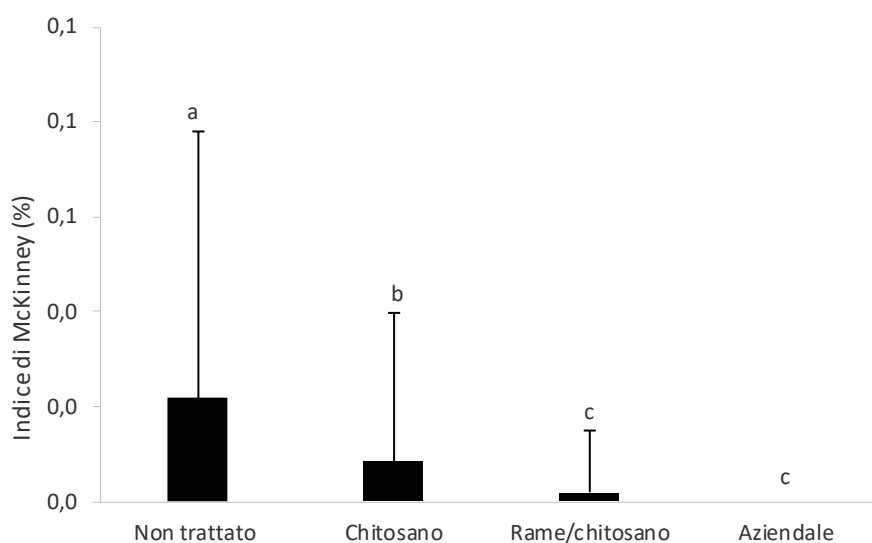


Figura 25 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 09/07/2019 a Matelica su foglie.

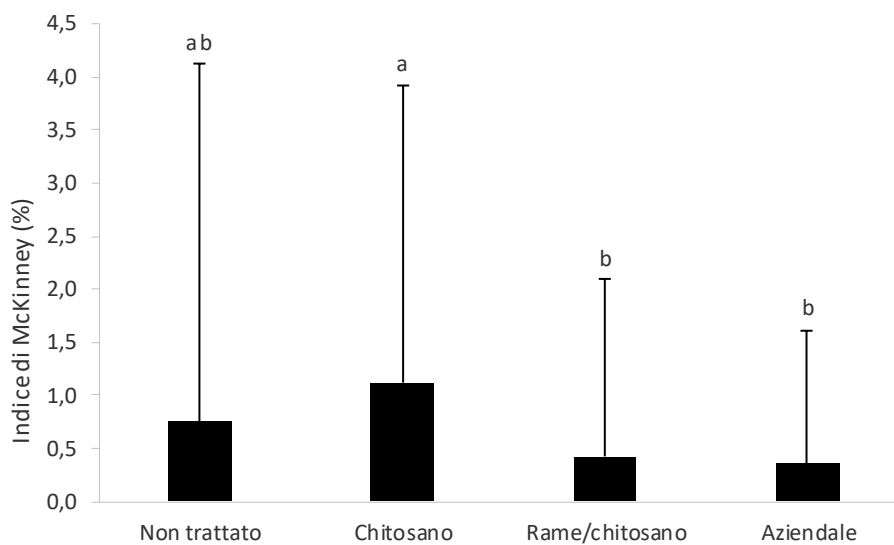


Figura 26 - Grafico dei valori di indice McKinney relativi al rilievo delle infezioni peronosporiche del 29/07/2019 a Matelica su grappoli.

7. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le ricerche volte all'individuazione di molecole alternative al rame sono incrementate notevolmente negli ultimi anni. La causa è da ricercare nell'impatto del rame sull'ecosistema, legato soprattutto al suo destino ambientale: è un metallo pesante e, oltre ad essere non degradabile, può accumularsi nel suolo e nelle acque sotterranee (Mackie et al., 2012). È stato studiato come l'accumulo di questo metallo sia presente anche nell'uva e nel vino e derivi principalmente dalla quantità utilizzata, portando anche ad una riduzione degli aminoacidi in termini quantitativi e qualitativi nel mosto d'uva (García-Esparza et al., 2006; Garde-Cerdà, et al., 2017). A queste problematiche si aggiungono quelle legate alla riduzione delle popolazioni di lombrichi (Paoletti, et al., 1998), alle modificazioni di carattere microbiologico ed enzimatico (Pontiroli et al., 2001) e le alterazioni del suolo dal punto di vista chimico (soprattutto per quanto riguarda il pH) (Wightwick et al., 2013). Proprio per far fronte a queste problematiche la Commissione Europea ha indotto delle restrizioni ulteriori sull'utilizzo del rame in agricoltura (473/2002/CE e successive modifiche), condizione che ha indirizzato la ricerca scientifica sia verso lo studio di un uso più sostenibile del rame e sia verso la ricerca di molecole alternative a basso impatto ambientale (Romanazzi et al., 2008, 2010).

La presente prova sperimentale ha avuto come obiettivo quello di testare l'efficacia antiperonosporica (sulla vegetazione e sui grappoli) di un formulato commerciale a base di chitosano, il Chito Plant con chitosano al 99,9%, mettendolo a confronto con l'efficacia dei trattamenti normalmente svolti dall'azienda con formulati commerciali diversi, ma tutti a base di rame. A questo proposito sono state adottate due strategie, una in cui i due principi attivi sono stati utilizzati singolarmente e una che ha previsto

l'alternanza dei due. Le prove hanno avuto come protagonisti tre vigneti aziendali ubicati in luoghi differenti. La prova ha tenuto conto dell'andamento climatico nel periodo durante il quale si sono svolti i rilievi per l'acquisizione dei dati. A questo proposito, l'annata 2019 è stata caratterizzata da una piovosità costante per tutta la stagione, con temperature particolarmente idonee allo sviluppo di *P. viticola*. Tuttavia, un'eccezione è rappresentata dal vigneto di Matelica, dove se pur l'andamento climatico fosse favorevole alla propagazione del patogeno, la posizione e la frequente azione dei venti hanno permesso un indiretto controllo della malattia, come risulta evidente dai parametri molto bassi di gravità, diffusione e indice McKinney rispetto ai vigneti di Angeli di Varano e Piagge. Al netto di questo, dal primo rilievo è stato possibile apprezzare i sintomi sulle piante che nel corso della stagione si sono intensificati, evidenziando differenze significative tra le tesi.

Dai rilievi condotti sulle foglie, facendo un confronto con il testimone non trattato, tutte le strategie adottate hanno dimostrato un controllo della malattia più o meno marcato. Tra queste è possibile notare (vedi capitolo 6, sottocapitolo 6.2) come l'utilizzo del solo chitosano offra una protezione minore dalla peronospora rispetto alla tesi che prevede l'utilizzo del solo rame. Per quanto riguarda l'applicazione alternata di rame e chitosano, i risultati ottenuti sono statisticamente uguali o simili a quelli ottenuti con l'utilizzo del solo rame. Stesso andamento è stato riscontrato nei rilievi sui grappoli: è particolarmente evidente nel rilievo su grappoli nel vigneto di Piagge del 29 luglio, la differenza tra parametri di diffusione e indice McKinney tra il chitosano applicato come unico fungicida ($D=41,51\%$; $IMK=36,21\%$) e la tesi che alternava rame e chitosano ($D=0,76\%$; $IMK=0,59\%$). In definitiva, i risultati confermano la nota efficacia del rame nel controllo della peronospora, avvicinata

notevolmente, in termini di risultati, dall'alternanza di rame e chitosano, e pongono il solo chitosano in una situazione intermedia tra rame e testimone non trattato, dimostrando che questo biopolimero, pur avendo una buona efficacia, presenta dei limiti se paragonato al rame.

Negli ultimi anni in Italia la superficie vitata biologica è notevolmente aumentata; solo dal 2010 al 2017 ha visto un incremento di oltre il 100% (Tombolini, 2017). Il principio alla base dell'agricoltura biologica è quello di ridurre al minimo gli effetti negativi e indesiderati che l'agricoltura tradizionale può avere nei confronti dell'ambiente (Reganold et al., 1987), evitando anche la perdita di carbonio organico e di conseguenza la riduzione della fertilità dei suoli (Martinez-Casasnovas e Ramos, 2009) e cercando di limitare l'accumulo dei metalli negli ecosistemi e nelle catene trofiche (Chaignon et al., 2003; Coll et al., 2011). Nonostante questi obiettivi, i prodotti rameici, che sono ammessi in agricoltura biologica e sono ancora molto diffusi, restano, ad oggi, la principale arma (se non l'unica) per la lotta antiperonosporica della vite, grazie anche alle loro proprietà fungicide e battericide ad ampio spettro (Dagostin et al., 2011). Ad ogni modo, recentemente la Commissione Europea ha imposto delle restrizioni sulle quantità di rame utilizzabili per ettaro. A questo proposito, attraverso semplici calcoli effettuati moltiplicando la concentrazione dei diversi formulati a base di rame e la quantità utilizzata (dati ricavati dalle tabelle 2, 3, 4, 5, 6 e 7), è stato possibile stabilire la quantità di rame utilizzato nei diversi vigneti, che risulta essere di circa 4 kg/ha per i vigneti di Angeli di Varano e Piagge e 1,2 kg/ha circa per il vigneto di Matelica, nelle tesi che hanno previsto l'uso del solo rame. Alternando rame e chitosano, tesi con i risultati statisticamente più simili ai trattamenti aziendali, la quantità di rame utilizzato è stata di 2,995 kg/ha ad Angeli di Varano e Piagge e di

0,775 kg/ha. Nel primo caso si ha un risparmio, in termini di rame/ha usato, del 25,8%, mentre nel secondo (Matelica) del 37,1%. Questa sperimentazione ha dunque confermato la validità del chitosano nel controllo della peronospora della vite. Alla luce delle problematiche sorte nel corso degli anni riguardo l'uso del rame in agricoltura e della recente restrizione nelle quantità utilizzabili, ulteriori studi volti alla ricerca di molecole alternative sono necessari. La ricerca scientifica sarà chiamata a rivestire un ruolo fondamentale, per importanza e responsabilità, verso il raggiungimento di nuove strategie di difesa della vite, e non solo, che siano economicamente, ambientalmente e socialmente sostenibili.

8. BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Mawgoud, A., Tantawy, A., El-Nemr, M., e Sassine, Y. (2010). Growth and yield responses of strawberry plants to chitosan application. *European Journal of Scientific Research*, 39(1), 170-177.
- Anderson, R., Deb, D., Fedkenheuer, K., e McDowell, J. (2015). Recent progress in RXLR effector research. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 28, 1063-1072.
- Arif Atak, M., Akkurt, Z., Polat, H., Celik, K., Kahraman, D., Akgul, N., e Eibach. (2017). Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) to different Vitis cultivar and genotypes. *Ciencia Tec. Vitiv.*, 32(1), 23-32.
- Barton, N., e Charlesworth, B. (1998). Why sex and recombination. *Science*, 281(5385), 1986-1990.
- Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G., e Nichols, E. (2000). Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agriculture and Forest Meteorology*, 107(3), 167-175.
- Blaeser. (1978). Indagini sull'epidemiologia di peronospora su vite.
- Brilli, M., Asquini, E., Moser, M., Bianchedi, P., Perazzoli, M., e Si-Ammour, A. (2018). A multi-omics study of the grapevine-downy mildew (*Plasmopara viticola*) pathosystem unveils a complex protein coding- and noncoding-based arms race during infection. *Scientific Reports*, 8, 757.
- Gregory C.T., (1915). Studies on *Plasmopara viticola*. Official report of the session. *International Congress on Viticulture*, 26/5000.

- Cambrollé, J., García, J., Figueroa, M., e Cantos, M. (2015). Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. *Chemosphere*, 120, 171-178.
- Chaignon, V., Sanchez-Neira, I., Herrmann, P., Jaillard, B., e Hinsinger, P. (2003). Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from vine-growing area. *Environ. Pollut.*, 123, 229-238.
- Coll, P., Le Cadre, E., Blanchart, E., Hinsinger, P., e Villenave, C. (2011). Organic viticulture and soil quality: a long-term study in Southern France. *Applied Soil Ecology*, 50, 37-44.
- Conrath, U., Beckers, G., Flors, V., Garcia-Agustin, P., Jackab, G., Mauch, F., e Mauch-Mani, B. (2006). Priming: getting ready for the battle. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, 1062-1071.
- Dagostin, S., Scharer, H.-J., Pertot, I., e Tamm, L. (2011). Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? *Crop Protection*, 30, 776-788.
- Delaiti, M., e Sandri, O. (2005). Rame in viticoltura: selettività di diversi formulati commerciali. *Terra Trentina*, 1, 32-36.
- Dìez-Navajas, A., Greif, C., e Merdinoglu, D. (2007). Two simplified fluorescent staining techniques to observe infection structures of the oomycete *Plasmopara viticola* in grapevine leaf tissues. *Micron*, 38 (6), 680-683.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A., e Benhamou, N. (1992). Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alteration in *Rhizopus stolonifer*. *Mycol Res*, 96, 769-779.
- El Hadrami, A., Adam, L., El Hadrami, I., e Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Mar. Drugs*, 8, 968-987.

- El-Sawy, N., El-Rehim, H., Elbarbary, A., e Hegazy, E. (2010). Radiation-induced degradation of chitosan for possible use as a growth promoter in agricultural purposes. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 555-562.
- Faretra, F., e Gullino, M. (2000). La resistenza ai fungicidi nella protezione delle colture. *Informatore Fitopatologico*, 10, 52-58.
- Fernández-Calvino, D., Rodríguez-Suárez, J., Lòpez-Periago, E., Arias-Estévez, M., e Simal-Gàndata, J. (2008). Copper content of soils and river sediments in a winegrowing area, and its distribution among soil or sediment components. *Geoderma*, 145, 91-97.
- Belli G. (2012). *Elementi di patologia vegetale*. Padova: Piccin Nuova Libraiia S.p.A.
- García-Esparza, M., Capri, E., Pirzadeh, P., e Trevisan, M. (2006). Copper content of grape and wine from italian farms. *Food Additives and Contaminants*, 23(3), 274-283.
- Garde-Cerdàn, T., Mancini, V., Carrasco-Quiroz, M., Servili, A., Gutiérrez-Gamboa, G., Foglia, R., e Romanazzi, G. (2017). Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: effects on grape amino acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 75, 7379-7386.
- Gessler, C., Pertot, I., e Perazzolli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, 3-44.
- Gobbin, D., Rumbou, A., Linde, C., e Gessler, C. (2006). Population genetic structure of *Plasmopara viticola* after 125 years of colonization in European vineyards. *Molecular Plant Pathology*, 7(6), 519-531.

- Kabata-Pendias, A., e Pendias, H. (2001, Boca Raton, Florida). Trace elements in soils and plants, third edition. (C. P. LLC, Intervistatore)
- Kashyap, P., Xiang, X., e Heiden, P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 36-51.
- Laflamme, P., Benhamou, N., Bussi eres, G., e Dessureault, M. (1999). Differential effect of chitosan on root rot fungal pathogens in forest nurseries. *Canadian Journal of Botany*, 77, 1460-1468.
- Laviola, S., Burruano, S., e Strazzeri, S. (1986). Influenza della temperatura sulla germinazione delle oospore di *Plasmopara viticola*. *Phytopathologia Mediterranea*, 25(1/3), 80-84.
- Mackie, K., Muller, T., e Kandeler, E. (2012). Remediation of copper in vineyards. *Environmental Pollution*, 167, 16-26.
- Mancini, V., Foglia, R., Gregori, M., Marcolini, D., Coppa, D., Nardi, S., e Romanazzi, G. (2018). Trattamenti a basso impatto ambientale per la protezione antiperonosporica e antioidica della vite in agricoltura biologica. *Atti Giornate Fitopatologiche 2*, 523-530.
- Martinez-Casasnovas, J., e Ramos, M. (2009). Soil alteration due to erosion, ploughing and levelling of vineyards in north east Spain. *Soil Use Mangement*, 25, 183-192.
- Paoletti, M., Sommaggio, D., Favretto, M., Petruzzelli, G., Pezzarossa, B., e Barbafieri, M. (1998). Earthworms as useful bioindicators of agroecosystem sustainability in orchards and vineyards with different inputs. *Applied Soil Ecology*, 10, 137-150.

- Pertot I., Dagostin S., Ferrari A., Gobbin D., Prodorutti D e Gessler C. (2007). La peronospora della vite. *Istituto Agrario di San Michele all'Adige*.
- Pontiroli, R., Rizzotti, R., e Zebrotto, F. (2001). Prove di difesa antiperonosporica in viticoltura biologica. *Informatore Fitopatologico*, 26, 62-66.
- Pospieszny, H., Chirkov, S., e Atabekov, J. (1991). Induction of antiviral resistance in plants by chitosan. *Plant Science*, 79, 63-68.
- Quarles, W. (2000). *Least-toxic controls of plant disease*. Tratto da Sustainable Gardening: bbg.org/gardening/how-tos/category/sustainable_gardening
- Rabea, E., El Badawy, M., Stevens, C., Smaghe, G., e Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: application and mode of action. *Biomacromolecules*, 4, 1457-1465.
- Reganold, J., Elliot, L., e Unger, Y. (1987). Long-terme effects of organic and conventional management practices on feeding activity of soil organisms in vineyards. *African Zoology*, 43, 66-74.
- Robinson, B., Greven, M., Green, S., Sivakumaran, S., Davidson, P., e Clothier, B. (2006). Leaching of copper, chromium and arsenic from treated vineyard posts in Marlborough, New Zealand. *Science of The Total Environment*, 364(1-3), 113-123.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Bautista Banos, S., e Sivakumar, D. (2017). Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3).
- Romanazzi, G., Mancini, V., Feliziani, E., Servili, A., Endeshaw, S., e Neri, D. (2016). Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development. *Plant Disease*, 100(4), 739-746.

- Romanazzi, G., Murolo, S., Santini, M., Patrizio, F., e D'Ercole, G. (2008). Valutazione in campo dell'attività antiperonosporica su vite di composti cuprici a dosi ridotte e prodotti alternativi. *Formulati rameici e prodotti alternativi per la difesa antiperonosporica della vite: due anni di prove in campo e in serra*, Cupramontana, 3-4.
- Romanazzi, G., Santini, M., Murolo, S., Masciulli, A., D'Ercole, G., e Patrizio, F. (2010). Valutazione dell'efficacia contro *Plasmopara viticola* di composti rameici utilizzati a dosi ridotte e di prodotti alternativi. *Petria*(20), 9-12.
- Rumbolz, J., Wirtz, S., Kassemeyer, H., Guggenheim, R., Schafer, E., e Buche, C. (2002). Sporulation of *Plasmopara viticola*: differentiation and light regulation. *Plant Biology*, 4, 413-422.
- Stefanelli, G. (1993). Difesa delle colture: utilizzo del rame in viticoltura; luci e ombre su uno dei più importanti anticrittogamici. *Atti dell'Incontro Tecnico*. Promossi dalla Comunità Montana del Gemonese.
- Tombolini, A. (2017). *I Numeri del Vino*. Tratto da inumeridelvino.it/2019/02/i-numeri-della-viticultura-biologica-in-italia-aggiornamento-2017.html
- Urech, P., Shwinn, F., e Staub, T. (1977). A novel fungicide for the control of late blight, downy mildews and related soil-borne disease. *Proc. Br. Crop. Prot. Conf. Pests & Dis.*
- Vasyukova, N., Zinov'eva, S., Il'inskaya, L., Perekhod, E., Chalenko, G. Gerasimova, N. e Ozeretskoyanskaya, O. (2001). Modulation of plant resistance to disease by water-soluble chitosan. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37, 103-109.

- Wightwick, A., Salzman, S., Reichman, S., Allinson, G., e Menzies, N. (2013). Effects of copper fungicide residues on the microbial function of vineyard soils. *Environmental Science Pollution Research*, 20, 1574-1585.
- Xian, L., Yunxiao, L., Shiren, S., Yin, L., Yang, X., Qu, J., e Jang, L. (2019). *Plasmopara viticola* effector PvRXLR131 suppresses plant immunity by targeting plant receptor-like kinase inhibitor BK11. *Molecular Plant Pathology*, 20(6), 765-783.
- Zhounghua, M., e Michailides, T. (2005). Advances in understanding molecular mechanism of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenesis fungi. *Crop Protection*, 24, 853-863.

9. RINGRAZIAMENTI

Giunti alla fine di un percorso ci si rende conto della bellezza e della qualità della strada percorsa. Sicuramente non per le cose imparate, né per i guadagni messi in tasca e né tanto meno per i ricordi delle avventure affrontate. La bellezza di ogni viaggio si nasconde sempre alla fine di tutto, quando capiamo di dover ringraziare una moltitudine di persone: questo perché, durante il percorso, il raggiungimento dei piccoli obiettivi di cui si compone ci sembra vittoria solo ed esclusivamente nostra, ma solo al traguardo capiamo (ed ho capito) che non è così. Ci sarebbe, perciò, da scrivere un intero capitolo su coloro che hanno reso possibile tutto questo. Mi limiterò ad un piccolo elenco, precisando che sarà senza alcun dubbio incompleto e scusandomi con chi si sentirà escluso.

In primis sono doverosi, ma soprattutto leciti, i ringraziamenti al Prof. Gianfranco Romanazzi, che senza alcun indugio mi ha accettato nel suo dipartimento e regalato consigli, dimostrando, ancor prima delle sue capacità accademiche, la rara dote della gentilezza. A questo ringraziamento “allego” quello dovuto alla Dott. Valeria Mancini, la cui disponibilità, se pur non dovuta, ha reso la stesura di questa tesi piacevole e lineare: a lei porgo il più sentito in bocca al lupo per il suo futuro.

Ci tengo a ringraziare anche le persone che sono state di passaggio, o all'apparenza marginali in questa avventura e che troppo spesso si tende a dimenticare. Se pur in breve tempo, hanno contribuito positivamente al proseguo di questo percorso e a loro va la mia riconoscenza.

Probabilmente è riduttivo ringraziare i miei amici di sempre solo ed esclusivamente per essermi stati vicini in questi anni universitari, ma è di certo doveroso. Non farò un

elenco di nomi, sono davvero troppi, ma sono sempre stati i miei compagni di viaggio e anche in questa avventura hanno risposto “presente!”. A tutti voi va un grande “GRAZIE”.

Dal profondo del mio cuore vanno i ringraziamenti alla mia famiglia: i miei genitori e mio fratello. Nessuna parola o frase potranno mai esprimere la mia gratitudine e la stima che nutro nei loro riguardi. Decidere di frequentare l’università a venticinque anni e avere l’aiuto necessario non è un diritto, è un regalo. Non vi ringrazierò mai abbastanza per questo dono.