



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali

Tesi di Laurea Magistrale in
Scienze Agrarie e del Territorio – Curriculum “Produzione e Protezione delle Colture”

Use of chitosan in viticulture biological: evaluation of the protection against downy mildew and effects on vegetative growth, ripening and production

Use of chitosan in organic viticulture: evaluation on downy mildew protection and effects on plant growth, ripening and production

Relatore

Prof. Gianfranco Romanazzi

Laureando

Dott. Luca Vegliò

Correlatore

Prof.ssa Oriana Silvestroni

Anno Accademico 2018–2019

INDICE

	Pag.
RIASSUNTO	4
ABSTRACT	5
1. INTRODUZIONE	6
1.1. VITICOLTURA MARCHIGIANA	8
1.2. PRODOTTI FITOSANITARI IN VITICOLTURA: EUROPA, ITALIA E MARCHE	10
1.3. VITICOLTURA BIOLOGICA	13
1.4. RAME IN AGRICOLTURA: ATTUALITÀ E PROSPETTIVE	16
2. PERONOSPORA DELLA VITE	19
2.1. DESCRIZIONE DEL PATOGENO: ORIGINE, SINTOMATOLOGIA E DANNI	19
2.2. MEZZI ANTIPERONOSPORICI IN AGRICOLTURA BIOLOGICA E PROSPETTIVE FUTURE	23
2.3. VITIGNI RESISTENTI	25
3. CHITOSANO	27
3.1. DESCRIZIONE: EFFICACIA E MECCANISMI D'AZIONE	27
3.2. CHITOSANO E INDUZIONE DI RESISTENZA	29
3.3. USI IN AGRICOLTURA: DALLA SPERIMENTAZIONE ALL'IMPIEGO IN CAMPO	34
3.4. UTILIZZO IN POSTRACCOLTA SULLE DERRATE	40
3.5. IMPIEGO IN ALTRI SETTORI	43
4. MATERIALI E METODI	46
4.1. DESCRIZIONE DEL SITO D'INDAGINE	46
4.2. IL VITIGNO: FAMOSO BIANCO	48
4.3. DESCRIZIONE DELLA PROVA IN CAMPO	50
4.4. RACCOLTA ED ELABORAZIONE DEI DATI METEO	52
4.5. MONITORAGGIO DELLA CRESCITA DELLA CHIOMA	53
4.6. RILIEVI PER LA VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA DELLA VITE	54

4.7.	EVOLUZIONE DEI PARAMETRI CHIMICO-FISICI DI MATURAZIONE DELL'UVA	56
4.7.1.	Prelievo dei campioni	56
4.7.2.	Analisi di laboratorio	57
4.7.2.1.	<i>Misura del grado zuccherino</i>	57
4.7.2.2.	<i>Misura del pH</i>	58
4.7.2.3.	<i>Determinazione dell'acidità titolabile</i>	58
4.7.2.4.	<i>Archiviazione dati e curve di maturazione</i>	60
4.8.	VENDEMMIA PER CONFRONTARE LE PRODUZIONI	60
4.9.	CONFRONTO SUI COSTI RELATIVI ALLA DIFESA NELLE VARIE STRATEGIE	61
5.	RISULTATI	62
5.1.	DATI METEO	62
5.2.	CRESCITA VEGETATIVA	66
5.2.1.	Curve di crescita	68
5.3.	INCIDENZA DI PERONOSPORA DELLA VITE	70
5.3.1.	Peronospora sui grappoli	70
5.3.2.	Peronospora sulle foglie	72
5.4.	EVOLUZIONE DEI PARAMETRI DI MATURAZIONE DELLE UVE	75
5.5.	CURVE DI MATURAZIONE E RIEPILOGO ANALISI DELLE UVE	80
5.6.	PRODUZIONE DI UVA E DIMENSIONI DEI TRALCI	83
5.7.	COSTO DELLE STRATEGIE DI DIFESA	85
6.	DISCUSSIONE	87
7.	CONCLUSIONI	89
8.	BIBLIOGRAFIA	91
	RINGRAZIAMENTI	93

RIASSUNTO

Obiettivo di questa tesi sperimentale è valutare gli effetti dei trattamenti con chitosano, ampiamente sperimentato e noto in letteratura scientifica, inserito in un contesto aziendale viticolo in agricoltura biologica, confrontato e alternato al rame. Le prove sono state condotte in un vigneto di Famoso, un vitigno a bacca bianca a maturazione medio - precoce coltivato in piccole superfici, presso l'azienda agricola "Il Conventino di Monteciccardo", in ambiente collinare. Sono state confrontate tre strategie di protezione, basate sull'uso di prodotti rameici e chitosano, con 13 applicazioni sulla chioma: trattamenti con solo rame (R); chitosano da solo (C); alternanza di rame e chitosano (R + C); due porzioni laterali non trattate (T1, T2).

L'approccio multidisciplinare ha riguardato: la valutazione dell'efficacia antiperonosporica contro *Plasmopara viticola*, con rilievi su foglie e grappoli; effetti sul comportamento vegeto-produttivo del vigneto, seguendo la crescita con rilievi sui germogli e poi sui tralci; l'influenza sull'evoluzione dei parametri fisico-chimici dei mosti d'uva; la quantità di uva prodotta; l'incidenza sui costi delle tre strategie di difesa. Il chitosano comporta un minore allungamento dei germogli in crescita, ma non un diverso numero di foglie per germoglio; non riduce il numero di germogli cimati dagli interventi meccanici in vigneto; riduce il peso del legno di potatura ma non la produzione di uva; sembra ridurre la dimensione dei grappoli e quindi riduce la capacità produttiva dei singoli germogli. Il chitosano ha fatto registrare i valori più bassi e la maggiore variabilità in questi dati. L'effetto più marcato e positivo è stato osservato nella riduzione d'incidenza di peronospora sui grappoli e sulle foglie, con valori del tutto simili ai trattamenti con il prodotto a base di rame, per tutta la stagione; non garantisce sempre la stessa protezione se si fa succedere al rame. Dato il costo iniziale più alto rispetto al rame, aumenta i costi della difesa, sia che si applichi lo stesso numero di trattamenti, sia quando lo si alterni al rame. I risultati ottenuti sul non trattato suggeriscono una discreta tolleranza varietale. Rispetto alle altre tesi e al non trattato, il chitosano rallenta la maturazione delle uve in termini di accumulo zuccherino, mantenendo il livello di acidità titolabile ma determinando un pH inferiore. Il chitosano è una valida alternativa ai prodotti rameici e uno dei mezzi più efficaci, che sarà sempre più interessante se non si potrà più ricorrere al rame in futuro.

ABSTRACT

The aim of this experimental thesis is to evaluate the effects of treatments with chitosan, widely tested and known in scientific literature, inserted in an organic viticultural farming context, compared and alternated to copper. The tests were made in a Famoso vineyard, a medium – early ripening white grape variety cultivated in small areas, at “Il Conventino di Monteciccardo” farm, in a hilly environment. Three different strategies were compared, based on the use of copper and chitosan products, with 13 applications on the canopy: treatments with only copper (R); chitosan alone (C); alternation of copper and chitosan (R + C); two side portions left untreated (T1, T2).

The multidisciplinary approach involved: the evaluation of efficacy on downy mildew control against *Plasmopara viticola*, with observations on leaves and shoots; the effects on the vegetative-productive behavior of the vineyard, following the growth with observations on the shoots and then on the woody branches; the effects on the evolution of physical-chemical parameters of grape must; the quantity of grapes produced; the impact of costs on the three protection strategies. Chitosan induces a lower elongation of the shoots, but not a different number of leaves for shoot; it does not reduce the number of shoots top-cut by mechanical interventions in the vineyard; it reduces the weight of pruning wood but not the production of grapes; it seems to reduce the size of bunch and therefore reduces production capacity of the individual shoots. Chitosan shown the lowest values and highest variability in these data. The most marked and positive effect is in the reduction of the incidence of downy mildew on the bunches and on the leaves, with values very similar to the treatments with copper-based product, for the whole season; it does not always provide the same protection if applied following to copper. Because of the higher initial cost compared to copper, protection costs increase, when the same number of treatments are applied, or when alternated to copper. Results obtained on the untreated control suggest a moderate variety tolerance. Compared to the other thesis and the untreated, chitosan slows down the ripening of the grapes in terms of sugar accumulation, keeping the detectable acidity level but causing a lower pH. Chitosan is a good alternative to copper products and one of the most effective means, that will always be more interesting if copper cannot be used longer in the future.

1. INTRODUZIONE

L'Organizzazione delle Nazioni Unite (ONU) ha proclamato il 2020 "Anno internazionale della salute delle piante" (dall'inglese "*International Year of Plants Health*", IYPH). La comunità internazionale ha così simbolicamente riconosciuto l'importanza delle piante e dei vegetali in senso lato e il fatto che la loro salute sia la base per l'alimentazione umana e per la sicurezza alimentare, ma è altresì fondamentale per costituire fonti di materie prime, nella produzione primaria di biomassa e quindi agenti di biodiversità, oltre che per i diversi servizi forniti dagli "ecosistemi" agricoli, forestali, acquatici e altri in tutto il pianeta, primo fra tutti la produzione dell'ossigeno che ci permette di vivere. Il Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali (Mipaaf) ha richiesto e ottenuto il rilascio di monete di argento dal valore nominale di 5€ che saranno prodotte a breve, tramite proposta del Servizio Fitosanitario Nazionale (SFN), che sono celebrative di questa proclamazione. Tutto ciò allo scopo di aumentare la consapevolezza della popolazione verso i problemi legati alla salute delle piante. Secondo il suo principio fondante, la salute dei vegetali è definibile come la disciplina che decide e attua le misure di lotta contro gli organismi nocivi, al fine di evitarne la diffusione in nuove aree e limitarne lo sviluppo qualora già presenti in una determinata area, poiché questi determinano mediamente la perdita di più di un terzo dei raccolti ogni anno.

Oltre l'80% del cibo consumato dall'uomo è di origine vegetale ed è per questo motivo che l'attività agricola deve porsi l'obiettivo della sostenibilità, in tutti i suoi aspetti. La situazione dovuta al cambiamento climatico avvenuto negli ultimi anni non esclude il settore viticolo, costringendo tutto il comparto produttivo, in primis gli agricoltori, ad adeguarsi alle nuove condizioni. E' ormai noto per il mondo scientifico che negli ultimi anni il trend delle temperature medie stagionali è in crescita, registrando valori insolitamente elevati nei periodi invernali con il conseguente verificarsi di condizioni estreme (prima meno frequenti) come la siccità estiva o inverni con periodi lunghi in assenza di pioggia e imprevedibili eventi piovosi piuttosto violenti. Se si considera che il cambiamento climatico abbia interessato a vari gradi tutte le aree produttive mondiali, tale situazione rende più complessa la gestione della difesa delle colture dagli attacchi dei fitofagi e dalle malattie, sempre più difficilmente prevedibili nella comparsa e nello sviluppo e sono necessari nuovi studi sull'adattamento degli organismi nocivi e sulla risposta delle piante, oltre a costringere anche l'industria agrochimica a fornire mezzi altrettanto efficaci e rispondenti al contempo alle esigenze della società civile.

Fatta questa premessa, si è ritenuto necessario trattare in sintesi i temi attuali legati allo studio della presente tesi, complementare alle prove in campo.

1.1. VITICOLTURA MARCHIGIANA

L'attività agricola della Provincia di Pesaro e Urbino (PU) si sviluppa con un clima tipico dell'area del Mediterraneo ed è soggetta alle conseguenze del riscaldamento globale ("Global warming"), così come tutta la Regione Marche. In queste aree le temperature rimangono tendenzialmente miti, con estati calde e poco piovose, con precipitazioni concentrate nei periodi più freschi, in particolare in autunno e primavera. In tutta la Provincia, l'orografia del territorio può essere così descritta: un'area pianeggiante litoranea più calda con suoli profondi, d'importanza minore per quanto riguarda la superficie e prevalentemente individuabile nelle immediate vicinanze dei fiumi; assoluta prevalenza della giacitura collinare dell'area sub-litoranea e interna con suoli poco profondi; una zona sub-montana più fresca. Tale configurazione territoriale si riscontra, con i dovuti distinguo da Nord a Sud, in tutta la regione Marche. Dati ISTAT relativi a un censimento effettuato nel 2010 registrano una superficie agricola utilizzabile totale (SAU) di 471.828 ettari, di cui 16.745 sono quelli investiti a vigneto e tra questi sono circa 10.376 ricadenti in zone a denominazione di origine (DOC/DOCG). Nell'area del pesarese è prevalente l'orografia collinare, con suoli tendenzialmente argillosi e calcarei (materiale parentale sedimentario marino di origine pliocenica) e l'attività agricola predominante è quella dei sistemi colturali erbacei (seminativi), ma sono altresì importanti la viticoltura, l'olivicoltura e l'orto-frutticoltura.

Per quanto riguarda il solo comparto vitivinicolo, la possibilità di utilizzare le diverse denominazioni d'origine presenti nella Provincia ha una forte influenza su quelle che sono le scelte varietali per la progettazione di nuovi impianti e per la valorizzazione di quelli già presenti. Questo ha un effetto diretto sulla relativa complessità del panorama ampelografico locale, che si compone prevalentemente delle cultivar Sangiovese N. (codice 218, a bacca nera) e Biancame B. (sinonimo "Trebiano toscano", codice 025, a bacca bianca), con i relativi cloni. I vitigni citati sono poi affiancati da una serie di vitigni minori, quali possono essere: Montepulciano, Merlot, Vernaccia Nera, Aleatico, Lacrima e Cabernet Sauvignon tra quelli a bacca nera; Malvasia di Candia, Albana, Albanella, Riesling italico, Sauvignon B. e Chardonnay tra quelli a bacca bianca.

La viticoltura provinciale è caratterizzata da piccole e medie aziende, a conduzione prevalentemente familiare, che sempre di più concentrano le attività di gestione, sull'obiettivo della qualità dei prodotti e sulla filiera corta. Un trend positivo si registra nel numero di aziende che scelgono di convertirsi all'agricoltura biologica anche in viticoltura, che è superiore a 4000 se si considera l'intero territorio regionale (ISTAT, 2016). La gestione dei vigneti specializzati avviene generalmente tramite una meccanizzazione semi – integrale, adottando sistemi di allevamento a

controspalliera, con strutture portanti costituite principalmente da palificazione in legno o leghe metalliche e fili di contenimento della vegetazione, condizionata in verticale. Le forme di allevamento tipicamente adottate per gli impianti nuovi e più recenti, sono due: cordone speronato unilaterale e Guyot unilaterale; si può vedere in vecchi vigneti la forma a doppio capovolto, con palificazione in cemento, tra le prime a essere state adottate nella zona durante la ricostituzione viticola degli anni '70 del secolo scorso ed oggi praticamente in abbandono.

Le norme comunitarie e nazionali in materia viti-vinicola descrivono un panorama piuttosto complesso. Dal 1° gennaio 2018 è entrato in vigore il Testo Unico della Vite e del Vino, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n.302 del 28/12/2016, che unisce le norme vigenti in materia vitivinicola ed introduce alcune novità, tra queste si citano: la definizione di vitigno autoctono italiano al Titolo II, Capo II, Art. 6, il quale al comma 1 riporta che *“per «vitigno autoctono italiano» o «vitigno italico» si intende il vitigno appartenente alla specie Vitis vinifera, di cui è dimostrata l'origine esclusiva in Italia e la cui presenza è rilevata in aree geografiche delimitate del territorio nazionale”* (definizione non molto chiara che può lasciare spazio a libera interpretazione); l'introduzione delle autorizzazioni all'impianto, per cui non saranno più acquisibili i diritti d'impianto, ma i soggetti che già li possiedono saranno in qualche modo tutelati.

Le esigenze moderne della società civile sono state parzialmente recepite dai legislatori e l'attenzione nei confronti della salute umana e ambientale è crescente. Non sempre le sole norme imposte dalle autorità riescono a sortire gli effetti sperati, soprattutto quando sovente emerge una conflittualità tra gli interessi economici dei vari settori e si genera una forbice: da un lato i consumatori vogliono spendere meno in alimentazione, dall'altro reclamano prodotti più sicuri, che per essere tali hanno bisogno di maggiori controlli da parte degli enti certificatori e di maggiori conoscenze acquisite dai produttori e dai tecnici, fornite soprattutto dalla comunità scientifica, che necessita di fondi adeguati al sostegno della ricerca.

Difficilmente le norme potranno influenzare il buon senso degli attori del mercato. Il settore vitivinicolo, soprattutto quello biologico, deve saper rispondere a queste necessità, con particolare sensibilità verso il tema della difesa fitosanitaria, che è oggi centrale e soggetto a continue critiche e pressioni. In sede comunitaria è in cantiere la progettazione di un sistema, di prossima approvazione, adottabile dai vari paesi per la certificazione volontaria del secondo livello di agricoltura integrata, chiamato “Sistema Nazionale di Qualità delle Produzioni Integrate” (SNQPI), che presumibilmente potrà rappresentare un'alternativa alla certificazione biologica, poiché si basa su analoghi principi teorici.

1.2. PRODOTTI FITOSANITARI IN VITICOLTURA: EUROPA, ITALIA E MARCHE

La difesa fitosanitaria nella viticoltura europea è sicuramente una delle attività più impattanti per l'ambiente, il cui obiettivo è ridurre le problematiche relative alle avversità causate da agenti patogeni, soprattutto funghi, con diversa importanza tra le specie a seconda delle caratteristiche ambientali, pedoclimatiche e colturali, cioè quelle computabili all'orografia e alle fattezze dei sistemi di allevamento. Nella quasi totalità dei casi le aziende sono costrette a ricorrere alle applicazioni di prodotti fitosanitari, per limitare fortemente le perdite di produzione annuale e per mantenere la vitalità dei vigneti nel lungo periodo.

Le patologie crittogamiche fungine e i rispettivi agenti eziologici più importanti della vite sono: peronospora (*Plasmopara viticola*), oidio (*Erysiphe necator*), botrite (*Botrytis cinerea*) e mal dell'esca (*Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*, ecc.).

In una pubblicazione dell'Eurostat del 2007 relativa all'arco temporale 1992-2003, ovvero il periodo immediatamente successivo l'istituzione dell'agricoltura biologica nell'Unione Europea, si fa riferimento alle esigenze crescenti della società civile in merito alla sicurezza alimentare ed alla salvaguardia dell'ambiente, quindi si citano i lavori in corso al tempo, per la redazione di quella che sarebbe stata poi la Direttiva 128/2009 sull'uso sostenibile dei fitofarmaci. Dai dati risulta che l'uso di fitofarmaci è sensibilmente aumentato, considerando nel complesso tutte le categorie di prodotti, ma più precisamente è cresciuto l'uso di erbicidi, insetticidi e fitoregolatori, mentre è diminuito l'uso di fungicidi (*"The use of plant protection products in the European Union"* – Eurostat Statistical Books, 2007).

Una parte consistente dei fungicidi usati in Europa riguardava la viticoltura, in particolare nell'uso di zolfo per la lotta all'oidio della vite. Nella seconda metà del periodo considerato per l'indagine, l'importanza dello zolfo come primo fungicida sembra calare in favore di nuovi fungicidi di sintesi, che potevano essere applicati a minore dosaggio per ettaro. Francia, Spagna, Italia, Germania e Regno Unito rappresentavano circa il 75% della domanda d'uso di fitofarmaci per l'applicazione in campo. L'Italia da sola rappresentava il 17% dell'uso dei fungicidi, al secondo posto dopo la Francia e per gli insetticidi era al primo posto con il 33%. Nella lista delle venti classi di composti chimici più usati, i prodotti rameici sono passati dal quarto posto del 1992 al quindicesimo posto del 2003, con una riduzione in quantità del 57% circa.

In Italia la vite è stata al primo posto tra le colture in termini di consumo totale in fitofarmaci e anche per i dosaggi a ettaro: nel 1992 erano usati mediamente 3,5 kg/ha di prodotti fitosanitari, considerando la media di tutte le colture, mentre per la sola vite tale valore

ammontava a circa 28,5 kg/ha; nel 2003 si è passati a una media generale di tutte le colture di circa 3 kg/ha di prodotti fitosanitari, mentre la viticoltura registrava medie tra 17 e 18 kg/ha, in calo rispetto all'inizio del periodo considerato, ma pur sempre con quantità circa 6 volte maggiori della media di tutte le colture. Considerando i soli fungicidi, la viticoltura italiana ha ridotto le dosi per unità di superficie, passando dai 23,8 kg/ha del 1992 ai 19,5 kg/ha del 2003, di cui 14,8 kg/ha erano prodotti a base di zolfo inorganico.

Nel 1992 la superficie destinata a vigneto nell'UE ammontava a 3.918.000 ha, il 4,5% della SAU, poi nel 2003 tale consistenza è scesa al 3,3% con 3.525.000 ha. In Italia tale riduzione è stata complessivamente del 7% della superficie destinata a vigneto, che nel 2003 rappresentava circa l'8% della SAU italiana e si è dimezzato l'uso di prodotti a base di rame. Dati Eurostat più recenti (<https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>) riguardanti il periodo che va dal 2000 al 2018, mostrano che nel 2015 in Italia erano presenti circa 650.000 ha di vigneto, dei quali circa 630.000 erano in produzione, poco meno della metà di questi aveva un'età d'impianto compresa tra i 10 e i 29 anni; circa 280.000 ha di vigneto ricadevano in areali a denominazione d'origine (D.O.).

Il trend della diminuzione d'uso dei fungicidi già citata si protrae anche in questo periodo. Nel 2005 c'erano 494.099 aziende, che coprivano un totale di 741.224 ha di superficie agricola, che ricorrevano all'uso di fungicidi, che nel 2016 sono diminuiti a 644.583 ha. Dai dati ISTAT relativi alla viticoltura e riferiti ad un arco temporale che va dal 2005 al 2018, risulta che nel 2016 il numero medio di trattamenti effettuati annualmente con fungicidi era tra 13 e 14 (13,59 è il valore medio), per una quantità media totale maggiore di 24 kg per ettaro, di cui 3,6 kg di prodotti rameici, distribuiti in una media di 4-5 trattamenti. Inoltre, nello stesso anno si sono effettuati mediamente 1-2 trattamenti all'anno con prodotti a base di funghi antagonisti. Nel 2018 i vigneti in Italia occupavano 679.538 ha, in crescita rispetto al 2015, il 98,8% dei quali era soggetto ad applicazioni con fungicidi, che rappresentavano l'87,1% dei trattamenti fitosanitari, ovvero erano e sono ancora oggi il motivo principale per cui si effettuano trattamenti in campo in viticoltura italiana. Tale dato è in calo rispetto al 2005, quando i trattamenti fungicidi erano il 95% circa delle applicazioni in campo, cioè quasi la totalità. Nel 2018, in Italia sono stati distribuiti 31.327.889 kg di principi attivi fungicidi (quantità di principi attivi presenti nei prodotti fitosanitari), tra i quali: 4.216.297 kg sono rappresentati da prodotti inorganici a base di rame e complessivamente 21.128.601 kg di fungicidi ammessi in agricoltura biologica. Ciò significa che per la sola agricoltura integrata, che rappresenta ancora la maggioranza delle aziende, sono stati utilizzati 10.299.188 kg di principi attivi fungicidi.

Si può quindi affermare che nel 2018 l'agricoltura biologica ha comportato l'utilizzo di una quantità notevolmente superiore di prodotti fitosanitari, circa il doppio considerando solo i fungicidi e ricordando che rappresentano la categoria di prodotti più usati in Italia, di cui i principali sono in primis lo zolfo e poi il rame. Tale differenza è probabilmente imputabile alla necessità delle aziende di mantenere un approccio cautelativo - preventivo nella difesa fitosanitaria in "bio" e quindi di effettuare un numero superiore di trattamenti rispetto all'integrato, anche piuttosto frequenti, perché non è consentito fare terapia con prodotti sistemici di sintesi e quindi non si può attendere la comparsa dei sintomi di malattia e di conseguenza la soglia di tolleranza si abbassa. Considerando il solo settore dell'agricoltura biologica, per quanto riguarda l'uso di prodotti fitosanitari in quantità totale (comprendendo fungicidi, insetticidi, erbicidi e altri), la somma raggiunge i 25.715.126 kg, di cui 464.827 kg nella regione Marche (1,8% del dato nazionale) e tra questi, 11.541 kg relativi alla sola provincia di Pesaro e Urbino (circa lo 0,0005% del dato nazionale e circa lo 0,025% del dato regionale). Per quanto riguarda la regione Marche, per il complesso delle aziende biologiche e integrate, nel 2018 sono stati distribuiti 552.217 kg di principi attivi fungicidi, di cui 55.587 kg (più del 10%) sono inorganici a base di rame e 433.350 kg considerando solo quelli consentiti in agricoltura biologica (quelli a base di zolfo e rame e in percentuali irrisorie gli altri). Nel dettaglio della sola provincia di Pesaro e Urbino (PU), nel 2018 sono stati distribuiti 16.429 kg di principi attivi fungicidi, di cui 1.419 kg di prodotti a base di rame e 9931 kg come totale tra i fungicidi consentiti in agricoltura biologica (<https://www.istat.it/it/archivio/fitosanitari>).

1.3. VITICOLTURA BIOLOGICA

L'agricoltura biologica è un metodo di produzione, certificato, non obbligatorio, cui gli agricoltori possono aderire volontariamente. È praticata da molto tempo ma solo recentemente istituito con il Regolamento CE 2092/91 e la sua base normativa ha subito negli anni seguenti una serie di modifiche, di cui si riporta una breve sintesi. Il Regolamento CE 834/07 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici che abroga il Reg. 2092/91, definisce così l'agricoltura biologica: *“la produzione biologica è un sistema globale di gestione dell'azienda agricola e di produzione agroalimentare basato sull'interazione tra le migliori pratiche ambientali, un alto livello di biodiversità, la salvaguardia delle risorse naturali, l'applicazione di criteri rigorosi in materia di benessere degli animali e una produzione confacente alle preferenze di taluni consumatori per prodotti ottenuti con sostanze e procedimenti naturali. Il metodo di produzione biologico esplica pertanto una duplice funzione sociale, provvedendo da un lato a un mercato specifico che risponde alla domanda di prodotti biologici dei consumatori e, dall'altro, fornendo beni pubblici che contribuiscono alla tutela dell'ambiente, al benessere degli animali e allo sviluppo rurale”*. L'art. 12 e seguenti del suddetto Regolamento definiscono le norme di produzione vegetale e in altri settori. In sintesi l'agricoltura biologica: deve impiegare tecniche di gestione agronomica che possano salvaguardare la fertilità del suolo in termini di stabilità, aumento di sostanza organica e biodiversità, prevenendo la compattazione e l'erosione; il ricorso alla rotazione e all'uso di fertilizzanti di origine animale, vegetale o altra, preferibilmente compostati e di produzione biologica; non consente l'uso di concimi minerali azotati, cerca di limitare l'impatto ambientale dell'attività agricola, previene le malattie con la protezione e il potenziamento dei nemici naturali e con i mezzi agronomici come la scelta delle specie e delle cultivar adeguate all'ambiente di coltivazione; tutela i pronubi; usa sementi e materiale di propagazione di produzione biologica; ammette l'uso in deroga di prodotti fitosanitari di sintesi solo in casi di estrema necessità e in ragione d'interesse comunitario; ammette la raccolta di prodotti vegetali da specie spontanee naturali a patto che vengano tutelati gli habitat e che non venga minacciata la loro conservazione.

Il Regolamento CE 889/08 recante modalità di applicazione del Reg. 834/07 per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli; il Reg. CE 1235/08 sulle modalità d'applicazione del Reg. 834/07 in merito al regime d'importazione di prodotti biologici da Paesi Terzi; il Regolamento CE 203/2012 introduce le norme di vinificazione biologica; il Regolamento CE 1584/2018 che apporta significative modifiche al Reg. 889/08. Le più importanti modifiche

apportate dal Reg. CE 1584/2018 hanno riguardato: il settore zootecnico, il settore enologico con la concessione d'uso di alcune sostanze di origine naturale prima non contemplate, poi per quanto riguarda le produzioni vegetali si ammette l'uso dei fanghi industriali degli zuccherifici di canna da zucchero, dello xilitolo come sottoprodotto di alcune lavorazioni e nell'ambito della difesa fitosanitaria sono state giudicate conformi agli obiettivi del biologico alcune sostanze, tra le quali l'estratto d'aglio, gli oligogalatturonidi, l'estratto di corteccia di salice, il bicarbonato di sodio e i COS (chitooligosaccaridi). Con questa norma si cerca di migliorare anche il meccanismo di scambio d'informazioni tra gli Stati membri, estendendo l'utilizzo dello scambio elettronico dei dati anche alle irregolarità e infrazioni che hanno implicazioni internazionali.

Si ritiene importante segnalare il Regolamento UE 2031/2016 "salute delle piante" sul nuovo regime fitosanitario, entrato recentemente in vigore il 14 dicembre 2019 assieme ad una serie di Regolamenti d'esecuzione e Regolamenti delegati ognuno dei quali approfondisce specifiche tematiche, che apporta importanti modifiche al sistema fitosanitario e che avrà ripercussioni anche sull'agricoltura biologica: la riclassificazione degli organismi nocivi, nuovi obblighi e responsabilità degli operatori professionali, introduzione del Registro Ufficiale degli Operatori Professionali (RUOP), estensione dell'obbligo del passaporto delle piante e suo nuovo formato.

L'agricoltura biologica ha carattere legale nelle sue procedure di certificazione; i produttori possono aderire volontariamente a tale certificazione richiedendo il pagamento delle misure PSR (Piano di Sviluppo Rurale) del secondo pilastro della PAC (Politica Agricola Comune), relative alla produzione biologica. In particolare, nei più recenti Programmi di Sviluppo Rurale 2014-2020 la misura n°11 si riferisce all'agricoltura biologica attraverso due sottomisure: la sottomisura n°11.1 che mira a favorire il passaggio delle aziende al metodo biologico e la sottomisura n°11.2 che fornisce sostegno alle aziende che si adoperano nel mantenimento di queste tecniche (<https://www.regione.marche.it/Entra-in-Regione/Psr-Marche/Le-misure-del-PSR/Misura-11#Misura-11>). È richiesto un periodo di conversione di tre anni dal momento di approvazione della richiesta, durante i quali l'azienda deve essere controllata e deve rispettare le indicazioni e le restrizioni della normativa vigente, per poi avere la possibilità di vedere riconosciuta la propria azienda come "biologica".

Ci sono due processi di certificazione, uno sul metodo di produzione e un altro sul prodotto e si può scegliere di certificare solo il metodo oppure anche il prodotto; il costo per l'azienda è maggiore nel caso della doppia certificazione. Il simbolo della certificazione biologica è la "foglia"

definita da contorni bianchi con sfondo verde oppure con contorni neri a sfondo bianco, che si ritrova nelle etichette dei prodotti certificati biologici.

Per quanto riguarda l'etichettatura dei prodotti trasformati (ad esempio il vino) è obbligatorio che almeno il 95% del prodotto sia di origine biologica. Ci sono enti terzi certificatori che hanno lo scopo di tutelare i consumatori da eventuali frodi. Dai dati Eurostat relativi al periodo 2000-2019 si evince che in Italia la superficie totale condotta in regime di agricoltura biologica è più che raddoppiata, passando dal 6,7% al 15,2% della SAU complessiva, ovvero aumentando da 500.000 ha a circa 1.490.000 ha.

Il consumatore ha aumentato costantemente la domanda di prodotti biologici, in ragione probabilmente del suo approccio teorico acclamato a favore dell'ambiente e della salute umana e ciò ha comportato richieste di conversione all'agricoltura biologica da un numero sempre crescente di produttori e cioè dovuto ad un aumento dell'offerta di prodotti biologici. La possibilità di spuntare prezzi di mercato maggiori che possano aumentare la marginalità economica, anche attirando un numero sempre maggiore di consumatori, ha incoraggiato le aziende agricole, nonostante gli onerosi costi di certificazione e le indubbe difficoltà tecniche di mantenere la stessa costanza produttiva.

Il metodo " bio" si realizza nella pratica attraverso la limitazione nell'uso di alcuni mezzi tecnici di produzione e di adozione di certe pratiche: non ammette l'uso di fertilizzanti minerali e prodotti fitosanitari di sintesi chimica (anche se lo zolfo è utilizzabile e oggi è ottenuto per sintesi chimica), oltre a vietare l'uso di OGM e di prodotti da loro derivanti in tutta la filiera, dalla coltivazione alla trasformazione, impedendo gli impianti e la semina di cultivar OGM; ammette l'uso esclusivo dei prodotti di origine naturale e basa l'impostazione della difesa fitosanitaria sulle misure di prevenzione e lotta indiretta alle avversità. Il crescente interesse verso l'agricoltura biologica per un numero sempre maggiore di aziende ha cambiato anche le priorità nella ricerca di nuovi principi attivi da parte dell'industria agrochimica, tanto che negli ultimi anni sono state annualmente brevettate nuove sostanze o organismi per la difesa fitosanitaria anche del biologico, in numero pari o superiore a quelle esclusive per l'agricoltura integrata.

1.4. RAME IN AGRICOLTURA: ATTUALITÀ E PROSPETTIVE

Il rame (Cu, “copper” in inglese) è un metallo pesante, appartiene al gruppo chimico dei metalli di transizione ed è un micronutriente per i vegetali. È usato da oltre un secolo per la protezione delle colture dalle malattie fungine e batteriche, con ampio spettro d’azione fungistatico e batteriostatico. È disponibile in diversi formulati commerciali sottoforma di sali (solfato, ossido, idrossido, ossicloruro, solfato tribasico) e negli ultimi anni le restrizioni imposte dalle norme comunitarie hanno spinto l’industria agrochimica a sviluppare nuovi prodotti utilizzabili a basso dosaggio e a maggiore efficacia. E’ classificato dal FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) con il codice “M01” e codice MOA “Multisito” per il suo meccanismo d’azione, nel gruppo chimico “inorganico (elettrofilo)” e risulta uno dei principi attivi con minore (se non nullo) rischio di comparsa di resistenze acquisite dai patogeni e quindi fondamentale nella gestione agronomica di questa problematica per l’agricoltura integrata, che fa uso anche di prodotti moderni ad azione monosito ad alto rischio di comparsa resistenze (FRAC, 2019). L’adozione di strategie anti-resistenza rappresenta una delle linee guida della difesa integrata elaborate dall’OILB (Organizzazione Internazionale per la Lotta Biologica), usate come “base - lines” per la redazione dei disciplinari di difesa integrata da parte dei Servizi Fitosanitari Nazionali.

In agricoltura biologica lo zolfo e il rame sono i principi attivi con più ampio spettro d’azione utilizzabili per la difesa fitosanitaria (Brunelli et al., 2011). In viticoltura il rame è usato per la prevenzione degli attacchi di peronospora e di altre patologie, ha un effetto secondario antiodidico indiretto, dato da un lieve rallentamento della crescita vegetale e da un ispessimento delle pareti cellulari dei tessuti esterni. Nell’anno 2012 è partito il progetto europeo “CO-FREE”, abbreviativo di Copper-free, che si concentra sulla possibilità di coltivare senza l’uso del rame, con il principale e ambizioso obiettivo di cercare sostanze che, oltre ad ottimizzarne l’uso, possano sostituirlo e la fondazione Edmund Mach è uno dei principali partner, che concentra le proprie attività di ricerca proprio nell’ambito viticolo, essendo uno dei settori in cui la problematica dell’accumulo di rame nei suoli è più consistente. Ciò vale soprattutto per l’agricoltura biologica, che non si avvale di principi attivi di sintesi e per la quale i formulati a base di rame rivestono ancora un ruolo centrale nella difesa dalle crittogame e per cui, come già accennato, si effettua il maggior numero di trattamenti in campo.

I Sali a base di rame sono stati inseriti tra i prodotti candidati alla sostituzione, a norma dell’Art. 24 del Reg. 1107/2009 contenente condizioni di approvazione delle sostanze attive e in riferimento al Regolamento d’esecuzione 408/2015, pubblicato in Gazzetta Ufficiale dell’Unione

Europea il 12 marzo 2015. Il rame è stato inserito in questa lista di candidati alla sostituzione (che comprende un totale di settantasette sostanze) perché soddisfa alcuni criteri previsti dalle norme, essendo una sostanza persistente e bioaccumulabile. Ciò significa che i formulati contenenti rame sono stati categorizzati come prodotti ancora commercializzabili ma che al termine del periodo di rinnovo potrebbero essere ritirati dal commercio, perché non pienamente compatibili con gli obiettivi di sostenibilità a lungo termine fissati in sede comunitaria e riassunti nel Regolamento citato 1107/2009. I candidati alla sostituzione sono sottoposti a valutazione comparativa. Nel 2018 i prodotti a base di rame sono stati rinnovati, usando il termine di rinnovo più breve, cioè sette anni, rispetto ai dieci anni imposti per altre sostanze.

Il limite di utilizzo di rame in agricoltura è stato ulteriormente abbassato, non solo per l'agricoltura biologica ma anche per quella integrata (il cui primo livello è obbligatorio per legge, come effetto del recepimento della Direttiva UE 128/2009 sull'uso sostenibile dei fitofarmaci) e fissato a 4 kg per ettaro l'anno, rispetto ai precedenti 6 kg per ettaro l'anno; tale limite cerca di ridurre l'impatto del rame in agricoltura, ma essendo una norma di carattere territoriale generalizzata non può garantire gli effetti sperati nei contesti più a rischio, con la sola riduzione.

Il problema del rame è insito nella sua natura di catione non degradabile e non fotolabile. Il rame usato per le applicazioni in campo (trattamenti fitosanitari e distribuzione di fertilizzanti complessi) giunge direttamente al suolo a seguito di fenomeni di deriva e dilavamento da piogge e si accumula nei primi cm dell'orizzonte superficiale di suolo agricolo, dove viene trattenuto in buona parte dai colloidali inorganici e organici (principalmente argille e humus) rimanendo prevalentemente insolubile. Essendo un microelemento della nutrizione delle piante può creare problemi di fitotossicità se presente in concentrazioni elevate nel complesso di scambio, predisponendo le piante stesse a una maggiore suscettibilità agli stress abiotici e biotici. Il suo effetto tossico si manifesta anche nei confronti degli organismi fungini e batterici del suolo, che ha proprio nei suoi primi centimetri la maggior parte dell'attività metabolica microbica responsabile della nutrizione delle piante, determinando perdita di biodiversità e quindi impoverimento del suolo nel lungo periodo.

L'uso di fungicidi a base di rame nei vigneti comporta un suo accumulo nel suolo e questo può potenzialmente causare riduzione dell'attività microbica e quindi della fertilità del suolo. Uno studio svolto su suoli di vigneti australiani nel 2012, ha cercato di valutare gli effetti di accumulo di rame sull'attività microbica del suolo, raccogliendo campioni di suolo superficiale da 10 vigneti e da un certo numero di siti di confronto indisturbati usati come testimone, in ognuna delle tre

diverse regioni viticole dell'Australia. Il suolo è stato mantenuto per circa 93 giorni in laboratorio a 20-22°C e al 60% della capacità idrica di campo e l'attività microbica era monitorata misurando le attività enzimatiche di fosfomonoesterasi, aril-solfatasi, ureasi e fenolossidasi. Si è riscontrato che i suoli dei vigneti che avevano maggiori concentrazioni di rame avevano anche minore attività enzimatica rispetto ai testimoni, anche se una debole correlazione negativa è stata trovata tra la concentrazione di rame e l'attività enzimatica fosfomonoesterasica, che quindi viene inibita da concentrazioni di rame crescenti. I risultati mostrano anche che le proprietà fisico-chimiche del suolo sono maggiormente determinanti l'attività enzimatica, rispetto al solo aumento di concentrazione di rame, alle concentrazioni di rame presenti nei suoli dei vigneti campionati. Ciò induce alla conclusione che le sole concentrazioni di rame aumentate non sono responsabili del decremento di attività enzimatica, piuttosto tale attività del suolo (il 90% di quelli studiati aveva concentrazioni di rame totale <115 mg/kg) sembra essere influenzata principalmente dalle proprietà fisico-chimiche, quali carbonio organico totale, pH e dimensione delle particelle del suolo. Questi risultati possono essere quindi un segnale precoce del fatto che il continuo uso di fungicidi rameici può causare danno a lungo termine al ciclo del fosforo mediato dai microrganismi nel suolo, indicato dall'attività fosfomonoesterasica (Wightwick et al., 2012).

Il ruolo dell'industria agrochimica e dei governi dei vari paesi è centrale nell'affrontare questa problematica, che è inclusa nel grande tema della sostenibilità; la sfida attuale per l'industria è di sviluppare alternative al rame economicamente sostenibili ed altrettanto efficaci nella lotta alle malattie fungine, in particolare per la viticoltura nei confronti delle principali avversità crittogamiche, tra le quali sicuramente la peronospora della vite. Per le istituzioni il compito è di formulare decisioni politiche appropriate nella futura gestione dell'uso dei fungicidi rameici, inclusa la valutazione di composti alternativi per garantire un'impostazione a minore rischio ambientale, rispetto a quella di un'ulteriore diffusione dell'uso di fungicidi a base di rame, che può compromettere la produttività stessa dei sistemi viticoli che, oltre ad un possibile impatto sulla salute umana, può avere ripercussioni drammatiche nel settore enologico e dell'uva da tavola.

2. PERONOSPORA DELLA VITE

2.1 DESCRIZIONE DEL PATOGENO: ORIGINE, SINTOMATOLOGIA E DANNI

Le peronospore sono tra le malattie crittogamiche più importanti e dannose delle colture. La peronospora della vite (in inglese “grapevine downy mildew”) è una malattia causata da *Plasmopara viticola* (Berk et Curt.), una specie originaria del Nord America e giunta in Europa attorno alla metà del 1800, segnalata per la prima volta in Francia, poi in Italia e molto rapidamente si è diffusa in tutto le zone viticole mediterranee. Si presuppone sia arrivata assieme agli esemplari di viti americane utilizzati come portainnesti, per acquisire tramite innesto la resistenza alla fillossera (*Viteus vitifoliae*) dell’apparato radicale, che ostacola il fitofago perché non gli permette di completare correttamente il suo ciclo biologico. Il patogeno appartiene al regno *Straminipila*, suddivisione *Peronosporomycotina*. Prima di tale nuova classificazione era considerato fungo della divisione Oomycota (in italiano “oomicete”), nonostante la nuova classificazione è considerato fungo in senso lato, poiché forma un micelio e ha altre caratteristiche affini.

La specie europea di vite coltivata *Vitis vinifera sativa* è stata poi molto suscettibile al patogeno, che ha rappresentato una minaccia concreta al sistema produttivo viticolo, infatti, è oggi considerata una delle principali patologie, soprattutto nei vigneti coltivati in aree a clima umido e mite, caratterizzato da elevata piovosità primaverile ed estiva e temperature non eccessivamente elevate. La diagnosi precoce e la stima della rapidità di evoluzione dell’epidemie in campo non sono facilmente attuabili e questo rappresenta un limite alla corretta gestione fitoiatrica (cosa che vale anche per altre patologie). Il sintomo classico della peronospora è la macchia gialla traslucida che si può notare sulla pagina superiore delle foglie di vite, la cosiddetta “macchia d’olio”, di forma tendenzialmente tondeggiante sulle foglie giovani, mentre su quelle più vecchie assume contorni geometrici quasi regolari a formare un mosaico delimitato dalle nervature (figura 1). In corrispondenza della macchia d’olio può verificarsi la comparsa dei segni di sporulazione del patogeno (riproduzione asessuata tramite rami sporangiofori e sporangi), che si mostrano come efflorescenza muffosa biancastra, se ci sono le opportune condizioni microclimatiche; in rari casi tali segni compaiono sulla pagina superiore e in tal caso in modo rado. La macchia d’olio tende a necrotizzare con il tempo e quindi a sottrarre superficie fogliare figura sintetizzante e in casi gravi può portare a forte defogliazione della chioma, con danni alla produzione dell’anno, determinando una scarsa capacità di lignificazione con conseguenti ripercussioni sulla capacità produttiva dell’anno successivo.

Non è frequente vedere i sintomi e i segni delle infezioni sui giovani germogli, che si possono manifestare in immediata vicinanza dei nodi e mai sull'intera circonferenza del germoglio; possono generare deformazioni del tralcio per diversa crescita delle parti sane e infette. L'evasione del patogeno avviene attraverso le aperture stomatiche, per sporulazione tramite liberazione di zoospore, che vengono trasportate dal vento e soprattutto dall'acqua di precipitazione.

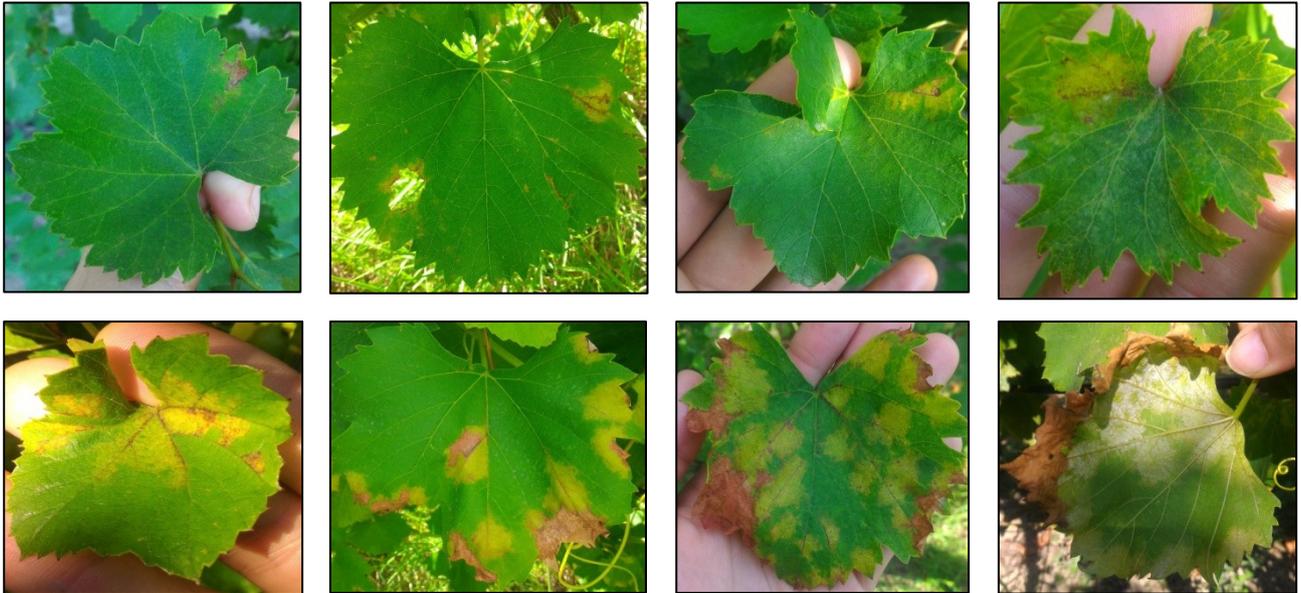


Figura 1. Sintomi di peronospora su foglia, di diversa entità. A destra in basso, una pagina inferiore di una foglia adulta con i segni della sporulazione del patogeno.

Molto più problematici e frequenti sono i danni sui grappoli. I momenti che vanno dalla fase di formazione dell'infiorescenza a quella di accrescimento erbaceo delle bacche, fino alla fase di prechiusura del grappolo, rappresentano le fasi fenologiche di maggiore suscettibilità della produzione dell'anno. Sulle giovani infiorescenze in formazione il viraggio di colore poco pronunciato è un sintomo precoce di un'infezione peronosporica e che poi determina una curvatura, fino a generare la tipica forma "ad S" dovuta all'arresto della crescita dei tessuti infetti e in condizioni opportune la sporificazione del patogeno può interessare tutta l'infiorescenza. Attacchi precoci possono determinare il disseccamento totale del grappolo, che può significare la perdita totale della produzione. Attacchi tardivi determinano in post-allegagione la comparsa della cosiddetta peronospora "larvata" (figura 2), che si mostra con un viraggio degli acini prima verso il rosso scuro, poi rapidamente passa al bruno-violaceo e raggrinzisce, cioè dissecca per la simultanea perdita di acqua per evapotraspirazione e mancato rifornimento da parte della pianta

stessa; sulla forma larvata non si manifesta la sporulazione, poiché si occludono gli stomi e si crea una barriera all'evasione.



Figura 2. Sintomi di peronospora larvata su grappolo. Da sinistra: disseccamento completo, inizio disseccamento, disseccamento apicale, parziale disseccamento del grappolo.

L'agente eziologico della peronospora della vite è un parassita obbligato, che stabilisce un rapporto trofico con l'ospite, senza determinarne la morte, poiché nutrendosi dei composti organici cellulari tramite austori sviluppati dal micelio intercellulare, necessita di mantenere vitale la pianta. Il micelio asettato del patogeno si localizza principalmente nel tessuto lacunoso fogliare, raramente nel tessuto a palizzata. Le zoospore per la riproduzione asessuata sono biflagellate, con un flagello a frusta e l'altro a piuma che permettono loro di spostarsi attraverso un velo liquido d'acqua. Il processo infettivo delle zoospore inizia quando queste raggiungono la prossimità dell'apertura stomatica e poi s'incistano, formano una parete cellulare e producono un tubo germinativo per penetrare nei tessuti interni e colonizzare l'ospite. La riproduzione sessuata avviene tramite la formazione dell'oospora, derivante dal passaggio nell'oogonio (organo femminile) dei nuclei degli anteridi differenziati (organi maschili). L'oospora deve poi subire un processo di maturazione, che inizia presumibilmente ad agosto, verso la fine dell'estate, cioè quando il patogeno avverte la senescenza fogliare dovuta all'età delle singole foglie e termina durante l'inverno per essere pronta a germinare e dalla sua germinazione si differenzia un macrosporangio al cui interno si differenziano le zoospore.

Plasmopara viticola è un patogeno policiclico (Belli, 2012) che può cioè dare luogo a più cicli d'infezione durante un'unica stagione vegetativa dell'ospite, il cui numero dipende da numerosi fattori, principalmente il verificarsi di condizioni climatiche favorevoli alla realizzazione delle varie fasi del processo infettivo (infezione, colonizzazione, produzione e dispersione di

inoculo neoformato) e il grado di sensibilità della cultivar, che può avere una forte dipendenza dalla genetica varietale, ma anche dalla concomitanza tra una particolare fase fenologica e la precocità delle infezioni primarie, oltre alla pressione di malattia dovuta alla consistenza iniziale dell'inoculo e al suo grado di maturazione. Si ritiene che la comparsa dei sintomi avvenga dopo una serie di infezioni primarie, dovute ai diversi tempi di maturazione delle oospore e quindi di liberazione delle zoospore, cui seguono una serie di infezioni secondarie.

2.2. MEZZI ANTIPERONOSPORICI IN AGRICOLTURA BIOLOGICA E PROSPETTIVE FUTURE

La difesa fitosanitaria nei confronti di questo patogeno, data la suscettibilità della specie coltivata, non può prescindere da una corretta impostazione dei sistemi di allevamento e di gestione agronomica, oltre ai trattamenti in campo con prodotti fitosanitari che rappresentano ancora oggi un mezzo fondamentale per garantire le produzioni viticole. Le pratiche agronomiche risultano poco efficaci da sole per contrastare le epidemie in campo, ma contribuiscono al contenimento dei danni e possono predisporre i vigneti alla corretta esecuzione dei trattamenti fitoiatrici. La gestione agronomica può prevedere: la scelta dell'ambiente di coltivazione più idoneo, evitando i fondovalle e i suoli soggetti a ristagno idrico; il corretto sesto d'impianto e quindi le densità di investimento, il portainnesto più idoneo e la corretta potatura nelle varie forme di allevamento; l'arieggiamento della chioma tramite defogliazione che può impedire o ridurre il tempo di bagnatura e di accumulo di umidità (umettamento) nel microambiente della fascia produttiva; non eccedere con le concimazioni azotate ed evitare le irrigazioni per aspersione soprachioma, che contribuiscono a disperdere i propaguli e stimolare la germinazione delle spore.

Per quanto riguarda l'uso del mezzo chimico, l'agricoltura integrata può servirsi di una serie molto ampia di composti chimici a meccanismo d'azione più o meno specifico (selettività e specificità), a vario grado di copertura e sistemicità (comportamento sulla pianta), con differenze tra il primo livello di agricoltura integrata che è obbligatorio per legge in tutto il territorio comunitario e il secondo livello volontario, che fa riferimento ai Disciplinari di Produzione Integrata redatti dai Servizi Fitosanitari Regionali e che possono avere indicazioni d'uso più restrittive rispetto a quelle che si ritrovano nelle etichette dei prodotti (che sono legge).

La strategia maggiormente adottata oggi per la decisione dei programmi di trattamento fa riferimento alla cosiddetta "regola dei tre 10", che è il modello secondo cui, quando si verificano certe condizioni in campo, si considera iniziato il processo infettivo dell'infezione primaria e si può effettuare il primo trattamento. Queste condizioni sono: 10 cm di lunghezza media dei germogli, almeno 10°C di temperatura media dell'aria e 10 mm di pioggia caduti nelle 24-48 ore.

In merito alla viticoltura biologica, i prodotti a base di rame sono i principali antiperonosporici ammessi e utilizzati per contrastare questa e altre patologie. L'approccio cautelativo - preventivo che caratterizza l'agricoltura biologica rende molto frequente il ricorso alla regola dei tre dieci per eseguire il primo trattamento fitosanitario e poi a ripetere i trattamenti di copertura a cadenza temporale di 10-15 giorni (a calendario), o comunque in linea alla persistenza dei prodotti e alle previsioni sulle precipitazioni, che possono permettere una

correzione in itinere del “timing” delle applicazioni. Come già accennato, le istanze restrittive poste dai legislatori sull’uso di rame, ora candidato alla sostituzione, hanno messo in allarme tutto il comparto fitoiatrico, ma hanno soprattutto preoccupato i viticoltori biologici, che potrebbero vedere eliminato dal mercato fra pochi anni, il principale mezzo di contenimento delle malattie fungine, in particolare per la peronospora.

Negli ultimi anni la messa a punto di modelli previsionali per la stima del rischio infettivo, basati sulla correlazione tra dati climatici contingenti e la fase epidemiologica iniziale (infezione, cioè liberazione delle zoospore e contatto con la pianta) ha facilitato l’ottimizzazione delle strategie di difesa, perché tenta di definire i momenti critici per il vigneto. Se si avesse la disponibilità di raccogliere dati meteo si potrebbe riuscire con una certa precisione a riconoscere le piogge che, tra le altre, determinano più facilmente l’infezione primaria; tuttavia con il progredire della stagione l’epidemiologia policiclica del patogeno rende meno lineari le stime del modello e la difesa fitoiatrica si complica (evidenziando cioè un limite del modello). Per migliorare la strategia di difesa in futuro è importante alla fine di ogni anno registrare e analizzare l’andamento meteorologico appena passato, la strategia fitoiatrica adottata e quantificare l’eventuale presenza di malattia in campo (Gessler et al., 2011).

Rimane fondamentale il principio d’integrazione di tutti i mezzi di difesa disponibili. Le difficoltà nel controllo di questa patologia, una volta innescato il processo infettivo e dato l’esiguo numero di mezzi di contenimento efficaci adottabili, abbassano le soglie di tolleranza e di conseguenza quelle d’intervento, soprattutto in agricoltura biologica.

Oggi sono disponibili altre soluzioni, quali induttori di resistenza come il chitosano o altri prodotti di origine naturale o microrganismi (laminaria, estratto di lievito, oli essenziali, funghi micorrizici e antagonisti, ecc.), che possono offrire un buon livello protettivo e di potenziamento delle autodifese delle piante, se correttamente integrati agli altri mezzi di difesa.

2.3. VITIGNI RESISTENTI

Una ulteriore soluzione può essere il ricorso alle resistenze genetiche, tramite impianto di vitigni resistenti. Sono note da tempo selezioni di cultivar di vite americana resistente a peronospora e derivante da incroci e selezione, anche con genotipi di vite europea (Pee-Laby, 1926). Il primo ibrido americano "Alexander", scoperto intorno al 1740, fu il probabile prodotto di accidentale impollinazione incrociata tra una vite locale e quelle importate, che raramente sopravvivevano più di un anno, ma in alcuni casi sono sopravvissute abbastanza a lungo da riprodursi con le viti autoctone. Sulla costa orientale degli Stati Uniti è stata selezionata la cultivar "Concord" nel 1849 da Ephraim Wales Bull, da semi della specie *Vitis labrusca* (nota anche come "uva volpina"). I primi ibridi americani furono "Clinton" (*Vitis labrusca* × *Vitis riparia*) e "Isabella". Sono state importate grandi quantità di viti "Isabella" in Europa all'inizio del 1800 e si presume che la fillossera fu introdotta inconsapevolmente in Europa dalle radici di "Isabella", poiché resistente alla fillossera. Seguirono molti altri ibridi e grazie alle conoscenze crescenti sul tema della genetica, in particolare i nuovi strumenti di analisi molecolare (PCR in particolare) è iniziato lo sviluppo di vitigni resistenti.

I Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR) hanno registrato 18 nuovi vitigni tra il 2015 e il 2016, che sono i cosiddetti "vitigni resistenti" a peronospora e oidio; non sono OGM, come in molti erroneamente credono, ma sono stati ottenuti dopo aver effettuato un programma di miglioramento genetico classico, durato diversi anni. Non tutte le cultivar sono resistenti a entrambe le patologie e non tutte lo sono allo stesso modo. Sono vitigni sviluppati a partire da diversi genotipi di *Vitis vinifera*, ma anche di altre specie, che presentavano spiccate caratteristiche di resistenza alle suddette patologie e che sono state incrociate con alcune tra le cv più diffuse (come Sauvignon, Merlot, Cabernet, ecc.) e successivamente reincrociate, con l'obiettivo di raggiungere l'ideotipo agronomico-enologico tipico della cv di partenza, ma con i "pacchetti" di geni che sono responsabili delle resistenze (<http://www.vivairauscedo.com/pdf/quaderni/Quaderno18-IVEd-It-Uk.pdf>). Eugenio Sartori, direttore generale di Vivai Cooperativi Rauscedo (VCR) ha rilasciato un'intervista per *AgroNotizie – Image Line* il giorno 4 maggio 2016, nella quale ha cercato di fare una sintesi del lavoro svolto per la registrazione dei nuovi vitigni VCR, affermando che *"un vitigno resistente è un vitigno ottenuto attraverso ibridazione. Si incrocia una varietà di V. vinifera, come può essere il Sangiovese o il Cabernet, con un vitigno che è nato a sua volta da ibridazione e che ha nel suo DNA dei geni che sono interessanti per l'agricoltore"*.

Attualmente, solo le Regioni Veneto e Friuli-Venezia Giulia hanno autorizzato la loro coltivazione in sperimentazione. L'interesse nei confronti di questi vitigni è crescente, perché oltre ad una riduzione dei costi sostenuti per compiere le applicazioni di prodotti in campo, sia in termini di input, sia in termini di uso delle macchine, in ottica di minore impatto ambientale, è noto che lo sfruttamento e il potenziamento delle resistenze naturali delle piante è uno dei mezzi agronomici solitamente più efficaci nel controllo delle patologie. È però necessaria una corretta gestione della difesa fitoiatrica, poiché le principali preoccupazioni che degli addetti ai lavori, sull'adozione di tali cv per i nuovi impianti viticoli, riguardano: il possibile superamento delle resistenze, anche per differenze esistenti tra le popolazioni di peronospora nei vari ambienti e quindi la possibile pressione selettiva in favore della comparsa di patogeni nuovamente virulenti con capacità infettiva; il nuovo equilibrio agro-ecologico potrebbe vedere favorite patologie minori, che alla presenza di peronospora e oidio e con l'uso degli attuali mezzi di controllo sono normalmente molto meno rilevanti. Per questo è suggerito fare trattamenti preventivi con prodotti ad ampio spettro, come il rame, per minimizzare tale rischio, in caso d'impianto con cv resistenti. Inoltre, la mancanza di prove (in campo e in cantina) diffuse nelle varie regioni d'Italia non dà certezze in merito alle potenzialità enologiche a garanzia delle tipicità territoriali.

Il miglioramento genetico verso l'ideotipo di cv a resistenze multiple, anche nei confronti di nuovi patogeni emergenti, è già in corso. La stabilità delle resistenze sviluppate con il miglioramento genetico è di fondamentale importanza e va ben conosciuta la sua base genetica, aspetto sempre più possibile grazie alle mappe di associazione genica, al sequenziamento del genoma della vite (Di Gaspero et al., 2007; Velasco et al., 2007; Doddapaneni et al., 2008; Moroldo et al., 2008; Moreira et al., 2011) e l'identificazione dei QTL e singoli geni associati alla resistenza alle malattie (Di Gaspero et al., 2009).

3. CHITOSANO

3.1. DESCRIZIONE: EFFICACIA E MECCANISMI D'AZIONE

Negli ultimi anni la comunità scientifica ha rivolto l'attenzione alla ricerca di prodotti alternativi al rame nella difesa antiperonosporica, che possano essere ugualmente efficaci e altrettanto economici, oltre che compatibili con le nuove esigenze in ottica di sostenibilità (economica, ambientale e della salute umana), soprattutto per l'agricoltura biologica. Una serie di sperimentazioni ha mostrato come il chitosano, alla giusta dose d'impiego, possa essere una delle più efficaci alternative al rame, nel controllo della peronospora della vite e di altre patologie, tenuto conto degli effetti che ha nei confronti dell'equilibrio vegeto-produttivo delle colture e quindi anche considerandone le ripercussioni sui parametri di qualità dei raccolti (Romanazzi G., Ed. PETRIA, Giornale di patologia delle piante, Vol. 19, Suppl. 1, 2009, ISSN1120-7698. Atti del workshop *“resistenza indotta per il controllo di malattie delle piante: efficacia e meccanismo d'azione di uno strumento sostenibile”*).

Il chitosano è un biopolimero di origine naturale ottenuto dalla deacetilazione della chitina derivante dall'esoscheletro dei crostacei, sottoprodotto dell'industria ittica, ampiamente utilizzato in medicina umana, trova impiego in molti settori, l'ultimo dei quali in ordine temporale è la difesa dalle fitopatie in agricoltura. Il chitosano mostra triplice attività: elicitoria (induttore di resistenza), antimicrobica e filmogena. La sua caratteristica d'induttore di resistenza è nota da tempo, studiata dagli anni '90 inizialmente con il monitoraggio dell'attività enzimatica legata ai meccanismi di autodifesa delle piante, come chitinasi, β -1,3 glucanasi, fenilalanina ammonio-liasi e altri, in diverse specie vegetali e sui loro frutti. Gli studi sono proseguiti tramite indagini con PCR-real time quantitativa e più di recente con sequenziamento di RNA (Romanazzi et al., 2018).

L'attività antimicrobica del chitosano nei confronti di un ampio spettro di fitopatogeni è stata confermata attraverso vari studi in vivo ed in vitro; una volta applicato alla superficie delle piante, per immersione o irrorazione, il chitosano forma un rivestimento commestibile, le cui proprietà (spessore, viscosità, permeabilità ai gas e all'acqua) dipendono fortemente dall'acido in cui è disciolto. Sulla base dei dati in letteratura, si considera complessivamente che l'elicitazione rappresenti circa il 30-40% dell'attività del chitosano, l'attività antimicrobica il 35-45% e la sua attività filmogena un 20-30%, in termini di efficacia nel controllo del decadimento postraccolta della frutta fresca (Romanazzi et al., 2018). Oltre ad essere impiegato da solo, il chitosano può essere applicato assieme a numerose alternative ai fungicidi di sintesi, per potenziare la sua elicitazione, le proprietà antimicrobiche e filmogeniche, con interazioni additive e a volte

sinergiche (Romanazzi et al., 2018). La concentrazione minima di chitosano che può inibire la crescita di funghi e oomiceti varia tra 10 e 5000 ppm e la massima attività antifungina è spesso osservata a valori di pH prossimi al pKa del composto (pH = 6.0). Applicato alla concentrazione di 1 mg/mL è in grado di ridurre la crescita in vitro di numerosi funghi ed oomiceti, ad eccezione di quelli che possiedono chitosano nelle proprie strutture cellulari, ad esempio gli Zygomyceti e i funghi che mostrano attività chitosanolitica extracellulare, come i funghi nematopatogeni ed entomopatogeni.

3.2. CHITOSANO E INDUZIONE DI RESISTENZA

Il Regolamento UE 1107/2009 relativo all'immissione in commercio di nuovi prodotti fitosanitari introduce due nuove categorie di classificazione per i principi attivi, che sono le "sostanze a basso impatto" e le "sostanze di base": le sostanze a basso impatto sono quelle che godono di agevolazioni regolatorie per l'autorizzazione all'uso, date dal loro ottimo profilo tossicologico ed ecotossicologico, anche non mostrando efficacia fitoiatrica; mentre le sostanze di base sono derrate o additivi alimentari, che per definizione sono sicure per la salute umana, ma sono ammissibili all'uso purché mostrino una minima efficacia fitoiatrica.

Il chitosano cloridrato rientra proprio nella categoria delle sostanze di base, delle quali è stata la prima a essere autorizzata all'uso in agricoltura, con l'emanazione del Regolamento d'esecuzione 563/2014; era già registrato come fertilizzante ma non come prodotto fitosanitario.

Negli ultimi anni si sono svolti diversi studi rivolti alla possibile efficacia di questo prodotto per il controllo di diverse fitopatologie e a oggi sono attivi una serie di progetti e approfondimenti sulla sua applicabilità pratica, come induttore di resistenza e come mezzo alternativo e integrabile a quelli già disponibili, in vista di un'ulteriore riduzione nell'uso di rame o di una sua eventuale revoca; oltre al suo possibile uso per il miglioramento della conservabilità postraccolta ("shelf life") dei prodotti ortofrutticoli. Il focus di queste valutazioni è soprattutto quello di fornire un valido mezzo sostenibile di difesa, con particolare riguardo alla funzione elicitoria e antifungina (biocida) che si attribuisce al chitosano in particolari binomi pianta-patogeno, oltre alla sua capacità di generare film antitraspirante (effetto "coating"). I vari settori coinvolti riguardano una serie d'importanti colture, alcune delle quali sono: vite, graminacee, solanacee (pomodoro, patata), tabacco, kiwi, fragola, pomacee (melo, pero), drupacee (ciliegio), fagiolo, ecc.

In merito all'induzione di resistenza: oltre alle resistenze di tipo locale attuate dalle piante come risposta al riconoscimento di altri organismi con i quali vengono a contatto, esse sono capaci di generare risposte di tipo sistemico, a seguito di attacchi patogeni; è una sorta di sistema immunitario basato sulla comunicazione intercellulare e sulla seguente generazione di meccanismi di risposta fini, più o meno specifici. Tali resistenze di tipo sistemico possono essere indotte anche artificialmente tramite l'esecuzione di trattamenti, sulle colture in campo e sulle derrate in postraccolta, oltre che dall'attuazione di certe pratiche agronomiche. L'induzione di resistenza è un fenomeno conosciuto da circa un secolo, ma gli studi su quest'aspetto sono piuttosto recenti (ultimi 30 anni circa) e si ritiene che possa rappresentare un contributo importante nella protezione integrata delle colture dalle fitopatie (abiotiche e biotiche), soprattutto quelle

parassitarie crittogamiche dovute a funghi e oomiceti, che sono sicuramente quelle più impattanti su tutte le colture e che comportano danni qualitativi e quantitativi alle produzioni in tutte le annate, oltre ad essere, come visto in precedenza, il principale motivo di esecuzione dei trattamenti fitosanitari in Italia, sia in pieno campo che in coltura protetta.

Sono note almeno tre forme di resistenza indotta di tipo sistemico: la resistenza sistemica acquisita (SAR = “Systemic Acquired Resistance”), la resistenza sistemica indotta (ISR, “induced systemic resistance”) e la resistenza indotta dall’acido β -ammino butirrico (BABA-IR, “ β -ammino-butirric acid induced resistance”) distinte sulla base degli agenti biotici/abiotici che la inducono, quindi sui mediatori chimici coinvolti nel metabolismo e il tipo di risposta generata dalla pianta. La SAR può essere indotta da agenti biotici/abiotici in tutte le parti della pianta (dalle radici e dalla chioma) e coinvolge l’acido salicilico e l’espressione dei geni per le proteine legate alla patogenesi (le cosiddette PR). L’ISR è indotta invece da soli agenti biotici nella rizosfera ed è associata all’etilene e all’acido jasmonico.

Tutte le resistenze indotte sono transienti, poiché perdurano per un periodo di tempo limitato e possono essere efficaci nei confronti di un ampio range di organismi: funghi, oomiceti, batteri, in certi casi anche virus, fitoplasmi e stress abiotici. Mediante indagini genetiche e molecolari è stato possibile chiarire molti aspetti sulle vie di trasduzione del segnale che conducono all’espressione della resistenza indotta, soprattutto nella pianta modello *Arabidopsis thaliana*, oltre a ipotizzare i meccanismi responsabili della resistenza.

I risultati di tali ricerche hanno condotto tra l’altro alla scoperta di diversi induttori chimici di SAR (Schreiber e Desveaux, 2008), tra i quali l’acibenzolar-S-metile (o benzothiadiazolo – BTH), che è un analogo funzionale dell’acido salicilico, il più efficace tra questi nella difesa delle malattie delle piante (Scarponi et al., 2001; Buonauro et al., 2002; Iriti e Faoro, 2003; Leadbeater e Staub, 2007; Faoro et al., 2008). Alcuni principi attivi di nuova generazione, siano essi di origine naturale o sintetica, ma anche microrganismi, possono quindi essere in grado di indurre dei meccanismi di autodifesa delle piante (Herms et al., 2002). Si riportano alcuni esempi:

- Due analoghi funzionali dell’acido salicilico: l’acido isonicotinico (INA) e il benzothiadiazolo (BTH o acibenzolar-S-methyl), che sono induttori di SAR in numerose combinazioni pianta-patogeno. Il BTH (BION, Syngenta) è autorizzato all’uso in Italia su alcune colture come pomodoro, melo e nocciolo e presenta un ampio spettro d’azione;
- Alcuni composti inorganici come sali di fosforo e silicio e organici come zuccheri e vitamine (riboflavina);

- L'acido β -ammino butirrico (BABA), efficace contro numerosi patogeni, come diversi agenti causali di peronospora, mostra qualche effetto curativo (Silué et al., 2002);
- Il chitosano, ampiamente sperimentato nella protezione da diverse malattie fungine (approfondimento in seguito);
- Alcuni acidi polinsaturi come l'acido arachidonico, che in pomodoro e patata induce resistenza a *Phytophthora infestans* (Cohen et al., 1991), agente causale della peronospora di queste orticole;
- Le arpine, proteine di origine batterica con accertata attività fungicida;
- Composti di origine vegetale come oligogalatturonidi e cellodestrine che inducono resistenza a *Botrytis cinerea* su vite e oligosaccarine che migliorano la resistenza inducendo nelle piante la sintesi di fitoalessine;
- Una nuova molecola, il 3-acetonyl-3-hydroxyoxindole, estratta da una pianta ornamentale, che su tabacco induce resistenza a *Erysiphe cichoracearum* (Li et al., 2008) che è un agente causale di oidio;
- La laminarina, glucano derivato da alghe brune, da tempo commercializzato in Francia (Iodus 40, Stähler Suisse SA), per il contenimento dell'oidio su graminacee, è nota per attivare anche le difese della vite da *B. cinerea* e *Plasmopara viticola* (Aziz et al., 2003);
- Probenazole, un fungicida da tempo impiegato per la protezione del riso da patogeni fungini, tra cui *Magnaporthe grisea*, mostra solo una debole attività antifungina ed è ad oggi più propriamente considerato un induttore di resistenza;
- Tra gli induttori di resistenza di natura biotica sono di particolare interesse alcuni rizobatteri promotori della crescita delle piante "PGPR" (Van Loon et al., 1998).

Nonostante l'interesse crescente della comunità scientifica nei confronti di questo tema dell'induzione di resistenza, sono ancora molti gli aspetti che restano da chiarire, soprattutto sui meccanismi di mediazione del segnale e di fine produzione della risposta del metabolismo della pianta. La ricerca di base, attraverso genomica, trascrittomica, proteomica e metabolomica, dovrà cercare di stabilire e codificare la natura dei segnali di lunga distanza che assicurano le proprietà sistemiche della resistenza e fornire ulteriori informazioni sulle complesse intercomunicazioni esistenti tra le vie metaboliche della SAR e della ISR (Pieterse e Van Loon, 2007). Ciò darebbe anche la possibilità di sfruttare entrambe le resistenze nei confronti di un numero sempre maggiore di agenti eziologici; il ruolo della ricerca applicativa è poi quello di valutare gli effetti dei fattori climatici e delle diverse pratiche colturali sull'espressione della resistenza in campo.

Per identificare nuove molecole e organismi utili nel potenziare le autodifese delle piante nei confronti delle patologie e organizzare al meglio il loro impiego dal punto di vista tecnico-operativo, è necessario un continuo supporto per la ricerca e la sperimentazione, a cui dovrebbe seguire un'adeguata opera di divulgazione delle conoscenze acquisite, agli agricoltori. Van Hulst et al. (2006) afferma che l'attivazione dei meccanismi di difesa da parte della pianta implica un costo metabolico, cioè un re-indirizzamento di energia e metaboliti verso il metabolismo secondario che può essere a detrimento del vigore vegetativo e della produttività. Il costo metabolico è plausibilmente meno marcato quando la pianta è solo preparata ("primed") a una più forte e pronta reazione di difesa all'attacco del patogeno (Gozzo e Faoro, 2013). L'attività antimicrobica diretta del chitosano può ridurre tale costo metabolico e mantenere buoni livelli produttivi e di vigore.

Sono da valutare con attenzione le eventuali implicazioni tossicologiche nell'applicazione di alcuni induttori di resistenza, per uomo e animali, che possono sussistere anche a causa dell'accumulo di metaboliti secondari nelle piante indotte (Daniel et al., 1999). Questa problematica non interessa il chitosano, poiché è innocuo, aspetto che ne incoraggerebbe l'uso a fronte di alternative meno sicure o meno studiate. Alcuni ostacoli, che ne limitano l'impiego pratico e la diffusione, sono tuttavia riconducibili ad un'efficacia solo parziale, soprattutto se impiegati da soli e sovente inferiore rispetto ai fungicidi tradizionali, oltre ad un'incostanza dei risultati e ad un'azione esclusivamente preventiva. Le piante in natura sono già esposte alle interazioni biotiche e abiotiche, quindi l'attività elicitoria degli induttori di resistenza può essere minore di quella osservata in condizioni controllate sperimentali (Walters et al., 2013).

Un aspetto da non sottovalutare è quello economico, in merito al costo sostenuto dagli agricoltori per la difesa fitosanitaria: per l'utilizzazione pratica l'offerta di induttori di resistenza e delle singole quantità sul mercato deve essere elevata e a bassi costi d'acquisto (prezzo di vendita), cosa che non è sempre vera per tutti i composti prima citati, compreso il chitosano.

Nella più moderna visione a lungo termine della sostenibilità nel suo complesso (ambientale, economica e sulla salute umana, ivi compresa la salute dei consumatori e degli operatori), gli induttori di resistenza possono essere un approccio alternativo e promettente nella gestione integrata delle avversità colturali di oggi e di domani, per l'agricoltura integrata e biologica, nonostante le attuali incertezze.

Possono proteggere da patogeni fungini, ma anche batterici e in qualche caso hanno mostrato una minima efficacia nella riduzione di problematiche che si riferiscono ai patogeni per i

quali non si hanno mezzi diretti di lotta, come virus, viroidi e fitoplasmi. Gli induttori di resistenza, come il chitosano, possono essere di particolare ausilio nel caso di patogeni a elevato rischio di acquisizione di resistenza dovuto all'uso reiterato di fungicidi moderni di sintesi (nel caso dell'agricoltura integrata) e che possono superare le barriere dovute a genotipi di piante resistenti (ad esempio verso i nuovi vitigni VCR resistenti).

3.3. USI IN AGRICOLTURA: DALLA SPERIMENTAZIONE ALL'IMPIEGO IN CAMPO

Uno studio recente (Romanazzi et al., 2016) ha riguardato una sperimentazione di due anni per valutare l'attività antiperonosporica di alcuni composti alternativi al rame ed evidenziare i loro effetti sulla crescita dei germogli, sulla fotosintesi delle piante e sulla qualità e quantità di uva prodotta. Le tesi erano trattate con poltiglia bordolese, idrossido di rame, laminarina combinata con rame, laminarina combinata con estratti di lievito, chitosano allo 0,5% e allo 0,8%.

In caso di bassa pressione della malattia il chitosano ha avuto l'incidenza di peronospora più bassa, ridotta sulle foglie del 56% e 81% rispettivamente, rispetto al testimone non trattato. Questo risultato evidenzia la notevole importanza della dose di impiego del chitosano. Con alta pressione della malattia, sono state le tesi trattate con poltiglia bordolese, laminarina combinata con estratti di lievito del genere *Saccharomyces* e chitosano allo 0,5% e 0,8% ad avere avuto l'incidenza di peronospora più bassa, ridotta sull'uva dell'86, 37, 66 e 75% rispettivamente, rispetto al controllo non trattato, nel rilievo di metà luglio. Il chitosano allo 0,8% ha ridotto la fotosintesi netta (a causa della ridotta conduttanza stomatica), area fogliare e peso secco, senza effetti negativi osservati sulla quantità delle bacche e sui parametri di qualità dei mosti.

Tra le alternative di origine naturale testate, il chitosano ha fornito la migliore protezione antiperonosporica e ridotto la vigoria della vegetazione, inducendo cambiamenti fisiologici, senza effetti negativi sulla produzione di uva. La maggiore concentrazione di chitosano (0,8%) è stata più efficace dell'idrossido di rame nell'annata con maggiore pressione di malattia. Le valutazioni su peronospora dell'anno con bassa pressione di malattia hanno confermato inoltre che: il livello di rame usato per il controllo delle infezioni può essere ridotto, quando la stagione meteorologica non sembra favorevole, come già dimostrato in prove con trattamenti a basse dosi di rame e con microrganismi, che possono essere efficaci contro la peronospora (Puopolo et al., 2014).

Ulteriori risultati dello studio del 2016 confermano che gli effetti dei trattamenti con chitosano portano a una riduzione di fotosintesi, conduttanza stomatica, area fogliare e peso delle foglie e legno di potatura (Romanazzi et al., 2016). Questi effetti collaterali del chitosano possono essere rischiosi per l'ottenimento di certi obiettivi qualitativi delle uve, ma possono essere favorevoli per alcune situazioni della moderna viticoltura, che spesso cercano tecniche per ridurre l'eccesso di vigoria delle piante (Chaves et al., 2007). L'obiettivo è sempre quello di garantire un equilibrio vegeto-produttivo adeguato al raggiungimento della qualità agronomico - enologica attesa per il vitigno.

Eccedendo la dose d'impiego di chitosano si potrebbe incorrere nell'effetto opposto a quello desiderato, cioè riducendo troppo la fotosintesi si rischia di compromettere la capacità produttiva. Il chitosano può essere considerato un prodotto alternativo soprattutto in agricoltura biologica, che non ha a disposizione d'uso altri mezzi ugualmente efficaci, oltre al rame. Per limitare le infezioni peronosporiche e ridurre l'uso di rame, si può ricorrere al chitosano (o altri prodotti variamente combinati) nelle annate con bassa pressione di malattia. Tutto ciò evidenzia la necessità di ulteriori approfondimenti su larga scala in pieno campo, per verificare l'efficacia di questo ed altri prodotti e per individuare le strategie d'intervento più adeguate, oltre a definire meglio gli effetti che possono avere sulla qualità dei vini (Romanazzi et al., 2016). Altri studi hanno dimostrato che l'applicazione fogliare di chitosano su vite può ridurre significativamente le infezioni causate da *Plasmopara viticola* (Aziz et al. 2006; Maia et al. 2012). L'efficacia del chitosano per la riduzione dell'incidenza di malattie di diverse specie di piante è stata segnalata anche quando applicato in serra, sia per via fogliare sia nel trattamento dei semi, ad esempio: nei confronti di *Pseudoperonospora cubensis* su cetriolo (Farouk et al. 2008), *Sclerospora graminicola* su miglio perlato (Sharathchandra et al. 2004; Manjunatha et al. 2008), e *Plasmopara halstedii* su girasole (Nandeeshkumar et al. 2008), grazie ad una migliore espressione dei geni correlati alla produzione di proteine legate alla patogenesi. Riduzioni significative delle lesioni causate da *B. cinerea* e *P. expansum* sono state riportate da Wu et al. (2005) su mele, e da El Ghaouth et al. (1997), Agrawal et al. (2002) e Ben-Shalom et al. (2003) su diverse specie orticole; nel trattamento di semi, foglie, frutta e verdura riduce la perdita di peso durante lo stoccaggio e ne previene la senescenza (Devlieghere et al., 2004). L'impiego in aggiunta a fertilizzanti per controllarne il rilascio è stato sperimentato da Sukwattanasinitt et al. (2001). Un aumento nella resa di alcune colture è stato evidenziato da Wanichpongpan et al. (2001), Chandkrachang (2002) e Nwe et al. (2004). Inoltre, sono stati accertati effetti stimolanti sulla crescita delle piante (Bautista-Banos et al., 2003), sulla differenziazione e sulla crescita delle radici di varie piante (Chibu e Shibayama, 2001; Lay Nge et al., 2006).

Diversi derivati del chitosano ottenibili per sintesi chimica, hanno mostrato una certa efficacia come insetticidi, se ingeriti dalle larve di alcuni fitofagi. Hadwiger et al. (1994) considerava in generale il chitosano come derivato deacetilato della chitina e chimicamente definibile come poliammidi, atossiche per l'uomo, con un numero variabile di gruppi amminici che ne caratterizzano l'attività biologica e i parametri che ne influenzano la bioattività sono: il peso molecolare, la viscosità e il grado di deacetilazione degli oligomeri/polimeri. È un elicitore, poiché

caratterizzato da “PAMPs”, acronimo di “Pathogen Associated Molecular Patterns”, ovvero “sequenze molecolari associate a patogeni”, che simulano la presenza di un organismo patogeno e così attivano meccanismi di difesa della pianta, contro numerose malattie, come quelle crittogamiche e, come affermano Iriti e Faoro (2009), anche contro le virosi. La sua attività si realizza tramite: scoppio ossidativo, reazione di ipersensibilità (HR), sintesi e apposizione di callosio, sintesi di fitoalessine e proteine legate alla patogenesi (Conrath et al., 1989; Agrawal et al., 2002; Iriti et al., 2006).

È stato recentemente dimostrato che i trattamenti con chitosano aumentano di tre volte il contenuto di acido abscissico (ABA) nelle foglie di fagiolo e tale aumento media sia la sintesi di callosio, coinvolta nella resistenza ai virus (Iriti e Faoro, 2008), che la parziale chiusura stomatica, attribuendogli anche attività antitrspirante (Iriti et al., 2009b). Le caratteristiche di efficacia del chitosano sembra interessanti, ma ci sono alcune limitazioni, ad esempio la loro attività specie-specifica, che obbligherebbe lo studio sull'applicazione di ogni chitosano diverso su tutte le colture, alla ricerca della giusta concentrazione (Iriti et al., 2009c). Una potenziale limitazione è che il chitosano è solubile in soluzioni debolmente acide. Oggi sono disponibili formulati solubili in acqua, tuttavia il processo chimico per ottenerli può alterarne l'efficacia da induttori di resistenza. Ad ogni modo, un formulato commerciale solubile in acqua ha confermato una efficacia ed induzione di resistenza su fragola paragonabili a quelli del BTH (Romanazzi et al., 2013; Landi et al., 2017).

I prodotti più comuni disponibili in commercio hanno pesi molecolari variabili da poche migliaia a oltre 100 kDa e devono essere sciolti in un acido debole, generalmente acetico, lattico o ascorbico, talvolta anche cloridrico. Il chitosano approvato come sostanza di base a livello comunitario è il chitosano cloridrato. Sebbene il solvente sembri influenzare poco l'attività di induzione dei meccanismi di difesa, può invece essere determinante nell'impedire la trasmissione dei virus tramite insetti vettori (Iriti et al., 2009c). Il tipo di solvente può essere importante anche quando il chitosano è usato come antitrspirante, come dimostrato mediante misure di conduttanza stomatica e di traspirazione in fagiolo (Iriti et al., 2009b). Faoro e Iriti (2007) hanno messo a punto un metodo rapido per la determinazione della potenziale attività biologica del chitosano, che si basa sulla stimolazione della sintesi di callosio su frammenti fogliari e poi correlando l'intensità della sintesi con il grado di resistenza indotta a TNV, cioè il virus della necrosi del tabacco.

Tale metodo permette la verifica della fitotossicità delle diverse soluzioni, evitando laboriosi screening con numerose piante test e i ricercatori concludono che la scelta di un appropriato chitosano, con una composizione omogenea in termini di lunghezza dei frammenti di polimero, grado di deacetilazione, peso molecolare e diluizione, può determinarne il successo come induttore di resistenza, oltre ad altri effetti positivi, come la riduzione della contaminazione da micotossine e l'incremento del contenuto di polifenoli e altri antiossidanti (Cuero, 1999).

Diversi gruppi di studio, hanno indipendentemente riscontrato che il chitosano può essere efficace nel controllo di alcune malattie fungine della vite (Iriti et al., 2005; Dagostin et al., 2006; Trotel-Aziz et al., 2006). Tra questi, Iriti et al. (2004, 2005, 2006, 2008) ha osservato nelle cultivar Montepulciano e Merlot un aumento di composti antiossidanti nell'uva, quali antocianine, proantocianidine, stilbeni e melatonina. Il prodotto testato è il kendal-COP[®]S (Valagro, Atessa (CH)), un formulato a base di chitosano, Cu e Mn; sono stati valutati il contenuto di polifenoli totali e il potere antiossidante, analisi ripetute poi nei micro-vinificati di Montepulciano. La tesi trattata con chitosano mostrava valori più elevati di entrambi i parametri rispetto al testimone non trattato e ai trattati con fungicidi tradizionali; nei micro-vinificati il risultato è stato opposto perché i parametri considerati erano minori nei vinificati derivanti da uve trattate con chitosano, rispetto al testimone e ai trattati con fungicidi tradizionali. Iriti et al. (2008) sostengono che tali differenti risultati tra le uve e i micro-vinificati possono essere dovuti al maggiore ispessimento delle bucce delle uve trattate con chitosano, come tipica risposta di difesa della pianta e ciò potrebbe ritardare l'estrazione dei polifenoli durante la fermentazione. Tale ritardo è però considerato non rilevabile in condizioni di normale vinificazione, ma verosimilmente significativo in microvinificazioni brevi, come quelle svolte nella prova. Concludono che il chitosano possa essere sia un valido mezzo di difesa a basso impatto ambientale per il controllo delle malattie fungine, sia un possibile strumento per aumentare gli antiossidanti e i fitonutrienti delle uve.

L'uso d'induttori di resistenza come il chitosano, irrorati sulla chioma, potrebbe essere un'innovativa arma anche per la limitazione delle fitoplasmosi nelle colture, poiché rappresentano malattie gravi per le quali non sono disponibili attualmente mezzi di lotta efficaci nel ridurre annualmente il numero di piante infette. Tale aspetto interessa sicuramente la lotta integrata, per la quale l'uso di prodotti sistemici di sintesi è ammesso, ma la problematica è molto più consistente per l'agricoltura biologica, che non può beneficiare dell'uso di prodotti di sintesi e che si basa prevalentemente sulla prevenzione delle fitopatie.

In uno studio svolto da Romanazzi et al. (2009), fatto per la valutazione dell'efficacia di trattamenti con induttori di resistenza nel controllo del Legno nero (LN) della vite, sono stati testati cinque prodotti commerciali: chitosano (Chito Plant), Phosetyl-Al (Aliette), miscela di glutatione e oligosaccarine (due formulati, Kendal e Olivis) e acibenzolar-S-metile (Bion). La prova è stata effettuata su viti della cv Chardonnay affette da LN, in un vigneto in Italia centrale nel 2007 e 2008, con trattamenti settimanali da inizio di giugno a metà luglio 2007 (7 applicazioni) e da inizio maggio a inizio agosto 2008 (13 applicazioni), con irroratrice a spalla, per un volume equivalente a 1000 litri/ha di ogni soluzione. I trattamenti sono stati fatti su trentacinque piante nel 2007 e su quindici piante nel 2008, con altrettante piante lasciate come testimone non trattato. Dalla prova è risultato un incremento di incidenza del recovery per tutti i prodotti testati, rispetto al testimone non trattato, con i migliori risultati relativi alle tesi con Kendal, Olivis e Bion, mentre Aliette e Chito Plant hanno mostrato maggiore efficacia nel contenimento del LN solo nel primo anno, lo stesso in cui si è verificata un'elevata incidenza di recovery naturale; analogo risultato registrato nel 2008 in Sardegna. Si conclude che *“alla fine dei due anni di sperimentazione, i trattamenti nel complesso hanno determinato una rilevante riduzione del numero di piante con sintomi di LN, passando dal 30 al 9,5% (incluse le piante testimone). Sebbene i dati richiedano ulteriori conferme, è stata sperimentata con successo una nuova strategia che prevede l'uso di induttori di resistenza per il controllo del LN della vite”*. I risultati di questo primo studio sono poi confermati dalla stessa prova ripetuta nel 2009 e 2010 e si sono verificati rapporti di efficacia tra i prodotti che vedono il Chito Plant (a base di chitosano) come trattamento che ha dato minore recovery tra quelli testati, ma ha dato comunque buoni risultati in quanto la media delle annate risulta essere circa il 35%, rispetto alla media del 26% del testimone non trattato (Romanazzi et al. 2009b; Romanazzi et al. 2013).

Si evince da questi studi che nonostante la necessità di ulteriori verifiche l'uso di chitosano, seppur con efficacia minore rispetto ad altri prodotti di sintesi, può migliorare la recovery delle piante infette da fitoplasmosi (in questo caso LN), aspetto che può interessare la viticoltura biologica di areali in cui tali patologie hanno incidenza più elevata e mancano mezzi di controllo.

Può essere interessante capire quanto possano influire positivamente i trattamenti con chitosano (o altri induttori di resistenza) rispetto all'eventuale differente suscettibilità varietale e all'incidenza dei fattori ambientali e stagionali, nella determinazione del recovery delle piante infette.

Per quanto riguarda la coltura del kiwi (actinidia), è stato svolto uno studio dal CREA, in collaborazione al Centro di Ricerca per la patologia vegetale (PAV) all'interno di un progetto più ampio di miglioramento della filiera vivaistica dell'actinidia in Italia e di protezione da nuove patologie (fitoplasmi di recente introduzione). Prima di iniziare le prove in campo si sono effettuate prove in vitro sulle plantule, per verificare tramite alcuni marcatori (markers) l'attivazione o l'incremento del sistema immunitario delle piante dovuto ad applicazioni di chitosano (e altri elicitori), sia in assenza che in presenza dei patogeni; si sono utilizzati sia marcatori biochimici (enzimi) che molecolari (attivazione o sovraespressione di alcuni geni): *“entrambi i meccanismi sono parte integrante delle “difese immunitarie” della pianta. I markers selezionati sono stati testati in varie fasi della filiera vivaistica, dalla micropropagazione al trasferimento in campo all'età di 2 anni. In ogni fase di sviluppo vegetativo testata, i markers utilizzati hanno sempre confermato il rafforzamento delle difese immunitarie in seguito al trattamento con il chitosano anche, e soprattutto, in presenza del patogeno”*.

3.4. UTILIZZO IN POSTRACCOLTA SULLE DERRATE

Vi è un certo interesse anche per il possibile utilizzo di formulati a base di chitosano nelle derrate in postraccolta, per ridurre l'incidenza delle fisiopatie e lo sviluppo dei marciumi primari, in primis sicuramente *Botrytis cinerea*, ma anche i marciumi secondari, come i patogeni dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*. L'interesse per il consumatore sta nel fatto che il principio attivo non lascia residui che possano alterare la qualità sanitaria della derrata e non ha conseguenze dirette sulla salute dei consumatori, essendo atossico.

Il chitosano può essere uno dei mezzi di difesa dai marciumi postraccolta delle derrate, considerando l'attuale forte esigenza di ridurre gli sprechi alimentari e tenuto conto del fatto che più di un terzo della frutta e verdura raccolta è persa e non raggiunge il consumatore, oltre al fatto che la maggior parte dei fungicidi usati in postraccolta è stata ritirata dal commercio o è stato fortemente ridotto il limite massimo di residuo tollerato nei confronti dei prodotti ammessi. Tutto questo ha comportato maggiori difficoltà gestionali e generato un interesse maggiore verso lo sviluppo di mezzi ecocompatibili.

Le naturali resistenze delle derrate possono essere potenziate dall'uso di prodotti a base di chitosano (e altri elicitori, come agenti di biocontrollo e composti organici volatili). L'elicitazione delle autodifese dell'ospite previene la comparsa d'isolati resistenti dei patogeni (Romanazzi et al., 2016) a causa di un aumento dei livelli di composti fenolici prodotti dai tessuti vegetali, che hanno proprietà antiossidante e che inoltre sono benefiche per l'uomo (Romanazzi et al., 2016). Il chitosano, grazie alla sua attività filmogena e antimicrobica è ritenuto ideale in postraccolta per prodotti ortofrutticoli freschi, perché forma un sottile strato protettivo sulle superfici trattate e aumenta la conservabilità della derrata, limitando anche lo sviluppo delle malattie fungine (Bautista-Banos et al., 2006; Romanazzi et al., 2009). Il chitosano è stato ampiamente testato su fragola (*Fragaria × ananassa* Duch.) per valutare la sua efficacia nel miglioramento della conservabilità in postraccolta (El Ghaouth et al., 1992; Zhang e Quantick, 1998; Reddy et al., 2000; Romanazzi et al., 2000).

La fragola è un prodotto ricco in acqua e facilmente deteriorabile i cui principali patogeni sono: *Botrytis cinerea*, agente eziologico della muffa grigia di diverse colture e *Rhizopus stolonifer*, agente causale del marciume acquoso. *B. cinerea* dà maggiori problemi in quanto sviluppa ad una temperatura che va da 0°C a 32°C, essendo un patogeno euritermico e quindi difficilmente controllabile anche alle normali temperature di refrigerazione. Il controllo dei marciumi postraccolta della fragola può avvenire attraverso l'uso di mezzi fisici, chimici e biologici (Ippolito

et al., 1997; Droby e Lichter, 2004) e la richiesta da parte dei consumatori di frutta priva di residui di agrofarmaci, ha incentivato la ricerca verso alternative più salubri, incluso l'uso di film ad attività antimicrobica e l'applicazione di induttori di resistenza (Elmer e Reglinski, 2006).

Si è testata l'efficacia del chitosano disciolto in soluzioni di diversi acidi ed è stata valutata inoltre la produzione di acqua ossigenata nei tessuti delle fragole trattate. Le prove condotte da Romanazzi et al. (2009) hanno interessato le fragole della cv Camarosa, immerse per 10 secondi in soluzioni di chitosano ottenute dissolvendo il biopolimero in soluzioni all'1% degli acidi acetico, cloridrico, formico e glutammico, confrontate con altri prodotti sperimentali (Algition, Calit, Latic) e commerciali (Bion, Fitocalcio, Xedabio), fra i quali anche il prodotto a base di chitosano "Chito Plant" e le fragole immerse in acqua sono state usate come testimone. È risultata una riduzione significativa di entrambe le patologie in tutte le tesi trattate, anche se con diversa efficacia: le migliori sono state quelle trattate con chitosano disciolto nella soluzione con acido acetico e con Chito Plant. Nei tessuti sottoposti a trattamento con soluzioni a base di chitosano è stata osservata una minor produzione di acqua ossigenata, suggerendo l'attività antiossidante del prodotto.

Si può quindi considerare il chitosano un efficace mezzo di controllo delle patologie principali delle fragole in postraccolta, integrato ai mezzi fisici più comuni, in particolare al mantenimento della catena del freddo. In uno studio di Giacalone e Chiabrando (2013), il chitosano è stato testato su ciliegie con trattamenti effettuati a 14 e 7 giorni prima della raccolta, in una prova effettuata in Piemonte su due cultivar, Giorgia e Kordia, con applicazioni di Chito Plant (chitosano all'1%), per poi valutare incidenza dei marciumi, perdita di peso, colore e consistenza della polpa, residuo secco rifrattometrico e acidità titolabile, per poi valutare anche la componente nutraceutica. Non si sono riscontrati né miglioramenti né peggioramenti delle caratteristiche organolettiche, ma si è verificato un lieve anticipo di maturazione; tra le due cv è stata riscontrata una dissimile incidenza dei marciumi, suggerendo una diversa suscettibilità varietale. Si sottolinea che *"considerando l'intero periodo di stoccaggio, la percentuale di frutti affetti da marciumi è risultata nettamente più elevata nelle ciliegie testimone, il che induce a concludere che il chitosano abbia un effetto protettivo sui frutti anche nel caso di trattamenti di pieno campo. Saranno però necessarie conferme derivanti da ulteriore sperimentazione"* (Giacalone e Chiabrando, 2013).

Il chitosano ha mostrato effetti positivi anche nella conservazione di varie tipologie di tartufo e nel mantenimento delle peculiari caratteristiche organolettiche, usato da solo o in combinazione ad altri mezzi, come l'atmosfera modificata e l'impiego di ultrasuoni (Comi et al.,

2010). Viene utilizzato anche per la conservazione della freschezza dei gamberetti nell'industria ittica, con funzione di abbattitore della carica microbica (azione inibente riscontrata principalmente nei confronti di *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta* e nei confronti di microrganismi produttori di idrogeno solforato e nei confronti dei mesofili psicrotrofici) e conservatore delle caratteristiche organolettiche, aumentando la shelf life del prodotto. Le sue peculiari caratteristiche strutturali lo rendono una potenziale materia prima per la realizzazione di film edibili (Reale et al., 2008).

3.5. IMPIEGO IN ALTRI SETTORI

In ambito medico e farmaceutico è stato dimostrato che il chitosano è in grado di legare le sostanze anioniche sia mediante attrazione elettrostatica sia in seguito all'instaurarsi di legami covalenti, vista la sua caratteristica di polimero cationico, rendendolo un possibile candidato per l'incapsulazione di DNA, RNA o nucleotidi, ma anche di proteine, farmaci e altre sostanze. Le sue elevate biocompatibilità con i tessuti biologici, tossicità nulla, disponibilità e biodegradabilità, lo rendono un ottimo candidato per l'impiego in ambito farmaceutico e medico. Diversi studi (Erbacher et al., 1998; MacLaughlin et al., 1998; Ye et al., 2013; Moràn et al., 2014) sono stati incentrati sul possibile impiego di tale sostanza come sistema non virale di "gene delivery" per la terapia genica e anche come veicolo per il trasporto e il rilascio mirato di farmaci e proteine. Un articolo pubblicato nell'*International Journal of Pharmaceutics* (Xu e Du, 2002) riporta che la capacità del chitosano di legare molecole e in seguito di rilasciarle all'interno di un organismo è direttamente correlata al suo peso molecolare e al grado di deacetilazione; l'efficienza di incapsulazione di proteine (BSA, Bovine Serum Albumin) aumenta all'aumentare del grado di deacetilazione, a discapito dell'efficienza di delivery, e diminuisce in seguito alla riduzione del peso molecolare. Tale processo di incapsulazione prevede la formazione di microparticelle o nanoparticelle di chitosano, che per via delle dimensioni ridotte rendono l'applicazione di tale sostanza ancora più promettente in quanto capace di penetrare vari tessuti cellulari (Succol, 2019). Nel settore della biomedica sono numerose le possibili applicazioni del chitosano, come scritto da Felse e Panda (1999) e Rinaudo et al. (2006). Si citano di seguito gli usi più importanti: applicazioni nella terapia anticancro (chitina e chitosano coniugati con 5-fluorouracile che fornisce risultati molto più efficaci, selettivi e meno tossici di altri prodotti normalmente usati (Ouchi, 1990; Ouchi et al., 1990); applicazioni nel controllo del rilascio di farmaci (derivati del chitosano usati come carrier di medicinali iniettabili); migliore cicatrizzazione dei tessuti data dalla biocompatibilità con i meccanismi di cicatrizzazione (Yimin, 1994); positivo effetto sulla rigenerazione dei tessuti danneggiati e per la rigenerazione delle ossa (Tokura et al., 1990; Seiichi et al., 1994); come sostituto del sangue e altri tessuti e negli impianti (nella preparazione di lenti a contatto, nelle medicazioni degli occhi e in odontoiatria per innesti e protesi).

L'uso di chitosano è interessante anche in ambito biotecnologico: viene impiegato per la bioseparazione delle agglutinine del germe di grano con una resa del 70% (Senstad e Mattiason, 1989); è stato impiegato per incrementare la produzione di alcool da melasse di canna da zucchero e riduce il tempo di fermentazione incrementando la resa del 6% (Patil e Patil, 1989);

immobilizza enzimi, come la glucoamilasi, lipasi (Jei-Fu et al., 1990), xilanasi e proteasi (Dumitriu et al., 1994); si ipotizza inoltre il ricorso all'uso di chitosano come materiale strutturante per assemblare tessuti ingegnerizzati (Peluso et al., 1994).

Interessanti sono poi le applicazioni di chitosano nel settore ambientale, grazie ai suoi gruppi idrofobici molto efficienti per la rimozione di coloranti da diversi reflui, come quelli derivanti dalla lavorazione delle fibre tessili (Kim et al., 1997); è particolarmente efficiente nella rimozione di coloranti acidi (Joseph, 1994). Un altro aspetto interessante è quello che riguarda l'uso di resine a base di chitosano per l'adsorbimento dei metalli pesanti, evidenziato in diversi studi, nei confronti di cadmio e piombo (Kim et al., 1997), del rame (Muraleeadham e Venkobacher, 1990) e di numerosi ioni metallici presenti nei reflui galvanotecnici come argento, zinco, nickel, cobalto, cadmio, ferro e cromo (Udyabhaskar et al., 1990), dove può superare il 90% di efficienza; tali resine ad alta efficienza sono usate anche nel recupero, per adsorbimento, di metalli nobili (oro) e una buona efficienza è stata riscontrata anche per il mercurio (Yoshihada e Takeshi, 1997). Promettenti risultati si sono ottenuti anche per l'adsorbimento di ioni uranio (Jansson-Charrier et al., 1995) presenti nelle acque di falda (*"Estrazione, purificazione e valorizzazione di polisaccaridi da basidiomiceti"*). Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali, dottoranda Dott.ssa Francesca di Mario - Università degli Studi della Tuscia di Viterbo).

Nel 2011 l'UE ha inserito il chitosano fra gli additivi ammessi in vinificazione per la stabilizzazione proteica, il controllo microbiologico e la riduzione di contaminanti e metalli pesanti. In uno studio di Chinnici e Riponi (2016), è stata comparata l'efficacia del chitosano a quella dell'anidride solforosa e altri composti, nel controllare l'ossidazione di (+)-catechina in un vino bianco sintetico sottoposto a condizioni di aerazione spinta. Dai risultati si evince che il chitosano ha *"una notevole capacità di rallentare il decadimento ossidativo della (+)-catechina e che tale fenomeno possa essere il risultato di meccanismi di chelazione dei metalli, di adsorbimento di molecole intermedie e di attività antiradicalica. La presenza di chitosano, inoltre, ha contribuito a limitare l'ossidazione dei composti tiolici presenti nelle soluzioni modello oggetto dell'indagine"*. Si ritiene quindi che il chitosano possa essere un additivo capace di coadiuvare o sostituire l'anidride solforosa nelle vinificazioni mirate all'ottenimento di vini bianchi a ridotto contenuto in solfiti (Chinnici e Riponi, 2016). Inoltre, in ambito enologico può essere interessante l'impiego di chitosano anche per la sua capacità di ridurre il contenuto di residui di vari fungicidi e insetticidi (così come altri prodotti testati, ad esempio cellulosa derivante da pareti cellulari). Riduzioni nell'ordine del 20% circa sono state riscontrate in un lavoro di Dal Cin e Manara (2015), nel quale

si testavano chitosano e altri coadiuvanti enologici. Nicolini et al. (2017) fanno notare che l'uso di un prodotto adsorbente specifico potrebbe aiutare a minimizzare il rischio dovuto alle derive di trattamenti utilizzati su produzioni non biologiche, quindi utile anche nel caso di accertati danni da deriva (Dal Cin e Manara, 2015).

4. MATERIALI E METODI

4.1. DESCRIZIONE DEL SITO D'INDAGINE

I lavori per la realizzazione della presente Tesi di Laurea Magistrale sono stati svolti in un vigneto dell'azienda agricola commerciale "Il Conventino di Monteciccardo S.A.S. di Mattia Marcantoni", sita nel comune di Monteciccardo (PU). L'azienda comprende un totale di circa 54 ha, di cui 10 ha sono coltivati a vigneto, con cultivar a bacca bianca e a bacca nera e nella restante parte si coltivano olivo e seminativi, inoltre alcune tare sono composte da bosco. L'azienda è convertita da tempo all'agricoltura biologica per quanto riguarda vigneto e oliveto; i suoli investiti a vigneto si trovano alla quota media di circa 360 m s.l.m. e presentano giacitura collinare con esposizione prevalente a Sud ed una pendenza variabile nell'ordine del 10-20% e sono caratterizzati da una granulometria prevalentemente argillosa (tabella 1).

Tabella 1. **Analisi del suolo del vigneto (luglio 2015).**

ANALISI DEL SUOLO DEL VIGNETO (2015)			
PARAMETRO	Unità di misura	Risultato	Giudizio
pH	Unità di pH	7,9	Leggermente alcalino
Tessitura a 3 frazioni	-	-	Argilloso
Sabbia	g/Kg	57	
Limo	g/Kg	531	
Argilla	g/Kg	412	
Calcare attivo	g/Kg	145	Molto elevato
Calcare totale	g/Kg	439	Calcareo
Fosforo assimilabile	mg/Kg	4,3	Basso
Potassio scambiabile	mg/Kg	421	Elevato
Rapporto C/N	-	8,9	Normale
Sostanza organica	g/Kg	18,3	Medio – basso
Azoto totale	g/Kg	1,20	Mediamente dotato

Le indagini sono state svolte in una porzione dell'appezzamento, denominato internamente "vigna 3", entrato in fase di piena produzione; il sistema di allevamento è a contropalliera, con filari orientati in direzione Nord/Sud-Ovest. Il sesto d'impianto è di 0,8 x 2,5

m, con una densità d'investimento di circa 5000 piante/ha. Il portainnesto utilizzato è il *Vitis berlandieri* x *V. riparia* "420 A" e il suolo è gestito con inerbimento naturale, controllato periodicamente attraverso lo sfalcio.

4.2. IL VITIGNO: FAMOSO BIANCO

Il vitigno su cui è stata effettuata la prova è denominato “Famoso B.” (figura 3), identificato al codice 420 del Registro Nazionale delle Varietà di Vite, ammesso alla coltivazione il 27 marzo del 2009, con un decreto pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale numero 146 del 26 giugno 2009. Le informazioni presenti nella scheda ampelografica del vitigno suddetto sono tratte dall’estratto della domanda d’iscrizione al registro presso il MIPAAF. Complessivamente il vitigno ha registrato una produzione mediamente costante, con valori generalmente compresi tra 9-12 t/ha, negli ultimi quattro anni in azienda. Per quanto riguarda la descrizione specifica, la cultivar presenta le seguenti caratteristiche morfologiche: germoglio aperto con bordi lievemente carminati e tomentosità lunga mediamente presente; foglia adulta cuneiforme trilobata o quasi intera, con seno peziolare a “v” aperto e seni laterali a volte appena accennati, con margine a denti irregolari e pagina inferiore con tricomi a densità leggera; grappolo di media grandezza nel complesso, corneo e spesso con un’ala, tendenzialmente spargolo; l’acino è medio, troncovoide, con buccia verde-gialla spessa e consistente con pruina medio-leggera e polpa consistente dal sapore dolce e lievemente moscato.

In merito alle caratteristiche fenologiche e produttive viene descritto come di seguito: l’epoca di germogliamento è media e avviene solitamente tra fine marzo e inizio aprile, con fioritura in epoca intermedia, che si verifica tra fine maggio e inizio giugno; l’epoca di invaiatura è intermedia poiché avviene all’incirca nella seconda metà di agosto; è medio-precoce l’epoca di maturazione fisiologica, che sopraggiunge solitamente entro la fine di settembre. Il vitigno ha vigoria medio-elevata con una produzione media di circa 10-13 t/ha e fertilità medio - alta, con circa 1,5 grappoli per germoglio; è inoltre discreta la fertilità delle gemme basali. È presente un solo clone di questa cv, denominato “Ampelos-BS 1” e iscritto al registro in data 15 maggio 2014.

Le uve di questo vitigno sono utilizzate esclusivamente per la vinificazione. Inoltre, ci sono testimonianze, trasmesse oralmente dalla popolazione locale, della sua presenza in epoca precedente nei vecchi filari di viti maritate agli aceri e agli olmi, usato come buon vitigno da uva da tavola, particolarmente apprezzato per il suo sapore tendenzialmente dolce e di buona consistenza e poi tagliato con uve di altri vitigni locali (come Albana, Albanella e Biancame) per rendere i vini bianchi più profumati.

Il Famoso è oggi coltivato in piccolissime superfici (6 ettari - ISTAT, 2010) ed è idoneo alla coltivazione nella regione Emilia–Romagna; è stato inserito nell’elenco varietale marchigiano come cultivar allo stato “in osservazione”, tramite Decreto Regionale n.676 del 21 luglio 2015 della

Regione Marche) e può quindi essere coltivato in deroga per la sperimentazione e registrabile nei protocolli dei prodotti ad IGT. Dal 2015, l'ASSAM è incaricata di eseguire le prove attitudinali agronomiche ed enologiche su Famoso di una durata di 5 anni, al termine delle quali, se supererà i requisiti richiesti, sarà aggiunta all'elenco delle varietà idonee alla coltivazione. Nell'anno 2016 sono state prodotte circa 57.000 talee innestate di Famoso, mentre nel 2017 sono quasi raddoppiate con circa 111.000 talee innestate (dati aggiornati ad agosto 2017, MIPAAF); quindi il vitigno sta interessando sempre più le aziende vitivinicole del territorio che ampliano la propria consistenza aziendale e realizzano nuovi impianti, negli ultimi anni. In caso fosse escluso dall'elenco delle varietà idonee per esiti negativi delle prove dell'ASSAM, tutti i vigneti dovranno essere espianati o sovrainnestati con varietà idonee alla coltivazione, a spese dei produttori, entro i quindici anni dal decreto d'esclusione.



Figura 3. Da sinistra: pianta allevata a Guyot in fase vegetativa, in stasi invernale, grappolo e foglia adulta di Famoso.

4.3. DESCRIZIONE DELLA PROVA IN CAMPO

La prova è stata svolta in una superficie di circa 0,3 ha del vigneto caratterizzato dalla presenza del vitigno Famoso Bianco ed è stata suddivisa in 5 porzioni, in cui sono state inserite 3 tesi nei filari interni e 2 porzioni esterne non trattate utilizzate come testimone (controllo); ogni tesi è composta da 5 filari campione (figura 4), così come le due porzioni testimone (per un totale di 10 filari), complessivamente occupando 25 filari del vigneto per la sperimentazione. Le tesi sono state così denominate: "C" è la tesi con il 100% dei trattamenti effettuati applicando il prodotto "Chitosano cloridrato" (acquistato da Agrilaete S.r.l. - chitosano al 100%) impiegato da solo, alla dose equivalente a 3,125 kg/ha (150 grammi di prodotto in 48 litri di acqua); "R" è la tesi in cui sono state effettuate applicazioni di un prodotto a base di idrossido di rame da solo (Heliocuire) alla dose d'impiego di 150 g/hl (equivalente a 0,15 kg/ha); "R + C" è la tesi in cui tali prodotti sono stati applicati nel 50% circa dei trattamenti, alternando la prima metà di applicazioni con solo rame, alla seconda metà di applicazioni con solo chitosano; "T" (nelle schede di campo divisi come "T1" nelle file più corte e "T2" nelle file più lunghe) è il testimone non trattato usato come controllo.

Lo schema sperimentale è un completamente randomizzato e così, come il calendario strutturale dei trattamenti, è stato anticipatamente concordato in concertazione con i responsabili dell'azienda. In considerazione della lunghezza e della pendenza dei filari, ogni tesi è stata valutata con tre parcelle ciascuna, equidistanti, rappresentate da un interpalo, opportunamente segnalato in campo con nastri di colore specifico (rosso per il testimone, verde per il rame + chitosano, arancione per il rame e blu per il chitosano); sono state realizzate tredici applicazioni in campo in totale (tabella 2); in particolare nella tesi R + C sono stati fatti rispettivamente 7 trattamenti con rame e 6 con chitosano.



Figura 4. Piante lungo il filare segnalate con un fiocco di colore identificativo della tesi. Così veniva riconosciuto l'interpalo che costituiva una parcella.

Per quanto riguarda l'attrezzatura è stato usato un atomizzatore pneumatico a botte portata (marca Cima, modello 55 Plus, con possibilità di basso volume) e si è utilizzato un volume equivalente a 1000 litri per ettaro nell'effettuare le applicazioni.

Il giorno 10 giugno è stato effettuato l'ultimo trattamento con rame della tesi R + C e dall'ottavo al tredicesimo trattamento è stato sempre applicato il solo chitosano. Così facendo, nelle prime sette applicazioni le tesi "R" ed "R + C" hanno subito gli stessi trattamenti, analogamente a quanto vale per le tesi "R + C" e "C" dall'ottavo trattamento in poi. Nella presentazione dei risultati, al capitolo cinque, il testimone sarà distinto in due porzioni: a filari corti (T1) e lunghi (T2). Nelle figure in cui tale distinzione non è specificata, il testimone "T" è riferibile alla tesi "T2", in quanto alcune misurazioni non si sono potute effettuare su "T1".

Tabella 2. Date e tempi di rientro delle applicazioni in campo.

DATE D' ESECUZIONE DEI TRATTAMENTI IN CAMPO	
Data	Intervallo (trattamento)
19/04/2019	(1° trattamento)
02/05/2019	13 (2°)
08/05/2019	6 (3°)
17/05/2019	9 (4°)
21/05/2019	4 (5°)
01/06/2019	11 (6°)
10/06/2019	9 (7°)
17/06/2019	7 (8°)
25/06/2019	8 (9°)
03/07/2019	8 (10°)
15/07/2019	12 (11°)
22/07/2019	7 (12°)
31/07/2019	9 (13° ed ultimo)

4.4. RACCOLTA ED ELABORAZIONE DEI DATI METEO

Per compiere l'analisi agro-climatica sono stati utilizzati i dati, relativi alle precipitazioni ed alle temperature delle stazioni della Protezione Civile (Servizio di Monitoraggio della Rete Idrotermometrica Regionale), avendo come riferimento le due stazioni termo-pluviometriche più vicine al sito di studio, (per l'impossibilità tecnica di usufruire di dati della capannina meteorologica aziendale) nell'arco temporale compreso tra l'1 gennaio e il 30 settembre 2019 (tabella 3) e in particolare sono state rilevate le precipitazioni giornaliere cumulate che si riferiscono alla stazione pluviometrica di Montelabbate (PU) situata ad una distanza di circa 3,5 Km dal campo di prova e i dati relativi alle temperature massime, minime e medie giornaliere registrate dalla stazione termometrica di Gallo (PU) posizionata ad una distanza di circa 7,5 Km dal campo di prova.

Per lo studio dei dati termo-pluviometrici sono state costruite le curve di andamento delle precipitazioni cumulate (mm) e delle temperature giornaliere (°C), calcolate le precipitazioni cumulate (mm) mensili e l'escursione termica giornaliera dell'intero periodo (differenza tra le temperature massime e minime giornaliere). E' stato calcolato l'indice bioclimatico di Amerine e Winkler (espresso in gradi giorno – GDD), cioè le sommatorie termiche attive giornaliere (dal 1 marzo al 30 settembre), che è uno standard di riferimento per la determinazione delle esigenze termiche della vite in relazione ad una maturazione soddisfacente in termini di tenore zuccherino delle uve; è calcolato come somma delle temperature medie giornaliere e sottraendovi 10°C, cioè lo "zero vegetativo" della vite, facendo assumere a valori negativi un contributo in somma termica pari a zero.

Tabella 3. Caratteristiche delle stazioni meteo della Protezione Civile utilizzate.

CARATTERISTICHE DELLE STAZIONI METEO DELLA PROTEZIONE CIVILE		
Caratteristica	Stazione Pluviometrica	Stazione Termometrica
Strumento	Pluviometro a bascula	Termometro
Quota	65 m s.l.m.	122 m s.l.m.
Distanza dal sito d'indagine	3,5 km	7,5 km
Coordinate geografiche	Latitudine 43,46°	Latitudine 43,84°
	Longitudine 12,42°	Longitudine 12,78°
Codice	16	103
Sensore	1064	2094

4.5. MONITORAGGIO DELLA CRESCITA DELLA CHIOMA

Il 15 aprile 2019 è stato fatto un rilievo preliminare sulle piante allo scopo di verificare l'inizio del germogliamento (considerato iniziato al superamento del 50% del numero di gemme per pianta che presentavano almeno una foglia spiegata e quindi considerabili come germogli) e per evidenziare eventuali differenze tra i filari che poi avrebbero caratterizzato le diverse tesi e il testimone non trattato.

A germogliamento avvenuto sono stati poi eseguiti sette rilievi sulla lunghezza dei germogli in crescita e del corrispondente numero di foglie per germoglio, a distanza di circa dieci giorni tra un sopralluogo e l'altro, dal 24 aprile al 17 giugno. E' stato poi eseguito il calcolo per la lunghezza dell'internodo. Il rilievo è stato fatto sul filare centrale di ogni tesi, con tre punti di rilievo equidistanti tra loro e sono state prese in considerazione le tre piante centrali contigue di un interpalo ed è stata seguita la crescita di tutti i germogli delle tre piante, per un totale di nove piante per filare campione e quindi di quarantacinque piante nel complesso.

Sulle stesse piante rilevate il 27 dicembre 2019 durante il riposo vegetativo invernale è stato effettuato un rilievo per misurare la lunghezza dei tralci lignificati e di seguito è stata eseguita la potatura delle piante stesse per misurare il peso del legno di potatura. É stata quindi misurata la massa del legno prodotto nell'ultima stagione vegetativa, asportando i tralci alla base con un taglio raso alle corone e lasciando sulla pianta almeno uno sperone per il rinnovo del capo a frutto e un tralcio della lunghezza adeguata che servirà da capo a frutto per la successiva annata, essendo una potatura di produzione a Guyot unilaterale. Si sono confrontati poi i dati relativi alla crescita vegetativa con quelli del peso del legno e di lunghezza dei tralci lignificati.

4.6. RILIEVI PER LA VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA DELLA VITE

Sono state fatte valutazioni sulla vegetazione per verificare la presenza di peronospora, in particolare attraverso cinque rilievi su foglie e quattro rilievi sui grappoli, nel periodo che va dall'allegazione alla maturazione dell'uva e tutti i rilievi sono stati effettuati nelle stesse giornate su foglie e grappoli, ad esclusione del primo che ha riguardato solo le foglie.

Di seguito vengono riportate le date dei rilievi: 19 giugno, 25 giugno, 19 luglio, 16 agosto, 13 settembre. Il rilievo è stato sempre effettuato sulle 3 file centrali di ogni tesi, in tre punti di rilievo equidistanti lungo il filare e costituiti da tutte le 6 piante contigue di un singolo interpalo. Per quanto riguarda le foglie, si è fatto riferimento a una scala empirica che prevede dieci classi di gravità in base alla percentuale di superficie fogliare, stimata a vista, interessata dai sintomi presumibilmente ascrivibili alla peronospora della vite (tabella 4). Per quanto riguarda i grappoli, questi sono stati contati e si sono valutati i danni da peronospora utilizzando una scala empirica costituita da sette classi di gravità in base alla percentuale di grappolo infetto, anche questa stimata a vista. Attraverso l'uso di queste scale empiriche si sono potuti calcolare i parametri che descrivono le infezioni per ciascuna pianta e che sono: diffusione (D), la gravità (G) e l'Indice di McKinney (McKinney, 1923) che è l'intensità media ponderata della malattia, un'indicazione della percentuale di malattia rispetto alla massima possibile. La diffusione (D) esprime la percentuale di superficie fogliare infetta sull'intera chioma e la percentuale di grappoli infetti sul totale di quelli presenti sulla pianta; è calcolato con la formula:

$$D = n \cdot 100 / N$$

Nella presente formula "n" indica il numero di bacche o foglie infette, "N" è il numero totale di bacche o foglie rilevate. La gravità (G) esprime l'intensità media della malattia per quanto riguarda le sole foglie o bacche infette. Tale parametro è calcolato con la seguente formula:

$$G = \sum (c \cdot f) / n$$

In questa formula che prevede una sommatoria, "c" è il valore della classe empirica, "f" è la frequenza della classe, "n" è il numero foglie o bacche infette. L'indice di McKinney (IMK) esprime la gravità della malattia, come già accennato, in valore percentuale rispetto a quella massima possibile. È stato così calcolato:

$$IMK = \sum (c \cdot f) / (N \cdot X)$$

La formula prevede una sommatoria, dove "c" è il valore della classe empirica, "f" è la frequenza della classe, "N" è il numero totale delle osservazioni e "X" è il valore della classe massima della scala empirica.

Tabella 4. Scala empirica usata per il rilievo di peronospora della vite su foglie e grappoli.

SCALE EMPIRICHE PER I RILIEVI DI MALATTIA			
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% del grappolo
5	41-50%	5	26-50% del grappolo
6	51-60%	6	50-75% del grappolo
7	61-70%	7	>75% del grappolo
8	71-80%		
9	81-90%		
10	>90%		

I valori dei parametri di Diffusione (D), Gravità (G) e dell'indice di McKinney (IMK) sono stati ottenuti dall'elaborazione dei dati ricavati dai rilievi effettuati in campo, con l'utilizzo delle scale empiriche precedentemente descritte. Questi sono stati poi sottoposti a elaborazione statistica, sono state quindi calcolate le medie e la deviazione standard per ciascuna delle tesi considerate. I dati percentuali sono stati trasformati utilizzando la radice quadrata dell'arcoseno prima di procedere con l'analisi statistica.

Utilizzando il disegno sperimentale completamente randomizzato, si è condotta l'analisi della varianza (ANOVA) per verificare l'influenza dei trattamenti sui parametri considerati. Le medie sono state separate con il test di Tukey secondo il livello di probabilità $P < 0,05$. Sono stati analizzati separatamente i dati dei tre parametri per foglie e grappoli e per ogni data di rilievo in campo.

4.7. EVOLUZIONE DEI PARAMETRI CHIMICO-FISICI DI MATURAZIONE DELL'UVA

4.7.1. Prelievo dei campioni

Il comportamento del vitigno in termini di maturazione delle uve, sottoposto alle varie tesi, è stato valutato attraverso lo studio dell'andamento dei parametri del mosto effettuando un totale di 7 campionamenti di uva ed altrettante analisi, dalla fase di chiusura del grappolo pre-invaiatura (prima dell'inizio della maturazione) fino al periodo a ridosso della vendemmia, generalmente con cadenza settimanale. A ogni campionamento si è tenuto sotto controllo lo stato fitosanitario delle uve, facendo in modo di non prelevare acini dai grappoli eccessivamente compromessi.

Per eseguire le analisi di laboratorio è necessario raccogliere un campione di uva che possa dare un risultato ripetibile nel tempo e il più possibile attendibile, per questo è stato adottato sempre lo stesso protocollo di campionamento e analitico. I punti di prelievo delle uve nelle varie tesi corrispondevano a quelli presi come riferimento per i rilievi fenologici sui germogli, quindi un campione di uva era prelevato su un intero interpalo, del filare centrale di ogni tesi. A ogni prelievo i campioni di uve provenienti da tesi e parcelle diverse sono stati mantenuti separati.

Il campionamento delle uve è stato eseguito nel modo seguente: per ogni pianta campionata sono stati individuati due grappoli, ove possibile uno più esposto al sole e l'altro più all'interno della chioma, da ognuno dei quali sono state raccolte tre bacche, rispettivamente nelle porzioni alta, media e bassa del grappolo. Sui sacchetti di plastica contenenti l'uva, chiusi al termine del prelievo del singolo campione dell'interpalo, sono state riportate le informazioni riguardanti il contenuto, quali: data del prelievo, codice identificativo della tesi che indica il trattamento (T, C, R, R + C) e il punto di prelievo lungo il filare (P1, P2, P3), numero identificativo del filare in cui è avvenuto il campionamento.

4.7.2 Analisi di laboratorio

Una volta terminato il prelievo in campo, si passa alla fase di laboratorio (figura 5). Il metodo analitico è distruttivo giacché va estratto il succo d'uva (mosto). I principali parametri chimici e chimico-fisici valutati sono: il tenore zuccherino (espresso in °Babo), l'acidità totale (A.T. espressa in g/l di acido tartarico) e il pH (espresso in unità di pH, valori 1.0 - 14.0). Ogni campione può essere analizzato previa pigiatura manuale degli acini posti all'interno dei sacchetti in plastica, per estrarne il mosto ed assicurarsi che siano tutti omogeneamente schiacciati. Si filtra la massa con un filtro a maglie larghe, per separare il mosto dalla componente grossolana costituita da bucce, vinaccioli e parti di polpa (che verranno eliminati) e si versa il mosto in un becker.



Figura 5. Banco di lavoro del laboratorio con gli strumenti per effettuare l'analisi.

4.7.2.1. Misura del grado zuccherino

Dal tenore zuccherino dei mosti d'uva dipende il grado alcolico ottenibile dalla fermentazione di quel mosto in vino, cioè il Titolo Alcolometrico Volumico potenziale (TAVp); lo strumento utilizzato è il "HI 96801 - rifrattometro digitale 0-85% Brix" (figura 6). Per effettuare la misurazione è necessario porre qualche ml di mosto al di sopra del vetrino dello strumento, dopo averlo tarato con acqua distillata, per poi eseguire la lettura del valore. Una volta fatta la misurazione si ottiene il residuo secco rifrattometrico (RSR) che è la % di solidi solubili del mosto, le cui componenti maggiori sono gli zuccheri e consultando la relativa tabella di conversione si vede la corrispondenza tra % Brix e °Babo, poi moltiplicando il °Babo per 0.65 (poiché la fermentazione alcolica ha una resa indicativamente del 65%) si ottiene il TAVp.



Figura 6. Rifrattometro digitale "HI-96801" 0-85% Brix", usato per determinare la concentrazione zuccherina.

4.7.2.2. Misura del pH

Il pH si misura con il pHmetro (figura 7), lo strumento digitale utilizzato è il "CyberScan 510 – Eutech Instruments" che è dotato anche di una sonda per il rilievo della temperatura. Lo strumento va opportunamente tarato con due buffer a valori di pH 7 e 4, per poi effettuare la misurazione immergendo completamente l'apice dell'elettrodo a vetro combinato nel becker in vetro che contiene il mosto. Si attende la stabilizzazione del valore per poi leggere e appuntare il dato.



Figura 7. pHmetro "CyberScan 510 - Eutech Instruments" per misurare il pH dei mosti.

4.7.2.3. Determinazione dell'acidità titolabile

L'acidità titolabile (AT) si misura attraverso una titolazione acido-base, secondo il principio degli equivalenti chimici. Gli strumenti utilizzati (figura 8) sono: una buretta graduata da 25 ml in cui viene messo il titolante, che è una soluzione di idrossido di sodio (NaOH 0.1 N), un indicatore di viraggio (blu di bromotimolo) un filtro in carta ultrasottile con pori di diametro 20 micron, un becker in vetro di piccole dimensioni in cui effettuare la filtrazione, un becker grande per porvi il

filtrato, una pipetta in vetro da 10 ml, cilindro in vetro graduato. È necessario prima di tutto assicurarsi di aver portato il livello del titolante al valore “zero” nella tacca graduata per vedere poi quanti ml saranno stati usati. Di seguito si spiega il procedimento analitico. Si filtra il mosto e si prelevano 10 ml del filtrato con una pipetta in vetro in precedenza “avvinata” con il mosto e si mettono nel becker grande, in cui vanno aggiunti 20 ml di acqua distillata, che funge da diluente e 2-3 gocce dell’indicatore di viraggio. Il tutto si pone sopra una sorgente luminosa per permettere di apprezzare adeguatamente il colore iniziale e le variazioni cromatiche e si inizia a farvi fluire il titolante. La velocità di deflusso è regolabile tramite un rubinetto posto nella parte bassa della buretta. Quando il titolante inizia a far cambiare di colore la soluzione, si deve rallentare il deflusso fino ad avere gocce singole, per non rischiare di rendere nulla l’analisi a causa di un’eccessiva quantità di soda. Durante il deflusso è di fondamentale importanza mantenere in agitazione la soluzione con il mosto per permettere una rapida diffusione del titolante. Nel momento in cui le singole gocce raggiungono la soluzione si osserva una macchia verde, più o meno scura.

L’analisi termina quando la goccia non forma più una macchia ben definita e la soluzione assume colorazione uniforme, cioè quando è avvenuto il viraggio completo (e quindi si è raggiunto chimicamente, il punto equivalente tra acidi e basi) e la soda ha neutralizzato tutti gli acidi del mosto, andando ad attaccare l’indicatore e determinando un cambiamento permanente del colore (figura 12). Si legge il volume di soda utilizzata e si moltiplica questo per 0,75 (fattore di correzione) ottenendo gli equivalenti di acidità totale, espressi in g/l di acido tartarico (l’acido prevalente nel mosto). Termina così l’analisi di un campione.

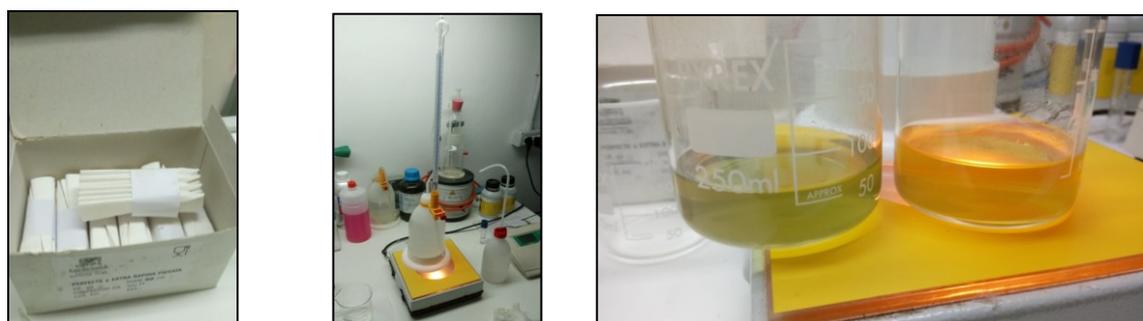


Figura 8. Da sinistra: carta porosa ultrasottile usata per filtrare i mosti; buretta in vetro contenente la soluzione di idrossido di sodio usata per la determinazione dell'acidità titolabile; mosto filtrato diluito con acqua prima dell'effettuazione dell'analisi (in giallo) e lo stesso mosto post-titolazione (in verde) il cui colore verde persistente denota il completo viraggio.

4.7.2.4. Archiviazione dei dati e curve di maturazione

Tutti i dati ottenuti in campo e in laboratorio sono stati in seguito registrati in un archivio informatico ed elaborati per le analisi statistiche. Sono state costruite le rispettive curve di maturazione relative alle diverse tesi, in figure in cui si evidenziano gli andamenti dei parametri di grado zuccherino, acidità titolabile, pH e anche il rapporto zuccheri/acidi. Per l'analisi comparativa degli andamenti di questi parametri tra le tesi, sono stati costruiti figure che rappresentano le curve di maturazione in funzione del tempo cronologico (giorni dal 1 luglio) e del tempo termico, ovvero in funzione dei gradi giorno.

La concentrazione zuccherina più bassa tra le varie tesi all'ultimo campionamento è stata scelta come riferimento per fare un confronto ed evidenziare eventuali differenze di maturazione. Si è visto quando questo valore è stato raggiunto (in termini di tempo cronologico e termico) nelle altre tesi e quali sono i relativi valori di acidità e pH a essi associati, oltre al rapporto zuccheri/acidi.

4.8. VENDEMMIA PER CONFRONTARE LE PRODUZIONI

Gli stessi interpali presi come riferimento per i campionamenti di uva sono stati vendemmiati per poi pesare l'uva raccolta su una bilancia e sottoporre i dati ad analisi statistica. Un campione rappresentativo delle tesi era costituito dall'uva prodotta dalle sei piante dell'interpalo, e in ognuna delle tesi sono stati vendemmiati tre interpali. La vendemmia è stata effettuata il giorno 30 settembre 2019, poiché prima di quel giorno si sono verificati diversi eventi piovosi che hanno impedito l'ingresso in campo. Al termine di tutti i rilievi in campo, i dati sono stati elaborati e sottoposti ad analisi statistica con analisi della varianza (ANOVA) a una via.

Oltre ai dati misurati, sono stati effettuati calcoli per ottenere dei dati derivati, anch'essi sottoposti ad analisi statistica utili all'analisi della vegetazione e del comportamento produttivo; tra questi: numero di tralci per vite, peso medio dei tralci, peso medio del grappolo, produzione per pianta, produzione per ettaro, produzione per tralcio, percentuale di germogli cimati, lunghezza dell'internodo, rapporto uva/legno, rapporto zuccheri/acidi, zuccheri per vite (monte gradi).

4.9. CONFRONTO SUI COSTI RELATIVI ALLA DIFESA NELLE VARIE STRATEGIE

Per effettuare una comparazione indicativa ed evidenziare le differenze sui costi dei trattamenti, sono stati considerati i costi di acquisto dei prodotti delle varie tesi e il costo totale dei trattamenti in campo a fine stagione come somma del costo dei singoli trattamenti, in base alle quantità di prodotto (e principio attivo) necessario per le applicazioni. Il costo totale è stato ottenuto moltiplicando il numero di applicazioni del singolo prodotto per la quantità di prodotto distribuita per ettaro (convertendo le quantità parcellari ed esprimendole come costo all'ettaro per anno) e poi moltiplicandolo per il costo di acquisto dell'unità di prodotto. Il costo che ne deriva è stato poi sottratto ai ricavi totali, ottenibili dalla vendita della quantità media di uva prodotta dalle varie tesi, cioè si è confrontata l'incidenza delle strategie di difesa in termini di riduzione della PLV ottenibile (Produzione Lorda Vendibile). Non sono stati considerati altri costi di produzione visto che tutte le tesi sono state soggette alla stessa tecnica agronomica, ad esclusione dei prodotti e delle strategie testate per seguire lo scopo del presente lavoro.

La PLV è stata ottenuta considerando la produzione media parcellare di ogni tesi, espressa in t/ha e moltiplicata per il prezzo medio di mercato dell'uva prodotta. Il prezzo medio di mercato è stato fissato a 600 €/t (euro per tonnellata di uva), considerando il suo valore potenziale se venisse venduta e non reimpiegata dall'azienda. Tale prezzo considera il fatto che: il Famoso è un vitigno presente in poche aziende; c'è una bassa domanda di uva per la vinificazione; l'uva è vendemmiata a mano; è vinificabile come IGT (Indicazione Geografica Tipica); il prezzo dell'uva vendemmiata a mano nella zona oscilla tra i 400 e i 900 €/t. Si è infine ottenuto per ogni tesi un Δ PLV (PLV – costo della strategia della tesi).

5. RISULTATI

5.1. DATI METEO

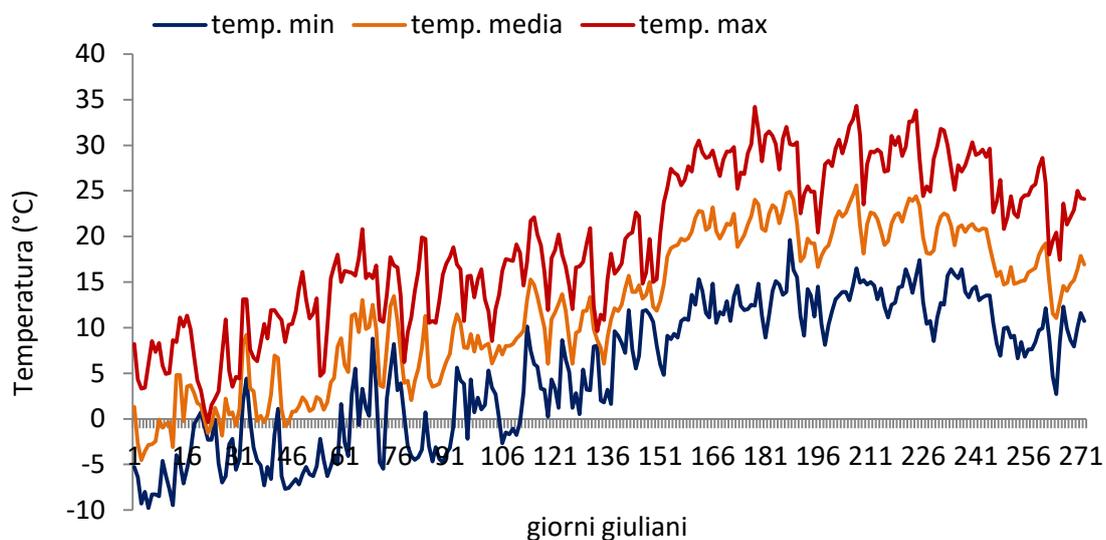


Figura 9. Andamento delle temperature minime, medie e massime dal primo gennaio al 30 settembre 2019 (stazione termometrica di Gallo).

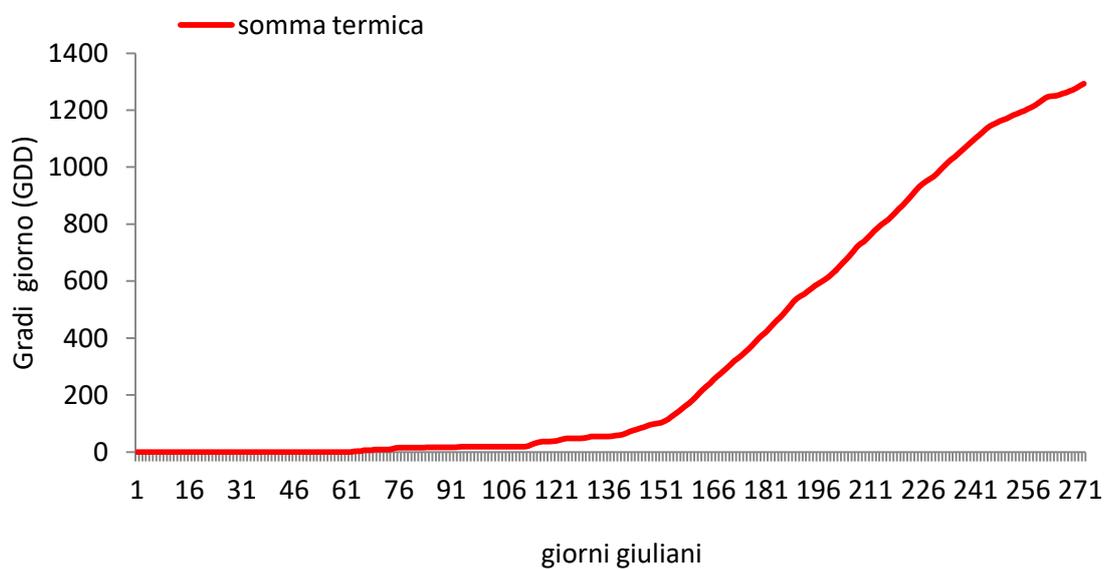


Figura 10. Sommatorie termiche attive espresse in gradi giorno, è la somma giornaliera dell'indice di Amerine e Winkler.

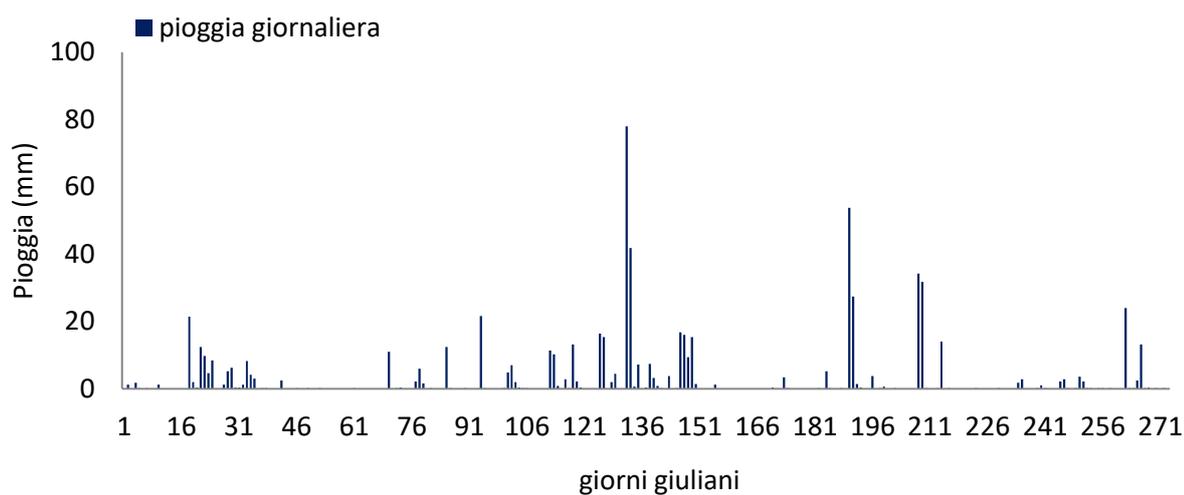


Figura 11. Precipitazioni cumulate giornaliere.

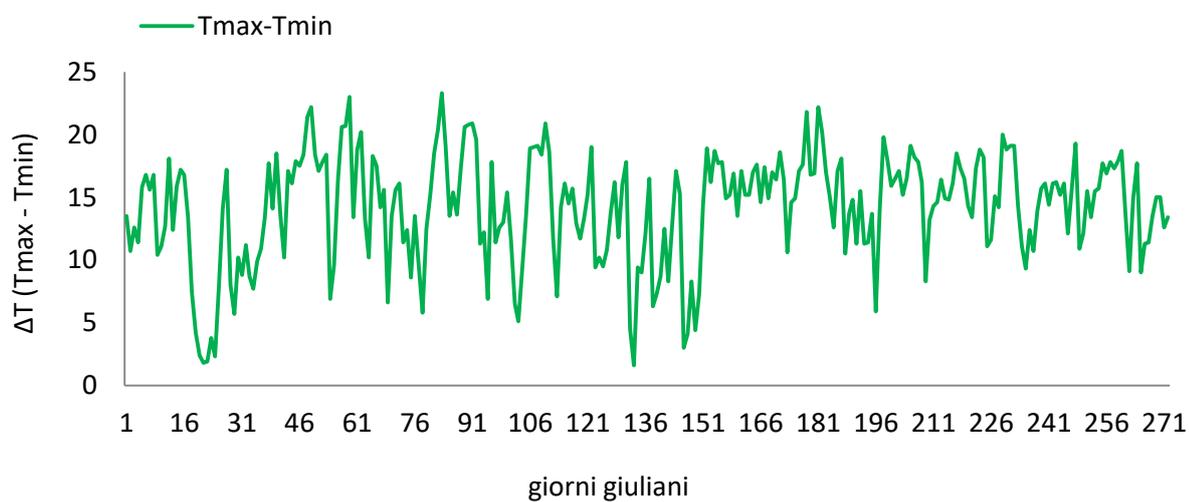


Figura 12. Escursione termica giornaliera.

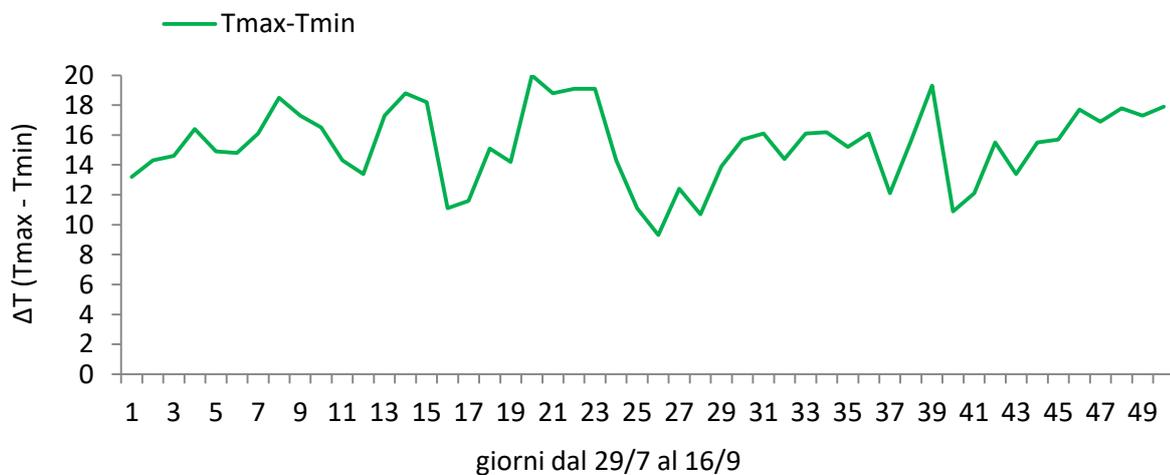


Figura 13. Escursione termica giornaliera nel periodo di maturazione.

La serie di figure 9-14 mostrano gli andamenti di temperature, somma termica, precipitazioni ed escursione termica. Si sono verificate 30 giornate in cui la temperatura massima ha superato i 30°C e non si è registrata nessuna giornata con temperatura superiore a 35°C, quindi non ci sono state giornate estive predisponenti lo stress termico da temperature elevate per la vite. Si è registrata una sommatoria termica totale di 1293,21 gradi giorno.

Il giorno con minore escursione termica è stato il 13 maggio 2019, con una differenza di 1,6°C, mentre il giorno con maggiore escursione termica è stato il 24 marzo, con una differenza di 23,3°C. Il 17 agosto 2019 si è verificata la più ampia differenza tra le temperature massima e minima giornaliera del periodo che va dalla pre-invaiaitura alla raccolta, con un'escursione termica di 20°C, mentre l'escursione termica più bassa (9,3) si è verificata il 23 agosto.

Tabella 5. Riepilogo degli eventi piovosi mensili e delle rispettive quantità di pioggia nel periodo d'indagine (dal primo gennaio al 30 settembre).

Mese	Eventi piovosi (n.)	Pioggia mensile (mm)
Gennaio	17	77,0
Febbraio	10	20,0
Marzo	11	34,6
Aprile	17	77,8
Maggio	20	240,8
Giugno	4	5,2
Luglio	15	159,8
Agosto	10	20,8
Settembre	20	53,2
Totale	124	689,2
Intervallo: 273 giorni Giorni con > 10 mm (dal 1/4): 18 % giorni con > 10 mm (dal 1/4): 6,6%		

Nel periodo esaminato (1 gennaio - 30 settembre) è stato registrato un totale di 689,2 mm di pioggia in 124 eventi piovosi (tabella 5). Il 45% delle giornate è stato caratterizzato da almeno un evento piovoso; dal 22 aprile al 4 giugno si è verificato un periodo di piogge frequenti con intervallo massimo di quattro giorni tra queste. Il 12 maggio si è verificato l'evento piovoso più intenso, con 78 mm di pioggia caduti in ventiquattro ore, seguiti da 41,8 mm il 13 maggio. Maggio è stato il mese con la maggiore quantità di pioggia, registrando un totale di 240,8 mm, seguito da luglio con 159,8 mm; nel mese di luglio si sono verificati eventi piovosi in 15/31 giornate; maggio e settembre sono stati i mesi con il maggior numero di eventi piovosi, venti giornate ciascuno. Giugno è stato il mese meno piovoso, con 5,2 mm.

Dal primo aprile si sono verificati diciotto eventi piovosi (pari al 6,59% dei giorni) con almeno 10 mm di pioggia caduti nelle ventiquattro ore, con una temperatura media dell'aria uguale o superiore a 10°C e a germogliamento avvenuto e con germogli di lunghezza uguale o >10 cm, cioè 18 giornate in cui è stata soddisfatta la "regola dei tre 10" del modello di stima per la previsione d'inizio infezione di peronospora della vite (alto rischio infettivo).

5.2. CRESCITA VEGETATIVA

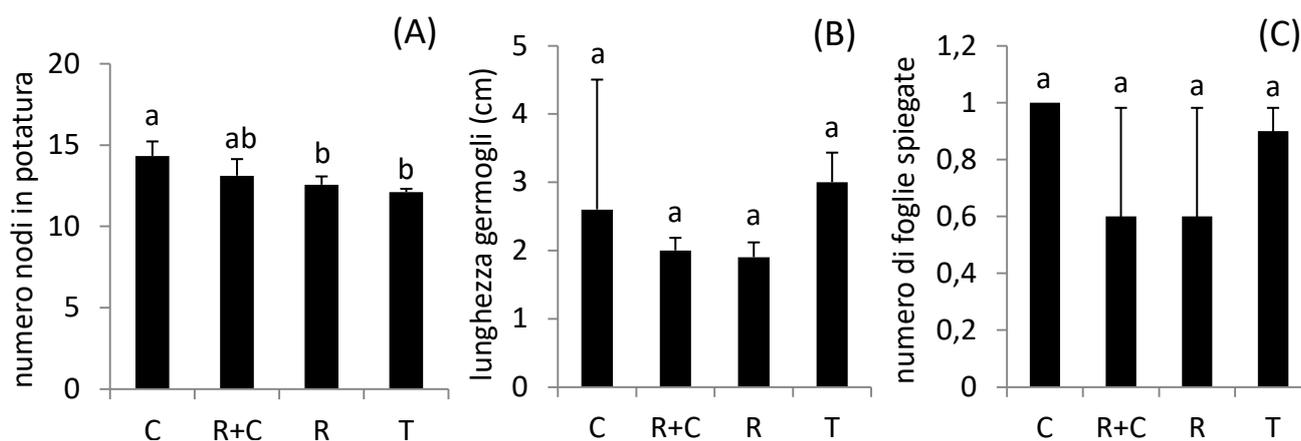


Figura 14. Risultati del primo rilievo su: numero di nodi lasciati in potatura (A), lunghezza (B) e numero di foglie dei germogli (C). Fase di pre-germogliamento (giorno 105).

Dai risultati del primo rilievo (figura 14), effettuato il 15 aprile (giorno 105), si evidenzia che in potatura è stato lasciato un numero di nodi superiore nei filari che sarebbero stati poi trattati con chitosano, mentre in quelli relativi alla tesi trattata con rame e al testimone non trattato è stato lasciato un numero di nodi significativamente inferiore. Non essendo stato fatto nessun trattamento alla data suddetta, l'analisi del risultato è utile a individuare eventuali differenze iniziali, interne al sito d'indagine tra i vari filari.

La lunghezza media dei germogli e il numero medio di foglie per germoglio alla data del 15 aprile sono risultati abbastanza omogenei per tutte le viti da sottoporre ai diversi trattamenti (assenza di differenze statisticamente significative) nonostante la diversità a carico di nodi che erano stati lasciati con la potatura invernale. I valori medi più bassi per questi due parametri sono stati registrati nei filari delle tesi successivamente trattate con rame e rame + chitosano. Inoltre, confrontando questi dati con quelli del numero di foglie per germoglio del rilievo successivo (24 aprile) si presume che il germogliamento sia avvenuto tra il 16 e il 17 aprile (vedi in seguito), poiché il giorno 15 aprile solo il 43,8% degli organi rilevati erano considerabili come germogli, in quanto avevano almeno una foglia spiegata, mentre al rilievo successivo il germogliamento era completo. Si ritiene necessario precisare che il termine "germoglio" è stato usato convenzionalmente per semplificare la trattazione di questi primi risultati, nonostante non si possano considerare tutti germogli.

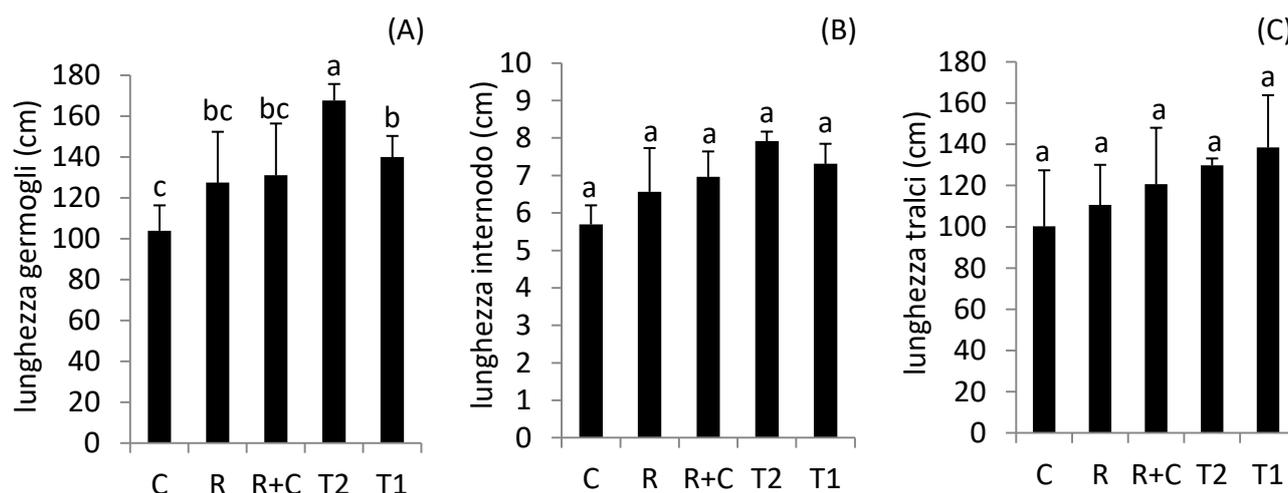


Figura 15. Parametri di confronto tra le tesi ad allegagione avvenuta (giorno 168) e in potatura: lunghezza dei germogli (A), lunghezza dell'internodo (B), lunghezza dei tralci (C).

Dai risultati relativi al rilievo effettuato il giorno 17 giugno (giorno 168, figura 15), in fase di post-allegagione, per quanto riguarda la lunghezza media dei germogli si registrano differenze significative tra le tesi trattate da un lato e il testimone non trattato T2 dall'altro. Occorre tuttavia rilevare che anche il testimone T1, analogamente a quanto accaduto per le viti trattate, presenta germogli più corti del testimone T2. I valori più elevati si sono registrati in T2 mentre i valori più bassi sono relativi alla tesi trattata con chitosano, che è significativamente più bassa dei due testimoni non trattati. Per quanto riguarda la lunghezza media dell'internodo, non sono state registrate differenze significative tra le tesi trattate e i controlli non trattati, in quanto i germogli più corti erano caratterizzati da un numero di foglie emesse leggermente inferiore.

Il rilievo effettuato in inverno, al momento della potatura di produzione, non ha fatto registrare differenze significative tra le tesi trattate e i controlli non trattati per quanto attiene la lunghezza media dei tralci, sebbene le viti trattate tendano ad avere tralci leggermente più corti.

5.2.1. CURVE DI CRESCITA

Sono presentate le curve di crescita della vegetazione delle tesi a confronto, nel periodo che va dal germogliamento all'allegagione; rappresentano l'evoluzione dei parametri di lunghezza dei germogli (A, B) e di numero di foglie per germoglio (C, D), entrambi espressi in funzione del tempo cronologico e termico; T1 è la parte di testimone a filari corti, T2 è quella a filari lunghi.

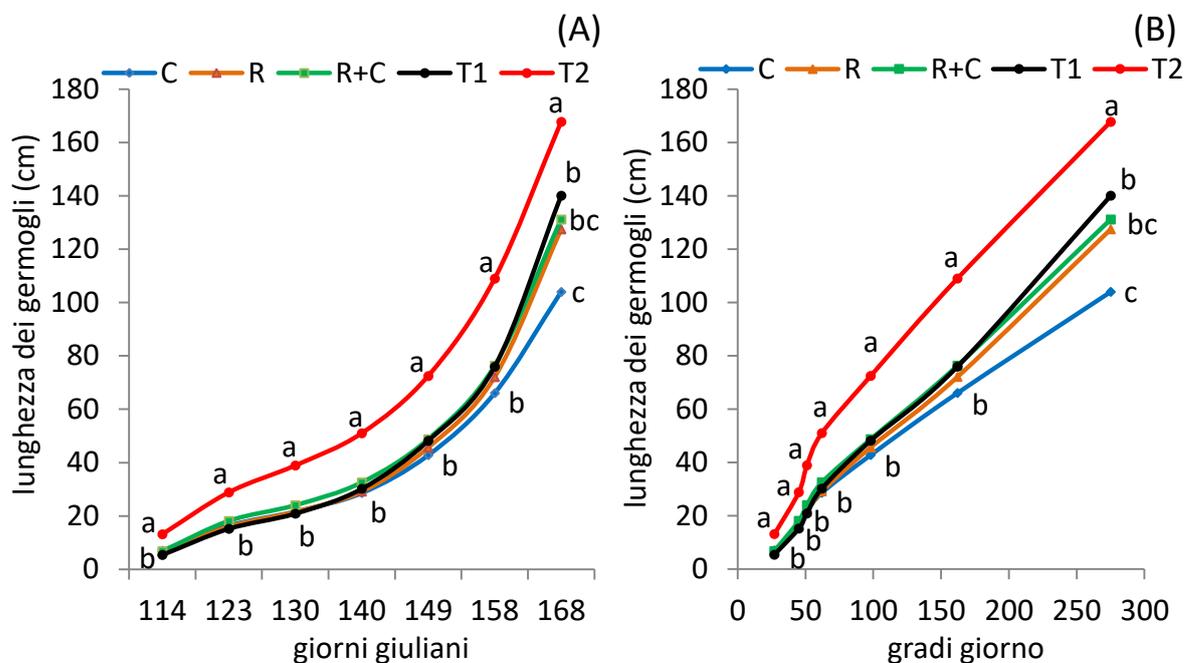


Figura 16. Curve di crescita relative alla lunghezza dei germogli in funzione del tempo cronologico (A) e termico (B).

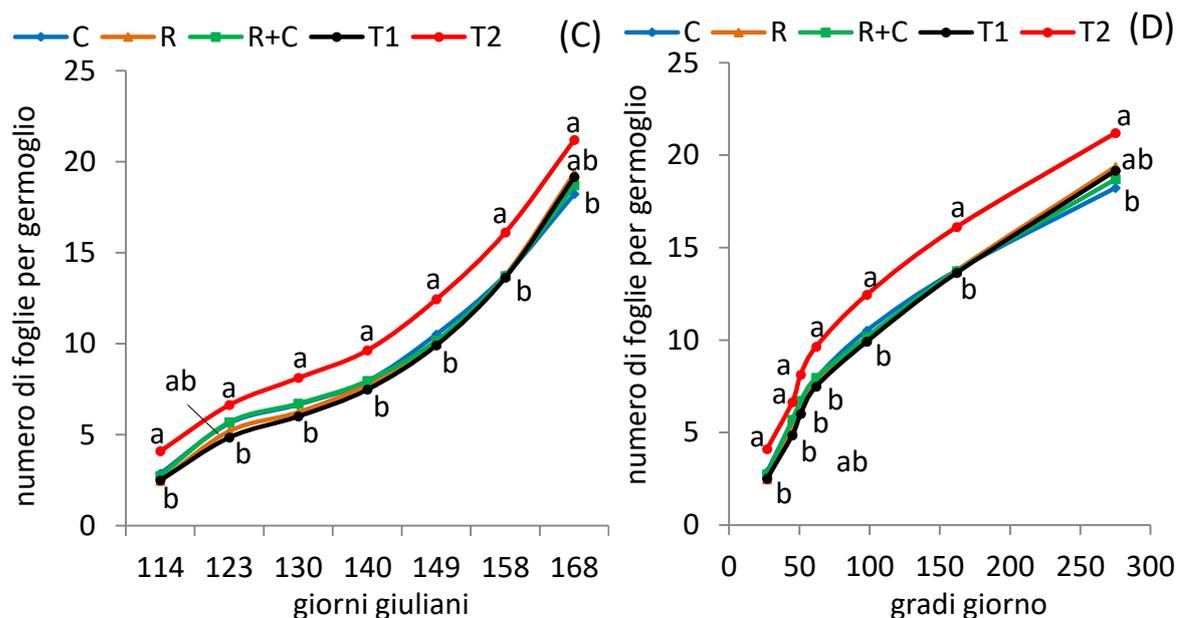


Figura 17. Curve di crescita relative al numero di foglie per germoglio in funzione del tempo cronologico (C) e termico (D).

Per quanto riguarda le curve di crescita della vegetazione (figure 16 e 17) si hanno risultati analoghi per l'evoluzione dei parametri di lunghezza dei germogli e di numero di foglie per germoglio. Considerando tutto il periodo di crescita vegetativa analizzato si può notare che il testimone T2 non trattato ha fatto registrare sempre i valori più alti per entrambi i parametri, mentre il testimone non trattato T1 ha presentato un comportamento analogo a quello delle tesi trattate. Le differenze tra le tesi hanno raggiunto la soglia della significatività statistica solo verso la fine del periodo di rilievo, ovvero tra la pre-fioritura e la post-allegazione, quando i valori della lunghezza media dei germogli e del numero di foglie per germoglio delle tesi trattate si sono maggiormente discostati tra loro.

In merito ai rilievi del 17 giugno (giorno 168) il testimone non trattato T2 ha registrato i valori statisticamente più alti rispetto alle altre tesi per entrambi i parametri, mentre la tesi trattata con chitosano ha registrato i valori più bassi, statisticamente inferiori alle altre tesi solo per quanto riguarda la lunghezza dei germogli. La tesi trattata con chitosano ha determinato nel complesso un rallentamento della crescita.

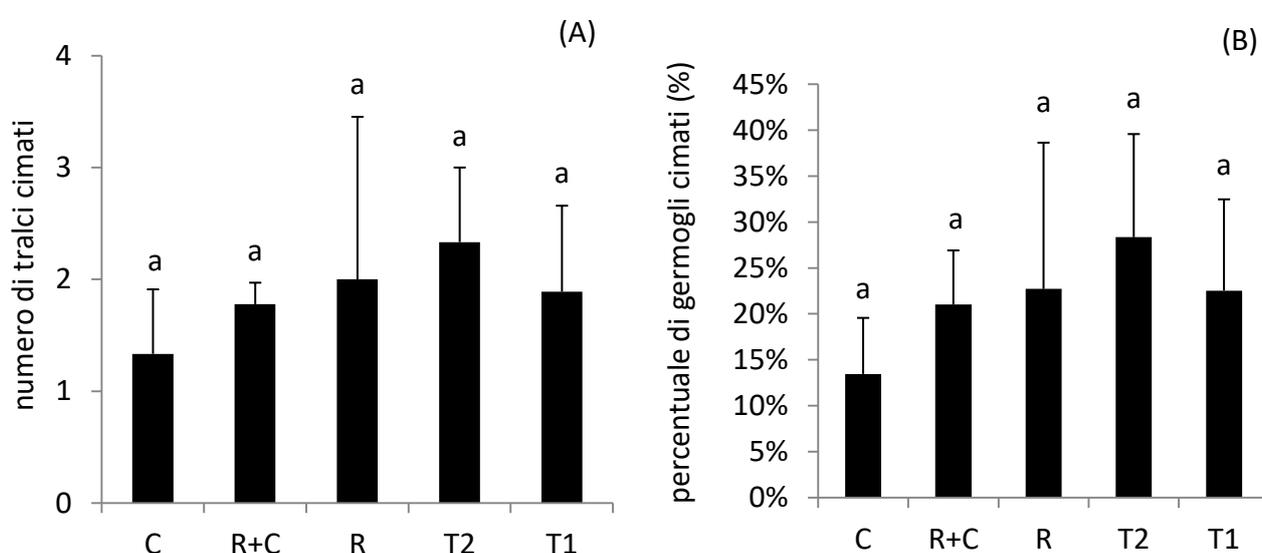


Figura 18. Numero (A) e percentuale (B) di germogli cimati tra le varie tesi e il controllo.

Per quanto riguarda il numero di tralci cimati (figura 18) non ci sono differenze significative tra le tesi e il testimone non trattato. Considerando i tre trattamenti a confronto, il valore più alto si registra nella tesi trattata con rame e quello più basso è relativo alla tesi trattata con chitosano; vengono mediamente cimati da 1 a 3 germogli per vite. La cimatura, verificata con rilievo sui tralci

durante il riposo invernale, è stata effettuata dopo l'ultimo rilievo di giugno sulla vegetazione in crescita. Non si evidenziano differenze significative anche in merito alla percentuale di germogli cimati, con un range di valori del 7-20% nel caso della tesi trattata con chitosano e del 14-40% circa nel caso della tesi trattata con rame e nel testimone T2, nei quali si registra la maggiore variabilità del dato.

5.3. INCIDENZA DI PERONOSPORA DELLA VITE

I risultati dei rilievi di peronospora sulla vegetazione sono presentati singolarmente per ogni data di sopralluogo attraverso una serie di figure che rappresenta i tre parametri analizzati: da sinistra: gravità (A), diffusione (B), indice di McKinney (C). Ai risultati sull'incidenza di peronospora sui grappoli seguono quelli su foglie.

5.3.1. Peronospora su grappoli

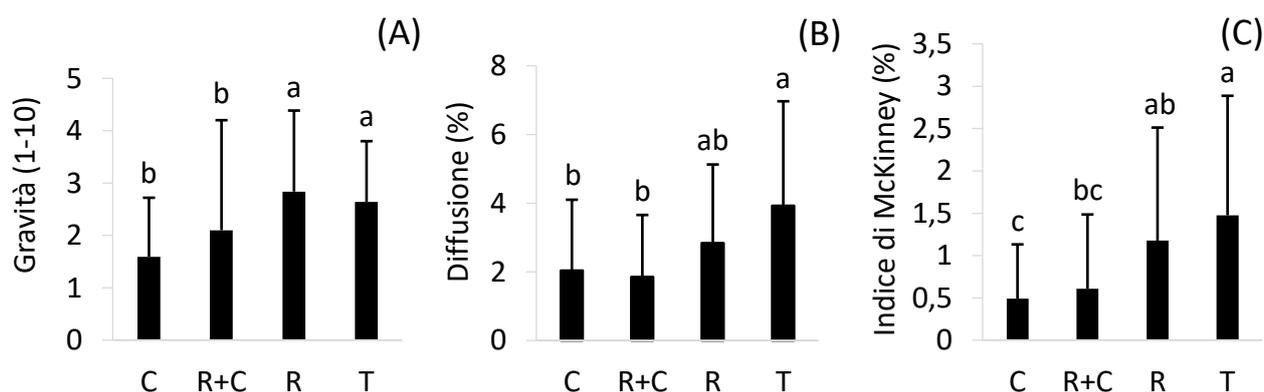


Figura 19. Incidenza di peronospora della vite sui grappoli. Rilievo del 25 giugno.

Nel rilievo effettuato il giorno 25 giugno sui grappoli (figura 19), per quanto riguarda la gravità le tesi trattate con chitosano e rame + chitosano hanno mostrato valori significativamente più bassi rispetto al testimone non trattato e a quella trattata con rame. Il valore più basso è stato registrato per la tesi trattata con chitosano, mentre il rame (aziendale) non è risultato significativamente diverso dal non trattato. Risultato analogo per il parametro della diffusione, a differenza del fatto che il valore di gravità più basso è relativo alla tesi trattata con chitosano, mentre il valore di diffusione più basso è relativo alla tesi trattata con rame + chitosano. Per quanto riguarda l'indice di McKinney le tesi trattate con chitosano e rame + chitosano hanno

mostrato valori significativamente più bassi rispetto al non trattato, registrando il valore più basso nella tesi trattata con chitosano.

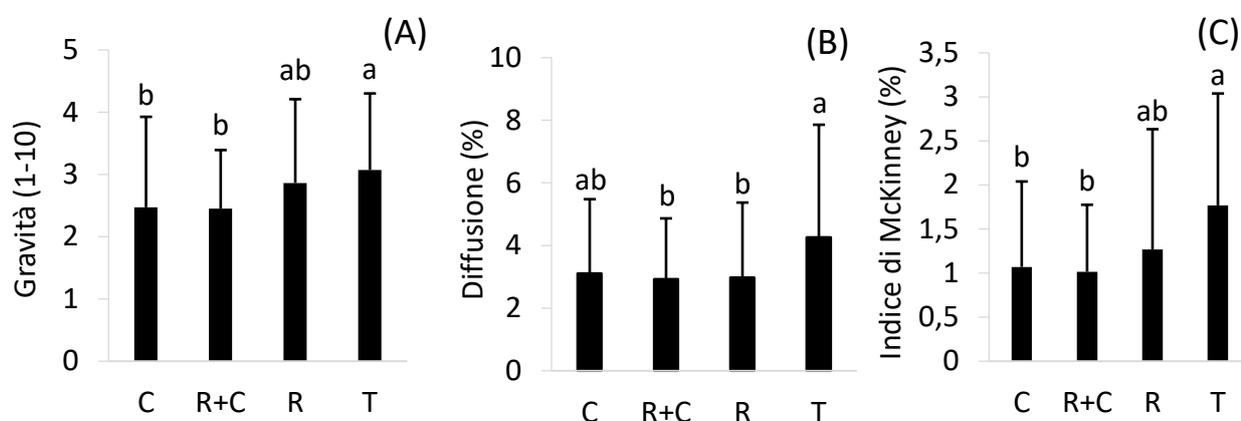


Figura 20. Incidenza di peronospora della vite sui grappoli. Rilievo del 19 luglio.

Nel rilievo effettuato il giorno 19 luglio sui grappoli (figura 20), per i parametri di gravità e indice di McKinney le tesi trattate con chitosano e rame + chitosano hanno mostrato valori significativamente più bassi rispetto al testimone non trattato, invece per quanto riguarda la diffusione, le tesi trattate con rame e rame + chitosano sono risultate significativamente diverse rispetto al testimone non trattato, mostrando valori più bassi.

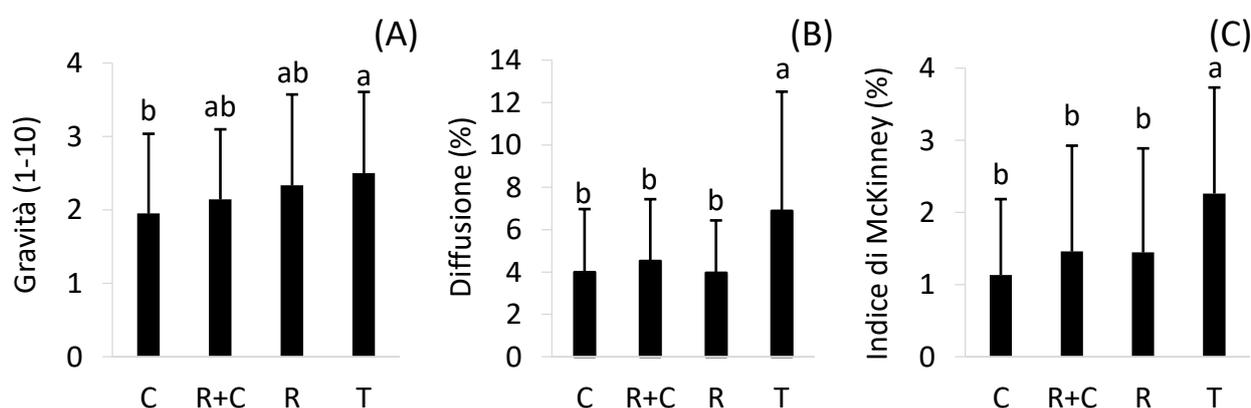


Figura 21. Incidenza di peronospora della vite sui grappoli. Rilievo del 16 agosto.

Nel rilievo effettuato il giorno 16 agosto sui grappoli (figura 21), per quanto riguarda la gravità solo la tesi trattata con chitosano si è differenziata significativamente rispetto al testimone non trattato, mostrando il valore più basso; mentre per i parametri di diffusione e indice di McKinney si registrano risultati analoghi in quanto tutte e tre le tesi trattate sono risultate

significativamente diverse dal non trattato, con valori di malattia più bassi. Per il parametro di diffusione il valore più basso si è registrato nella tesi trattata con rame (aziendale), mentre per l'indice di McKinney il valore più basso risulta nella tesi trattata con chitosano.

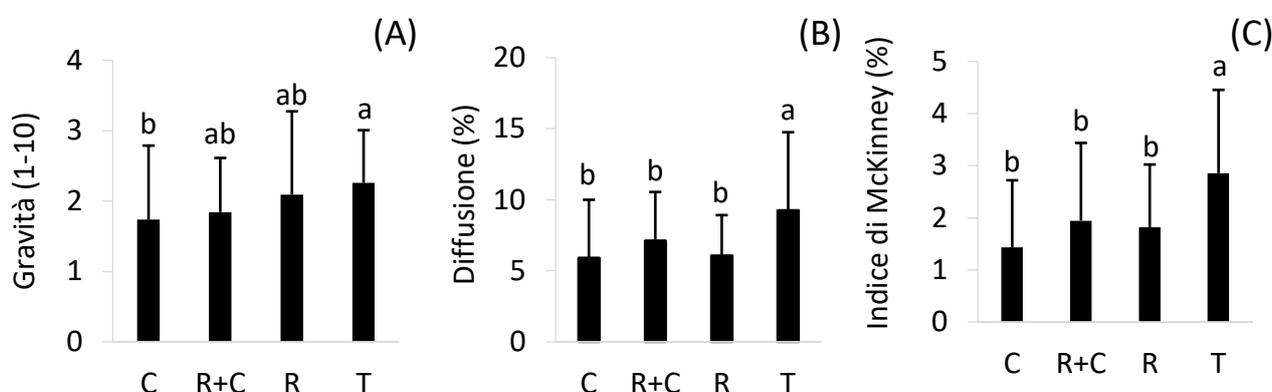


Figura 22. Incidenza di peronospora della vite sui grappoli. Rilievo del 13 settembre.

Nel rilievo effettuato il giorno 13 settembre sui grappoli (figura 22), per quanto riguarda la gravità solo la tesi trattata con chitosano ha mostrato valori significativamente più bassi rispetto al non trattato; mentre per i parametri di diffusione e indice di McKinney tutte e tre le tesi trattate si sono distinte dal testimone non trattato mostrando valori significativamente più bassi. Per quanto riguarda la diffusione si è registrato il valore più basso nella tesi trattata con rame (aziendale), mentre per l'indice di McKinney il valore più basso è relativo alla tesi trattata con chitosano.

5.3.2. Peronospora su foglie

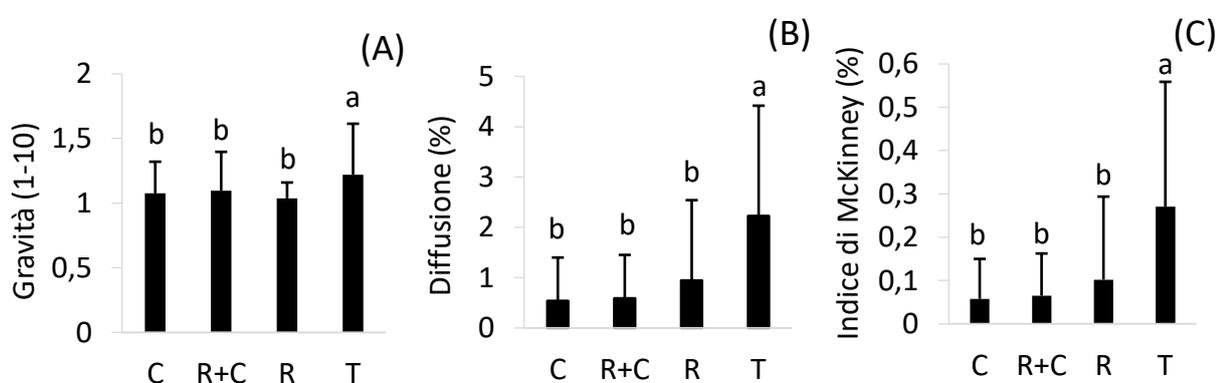


Figura 23. Incidenza di peronospora della vite sulle foglie. Rilievo del 19 giugno.

Nel rilievo effettuato sulle foglie il giorno 19 giugno (figura 23) sono stati registrati, per tutti i tre parametri considerati, valori significativamente più bassi nelle tesi trattate con chitosano, rame + chitosano e rame, rispetto al testimone non trattato. Per quanto riguarda la gravità i valori più bassi si sono registrati nella tesi trattata con rame (aziendale), mentre per la diffusione e l'indice di McKinney i valori più bassi si sono registrati nella tesi trattata con chitosano.

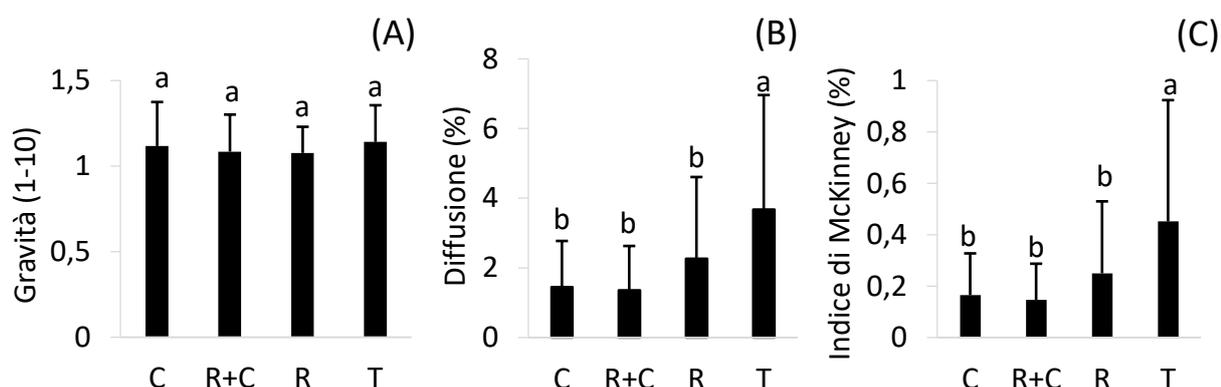


Figura 24. Incidenza di peronospora della vite sulle foglie. Rilievo del 25 giugno.

Nel rilievo effettuato sulle foglie il giorno 25 giugno (figura 24) non sono state registrate differenze significative tra i trattamenti per quanto riguarda la gravità; per i parametri di diffusione e indice di McKinney le tre tesi trattate sono risultate significativamente diverse rispetto al testimone non trattato e la tesi trattata con rame + chitosano ha mostrato i valori più bassi.

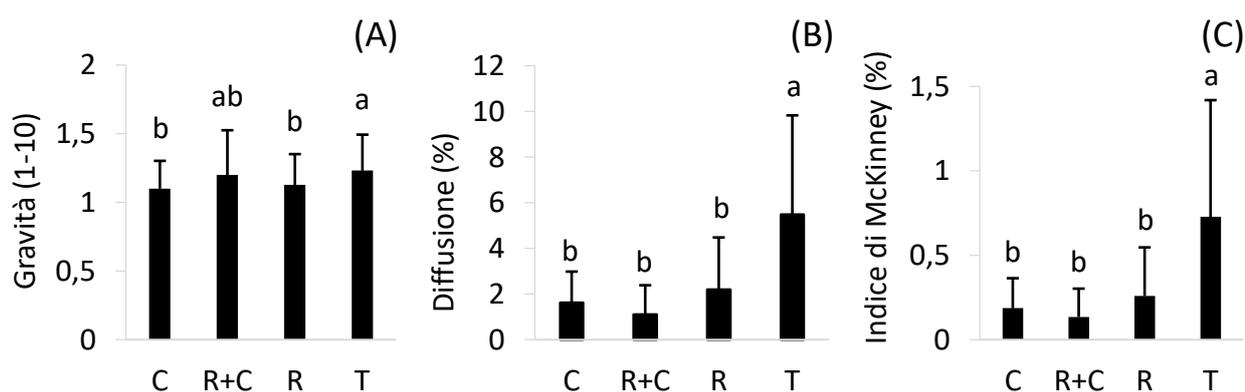


Figura 25. Incidenza di peronospora della vite sulle foglie. Rilievo del 19 luglio.

Nel rilievo effettuato sulle foglie il giorno 19 luglio (figura 25), per quanto riguarda la gravità il trattamento con rame + chitosano non è risultato significativamente diverso dal testimone, mentre hanno mostrato valori significativamente più bassi del testimone le tesi trattate

con chitosano e rame (aziendale). Per quanto riguarda i parametri di diffusione e indice di McKinney le tre tesi trattate sono risultate significativamente diverse dal testimone non trattato, con valori di malattia più bassi.

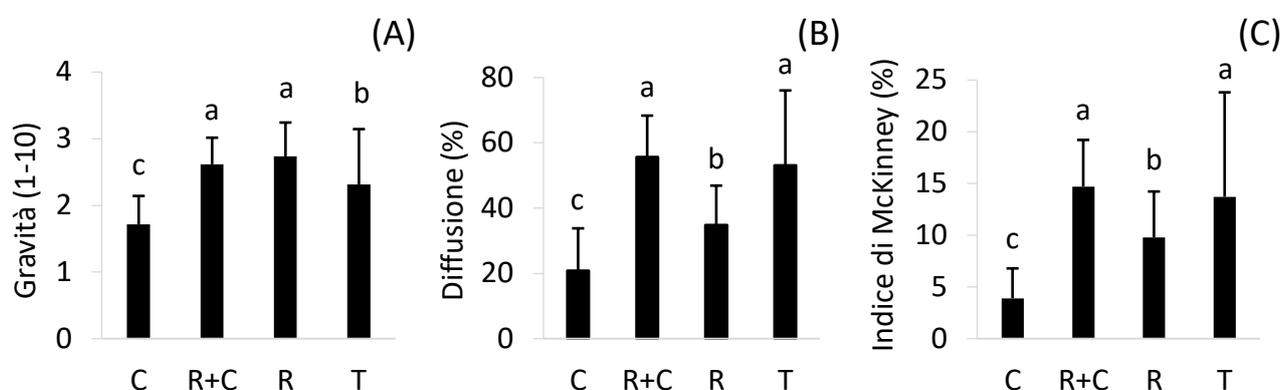


Figura 26. Incidenza di peronospora della vite sulle foglie. Rilievo del 16 agosto.

Nel rilievo effettuato sulle foglie il giorno 16 agosto (figura 26), per quanto riguarda la gravità i tre trattamenti sono risultati significativamente diversi dal testimone, i valori più bassi si sono registrati nella tesi trattata con chitosano, mentre i valori più alti si sono registrati nelle tesi trattate con rame + chitosano e rame (aziendale), entrambi con valori di gravità significativamente superiori al testimone non trattato. Per quanto riguarda i parametri di diffusione e indice di McKinney la tesi trattata con rame + chitosano non è risultata significativamente diversa dal testimone, mentre hanno mostrato valori significativamente più bassi rispetto al testimone non trattato le tesi trattate con chitosano e rame (aziendale); nella tesi trattata con chitosano si sono registrati i valori più bassi per entrambi i parametri.

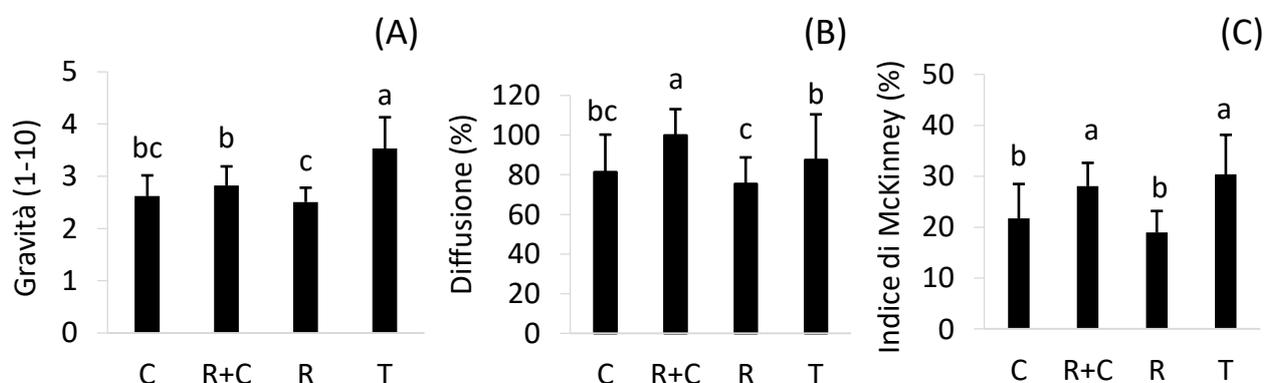


Figura 27. Incidenza di peronospora della vite sulle foglie. Rilievo del 13 settembre.

Nel rilievo effettuato il giorno 13 settembre sulle foglie (figura 27) sono stati registrati valori di gravità significativamente più bassi nelle tre tesi trattate, rispetto al testimone non trattato. Nella tesi trattata con solo rame si sono registrati i valori più bassi. Per quanto riguarda la diffusione, i valori più bassi rispetto al testimone non trattato sono stati registrati nella tesi trattata con rame (aziendale); i valori più elevati sono stati registrati nella tesi trattata con rame + chitosano, che si è distinta significativamente dal testimone. Per quanto riguarda l'indice di McKinney le tesi trattate con chitosano e rame (aziendale) hanno mostrato valori significativamente più bassi rispetto al testimone non trattato, mentre la tesi trattata con rame + chitosano non è risultata significativamente diversa dal testimone.

5.4. EVOLUZIONE DEI PARAMETRI DI MATURAZIONE DELLE UVE

I risultati delle analisi delle uve in maturazione sono presentati singolarmente per ogni data di prelievo con una serie di figure che riportano i tre parametri analizzati, cioè da sinistra gli zuccheri (A), l'acidità titolabile (B), il pH (C).

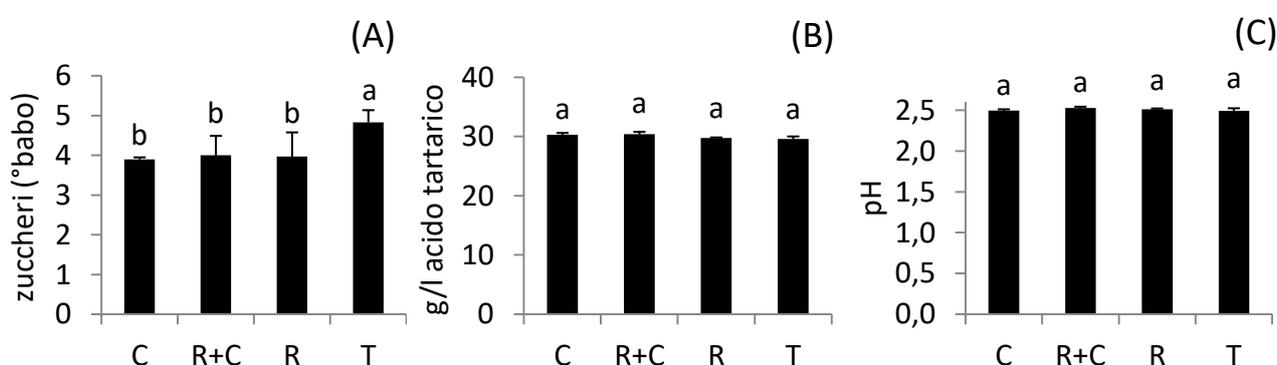


Figura 28. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 29 luglio.

Dalla prima analisi dei mosti delle uve effettuata il giorno 29 luglio (figura 28), per quanto riguarda il parametro zuccheri si rileva una differenza significativa delle tre tesi trattate rispetto al testimone non trattato; mentre per i parametri di acidità titolabile e pH non risulta una differenza significativa tra le tesi.

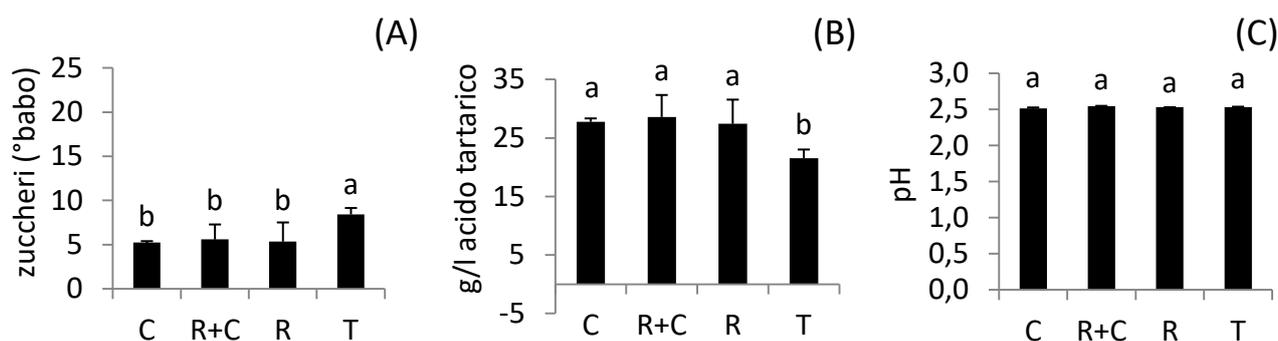


Figura 29. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 5 agosto.

Dalla seconda analisi dei mosti delle uve effettuata il giorno 5 agosto (figura 29), per quanto riguarda i parametri zuccheri e acidità titolabile si rileva una differenza significativa delle tre tesi trattate rispetto al testimone non trattato; il testimone non trattato rappresenta il valore più alto per il parametro zuccheri e il valore più basso nel parametro acidità. Per quanto riguarda il parametro pH non si rilevano differenze significative tra le tesi.

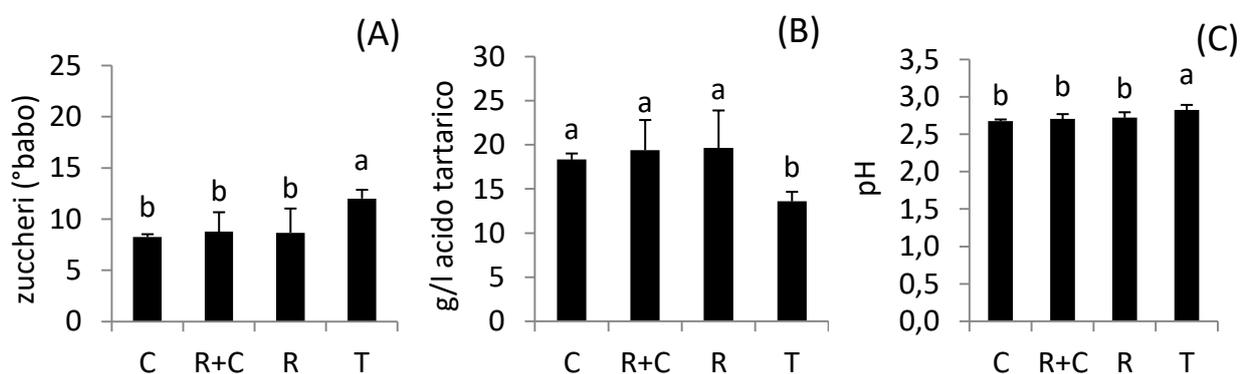


Figura 30. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 12 agosto.

Dalla terza analisi dei mosti delle uve effettuata il giorno 12 agosto (figura 30), per tutti i tre parametri si registrano differenze significative di tutte e tre le tesi trattate rispetto al testimone non trattato. I valori più dei parametri zuccheri e pH corrispondono al testimone, su cui si registra anche il valore più basso di acidità.

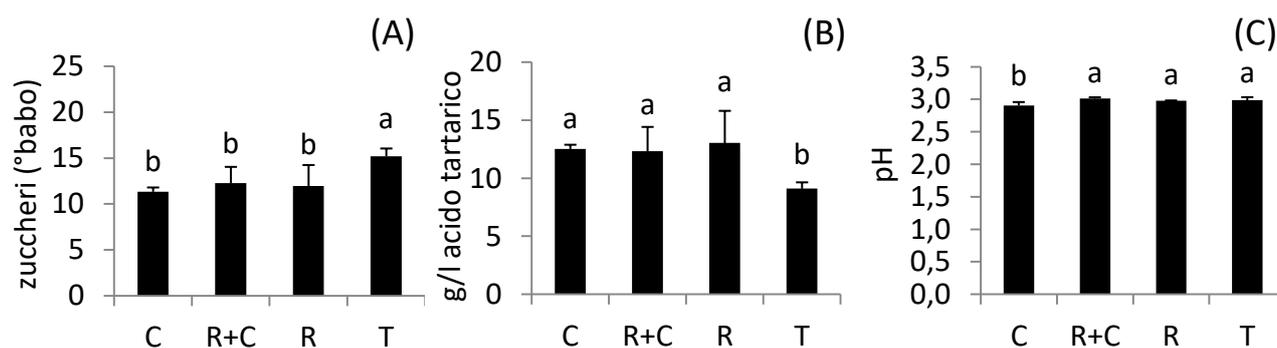


Figura 31. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 19 agosto.

Dalla quarta analisi delle uve effettuata il giorno 19 agosto (figura 31), per quanto riguarda i parametri zuccheri e acidità titolabile si registrano differenze significative per tutte e tre le tesi trattate rispetto al testimone non trattato, il cui valore risulta il più alto per gli zuccheri e il più basso per l'acidità. Per quanto riguarda il parametro pH, solo la tesi trattata con chitosano risulta significativamente diversa dal testimone non trattato, registrando il valore più basso.

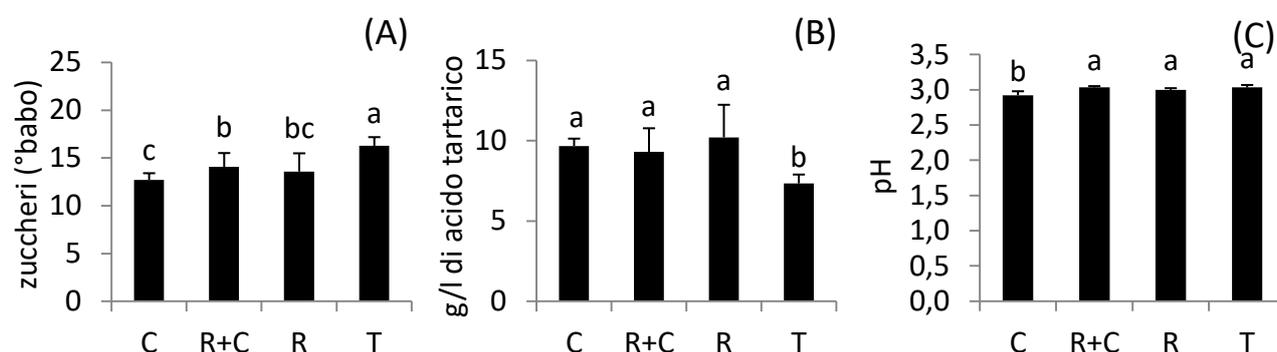


Figura 32. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 26 agosto.

Dalla quinta analisi delle uve effettuata il giorno 26 agosto (figura 32), per i parametri zuccheri e acidità titolabile si registrano differenze significative per tutte e tre le tesi trattate rispetto al testimone non trattato. Per quanto riguarda il parametro zuccheri, il valore più basso si registra per la tesi trattata con chitosano, mentre l'acidità più bassa si registra nel testimone. La tesi trattata con chitosano è l'unica ad essere significativamente diversa dal testimone non trattato per quanto riguarda il parametro pH, di cui risulta anche il valore più basso.

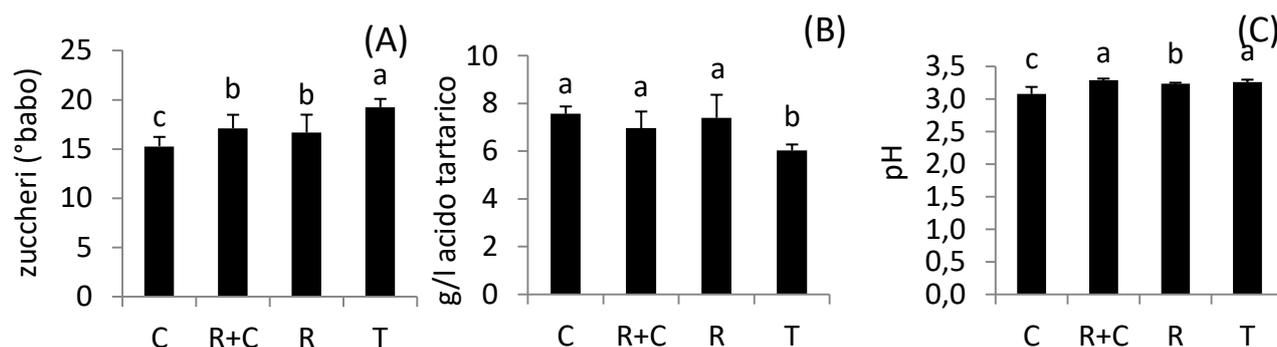


Figura 33. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 9 settembre.

Dalla sesta analisi delle uve effettuata il giorno 9 settembre (figura 33), per quanto riguarda il parametro zuccheri, tutte le tre tesi trattate risultano significativamente diverse rispetto al testimone non trattato e il valore più basso si registra nella tesi trattata con chitosano, significativamente più bassa anche rispetto alle tesi trattate con rame + chitosano e rame; per quanto riguarda il parametro acidità titolabile tutte le tre tesi trattate hanno registrato differenze significative rispetto al non trattato. I valori di pH delle tesi trattate con chitosano e rame (aziendale) risultano significativamente diversi dal testimone non trattato e il più basso è quello relativo al trattamento con chitosano, mentre la tesi trattata con rame + chitosano non è significativamente diversa dal non trattato.

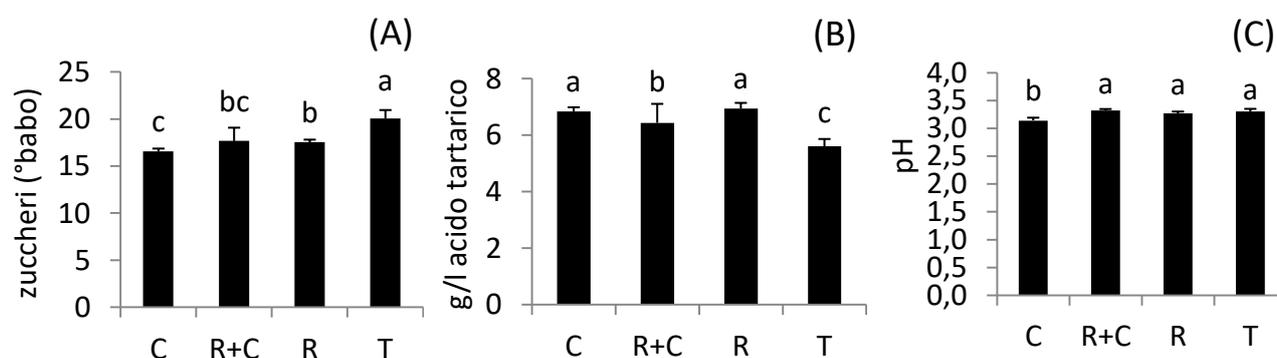


Figura 34. Parametri di maturazione delle uve. Analisi del 16 settembre.

Dalla settima e ultima analisi delle uve effettuata il giorno 16 settembre (figura 34), per quanto riguarda il parametro zuccheri si registrano differenze significative per tutte e tre le tesi trattate rispetto al testimone non trattato. Per quanto riguarda il parametro di acidità titolabile, tutte le tesi trattate sono risultate significativamente diverse dal testimone non trattato, che registra il valore più basso; inoltre per lo stesso parametro la tesi trattata con rame + chitosano è

significativamente più bassa rispetto alle altre due tesi trattate. Considerando il parametro pH, la sola tesi trattata con chitosano è risultata significativamente diversa dal testimone non trattato, registrando anche il valore più basso.

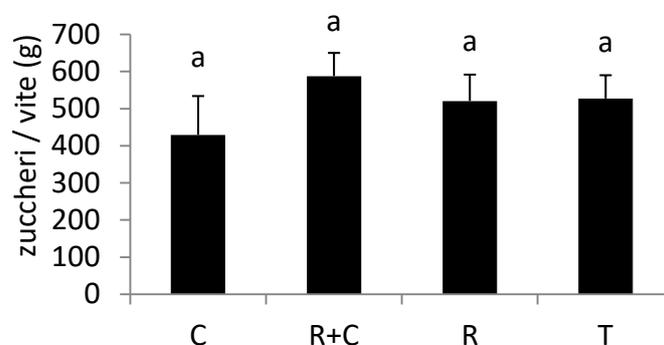


Figura 35. Monte gradi espresso come grammi di zuccheri per pianta, nelle varie tesi.

Non si registrano differenze significative tra le tesi e i controlli non trattati per quanto riguarda il monte gradi, tuttavia la tesi trattata con chitosano mostra valori tendenzialmente più bassi (figura 35).

5.4.1. Curve di maturazione e riepilogo analisi delle uve

Di seguito sono presentate le figure che rappresentano le curve di andamento dei parametri di maturazione delle uve: zuccheri (A1, A2), rapporto zuccheri/acidi (B1, B2), acidità titolabile (C1, C2), pH (D1, D2); tali parametri sono espressi in funzione del tempo cronologico e termico.

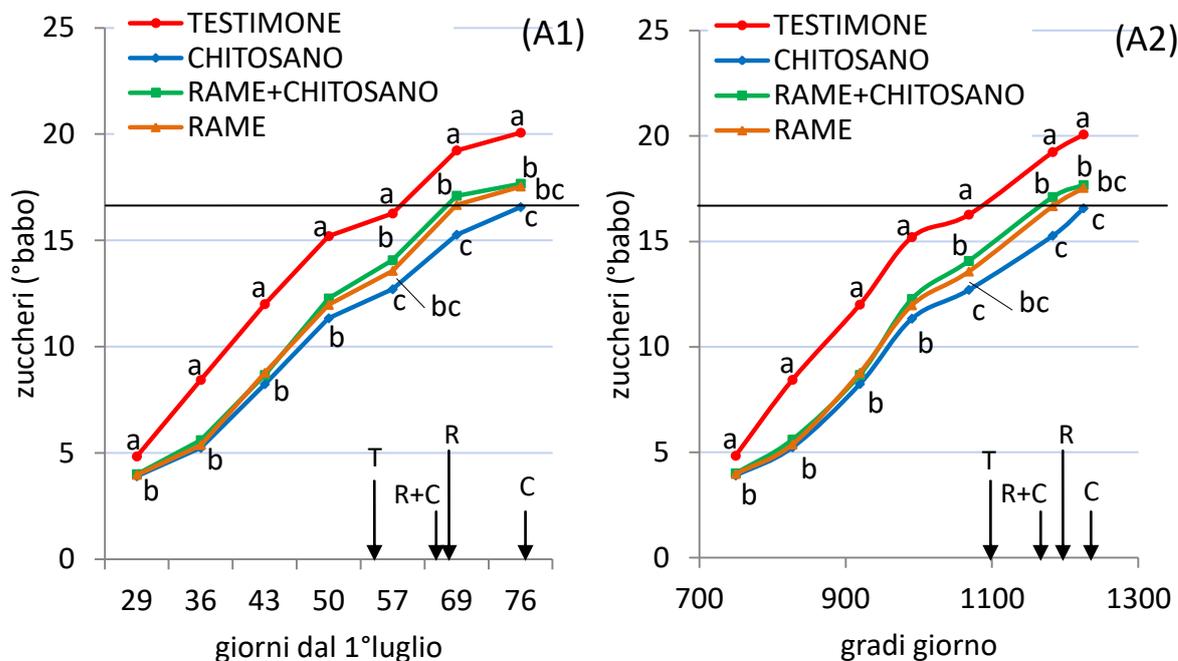


Figure 36. Andamento del tenore zuccherino delle uve, espresso in funzione del tempo cronologico (A1) e termico (A2). Sono indicate le differenze significative ad ogni rilievo.

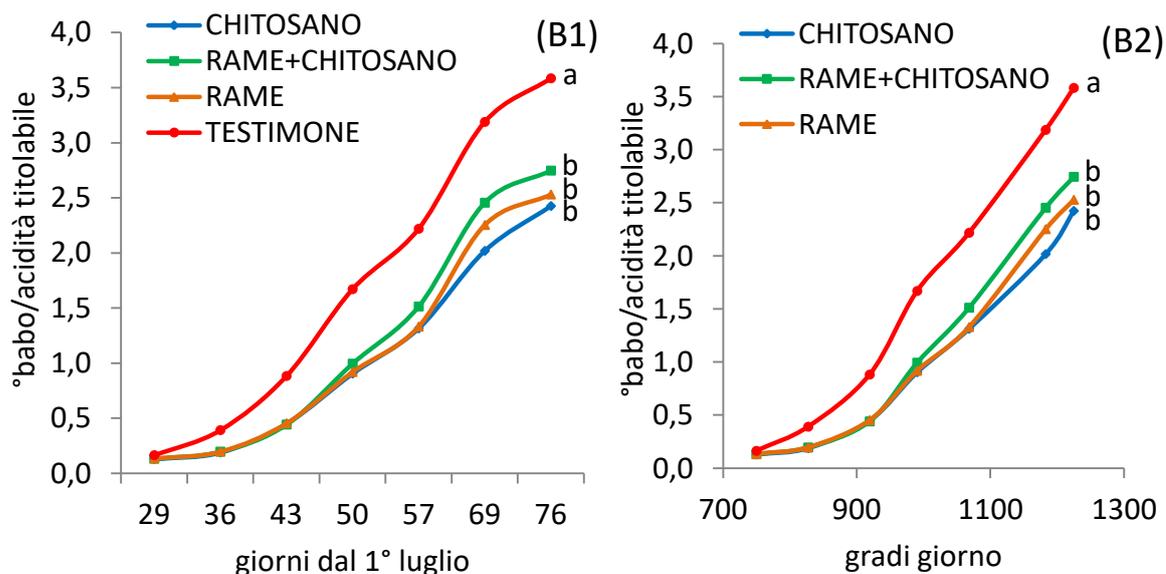


Figura 37. Andamento del rapporto zuccheri/acidi, espresso in funzione del tempo cronologico (A1) e termico (A2). Sono indicate le differenze significative all'ultimo rilievo.

Tabella 6. Riepilogo dell'andamento dei parametri di maturazione (medie e deviazione standard) delle uve nelle diverse tesi. Le date dei prelievi sono espresse in giorni dal primo luglio e sono indicate le rispettive sommatorie termiche attive.

Riepilogo dei dati di maturazione.													
Giorni dal 1° luglio	Gradi giorno	Parametro chimico-fisico di maturazione delle uve											
		Media zuccheri (°babo)				Media acidità titolabile (g/l acido tartarico)				Media pH			
		Tesi				Tesi				Tesi			
		C	R + C	R	T	C	R + C	R	T	C	R + C	R	T
29	749,6	3,9	4,0	4,0	4,8	30,3	30,4	29,7	29,6	2,5	2,5	2,5	2,5
36	827,23	5,2	5,6	5,4	8,4	27,8	28,6	27,4	21,6	2,5	2,5	2,5	2,5
43	919,23	8,2	8,7	8,8	12,0	18,3	19,6	19,4	13,6	2,7	2,7	2,7	2,8
50	990,38	11,3	12,3	12,0	15,2	12,5	12,3	13,0	9,1	2,9	3,0	3,0	3,0
57	1068,14	12,7	14,1	13,6	16,3	9,7	9,3	10,2	7,3	2,9	3,0	3,0	3,0
69	1182,78	15,3	17,1	16,7	19,2	7,6	7,0	7,4	6,0	3,1	3,3	3,2	3,3
76	1224,88	16,6	17,7	17,5	20,1	6,8	6,4	6,9	5,6	3,1	3,3	3,3	3,3
Giorni dal 1° luglio	Gradi giorno	Deviazione standard zuccheri				Deviazione standard acidità titolabile				Deviazione standard pH			
		Tesi				Tesi				Tesi			
		C	R + C	R	T	C	R + C	R	T	C	R + C	R	T
29	749,6	0,20	0,10	0,29	0,31	0,25	0,64	0,25	0,45	0,02	0,03	0,02	0,03
36	827,23	0,47	0,40	0,64	0,74	1,51	0,66	1,46	1,48	0,02	0,03	0,02	0,01
43	919,23	0,67	0,12	0,49	0,85	1,15	0,38	1,42	1,08	0,03	0,03	0,02	0,07
50	990,38	0,55	0,35	0,59	0,85	1,27	0,50	0,85	0,56	0,03	0,02	0,03	0,05
57	1068,14	0,44	0,32	0,32	0,90	0,76	0,95	0,87	0,55	0,03	0,02	0,02	0,04
69	1182,78	0,61	0,46	0,15	0,85	0,51	0,25	0,36	0,25	0,06	0,01	0,04	0,04
76	1224,88	0,31	0,50	0,29	0,90	0,15	0,12	0,21	0,26	0,05	0,03	0,03	0,05

Per quanto riguarda le curve di maturazione relative all'andamento dei parametri chimico-fisici delle uve analizzate (figure 36 e 37), il testimone non trattato ha sempre registrato valori significativamente più elevati di tenore zuccherino e di rapporto zuccheri/acidi, avendo sempre avuto contemporaneamente i valori più bassi di acidità titolabile; ma questo non vale anche per il pH, per il quale ha presentato valori simili alle altre tesi trattate e sempre maggiori rispetto alla tesi trattata con chitosano. Dal riepilogo sulle analisi delle uve (tabella 6) si può notare che, per quanto riguarda gli zuccheri, il testimone ha mostrato sempre valori più elevati delle altre tesi a ogni data di prelievo, a prova del fatto che i trattamenti fitosanitari hanno avuto un effetto di rallentamento della maturazione in termini di accumulo zuccherino, in particolare nella tesi trattata con chitosano, che ha sempre mostrato i valori più bassi.

Tale evidenza in termini di tempo cronologico si può esprimere come ritardo di "C" di circa 18-20 giorni rispetto a "T" e la differenza aumenta con l'avanzare della maturazione; mentre in termini di tempo termico si può esprimere come minore capacità di accumulo termico di "C" rispetto a "T": a circa 1224 gradi giorno la tesi trattata con chitosano mostrava tenore zuccherino simile a quello del testimone a circa 1068 gradi giorno. Sostanzialmente, il controllo non trattato ha registrato un decorso più rapido della maturazione delle uve. Le tesi trattate con rame e rame + chitosano hanno registrato andamenti del tutto analoghi per tutti i parametri di maturazione analizzati in tutto il periodo; hanno mostrato valori simili anche nell'ultimo campionamento, con un ritardo di maturazione di circa 10-12 giorni rispetto al non trattato e un anticipo di circa 8-10 giorni rispetto alla tesi trattata con chitosano.

Nel complesso la tesi trattata con chitosano ha comportato un rallentamento del decorso della maturazione: tenore zuccherino inferiore alle altre tesi e al non trattato negli ultimi tre rilievi; rapporto zuccheri/acidi più basso rispetto alle altre tesi e statisticamente inferiore al testimone negli ultimi due rilievi. In merito all'acidità titolabile, le tesi trattate hanno registrato valori sempre statisticamente più elevati rispetto al testimone non trattato. Infine, la tesi trattata con chitosano ha registrato i valori più bassi di pH, statisticamente inferiori rispetto alle altre tesi trattate e al controllo.

5.5. PRODUZIONE DI UVA E DIMENSIONE DEI TRALCI

Le figure seguenti mostrano il dato di vendemmia delle tesi a confronto, espresso come produzione parcellare (A) e per ettaro (B).

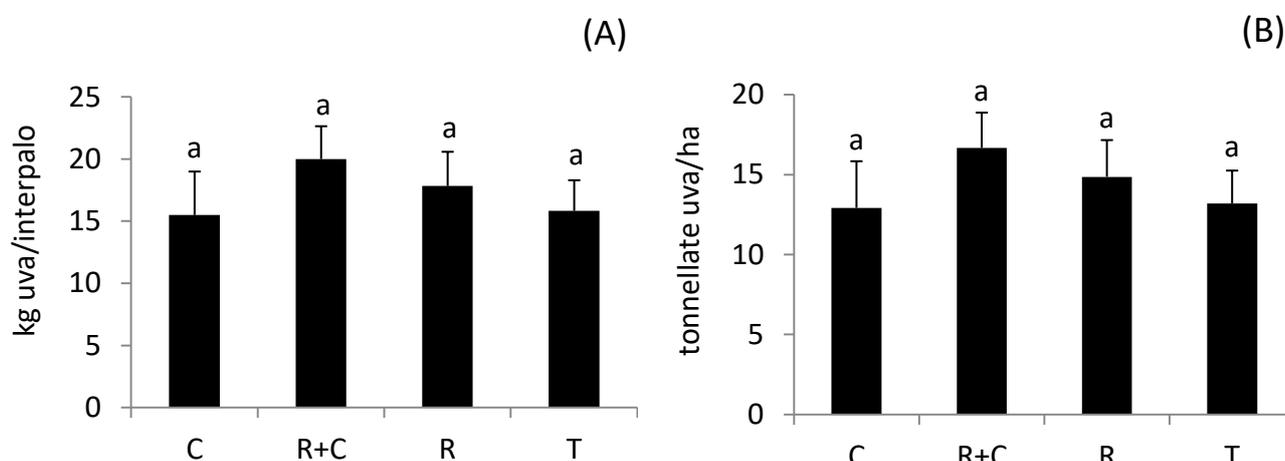


Figura 38. Produzione di uva espressa come produzione parcellare (A) e ad ettaro (B).

Dalla vendemmia dell'uva prodotta (figura 38) non è risultata nessuna differenza significativa tra le tesi e il testimone non trattato. Il valore minore si è registrato nella tesi trattata con chitosano, mentre il valore maggiore è quello della tesi trattata con rame + chitosano.

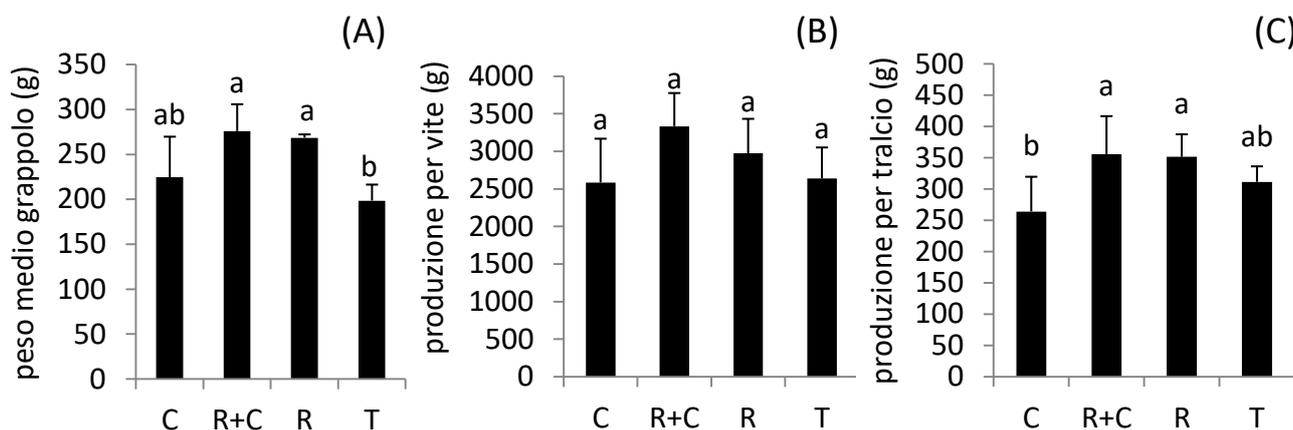


Figura 39. Peso medio del grappolo (A), produzione per vite (B) e per tralcio (C) tra le varie tesi.

Per quanto riguarda il peso medio del grappolo (figura 39), il testimone non trattato ha registrato valori statisticamente inferiori rispetto alle tesi trattate con rame e rame + chitosano, mentre non si riscontrano differenze significative tra le tesi in termini di produzione per vite. La produzione per tralcio è stata significativamente inferiore nella tesi trattata con chitosano, rispetto

alle tesi trattate con rame e rame + chitosano, mediamente di circa 100 g di uva per tralcio. Nella tesi trattata con chitosano si è registrata una produzione per pianta che è mediamente inferiore del 13% circa rispetto alla tesi trattata con rame e la tesi trattata con rame + chitosano ha mostrato una produzione mediamente superiore del 12% circa rispetto alla tesi trattata con rame.

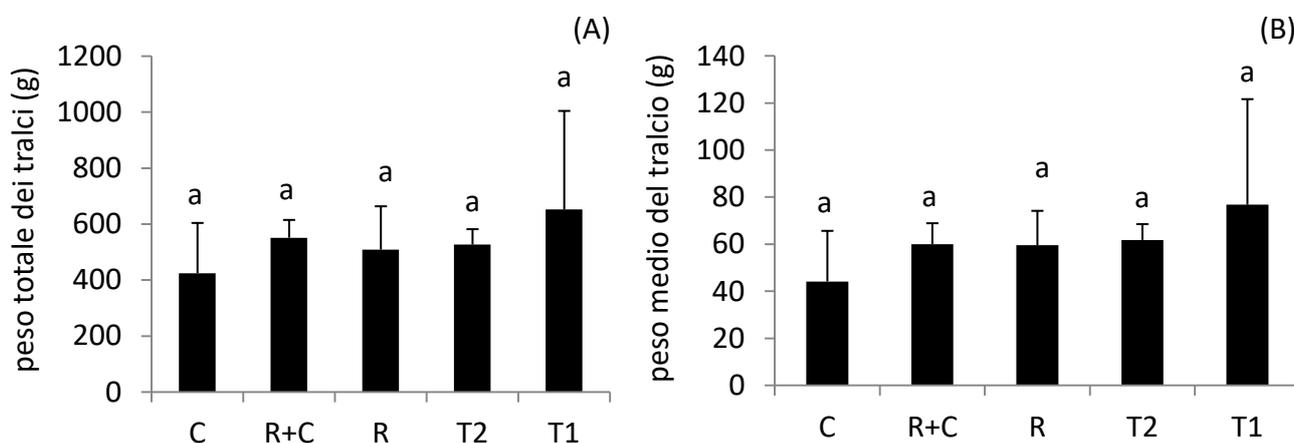


Figura 40. Peso totale dei tralci (A) e peso medio del tralcio (B) tra le diverse tesi e il controllo non trattato.

Non si registrano differenze significative tra le tesi e il testimone non trattato per quanto riguarda i parametri di peso totale del legno e di peso medio del tralcio lignificato (figura 40). I valori inferiori per entrambi i parametri si registrano nella tesi trattata con chitosano.

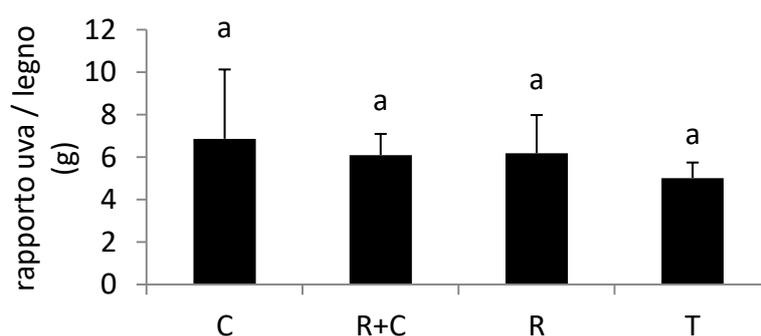


Figura 41. Rapporto uva/legno tra le diverse tesi e il controllo non trattato.

Per quanto riguarda il rapporto tra uva prodotta e legno prodotto (figura 41), che è un indicatore di equilibrio fisiologico della pianta, non risultano differenze significative tra le tesi e il

non trattato, registrando i valori più bassi nel controllo e i valori più alti nel chitosano, dove si registra anche la più alta variabilità di questo parametro.

5.6. COSTO DELLE STRATEGIE DI DIFESA

Tabella 7. Confronto sui costi relativi alla difesa fitosanitaria. Si evidenzia la diversa incidenza dei trattamenti sulla produzione lorda vendibile.

Costi da sostenere per le applicazioni in campo e ripercussioni sui ricavi.						
Tesi	Numero applicazioni	Dose d'impiego (kg di p.f./ha)	Costo unitario (€/kg di p.f.)	Costo totale (€/ha)	Produzione Lorda Vendibile "PLV" (€/ha)	Δ PLV (%) = PLV – costo totale
C (chitosano)	13	3,0	90,0	3510	8640	5130 (59%)
R + C (rame + chitosano)	7 (rame) 6 (chitosano)	1,5 3,0	20,0 90,0	1830	8640	6810 (79%)
R (rame)	13	1,5	20,0	390	8640	8250 (95%)
T (non trattato)	13	0,0	0,0	0	8640	8640 (100%)

Per quanto riguarda i costi delle strategie di difesa testate nelle diverse tesi (tabella 7) si considera la dose di 3 kg/ha per il chitosano e di 1,5 kg/ha per il prodotto a base di rame, con un rispettivo costo unitario di 90 e 20 €/kg. La tesi trattata con solo chitosano ha comportato un costo totale di 3510 €/ha, risultando il più elevato, seguito dalla tesi trattata con rame + chitosano per la quale si è sostenuto un costo di 1830 €/ha; la tesi trattata con rame è risultata quella con costo più basso, pari a 390 €/ha. Visti i risultati sulle produzioni, secondo cui non si registra una differenza significativa del dato di vendemmia, risulta una media produttiva tra le tesi di circa 14,4 t/ha, che al prezzo di vendita stabilito a 600 €/t determinano una PLV di 8640 €/ha/anno se si vendesse tutta l'uva prodotta. Il risultato del testimone è solo indicativo, poiché è quasi impossibile trovare situazioni aziendali in cui non si effettua alcun trattamento, visti i rischi legati all'aleatorietà delle stagioni meteorologiche e quindi di rischio infettivo. Rispetto alla PLV massima, ottenibile nel caso

del non trattato, la tesi trattata con rame è quella che determina un maggiore ricavo, dato il minore costo (95% della PLV); a seguire il trattamento con rame + chitosano permette un ricavo di 6810 €/ha/anno (79% della PLV) e la tesi trattata con chitosano risulta essere la meno remunerativa, con un'incidenza del 59% sulla PLV.

6. DISCUSSIONE

Nel complesso l'andamento meteorologico stagionale è stato favorevole all'insorgere della peronospora ed ha quindi permesso di evidenziare più facilmente eventuali differenze tra le tesi. Nel periodo che va da fine aprile a fine maggio si sono verificate più volte le condizioni necessarie a soddisfare la "regola dei tre 10", che è il modello teorico che viene sovente usato per identificare il massimo rischio d'inizio infezione primaria da peronospora della vite. Nei mesi di maggio e luglio si sono riscontrate le condizioni meteo maggiormente predisponenti la malattia, poiché alle frequenti piogge sono corrisposte temperature mediamente elevate, soprattutto a luglio (anche se mai superiori ai 35°C e quindi non predisponenti uno stress idrico per la vite).

Per quanto riguarda la funzione antiperonosporica, il chitosano ha fornito complessivamente una buona protezione della vegetazione, sia sui grappoli sia sulle foglie. Ha mostrato efficacia usato da solo e anche in alternanza al prodotto rameico, raggiungendo livelli di protezione simili, comparabili a quelli del rame usato da solo, che rappresenta la difesa classica da peronospora in biologico. L'incidenza di peronospora è stata ridotta mediamente del 15% su foglie e del 10% sui grappoli, dal chitosano usato da solo, rispetto al testimone non trattato e con maggiore efficacia rispetto alla tesi trattata inizialmente con rame e in seguito con chitosano. Non sempre la tesi trattata con rame + chitosano ha fornito la stessa protezione, in particolare è positivo l'effetto sui grappoli nella seconda parte della stagione. È interessante vedere come il numero di trattamenti con rame può essere ridotto, preferendo il suo impiego soprattutto nella prima parte della stagione vegetativa, nella quale può garantire una buona protezione da peronospora, avendo un probabile effetto di abbattimento dell'inoculo di propaguli del patogeno; in fase più avanzata si può optare per altri mezzi efficaci, come il chitosano. Nonostante l'andamento meteorologico stagionale sia stato favorevole all'insorgere della malattia, anche nel testimone non trattato si sono riscontrate discrete condizioni fitosanitarie e anche vegeto-produttive, suggerendo una possibile tolleranza varietale. È necessario approfondire gli studi sull'efficacia antiperonosporica, per definire meglio le strategie di difesa per una sua razionalizzazione d'uso ed eventualmente una sua integrazione ad altri mezzi di difesa ammessi in agricoltura biologica, che possono rappresentare il futuro della fitoiatria qualora venisse a mancare la possibilità di ricorrere al rame.

I trattamenti con chitosano hanno determinato un minore allungamento dei germogli durante la crescita vegetativa, rispetto alle altre tesi trattate e al testimone non trattato, ma ciò non vale anche per il numero di foglie per germoglio. Questo aspetto non determina differenze significative in termini di numero di germogli cimati e di peso del legno di potatura, ma fa registrare mediamente i valori più bassi e vi si riscontra una maggiore variabilità dei dati.

Per quanto riguarda l'evoluzione dei parametri di maturazione delle uve, i trattamenti a base di chitosano determinano generalmente un rallentamento del decorso della maturazione, che si manifesta con un minor tenore zuccherino delle uve, a parità di data di prelievo, rispetto alle altre tesi e al testimone non trattato. A una minore concentrazione zuccherina non corrisponde una differenza significativa nell'acidità titolabile rispetto alle altre tesi, ma un minor valore di pH. In merito alla qualità delle uve e all'andamento delle maturazioni, il chitosano ha determinato il rallentamento nell'accumulo zuccherino, con un ritardo di circa 7-10 giorni rispetto alle altre tesi; il mantenimento di buoni livelli di acidità titolabile, analoghi alle altre tesi; ha comportato una riduzione nell'incremento di pH delle uve, che è risultato infine più basso rispetto alle altre tesi e al non trattato. I risultati sulla qualità chimico-fisica delle uve possono essere sfruttati in vari modi in base all'obiettivo enologico che le aziende si pongono.

Nelle tesi trattate con chitosano si riscontra una riduzione della dimensione dei grappoli e quindi una minore capacità produttiva dei germogli, mentre sulla produzione non si registrano differenze significative in termini di quantità del raccolto ma si registra una certa variabilità, in particolare nella tesi trattata con chitosano.

Per quanto riguarda l'aspetto economico, il chitosano ha comportato un incremento dei costi della difesa. Rispetto alla tesi trattata con rame ha avuto un'incidenza maggiore sulla PLV, in misura del 36% se usato da solo e del 16% se alternato al rame.

CONCLUSIONI

L'approccio multidisciplinare ha permesso di affrontare lo studio su più fronti. Dal punto di vista agro-meteorologico l'annata appena conclusa si è dimostrata predisponente le infezioni di peronospora. Il chitosano è risultato complessivamente efficace nel ridurre le infezioni, offrendo una buona protezione sia sulle foglie che sui grappoli, per tutta la stagione, con valori comparabili a quelli del prodotto a base di rame. Una protezione intermedia risulta dal suo uso alternato al rame, nella seconda parte della stagione che va dalla prefioritura all'allegagione.

Lo studio dimostra che il numero di trattamenti con rame può essere ridotto, usandolo soprattutto a inizio stagione e garantendo una buona protezione. Si può affermare che anche il testimone non trattato ha mostrato buone condizioni vegeto-produttive e fitosanitarie, nonostante le condizioni stagionali predisponenti la malattia, suggerendo una discreta tolleranza di Famoso nei confronti della peronospora. Il chitosano determina un minore allungamento dei germogli, ma non necessariamente un diverso numero di foglie per germoglio. Non determina differenze significative in termini di numero di germogli cimati.

Il rapporto uva/legno, che è un indicatore di equilibrio fisiologico della vite, rimane ottimale per il sistema di allevamento a controspalliera. Non si sono registrate differenze significative in termini di capacità produttiva complessiva, anche se il chitosano ha registrato maggiore variabilità dei dati, mostrando le medie più basse. Si riscontrano differenze tra le tesi, non tanto per quanto riguarda la produzione di uva nel complesso, quanto in merito al peso del legno di potatura, che è probabilmente dovuto al diverso sviluppo vegetativo che il chitosano ha comportato, ma fa registrare mediamente i valori più bassi e vi si riscontra una maggiore variabilità. Gli effetti dei trattamenti testati sono più marcati sulla vegetazione in crescita e sulla qualità della produzione pendente, rispetto a quanto si può verificare sulla produzione di uva in quantità, poiché le piante possono avvalersi delle riserve del legno per sopperire a eventuali necessità di compensazione.

Per quanto riguarda le altre implicazioni sulla qualità delle uve, ci possono essere dei vantaggi nell'utilizzo di prodotti a base di chitosano, per il mantenimento di un buon livello di acidità e pH dei mosti, pur a discapito della velocità di accumulo zuccherino e di raggiungimento di un monte gradi finale; risultati sono sfruttabili in modo diverso a seconda dell'obiettivo enologico.

Si evidenzia la necessità di razionalizzazione d'uso e di valutazione più mirata alla sostenibilità economica della difesa fitosanitaria, con prodotti efficaci a base di chitosano e degli altri disponibili, soprattutto per l'agricoltura biologica e per individuare, per ogni combinazione coltura-patogeno-ambiente, i momenti migliori per l'esecuzione dei trattamenti. Sarebbe interessante testare il prodotto per diverse annate, nelle stesse condizioni di osservazione, per verificare la stabilità dei suoi effetti nel tempo, al variare delle condizioni meteorologiche stagionali.

L'uso di questo e altri prodotti alternativi al rame nella difesa in ambito viticolo può essere una chiave di volta per ridurre l'impatto della viticoltura sul territorio e mantenere la produttività dei vigneti stessi. Inoltre, i risultati sull'equilibrio vegeto-produttivo aprono la strada a verifiche più accurate sugli effetti che il chitosano può avere nell'influenzare la dimensione dei grappoli e la capacità produttiva in termini di uva per germoglio e come monte gradi. È necessario un adeguato stimolo, da parte dei legislatori, affinché queste pratiche possano essere sostenute, riconoscendo che il tema dei costi rimane centrale per la sostenibilità economica dei progetti aziendali viti-vinicoli e i costi di questi prodotti (input) sono ancora troppo elevati per essere adottati più facilmente dagli agricoltori, rispetto alle alternative ancora disponibili.

Il chitosano è quindi un'interessante ed efficace alternativa al rame nella difesa antiperonosporica e sembra non compromettere gli equilibri vegeto-produttivi del vigneto, mantenendo una buona qualità chimico-fisica delle uve.

BIBLIOGRAFIA

- <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>.
- *"The use of plant protection products in the European Union"* – EUROSTAT STATISTICAL BOOKS, 2007.
- <https://www.regione.marche.it/Entra-in-Regione/Psr-Marche/Le-misure-del-PSR/Misura-11#Misura-11>.
- FRAC code list of fungicide, 2019.
- <https://pdfs.semanticscholar.org/d4fd/3a2e013b44765db0e3a5dc0f7c1887f9fa5e.pdf>
- ResearchGate *"Il rame in agricoltura biologica"* di A. Brunelli, A. Pirondi, M. Collina – 2011.
- *"Effects of copper fungicide residues on the microbial function of vineyard soils"* di A. M. Wightwick, Sc. A. Salzman, S. M. Reichman, G. Allinson, N. W. Menzies – 2012.
- *"Elementi di Patologia Vegetale"*, G. Belli – 2012.
- *"Plasmopara viticola: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management"* – C. Gessler, I. Pertot, M. Perazzolli – 2011.
- <http://www.vivairauscedo.com/pdf/quaderni/Quaderno18-IVEd-It-Uk.pdf>.
- <https://www.unioneitalianavini.it/viti-naturalmente-resistenti-18-variet%C3%A0-al-traguardo-registrazione/>.
- <https://agronotizie.imaginenetwork.com/vivaismo-e-sementi/2016/05/04/vitigni-resistenti-peronospera-e-oidio-addio/48634>.
- *"Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: eliciting, antimicrobial and film-forming properties"* di G. Romanazzi, E. Feliziani, D. Sivakumar - 2018.
- *"Chitosan in Plant Protection"* - Abdelbasset El Hadrami, Lorne R. Adam, Ismail El Hadrami e Fouad Daayf – 2010.
- *"Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development"* di Romanazzi G., Mancini V., Feliziani E., Servili A., Endeshaw S., Neri D. – 2016.
- PETRIA, giornale di patologia delle piante, Vol. 19, Suppl. 1, 2009, ISSN1120-7698. Atti del workshop *"resistenza indotta per il controllo di malattie delle piante: efficacia e meccanismo d'azione di uno strumento sostenibile"*.
- *"Il Chitosano, un'alternativa ecologica all'uso dei pesticidi"* – CREA.
- *"Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables"*, di G. Romanazzi, S. M. Sanzani, Y. Bic, S. Tiand, P. G. Martínez, N. Alkanf - 2016.

- *“Utilizzo di Chitosano per il controllo di patologie postraccolta in cultivar di ciliegio”* – G. Giacalone, V. Chiabrandò, 2013.
- *“Valutazione della shelf-life di tartufo nero (*Tuber aestivum* vitt.) conservato in differenti modalità”* di Comi G.; Reale A.; Giusto C.; Tremonte P.; Iacumin I.; Succi M.; Manzano M.; Di Renzo T.; Coppola R.; Sorrentino E. – 2010.
- *“Impiego di chitosano per la salvaguardia della freschezza di gamberetti freschi”* – A. Reale, M.P. Rosato, I. Nicolaia, P. Tremonte – 2008.
- *“Sviluppo di una Tecnica Alternativa per la Trasformazione di Microalghe mediante l’uso di Nanoparticelle di Chitosano: Sintesi, Caratterizzazione ed Applicazione in-vivo”*, tesi di laurea della laureanda Ginevra Succol, Anno Accademico 2018-2019, corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie dei Bio e Nanomateriali.
- *“Estrazione, purificazione e valorizzazione di polisaccaridi da basidiomiceti”*. Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali, dottoranda Dott.ssa Francesca di Mario - Università degli Studi della Tuscia di Viterbo.
- *“Controllo dell’ossidazione di (+)-catechina mediante chitosano: ipotesi di utilizzo in vinificazioni a ridotto contenuto in solfiti”* – F. Chinnici e C. Riponi – UNIBO, 2016.
- *“MiniTubes™: praticità, salubrità ed efficacia per i coadiuvanti enologici”*, di Dal Cin M., Manara M., 2015.
- <http://www.dalcin.com/altridw/pubblicazioni/2015/minitu-bes 2015.pdf>).
- <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0563&from=EN>.
- <http://www.agrilaete.it/it/catalogo/prodotto/chitosano/129/>.
- <https://www.istat.it/it/archivio/fitosanitari>.
- <https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/14538>

RINGRAZIAMENTI

Spero che con il passare del tempo si possa ridurre la distanza che oggi è ancora grande tra la scienza e il mondo produttivo, magari attraverso l'adozione, da parte del mondo della ricerca, di un linguaggio divulgativo più semplice e accessibile al popolo e dall'altra parte una maggiore fiducia delle persone verso la scienza, per la possibilità concreta di migliorare il nostro stile di vita e comprendere meglio il mondo che ci circonda. Dobbiamo diventare consumatori migliori.

Giunto al termine di questo lungo percorso universitario, durato cinque anni, mi sento soddisfatto. È stata un'esperienza che mi ha fatto crescere, mi ha formato, mi ha dato l'occasione di conoscere tanti ragazzi e ragazze come me che hanno scelto il sacrificio dello studio per aumentare la speranza di costruirsi un futuro dignitoso, mi ha dato l'opportunità di inserirmi presto nel mondo del lavoro nel mio settore, mi ha convinto sull'importanza che ha ognuno di noi nel fare da ago della bilancia per la propria strada e quindi quanto conta la propria determinazione. Sicuramente mi mancheranno i bei periodi passati a lezione, le risate con i compagni, le battute e le imitazioni per prendere in giro i professori, l'attesa del "quarto d'ora accademico", la sensazione di libertà e leggerezza dopo aver superato un esame. Forse non sentirò la mancanza del sapore cattivo del caffè della macchinetta, la stanchezza degli occhi fissi sulle slides e del polso dolorante per colpa delle numerose pagine di appunti presi sui banchi scomodi, l'ansia pre-esame che sembrava annullare in un attimo tutto quello che avevi studiato, come se avessi una memoria fallace. Forse no, perché tutto faceva parte del gioco.

A questo punto vorrei spendere qualche parola per ringraziare chi ha contribuito alla realizzazione di questo lavoro di tesi, rendendolo possibile. Prima di tutto ringrazio il Prof. Gianfranco Romanazzi, relatore della tesi, per avermi aiutato a organizzare i lavori e lo studio, per avermi ispirato per la realizzazione e senza il quale non sarebbe stato possibile tutto questo. Ringrazio la Dott.ssa Valeria Mancini, ex ricercatrice dell'Università, per la sua disponibilità fino agli ultimi giorni di stesura e mi spiace che non possa figurare come una mia correlatrice, in pratica lo è stata, quindi vorrei rendergliene merito. Ringrazio con affetto la Prof.ssa Oriana Silvestroni, correlatrice, che nonostante le mie difficoltà non ha mai smesso di credere in me supportandomi e per la quale nutro profonda stima. Non sono sufficienti queste parole per ciò che ha fatto in passato e che ha continuato a fare per me.

Ringrazio tutto lo staff dell'azienda agricola "Il Conventino di Monteciccardo" per avermi trattato come un membro di famiglia per quattro anni, dandomi fiducia e insegnandomi tanto, oltre al mestiere. In particolare, ringrazio Mattia, Egidio e Francesca della famiglia Marcantoni per aver permesso e finanziato la prova, il Per. Agr. Christian Barbieri, il Dott. Agr. Giuseppe Colantoni, Fabio e Andrea che hanno effettuato i trattamenti in campo, poi tutto il resto del team, cioè Giusy, Angela, Marco, Michele, Filippo. Ringrazio il Dott. Agr. Giuseppe Camilli (ASSAM) per la disponibilità nel fornirmi materiale di supporto per gli approfondimenti.

Ringrazio anche tutti quelli che non hanno creduto in me, per avermi dato inconsapevolmente forti stimoli a migliorare.

Ringrazio tutta la mia famiglia (compreso quella allargata) e in particolare mia nonna Lucia, per l'affetto che non mi ha mai fatto mancare e per avermi aiutato molto nel pagare gli studi. Ringrazio tutti i miei amici veri. Ringrazio Martina, primo vero amore della mia vita.

Ultimi, ma non per importanza, ringrazio i miei cari genitori per l'amore dimostratomi con la fondamentale presenza nella mia vita, per avermi portato fin qui e per stimolarmi continuamente a camminare con le mie gambe. Ringrazio mia madre per avermi aiutato a casa e poi un ringraziamento particolare a mio padre, che è stato il principale assistente in campo (con cui ho condiviso tanto tempo, venti freddi e sole scottante) e senza il quale avrei potuto fare molto meno per questa tesi.

Dedico questa soddisfazione a chi ha avuto fiducia in me, compreso chi purtroppo non ha potuto assistere a questo traguardo. Spero di non aver dimenticato nessuno.

Concludo, augurandomi di vivere una vita serena, nella speranza di sentirmi realizzato e magari emozionandomi nel rileggere queste parole, in un lontano futuro.

"Amo la Terra, che è la mia casa e cercherò di proteggerla".