



*UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE*

DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E  
AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN  
*SCIENZE AGRARIE E DEL TERRITORIO*

**Valutazione dell'efficacia  
antiperonosporica, antioidica ed  
antibotritica di sostanze di base e di  
altre alternative a basso impatto  
ambientale su vite**

*Effectiveness of basic substances and other  
low risk compounds on grapevine downy  
mildew, powdery mildew and gray mold*

Relatore:  
*Prof. Gianfranco Romanazzi*

Tesi di laurea di:  
*Daniele Colavizza*

Correlatore:  
*Dott.ssa Marwa Mounni*

Anno Accademico 2021-2022

## INDICE

		Pag.
	<b>RIASSUNTO</b>	
	<b>ABSTRACT</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUZIONE</b>	<b>7</b>
<b>1.1</b>	<b>LA VITICOLTURA IN ITALIA E NELLE MARCHE</b>	<b>7</b>
<b>1.2</b>	<b>LE PRINCIPALI MALATTIE DELLA VITE</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>LA PERONOSPORA DELLA VITE</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>CICLO BIOLOGICO DI <i>PLASMOPARA VITICOLA</i></b>	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA</b>	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>SINTOMATOLOGIA E DANNI</b>	<b>13</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Sintomi su foglie</b>	<b>14</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Sintomi su infiorescenze e grappoli</b>	<b>15</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Sintomi su altri organi verdi</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>L'OIDIO DELLA VITE</b>	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>CICLO BIOLOGICO DI <i>ERYSIPHE NECATOR</i></b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>SINTOMATOLOGIA E DANNI</b>	<b>20</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Sintomi su foglie</b>	<b>20</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Sintomi su infiorescenze e grappoli</b>	<b>20</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Sintomi su germogli e tralci</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>LA MUFFA GRIGIA DELLA VITE</b>	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>CICLO BIOLOGICO DI <i>BOTRYTIS CINEREA</i></b>	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>SINTOMATOLOGIA E DANNI</b>	<b>23</b>
<b>5</b>	<b>GESTIONE DELLA PERONOSPORA, DELL'OIDIO E DELLA MUFFA GRIGIA DELLA VITE</b>	<b>25</b>
<b>5.1</b>	<b>LA PROTEZIONE IN AGRICOLTURA INTEGRATA</b>	<b>25</b>
<b>5.2</b>	<b>LA PROTEZIONE IN AGRICOLTURA BIOLOGICA</b>	<b>28</b>
<b>5.3</b>	<b>MEZZI AGRONOMICI</b>	<b>29</b>
<b>5.4</b>	<b>RESISTENZA VARIETALE</b>	<b>30</b>
<b>5.5</b>	<b>MEZZI CHIMICI</b>	<b>32</b>
<b>5.5.1</b>	<b>Prodotti a base di rame</b>	<b>33</b>
<b>5.5.1.1</b>	<b><i>Aspetti positivi e negativi del rame</i></b>	<b>36</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Prodotti a base di zolfo</b>	<b>39</b>

5.6	ALTERNATIVE AI FUNGICIDI TRADIZIONALI	41
5.6.1	Sostanze di base	42
5.6.2	Sostanza attiva a base di <i>Swinglea glutinosa</i>	49
5.6.3	Sostanza attiva a base di terpeni e di olio essenziale	51
5.6.4	Agenti di biocontrollo per l'oidio della vite	52
5.6.5	Agenti di biocontrollo per la muffa grigia della vite	54
5.7	L'INDUZIONE DI RESISTENZA PER LA PROTEZIONE DELLE COLTURE DALLE MALATTIE FUNGINE	55
6	OBIETTIVI DELLA RICERCA	62
7	MATERIALI E METODI	63
7.1	PROVA 1: EFFICACIA DI STRATEGIE INNOVATIVE PER LA GESTIONE DI <i>PLASMOPARA VITICOLA</i> ED <i>ERYSIPHE NECATOR</i>	63
7.1.1	Vigneto sperimentale	63
7.1.2	Strategie saggiate e schema sperimentale	64
7.1.3	Trattamenti	67
7.2	PROVA 2: EFFICACIA DI STRATEGIE INNOVATIVE PER LA GESTIONE DI <i>BOTRYTIS CINEREA</i>	68
7.2.1	Vigneto sperimentale	68
7.2.2	Strategie saggiate e schema sperimentale	69
7.2.3	Trattamenti	72
7.3	VALUTAZIONI DELLE INFEZIONI	72
8	RISULTATI	76
8.1	ANDAMENTO METEOROLOGICO STAGIONALE	76
8.2	VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DELLA PROVA 1	77
8.2.1	Rilievi di peronospora	77
8.2.1.1	<i>Infezioni sulle foglie</i>	77
8.2.1.2	<i>Infezioni sui grappoli</i>	83
8.2.2	Rilievi di oidio	87
8.2.2.1	<i>Infezioni sulle foglie</i>	87
8.2.2.2	<i>Infezioni sui grappoli</i>	93
8.3	VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DELLA PROVA 2	99
8.3.1	Rilievi di peronospora e oidio	99
8.3.2	Rilievi di muffa grigia	102
8.3.3	Rilievi di <i>Aspergillus</i> spp.	105
8.3.4	Rilievi di <i>Cladosporium</i> spp. e <i>Alternaria</i> spp.	106

<b>8.3.5</b>	<b>Rilievi di marciume acido</b>	<b>108</b>
<b>8.3.6</b>	<b>Rilievi di <i>Penicillium</i> spp.</b>	<b>109</b>
<b>9</b>	<b>DISCUSSIONI E CONCLUSIONI</b>	<b>110</b>
<b>10</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>116</b>
<b>11</b>	<b>SITOGRAFIA</b>	<b>123</b>

## RIASSUNTO

A causa dei rischi per la salute umana e per l'ambiente legati ad un utilizzo reiterato nel tempo dei prodotti fitosanitari, l'Unione Europea ha posto delle limitazioni sempre più severe per il loro impiego in agricoltura e sollecitato la ricerca di strategie alternative nella protezione delle colture. In questa tesi è stata valutata l'efficacia di sostanze di base e di altre strategie a basso impatto ambientale per la protezione della vite da peronospora, oidio (Prova 1) e muffa grigia (Prova 2). Per tutte le valutazioni della malattia sono stati stimati la diffusione, la gravità e l'Indice di McKinney. Nella Prova 1 sono state testate diverse strategie di protezione, basate su l'uso di olio essenziale di arancio dolce, *Ampelomyces quisqualis* e diverse sostanze di base quali chitosano, siero di latte (liquido e in polvere), *Equisetum arvense* e *Urtica dioica*. L'efficacia delle strategie è stata messa a confronto con un testimone aziendale, un testimone a base di rame, un testimone irrorato con acqua ed un testimone non trattato. Olio essenziale di arancio dolce, chitosano e siero di latte liquido hanno assicurato buoni livelli di protezione sia da peronospora sia da oidio. Il chitosano alla concentrazione 0,5% ha dimostrato capacità di contenimento al pari della strategia aziendale. Nella Prova 2 sono state saggiate dodici strategie a base di *Swinglea glutinosa* e terpeni e la loro efficacia è stata confrontata con un testimone trattato con un fungicida di sintesi ed un testimone non trattato. Questi prodotti sono stati testati da soli o in combinazione con un coadiuvante, ammesso in biologico e sono stati applicati in diverse fasi fenologiche per valutare l'eventuale influenza del momento di applicazione. Tutte le strategie hanno ridotto significativamente l'Indice di McKinney della malattia rispetto al testimone non trattato. Contestualmente alla muffa grigia, sono stati rilevati anche dei sintomi riconducibili ad infezioni di *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., *Penicillium* spp. e marciume acido. Quasi tutte le strategie hanno ridotto significativamente le infezioni di *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp., rispetto al testimone non trattato, mentre per marciume acido e *Penicillium* spp. non ci sono state riduzioni significative rispetto ai testimoni. Alla luce di quanto osservato, le sostanze di base e i prodotti a basso impatto ambientale possono essere utili per sostituire o limitare l'utilizzo dei prodotti fitosanitari di sintesi.

## ABSTRACT

Due to the risks to human health and environment linked to the use of synthetic pesticides, the European Union has limited their use in agriculture, and has urged for searching of alternative strategies in crop protection. In this study, it was evaluated the effectiveness of basic substances and low risk impact strategies for the protection of grapevine against downy mildew, powdery mildew (Trial 1) and gray mold (Trial 2). Disease Incidence, severity, and McKinney index were calculated. In Trial 1, strategies based on sweet orange essential oil, *Ampelomyces quisqualis* and different basic substances as chitosan, whey (liquid and powder), *Equisetum arvense* and *Urtica dioica* were tested. The effectiveness of the strategies was compared with farm application, copper-based treatments, water and untreated control. Sweet orange essential oil, whey (liquid) and chitosan have shown better protection against downy mildew and powdery mildew. Chitosan 0.5% showed a disease containment capability not different than farm application. For Trial 2, twelve strategies based on *Swinglea glutinosa* e terpenes were tested and their effectiveness was compared with a synthetic fungicide and an untreated control. These products were tested alone or in combination with an adjuvant, allowed in organic agriculture, and applied in different phenological phases to evaluate a possible influence related to application time. All strategies significantly reduced gray mold McKinney index as compared to the untreated control. At the same time, symptoms related to infections of *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., sour rot and *Penicillium* spp. were observed. Almost all strategies significantly reduced *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp. incidence as compared to untreated control, while for sour rot and *Penicillium* spp. there were no significant differences with the controls. According to the obtained results, the basic substances and products with low-risk impact can be useful for replacing or limiting the application of synthetic fungicides.

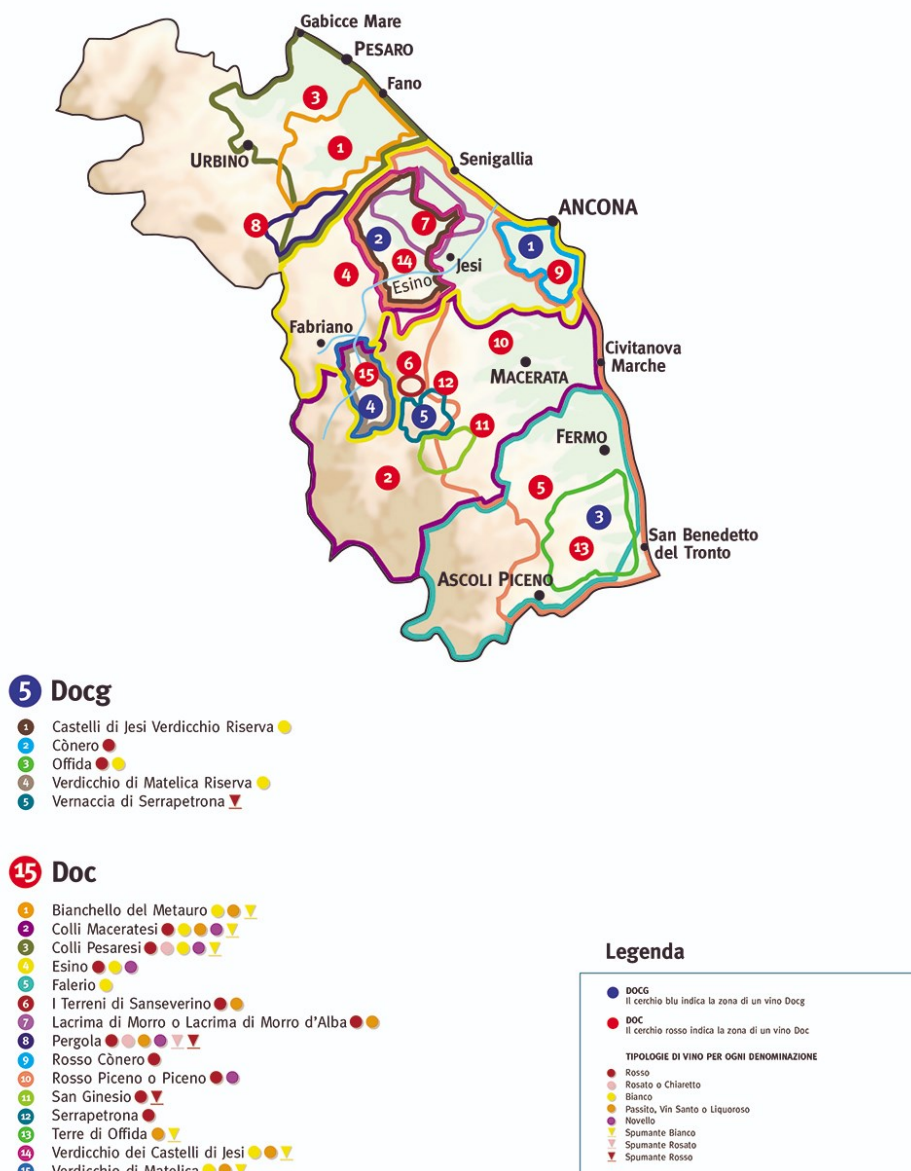
## **1 INTRODUZIONE**

### **1.1 VITICOLTURA IN ITALIA E NELLE MARCHE**

Il settore vitivinicolo delle Marche risulta essere una realtà estremamente importante poiché racchiude al suo interno una singolare combinazione di elementi storici, geografici, culturali e sociali mirati alla valorizzazione delle uve autoctone. Fattori quali la diversa natura dei terreni, l'orografia della regione e l'adozione di alcune tra le pratiche tradizionali (come, ad esempio, la moltiplicazione della vite per propaggine o la consociazione di più varietà nei vigneti) hanno infatti restituito un territorio non omogeneo, attribuendogli un certo grado di rilevanza all'interno del panorama vitivinicolo italiano.

La vite costituisce la principale coltura arborea regionale con all'incirca 23,000 ha, di cui il 48% iscritti all'albo dei vigneti per la produzione dei vini Denominazione di Origine Controllata (DOC) ed allocati per metà nelle aree collinari delle province di Ascoli Piceno e Fermo e per un quarto in quelle di Ancona. Le 206 varietà di vitigni censite rappresentano ampiamente la notevole variabilità genetica delle Marche; ciononostante, il 70% della superficie vitata è costituita dalle varietà Sangiovese, Montepulciano, Verdicchio e Trebbiano Toscano, seguite poi da Pecorino, Passerina, Biancame e Maceratino o Ribona (a bacca bianca), Vernaccia nera e Lacrima (a bacca nera); unitamente ad essi sono inoltre presenti diversi vitigni di origine autoctona la cui valorizzazione, ad opera dell'intera filiera, mira ad incrementarne sempre più l'interesse enologico. Sebbene la vite sia da sempre presente sul territorio marchigiano, solo recentemente ha trovato una reale razionalizzazione e valorizzazione. I cinque vini che hanno ottenuto il riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata e Garantita (DOCG) nelle Marche sono: la Vernaccia di Serrapetrona, il Conero Riserva, il Verdicchio castelli di Jesi riserva, il Verdicchio di Matelica riserva e l'Offida. All'infuori di queste ultime, il territorio regionale è interessato quasi per intero da almeno una delle 15 aree definite a DOC, consultabili in Figura 1. Le più importanti fra esse (per numero di iscritti e dimensione territoriale) risultano essere il Rosso Piceno e il Verdicchio dei Castelli di Jesi. Altresì rilevanti, seppur con aree di diffusione più limitate, sono il Verdicchio di Matelica, il Falerio dei Colli Ascolani, i Colli Maceratesi, il Rosso Conero, l'Esino, i Colli Pesaresi e il Bianchetto del Metauro. Troviamo inoltre le aree DOC dei Terreni di San Severino, Offida, e, più recentemente, quelli di Pergola e San Ginesio. Vanno infine citate le DOC Lacrima di Morro d'Alba e la Vernaccia di Serrapetrona, che stanno riscontrando un ottimo

successo sul mercato malgrado la loro diffusione sia circoscritta ai territori comunali.



**Figura 1** - Aree di produzione di vini DOC e DOCG della regione Marche (www.civiltadelbere.com).

## 1.2 LE PRINCIPALI MALATTIE DELLA VITE

La vite è una pianta che può essere soggetta a vari tipi di malattie; fra queste, quelle dovute a patogeni di natura fungina possono compromettere la vitalità della pianta, la quantità e la qualità della produzione (Tabella 1). Le più pericolose in tal senso sono sicuramente la peronospora e l'oidio. La presenza delle malattie su scala



aziendale è legata a diversi fattori, soprattutto di tipo climatico, da aspetti riguardanti la gestione agronomica e dalla suscettibilità delle singole cultivar. Pertanto, risulta di primaria importanza l'adozione di strategie di protezione atte a contenere lo sviluppo dei patogeni, ad oggi basate sempre di più su criteri di lotta biologica e integrata, mediante l'utilizzo di principi attivi costantemente rinnovati e con il minore impatto ambientale possibile, senza riduzioni dell'efficacia. Le caratteristiche biologiche dei patogeni, l'adattabilità alle condizioni ambientali, la difficoltà di individuare i primi sintomi stagionali e il carattere spesso esplosivo delle epidemie, unite al loro potenziale distruttivo sui grappoli, fanno della peronospora e dell'oidio le malattie più difficili da controllare.

**Tabella 1** - Principali avversità crittogamiche della vite.

<b>Malattia fungina</b>	<b>Agente causale</b>
Peronospora	<i>Plasmopara viticola</i>
Oidio	<i>Erysiphe necator</i>
Muffa grigia	<i>Botrytis cinerea</i>
Mal dell'esca	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> , <i>Fomitipora mediterranea</i> , <i>Phaeoacremonium minimum</i>
Escoriosi	<i>Phomopsis viticola</i>
Verticilloso	<i>Verticillium dahliae</i>
Marciume nero	<i>Guignardia bidwelli</i>
Marciume radicale fibroso	<i>Armillaria mellea</i>
Marciume radicale lanoso	<i>Rosellina necatrix</i>

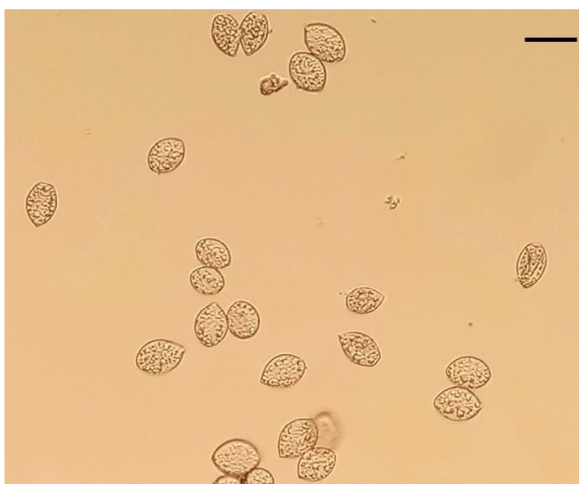
## **2. LA PERONOSPORA DELLA VITE**

### **2.1 CICLO BIOLOGICO DI *PLASMOPARA VITICOLA***

*Plasmopara viticola*, l'agente eziologico della peronospora della vite, appartiene al Regno *Straminipila*, classe *Peronosporomycetes* (Phylum *Oomycota*), ordine *Peronosporales*, famiglia *Peronosporaceae*. Come tutti gli oomiceti presenta notevoli differenze rispetto ai funghi propriamente detti, ma condivide con essi le capacità di formare un micelio costituito da ife cenocitiche ad accrescimento apicale, di assorbire sostanze nutritive e di riprodursi mediante spore. *Plasmopara viticola* è un parassita obbligato, in grado di svilupparsi attivamente solo

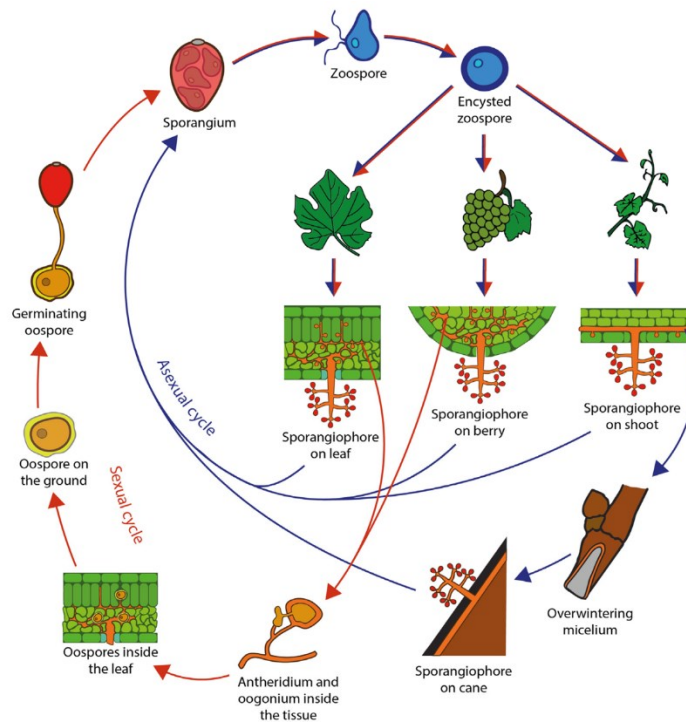
instaurando un rapporto biotrofico con le cellule vive del proprio ospite. La sopravvivenza del patogeno durante il riposo vegetativo della vite è garantita dalle oospore, formatesi a seguito di riproduzione sessuata, nei tessuti infetti dell'ospite. Generalmente, il patogeno sverna nelle foglie colpite dalla malattia e rimaste sul terreno. Ad estate inoltrata, probabilmente stimolata dalla senescenza dei tessuti, si verifica poi il ciclo di riproduzione sessuata, con la differenziazione degli anteridi, organi sessuali maschili, sottili ed allungati, e degli oogoni, organi sessuali femminili. Attraverso un tubetto di fertilizzazione generato dall'anteridio, i suoi nuclei aploidi passano nell'oogonio e, dall'appaiamento di uno di essi con il nucleo aploide dell'oogonio, inizia la differenziazione dell'oospora, la quale non è in grado di germinare subito ma solo alla fine di un periodo di maturazione. Durante quest'ultimo, infatti, l'oospora sviluppa una sua struttura (caratterizzata da una spessa parete cellulare), sostanze di riserva ed un unico nucleo, che le consente di affrontare, senza perdere vitalità, temperature ridotte e prolungati periodi di scarsa disponibilità idrica. Ultimato il periodo di maturazione, generalmente entro la fine del mese di novembre – metà dicembre, la capacità di germinazione delle oospore tende ad aumentare gradualmente almeno fino alla metà di aprile. Una sufficiente umidità del terreno e temperature medie giornaliere che si aggirano sui 10 °C favoriscono la formazione dei macrosporangi, mentre la prima pioggia utile ne facilita il trasferimento sugli organi recettivi della vite con la successiva germinazione e dispersione delle zoospore, formatesi al suo interno e responsabili delle infezioni primarie. Le zoospore, prive di parete e munite di due flagelli di diversa lunghezza e struttura, in un breve lasso di tempo e in presenza di un velo liquido riescono a posizionarsi in prossimità delle aperture stomatiche, si incistano ed emettono un tubetto germinativo, il quale penetra nei tessuti dell'ospite solamente grazie alle aperture naturali della pianta. Il patogeno, attraverso gli spazi intercellulari, riesce a diffondersi prettamente nel parenchima lacunoso dell'ospite, assorbendo le sostanze nutritive per mezzo di austori globulari. Il tempo che intercorre tra l'infezione e la comparsa dei primi sintomi è definito periodo di incubazione e la sua durata è condizionata non solamente da fattori quali temperatura e umidità relativa ma anche dalla tipologia di tessuto colonizzato dal patogeno. Completato il periodo di incubazione compaiono i sintomi dell'avvenuta infezione; in seguito, in presenza di condizioni favorevoli costituite da almeno 4 ore di buio, temperature non inferiori ai 13 °C ed elevata umidità relativa, dalle aperture stomatiche si assiste all'evasione del patogeno sotto forma di efflorescenza

muffosa biancastra, costituita da rami sporangiofori e sporangi, organi deputati alla riproduzione agamica (Figura 2). I rami sporangiofori, lunghi fino ad 1 millimetro, sono caratterizzati da ramificazioni laterali, poste ad angolo retto rispetto all'asse principale e provviste di minute appendici denominate sterigmi, che portano all'estremità gli sporangi, caratterizzati da una forma ovoidale – piriforme. La quantità di sporangi prodotti dai tessuti infetti incrementa proporzionalmente con l'aumentare della temperatura, ma tende a diminuire progressivamente superati i 20°C, fino quasi ad annullarsi in corrispondenza dei 30°C.



**Figura 2** - Dettaglio al microscopio ottico degli sporangi di *Plasmopara viticola*. Barra della scala = 20  $\mu$ m (Caproli, 2021).

Gli sporangi, per separarsi e sopravvivere, necessitano di elevata umidità relativa o di periodi di bagnatura. Se le condizioni ambientali sono favorevoli, gli stessi germinano e rilasciano le zoospore sulla vegetazione sana, dando inizio al ciclo delle infezioni secondarie, che possono ripetersi più volte nel corso della stagione e si possono sommare a quelle primarie, per via della scalarità di germinazione delle oospore. Il ciclo biologico di *Plasmopara viticola* è rappresentato in Figura 3.



**Figura 3** - Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Plasmopara viticola* (Velasquez-Camacho *et al.*, 2023).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA

L'inizio del ciclo biologico di *P. viticola* può essere identificato con la germinazione delle oospore che, con un andamento meteorologico favorevole, germineranno tra la fine del mese di gennaio e la fine di aprile.

La formazione dei macrosporangia necessita invece di condizioni di elevata umidità; per questo motivo, col progredire della stagione, le germinazioni di oospore, seppur abbastanza scalari, tenderanno progressivamente a ridursi.

Come accennato in precedenza, la formazione del macrosporangio è legata al manifestarsi di particolari condizioni ambientali, le quali possono facilmente essere riassunte nella regola empirica “dei tre 10” messa a punto dal Baldacci nel 1947, che prevede l'avvio dell'infezione primaria al verificarsi di tre condizioni: temperatura stabilizzata intorno ai 10 °C; si siano verificate una o più precipitazioni di almeno 10 mm di pioggia nelle ultime 24-48 ore; lunghezza dei germogli pari o superiore ai 10 cm (germoglio fotosinteticamente attivo e quindi suscettibile data la presenza di stomi aperti). Oltre a ciò, l'andamento meteorologico condiziona anche il periodo d'incubazione (lasso di tempo che intercorre tra il momento in cui avviene l'infezione e quello in cui compaiono i primi sintomi), il quale ha generalmente una durata di 11-15 giorni in corrispondenza di temperature pari a 14

°C, e diminuisce fino ad un minimo di 4-5 giorni con temperature comprese tra i 21 °C e i 25 °C; infine, in presenza di temperature superiori a quest'ultimo valore, la durata del periodo d'incubazione tende a diventare più lunga. Gli sporangi da cui derivano le infezioni secondarie si originano invece a seguito di almeno 4 ore di buio con temperatura maggiore di 13 °C e umidità relativa intorno al 98%. Il verificarsi di tali infezioni è strettamente legato alla temperatura; in presenza di valori inferiori a 5 °C o superiori a 29 °C si ha infatti una perdita di vitalità degli sporangi e una riduzione drastica delle probabilità di infezione (Belli, 2012). Si può complessivamente affermare quindi che un andamento meteorologico troppo caldo risulta essere un fattore limitante per lo sviluppo della peronospora. La presenza di sbalzi termici nel periodo invernale può causare una germinazione anticipata delle oospore, che in assenza di vegetazione recettiva non possono costituire un inoculo valido. Le alte temperature (superiori a 29-30 °C) dilatano la durata del periodo di incubazione ad oltre 15 giorni e l'evasione del patogeno si arresta a 32 °C. In primavera ed autunno la temperatura ottimale di 20-24 °C riduce a soli 3-4 giorni il periodo d'incubazione (si tratta di una situazione eccezionale). Il principale fattore di limitazione della pericolosità della peronospora risulta essere il clima asciutto; tale aspetto è determinante sia poiché le zoospore richiedono la presenza di un velo liquido per potersi muovere sia perché la siccità ostacola la germinazione delle spore in primavera e la loro maturazione nel periodo autunnale-invernale. Nelle zone più calde (come quelle del Sud Italia), infatti, le infezioni secondarie sono spesso bloccate durante l'estate per poi riprendere in autunno, in quanto la produzione dell'inoculo avviene solo in presenza di elevata umidità relativa.

### **2.3 SINTOMATOLOGIA E DANNI**

Non essendo in grado di penetrare attivamente nei tessuti vegetali, *P. viticola* sfrutta le aperture naturali dell'ospite, come le aperture stomatiche, riuscendo quindi a colonizzare tutti gli organi verdi della vite sui quali sono presenti stomi funzionanti. Ne consegue che, colpendo organi fotosinteticamente attivi, le infezioni più gravi possono compromettere il metabolismo generale della pianta, riducendone la capacità di produrre ed accumulare zuccheri, aromi e altri componenti minori delle bacche, pregiudicando quindi la qualità del prodotto finale. Conseguenza più evidente della colonizzazione delle foglie è la diminuzione dell'attività fotosintetica, la quale si ripercuote sia sulla nutrizione dei grappoli in accrescimento

che sulla produzione di riserve da destinare agli organi legnosi e alle radici per le stagioni seguenti.

Gli effetti della malattia si ripercuotono nondimeno sulla fisiologia generale della pianta (ad esempio sugli scambi gassosi). I danni possono quindi essere diretti ed indiretti: i primi fanno riferimento ad attacchi sui grappoli che possono portare a consistenti perdite della produzione nell'anno in corso, mentre i secondi sono danni a carico degli organi vegetativi, i quali possono condurre a perdite quantitative consistenti e a scadimenti qualitativi sia della produzione in corso che in quella degli anni successivi. Nel complesso, l'entità dei danni da peronospora dipende dalla fase fenologica e dal momento dell'infezione. Ad ogni modo, essi conducono a un generale deperimento sanitario della pianta, che diventa più suscettibile anche ad altre fitopatie. Generalmente, essendo un parassita obbligato, *P. viticola* non conduce alla morte le piante infette in tempistiche brevi.

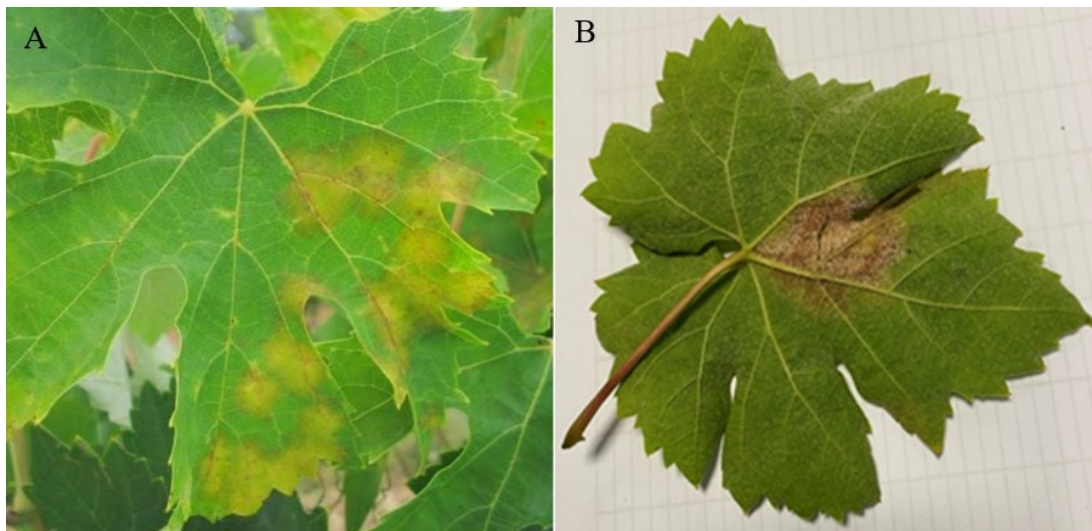
### **2.3.1 Sintomi su foglie**

Le foglie giovani, con un diametro inferiore ai 2 cm, presentano aperture stomatiche non differenziate o poco numerose e sono quasi insensibili alla peronospora. Queste diventano suscettibili quando presentano stomi funzionanti e, come conseguenza dell'infezione, compaiono delle chiazze tondeggianti sulla pagina superiore, con una colorazione che vira dal verde chiaro al giallastro.

Le cosiddette “macchie d'olio”, aree traslucide che compaiono dopo un periodo di incubazione variabile a seconda della temperatura ambientale e della natura dei tessuti vegetali, sono le chiazze che costituiscono visibile sintomo dell'avvenuta infezione sulle foglie della vite.

Se l'infezione è precoce, la macchia necrotizza a partire dal centro, determinando disseccamenti localizzati. Questo può portare ad una parziale defogliazione della pianta, che si traduce in un drastico peggioramento quanti-qualitativo della produzione in corso e si può ripercuotere anche sulle produzioni degli anni a seguire influenzando negativamente il processo di lignificazione dei tralci. In seguito, con l'avanzare dell'età, si assiste alla crescita e all'ispessimento dei tessuti delle foglie che diventano meno sensibili agli attacchi di peronospora e tendono ad acquisire una resistenza ontogenetica. Lo sviluppo delle ife del patogeno si manifesta attraverso degli ingiallimenti “a mosaico” tra una nervatura e l'altra ma risulta limitato in quanto le nervature creano delle barriere naturali. In presenza di umidità ambientale elevata e temperature favorevoli, in corrispondenza delle “macchie

d'olio", sulla pagina inferiore della foglia, si sviluppa un'efflorescenza muffosa biancastra costituita dalle strutture riproduttive agamiche del fungo (Figura 4).



**Figura 4** - Tipici sintomi di peronospora su foglie di Montepulciano con le tipiche “macchie d’olio” sulla pagina superiore (A); segni di sporulazione del patogeno sulla pagina inferiore (B). Foto vigneto sperimentale situato ad Ancona del 6 giugno 2022.

### 2.3.2 Sintomi su infiorescenze e grappoli

Anche le infiorescenze risultano essere suscettibili a *P. viticola* e vi si possono riscontrare sintomi ben riconoscibili. A differenza delle foglie, l’ingiallimento che si riscontra ad infezione primaria avvenuta è solitamente poco pronunciato; al contrario, la sporulazione che ricopre fiori e rachide evidenzia la presenza del patogeno. In caso di attacchi precoci (dalla prefioritura fino a fine fioritura) si assiste alla necrosi dell’intera infiorescenza, mentre l’attacco al rachide induce un imbrunimento ed un incurvamento dello stesso che assume una tipica “forma ad esse” (Figura 5) causata dall’arresto della crescita dei tessuti infetti. Gli attacchi di peronospora sulle infiorescenze sono estremamente temibili dal punto di vista produttivo, poiché le infezioni possono essere tanto gravi da causare forti perdite soprattutto nelle annate più umide. La sindrome che comincia a comparire sul grappolo dopo l’allegagione, prende invece il nome di “peronospora larvata” e conferisce agli acini il caratteristico colore bruno senza la presenza del micelio. La peronospora larvata (Figura 6) si manifesta maggiormente nelle estati fresche e piovose, condizioni che consentono estesi attacchi tardivi (Pertot *et al.*, 2005). In questa seconda forma non si osserva sporulazione; ciò è dovuto alla degenerazione

degli stomi che impedisce la fuoriuscita dei rami sporangiofori dai tessuti colonizzati. La resistenza ontogenetica degli acini appena allegati si manifesta in maniera variabile in funzione della cultivar e delle variazioni stagionali che influenzano i tempi della fioritura. Su piante in produzione i danni maggiori sono provocati dagli attacchi in fioritura-allegagione in quanto, in questa fase fenologica, le infezioni ai grappoli riducono drasticamente la produzione.



**Figura 5** - Imbrunimento e tipico ripiegamento ad “esse” del rachide di una infiorescenza in seguito ad infezione peronosporica su Montepulciano. Foto vigneto sperimentale situato ad Ancona del 16 giugno 2022.



**Figura 6** - Tipici sintomi di peronospora larvata su grappolo di *cv.* Montepulciano. Foto vigneto sperimentale situato ad Ancona del 29 giugno 2022.



### **2.3.3 Sintomi su altri organi verdi**

Tutti gli organi verdi, con stomi differenziati e attivi, possono essere bersagliati ed evidenziare sintomi riconducibili alla peronospora, anche se le infezioni si manifestano molto più raramente rispetto a foglie e grappoli. I germogli erbacei sono attaccati soprattutto vicino ai nodi oppure attraverso infezioni dei piccioli fogliari. In questo ultimo caso viene impedito l'agostamento (lignificazione) dei tralci e si assiste ad una conseguente esposizione a danni da freddo in inverno. Il primo sintomo che si evidenzia è una leggera clorosi, talvolta seguita dalla tipica sporulazione dell'oomicete. L'infezione interessa raramente l'intera circonferenza del germoglio, rimanendo frequentemente confinata nei tessuti superficiali dell'organo colpito. Le porzioni colpite presentano allessature ed imbrunimenti. In caso di infezioni precoci la parte terminale del germoglio o del viticcio presenta un portamento contorto legato a fenomeni di ipertrofia cellulare. La fase di lignificazione può invece essere ugualmente interessata da fenomeni di infezione che provocano sintomi più lievi come limitate lesioni dei tessuti corticali e piccoli cancri.

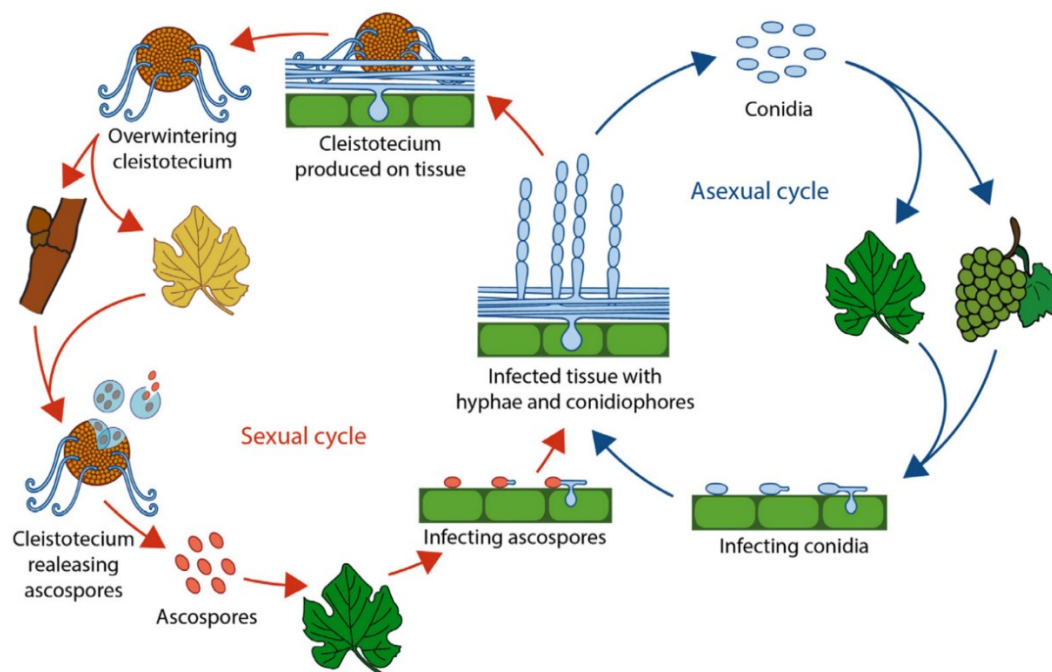
In conclusione, si può affermare come le conseguenze causate da un attacco peronosporico in qualsiasi organo della vite costituiscano un evidente problema tale da potersi ripercuotere sulla produzione stagionale e, nei casi più gravi, anche su quella dell'anno successivo. Pertanto, risulta di fondamentale importanza impostare delle corrette strategie di protezione.

## **3 L'OIDIO DELLA VITE**

### **3.1 CICLO BIOLOGICO DI *ERYSIPHE NECATOR***

L'oidio della vite è una malattia fungina causata dall'ascomicete *Erysiphe necator* Schwein (forma anamorfa *Oidium tuckeri* Berk), appartenente alla classe degli *Leotiomycetes*, ordine *Erysiphales*, famiglia *Erysiphaceae*. La malattia è attualmente diffusa in tutti gli areali di coltivazione della vite. In contesto italiano è ormai noto come l'agente patogeno possa svernare in due diverse forme: micelio latente nelle gemme (infettate tra la fine dell'estate e inizio autunno) o casmoteci nella corteccia (derivanti dalla riproduzione sessuata), quest'ultima è molto più prevalente rispetto alla prima. La prima forma di svernamento è tipicamente diffusa nelle regioni in cui si verificano inverni molto miti ed è fortemente ostacolata dalle

basse temperature invernali; temperature inferiori a -12 °C possono infatti provocare la morte del micelio all'interno della gemma di vite. La forma di svernamento tramite i casmoteci, invece, è caratteristica di tutte le zone con inverni più rigidi. A seconda del tipo di forma svernante, si possono distinguere due tipologie di infezioni: conidiche e ascosporiche. Le infezioni conidiche si manifestano quando il patogeno sverna come micelio latente. Sono facilmente riconoscibili, in primo luogo, poiché il micelio si localizza sugli abbozzi fogliari della gemma, e, in secondo luogo, grazie alla ben visibile presenza, tra il germogliamento e la fioritura, di germogli a bandiera, solitamente collocati tra la terza e la quinta gemma dalla base del tralcio. Sul micelio si differenziano conidiofori e conidi che poi grazie al vento potranno essere dispersi. I conidi hanno capacità di germinazione a partire da livelli di umidità relativa molto bassa (20%) grazie alla presenza di grossi vacuoli contenenti acqua endogena. Alla germinazione segue poi la formazione di un tubo germinativo e di un appressorio che entrando a contatto con l'ospite innescherà l'infezione. Per quanto concerne le infezioni ascosporiche, esse hanno origine nel caso in cui il patogeno abbia svernato sotto forma di casmoteci. Questi corpi fruttiferi contengono da 4 a 6 aschi a maturità, ciascuno dei quali contiene da 4 a 7 ascospore ialine ovato-globose. L'infezione ha inizio con la dispersione delle ascospore al momento dell'apertura dei casmoteci; tramite il vento e le piogge esse giungono poi sulla vite dalle fessure del ritidoma. Nelle zone con climi molto miti le ascospore possono venire rilasciate già a partire dalla tarda estate, causando così infezioni tardive nella stessa stagione vegetativa. Ad ogni modo, in entrambe le tipologie di infezione, a seguito dell'infezione primaria il patogeno entra in un periodo di latenza, ovvero quel periodo che intercorre tra l'infezione e la sporulazione (Belli, 2012). Il ciclo biologico (Figura 7) del patogeno può considerarsi concluso con la formazione dell'inoculo svernante che può essere: micelio latente nelle gemme oppure formazione di casmoteci nella corteccia. Nel primo caso il micelio contamina le gemme precocemente, molto probabilmente tra le fasi fenologiche di 3-9 foglie sviluppate; dopo il suo insediamento rimane latente fino alla primavera successiva. I casmoteci si formano invece a seguito dell'incontro tra miceli sessualmente compatibili. Come *P. viticola*, anche *E. necator* è in grado di riprodursi asessualmente e generalmente compie più cicli di patogenesi durante la stagione vegetativa; per questo motivo viene definito, così come *P. viticola*, "patogeno policiclico".



**Figura 7** - Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Erysiphe necator* (Velasquez-Camacho *et al.*, 2023).

### 3.2 EPIDEMIOLOGIA

Nonostante questo patogeno abbia una rilevanza mondiale per i danni economici che riesce a causare infettando *Vitis vinifera*, le conoscenze sulla sua epidemiologia sono abbastanza scarse data l'impossibilità di coltivare il fungo su substrati artificiali. Nella valutazione del rischio in uno specifico vigneto è opportuno effettuare una distinzione tra due diversi ambienti:

- aree a basso rischio di infezione (aree fredde in cui sono frequenti e prolungati i tempi di bagnatura);
- aree ad alto rischio di infezione (aree in cui c'è scarsità di pioggia e temperatura medio/alta).

Nelle aree a basso rischio (tipiche di molte zone di pianura e di fondovalle dell'Italia settentrionale) l'oidio si manifesta sporadicamente e la gravità dell'infezione è legata principalmente alla varietà coltivata. In quelle ad alto rischio (in zone settentrionali di collina ed in quelle meridionali) il fungo è presente in modo epidemico quasi tutti gli anni, con entrambe le tipologie di forme svernanti. La germinazione delle infezioni conidiche avviene in un intervallo termico compreso tra i 6 e 33 °C ed in particolare germina l'80% dei conidi tra i 22-28 °C. Mentre per le infezioni ascosporiche l'apertura dei cleistoteci avviene in seguito ad

almeno 2,5 mm di pioggia, e la temperatura ottimale per avviare l'infezione primaria si attesta nell'intervallo 10-25 °C sia con acqua sia con umidità relativa superiore al 54%. Quindi, è possibile affermare che il fungo può vegetare da 6 a 32 °C, ma le temperature ottimali per le infezioni e lo sviluppo della malattia sono di 20-27 °C. Le piogge sfavoriscono le infezioni oidiche. Al contrario di quanto visto per la peronospora, la presenza di acqua sulla pianta è un ostacolo alla germinazione dei conidi che spesso si deformano come conseguenza di un'eccessiva pressione dovuta al turgore cellulare. La pioggia contrasta lo sviluppo delle epidemie in quanto rimuove i conidi (dilavandoli) ed il micelio dalla superficie degli organi infetti. Però, l'aumento di umidità relativa che si ha dopo le piogge stimola una maggiore produzione di conidi. Raramente l'umidità diventa fattore limitante in quanto i conidi possono germinare già con valori di umidità relativa del 20-25%; valori del 40-60% sono sufficienti sia per la germinazione che per l'infezione.

### **3.3 SINTOMATOLOGIA E DANNI**

#### **3.3.1 Sintomi su foglie**

Nonostante l'oidio colpisca tutti gli organi verdi della vite, in particolare foglie e grappoli sono i due organi in cui generalmente vengono riscontrati maggiormente i sintomi e i danni più gravi. Le foglie possono essere attaccate sin dall'inizio della stagione vegetativa, e nelle fasi iniziali i sintomi non sono sempre facilmente visibili; perciò, è necessario prestare la massima attenzione nell'osservazione ed eventualmente avvalersi di una lente.

I primi sintomi specifici sulle foglie sono costituiti da aree più chiare sulle quali compare inizialmente una patina biancastra evanescente ed in seguito un'efflorescenza polverulenta. In caso di forti attacchi e con l'evolvere della malattia compaiono imbrunimenti delle nervature e punteggiature necrotiche. Osservando in controluce il tessuto fogliare, esso appare decolorato e traslucido. La lamina fogliare, con il progredire della malattia, si può riempire di bollosità e piegare verso l'alto assumendo la tipica forma a "coppa", in quanto le cellule colpite muoiono e la crescita dei tessuti sani non viene assecondata, portando alla formazione di queste malformazioni morfologiche. In seguito, la foglia ingiallisce, necrotizza e cade anticipatamente.

#### **3.3.2 Sintomi su infiorescenze e grappoli**

Le infiorescenze sono suscettibili già prima della fioritura. Gli attacchi precoci causano l'aborto e la caduta dei fiori o inibiscono la crescita dei grappolini, e nei casi più gravi, portano al disseccamento del grappolo. In seguito alle infezioni post-fiorali le cellule dell'epidermide degli acini colpiti dal patogeno necrotizzano con la formazione di reticolature bruno-nerastre visibili soprattutto nei vitigni a bacca bianca; nei casi più gravi gli acini non riescono ad assecondare la crescita in volume della polpa e di conseguenza si spaccano aprendo la strada ad altri agenti fitopatogeni (ad esempio *B. cinerea*) o altre avversità. In ogni caso, sugli acini compare quasi sempre la classica efflorescenza biancastra (Figura 8), dovuta ai rami conidiofori del patogeno.



**Figura 8** - Comparsa di sporulazione oidica su grappolo di cv. Montepulciano. Foto vigneto sperimentale situato ad Ancona del 28 giugno 2022.

### **3.3.3 Sintomi su germogli e tralci**

Il fungo è in grado di infettare tutti gli organi erbacei; pertanto, anche questi organi vegetativi possono essere suscettibili alla malattia, la quale si manifesta attraverso la comparsa di sintomi differenti che sono in relazione allo stadio fenologico del tessuto colpito e alla quantità di inoculo presente. Sui germogli il sintomo è causato dalla rapida colonizzazione dei tessuti da parte del micelio svernante protetto dalle perule all'interno delle gemme. In primavera i germogli infetti vengono precocemente ricoperti dalla muffetta biancastra polverulenta e, poiché lo sviluppo della lamina fogliare è ridotto dall'attività del patogeno, assumono un aspetto

particolare che è valse loro la denominazione di “germogli a bandiera” dal termine inglese “flag-shoots”. Sui tralci, in seguito alla necrosi delle cellule superficiali dovuta all’azione del patogeno, compaiono delle aree brune dall’aspetto reticolato che rimangono visibili anche dopo la lignificazione.

#### **4 LA MUFFA GRIGIA DELLA VITE**

##### **4.1 CICLO BIOLOGICO DI *BOTRYTIS CINEREA***

*Botrytis cinerea*, l’agente eziologico della muffa grigia della vite, appartiene alla classe *Discomycetes* (Phylum *Ascomycota*), ordine *Helotiales*, famiglia *Sclerotiniaceae*. È un fungo polifago e pleomorfo, con sistema di compatibilità sessuale di tipo eterotallico bipolare. *B. cinerea* è un patogeno ubiquitario, in grado di svilupparsi sia nelle zone tropicali e subtropicali, sia nelle aree più fredde. Il fungo può sopravvivere nell’ambiente come conidi, micelio allo stato saprotrofo o parassitario e come sclerozi. Al ripristino delle condizioni ottimali, dal micelio o dagli sclerozi si sviluppano i rami conidiofori da cui si liberano i conidi (Figura 9) che, dispersi da vento, pioggia e insetti, causano la diffusione della malattia in campo.



**Figura 9** - Rami conidiofori e conidi di *Botrytis cinerea* osservati allo stereomicroscopio. Foto del 9 settembre 2022, Area di Protezione delle colture del D3A dell’Università Politecnica delle Marche.

I conidi germinano generalmente in presenza di acqua o elevata umidità relativa (superiore all'80 - 90%), sebbene sia stata verificata la capacità del fungo di colonizzare i tessuti vegetali in contesti più aridi e in presenza di un ampio intervallo di temperatura (0-30 °C), con un optimum a 20-25 °C. *B. cinerea* penetra nell'ospite attivamente, per azione meccanica, mediante differenziazione di uno stiletto a partire dall'appressorio, e per azione enzimatica, mediante produzione di enzimi cutinolitici e pectinolitici, o passivamente, attraverso aperture naturali o lesioni di natura biotica o abiotica. A seguito della penetrazione, il fungo può rimanere in uno stato di quiescenza per un periodo di tempo variabile a seconda delle condizioni ambientali, oppure svilupparsi come micelio, con andamento intracellulare, intercellulare o superficiale. In presenza di elevata umidità, gli organi infetti si ricoprono di abbondanti sporificazioni che, disperdendosi, causano ulteriori infezioni. Sulla vite, *B. cinerea* può svernare come micelio nel ritidoma, come saprotrofo sui residui della vegetazione, sotto forma di sclerozi differenziati generalmente su tralci che lignificano molto tardivamente, o come parassita su altre specie ospiti. Tra la fine della fioritura e la pre-chiusura del grappolo, il micelio del fungo può insediarsi come saprotrofo sui fiori non allegati e sui residui fiorali, o anche avviare infezioni alla base e all'apice delle giovani bacche, le quali possono necrotizzare, costituendo un'importante fonte di inoculo per l'avvio del processo patogenetico sui grappoli maturi. Il micelio penetra nella bacca, si approfondisce per 1-2 mm, per poi estendersi parallelamente alla superficie (la penetrazione negli strati inferiori è ostacolata dall'elevato contenuto zuccherino della polpa). In condizioni favorevoli (16-24°C) entro 48 ore forma macchie di 1-4 mm di diametro, dopodiché invade gran parte della buccia. Il fungo produce enzimi maceranti (pectinolitici, cellulolitici e polifenolossidasi) che riducono la consistenza dei tessuti, separando la buccia dagli strati inferiori (buccia che si scortica, o *slip skin*). Le infezioni botritiche possono determinare sgradevoli odori di muffa nel vino e l'incremento di enzimi (laccasi, polifenolossidasi) che facilitano l'ossidazione delle sostanze coloranti e tanniche, causando l'instabilità del vino ed un conseguente notevole decadimento qualitativo.

#### **4.2 SINTOMATOLOGIA E DANNI**

La denominazione della patologia, muffa grigia, deriva dalla tipica colorazione che assumono, nell'insieme, le sporificazioni del fungo che, in condizioni di elevata umidità, si sviluppano abbondantemente sugli organi infetti. Tutti gli organi epigei

della pianta possono manifestare i suddetti segni di malattia. Sulla vite, il fungo può essere responsabile di sintomi di marciume al verde. Alla ripresa vegetativa, sui giovani germogli si possono osservare infezioni apicali che causano imbrunimenti con conseguente necrosi e morte della porzione colpita; sui germogli più sviluppati, invece, è possibile osservare imbrunimenti di nodi e internodi, che in condizioni favorevoli alla malattia possono ricoprirsi di sporificazioni del fungo. Sulle foglie possono comparire macchie bruno cuoio, localizzate principalmente al margine della lamina fogliare, che necrotizzano, ricoprendosi o meno della tipica efflorescenza grigiasta. Le infezioni possono verificarsi anche a carico delle infiorescenze, che, come conseguenza, disseccano. Maggiormente rilevanti sono invece gli esiti delle infezioni sui grappoli che si osservano dopo l'invasatura - inizio maturazione, quando gli acini divengono più suscettibili a causa dell'accumulo di zuccheri e della riduzione dell'acidità e delle capacità di difesa. Le bacche imbruniscono assumendo tonalità diverse a seconda dello stadio fenologico e della cultivar. Nelle fasi iniziali, i sintomi di muffa grigia possono essere discriminati da quelli di altre forme di marciume poiché la buccia si stacca facilmente dai tessuti sottostanti semplicemente toccando l'area infetta con un polpastrello (*slip skin*), a causa degli enzimi litici prodotti da *B. cinerea*. Successivamente, se la stagione decorre secca, le bacche avvizziscono, altrimenti si sviluppa il classico marciume molle su cui generalmente si forma la muffa grigia (Figura 10).



**Figura 10** - Immagini grappoli di cv. Verdicchio con sporificazioni di *Botrytis cinerea*. Foto vigneto sperimentale di Montecarotto (AN) del 7 settembre 2022.



## **5. GESTIONE DELLA PERONOSPORA, DELL'OIDIO E DELLA MUFFA GRIGIA DELLA VITE**

### **5.1 LA PROTEZIONE IN AGRICOLTURA INTEGRATA**

Il settore agricolo, nell'ambito della protezione fitosanitaria, si sta affacciando verso sistemi produttivi ecosostenibili che permettano di ridurre sempre di più l'impatto ambientale; l'agricoltura integrata è basata proprio su questi principi, ossia sull'utilizzo delle risorse naturali fino a quando possono sostituire adeguatamente i mezzi tecnici adottati nell'agricoltura convenzionale, per poi ricorrere a questi ultimi solamente quando strettamente necessari ad ottimizzare il compromesso fra esigenze ambientali, sanitarie ed economiche. L'obiettivo prioritario della 'protezione integrata' è la protezione delle colture con metodi che alterino il meno possibile gli ecosistemi naturali o agricoli e che promuovano i meccanismi naturali di controllo fitosanitario (articolo 3, Decreto Legislativo n. 150/2012). In merito alle tecniche disponibili, a parità di condizioni, la scelta ricade prioritariamente su quelle con un minore impatto e, ad ogni modo, esclude quelle ad elevato impatto. Il sistema di produzione integrato ha trovato la sua più larga espressione nella protezione delle colture agricole. Le strategie di protezione si basano esclusivamente sull'impiego razionale di tutti i mezzi di protezione disponibili: biologici, fisici, biotecnici, agronomici, genetici e se necessari, chimici. Con il passare degli anni, grazie anche ad una forte spinta delle attività di ricerca in questo ambito, la difesa fitosanitaria basata sull'utilizzo di prodotti chimici pericolosi sta passando sempre più in secondo piano, lasciando spazio a strategie di protezione innovative o alternative. L'integrazione di tutti i mezzi di protezione disponibili ha lo scopo primario di mantenere il livello della malattia al di sotto di specifiche soglie di intervento. Se poi a fronte di questi interventi si supera comunque la soglia economica di danno, allora si può intervenire chimicamente utilizzando i prodotti ad azione diretta nei confronti del patogeno, andando a selezionare quelli con i profili eco tossicologici più favorevoli. Nell'agricoltura integrata, tra i prodotti chimici ammessi, oltre a tutti quelli consentiti in agricoltura biologica come rame e zolfo, ci sono anche i prodotti di sintesi, che però, a causa del loro meccanismo d'azione monosito o oligosito, possono far sviluppare fenomeni di resistenza nelle popolazioni di patogeni; per questo motivo i prodotti di sintesi vengono spesso affiancati da prodotti di copertura multisito che, a differenza dei primi, non sviluppano resistenza e non sono quindi soggetti a cali d'efficacia. Tra questi prodotti di copertura il rame svolge ancora oggi un ruolo fondamentale nella

protezione antiperonosporica sia in agricoltura integrata che biologica. Le strategie di protezione integrata nella gestione della peronospora devono tener conto sia dell'elevata suscettibilità della vite nei suoi vari stadi fenologici verso questa malattia, sia della capacità del micete di diffondersi rapidamente e in maniera epidemica nel vigneto. Queste criticità impongono, nel caso di peronospora, l'utilizzo di un approccio cautelativo-preventivo costituito dalla programmazione di interventi quasi calendarizzati che prendano in considerazione l'andamento meteorologico, allo scopo di non correre rischi attendendo la comparsa dei sintomi della patologia, che a quel punto diventerebbe difficile da controllare. Già prima dell'infezione dovranno quindi essere previsti interventi anche in assenza di pioggia, soprattutto nelle fasi fenologiche di elevata suscettibilità dalla differenziazione dei grappolini all'allegagione, per evitare che eventuali precipitazioni sulla vegetazione non preventivamente protetta diano origine alla malattia che, una volta presente, può diffondersi in maniera molto rapida nel vigneto. I trattamenti su base cautelativa devono poi essere ripetuti ad intervalli più o meno regolari in funzione della persistenza del principio attivo utilizzato e dell'andamento meteorologico, assicurando la copertura della vegetazione durante l'intero periodo di sviluppo del patogeno. Anche per la protezione dall'oidio, le strategie devono essere impostate con criterio preventivo per evitare l'insediamento del patogeno nel vigneto. La protezione antioidica consta principalmente dell'uso di fungicidi organici e inorganici, che possono essere suddivisi in due categorie: antioidici di superficie, che interferiscono con la germinazione delle spore e la crescita del micelio; antioidici penetranti, che penetrano nei tessuti della pianta ed hanno attività curativa essendo in grado di bloccare le infezioni di oidio in atto. La pianta ha la maggiore suscettibilità agli attacchi oidici nelle fasi fenologiche comprese tra inizio-fioritura e chiusura del grappolo. In tutti i casi, devono essere effettuati almeno due interventi, in corrispondenza delle fasi fenologiche di inizio e fine fioritura; successivamente, i programmi di intervento devono proseguire fino all'invaiaatura in dipendenza della persistenza dei fungicidi impiegati e della pressione di malattia nella specifica situazione e a un dato momento (Santomauro *et al.*, 1997, 2003). In linea generale è possibile affermare che tutti gli areali viticoli che sono esposti a condizioni di elevata piovosità ed elevati valori di umidità sono più sensibili al rischio di infezioni peronosporiche rispetto agli areali viticoli con prevalenza di stagioni caldo aride, in cui la sensibilità aumenta verso l'oidio. Non è possibile individuare un modello generale decisionale nei confronti di *P. viticola*

ed *E. necator*, ma linea guida comune è la ricerca di un compromesso fra l'obiettivo di evitare interventi agronomici superflui e non superare il livello di rischio infettivo che possa mettere a repentaglio la produttività della coltura. A livello tecnico la programmazione agronomica deve prevedere un'utilizzazione di modelli previsionali di tipo climatico basati su algoritmi che mettano in relazione i dati meteorologici (pioggia, temperatura, umidità relativa, bagnatura fogliare) con i parametri di sviluppo dei funghi (es. maturazione, germinazione, dispersione delle spore), per individuare il momento di avvio delle infezioni e la loro evasione dal tessuto vegetale. Inoltre, tra gli accorgimenti preventivi, risultano importanti tutti quegli interventi che sfavoriscano la malattia, come ad esempio la corretta gestione della nutrizione azotata e l'irrigazione, atta ad evitare un eccessivo rigoglio vegetativo o l'eliminazione delle femminelle nel momento della potatura di produzione, le quali rappresentano facili bersagli per gli inoculi; importanti risultano anche l'adozione di forme di allevamento che garantiscano una buona aereazione dei filari come il cordone speronato e il guyot e la gestione dell'inerbimento del terreno, che contribuisce ad un controllo efficace dei valori di umidità. L'ampia variabilità genetica e l'elevata capacità di adattamento alle più diverse condizioni ambientali che caratterizzano *B. cinerea* contribuiscono a rendere difficoltosa la gestione della muffa grigia in campo. La protezione chimica rappresenta il principale mezzo attualmente disponibile per contenere la malattia; i composti comunemente impiegati appartengono alle famiglie dei fenilpirroli, delle anilinopirimidine, dei fungicidi inibitori della biosintesi degli steroli di gruppo III (SBI-III) e inibitori della succinato deidrogenasi (SDHI). Su vite, il metodo di difesa più utilizzato è quello fenologico-climatico, che individua i momenti in cui il rischio di infezione è maggiore o in cui gli interventi chimici possono avere un migliore effetto preventivo. Essi sono:

- a) fine della fioritura, effettuato solamente nelle aree più umide;
- b) pre-chiusura del grappolo, con finalità eradicante per devitalizzare l'inoculo presente al suo interno;
- c) invaiatura, momento in cui il grappolo diventa più suscettibile;
- d) preraccolta, con un numero di trattamenti variabile a seconda dell'andamento stagionale, del momento della raccolta e della persistenza dei fungicidi impiegati.

Approcci indiretti, quali metodi agronomici, genetici o biologici, risultano comunque di ausilio per limitare i danni causati dal patogeno. È fondamentale prestare attenzione alla scelta della cultivar e della forma di allevamento, evitare

elevate densità d'impianto, limitare le concimazioni, soprattutto azotate e i volumi di irrigazione al fine di evitare eccessivi livelli di umidità, che possono favorire le infezioni. Utile ai fini del contenimento della malattia nei vigneti è la potatura verde, con la quale vengono eliminate le foglie che circondano i grappoli, al fine di ridurre l'umidità nel microambiente. L'impiego di agenti di biocontrollo (*Bacillus* spp., *Aureobasidium pullulans*) per il contenimento della muffa grigia è una pratica sempre più diffusa, anche in risposta ai problemi di acquisizione di resistenza ai fungicidi, sempre più frequenti nelle popolazioni di *B. cinerea*.

## **5.2 LA PROTEZIONE IN AGRICOLTURA BIOLOGICA**

L'agricoltura biologica è un sistema di agricoltura alternativo, sviluppatosi parallelamente a quello integrato, per tutto ciò che riguarda sia la gestione aziendale che la produzione agricola; in Europa è disciplinata dal Regolamento CE 834/2007 e dalle sue modalità applicative riportate nel Regolamento CE 889/2008, norme che hanno sostituito, a partire dal 1° gennaio 2009, il Regolamento CE 2092/91. Conosciuta anche come agricoltura "bio", essa non ha come scopo principale il raggiungimento di elevate produzioni; è stato infatti evidenziato come i suoli bio producano spesso una resa media di circa il 20-25% più bassa di quella che si avrebbe attraverso la produzione integrata (Mondelaers *et al.*, 2009; Tuomisto *et al.*, 2012). Tutto ciò comporta che per avere la stessa produzione occorre coltivare, nel caso del biologico, mediamente il 20% in più di suolo. Obiettivi principali dell'agricoltura biologica sono il mantenimento e l'aumento dei livelli di sostanza organica nei suoli e la conservazione della biodiversità, grazie alla riduzione dell'uso dei fertilizzanti, d'erbicidi e di fitofarmaci di sintesi per combattere parassiti e patogeni. In regime biologico la protezione delle colture agrarie si basa soprattutto sulla capacità di autoregolazione degli agroecosistemi, che per svolgere tale funzione devono essere mantenuti in equilibrio e con elevati livelli di biodiversità, sia agraria che naturale. L'agricoltura biologica, dunque, ha un duplice obiettivo: da un lato quello di rispondere alla richiesta sempre più forte da parte del consumatore di alimenti salubri e sicuri, dall'altro di fornire beni che contribuiscano alla tutela dell'ambiente, al benessere degli animali e allo sviluppo rurale. Tutti i regolamenti emanati fino ad ora contengono una serie di disposizioni comuni che riguardano metodi di produzione, etichettatura, provvedimenti finanziari a sostegno del biologico fino al sistema dei controlli e tutte le misure adottate per il sostegno della biodiversità. Inoltre, nel 2012, è stato istituito il SIB (Sistema Informativo

Biologico) per la gestione informatizzata di tutto l'iter amministrativo che gli operatori sottoposti al regime di controllo devono rispettare. Ciononostante, soprattutto in alcuni casi, l'intervento dell'uomo attraverso input chimici esterni risulta fondamentale per assicurare la produzione. Per il controllo di *P. viticola* in biologico, ad esempio, sono ancora oggi necessari svariati trattamenti fungicidi durante l'anno. Gli unici principi attivi efficaci ed autorizzati in bio sono quelli a base di rame, un metallo pesante normalmente presente a certe concentrazioni negli ambienti naturali, che agisce come prodotto di copertura sulla superficie trattata e deve perciò essere distribuito più volte nel corso dell'annata per proteggere la vite. Allo stesso modo, la protezione antioidica della vite in agricoltura biologica non può prescindere dall'applicazione di prodotti a base di zolfo. Spesse volte, infatti, a causa dell'impossibilità di utilizzo di agrofarmaci di sintesi, sono addirittura necessari più trattamenti per anno rispetto all'agricoltura integrata, proprio perché questi fungicidi inorganici agiscono prevalentemente in maniera preventiva e non curativa.

### **5.3 MEZZI AGRONOMICI**

Le pratiche agronomiche possono contribuire positivamente al contenimento delle malattie sia a livello di singola pianta che di vigneto e all'impostazione di una strategia di protezione che sia il più efficace possibile nel contenimento dei danni. La lotta alla peronospora, all'oidio e alla muffa grigia ha inizio al momento dell'impianto della coltura; per questo motivo sono da evitare le zone di fondovalle e le zone in cui generalmente tendono a verificarsi frequenti ristagni idrici e situazioni di prolungata bagnatura fogliare, particolarmente favorevole alla peronospora. Un ulteriore fattore da tenere in considerazione in fase d'impianto è l'eventuale presenza di vigneti abbandonati che, costituendo una notevole fonte di inoculo, andrebbero ad avvantaggiare la diffusione dei patogeni rappresentando un pericolo per gli impianti sani nelle vicinanze; risulta quindi fondamentale l'eliminazione di questi vigneti. Dopodiché, a seconda delle condizioni pedoclimatiche di ciascun sito, deve essere scelta la varietà adatta e il portinnesto più opportuno. Per quanto riguarda invece gli interventi da mettere in pratica in fase di gestione del vigneto, è opportuno favorire la penetrazione della luce e dell'aria all'interno della chioma e intorno al grappolo in modo da rendere la pianta meno predisposta all'insorgenza delle malattie fungine causate dal microclima che si creerebbe al suo interno. Le tecniche colturali più comuni sono:

- ❖ la potatura invernale, per il mantenimento di una giusta carica di gemme;
- ❖ la potatura verde, per eliminare i germogli in eccesso e cimare quelli portanti i grappoli;
- ❖ la defogliazione (dopo la fioritura) nella parete del filare meno esposta alla luce del sole, per scoprire i grappoli;
- ❖ le opportune lavorazioni del terreno, per evitare i ristagni di acqua.

Altre pratiche agronomiche di importanza rilevante riguardano la corretta gestione dell'interfila e dei residui di potatura.

Come accennato in precedenza, è opportuno cercare di evitare quell'insieme di operazioni che contribuiscono ad un vigoroso sviluppo vegetativo, le quali rendono la vite maggiormente sensibile alle malattie poiché favoriscono l'ombreggiamento e lo scarso ricambio d'aria. Per questo motivo, di fondamentale importanza risulta essere la messa in pratica di interventi estivi di potatura, quando l'esposizione dei grappoli alla luce diretta inibisce la germinazione dei conidi di oidio, favorendo al contempo uno sviluppo ottimale degli acini. Ad ogni modo, nonostante le pratiche agronomiche non possano considerarsi risolutive in quanto raramente in grado di garantire di per sé un controllo efficace, esse si rivelano estremamente utili al fine di evitare l'insorgenza di condizioni predisponenti le patologie.

#### **5.4 RESISTENZA VARIETALE**

Lo sfruttamento delle risorse genetiche viene visto come una possibilità aggiuntiva per la difesa delle colture dai patogeni. Molti lavori di ricerca sono incentrati verso la costituzione di nuovi vitigni ibridi geneticamente resistenti a peronospora e oidio (Crespan *et al.*, 2021). L'elevata suscettibilità nei confronti di *P. viticola*, ad esempio, accomuna tutte le varietà di *V. vinifera*. L'interazione ospite-patogeno è sempre sotto il controllo di segnali legati alla diversificazione, a loro volta dovuti all'evoluzione della specie. Purtroppo, in tal senso, la *V. vinifera*, specie di origine eurasiatica, non si è coevoluta con *P. viticola* prima della fine del XIX secolo; pertanto, non possiede basi genetiche di resistenza e in entrambe le sottospecie di vite europea, la *sativa* e la *silvestris*, la colonizzazione del mesofillo da parte del patogeno non trova ostacoli. Tuttavia all'interno del genere *Vitis* sono state anche osservate differenti interazioni ospite-patogeno che corrispondono a diverse strade evolutive (Jürges *et al.*, 2009); queste specie appartenenti soprattutto al ceppo americano (*V. rotundifolia*, *V. riparia*, *V. cordifolia*, *V. rupestris* e *V. berlandieri*), pur essendo inadatte alla produzione di vino, sono geneticamente predisposte ad

una resistenza nei confronti del patogeno a seguito di una forte selezione dovuta alle condizioni ambientali in cui si sono sviluppate. È stato infatti analizzato come l'inibizione dello sviluppo del patogeno si verifichi in modo molto rapido dopo l'incistamento delle zoospore. Le soluzioni possibili contro i principali agenti fungini della vite in questo senso possono essere la costituzione di nuove varietà resistenti alle malattie ottenute attraverso un processo di miglioramento genetico tradizionale: incrocio e successiva selezione. Nella regione Marche, attraverso l'ASSAM (Agenzia Servizi Settore Agroalimentare Marche), dal 2015, nell'ambito di un progetto di ricerca relativo ai vitigni resistenti, si sta prendendo in considerazione l'adattamento e la rispondenza sul territorio regionale sotto il profilo agronomico ed enologico di alcune varietà resistenti a peronospora, oidio e muffa grigia iscritte nel catalogo nazionale delle varietà di vite, e di altre in corso di iscrizione. Le analisi di resistenza, fino ad ora, sono relative alle due principali crittogame (peronospora e oidio), anche se, in un contesto monocolturale, antropizzato e a ridotta biodiversità, si rende necessario monitorare anche eventuali altre avversità fungine oltre a fitofagi e virosi. Lo scopo è quindi quello di dare ai viticoltori l'opportunità di intervenire a monte della malattia; al contempo, l'utilizzo di queste varietà resistenti va considerato come mezzo complementare e non sostitutivo dei mezzi di lotta antiparassitaria agronomici, chimici e biologici. La diffusione a livello nazionale delle varietà resistenti viene ostacolata dal timore che esse possano soppiantare i vitigni autoctoni, producendo vini qualitativamente inferiori, vista la contaminazione del genoma *V. vinifera* con quello di specie meno adatte alla produzione di vino. Al momento a livello regionale, come evidenziato dalle sperimentazioni in campo effettuate dall'ASSAM, i vitigni resistenti che meglio si adattano alle condizioni pedoclimatiche del territorio sono: Trebbiano T. R4, Passerina VCR 450, Montepulciano VCR 456 e Sangiovese R10. Ulteriori possibilità sono inoltre offerte dall'ingegneria genetica, come ad esempio la modificazione di vecchie varietà tramite cisgenesi (con la quale viene inserito un gene di un organismo della stessa specie). Strettamente legata a quest'ultima è poi il *genome editing*, una tecnica altamente specifica intesa come "correttore di errori genetici" del DNA con cui sono state ottenute alcune varietà resistenti. Un'altra strada percorribile è quella di analizzare il patogeno andando a neutralizzare la sua virulenza, ad esempio applicando molecole in grado di inattivare o silenziare i geni responsabili dell'infezione (Haile *et al.*, 2021).

## 5.5 MEZZI CHIMICI

Nel momento in cui l'integrazione di tutti i mezzi di protezione disponibili non sia in grado di garantire una sufficiente protezione delle colture, tenendo conto sempre del primario obiettivo di utilizzare metodi di controllo che offrano le migliori garanzie in termini di sostenibilità dal punto di vista della salute umana e dell'ambiente, si dovrà ricorrere all'utilizzo dei mezzi chimici, scegliendo fra quelli con profili eco tossicologici più favorevoli. La scelta del prodotto da utilizzare è di primaria importanza al fine di ridurre al minimo gli effetti indesiderati relativi alle specie ed alle superfici non bersaglio dell'intervento, inclusi gli antagonisti delle specie dannose, gli impollinatori e la complessa micro/macro fauna del terreno. La decisione della sostanza da utilizzare dovrà essere orientata verso il principio attivo che sia, oltre che dotato di un'adeguata efficacia nel contenimento dell'avversità, anche il più possibile selettivo verso gli organismi *non-target*. I mezzi chimici propriamente detti sono i prodotti fitosanitari che agiscono direttamente sul patogeno e la cui sostanza attiva può essere costituita da molecole di sintesi o naturali, addizionata in genere con uno o più coformulanti. In base alle loro caratteristiche di modalità d'azione possono essere classificati in:

❖ Mezzi chimici tradizionali:

- fungicidi di copertura, che rimangono all'esterno del vegetale e svolgono un'azione preventiva.

❖ Mezzi chimici moderni:

- citotropici e translaminari, che vengono assorbiti dal vegetale e si ridistribuiscono localmente all'interno dei tessuti fino ad attraversare la lamina fogliare, svolgendo un'azione curativa nei confronti delle infezioni in atto;
- sistemici, che entrano nei tessuti conduttori e possono essere traslocati a distanza notevole dal punto di applicazione raggiungendo i vari organi vegetali.

Nonostante i penetranti (citolropici, translaminari e sistemici) siano in grado di bloccare le infezioni in atto, si tende a sfruttare le capacità eradicanti di questi prodotti solamente in casi estremi. Inoltre, è buona norma utilizzare i composti endoterapici solo in miscela con prodotti di superficie e con diverso meccanismo di azione, in cui almeno una sostanza attiva abbia caratteristiche di copertura, poiché i fungicidi curativi, agendo generalmente su specifiche vie metaboliche dell'organismo, aumentano considerevolmente i rischi di selezione di ceppi



resistenti. Per la protezione della vite dalla peronospora rivestono da sempre un ruolo fondamentale (e ad oggi sono diventati indispensabili) i prodotti a base di rame sia per quanto concerne l'agricoltura integrata che per quella biologica. Nel primo caso, infatti, sono sempre meno i prodotti organici di sintesi di copertura ad azione multisito (ad esempio il mancozeb è stato bandito a partire da gennaio 2022), mentre, nel secondo caso, tali prodotti rappresentano l'unica arma veramente efficace nei confronti della malattia (dato che in biologico non possono essere affiancati da prodotti di sintesi ad azione curativa). Anche la protezione della vite dall'oidio si basa essenzialmente sull'applicazione massiccia di mezzi chimici, dato che anche in questo caso l'approccio è di tipo cautelativo-preventivo. L'antioidico per eccellenza è lo zolfo, che avendo un meccanismo d'azione multisito, danneggia diversi aspetti della biologia del fungo impedendo, di conseguenza, la comparsa di fenomeni di resistenza (Hewitt, 1998). Considerato da alcuni l'anticrittogamico più antico, lo zolfo è stato impiegato contro l'oidio sin dalla seconda metà del XIX secolo e rappresenta ancora oggi il mezzo più economico ed utilizzato in agricoltura. Anche in questo caso, in agricoltura biologica rappresenta l'unica arma efficace che gli agricoltori hanno nei confronti della malattia, mentre in agricoltura integrata può essere affiancato da fungicidi di sintesi.

Per la gestione della muffa grigia, la protezione chimica rappresenta il principale mezzo attualmente disponibile per il contenimento della malattia; i composti comunemente impiegati appartengono alle famiglie dei fenilpirroli, delle anilinopirimidine, dei fungicidi inibitori della biosintesi degli steroli di gruppo III (SBI-III) e inibitori della succinato deidrogenasi (SDHI).

### **5.5.1 Prodotti a base di rame**

La scoperta del rame risale al 1882, quando Pierre Millardet, un professore di botanica dell'università di Bordeaux, si accorse che le piante di vite che erano state imbrattate con un miscuglio di rame e calce per scoraggiare alcuni ladri, erano meno ammalate di quelle non sporcate dalla suddetta poltiglia. In seguito a varie prove che il professore condusse per ben dosare il rapporto tra il solfato di rame e la calce, ebbe origine quella che poi venne denominata «poltiglia bordolese» proprio perché sperimentata negli areali viticoli di Bordeaux. Tutt'oggi, a distanza di oltre 130 anni da tale scoperta, il rame riveste ancora un importante ruolo nella protezione da diverse patologie di origine fungina e batterica anche se il suo impiego «storico» è quella per la lotta agli oomiceti, in particolare alla peronospora della vite. Oltre alla

classica e già citata poltiglia bordolese (solfato di rame neutralizzato), ad oggi vengono commercializzate altre sostanze attive a base di rame, ciascuna con una persistenza e una prontezza d'azione variabile. I composti del rame che attualmente possono essere utilizzati a livello europeo sono raggruppabili in cinque categorie di principi attivi: solfato neutralizzato con calce; solfato tribasico; ossicloruro (ossicloruro di rame e calcio o triramico e ossicloruro tetraramico); ossido rameoso ed idrossido di rame. Tali prodotti si presentano in diverse formulazioni (polvere bagnabile, granuli disperdibili, sospensione concentrata) e, in qualche caso, due diversi tipi di rame possono essere combinati insieme nello stesso formulato commerciale (es. ossicloruro e idrossido, oppure solfato tribasico e idrossido). Sono presenti in commercio anche formulati in cui il rame (soprattutto come ossicloruro) è miscelato con fungicidi organici. La Figura 11 schematizza le proprietà delle quattro principali sostanze attive a base di rame.

❖ ***Poltiglia bordolese ( $CuSO_4 / 3Cu(OH)_2 / 3CaSO_4$ )***

È stato il prodotto scoperto per primo, contiene solfato di rame e idrossido di calcio all'1% (1 kg di entrambi i composti ogni 100 L di acqua). Più la poltiglia ha un pH basso più l'effetto è pronto, ma meno durevole nel tempo a differenza di una poltiglia prevalentemente alcalina. Per evitare sgradevoli effetti fitotossici è consigliato utilizzare una poltiglia a reazione neutra, data dalle proporzioni indicate sopra, e che di solito è quella che si trova nelle preparazioni commerciali già miscelate e pronte all'uso che contengono in media il 20-25% di rame metallo.

❖ ***Idrossido di rame [ $Cu(OH)_2$ ]***

Ha un contenuto di rame metallo pari al 50%, è composto da particelle aghiformi rilasciate velocemente ed in grado di aderire bene alla vegetazione trattata. Si ottiene trattando una soluzione di solfato di rame con idrossido alcalino in presenza di eccesso di ammoniaca. Ha una buona prontezza d'azione grazie alla finezza delle sue particelle, presentando comunque una buona persistenza d'azione e redistribuzione grazie alla sua capacità di rimobilitazione sulla vegetazione in presenza di forte umidità ambientale.

❖ ***Ossicloruro di rame [ $Cu_2Cl(OH)_3$ ]***

Si ottiene per reazione dell'acido cloridrico sul rame metallo o con una sospensione di cloruro di rame. Rispetto al solfato di rame ha il vantaggio di possedere una minore fitotossicità. In distribuzione esistono due prodotti: l'ossicloruro tetraramico, che è un complesso tra l'ossido rameico e il cloruro rameico ( $3CuO \cdot CuCl_2 \cdot 3H_2O$ ) e l'ossicloruro di rame e calcio (triramico), che è un complesso tra

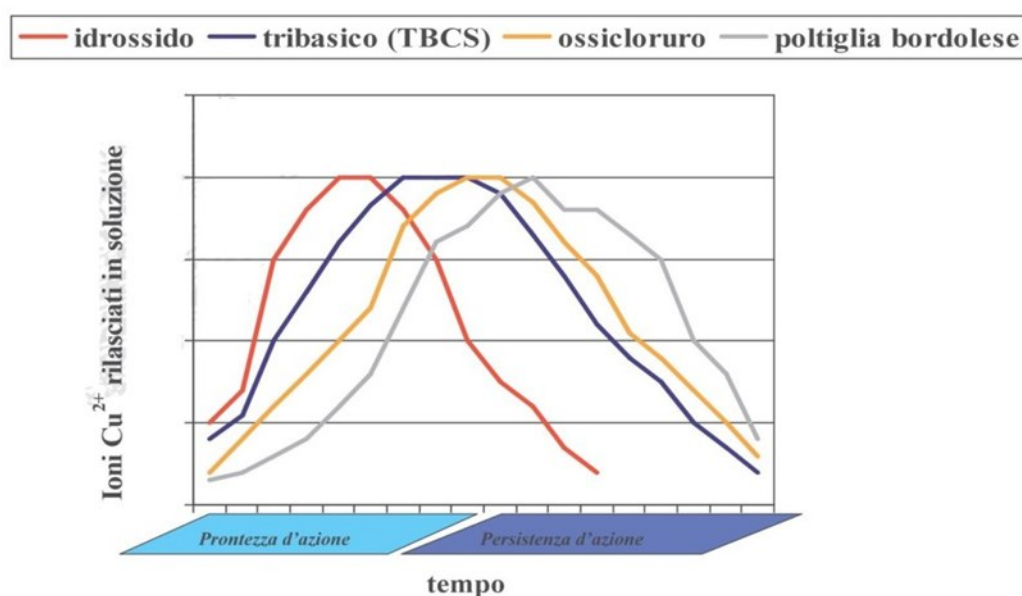
l'ossido rameico e il cloruro di calcio ( $3\text{CuO} \cdot \text{CaCl}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ). Il triramico presenta un'azione più veloce del tetrarameico, ma meno persistente, a causa della molecola poco stabile. Essa possiede una maggiore sicurezza in quanto tende a rilasciare una minor quantità di rame sulla vegetazione a parità di tempo d'impiego. Al contrario l'ossicloruro tetrarameico risulta essere più persistente e il rilascio di rame è quantitativamente maggiore al triramico ma la prontezza d'azione è più lenta.

❖ ***Solfato di rame tribasico ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )***

È il più importante tra i sali di rame e viene utilizzato non solamente come fungicida ma anche per apportare rame al terreno. Industrialmente, tale prodotto viene preparato per reazione tra acido solforico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) diluito e ossido di rame in presenza di aria. È molto solubile in acqua, il suo pH tendente all'acido conferisce maggiore aggressività e prontezza d'azione. Ha un titolo di rame metallo basso (25%) ma è abbastanza fitotossico sulle piante per cui bisogna prestare attenzione alle dosi e alle modalità di utilizzo.

Il meccanismo d'azione del rame è basato sulla tossicità apportata dagli ioni  $\text{Cu}^{++}$  alle cellule dell'organismo bersaglio, che interferiscono con le spore a diversi livelli. Lo ione rame viene assorbito con grande facilità dalle spore in fase di germinazione (“meccanismo suicida”) esplicando la propria attività tossica su varie componenti cellulari: tende infatti a sostituire gli ioni calcio e magnesio presenti nei polimeri di parete, denatura le proteine strutturali e di membrana grazie alla capacità di reagire rapidamente con gruppi sulfidrilici, idrossilici, amminici e carbossilici, oltre a provocare dei danni irreversibili ai lipidi di membrana. È opportuno affermare come l'attività antifungina di un prodotto rameico sia condizionata dalla quantità di ioni  $\text{Cu}^{++}$  disponibili a livello del bersaglio (spore del patogeno target). La disponibilità ionica è strettamente legata alla capacità del prodotto di liberare gli stessi ioni nell'acqua, i quali, venendo a contatto con le spore, verranno assorbiti. Alla luce di quanto detto finora appare chiaro che il rame, con il suo meccanismo, agisce sulle spore in fase di germinazione svolgendo esclusivamente azione preventiva. Per questo motivo, i formulati rameici vengono impiegati come prodotti di copertura ed il binomio dose/intervallo d'intervento riveste un ruolo di fondamentale importanza. La frequenza dei trattamenti è strettamente condizionata da diversi fattori: accrescimento (dipende dalla vigoria della cultivar), fase fenologica ed andamento meteorologico (in particolare dalla frequenza e dall'intensità delle precipitazioni). Durante le fasi di più intenso sviluppo vegetativo si creano in media 2-3 foglie nuove ogni settimana ed anche la

superficie degli acini cresce rapidamente dall'allegagione in poi; questi sono tessuti vegetali chiaramente non coperti da un precedente trattamento. Un ulteriore fattore da tenere in considerazione è l'eventuale dilavamento, poiché la soglia al di sotto della quale l'efficacia dei formulati rameici non è ridotta o lo è solo limitatamente, è indicativamente di 20 mm di pioggia; se in presenza di precipitazioni superiori, l'efficacia cala più o meno rapidamente, in funzione della dose, del tipo di rame e della formulazione impiegata.



**Figura 11** - Rappresentazione grafica sulle differenze tra vari prodotti cuprici ed il loro rapporto tra ioni Cu<sup>++</sup> rilasciati in soluzione e tempo, che comprende prontezza d'azione e persistenza.

#### 5.5.1.1 Aspetti positivi e negativi del rame

Il rame presenta delle caratteristiche e delle proprietà che sono alla base del suo successo come fungicida:

- ❖ l'elevata efficacia nel controllo delle malattie causate da oomiceti;
- ❖ l'elevata efficacia anche a basse dosi (5 ppm inibiscono la germinazione di una zoospora di *Phytophthora* spp.);
- ❖ la bassa tossicità per la vite;
- ❖ l'ampia conoscenza dei prodotti fra gli operatori agricoli;
- ❖ il basso costo e l'ampio spettro d'azione;
- ❖ la particolare, se non esclusiva, attività antibatterica.

I prodotti cuprici svolgono un'azione preventiva in quanto agiscono sulle strutture riproduttive del patogeno e mirano a limitare il più possibile le infezioni, riducendo

il ricorso ad eventuali interventi curativi. Essi, inoltre, svolgono un'azione tossica multisito, che previene l'insorgenza di resistenze nei patogeni, aspetto da non trascurare soprattutto in agricoltura integrata in cui l'eventuale abbandono del rame potrebbe portare a dover gestire anche le problematiche legate all'insorgere di resistenze per la preferenza di molecole ad azione curativa. Inoltre, possono contribuire a irrobustire la cuticola fogliare e la buccia dei frutti e renderli così meno suscettibili a ferite e conseguenti attacchi di altri patogeni. Quest'insieme di aspetti ha reso il rame uno dei principali mezzi di protezione adottati in agricoltura, soprattutto nella viticoltura. Nonostante i prodotti a base di rame siano consentiti in agricoltura biologica, risulta importante prendere in considerazione anche gli effetti indesiderati di un uso continuativo e reiterato nel tempo di prodotti cuprici, da diversi punti di vista. Essendo un metallo pesante, esso è soggetto a bioaccumulo nelle catene trofiche (Duca *et al.*, 2016), è tossico per gli organismi acquatici e del suolo, tende ad accumularsi nel terreno, provocando alterazioni quantitative e qualitative nella composizione della microflora e fauna terricola. Una volta nel suolo, questo elemento non subisce alcuna degradazione chimica o fotolitica e nessuna metabolizzazione: l'unica asportazione rilevante è data dall'azione dilavante della pioggia; nel terreno, lo ione rameico interagisce con le argille e la sostanza organica, per formare composti insolubili (Businelli *et al.*, 2007). A pH >7, il rame precipita sotto forma di idrossido [Cu (OH)<sub>2</sub>], che è praticamente insolubile in acqua. Quando il pH del suolo diminuisce, la sensibilità al Cu è maggiore, soprattutto se in tali suoli la sostanza organica e i minerali argillosi sono scarsi. Data l'affinità del rame per le molecole umiche, la sua ritenzione da parte dei minerali argillosi è tanto maggiore quanto minore è il contenuto di sostanza organica. Tale circostanza spiega l'alta percentuale di rame nella frazione residuale degli orizzonti profondi. Sebbene il rame sia considerato un microelemento della nutrizione vegetale, elevate concentrazioni possono risultare fitotossiche (Figura 12) (si possono osservare ad esempio manifestazioni clorotiche, stentata crescita di giovani germogli ed apici radicali) nei confronti delle cellule vegetali stesse, nelle quali tuttavia in genere non riesce a penetrare. Le cellule vegetali, infatti, sono protette da cuticola, uno strato di cutina e cere presenti sulle pareti esterne dell'epidermide in grado di conferire una barriera impenetrabile per lo ione rame. In alcune circostanze, tale barriera è meno efficiente: nei tessuti giovanili, in particolare sugli organi fiorali e sui giovani frutti appena allegati, il sottile strato di cuticola presente può risultare insufficiente ad impedire il contatto tra lo ione rame

e la cellula vegetale. In situazioni caratterizzate da un'abbondante disponibilità idrica, lo scollamento delle componenti cerose della cuticola dovuto alla forte idratazione delle cellule sottostanti può provocare delle soluzioni di continuità nello strato protettivo che consentono allo ione rame di penetrare all'interno del tessuto vegetale. Il contatto tra rame e membrana cellulare provoca un'alterazione della membrana stessa e, una volta assorbito dalla cellula, il rame determina fenomeni di fitotossicità, la cui entità varia in funzione della quantità di prodotto assorbito. Il rilascio dello ione rame deve quindi essere preferibilmente graduale, non solamente per evitare o ridurre l'eventuale fitotossicità, ma soprattutto per assicurare una persistenza più duratura dell'attività fungicida. Altro aspetto negativo tutt'altro che trascurabile riguarda le contaminazioni dell'uva con residui del metallo pesante i quali, oltre ad essere pericolosi per la salute del consumatore, hanno una serie di risvolti negativi in fase di vinificazione sulle caratteristiche aromatiche dei vini stessi (Garde-Cerdán *et al.*, 2017). Infine, gli agrofarmaci a base di rame possono rappresentare un pericolo per la salute degli operatori del settore agricolo, spesso esposti al contatto con questi prodotti. Alla luce di queste problematiche, i quantitativi di rame utilizzabili in agricoltura hanno subito delle progressive limitazioni negli anni, dapprima con il Regolamento CE n. 473/2002, fino a giungere alla situazione attuale, dove attraverso il Regolamento UE 1981/2018, è stato fissato un limite medio all'impiego di rame in agricoltura di 4 kg/ha per anno (ovvero 28 kg ammessi nei 7 anni di rinnovo con un massimo assoluto di 6 kg/ha per annata). Inoltre, i composti a base di rame sono stati inseriti nella lista delle sostanze attive candidate alla sostituzione. Tutto ciò ha disorientato soprattutto le aziende viticole a conduzione biologica, che vedono nel rame l'unica arma efficace ed utilizzabile nei confronti della peronospora della vite.

Al momento, pur essendo al vaglio soluzioni alternative al suo utilizzo, in viticoltura il rame riveste ancora un ruolo fondamentale per la protezione dalla peronospora. L'industria chimica già da tempo ha in atto un processo di rinnovamento delle formulazioni; i prodotti rameici sono infatti oggetto di continua evoluzione tecnologica, permettendo alle industrie agrofarmaceutiche di ottenere formulati rameici efficaci a dosi sempre più basse di rame con lo sviluppo parallelo di strategie di utilizzo a basso dosaggio di rame (Romanazzi *et al.*, 2010).



**Figura 12** - Sintomi di fitotossicità da rame su foglia di vite ([www.informatoreagrario.it](http://www.informatoreagrario.it)).

### **5.5.2 Prodotti a base di zolfo**

Considerato da taluni l'anticrittogamico più antico, lo zolfo è la molecola più importante per la protezione dall'oidio ed agisce allo stato elementare come vapore sul micelio e sulle spore del parassita. La sua azione multisito danneggia diversi aspetti della biologia del fungo non permettendo, di conseguenza, l'insorgere di fenomeni di resistenza. Lo zolfo penetra nella cellula fungina grazie alla sua liposolubilità ed agisce danneggiando la membrana cellulare, determinando la fuoriuscita dell'acqua. La morte del fungo avviene quindi principalmente per disidratazione. L'azione anticrittogamica dello zolfo varia in funzione della temperatura, dell'umidità relativa ambientale e della finezza delle particelle. Considerato che lo zolfo funziona in fase di vapore, fattori quali le basse temperature e l'elevata umidità relativa ne riducono l'efficacia. Con temperature elevate (oltre i 25 °C) lo zolfo sublima velocemente e garantisce una copertura per tempi limitati (4 o 5 giorni), mentre con temperature più basse resta attivo fino a 6 o 7 giorni. L'azione fungicida inizia ad esplicarsi a 10-12°C con zolfi fini e a 18-20 °C con quelli più grossolani. La dimensione delle particelle incide sulla velocità di sublimazione, sull'uniformità di copertura della vegetazione e sulla persistenza del fungicida: se le dimensioni sono eccessive, quest'ultimo si distribuisce irregolarmente sulla vegetazione, sublima lentamente ed è più persistente; al contrario, particelle di ridotte dimensioni garantiscono una copertura uniforme della

vegetazione, una sublimazione rapida ma una minore persistenza, incrementando il rischio di effetto fitotossico. Per ridurre il rischio di danni da fitotossicità, è dunque opportuno effettuare i trattamenti nelle ore più fresche della giornata, soprattutto durante la stagione estiva. Sul mercato è disponibile una vasta gamma di prodotti contenenti zolfo in diverse formulazioni:

- Zolfo bagnabile, un anticrittogamico idrosospensibile;
- Zolfo bagnabile e cere terpeniche, si tratta di un fungicida contenente zolfo bagnabile con l'aggiunta di alcoli terpenici per migliorare l'adesività e la persistenza del prodotto, riducendo allo stesso tempo i rischi di fitotossicità; zolfo micronizzato (la formulazione è polvere bagnabile ed è costituito da particelle di 3-5  $\mu$  che si ottengono per macinazione di zolfi sublimati);
- Zolfo polverulento ventilato, formulato come polvere secca e la distribuzione deve essere eseguita con impolveratori meccanici ad erogazione regolabile per ottenere una nube che investa la vegetazione, ricoprendola uniformemente;
- Zolfo colloidale, costituito da particelle molto fini con caratteristiche colloidali. In questo tipo di prodotto lo zolfo è mescolato ad altre sostanze di varia natura quali composti rameici o composti proteici (proteinato di zolfo). In genere, gli zolfi colloidali sono più fitotossici e meno persistenti rispetto alle formulazioni polverulente;
- Zolfo bentonitico, che si ottiene facendo adsorbire lo zolfo fuso da argilla bentonitica. È una formulazione poco conosciuta e diffusa a causa del complesso processo di produzione.

Gli zolfi per trattamenti liquidi richiedono apporti quantitativi più bassi rispetto ai prodotti polverulenti che hanno il vantaggio di penetrare meglio attraverso la vegetazione (Muccinelli, 2000). Lo zolfo è un prodotto non compatibile con oli minerali e antiparassitari a reazione alcalina ed ha un'azione secondaria contro gli acari. Inoltre, può interferire sui processi di fermentazione se presente in grande quantità sui grappoli soprattutto nel caso di vitigni bianchi a maturazione anticipata. Relativamente alle strategie di impiego dello zolfo, sono da preferire applicazioni con zolfo polverulento nel periodo antecedente la fioritura ed in fase di prechiusura grappolo, limitandone al massimo l'uso nell'ultimo periodo della stagione al fine di evitare inconvenienti durante la vinificazione. Attualmente, a differenza di quanto è avvenuto per il rame, l'impiego dello zolfo non trova restrizioni nella viticoltura. Tuttavia, sono noti i suoi effetti tossici nei confronti dell'uomo e



dell'entomofauna utile. Ad oggi, anche lo zolfo è visto sempre più come una fonte d'inquinamento, con conseguenze per la salute del suolo e degli ecosistemi acquatici probabilmente simili a quelle note per le piogge acide. Lo zolfo utilizzato come fungicida e immesso nell'ecosistema è infatti soggetto a varie trasformazioni, e va ad aumentare la concentrazione di solfato nella soluzione circolante del suolo e poi nelle acque superficiali, con conseguenti effetti negativi sui processi biogeochimici dapprima a livello locale e poi diffuso (Hinckley *et al.*, 2020).

## **5.6 ALTERNATIVE AI FUNGICIDI TRADIZIONALI**

La protezione delle colture è basata ancora oggi soprattutto sull'utilizzo di sostanze chimiche che agiscono direttamente contro i patogeni per poterne contenere la loro diffusione. Purtroppo, però, l'uso di agrofarmaci ha danneggiato l'equilibrio dell'ecosistema e, più nello specifico, dei vari comparti biologici; l'introduzione di queste molecole estranee ai processi biologici ha infatti causato effetti negativi a carico dell'ambiente e degli organismi non bersaglio dei fitofarmaci. Inoltre, anche la salute dell'uomo è messa a rischio dall'applicazione di agrofarmaci, sia considerando gli operatori che svolgono i trattamenti, sia i consumatori finali. Proprio sulla base dei rischi legati all'utilizzazione dei mezzi chimici per la protezione delle colture, nel maggio 2020, la Commissione europea ha presentato, contemporaneamente alla "strategia per la biodiversità", la strategia "*Farm to Fork*", la quale si compone di una serie di obiettivi da raggiungere entro il 2030, tra i quali: ridurre del 50% l'uso dei pesticidi di sintesi chimica o pericolosi e destinare almeno il 25% della superficie agricola all'agricoltura biologica. Tutto ciò riguarda anche i prodotti rameici, che vengono ancora ampiamente utilizzati in agricoltura integrata, ma soprattutto in agricoltura biologica dove, ad oggi, risultano essere i soli in grado di garantire dei livelli di protezione accettabili da alcune malattie fungine come la peronospora della vite. Sempre di più la sperimentazione è indirizzata verso la ricerca di soluzioni alternative che possano sostituire o quantomeno ridurre l'uso di agrofarmaci, in questo caso rame e zolfo, allo scopo di limitare l'inquinamento dovuto alle pratiche agricole e, al contempo, di proporre delle soluzioni che permettano agli agricoltori di mantenere un reddito. In particolare, i campi maggiormente sotto esame sono: l'ingegneria genetica, attraverso l'introduzione di geni di resistenza in piante che ne sono sprovviste; l'induzione di resistenza, con la possibilità di aumentare le difese naturali della pianta dove l'uso di estratti vegetali sembra influire positivamente; l'utilizzo di

agenti di biocontrollo (microrganismi antagonisti), che possano contrastare lo sviluppo dei patogeni tramite meccanismi di antagonismo naturale. Inoltre, la resistenza delle piante alle malattie è condizionata anche da numerosi fattori ambientali ed agronomici. Pertanto, dovranno essere attuati o mantenuti tutti gli accorgimenti agronomici e tecnici volti a sfavorire lo sviluppo dei patogeni, o a evitare le condizioni predisponenti alla malattia. Tali iniziative devono essere portate avanti senza ridurre l'efficacia della protezione delle colture, e mantenendo elevata la qualità e la quantità delle produzioni.

### **5.6.1 Sostanze di base**

Le sostanze di base sono delle sostanze innovative per la protezione delle piante in alternativa agli agrofarmaci di sintesi, poiché sono delle sostanze che non provocano problemi nei confronti dell'uomo e degli animali, in quanto già utilizzate in altri ambiti, quali l'alimentazione o la medicina umana. Le sostanze di base grazie al loro pressoché nullo impatto ecologico e sulla salute umana possono essere utilizzate nella protezione delle piante senza avere nessun limite massimo di residui (LMR), in genere nessun intervallo di sicurezza e non sono immesse nel mercato come prodotti fitosanitari (Charon *et al.*, 2019; Romanazzi *et al.*, 2022). Grazie alla mancanza di LMR si possono effettuare i trattamenti con le sostanze di base in prossimità della raccolta e anche in post raccolta con ottimi risultati per la conservazione, proprio perché non sono tossiche per l'uomo. L'uso di sostanze di base è approvato nell'Unione Europea ai sensi dell'articolo 23 del regolamento CE n. 1107/2009 e sono definite come: “una sostanza attiva che non è potenzialmente pericolosa e non possiede una capacità intrinseca di provocare effetti nocivi sul sistema endocrino o effetti neurotossici o immunotossici”. Inoltre, sono elencate nella parte C dell'allegato del regolamento (CE) n. 540/2011 (EU Commission, 2011), tale categoria di sostanze collima con l'agricoltura integrata (in atto dal 2014) e soprattutto con l'agricoltura biologica, infatti, entrambe sono orientate a ridurre l'applicazione dei prodotti chimici di sintesi o potenzialmente pericolosi. Attualmente sono autorizzate 24 sostanze di base. La prima ad essere stata inserita nell'allegato del regolamento (CE) n. 540/2011 (EU Commission, 2011) è stata l'estratto di equisetto (*Equisetum arvense* L.) nel 2014, seguito successivamente da tutte le altre sostanze per finire con il chitosano, una seconda sostanza attiva

approvata nel 2022. Ad oggi, le sostanze di base approvate dall'Unione Europea sono le seguenti:

- *Equisetum arvense* L. (Reg. (EU) No 462/2014 **ITAB**)
- Chitosano cloridrato (Reg. (EU) 2021/1446 **ChiPro**)
- Saccarosio (Reg. (EU) No 916/2014 **ITAB IRBI**)
- Idrossido di calcio (Reg. (EU) 2015/762 **IFOAM**)
- Aceto (Reg. (EU) No 540/2011, Reg. (EU) 2015/1108, Reg. (EU) 2019/149 **ITAB**)
- Corteccia di *Salix* spp. (Reg. (EU) 2015/1107 **ITAB**)
- Lecitina (Reg. (EU) No 540/2011, Reg. (EU) 2015/1116 **ITAB DAE**)
- Fruttosio (Reg. (EU) 2015/1392 **ITAB IRBI**)
- Bicarbonato di sodio (Reg. (EU) 2015/2069, Reg. (EU) 2015/2069 **Danish Environmental Protection Agency**)
- Siero di latte (Reg. (EU) 2016/560 **ITAB**)
- Fosfato biammonico (Reg. (EU) 2016/548 **ITAB**)
- Olio di girasole (Reg. (EU) 2016/1978 **ITAB**)
- *Urtica* spp. (Reg. (EU) 2017/419 **ITAB**)
- Carbone di argilla (Reg. (EU) 2017/428 **Ets Christian Callegari**)
- Perossido di idrogeno (Reg. (EU) 2017/409 **ITAB**)
- Cloruro di sodio (Reg. (EU) 2017/1529, Reg. (EU) 2021/556 **ITAB AHDB**)
- Birra (Reg. (EU) 2017/2090 **ITAB**)
- Polvere di semi di senape (Reg. (EU) 2017/2066 **ITAB**)
- Talco E553B (Reg. (EU) 2018/691 **COMPO Expert France SAS**)
- Olio di cipolla (Reg. (EU) 2018/1295 **Bionext**)
- L-cisteina (Reg. (EU) 2020/642 **SoleoEcoSolutions**)
- Latte vaccino (Reg. (EU) 2020/1004 **Basic-EcoLogique**)
- Estratto di cipolla (Reg. (EU) 2021/81 **ITAB**)
- Chitosano (Reg. (EU) 2022/456 **KitoZyme**)

La maggior parte di queste sostanze ha attività fungicida, come ad esempio: idrossido di calcio, chitosano, *Equisetum arvense* L., perossido d'idrogeno, lecitine, latte vaccino, polvere di semi di senape, *Salix* spp., olio di girasole, cloruro di sodio, carbonato acido di sodio, *Urtica* spp., aceto e siero di latte (Romanazzi *et al.*, 2022). L'applicazione normativa di queste sostanze è semplificata rispetto agli altri

prodotti e di conseguenza anche da un punto di vista economico il costo di ottenimento del prodotto è inferiore; tali sostanze sono già in commercio con altri fini, diversi della protezione e quindi la pericolosità è già stata, almeno in parte, studiata. Alcune di queste sostanze sono già state applicate a livello aziendale con dei risultati simili ai fungicidi tradizionali, altre invece sono ancora in fase di perfezionamento delle tecniche e dei dosaggi; infatti, alcune sono meno efficienti e meno pratiche da usare rispetto ai mezzi chimici di sintesi. L'uso di queste sostanze deve essere integrato nell'istruzione professionale, nella formazione e nella consulenza tecnica agli agricoltori in quanto sono conosciute, facili da usare, meno pericolose per l'uomo e meno impattanti sull'ambiente (Romanazzi *et al.*, 2022). Alcune delle sostanze di base approvate sono state testate in questo lavoro di tesi.

#### ❖ *Il chitosano*

Il chitosano è un biopolimero naturale, ottenuto per deacetilazione della chitina mediante esposizione a soluzioni alcaline di NaOH o per idrolisi enzimatica in presenza di chitina deacetilasi. È formato da D-glucosamina e N-acetil-D glucosammina che sono tenute insieme da legami glucosidici  $\beta$  1-4 (Figura 13). È una molecola ottenuta dall'esoscheletro dei crostacei ed è largamente utilizzato in diverse applicazioni come soluzioni, gel o film e fibre. È utilizzato negli ambiti più disparati come quello della cosmesi, della biomedicina, delle biotecnologie e dell'industria alimentare, oltre che nel settore agricolo per la protezione delle colture dalle malattie. Per quanto riguarda l'agricoltura, il chitosano trova applicazione per la sua efficacia nel controllo delle malattie di frutta e ortaggi (Romanazzi *et al.*, 2017). Attualmente, come sostanza di base, sono stati approvati due composti a base di chitosano, il primo (chitosano cloridrato) è stato approvato nel 2014 (Reg. (EU) 2014/563), mentre il secondo, registrato come "chitosano", è stato approvato nel 2022 (Reg. (EU) 2022/456). I prodotti presenti in commercio sono numerosi (Tabella 2) e sono formulati liquidi o in polvere, con varie percentuali di sostanza attiva per ciascun prodotto.

**Tabella 2** – prodotti commerciali a base di chitosano che sono disponibili per il controllo delle malattie della frutta fresca ed ortaggi (Romanazzi e Moumni, 2022)

<b>Prodotto commerciale</b>	<b>Azienda produttrice (Paesi)</b>	<b>Formulato</b>	<b>Principio attivo (%)</b>
Chito plant	ChiPro GmbH (Bremen, Germany)	Polvere	99,9
Chitosano	Agrilaete (Palmanova, UD, Italia)	Polvere	100
Chitosano denso		Liquido	50
OII-YS <sup>a</sup>	Venture Innovations (Lafayette, LA, USA)	Liquido	2
KaitoSol	Advanced Green Nanotechnologies Sdn Bhd (Cambridge, United Kingdom)	Liquido	12,5
Armour-Zen	Botry-Zen Limited (Dunedin, New Zealand)	Liquido	14,4
Biorend	Bioagro S.A. (Chile)	Liquido	1,25
Kiforce	Alba Milagro (Milano, Italy)	Liquido	6
FreshSeal	BASF Corporation (Mount Olive, NJ, USA)	Liquido	2,5
ChitoClear	Primex ehf (Siglufjordur, Iceland)	Polvere	100
Bioshield	Seafresh (Bangkok, Thailand)	Polvere	100
Biochikol 020 PC	Gumitex (Lowics, Poland)	Liquido	2
Kadozan	Lytone Enterprise, Inc. (Shanghai Branch, China)	Liquido	2
Kendal Cops	Valagro (Atessa, CH, Italy)	Liquido	4
Mastgrape	Enoceca (Vegrar, VR, Italy)	Liquido	5
Prevatect	Ascenza (Saronno, VA, Italy)	Liquido	5
Chitosano Serbios	Serbios (Badia Polesine, RO, Italy)	Liquido	5
Chitosano	Bioplanet Srl (Cesena, Italy)	Liquido	1,9
Chitosano DC	Dal Cin Gildo Spa (Concorezzo, MB, Italy)	Liquido	2
Ibisco <sup>b</sup>	Gowan Italia s.r.l. (Faenza, RA, Italy))	Liquido	15

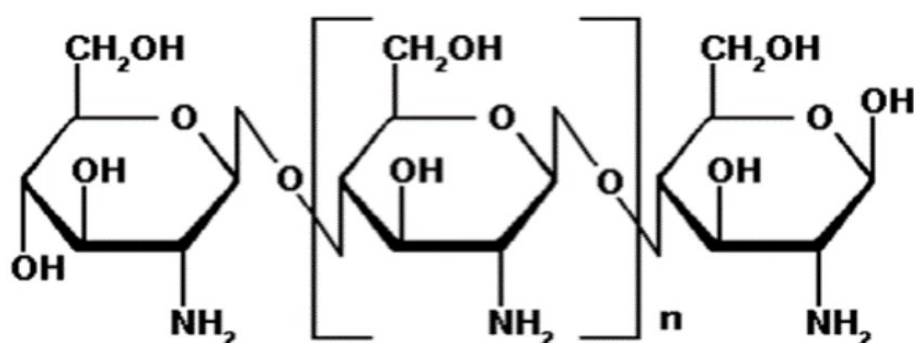
<sup>a</sup> contiene il 6% di estratto di yucca

<sup>b</sup> la formulazione è basata su una media del 12,5% di COS-OGA, con una concentrazione di chitosano di 1,5%

In ogni caso, grazie alla sua bassa tossicità è stato approvato come sostanza GRAS (*Generally Recognized As Safe*) negli Stati Uniti dalla USFDA (Hu *et al.*, 2019; Romanazzi *et al.*, 2022) e la sua applicazione è ritenuta dunque sicura per il consumatore e l'ambiente. Molti autori hanno studiato le applicazioni del chitosano

con risultati positivi nel post raccolta per la protezione di derrate alimentari facilmente deperibili (Romanazzi e Moumni, 2022), come uva da tavola (Meng *et al.*, 2008) e fragole (Romanazzi *et al.*, 2013). Il chitosano è uno degli elicitori più studiati per il controllo di *P. viticola* e altri funghi fitopatogeni della vite come *B. cinerea* ed *E. necator* (Romanazzi *et al.*, 2016). L'efficacia fitoiatrica è dovuta alla sua triplice attività: antimicrobica, filmogena ed elicitante (Romanazzi *et al.*, 2018). L'azione antimicrobica è resa possibile dalle cariche elettriche positive del biopolimero che vanno ad interagire con le cariche elettriche negative tipiche della superficie cellulare di batteri e funghi, alterando la loro permeabilità cellulare; l'azione filmogena consiste invece nella formazione di un film semipermeabile attorno ai tessuti, che blocca l'infezione e lo sviluppo dei parassiti, ma che al contempo tende a ridurre la traspirazione delle superfici vegetali trattate, influenzandone il consumo di CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> e l'attività antiossidante (Romanazzi e Moumni, 2022). Infine, è considerato un potente elicitore in quanto è in grado di indurre una risposta di difesa nei tessuti vegetali trattati. Quando viene applicato su questi ultimi, il chitosano simula la presenza del patogeno e stimola l'attivazione di una serie di meccanismi di difesa endogeni delle piante (perché la struttura del chitosano è chimicamente simile alla struttura delle pareti cellulari fungine in fase di degradazione e di altri costituenti fungini), come: sintesi di fitoalessine nelle cellule vegetali; formazione di lignina; produzione di inibitori della proteasi; variazioni del flusso ionico; acidificazione del citoplasma; depolarizzazione della membrana e fosforilazione delle proteine; attivazione di chitinasi e glucanasi; generazione di specie reattive dell'ossigeno; formazione di callosio; biosintesi di acido jasmonico; espressione di geni correlati alle risposte di difesa (Amborabé *et al.*, 2008; El Hadrami *et al.*, 2010). Inoltre, *in vitro* è stato dimostrato come l'applicazione del chitosano influisca positivamente nell'accumulo di trans e cis-resveratrolo e  $\epsilon$ -viniferina nelle foglie di *V. vinifera* (Aziz *et al.*, 2006), che svolgono naturalmente una funzione di difesa della pianta contro i microrganismi patogeni, soprattutto fungini. Il chitosano può potenziare le difese delle piante e indurre la resistenza dell'ospite sia nelle specie monocotiledoni che in quelle dicotiledoni. Altri effetti ascrivibili ad applicazioni di chitosano sulla fisiologia dei vegetali possono essere: maggior potere germinativo ed emergenza precoce, riduzione dello stress idrico, aumento della biomassa prodotta in rapporto all'acqua consumata, miglior sviluppo delle radici, aumento del raccolto, aroma più intenso dei frutti, maggiore crescita vegetale e formazione di micorrize ed infine aumento

della *shelf life* di prodotti ortofrutticoli freschi. Il chitosano è stato utilizzato anche nella lotta ai fitoplasmi, come, ad esempio, nel caso del legno nero, dove è emerso un tasso di remissione dei sintomi leggermente superiore ai testimoni non trattati, sebbene altri formulati commerciali abbiano mostrato delle risposte molto più efficaci (Romanazzi *et al.*, 2010, 2013). Il chitosano è una molecola sicura e biodegradabile, non presenta tossicità né verso l'uomo né verso le specie vegetali e, tra i vari prodotti naturali, attualmente rappresenta il candidato principale per affiancare (e in qualche caso sostituire) i fungicidi tradizionali a base di rame nelle strategie di protezione della vite in agricoltura biologica ed integrata.



**Figura 13** - Rappresentazione della struttura chimica del chitosano. (Younes *et al.*, 2015).

#### ❖ *Equisetum arvense*

L'estratto di *Equisetum arvense* è una sostanza che si ricava dalla pianta *Equisetum arvense*, nota anche come “coda di cavallo”, ampiamente diffusa in Europa nelle zone temperate e nelle zone umide. È tra le sostanze di base, inserita nella parte C dell'allegato del regolamento (CE) n. 540/2011 (EU Commission, 2011). Nel 2014, attraverso il Regolamento dell'Unione Europea (EU) No 462/2014, è stata approvata come la prima sostanza di base. Per tale sostanza è riconosciuta un'attività fungicida nei confronti di parecchie avversità per diverse colture (soprattutto nel contenimento di marciumi, alternariosi e ruggini), in particolare per la vite è stata evidenziata attività contenitiva nei confronti della peronospora e dell'oidio. Le sue dosi consigliate di applicazione totale sono 200-600 g/ha con una quantità di acqua che va da 100 a 300 L/ha. *E. arvense* non ha un intervallo minimo di applicazione prima della raccolta. Il numero di applicazioni consigliate è compreso tra due e sei in un anno con un intervallo di intervento di sette giorni (Romanazzi *et al.*, 2022). Il meccanismo d'azione che è stato evidenziato per tale sostanza è quello di attivare le difese della pianta mediante il riconoscimento di

silicio che agisce da attivatore delle difese. Inoltre, questa sostanza crea una condizione favorevole per la pianta, che le consente di superare al meglio stress abiotici. I prodotti a base di *E. arvense* sono ammessi in biologico ed in biodinamico.

#### ❖ *Urtica dioica*

*Urtica dioica* è una pianta erbacea perenne ed è diffusa in Europa, Asia e Nord Africa. Le proprietà di questa sostanza sono note oramai da tempo, in quanto essa viene utilizzata per scopi farmaceutici date le notevoli qualità benefiche delle sue sostanze nutritive. L'estratto di *U. dioica* è considerato una sostanza di base ed è stato approvato tramite il Reg. (EU) 2017/419 nel 2017. Per tale sostanza è stata riconosciuta attività insetticida, fungicida ed acaricida. Come fungicida, diverse sono le avversità che l'estratto può combattere e può agire in maniera positiva su diverse colture (fruttiferi, ornamentali ed ortaggi) (Romanazzi *et al.*, 2022). In particolare, per la vite l'attività fungicida consigliata per l'estratto di ortica è nei confronti della peronospora. il suo meccanismo d'azione è legato alla stimolazione delle autodifese della pianta, in quanto l'estratto contiene una percentuale di silicio che stimola l'attivazione della resistenza acquisita. Inoltre, il suo apporto di composti nutritivi favorisce il benessere della pianta; quindi, rende meno favorevole quest'ultima all'attacco delle avversità biotiche ed abiotiche. Il prodotto è ammesso anche in agricoltura biologica, ma può essere utile per sostituire o affiancare i prodotti tradizionali in agricoltura integrata.

#### ❖ *Siero di latte*

Il siero di latte è un prodotto di scarto di un'altra attività che ha avuto notevole interesse come prodotto utile per la protezione delle piante. Esso è un prodotto non nocivo per l'uomo e per l'ambiente, a tal proposito è stato inserito tra le sostanze di base nel 2016 per mezzo del Regolamento n. 560 del 2016. La sua attività riconosciuta è contro i funghi e i virus. Come fungicida viene riconosciuto nei confronti di alcune avversità per il cetriolo, zucchine, vegetali per l'orto domestico e per la vite; in particolare per quest'ultima è riconosciuta attività fungicida nei confronti dell'oidio. Per questo prodotto si è riscontrata maggiore attività nei primi mesi della malattia, con un range di interventi dai 3 ai 5 intervallati per 7/10 giorni l'uno dall'altro. Anche per questa sostanza non è presente un intervallo minimo di applicazione prima della raccolta (Romanazzi *et al.*, 2022). Il meccanismo d'azione è legato alla componente proteica, infatti, essa possiede anche attività antimicrobiche ed antivirali. Le principali proteine antimicrobiche contenute nel



latte e nei suoi fermentati sono la lattoferrina, la lattoperoxidasi ed il lisozima. Il sistema della lattoperoxidasi è un ottimo conservante naturale che consiste di tre componenti principali: l'enzima lattoperoxidasi (LP), il tiocianato ( $\text{SNC}^-$ ) ed il perossido d'idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). L'enzima LP catalizza l'ossidazione di  $\text{SNC}^-$  con  $\text{H}_2\text{O}_2$  portando alla produzione di composti ossidativi che decadono velocemente, come l'anione ipotio-cianito che è responsabile dell'azione antimicrobica. L'effetto è a carico delle membrane dei microrganismi che sono irreversibilmente danneggiate (Angeli e Pertot, 2007). Unitamente all'attività antioidica, il siero di latte si è dimostrato efficace nei confronti di alcuni trattamenti ai semi per limitare le infezioni da carie del frumento e da carbone della segale ed inoltre, è dotato di capacità di apporto nutritivo al terreno. Prodotto ammesso in agricoltura biologica.

### **5.6.2 Sostanza attiva a base di *Swinglea glutinosa***

Con la strategia *Farm to Fork*, l'utilizzo dei prodotti chimici di sintesi è sempre più a rischio per i loro effetti indesiderati. Questo comporta la ricerca di nuove sostanze da poter utilizzare al posto dei mezzi chimici revocati. A tal proposito le sostanze attive a basso impatto ambientale assumono un peso importante nella gestione della protezione delle colture. Questa tipologia è stata introdotta per la prima volta nel Regolamento CE n. 1107/2009 (insieme alle SdB e alle sostanze candidate alla sostituzione) e sono definite come prodotti fitosanitari con caratteristiche tossicologiche e ambientali particolarmente favorevoli: non sono cancerogene, mutagene, tossiche per la riproduzione, neurotossiche, immunotossiche, sensibilizzanti, molto tossiche o tossiche, esplosive, corrosive, persistenti (tempo di emivita nel suolo superiore a due mesi), bioaccumulabili (fattore di concentrazione superiore a 100) e non interferiscono con il sistema endocrino. Anche in questo caso, al pari delle sostanze di base, il processo di registrazione è più veloce rispetto ai classici prodotti e la sua approvazione vale 15 anni.

*Swinglea glutinosa* è una pianta perenne appartenente alla famiglia botanica delle *Rutaceae*, originaria del Sud-est asiatico, coltivata prevalentemente per uso ornamentale dal cui estratto di foglie è stato possibile ottenere una nuova sostanza attiva ad azione fungicida (Ferri *et al.*, 2022) per il controllo degli agenti di oidio e muffa grigia, impiegabile in agricoltura biologica. La sostanza è stata sviluppata da Gowan s.r.l. ed è già in commercio negli Stati Uniti. Agisce sui patogeni fungini attraverso una triplice modalità:

- essiccazione delle strutture cellulari e rottura della membrana fungina;

- riduzione della crescita del tubulo germinativo del patogeno;
- attivazione dei meccanismi di difesa della pianta (elicitore) con l'accumulo di perossido d'idrogeno e deposito di callosio.

E' ormai noto che i diversi estratti di piante, gli olii essenziali (es. arancio dolce), provocano sulle cellule fungine disidratazione con alterazione delle strutture interne come coagulazione citoplasmatica, perdita di turgore di spore e ife, formazione di vacuoli, lisi della membrana citoplasmatica e del sistema endomembrana, degenerazione mitocondriale, rottura e rilascio del plasmalemma, dissoluzione della membrana nucleare e del reticolo endoplasmatico (Romagnoli *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2009; Soylu *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2011). I più recenti studi ricerca e prove di campo confermano che molti di questi effetti sui patogeni sono riconducibili a *S. glutinosa*. In aggiunta a questi effetti diretti sul patogeno, l'estratto di *S. glutinosa* stimola i meccanismi di autodifesa della pianta, con la produzione di molti agenti ossidanti, antisettici e l'accumulo del callosio che rinforza le pareti cellulari vegetali, (Ferri *et al.*, 2022) rendendola più resistente all'attacco dei patogeni soprattutto in momenti di alta suscettibilità. Questo processo è possibile per la presenza di metaboliti secondari e altri componenti che la pianta identifica come PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*) in grado di avviare meccanismi elicitori in modo molto veloce. Attivando questo meccanismo di autodifesa tramite barriere fisico – chimiche, la pianta riesce a contrastare l'attacco e la diffusione del patogeno, impedendone così la colonizzazione dei tessuti. La pianta, infatti, appena percepisce i PAMPs inizia ad accumulare perossidi, chitinasi, tutta una serie di molecole volte ad ostacolare la crescita del micelio (Rojas *et al.*, 2014). Studi condotti su piante di patata hanno dimostrato che il trattamento con *S. glutinosa* prima dell'inoculazione di *Phytophthora infestans* induce l'accumulo di perossido d'idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e si ha un incremento di callosio nella parete cellulare delle foglie trattate. Il prodotto esplica un'azione multisito svolgendo anche un'attività elicitoria. Analizzando la composizione di questo fungicida è possibile distinguere due tipologie di composti: volatili e non volatili. Tra i primi rientrano:

- Caryophyllene ossido - esplica attività fungicida contro *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* e *A. flavus*;
- Geraniolo - composto aromatico che può causare un tasso di crescita inferiore in alcuni microrganismi, cambiamenti nel pH intracellulare e interruzione della permeabilità della parete cellulare (danni);

- Fitolo - composto riconosciuto come battericida che induce la risposta allo stress ossidativo nei batteri patogeni (induce l'accumulo di ROS).

Tra i composti non volatili vi sono:

- Acido ferulico - provoca cambiamenti irreversibili nelle proprietà della membrana attraverso cambiamenti di idrofobicità, diminuzione della carica superficiale negativa e comparsa di rottura locale o formazione di pori nelle membrane cellulari con conseguente fuoriuscita di elementi essenziali costituenti intracellulari; ha azione contro *Botrytis cinerea*;
- Acido caffeico - agisce come permeabilizzatore cellulare, inducendo alterazioni della membrana, provocando rottura con perdita di potassio, con conseguente morte cellulare;
- Acido cinnamico - è presente naturalmente nelle piante ed ha una bassa tossicità e ampio spettro di attività biologiche. Ha proprietà antibatteriche, antivirali, e antimicotiche.

La sostanza attiva è stata saggiata su numerosi organismi non bersaglio, in particolare su artropodi, tra cui le api. Nello specifico gli studi condotti per verificare la tossicità acuta e cronica, da contatto e orale su individui adulti di *Apis mellifera*, hanno dimostrato l'assenza di effetti indesiderati a esposizioni pari o superiori a 100 µg/ape (Ferri *et al.*, 2022). L'estratto di *S. glutinosa* è stato inserito e classificato come FRAC (*Fungicides Resistance Action Committee*) BM 01, ciò significa che verso questa molecola il rischio di selezione di ceppi resistenti è basso (è praticamente un prodotto biologico ad azione multisito). Risulta indicato nelle strategie IPM (*Integrated Pest Management*) di gestione integrata; è efficace contro l'oidio della vite; ha elevata solubilità e miscibilità con altri agrofarmaci e fertilizzanti; non è influenzato da temperatura, umidità, radiazione solare (UV); è esente dalla valutazione dell'LMR (limite massimo residuo) ed è completamente selettivo su tutte le colture testate (non macchia foglie e frutti) e verso gli insetti utili e pronubi (Ferri *et al.*, 2022).

### **5.6.3 Sostanza attiva a base di terpeni e di olio essenziale**

Gli oli essenziali sono considerati degli estratti vegetali che vengono utilizzati per il controllo degli organismi nocivi. Essi fanno parte dei prodotti a basso impatto ambientale, di cui precedentemente definiti. La gran parte degli estratti di origine botanica, ammessi in agricoltura, in generale non contengono sostanze tossiche per gli animali e per l'uomo e sono costituiti da una miscela di sostanze in prevalenza

terpeniche. I terpeni sono dei composti organici costituiti da unità isopreniche e vengono classificati in base alle unità di isoprene in mono, di, tri, tetra e sesquiterpeni (Cox-Georgian *et al.*, 2019). Inoltre, sono particolarmente funzionali per i loro meccanismi d'azione in quanto riducono la possibilità che si sviluppino delle resistenze. Tipici di queste sostanze sono gli aromi che liberano, a volte utili nei meccanismi riproduttivi, come attrattori o repellenti. In questa famiglia l'eugenolo, il timolo e il geraniolo sono particolarmente efficaci nei confronti di diversi ascomiceti, tra cui *B. cinerea* ed *Erysiphaceae*. Essi hanno effetto diretto sulle pareti, sulle membrane e sugli organelli delle cellule dei microrganismi (Di Pasqua *et al.*, 2007), agendo per l'appunto sulla germinazione delle spore, sulla penetrazione e sulla crescita delle ife e sullo sviluppo dei miceli. La modalità d'azione di questi composti consiste nella disgregazione della membrana cellulare dei funghi, che è associata alla capacità di dissolvere i lipidi con conseguente fuoriuscita delle sostanze cellulari, lisi e morte della cellula (Binni, 2021). Eugenolo, timolo e geraniolo sono sostanze attive che possiedono un profilo tossicologico, eco tossicologico e ambientale favorevole; infatti, essi rientrano nella classificazione GRAS ("generalmente riconosciute come sicure") sia in campo alimentare che cosmetico e ad oggi anche per l'impiego nella protezione vegetale (Querzola *et al.*, 2016). L'olio essenziale di arancio dolce è una sostanza attiva che è stata approvata nella protezione delle piante, con attività insetticida, fungicida ed acaricida. Per la vite essa è registrata sia nei confronti di alcuni insetti ma anche nei confronti di peronospora (con sporulazione in atto) ed oidio. Il meccanismo d'azione è fisico, in quanto provoca disseccamento della cuticola degli insetti e delle pareti cellulari delle malattie fungine. In generale, queste sostanze sono ammesse in biologico, nel caso dell'olio essenziale di arancio dolce l'utilizzo in agricoltura biologica è possibile, ma viene utilizzato anche in miscela con altri prodotti tradizionali in agricoltura integrata con lo scopo di limitare l'insorgenza di resistenze.

#### **5.6.4 Agenti di biocontrollo per l'oidio della vite**

Gli agenti di biocontrollo sono microrganismi presenti in natura che possono contenere la crescita del patogeno, mantenendo la sua presenza al di sotto della soglia di danno economico, sono cioè degli antagonisti che non eliminano totalmente il parassita, ma ne limitano lo sviluppo (Kiss, 2003). Questi microrganismi vengono spesso isolati dall'ambiente naturale, non sono tossici per

l'uomo e l'ambiente e sono prodotti industrialmente mediante colture su substrato solido o liquido. I microrganismi antagonisti agiscono contro il patogeno utilizzando uno o più meccanismi d'azione: iperparassitismo, in cui l'antagonista vive nutrendosi del patogeno; competizione per spazio e/o nutrienti; produzione di molecole sgradite al patogeno; rilascio di sostanze antibiotiche o tossiche; induzione di meccanismi di difesa nella pianta. Il principale vantaggio degli agenti di biocontrollo è dato dal fatto che, essendo microrganismi presenti naturalmente nell'ambiente, sono facilmente degradabili e non lasciano residui sui prodotti destinati all'alimentazione, hanno una ridotta persistenza e non c'è nessun rischio di inquinamento ambientale e delle falde acquifere. Sono selezionati escludendo i produttori di antibiotici e tossine e quindi sono innocui per la salute umana; con il loro impiego l'utilizzatore non viene esposto a sostanze chimiche nocive durante i trattamenti e, non avendo dei tempi di carenza, possono essere impiegati anche in prossimità della raccolta.

Purtroppo, spesso per ragioni di natura normativa, economica o commerciale, questi preparati microbiologici faticano ad imporsi sul mercato. Le maggiori difficoltà che si riscontrano nella loro applicazione pratica sono:

- la ridotta persistenza;
- l'efficacia, non alla pari a quella dei fungicidi tradizionali;
- la variabilità dei risultati;
- la necessità di essere applicati durante la sera o nelle prime ore del mattino per evitare che le alte temperature e i raggi ultravioletti possano inattivarli;
- la non miscibilità con i vari fungicidi;
- la complessità operativa, derivante dalla manipolazione di formulati che comunque contengono degli esseri viventi e non solo sostanze chimiche (ad esempio, anche la conservazione deve essere gestita in maniera appropriata).

Contro l'oidio essi rappresentano comunque una potenziale alternativa all'utilizzo dello zolfo e dei fungicidi di sintesi, non solo in agricoltura biologica, ma anche in quella integrata. Tra i prodotti a base microbica con attività antioidica autorizzati su vite, troviamo attualmente tre specie: *Ampelomyces quisqualis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus pumilus*.

La capacità di *A. quisqualis* di parassitizzare gli oidi è nota fin dal 1852 e già nel 1932 si ipotizzò una sua potenzialità per controllare queste malattie. Può attaccare

numerose specie appartenenti alle *Erysiphales*, tra cui *E. necator* agente dell'oidio della vite. Agisce penetrando nelle ife del patogeno e assorbendone le sostanze nutritive. La sua attività parassitaria indebolisce il patogeno che rallenta la sua crescita e riduce o azzerla la sporulazione, ma non lo elimina mai completamente. Il meccanismo è lento, per cui poco si adatta alle fasi di rapido sviluppo della malattia. Può anche colonizzare i casmoteci che si formano dai primi abbassamenti termici, ma solo quando sono immaturi (da colore bianco fino al giallo scuro), per ridurre l'inoculo svernante che si traduce in infezioni primarie più deboli nella primavera successiva. In virtù del fatto che, una volta germinati, i conidi di *A. quisqualis*, muoiono rapidamente a meno che non trovino l'ospite e sono molto sensibili al disseccamento e alle alte temperature, è necessario trattare alla comparsa dei primissimi sintomi, in modo particolare nelle prime ore del mattino o in serata, affinché la penetrazione nel micelio dell'oidio avvenga più rapidamente e in condizioni favorevoli. La sospensione non deve essere preparata con troppo anticipo, poiché i conidi perdono vitalità dopo 12 ore.

Al genere *Bacillus* appartengono diversi ceppi registrati come principi attivi contro l'oidio, soprattutto appartenenti alle specie *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus*. Sono batteri a forma di bastoncino, che esercitano un'antibiosi diretta verso un ampio gruppo di patogeni, grazie a vari metaboliti, tra cui i più importanti sono i lipopeptidi (surfactina, iturina, fengicina) e alcuni antibiotici come subtilina, bacillosina. Alcuni di questi metaboliti inducono anche resistenza nella pianta, soprattutto con trattamenti radicali nelle serre, mentre in misura minimale con i trattamenti fogliari, motivo per cui questo meccanismo è meno rilevante sulla vite. La caratteristica di tutti i prodotti a base di *B. amyloliquefaciens* e *B. pumilus* è quella di avere un effetto rapido, ma una persistenza molto limitata; è inoltre importante prestare attenzione alla previsione di piogge in quanto sono facilmente dilavabili. Essendo dei batteri, essi hanno in genere una buona miscibilità con i fungicidi, anche se, in ogni caso, la compatibilità va sempre verificata in etichetta. I ceppi di *Bacillus* sono efficaci all'interno di un ampio intervallo di temperature, seppure rimanga valido il consiglio di applicarli in estate nelle ore più fresche. Bisogna inoltre fare attenzione nell'utilizzo di acque eccessivamente clorurate, che possono nuocere ai batteri.

### **5.6.5 Agenti di biocontrollo per la muffa grigia della vite**

Gli agenti patogeni sono la causa del 20-30% delle perdite globali di resa delle colture (Savary *et al.*, 2019). Spesse volte, al fine di garantire una sufficiente e costante resa delle colture, è obbligatorio quindi affidarsi all'utilizzo di prodotti chimici. Per questo motivo sono urgentemente necessari fungicidi sicuri per controllare i patogeni, poiché i fungicidi sintetici rappresentano una minaccia per la salute dell'uomo e per l'ambiente. Oggigiorno, la resistenza ai fungicidi rappresenta una delle principali sfide nella gestione del patogeno *B. cinerea*; infatti, questa specie è riconosciuta dal FRAC come ad alto rischio di sviluppo di resistenze ai fungicidi monosito a causa dell'elevato numero di spore che produce e per gli eventi di ricombinazione genica (Matta *et al.*, 2017). L'utilizzo ripetuto di fungicidi monosito per intere stagioni conduce alla rapida comparsa di resistenze ai fungicidi nelle popolazioni di *B. cinerea*, portando anche ad un elevato rischio di residui di fungicidi sull'uva alla vendemmia (Rotolo *et al.*, 2018). Per i suddetti motivi e per la crescente consapevolezza e preoccupazione degli esperti e dell'opinione pubblica in merito ai rischi e agli effetti collaterali negativi associati ai prodotti chimici, è aumentata la richiesta di riduzione di tali sostanze. Un'alternativa promettente per proteggere le colture è rappresentata dalla lotta biologica attraverso l'utilizzo di prodotti a base microbica classificati con il nome di agenti di biocontrollo, che hanno dimostrato, anche grazie alle diverse prove di campo effettuate, di avere un'efficacia spesso paragonabile alle strategie chimiche. I microrganismi più diffusi come mezzi biologici per il controllo della muffa grigia sono: *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aureobasidium pullulans* e *Metschnikowia fructicola*.

#### **5.7 L'INDUZIONE DI RESISTENZA PER LA PROTEZIONE DELLE COLTURE DALLE MALATTIE FUNGINE**

Nonostante le piante siano spesso esposte ai patogeni, esse hanno potuto, entro certi limiti, sviluppare meccanismi di resistenza nei loro confronti nel corso dell'evoluzione. La pianta definita “non ospite” può essere di per sé incapace di soddisfare le esigenze vitali del patogeno e/o possedere barriere strutturali e chimiche che non permettono l'infezione; alternativamente, la pianta può riconoscere il patogeno e attivare conseguentemente meccanismi di resistenza che bloccano l'infezione (resistenza dell'ospite); infine, essa può risultare suscettibile (quindi compatibile) al patogeno ma determinate condizioni ambientali non permettono l'instaurarsi dell'infezione. Le piante superiori hanno due meccanismi di difesa: le “difese passive” (costitutive), ovvero barriere strutturali e chimiche

precostituite che hanno il ruolo di escludere la maggior parte dei microrganismi, e le difese attive (o inducibili) che solo al bisogno, ad esempio su stimolo di molecole estranee, innescano una risposta rapida di difesa. Ciascuna delle due linee di difesa è costituita da altre due sezioni a seconda che le difese siano chimiche o strutturali. Le difese passive strutturali sono rappresentate dai tessuti e dalle strutture cellulari che si frappongono fisicamente al patogeno:

- stomi;
- epidermide, costituita da cellule appiattite tenute insieme dalla pectina (che è un polisaccaride la cui unità monomerica è l'acido galatturonico che può essere variamente esterificato al fine di rendere più difficoltosa la lisi enzimatica da parte del patogeno);
- tricomi e cuticola, costituiti da composti che fungono da barriera per i microrganismi grazie rispettivamente a isoprenoidi mono e diterpenici e monolignoli parzialmente uniti tra loro ed esterificati con acidi grassi idrossilati.

Le difese passive chimiche comprendono una serie di metaboliti secondari aventi una generica attività biocida. Alcuni di essi sono presenti nella cellula integra mentre altri si ritrovano in forma di precursori inattivi che poi, a loro volta, sono attivati da enzimi che vengono liberati dalla pianta solo ed esclusivamente in seguito al danneggiamento di un comparto cellulare. La loro localizzazione è spesso concentrata negli strati cellulari più esterni dei vari organi della pianta, nei quali risulta più facile poter interferire con i patogeni. Fanno parte di questo gruppo di composti chimici: le saponine, i glucosidi caiofenici, i glucosinolati, i lattoni insaturi, i fenoli. Esiste inoltre un gruppo di sostanze proteiche come le tionine, le taumatine e le defensine, rinvenute per lo più nei semi e negli organi di riserva, che hanno il ruolo di alterare la permeabilità della membrana dei patogeni andando complessivamente a contribuire alla resistenza della pianta. La risposta attiva è subordinata alla capacità della pianta di riconoscere il patogeno attraverso i propri recettori situati all'esterno e all'interno della cellula e l'efficacia di tale azione dipenderà per gran parte dalla velocità di tale risposta. Le difese attive sono quelle che vengono messe in atto a partire dal momento in cui la pianta riconosce il patogeno; ne derivano una serie di eventi a livello cellulare e biochimico nei quali sono coinvolti diversi messaggeri secondari, che sono a loro volta responsabili della trasduzione di vari segnali molecolari; questi ultimi inducono, a livello nucleare, la trascrizione di geni codificanti per proteine di difesa ed enzimi coinvolti nelle difese

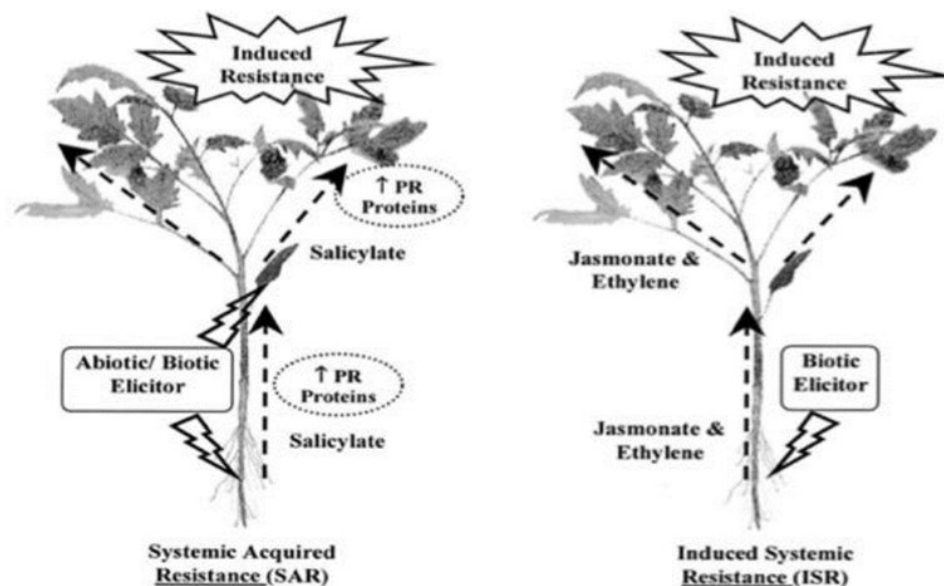


inducibili. Le difese attive strutturali della pianta sono confinate nel punto d'ingresso del patogeno e sono rappresentate dalla formazione di callosio e da risposte di ipersensibilità. Si tratta di una specie di "suicidio programmato" meglio conosciuto come "*hypersensitive response*" (HR) condotto attivamente dalla cellula vegetale a seguito del contatto con il patogeno. Nel giro di 24 ore dal contatto con l'agente scatenante, la cellula vegetale accumula e/o rilascia composti tossici, in particolare prodotti di reazioni di ossidazioni (*reactive oxygen species* – ROS: anioni superossido, perossido di idrogeno, radicali idrossilici), creando condizioni poco ospitali per il patogeno che viene ucciso, o quantomeno compartimentalizzato nel punto di contatto. Le difese attive chimiche, invece, possono distinguersi in: sintesi di fitoalessine e produzione di proteine PR (*pathogenesis related proteins*). Le fitoalessine sono dei composti a basso peso molecolare come fenoli e terpenoidi, ad azione antimicrobica, prodotti dalle piante in seguito ad inoculazioni o contatto con microrganismi; la loro azione è aspecifica verso un ampio spettro di patogeni e riescono ad essere attive solo nei primi stadi dell'infezione. Le proteine PR sono utilizzate dalle piante contro i fattori di stress e hanno un ruolo molto importante nella difesa; sono accumulate a livello apoplastico e sono stabili a pH acido e resistenti alle proteasi. Il loro accumulo è generalmente associato all'istaurarsi della resistenza sistemica acquisita. Vengono suddivise in 17 famiglie, ciascuna delle quali è coinvolta nell'attività difensiva della pianta contro diversi organi bersaglio del patogeno. La sintesi *ex novo* di questi composti tossici per il patogeno è innescata dalla presenza di quest'ultimo e/o dalle interazioni pianta-patogeno con sostanze dette elicitori. Inizialmente il termine elicitore veniva utilizzato solamente per descrivere molecole in grado di indurre la produzione di fitoalessine, ma ad oggi comprende tutti quei composti in grado di stimolare una qualsiasi forma di difesa nella pianta (Eder e Cosio, 1994). Gli elicitori possono essere classificati in diversi modi. Una prima suddivisione può essere fatta tra aspecifici e specifici: i primi sono in grado di stimolare una resistenza non ospite-specifica, mentre i secondi inducono tipicamente una resistenza ospite-specifica. Un'ulteriore distinzione è quella tra biotici e abiotici, sulla base delle loro origini. Gli elicitori aspecifici si suddividono poi in esogeni, ossia prodotti dal patogeno, ed endogeni, ovvero provenienti dalla pianta in seguito all'interazione con il patogeno. Gli elicitori aspecifici esogeni sono frammenti di parete cellulare, frammenti di flagelli, acidi grassi, steroli, proteine e glicopeptidi; gli elicitori aspecifici endogeni sono principalmente frammenti della parete cellulare vegetale, rilasciati in seguito all'aggressione degli enzimi litici del

patogeno, ad esempio gli oligogalatturonidi. Gli elicitori specifici sono invece molecole prodotte esclusivamente da determinati ceppi di patogeni solo verso alcune varietà di piante; sono i prodotti dei geni di avirulenza del patogeno, i quali inducono una resistenza ospite specifica in seguito all'interazione con dei recettori codificati dai geni di resistenza della pianta. Sono rappresentati per lo più da proteine, peptidi e siringolidi. Ad ogni modo, tutti gli elicitori innescano una serie di segnali molecolari in grado di attivare la trascrizione di geni di difesa. Complessivamente, quindi, le piante possono mettere in atto tre tipi di risposte attive di difesa: primarie, secondarie e terziarie. Le risposte primarie, riconducibili all'HR, si concentrano nelle cellule a diretto contatto con il patogeno e si manifestano con necrosi dei tessuti dell'area toccata dall'infezione. Le risposte secondarie si evidenziano nelle zone limitrofe a quelle interessate dalle risposte primarie e sono indotte da segnali generati da queste ultime ("*local acquired resistance*", LAR); le molecole segnale sono per lo più forme reattive dell'ossigeno e dell'azoto, tali composti fungono anche da elicitori per la morte cellulare programmata. Successivamente a queste due forme di difesa si verifica un accumulo di acido salicilico che, raggiungendo i vari organi, funge da segnale di attivazione per la resistenza sistemica acquisita ("*systemic acquired resistance*", SAR). La SAR si sviluppa dopo intervalli di tempo anche ampi (1-2 e più giorni) e può essere innescata sia da elicitori biotici che abiotici a livello radicale o epigeo e comporta una risposta sistemica totale. La risposta terziaria invece, è indotta da rizobatteri quindi solo da elicitori biotici nelle radici, generando una risposta simile alla SAR, denominata resistenza sistemica indotta ("*induced systemic resistance*", ISR) mediata principalmente da acido jasmonico ed etilene (Figura 14). La produzione di acido jasmonico e di etilene è determinata da agenti necrotrofici, mentre quella dell'acido salicilico da patogeni biotrofici. Quindi, le piante possono attivare diverse vie di difesa a seconda del tipo di patogeno presente (Garcia-Brugger *et al.*, 2006). SAR e ISR sono attualmente i due principali sistemi conosciuti di resistenza indotta.

Questi meccanismi di resistenza naturali che le piante hanno sviluppato nei secoli attraverso processo evolutivo, possono essere sfruttati in diversi modi dall'uomo in ambito agricolo. Ad esempio, tramite degli appositi formulati commerciali (induttori di resistenza) è possibile stimolare l'attivazione di geni di difesa presenti nel corredo genetico di una pianta prima che questa venga a contatto con il patogeno. Inoltre, la biodiversità genetica può essere utile anche per il

miglioramento genetico, ad esempio introducendo dei geni di resistenza desiderati da individui che li possiedono alle piante coltivate che magari ne sono prive; a tal proposito la ricerca è sempre più orientata verso l'ottenimento di nuovi vitigni ibridi geneticamente resistenti a peronospora e oidio (Crespan *et al.*, 2021).



**Figura 14** - Rappresentazione schematica dell'azione e dell'influenza di diversi elicitori sulle risposte di difesa SAR (*Systemic Acquired Resistance*) e ISR (*Induced Systemic Resistance*) (Vallad e Goodman, 2004).

Un importante contributo alla protezione integrata delle colture dalle malattie fungine può derivare da sostanze attive di nuova generazione in grado di indurre meccanismi di difesa nelle piante. Numerose sostanze, naturali o di sintesi, sono note per la capacità di indurre resistenza a malattie fungine (Tabella 3). Due analoghi funzionali dell'acido salicilico, l'acido isonicotinico (INA) e il benzotriadiazolo (BTH, noto anche come o acibenzolar-S-methyl, ASM), sono noti induttori di resistenza sistemica acquisita (SAR) in numerose combinazioni pianta-patogeno. Il BTH presenta un ampio spettro d'azione ed il suo uso su alcune colture è autorizzato in Italia. Numerosi composti inorganici, possono agire da attivatori delle difese delle piante. Tra questi rientrano i sali di fosforo e silicio, zuccheri e vitamine come la riboflavina. Un altro induttore di resistenza, l'acido  $\beta$ -amminobutirrico (BABA), è efficace contro diversi agenti causali di peronospora e, a differenza di molti induttori chimici, mostra qualche effetto curativo (Silué *et al.*, 2002). È nota e sperimentata l'attività del chitosano per la protezione da diverse malattie fungine. Possono inoltre agire da elicitori anche alcuni acidi polinsaturi,

come l'acido arachidonico e le arpine, proteine di origine batterica la cui attività è stata anche accertata verso funghi fitopatogeni. Risultati incoraggianti sono stati ottenuti con alcuni induttori di origine vegetale, come oligogalatturonidi, cellodestrine che, ad esempio, inducono resistenza a *B. cinerea* su vite e oligosaccarine che migliorano la resistenza inducendo nelle piante la sintesi di fitoalessine. Una nuova molecola, 3-acetyl-3-hydroxyoxindole, estratta da una pianta ornamentale, su tabacco induce resistenza a *Erysiphe cichoracearum* (Li *et al.*, 2008). La laminarina, glucano derivato da alghe brune, per il contenimento dell'oidio su graminacee, è nota per attivare anche le difese della vite da *B. cinerea* e *P. viticola* (Aziz *et al.*, 2003). Inoltre, probenazole, un fungicida da tempo impiegato per la protezione del riso da patogeni fungini, ha mostrato una debole attività antifungina e ad oggi è più propriamente considerato un induttore di resistenza.

In un'ottica di sostenibilità, tutela dell'ambiente e sicurezza alimentare, gli induttori di resistenza rappresentano un approccio alternativo e potenzialmente promettente nella gestione delle avversità delle piante. Nonostante la loro efficacia sia inferiore a quella dei fungicidi tradizionali, ben si prestano ad essere impiegati in programmi di protezione integrata dalle malattie fungine, risultando di particolare ausilio per patogeni non efficacemente controllati con i metodi tradizionali e verso patogeni ad elevato rischio di acquisizione di resistenza a fungicidi o in grado di adattarsi facilmente a genotipi di piante resistenti.

**Tabella 3** - Alcuni esempi di induttori di resistenza, loro efficacia e disponibilità di formulazioni commerciali (Bacelli *et al.*, 2022).

Induttori di resistenza	Efficacia degli induttori di resistenza e presenza di prodotti disponibili				
	Chromista	Funghi	Batteri	Virus	Fitoplasmi
Benzotiadiazolo (BTH)	X	X	X (PPP)	X	X
Acido $\beta$ -amminobutirrico (BABA)	X	X	X	X	
Cerevisane	X (PPP)	X (PPP)			
Chitosano*	X	X (PPP/NR)	X	X	X
Glutazione+ oligosaccarine	X				X
Acido isonicotinico (INA)	X	X	X		
Acido jasmonico, Metil jasmonato (JA, MeJA)		X			
Laminarina	X	X			
Fosetil-alluminio	X (PPP)	X (PPP)	X (PPP)		X
Fosfito di potassio	X (PPP/NR)	X			
Calcio proesadione			X		X
Idrolizzati proteici	X	X			
Acido salicilico (SA)	X	X	X	X	X
Estratti di lievito	X	X			
Oli essenziali o terpeni	X (PPP/NR)	X (PPP/NR)	X	X	X

\*Registrato come sostanza di base secondo il Regolamento UE 1107/2009

X: molecola riportata in letteratura come efficace contro alcuni dei patogeni appartenenti a quel regno, classe o gruppo.

PPP: prodotto registrato come prodotto fitosanitario (*plant protection product*, PPP) o in corso di registrazione.

NR: prodotti presenti sul mercato ma non registrati come PPP (*not registered*, NR), ma spesso come ammendanti o fertilizzanti.

PPP/NR: prodotti registrati e non registrati come PPP sono entrambi presenti sul mercato con lo stesso principio attivo.

Al momento non esiste una specifica categoria di prodotti che agiscono come induttori di resistenza, ma questi possono essere disponibili in commercio come prodotti fitosanitari (fra i quali rientrano le sostanze attive a basso rischio), biostimolanti, fertilizzanti, sostanze di base e agenti di biocontrollo, oppure non essere ancora disponibili sottoforma di formulazioni commerciali.

## **6 OBIETTIVI DELLA RICERCA**

A seguito dei rischi per la salute umana e delle conseguenze sull'ambiente, negli ultimi anni è emersa la necessità di ridurre e regolamentare l'utilizzo dei prodotti chimici in agricoltura. La transizione verso un sistema economico sostenibile in Europa è guidata dall'*European Green Deal*, il quale mira a minimizzare o addirittura azzerare l'impatto ambientale delle attività antropiche. All'interno del *Green Deal* sono pubblicate delle strategie specifiche per ogni settore: in ambito agricolo, fa fede la strategia *Farm to Fork*, la quale pone una serie di ambiziosi obiettivi da raggiungere entro il 2030, come ad esempio quello di dimezzare l'impiego di agrofarmaci considerati pericolosi e quello di aumentare del 25% le superfici agricole destinate ad agricoltura biologica. Tuttavia, mentre da un lato questo processo virtuoso di eliminazione delle sostanze più pericolose e impattanti dal sistema agricolo risulta fondamentale per il raggiungimento di tali obiettivi, il rovescio della medaglia prevede che gli agricoltori si trovino in difficoltà, poiché devono affrontare le stesse avversità, o addirittura di più, con sempre meno "armi" a disposizione per proteggere le colture. Inoltre, di recente sono state poste delle pesanti limitazioni anche nei confronti dei composti a base di rame, i quali sono stati inseriti nella lista delle sostanze attive candidate alla sostituzione (attualmente autorizzati fino al 31 dicembre 2025) ed il quantitativo di rame utilizzabile in agricoltura è stato ridotto a 28 kg/ha nell'arco di sette anni, che corrispondono ad una media di 4 kg/ha all'anno. Questa situazione ha disorientato soprattutto il comparto biologico, in quanto i fungicidi rameici sono attualmente gli unici ammessi ed in grado di assicurare un'efficace protezione dalla peronospora in viticoltura biologica. Alla luce di questa situazione, risulta di fondamentale importanza la ricerca di nuove strategie di protezione delle colture, che siano altrettanto efficaci, meno impattanti sull'ambiente, non pericolose per l'uomo ed in grado di assicurare un reddito agli agricoltori. L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di valutare l'efficacia di strategie alternative ed innovative basate

sull'impegno di sostanze di base, agenti di biocontrollo e composti che agiscono come induttori di resistenza della pianta. I prodotti sono stati saggiati a livello sperimentale, in due prove distinte. La prima prova è stata svolta su peronospora e oidio e sono stati valutati prodotti costituiti da sostanze di base: chitosano (a diverse concentrazioni), siero di latte liquido, siero in polvere, *Equisetum arvense* e *Urtica dioica*; da principi attivi di origine naturale, quali l'olio essenziale di arancio dolce e da agenti di biocontrollo (*Ampelomyces quisqualis*). La seconda prova ha focalizzato l'attenzione sul contenimento della muffa grigia, attraverso la valutazione di 12 strategie basate su due prodotti a basso impatto ambientale, costituiti da *Swinglea glutinosa* e terpeni e confrontati con un testimone trattato con un fungicida tradizionale e un testimone non trattato. Lo scopo di questa prova è stato di valutare l'effettiva efficacia dei principi attivi, utilizzati da soli o in combinazione con un coadiuvante ammesso in biologico, e di valutare eventuali differenze in funzione del numero di trattamenti effettuati.

## **7 MATERIALI E METODI**

### **7.1 PROVA 1: EFFICACIA DI STRATEGIE INNOVATIVE PER LA GESTIONE DI *PLASMOPARA VITICOLA* ED *ERYSIPHE NECATOR***

#### **7.1.1 Vigneto sperimentale**

L'attività sperimentale della prova 1 è stata svolta in un vigneto situato ad Ancona (AN), particolarmente suscettibile all'oidio, che è stato messo a disposizione dell'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro soc. coop. agr.". Il vigneto è costituito interamente dalla cultivar Montepulciano, allevato a cordone speronato con un sesto d'impianto di 2,5 m tra le file e 0,8 m sulla fila. L'appezzamento ha una superficie complessiva di 9089 m<sup>2</sup>, ha esposizione 41° Nord-Est con altitudine di 70 metri sul livello del mare. La prova è stata sviluppata su una superficie pari a 2000 m<sup>2</sup> circa, interessando complessivamente cinque filari (due trattati, due di bordo esterni e uno fra i due interessati dai trattamenti). Ogni filare è lungo circa 150 m ed in media dispone di circa 180 piante (Figura 15).



**Figura 15** - Aerofotogrammetria del vigneto situato ad Ancona, nel riquadro la superficie considerata per la prova sperimentale, foto aerea ottenuta tramite Google Earth.

### 7.1.2 Strategie saggiate e schema sperimentale

La prova sperimentale è stata organizzata in modo tale da valutare l'efficacia di 16 strategie per la protezione della vite nei confronti di peronospora e oidio. I prodotti da saggiare che sono stati utilizzati sono i seguenti: un formulato a base di solfato di rame tribasico, diversi prodotti derivati da sostanze di base, tra i quali chitosano, estratto di ortica, *Equisetum arvense*, olio essenziale di arancio dolce e siero di latte, sia liquido che in polvere, e un agente di biocontrollo a base fungina (AQ10), costituito da spore di *Ampelomyces quisqualis* (Tabella 4). Questi prodotti sono stati testati da soli, nel caso del chitosano denso a diverse concentrazioni, e sono stati confrontati con un testimone non trattato, un testimone trattato solamente con acqua e un testimone aziendale, che ha seguito la strategia di protezione dell'azienda, comprendendo sia fungicidi rameici che anticrittogamici a base di zolfo. Per valutare l'efficacia dei prodotti è stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni. La gestione delle 16 tesi in quattro blocchi randomizzati ha definito 64 repliche totali costituite da sei piante. Il numero di



piante prese per ciascuna replica corrisponde ad un interpalo, in alcuni casi però sono state considerate cinque piante poiché alcune sono state scartate o per una crescita stentata o perché assenti causa estirpo. Le repliche sono state divise tra due filari e nel filare intermedio tra i due è stato considerato il testimone non trattato. Per garantire una distribuzione il più uniforme possibile la disposizione dei blocchi è stata distribuita seguendo un gradiente ambientale. Scendendo da monte verso valle, la disposizione dei blocchi è stata la seguente: blocco 1 a monte del filare, blocco 2 e blocco 3 al centro e blocco 4 a valle del vigneto.

**Tabella 4** - Descrizione delle varie strategie saggiate nei confronti della peronospora e dell'oidio della vite (cv. Montepulciano), nel vigneto situato ad Ancona (AN), con i rispettivi principi attivi, formulati commerciali, dosi da testare e fornitore.

<b>Tesi</b>	<b>Principi attivi (concentrazione)</b>	<b>Formulati commerciali</b>	<b>Dosi saggiate</b>	<b>Fornitore</b>
Rame	Solfato di rame tribasico (190 g/L)	Tri-base	350 mL/hL	Ascenza Italia
Chitosano 1	Chitosano (1,9%)	Chitosano Biorend	0,04%	Bioplanet
Chitosano 2	Chitosano cloridrato (5%)	Chitosano Serbios	0,04%	Serbios
Chitosano 3	Chitosano cloridrato (5%)	Prevatect	0,04%	Ascenza Italia
Chitosano 4°	Chitosano cloridrato (50%)	Chitosano denso	0,04%	Agrilaete
Chitosano 4b	Chitosano cloridrato (50%)	Chitosano denso	0,2%	
Chitosano 4c	Chitosano cloridrato (50%)	Chitosano denso	0,5%	
Siero di latte liquido	Siero di latte liquido (7 % s.s.)		10% (0,7% s.s.)	Fattoria locale
Olio essenziale di arancio dolce	Olio essenziale di arancio dolce (60 g/L)	Prev-Am	600 mL/hL	Ascenza Italia, Italy
<i>Equisetum arvense</i>	<i>Equisetum arvense</i> (2 g/L)	Equiset	500 mL/hL	
<i>Urtica dioica</i>	Estratto di ortica (15 g/L)	Valesco	400 mL/hL	
<i>Ampelomyces quisqualis</i>	<i>A. quisqualis</i> isolato M-10, 58g/100g (minimo $5 \times 10^9$ spore/g)	AQ10 GW	7 g/hL	Biogard
Siero di latte in polvere	Siero di latte (90% s.s.)	Siero di latte in polvere	0,7% s.s.	Fornitore locale
Aziendale	Zolfo + solfato di rame neutralizzato +solfato di rame tribasico+ idrossido di rame	Diversi formulati commerciali	Dose media d'etichetta	-
Non trattato	-	-		-
Trattato con acqua	-	-		-

### 7.1.3 Trattamenti

I trattamenti per le strategie in prova (ad esclusione del testimone aziendale) sono stati eseguiti nel periodo compreso dal 13 maggio al 22 luglio e si sono susseguiti con cadenza regolare ad intervalli di 7 – 10 giorni. In totale sono stati eseguiti dieci trattamenti (Tabella 5), utilizzando tre irroratrici a spalla con lancia provvista di due spruzzatori e valvola di erogazione con sfera a comando a leva (Figura 16). Le irroratrici utilizzate sono modello Honda GX 25, 25 cc, con motore benzina quattro tempi, potenza 0,8 kW (1,1 CV). La pressione massima è di 25 bar (2,5 Mpa) e la sua regolazione avviene tramite comando manuale a manopola con quattro livelli. La portata massima è di 10 L/minuto senza ugelli. Prima di iniziare i trattamenti sono stati montati dei raccordi a due vie e la portata delle tre macchine è stata regolata a 1,8 L/minuto. Tutti i trattamenti ad eccezione del testimone aziendale sono stati effettuati con volume d'irrorazione di riferimento standard per i trattamenti su vite, di 1000 L/ha.

Per quanto riguarda la strategia aziendale, i trattamenti sono stati effettuati con un atomizzatore snodato Vma, modello Power 55, lavorando ad una velocità costante di 7-8 km/h e con pressioni regolate in base alla fase fenologica del germoglio. Il volume d'irrorazione in questo caso è risultato variabile, da 100 a 500 L/ha.

**Tabella 5** - Descrizione dei trattamenti con data e fase fenologica della vite corrispondenti al momento del trattamento.

<b>Trattamento</b>	<b>Data</b>	<b>Fase fenologica (scala BBCH, Lorenz <i>et al.</i>, 1994)</b>
1	13/05 2022	BBCH 55
2	19/05/2022	BBCH 57
3	27/05/2022	BBCH 65
4	06/06/2022	BBCH 71
5	15/06/2022	BBCH 73
6	22/06/2022	BBCH 75
7	29/06/2022	BBCH 77
8	04/07/2022	BBCH 79
9	13/07/2022	BBCH 79
10	22/07/2022	BBCH 81



**Figura 16** - Irroratrice a spalla utilizzata per i trattamenti nel vigneto sperimentale.

## **7.2 PROVA 2: EFFICACIA DI STRATEGIE INNOVATIVE PER LA GESTIONE DI *BOTRYTIS CINEREA***

### **7.2.1 Vigneto sperimentale**

Per la seconda prova il vigneto sperimentale è situato a Montecarotto, in provincia di Ancona. Anch'esso messo a disposizione dall'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro soc. coop. agr." (Figura 17). L'intero appezzamento è coltivato con la varietà verdicchio, allevato a doppio capovolto con un sesto d'impianto di 3,0 m tra le file e 1,5 m sulla fila. L'appezzamento ha una superficie complessiva di 72000 m<sup>2</sup>, ha esposizione Nord-Est con altitudine di 150 metri sul livello del mare. La prova è stata realizzata su una superficie pari a 2433 m<sup>2</sup> circa, interessando complessivamente sedici filari, di cui i primi tre non sono stati considerati, poiché troppo corti. La lunghezza dei filari è abbastanza variabile ed è crescente dai primi filari agli ultimi; quelli vicino all'entrata, che sono stati presi in considerazione, sono lunghi circa 30 m e provvisti all'incirca di 20 piante, mentre gli ultimi sono lunghi circa 60 m e dispongono in media di 40 piante.



**Figura 17** - Aerofotogrammetria del vigneto di Montecarotto (AN), nel riquadro la superficie considerata per la prova sperimentale, foto aerea ottenuta tramite Google Earth.

### **7.2.2 Strategie saggiate e schema sperimentale**

Nel vigneto sperimentale di Montecarotto sono state prese in considerazione 14 strategie, per la valutazione dell'efficacia di alcuni prodotti nei confronti della muffa grigia della vite. Le strategie saggiate includono un formulato a base di un estratto vegetale di *Swinglea glutinosa* e un prodotto innovativo a base di tre principi attivi: eugenolo, geraniolo e timolo (Tabella 6). I prodotti in prova sono stati testati da soli ed in combinazione con un coadiuvante, ammesso in agricoltura biologica, contenente sorbitan mono oleato etossilato, e sono stati saggiati in diverse fasi fenologiche. La loro efficacia è stata confrontata con un testimone non trattato e un testimone trattato con un prodotto a base di cyprodinil e fludioxonil, comunemente noto come Switch ed ampiamente utilizzato per la difesa antibotritica.

La prova sulla muffa grigia è stata organizzata con 14 tesi in quattro blocchi randomizzati, per un totale di 56 repliche. Essendo un vigneto con piante piuttosto

vecchie, non è stato semplice definire il numero di piante per ciascuna replica; in generale, sono state prese cinque o sei piante, ma, alla luce del fatto che il vigneto era un po' datato, numerosi sono stati gli spazi vuoti tra una replica e l'altra o tra le piante di una stessa parcella. Questa condizione del vigneto ha portato alla scelta di utilizzare 11 filari più due esterni di bordo, in modo tale da disporre i blocchi uno a fianco all'altro (da sinistra a destra: blocco 1, blocco 2, blocco 3 e blocco 4), secondo un gradiente ambientale, al fine di rendere più uniforme la distribuzione delle parcelle e di valutare l'efficacia dei prodotti nella maniera più corretta possibile. La mappa sperimentale ha evidenziato che il blocco 1, che aveva i filari più corti, è stato diviso in quattro filari, mentre per il blocco 4 ne sono stati presi due.

**Tabella 6** - Descrizione delle varie strategie in prova nei confronti della muffa grigia della vite (cv. Verdicchio), nel vigneto situato a Montecarotto (AN), con i rispettivi principi attivi, formulati commerciali, dosi da testare, fornitore e fase fenologica per applicare i trattamenti secondo le varie strategie.

<b>Tesi</b>	<b>Principi attivi (concentrazione)</b>	<b>Formulati commerciali</b>	<b>Dosi saggiate</b>	<b>Fornitore</b>	<b>Fase fenologica</b>	
<i>S. glutinosa 1</i>	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L)	Perimeter	2 kg/ha	Gowan Italia S.r.l.	Inizio fioritura	
<i>S. glutinosa</i> + coadiuvante1	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	Perimeter+ MAGO	2 kg/ha + 1,5 L/ha			
Terpeni 1	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L)	3 Logy	2 L/ha			
Terpeni+ coadiuvante1	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	3 Logy + MAGO	2 L/ha + 1,5 L/ha			
<i>S. glutinosa 2</i>	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L)	Perimeter	2 kg/ha		Inizio fioritura e piena fioritura	
<i>S. glutinosa</i> + coadiuvante2	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	Perimeter+ MAGO	2 kg/ha + 1,5 L/ha			
Terpeni 2	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L)	3 Logy	2 L/ha			
Terpeni + coadiuvante2	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	3 Logy + MAGO	2 L/ha + 1,5 L/ha			
<i>S. glutinosa 3</i>	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L)	Perimeter	2 kg/ha		Inizio fioritura e invaiaitura	
<i>S. glutinosa</i> + coadiuvante3	<i>Swinglea glutinosa</i> (820 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	Perimeter+ MAGO	2 kg/ha + 1,5 L/ha			
Terpeni 3	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L)	3 Logy	2 L/ha			
Terpeni+ coadiuvante3	Geraniolo (66 g/L), eugenolo (33 g/L), timolo (66 g/L) + sorbitan mono oleato etossilato (120 g/L)	3 Logy + MAGO	2 L/ha + 1,5 L/ha			
Testimone trattato	Cyprodinil (375 g/L) + fludioxonil (250 g/L)	Switch	0,8 kg/ha			Pre-chiusura grappolo
Testimone non trattato	-	-				

### 7.2.3 Trattamenti

I trattamenti per le strategie in prova (ad esclusione del testimone non trattato) sono stati eseguiti nel periodo compreso dal 31 maggio al 3 agosto e sono stati effettuati seguendo le fasi fenologiche che le varie strategie indicavano per i trattamenti. In totale sono stati eseguiti quattro trattamenti (Tabella 7), utilizzando due irroratrici a spalla con lancia provvista di due spruzzatori e valvola di erogazione con sfera a comando a leva. Le irroratrici utilizzate sono modello Honda GX 25, 25 cc, con motore benzina quattro tempi, potenza 0,8 kW (1,1 CV). La pressione massima è di 25 bar (2,5 Mpa) e la sua regolazione avviene tramite comando manuale a manopola con quattro livelli. La portata massima è di 10 L/minuto senza ugelli. Prima di iniziare i trattamenti sono stati montati dei raccordi a due vie e la portata delle due macchine è stata regolata a 1,8 L/minuto. Tutti i trattamenti sono stati effettuati con volume d'irrorazione di 600 L/ha.

**Tabella 7** - Descrizione dei trattamenti con data e fase fenologica nel momento dell'applicazione, secondo quanto richiesto dalle strategie in prova.

<b>Trattamento</b>	<b>Data</b>	<b>Fase fenologica (scala BBCH, Lorenz <i>et al.</i>, 1994)</b>
1	31/05 2022	BBCH 61
2	03/06/2022	BBCH 65
3	22/06/2022	BBCH 75
4	03/08/2022	BBCH 81

### 7.3 VALUTAZIONI DELLE INFEZIONI

#### ❖ *Prova 1*

Per valutare l'efficienza delle varie strategie, nella prima prova sono stati eseguiti dei rilievi che hanno osservato i livelli di infezione della peronospora e dell'oidio. Sono state osservate 20 piante per ciascuna tesi e tenendo in considerazione il numero di piante per blocchi, ne sono state valutate 5 per ciascun blocco lungo la fila; due sono stati i filari interessati da questa prova, per un totale di 10 piante/filare/strategia. In totale sono state osservate 320 piante. La scelta delle piante è stata razionale: non sono state prese in considerazione le piante dalla crescita stentata o eccessiva, oltre all'ultima pianta di ciascun blocco. Inoltre, ad ogni rilievo sono stati effettuati dei monitoraggi sulla vegetazione per la determinazione delle fasi fenologiche e l'individuazione dei primi sintomi di malattia.



In totale sono stati effettuati nove rilievi nelle seguenti date e fasi fenologiche, sia sulle foglie che sui grappoli:

- 8/6/22 BBCH71 (rilievo su oidio grappoli e foglie e peronospora foglie)
- 14/6/22 BBCH73 (rilievo su oidio grappoli e foglie e peronospora foglie)
- 28/6/22 BBCH77 (rilievo su grappoli e foglie per oidio e per peronospora)
- 13/7/22 BBCH79 (rilievo su grappoli e foglie per oidio e per peronospora)
- 3/8/22 BBCH83 (rilievo su grappoli e foglie per oidio e per peronospora)
- 31/8/22 BBCH89 (rilievo su grappoli e foglie per oidio e per peronospora)

### ❖ **Prova 2**

Oggetto della tesi sono state le valutazioni d'efficacia dei trattamenti svolti durante l'anno, a carico delle infezioni di muffa grigia. In tale prova è stata verificata la presenza anche di marciumi secondari, tra i quali ad esempio *Aspergillus* spp. ed inoltre sono stati valutati gli effetti collaterali delle strategie antibotritiche su peronospora e oidio. In totale sono state osservate 280 piante, considerando la mappa sperimentale sono state rilevate 20 piante per ogni tesi, suddivise in 4 blocchi distribuiti su un totale di 11 filari. La scelta delle piante è stata razionale: sono state escluse dalla scelta quelle a crescita stentata o eccessivamente vigorose rispetto alla media, oltre alle prime e alle ultime piante di ciascuna fila. Inoltre, ad ogni rilievo o trattamento sono stati effettuati dei monitoraggi sulla vegetazione per la determinazione delle fasi fenologiche e l'individuazione dei primi sintomi di malattia. Sono state prese in considerazione le infezioni peronosporiche a carico sia delle foglie che dei grappoli e le infezioni di muffa grigia e di *Aspergillus* spp. a carico dei grappoli.

I rilievi totali effettuati a Montecarotto sono stati tre, condotti nelle seguenti date e fasi fenologiche:

- 18/7/22 BBCH81 (rilievo grappoli e foglie peronospora e foglie oidio)
- 7/9/22 BBCH 85 (rilievo muffa grigia e *Aspergillus* spp.)
- 20/9/22 BBCH89 (rilievo muffa grigia e *Aspergillus* spp.)

Per valutare l'entità delle infezioni, sia della Prova 1 che della Prova 2 sono state adoperate scale empiriche suddivise in più classi di gravità in base alla percentuale di superficie fogliare colpita dai sintomi della malattia o al numero di bacche infette per ogni grappolo. Per quanto riguarda le foglie, ai fini dello studio si considera che le piante prese in esame abbiano in totale una media di 100 foglie ciascuna,

classificando quelle malate con 11 differenti classi di gravità della malattia (Tabella 7). Il numero di grappoli invece è stato contato per ogni pianta e sono state attribuite 8 classi di gravità (Tabella 8).

**Tabella 7** - Scala utilizzata per la classificazione delle malattie sulle foglie durante i rilievi.

<b>Classe di malattia</b>	<b>Superficie fogliare infetta (%)</b>
0	Foglia sana
1	1-10
2	11-20
3	21-30
4	31-40
5	41-50
6	51-60
7	61-70
8	71-80
9	81-90
10	91-100

**Tabella 8** - Scala utilizzata per la classificazione delle malattie sui grappoli durante i rilievi.

<b>Classe di malattia</b>	<b>Numero di bacche infette o porzione di grappolo infetta</b>
0	Grappolo sano
1	1-5 bacche
2	6-11 bacche
3	12-25 bacche
4	25%
5	26-50%
6	51-75%
7	76-100%

Le scale empiriche hanno permesso di ricavare alcuni parametri patometrici quali la diffusione, la gravità e l'indice di infezione di McKinney (o intensità media ponderata) (McKinney, 1923). La diffusione (D) esprime la percentuale di superficie fogliare infetta sull'intera chioma e la percentuale di grappoli infetti sul totale dei grappoli presenti sulla pianta. La formula per calcolare tale parametro è la seguente:

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

n: numero di bacche/foglie infette

N: numero totale di bacche/foglie esaminate.

La gravità (G) della malattia, valore che esprime l'intensità media della malattia riferita sia alle foglie sia ai grappoli, è stata calcolata tramite la seguente formula:

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

c: valore classe empirica

f: frequenza della classe

n: numero di bacche/foglie infette

Infine, l'Indice di McKinney (o intensità media ponderata della malattia) esprime la gravità della malattia in valore percentuale rispetto a quella massima possibile ed è stato calcolato attraverso la formula:

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

c: valore classe empirica

f: frequenza della classe

N: numero totale delle osservazioni

X: valore della classe massima della scala empirica.

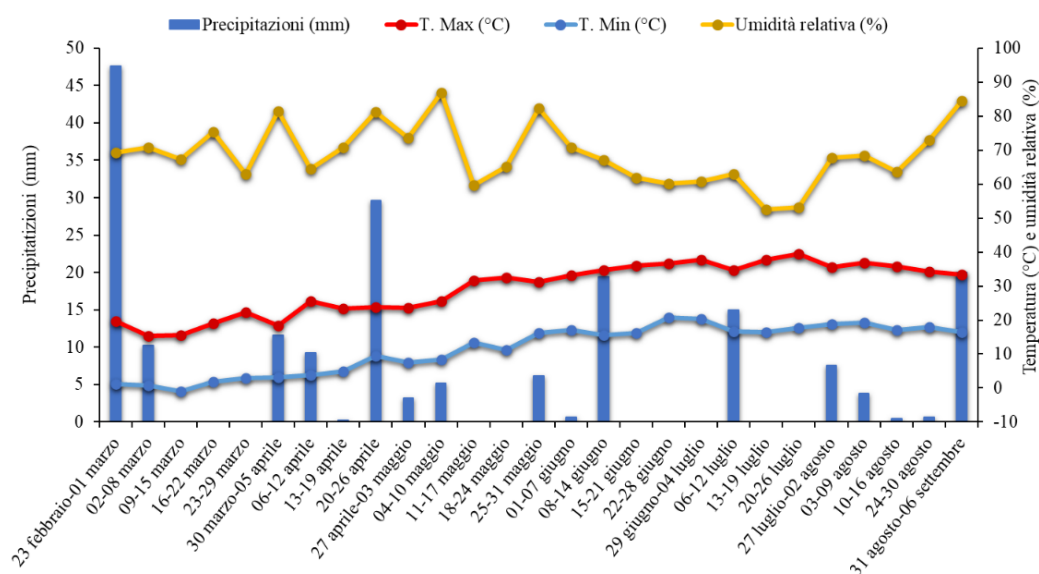
Tutti i dati sono stati prima testati per la normalità secondo il test di Shapiro-Wilk con  $P \leq 0,05$ . In presenza di dati con distribuzione non normale, anche in seguito alla trasformazione  $f(x) = \text{asin}(\sqrt{x})$  sono stati applicati test non parametrici. In particolare, il test di Kruskal-Wallis seguito dal test di Mann-Whitney (sempre con  $P \leq 0,05$ ) per determinare le differenze statisticamente significative tra le strategie saggiate. Quando la distribuzione normale è stata confermata, i dati sono stati testati per l'omogeneità delle varianze secondo il test di Levene ( $P \leq 0,05$ ). Con omogeneità confermata, è stata eseguita l'analisi ANOVA unidirezionale e le medie sono state separate in base al test LSD di Fisher ( $P \leq 0,05$ ). Quando l'omogeneità delle varianze non è stata confermata, è stata eseguita l'analisi di Welch e le medie sono state separate utilizzando il test post hoc di Games-Howell ( $P \leq 0,05$ ). Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software SPSS (Statistical Package for Social Science, versione 20, IBM, Ar-monk, NY, USA) e il software RStudio.

## 8 RISULTATI

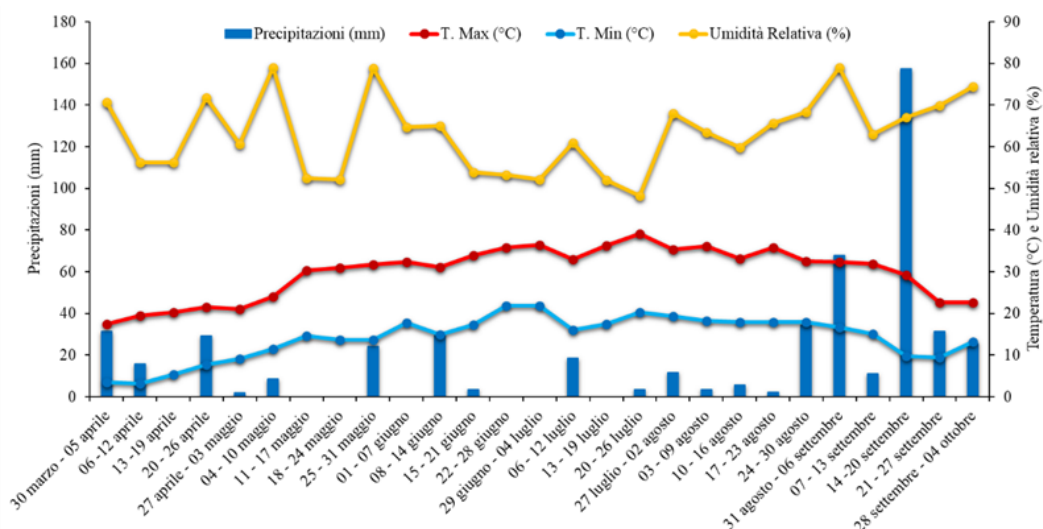
### 8.1 ANDAMENTO METEOROLOGICO STAGIONALE

L'andamento meteorologico stagionale decisamente poco piovoso durante il periodo primaverile-estivo è risultato poco favorevole al manifestarsi della peronospora; ciò nonostante, i pochi eventi di pioggia hanno permesso la comparsa di leggeri sintomi, soprattutto sulle foglie. L'elevata umidità e l'ubicazione del vigneto sperimentale di Ancona hanno invece favorito una diffusione piuttosto importante dell'oidio a differenza della peronospora, sia su foglie che su grappoli. Nel vigneto di Montecarotto una modesta diffusione di *P. viticola* è avvenuta, non tanto per gli eventi piovosi, che nell'entroterra marchigiano sono stati più frequenti, soprattutto in tarda estate, ma più che altro per la zona in cui è ubicato il vigneto. Eventi piovosi estivi ed umidità hanno influito sulla comparsa dei sintomi della muffa grigia ad inizio settembre.

Gli andamenti meteorologici stagionali per Ancona e Montecarotto sono riportati rispettivamente in Figura 18 e Figura 19.



**Figura 18** - Grafico dell'andamento meteorologico stagionale del 2022 nell'area per la prova sperimentale ad Ancona. I dati registrati nel periodo che va dal 23 febbraio al 6 settembre fanno riferimento alla stazione di Camerano (AN). Fonte dati: AMAP.



**Figura 19** - Grafico dell'andamento meteorologico stagionale del 2022 nell'area delle prove sperimentali. I dati sono registrati nel periodo che va dal 30 marzo al 04 ottobre 2022 dalla stazione metereologica di Castelplanio (AN). Fonte dati: AMAP.

## 8.2 VALUTAZIONI DELLE INFEZIONI DELLA PROVA 1

La prova 1 riguarda l'attività antiperonosporica ed antioidica delle diverse strategie sperimentali basate sull'uso di prodotti derivati dalle sostanze di base. Prova condotta nel vigneto ubicato ad Ancona.

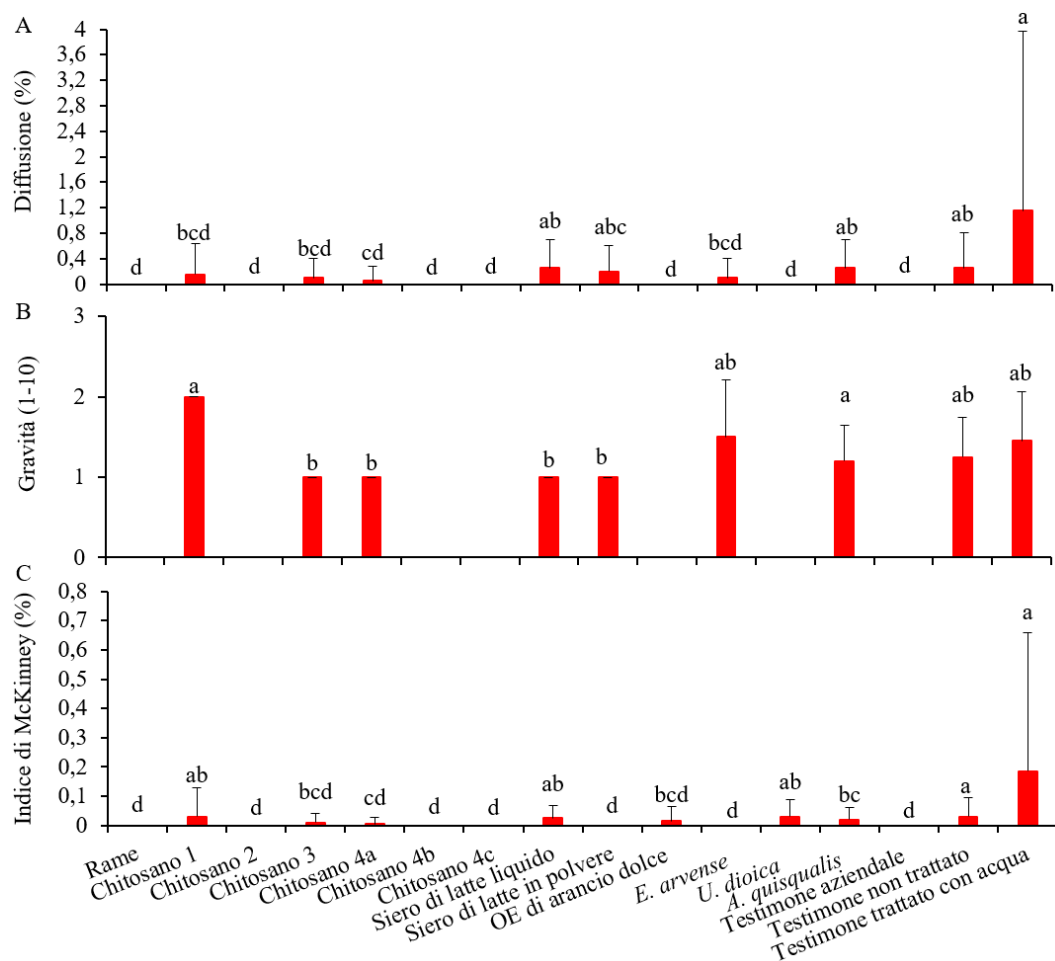
### 8.2.1 Rilievi di peronospora

#### 8.2.1.1 Infezioni sulle foglie

##### Rilievo 1 dell'8 giugno 2022

I primi sintomi di peronospora sono stati individuati nel vigneto nei primi giorni di giugno. In generale, sebbene la pressione della malattia fosse piuttosto bassa, ci sono state delle riduzioni significative tra alcune strategie e i controlli negativi (non trattato e trattato con acqua) secondo la diffusione (Figura 20 A) e l'Indice di McKinney (Figura 20 C). Le strategie che hanno avuto una riduzione della malattia significativa rispetto ai testimoni secondo l'Indice di McKinney sono: rame, chitosano 2, chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c, olio essenziale di arancio dolce, *E. arvensis* e *U. dioica*.

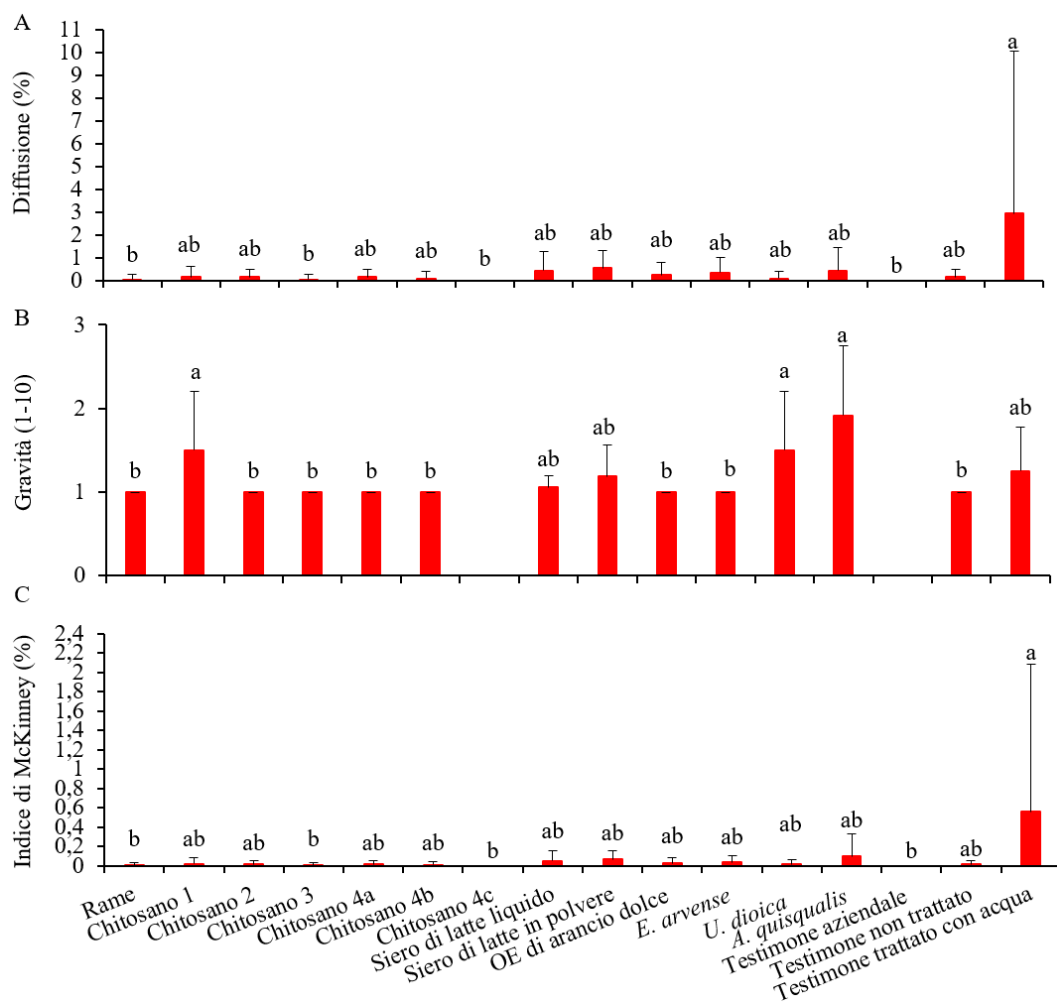
In alcune delle tesi in prova (rame, chitosano2, chitosano 4b, chitosano 4c, olio essenziale di arancio dolce e *U. dioica*) non sono stati rinvenuti sintomi da peronospora. Per quanto riguarda la gravità dei sintomi da peronospora non è stata rilevata alcuna differenza con i testimoni negativi (Figura 20 B).



**Figura 20** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 8 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### ***Rilievo 2 del 14 giugno 2022***

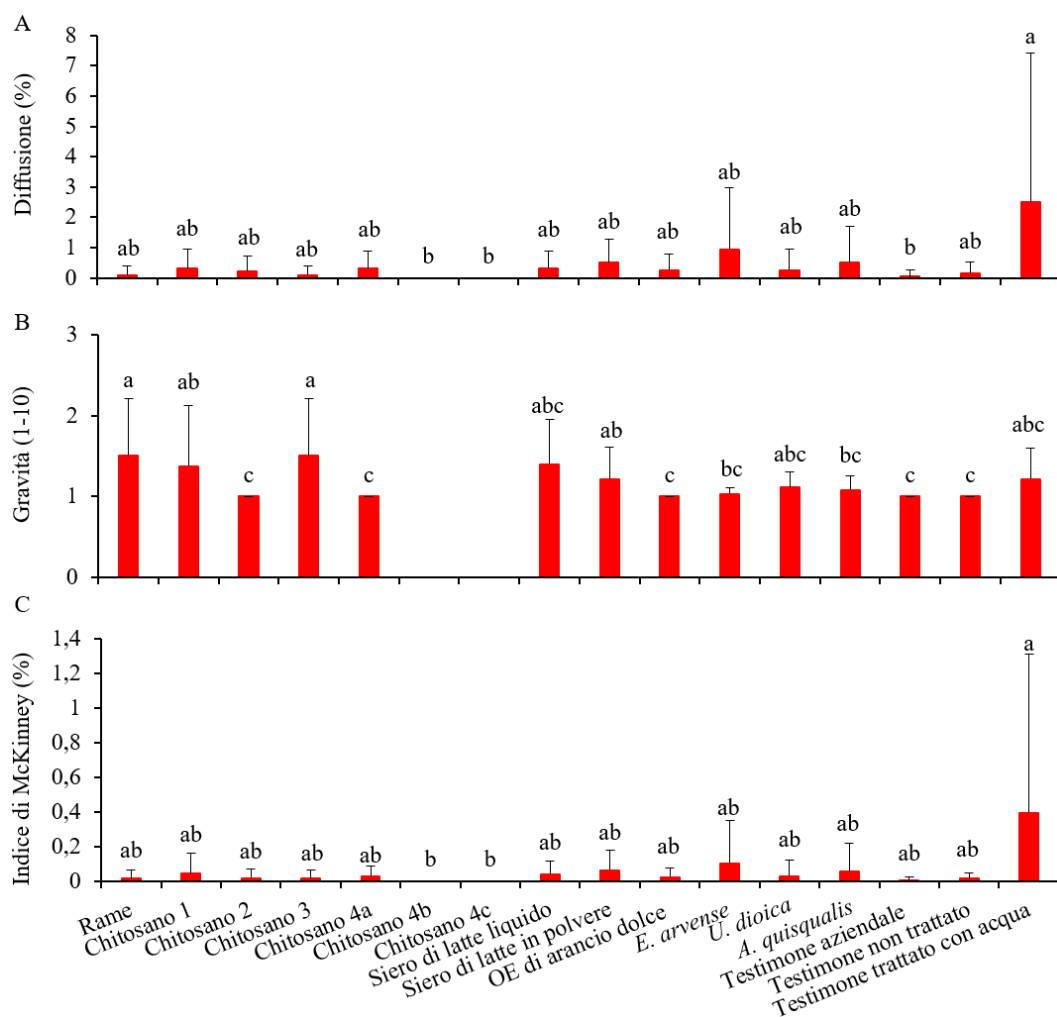
Nel secondo rilievo eseguito è stata rilevata una leggera presenza della malattia, la percentuale della diffusione è stata piuttosto bassa, in linea con il primo rilievo (Figura 21). Ci sono state poche diminuzioni significative di *P. viticola* tra le strategie in prova e i testimoni. Sia per la diffusione che per l'Indice di McKinney (Figura 21 A e C) le strategie che hanno ridotto la peronospora rispetto al testimone trattato con acqua sono: rame, chitosano 3 e chitosano 4c. Quest'ultima tesi in prova (chitosano 4c) non ha manifestato sintomi della malattia al pari del testimone aziendale.



**Figura 21** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 14 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 3 del 28 giugno 2022**

In questo rilievo, la diffusione è stata ancora piuttosto bassa, ma ciò ha permesso comunque di evidenziare alcune differenze significative con il testimone trattato con acqua (Figura 22). Per l'Indice di McKinney, solamente le strategie chitosano 4b e chitosano 4c hanno mostrato una riduzione significativa rispetto al testimone trattato con acqua, esse, infatti, sono state le uniche due tesi che non hanno presentato sintomi. Per il resto delle tesi in prova, sebbene la pressione della malattia sia stata inferiore, non ci sono state delle riduzioni significative (Figura 22 C).

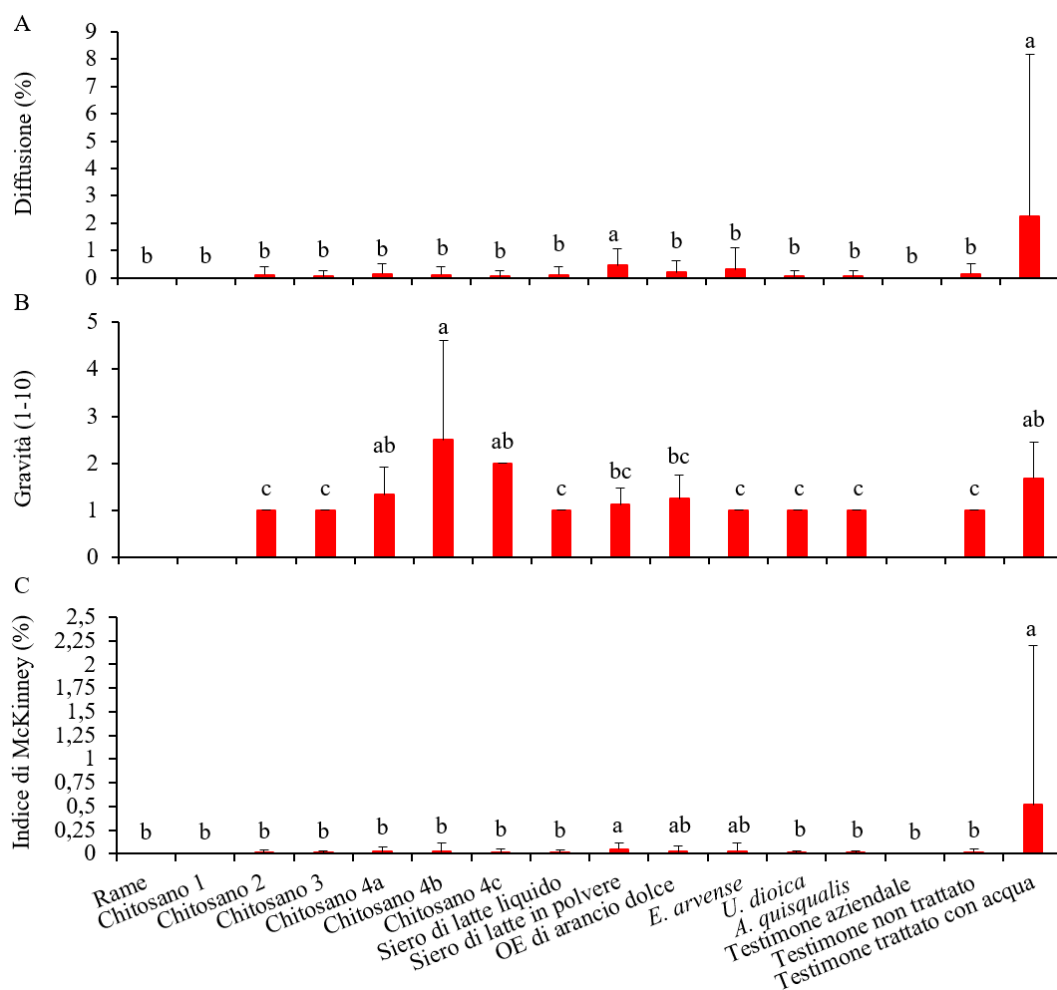


**Figura 22** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 28 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

#### **Rilievo 4 del 13 luglio 2022**

Anche nel quarto rilievo la presenza della malattia è stata abbastanza bassa. Tutte le strategie in prova, tranne il siero in polvere, hanno ridotto la diffusione in maniera significativa rispetto al testimone trattato con acqua (Figura 23 A). Per quanto riguarda la gravità, osservando il grafico e a confronto con il testimone trattato con acqua, la maggior parte delle strategie hanno limitato l'entità delle lesioni causate dalla malattia. Ci sono stati anche casi in cui la gravità non è stata ridotta rispetto al controllo negativo (Figura 23 B). Complessivamente, tutte le strategie, tranne siero in polvere, olio essenziale di arancio dolce ed *E. arvense*, hanno ridotto significativamente l'indice di McKinney rispetto al testimone trattato con acqua (Figura 23C).



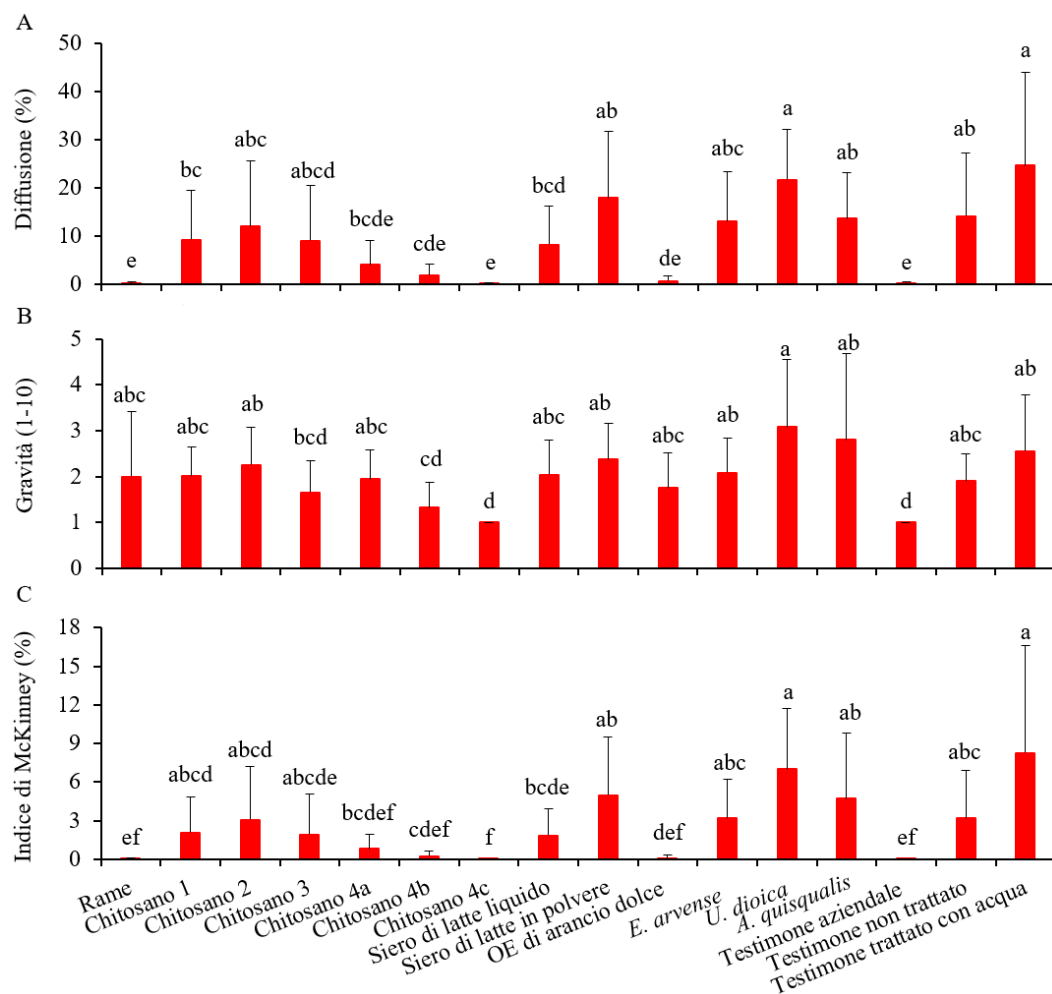


**Figura 23** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 13 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 5 del 3 agosto 2022**

Nel quinto rilievo, la pressione della peronospora è aumentata rispetto ai rilievi precedenti. Osservando il grafico della diffusione (Figura 24 A), rilevanti sono state le strategie rame, chitosano 4b, chitosano 4c e olio essenziale di arancio dolce che hanno ridotto la diffusione della malattia a livello della strategia aziendale. Da sottolineare inoltre, come nel grafico della gravità il chitosano 4b e il chitosano 4c hanno avuto una riduzione della gravità simile a quella del testimone aziendale (Figura 24B). Secondo l'Indice di McKinney (Figura 24 C), l'intensità della malattia è stata ridotta per quasi tutte le strategie adottate; in particolare le strategie che hanno mostrato una significativa riduzione rispetto al testimone negativo sono: chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c, olio essenziale di arancio dolce e siero di latte; inoltre, queste strategie hanno avuto una riduzione paragonabile al rame ed al

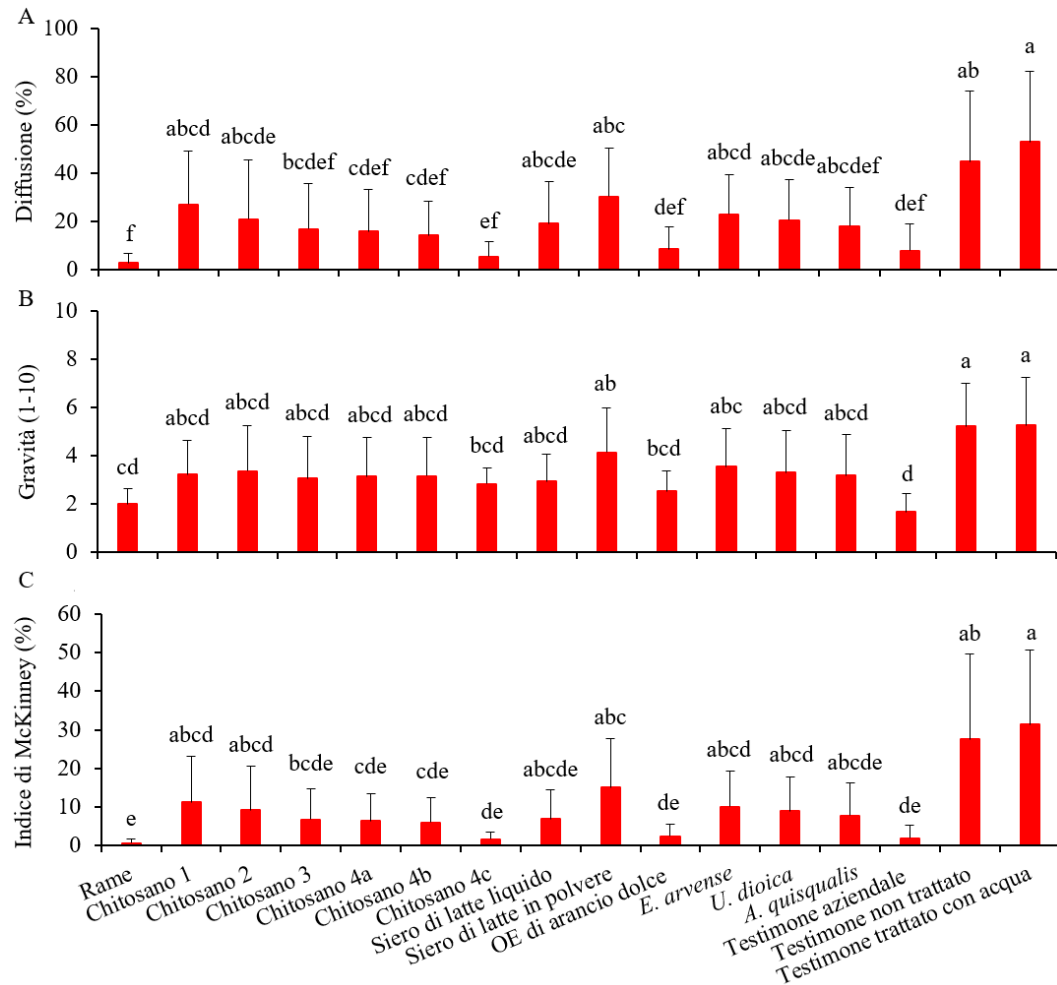
testimone aziendale. Si è distinto particolarmente il chitosano 4c che ha ridotto la malattia ad un livello inferiore rispetto alla strategia aziendale.



**Figura 24** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 3 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 6 del 31 agosto 2022**

Nell'ultimo rilievo la presenza della malattia è aumentata rispetto ai rilievi precedenti. Sia per la diffusione sia per l'Indice di McKinney (Figura 25 A e C) le seguenti strategie saggiate hanno avuto una riduzione della malattia significativa rispetto ai testimoni negativi: chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c e olio essenziale di arancio dolce. Da sottolineare come il chitosano 4c e l'olio essenziale di arancio dolce abbiano avuto dei risultati simili al rame ed al testimone aziendale. Per quanto riguarda la gravità, rame, chitosano 4c e olio essenziale di arancio dolce hanno mostrato un contenimento significativo dell'entità delle lesioni rispetto ai controlli negativi e non sono risultati significativi con la strategia aziendale (Figura 25 B).



**Figura 25** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 31 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.2.1.2 Infezioni sui grappoli

#### Rilievo 1 dell'8 giugno 2022 e rilievo 2 del 14 giugno 2022

I sintomi della peronospora sui grappoli non sono stati rilevati, in quanto non presenti nelle osservazioni effettuate in campo. I sintomi da *P. viticola* sui grappoli sono stati osservati dal terzo rilievo del 28 giugno.

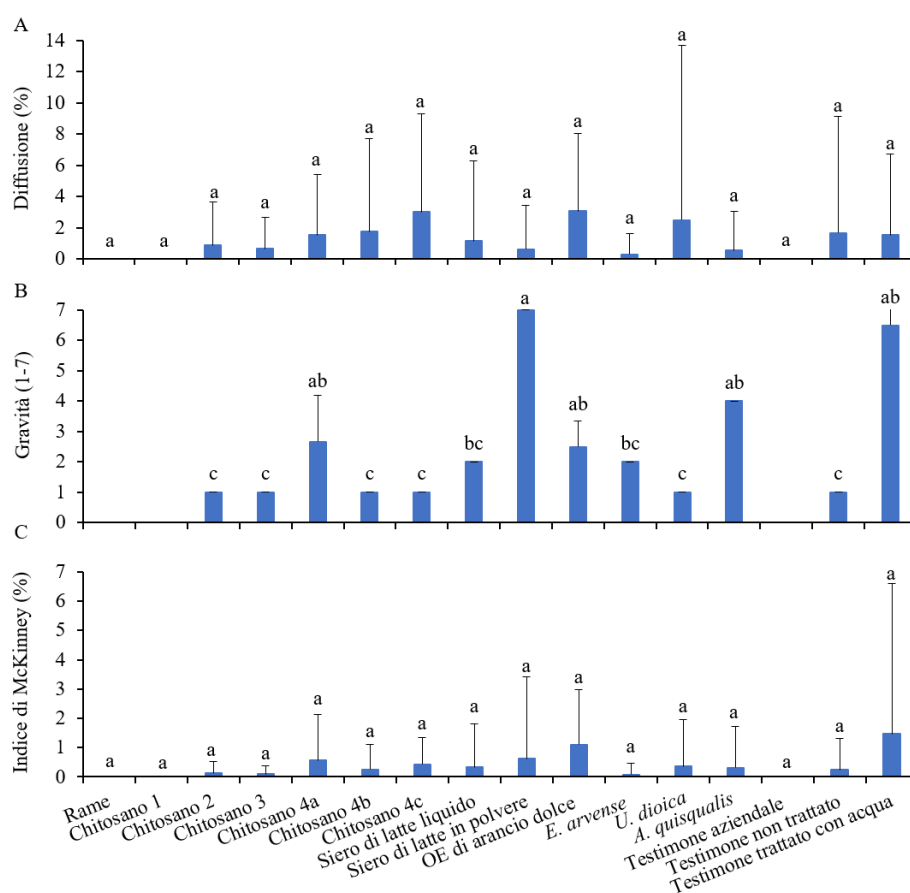
#### Rilievo 3 del 28 giugno 2022

I primi sintomi da peronospora sono comparsi alla fine di giugno e sono stati osservati nel terzo rilievo condotto in campo. Non c'è stata riduzione statisticamente significativa per l'Indice di McKinney che però è stato ridotto per tutte le strategie nelle quali sono stati osservati dei sintomi. Sebbene la pressione della malattia non abbia portato a riduzioni significative, le strategie che sono risultate essere esenti da sintomi sui grappoli sono le seguenti: rame, chitosano 1, chitosano 3, chitosano 4b, *U. dioica*, *A. quisqualis*, siero in polvere, testimone non

trattato e testimone aziendale. A causa delle condizioni poco favorevoli che non hanno facilitato la diffusione della malattia, essa nel corso del terzo rilievo, è risultata molto bassa; sui grappoli dei testimoni è stata inferiore all'1% e questa condizione non ha permesso di rilevare delle differenze significative statisticamente tra le strategie adottate.

#### **Rilievo 4 del 13 luglio 2022**

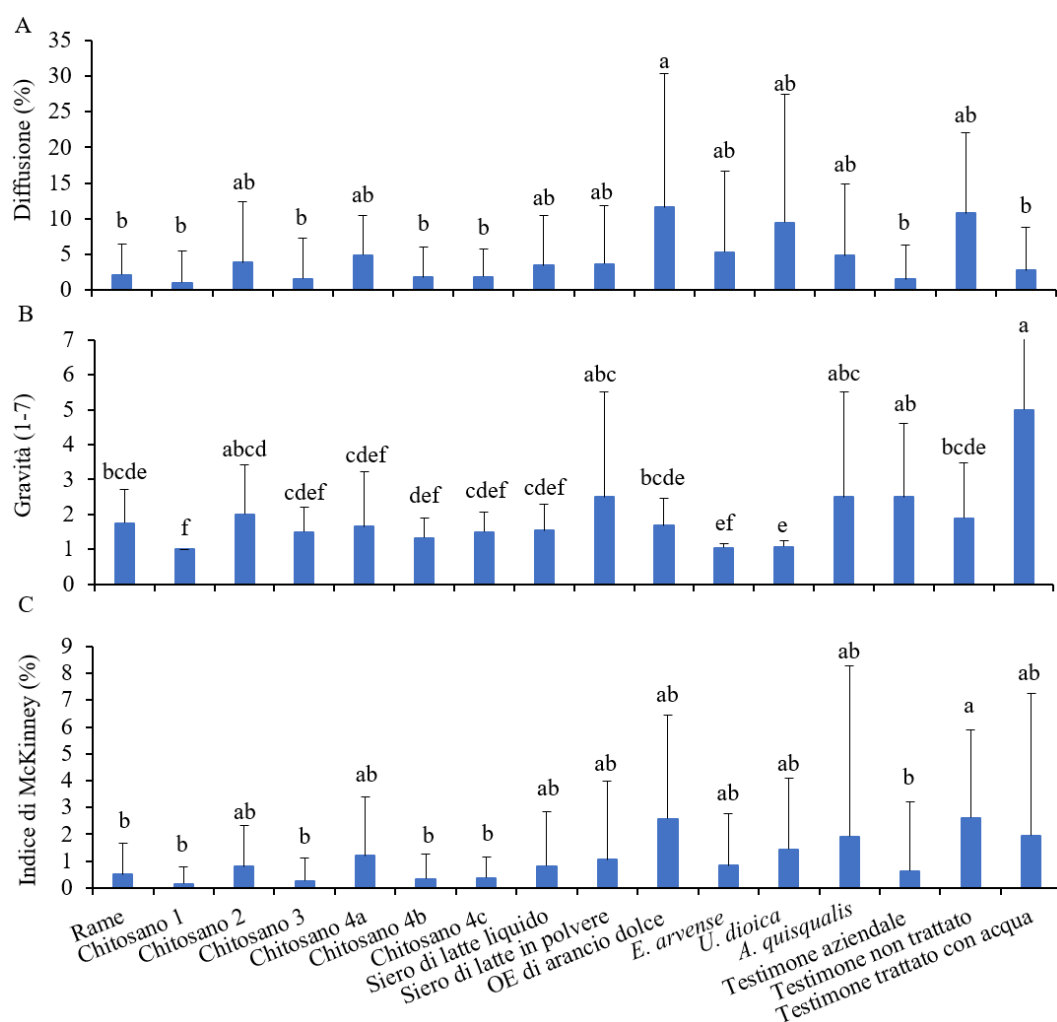
Nel quarto rilievo, la diffusione della malattia è rimasta piuttosto bassa, sono però aumentate le strategie con sintomi da peronospora sui grappoli. Tuttavia, non ci sono state delle differenze significative tra le strategie e i testimoni negativi per l'Indice di McKinney e per la diffusione (Figura 26 A e C). Per quanto riguarda la gravità, le strategie in prova con sintomi, che hanno ridotto significativamente l'entità delle lesioni rispetto al testimone trattato con acqua, sono: chitosano 2, chitosano 3, chitosano 4b, chitosano 4c e *U. dioica* (Figura 26 B).



**Figura 26** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 13 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ) per la gravità e mediante il test di Kruskal-Wallis ( $P \leq 0,05$ ) per diffusione e Indice di McKinney.

### Rilievo 5 del 3 agosto 2022

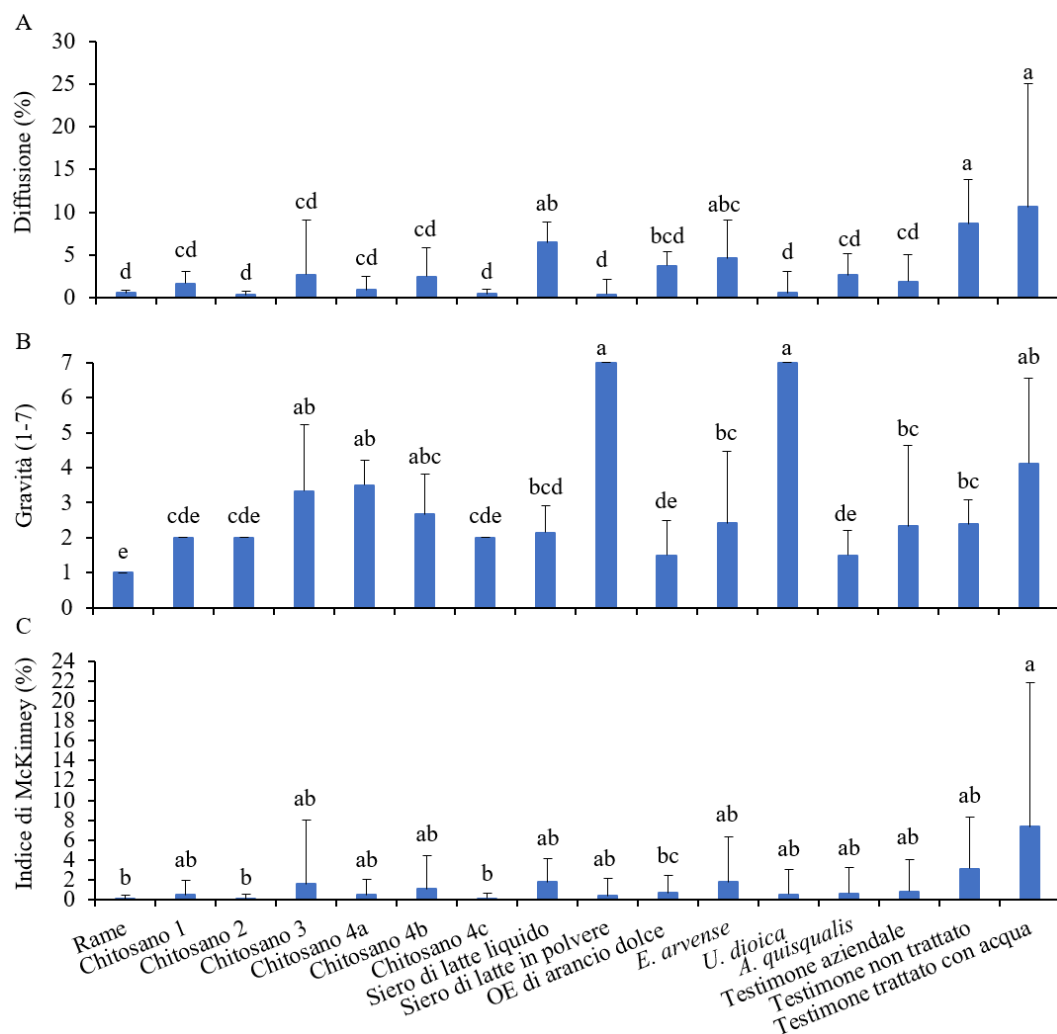
In questo rilievo la pressione della malattia è aumentata, riportando dei sintomi da *P. viticola* sui grappoli in tutte le strategie saggiate, testimoni compresi. La diffusione della malattia è risultata limitata in tutte le tesi rispetto al testimone non trattato senza riportare significatività (Figura 27 A). Osservando il grafico della gravità (Figura 27 B), molte strategie hanno ridotto il danno in maniera significativa; nello specifico chitosano 1, *E. arvense*, *U. dioica*, chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c, siero di latte ed olio essenziale di arancio dolce. Secondo l'Indice di McKinney c'è stata una riduzione significativa, nello specifico: il chitosano 1, il chitosano 3, il chitosano 4b ed il chitosano 4c hanno ridotto la malattia rispetto al testimone negativo (Figura 27 C).



**Figura 27** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 3 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### ***Rilievo 6 del 31 agosto 2022***

Nell'ultimo rilievo sui grappoli la malattia è stata osservata su tutte le strategie in prova. Per quanto riguarda la diffusione, è possibile notare dal grafico che per tutte le tesi c'è stata una riduzione di quest'ultima rispetto ai testimoni negativi, ad eccezione di siero in polvere ed *U. dioica*. La maggior parte hanno avuto diffusione simile al testimone aziendale, con il quale non sono state evidenziate differenze (Figura 28 A). Queste strategie sono: rame, chitosano 2, chitosano 4a, chitosano 4c, siero in polvere e *U. dioica*. Il grafico della gravità invece ha riportato una riduzione dell'entità delle lesioni da peronospora, ad eccezione delle strategie *U. dioica* e siero in polvere, ed in particolare hanno mostrato una diminuzione significativa il rame, il chitosano 1, il chitosano 2, il chitosano 4c, l'olio essenziale di arancio dolce ed *A. quisqualis* (Figura 28 B). Secondo l'Indice di McKinney, confrontando le strategie con i testimoni non trattato e trattato con acqua, c'è stata una riduzione di quest'ultimo, anche se con delle differenze non sempre significative. Le strategie che hanno ridotto la malattia in maniera significativa rispetto al testimone trattato con acqua sono: il chitosano 2 e il chitosano 4c. Queste ultime hanno avuto una riduzione simile al rame (Figura 28 C).



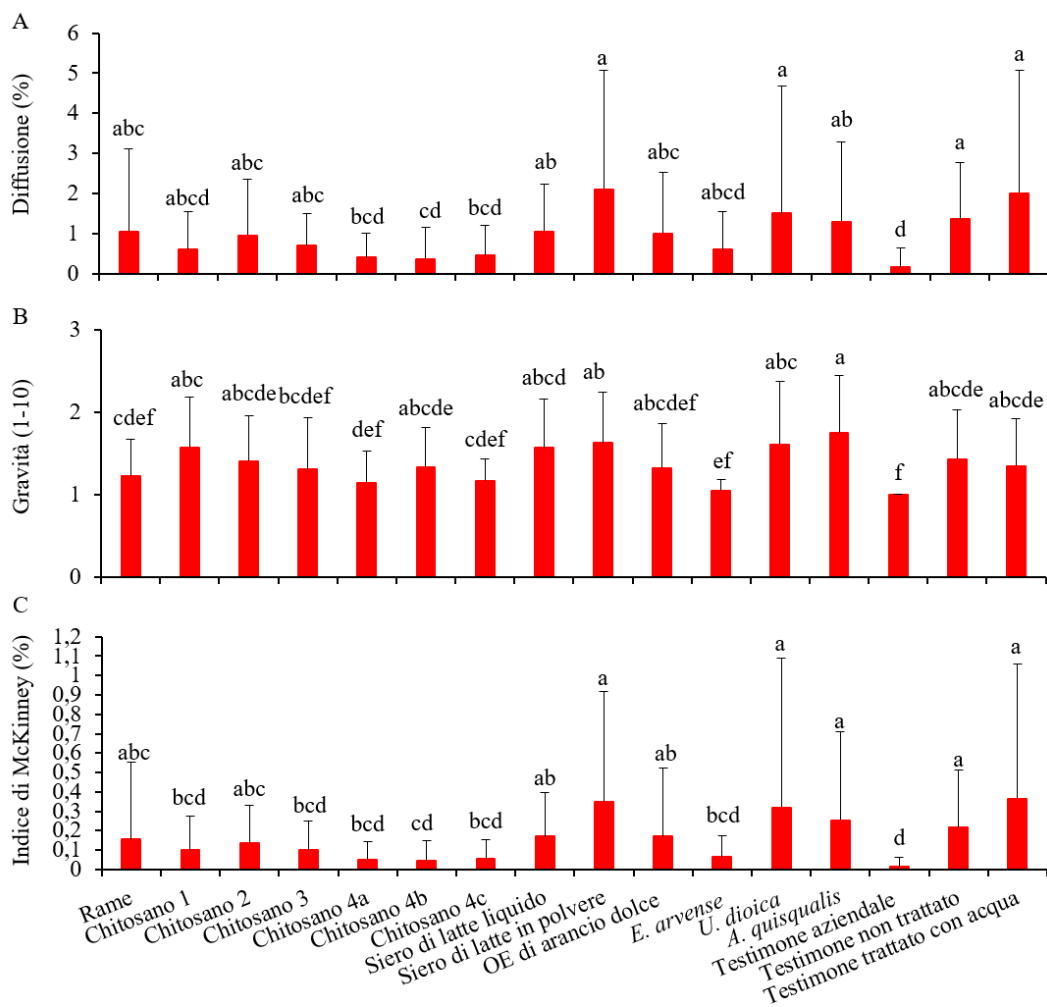
**Figura 28** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 31 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

## 8.2.2 Rilievi di oidio

### 8.2.2.1 Infezioni sulle foglie

#### Rilievo 1 dell'8 giugno 2022

I primi sintomi dell'oidio si sono manifestati nella prima settimana di giugno. La diffusione è risultata essere piuttosto bassa, con valori massimi intorno al 2/3% nel testimone trattato con acqua e nella strategia del siero in polvere. Le strategie che hanno ridotto la diffusione in modo significativo rispetto ai testimoni negativi sono chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c (Figura 29 A). Osservando il grafico dell'Indice di McKinney, è avvenuta una riduzione di quest'ultimo per gran parte delle strategie saggiate rispetto al testimone trattato con acqua. Nello specifico, il chitosano 1, il chitosano 3, il chitosano 4a, il chitosano 4b, il chitosano 4c ed *E. arvense* hanno mostrato una riduzione significativa rispetto ai due testimoni negativi (Figura 29 C).

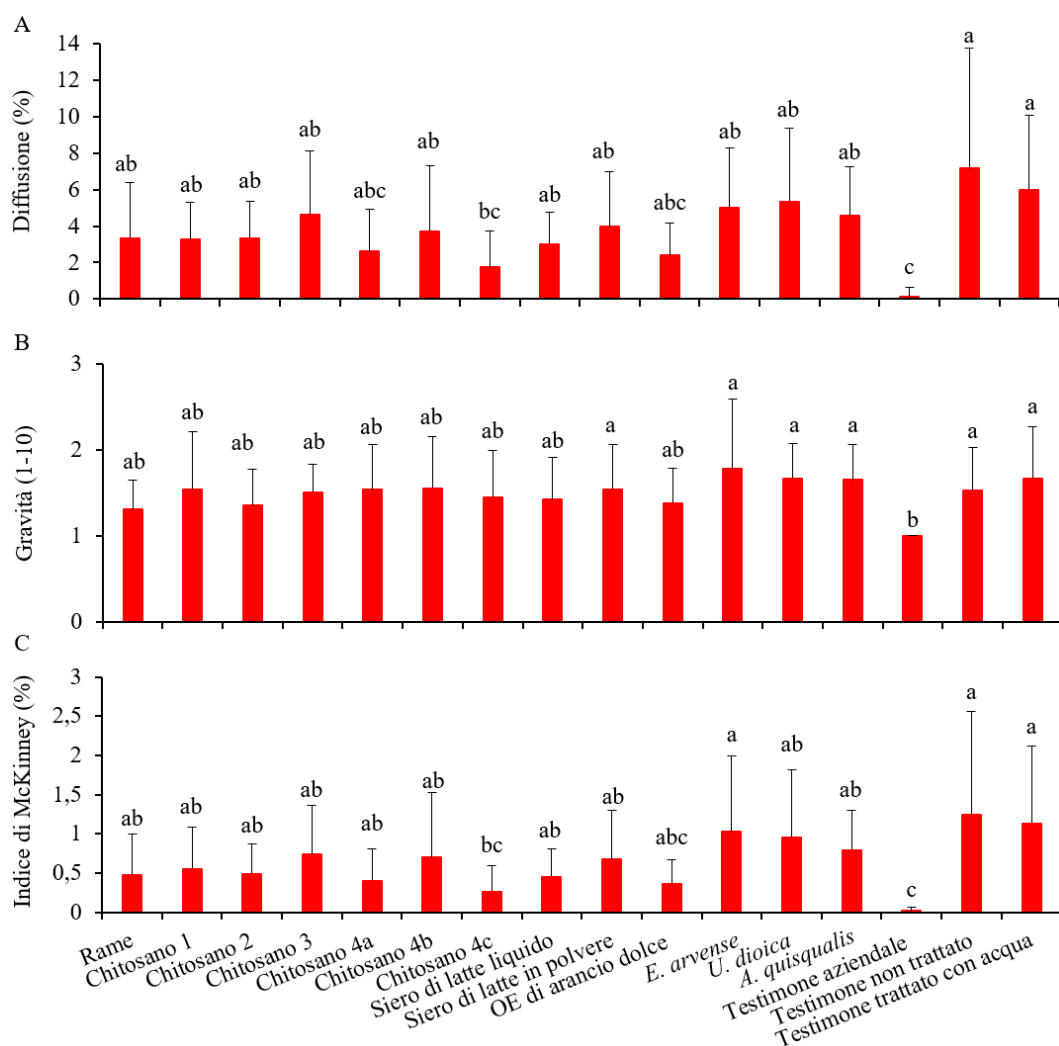


**Figura 29** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 8 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 2 del 14 giugno 2022**

Nel secondo rilievo la pressione della malattia è aumentata. Sia per la diffusione che per l'Indice di McKinney, il chitosano 4c ha diminuito significativamente la pressione della malattia rispetto ai testimoni negativi, per le altre strategie non ci sono state riduzioni significative, sebbene la malattia sia risultata essere più contenuta (Figura 30). Per la gravità non ci sono state differenze.



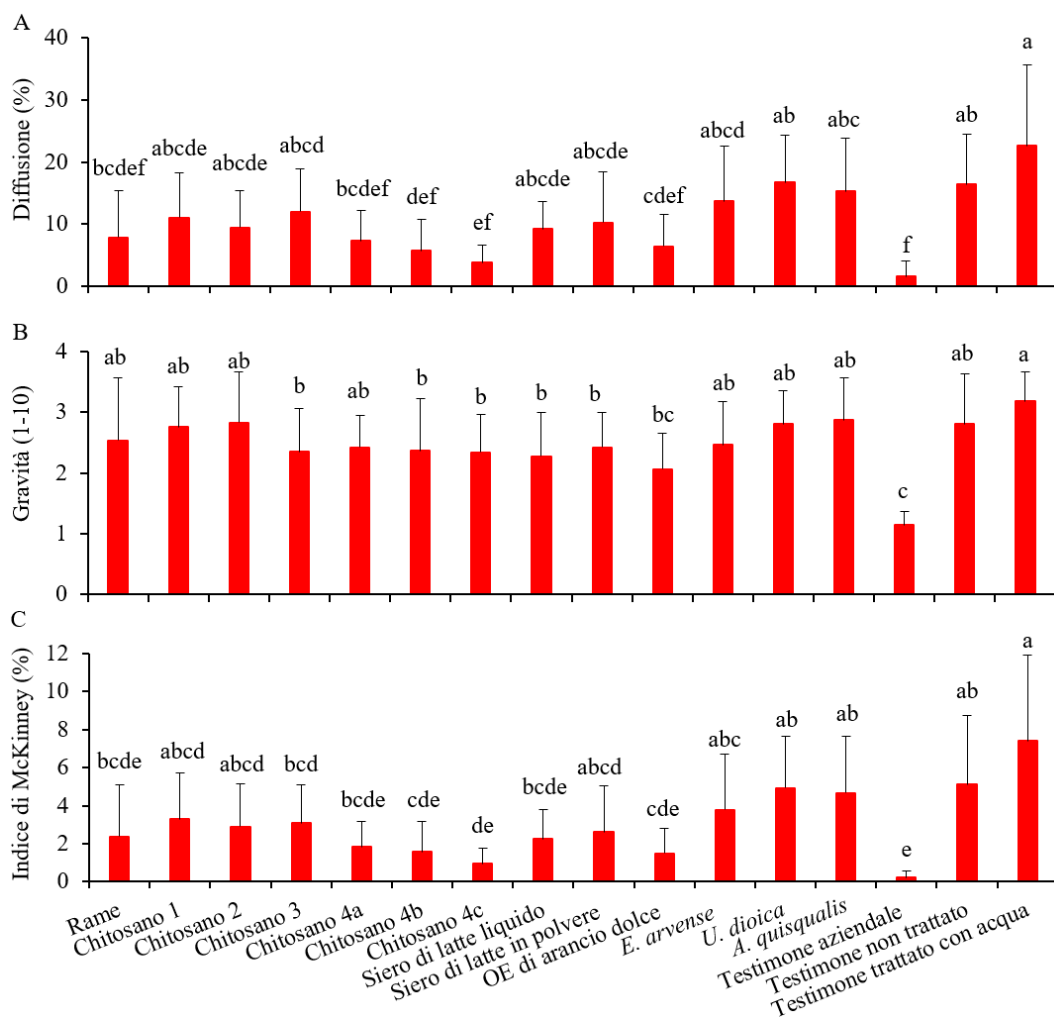


**Figura 30** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 14 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 3 del 28 giugno 2022**

Nel terzo rilievo, svolto in data 28 giugno, è stato rilevato un aumento della malattia. Per quanto riguarda la diffusione, il valore più alto si è manifestato per il testimone trattato con acqua, intorno al 20%. Le strategie che hanno avuto una riduzione significativa della diffusione rispetto ai testimoni negativi sono: rame, chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c, siero di latte ed olio essenziale di arancio dolce (Figura 31A). Osservando il grafico della gravità, tutte le strategie hanno presentato una diminuzione dell'entità delle lesioni. La strategia in prova a base di olio essenziale di arancio dolce non presenta inoltre differenze con il testimone aziendale (Figura 31 B). L'Indice di McKinney è stato ridotto per tutte le tesi in prova; quelle che hanno mostrato una riduzione statisticamente significativa dell'oidio rispetto al testimone negativo sono: chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c, siero di latte ed olio essenziale di arancio dolce.

Tutte le strategie sopra elencate hanno contenuto la malattia a livello del rame e del testimone aziendale (Figura 31 C).

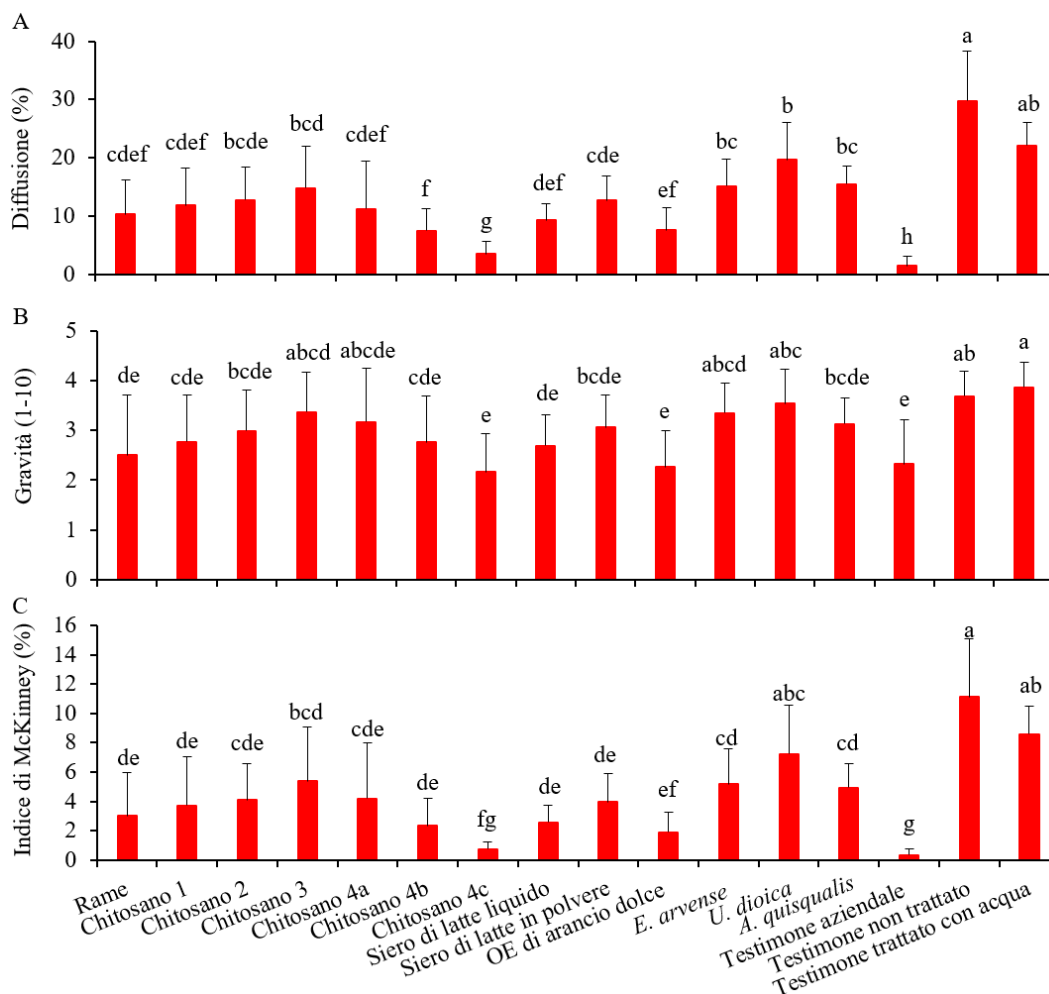


**Figura 31** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 28 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

#### **Rilievo 4 del 13 luglio 2022**

Nel quarto rilievo, la massima presenza della malattia è stata rilevata nel testimone non trattato. Osservando il grafico della gravità, c'è stata una riduzione dell'entità delle lesioni per tutte le strategie in prova rispetto al testimone trattato con acqua e quello non trattato. Il chitosano 4c e l'olio essenziale di arancio dolce hanno manifestato una gravità simile al controllo positivo (Figura 32 B). Per quanto riguarda l'Indice di McKinney, come per la diffusione, tutte le strategie in prova hanno ridotto l'intensità della malattia rispetto al testimone non trattato, quest'ultimo è risultato essere il testimone negativo con la percentuale dell'indice più alta. Tutte le strategie, esclusa *U. dioica*, hanno manifestato una riduzione

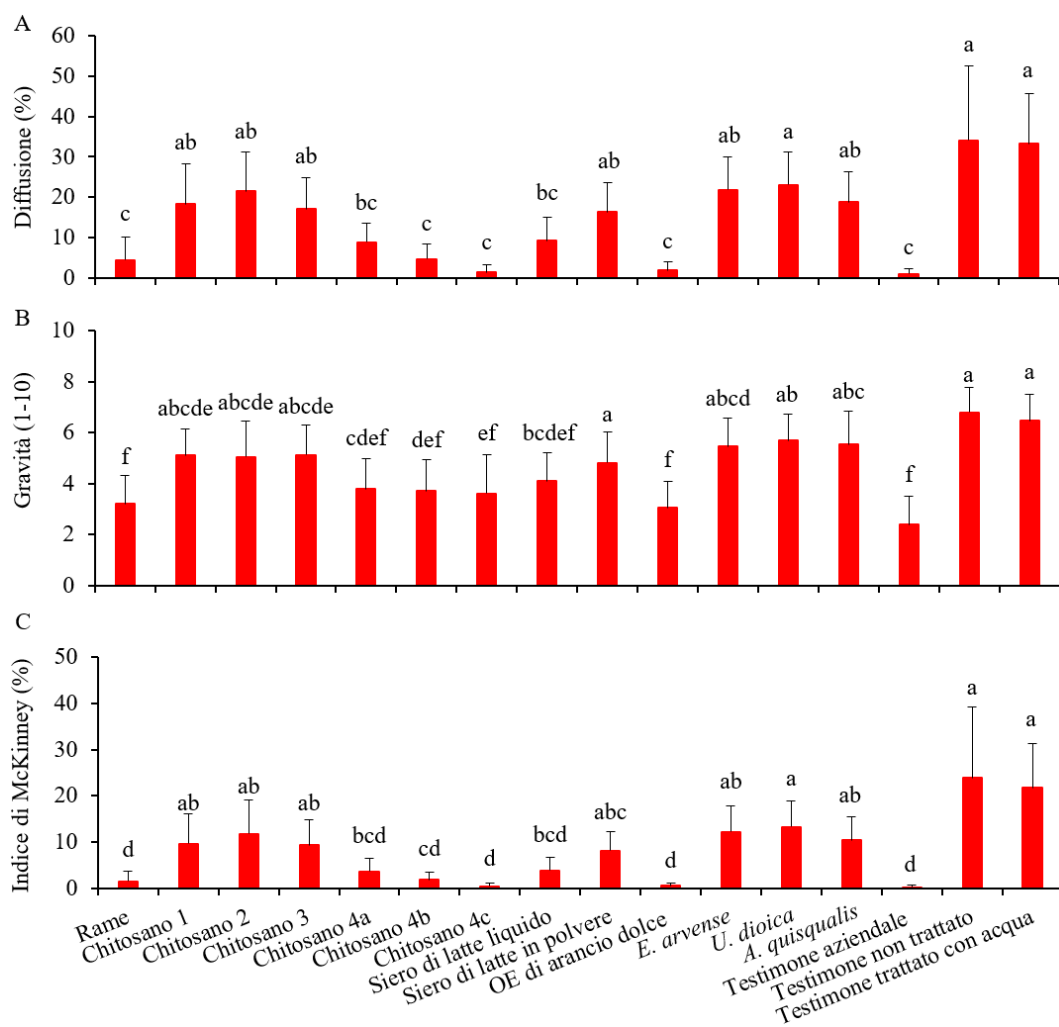
statisticamente significativa con il testimone negativo. Il chitosano 4c, inoltre, ha abbassato l'Indice di McKinney a livello della strategia aziendale (Figura 32 C).



**Figura 32** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 13 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Games-Howell ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 5 del 3 agosto 2022**

Nel quinto rilievo la presenza maggiore della malattia è stata rilevata nel testimone non trattato con una percentuale di circa 30%. Per tutte le strategie in prova, osservando tutti i grafici (Indice di McKinney, diffusione e gravità), è stata rilevata una riduzione della malattia; le strategie statisticamente significative rispetto ai testimoni negativi sono il chitosano 4a, il chitosano 4b, il chitosano 4c, il siero di latte e l'olio essenziale di arancio dolce. Tutte le strategie elencate precedentemente hanno mostrato una diminuzione dei sintomi dell'oidio simile a ciò che è stato rilevato per il testimone aziendale e per il rame (Figura 33).

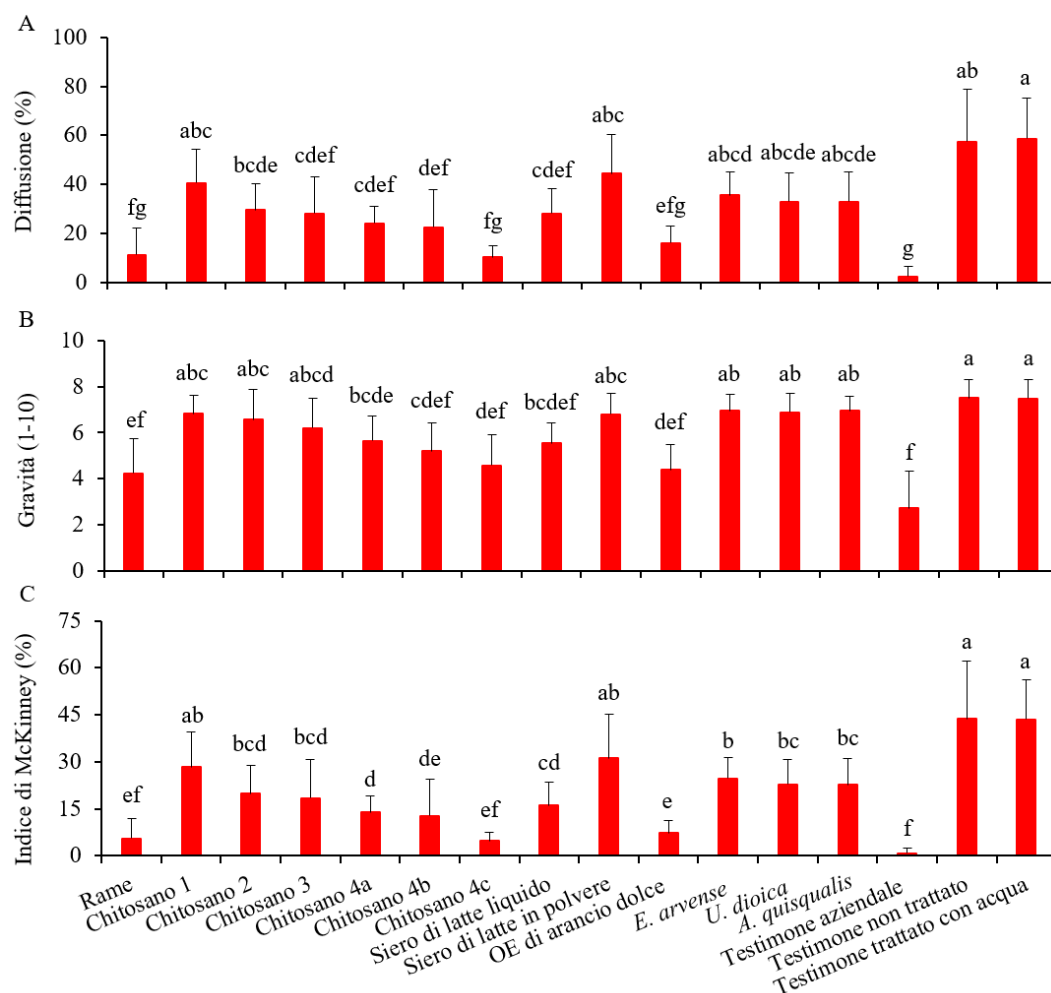


**Figura 33** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 3 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

#### **Rilievo 6 del 31 agosto 2022**

Nell'ultimo rilievo effettuato nei confronti dell'oidio, sulle foglie è stata rilevata una buona presenza della malattia; i valori percentuali maggiori si sono manifestati sul testimone non trattato e su quello trattato con acqua. In generale, tutte le strategie in prova hanno ridotto la malattia, la maggior parte con differenze significative rispetto ai testimoni negativi. Per quanto riguarda la diffusione le strategie che hanno ridotto quest'ultima al di sotto del 20% sono: il chitosano 4c, olio essenziale di arancio dolce; le tesi in precedenza elencate hanno avuto un contenimento simile al rame ed al testimone aziendale (Figura 34 A). Il grafico della gravità per tutte le strategie ha manifestato dei valori inferiori rispetto ai testimoni negativi; le tesi che hanno ridotto l'entità delle lesioni in maniera significativa sono: rame, chitosano 4a, chitosano 4b, chitosano 4c e olio essenziale di arancio dolce (Figura 34 B). Osservando il grafico dell'Indice di McKinney (Figura 34 C), tutte le strategie,

eccetto chitosano 1 e siero in polvere, hanno contenuto la malattia in maniera significativa rispetto ai testimoni negativi. In particolare, la riduzione operata dal chitosano 4c non ha portato a differenze significative con il rame e con il testimone aziendale.



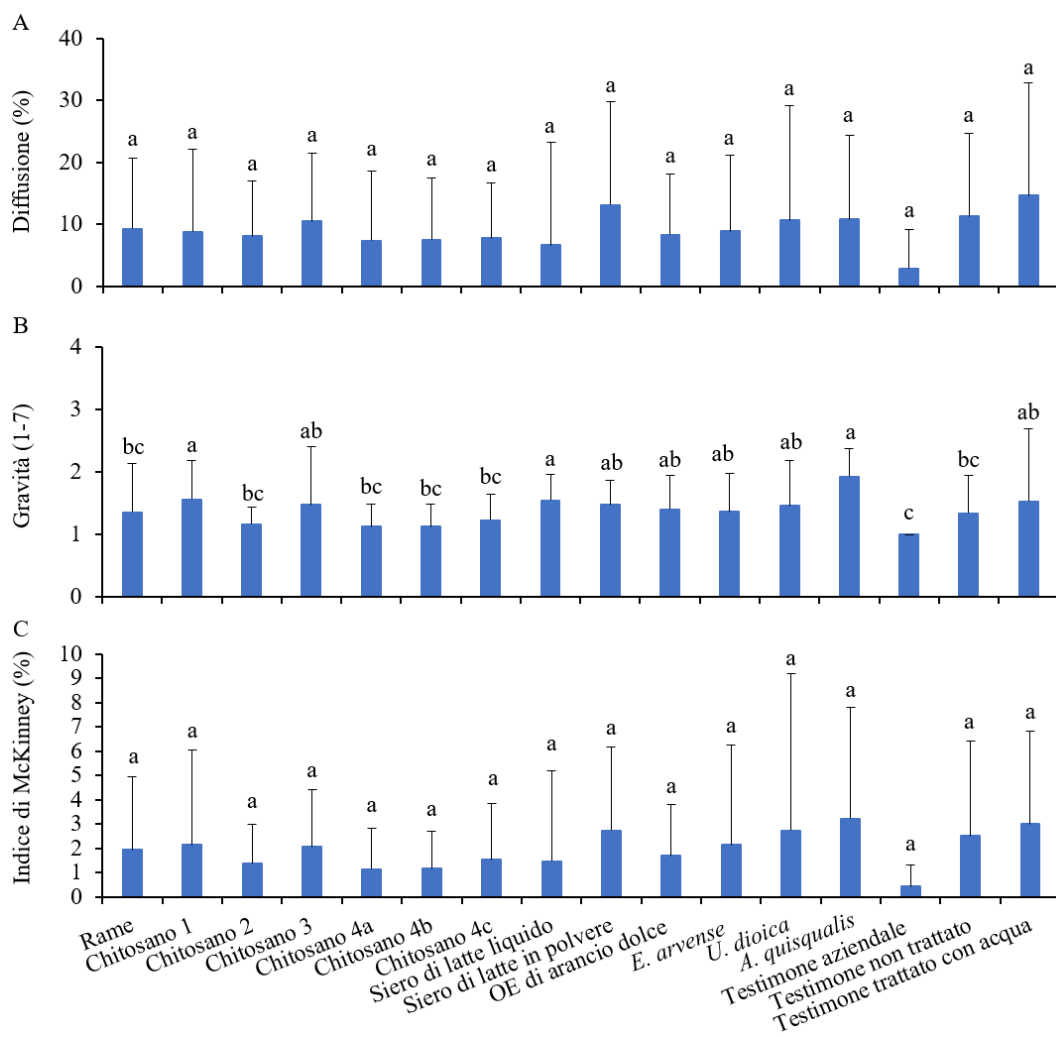
**Figura 34** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-10) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto in data 31 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ) per la gravità e per la diffusione, mentre per l'Indice di McKinney è stata valutata mediante il test di Games-Howell ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.2.2.2 Infezioni sui grappoli

#### Rilievo 1 dell'8 giugno 2022

I primi sintomi dell'oidio sui grappoli si sono manifestati nei primi giorni di giugno, con una presenza della malattia abbastanza rilevante. La diffusione e l'Indice di McKinney, tuttavia, non hanno riportato riduzioni significative. In entrambi i grafici, i valori percentuali maggiori sono stati riscontrati nei testimoni non trattato e trattato con acqua, mentre il valore più basso si è manifestato per il testimone

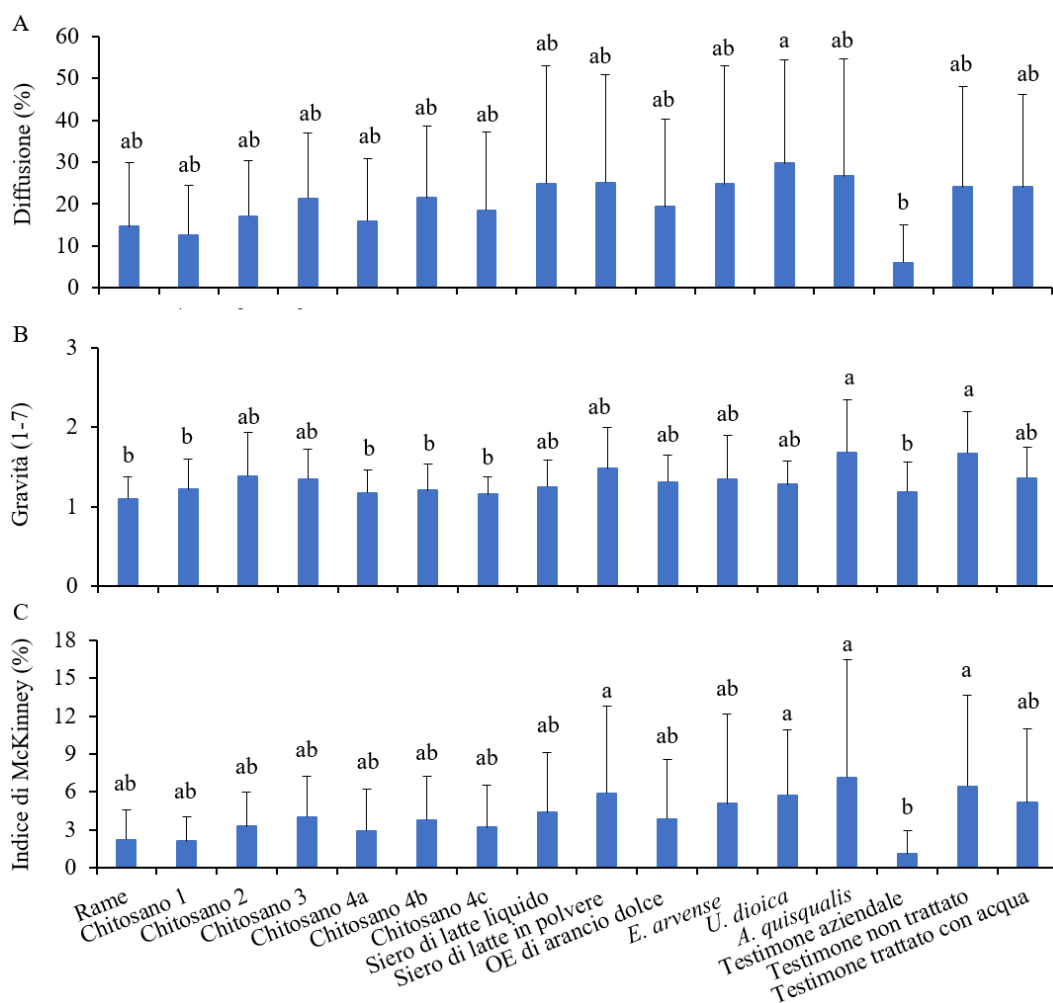
aziendale. Nella gravità non ci sono state riduzioni significative tra le strategie in prova e i testimoni negativi (Figura 35).



**Figura 35** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 8 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ) per la gravità, mentre per la diffusione e l'Indice di McKinney è stata valutata mediante il test di Kruskal-Wallis ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 2 del 14 giugno 2022**

Nel secondo rilievo, svolto sempre nel mese di giugno, la pressione della malattia è aumentata. Tuttavia, nei grafici della diffusione e dell'Indice di McKinney non ci sono state riduzioni significative della malattia rispetto ai testimoni negativi. Per la gravità dei sintomi, rame, chitosano 1, chitosano 4a, chitosano 4b e chitosano 4c hanno ridotto significativamente l'entità dei danni rispetto al testimone non trattato (Figura 36 B).

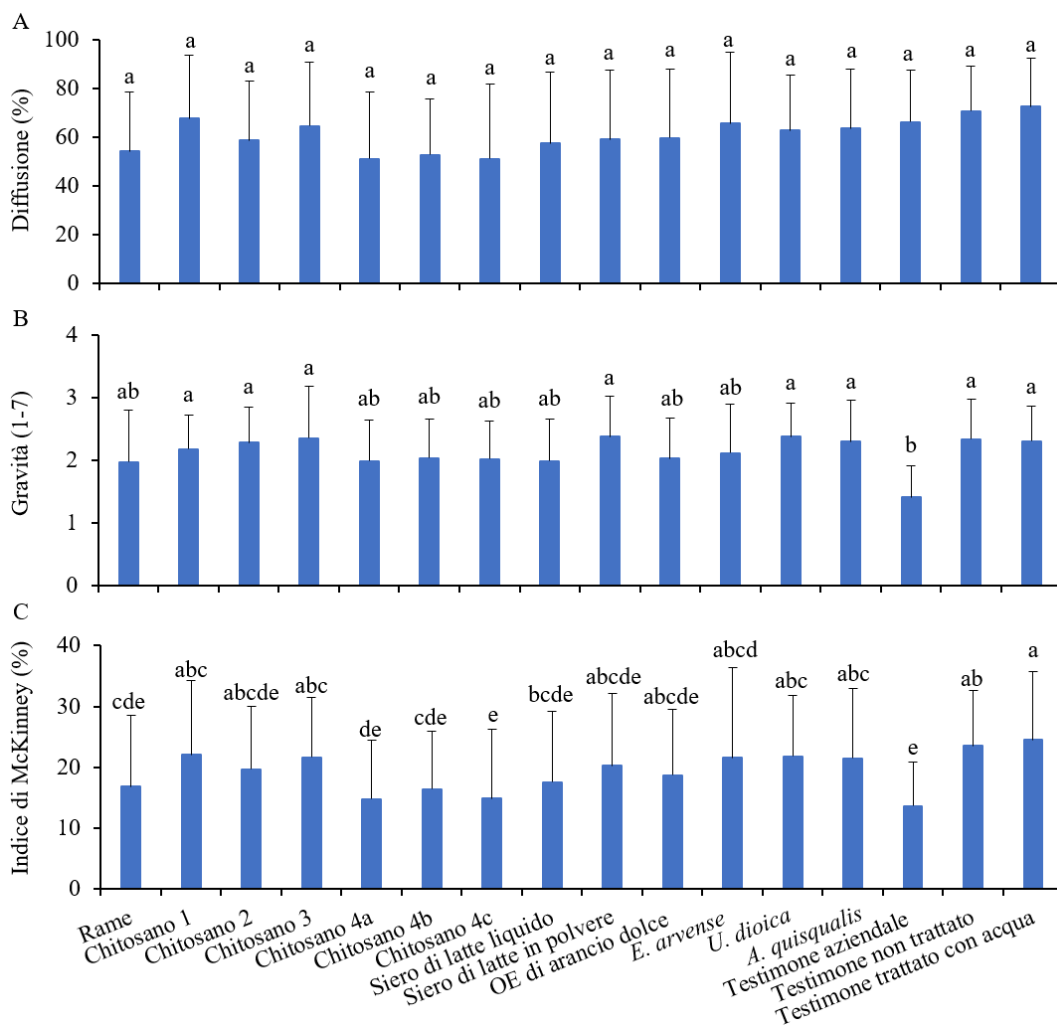


**Figura 36** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 14 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### **Rilievo 3 del 28 giugno 2022**

La pressione della malattia nel terzo rilievo, svolto a fine giugno, è aumentata rispetto ai due precedenti rilievi. Il grafico della diffusione per l'oidio non ha manifestato riduzioni significative. Il valore percentuale della diffusione è compreso tra il 45% e il 65% per tutte le tesi in prova, testimoni (positivo e negativo) compresi (Figura 37 A). Per quanto riguarda la gravità, come per la diffusione, c'è un discreto equilibrio tra gli istogrammi delle varie strategie; da un punto di vista statistico, ad eccezione del testimone aziendale, tutte le strategie non hanno evidenziato riduzioni dei danni con il testimone non trattato e con quello trattato con acqua. (Figura 37 B). Osservando il grafico dell'Indice di McKinney per tutte le strategie in prova è stato ridotto l'indice rispetto al testimone trattato con acqua. Nello specifico, hanno diminuito l'intensità della malattia significativamente

il chitosano 2, il chitosano 4a, il chitosano 4b, il chitosano 4c ed il siero di latte (figura 37 C).



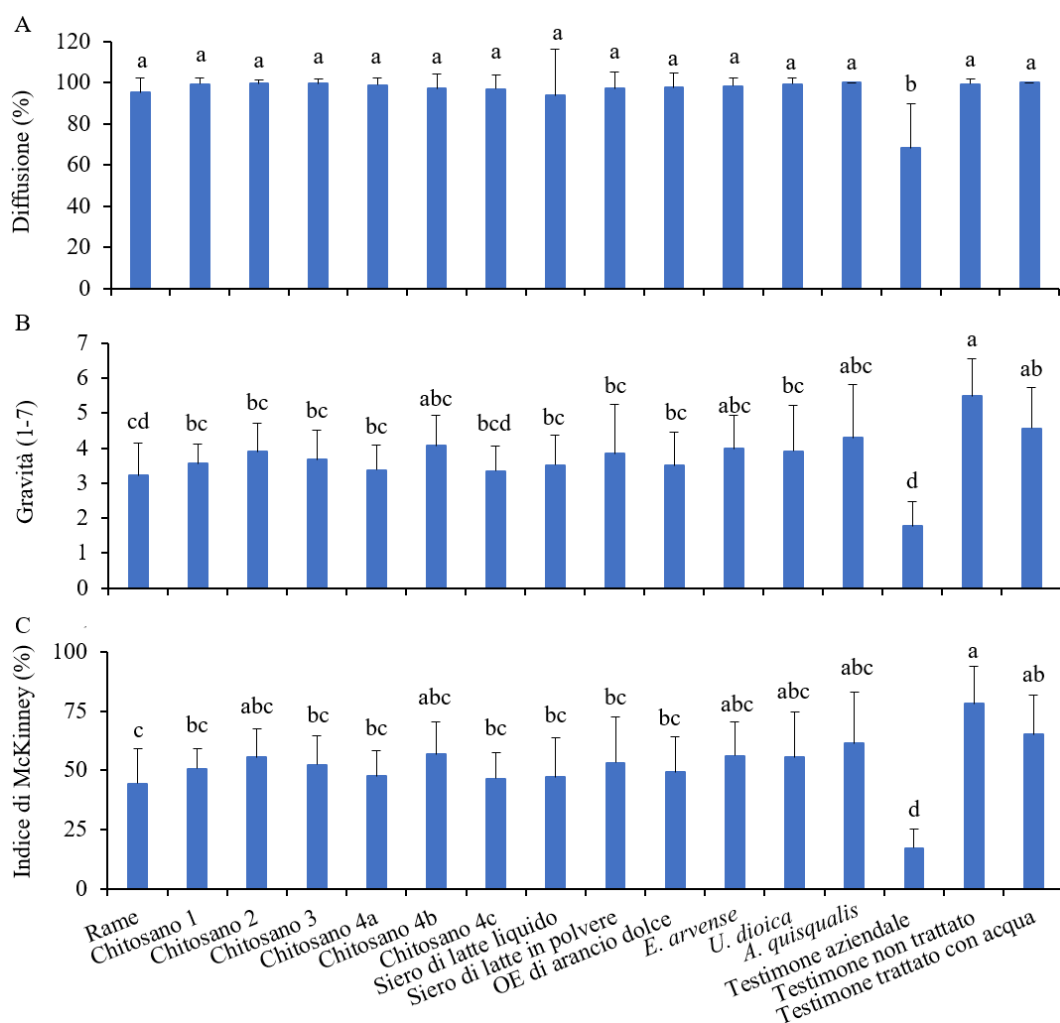
**Figura 37** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 28 giugno 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ) per la gravità, mentre per la diffusione è stata valutata mediante il test di Kruskal-Wallis ( $P \leq 0,05$ ) e per l'indice di McKinney attraverso il test di Levene ( $P \leq 0,05$ ).

#### **Rilievo 4 del 13 luglio 2022**

Nel quarto rilievo la pressione della malattia è risultata essere molto alta. I valori della diffusione sono vicini al 100% di malattia per tutte le strategie in prova, ad eccezione del testimone aziendale che ha mantenuto una diffusione intorno al 60% (Figura 38 A). Osservando il grafico della gravità, è possibile notare come tutte le strategie abbiano ridotto l'entità delle lesioni in maniera significativa, ad eccezione del chitosano 4b, di *E. arvense* e di *A. quisqualis*. È interessante inoltre osservare come la strategia chitosano 4c abbia avuto una diminuzione comparabile a quella



dell'aziendale e del rame (Figura 38 B). Il grafico per l'Indice di McKinney riporta una riduzione di tutte le tesi in prova. Le strategie con una riduzione significativa rispetto al testimone non trattato sono: rame, chitosano 1, chitosano 3, chitosano 4a, chitosano 4c, siero di latte, siero in polvere ed olio essenziale di arancio dolce. Tuttavia, nessuna delle strategie ha ridotto l'indice a livello del testimone aziendale (Figura 38 C).

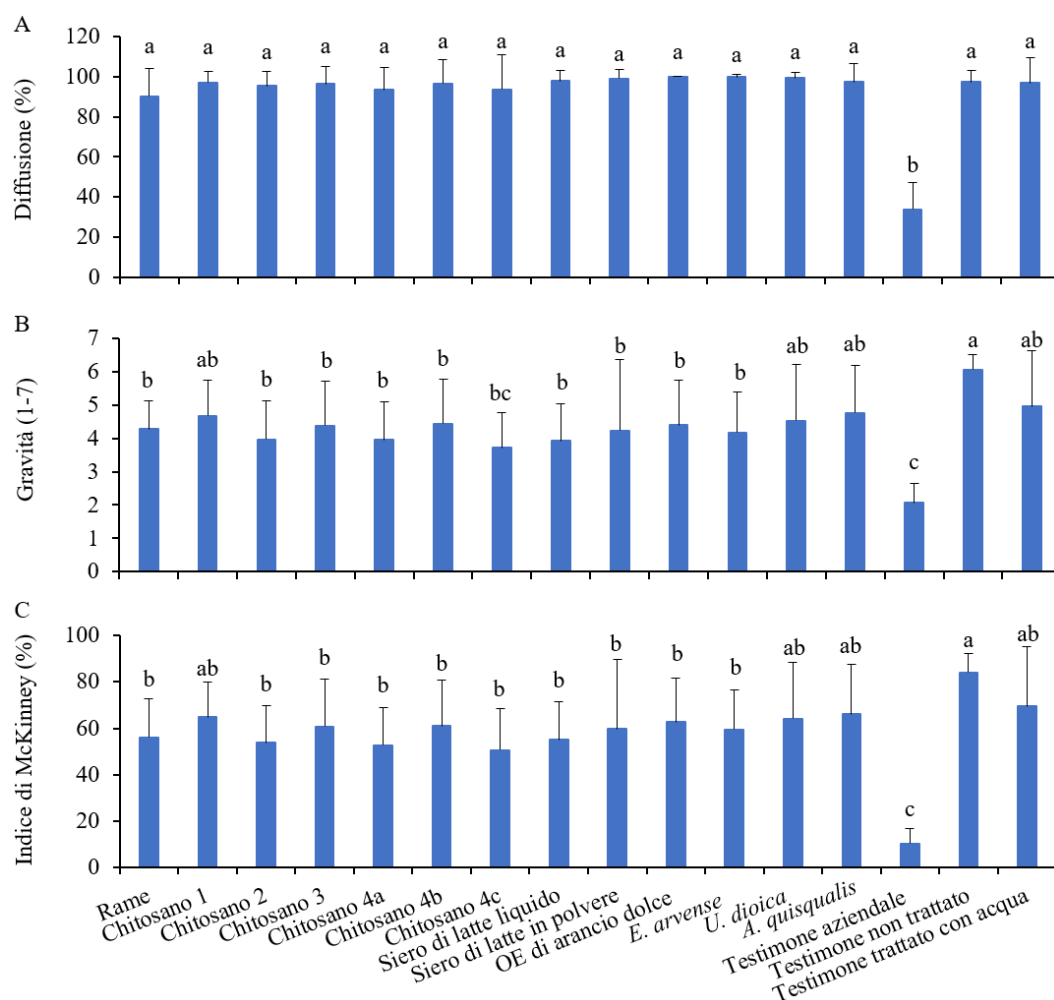


**Figura 38** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 13 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

#### **Rilievo 5 del 3 agosto 2022**

Anche nel quinto rilievo la pressione della malattia è stata elevata. Per quanto riguarda la diffusione non ci sono state delle differenze tra i testimoni e le strategie in prova. L'andamento del grafico della gravità mostra che le strategie in prova hanno ridotto l'entità delle lesioni di *E. necator* rispetto al testimone non trattato, ad eccezione del chitosano 1, *U. dioica* ed *A. quisqualis*. Il chitosano 4c, inoltre, ha

ridotto l'entità dei danni ad un livello simile al testimone aziendale (Figura 39 B). Il grafico dell'Indice di McKinney mostra che le strategie in prova hanno ridotto l'indice in maniera significativa rispetto al testimone negativo, eccetto chitosano 1, *U. dioica* ed *A. quisqualis*. Nessuna delle tesi però ha ridotto l'indice a livello del testimone aziendale (Figura 39 C).

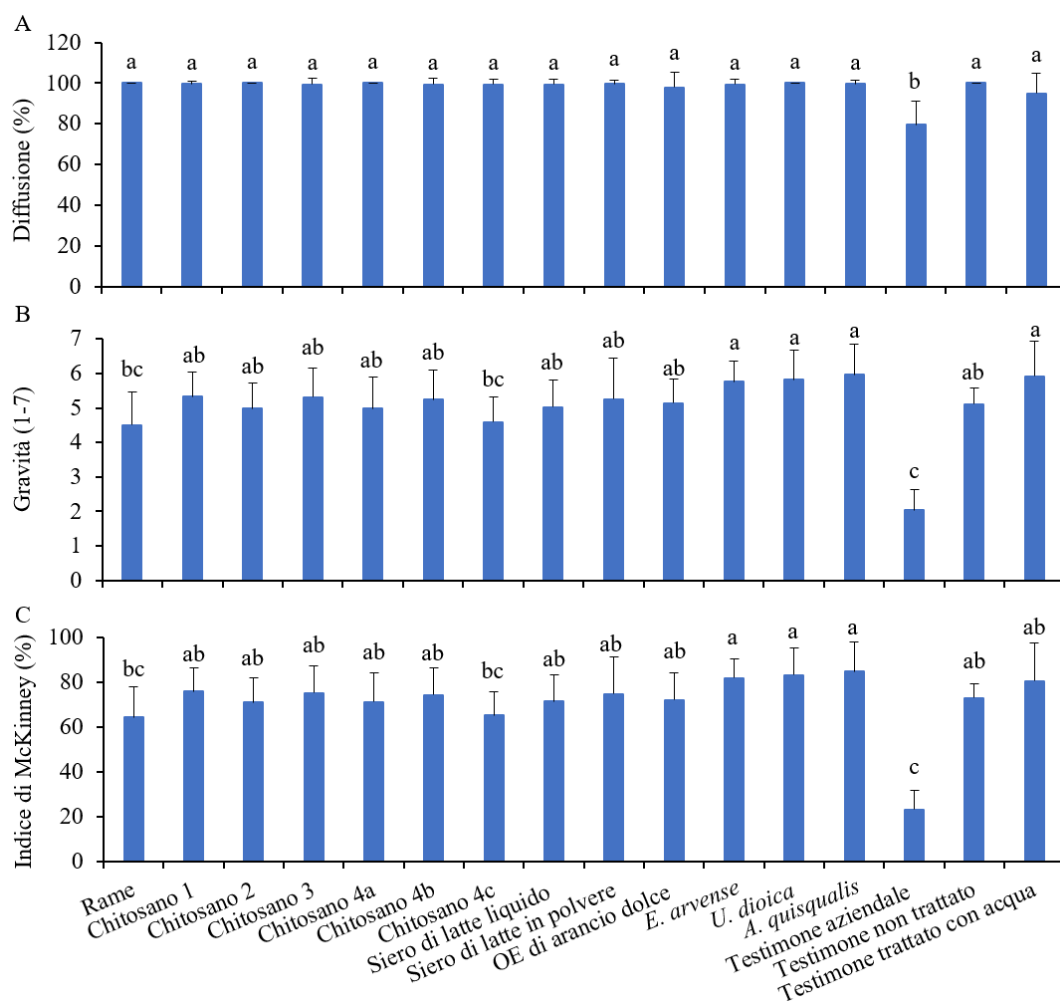


**Figura 39** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 3 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ) per la diffusione e la gravità, mentre è stata valutata attraverso il test di Levene ( $P \leq 0,05$ ) per l'indice di McKinney.

#### **Rilievo 6 del 31 agosto 2022**

Nell'ultimo rilievo la malattia ha raggiunto una diffusione del 100% per tutte le strategie, per le quali non ci sono state riduzioni significative. Nella gravità la strategia che ha diminuito l'entità delle lesioni di oidio in modo significativo rispetto al testimone negativo è il chitosano 4c ed inoltre questa tesi presenta valori di contenimento simili al rame e al testimone aziendale (Figura 40 B). Per l'Indice

di McKinney non si evidenziano riduzioni significative tra le strategie e i testimoni negativi (Figura 40 C).



**Figura 40** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto in data 31 agosto 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.3 VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DELLA PROVA 2

La prova 2, condotta nel vigneto situato a Montecarotto (AN), è stata realizzata per la valutazione dell'attività antibiottrica delle strategie in prova di varie sostanze utilizzate da sole o in combinazione con un coadiuvante ed applicate in diverse fasi fenologiche.

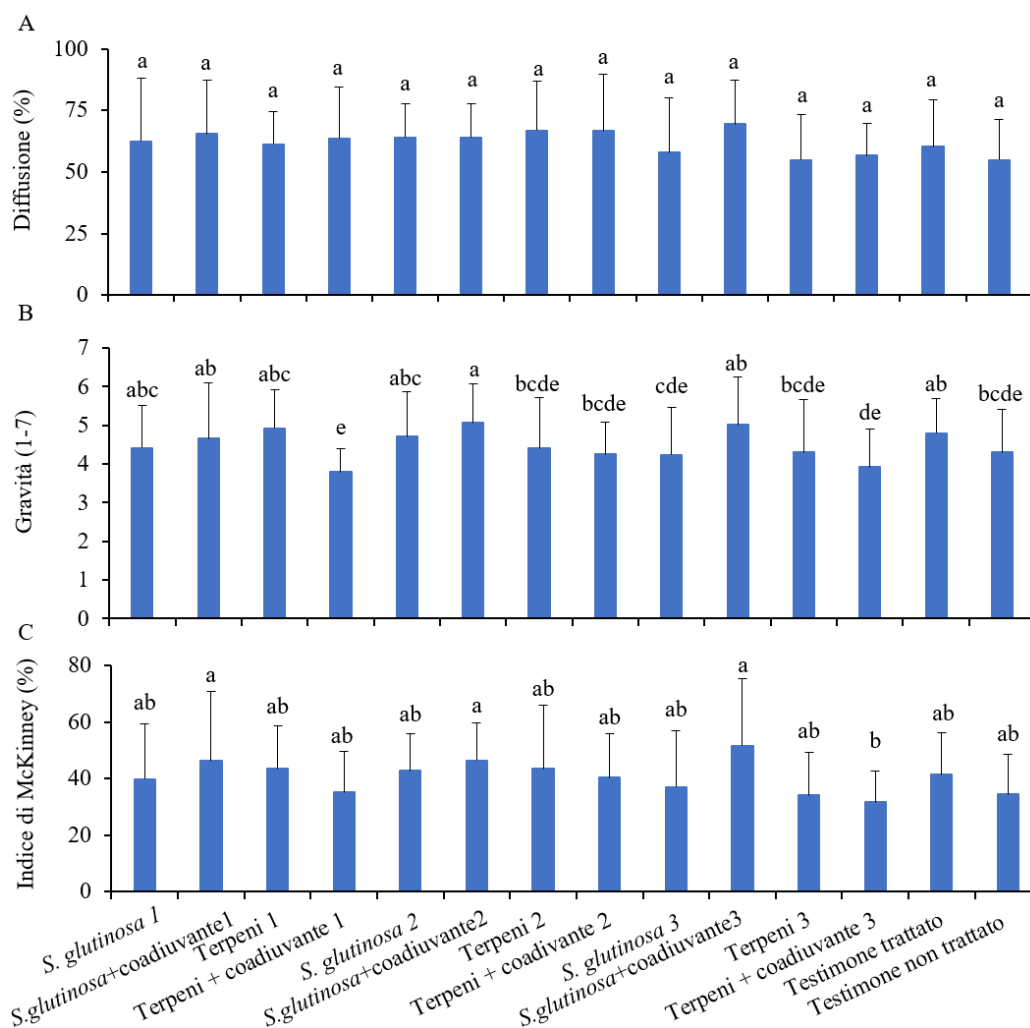
#### 8.3.1 Rilievi di peronospora e oidio

In data 18 luglio è stato condotto un rilievo nei confronti di peronospora e oidio nel vigneto sperimentale ubicato a Montecarotto. Lo scopo di questa prova è rivolto

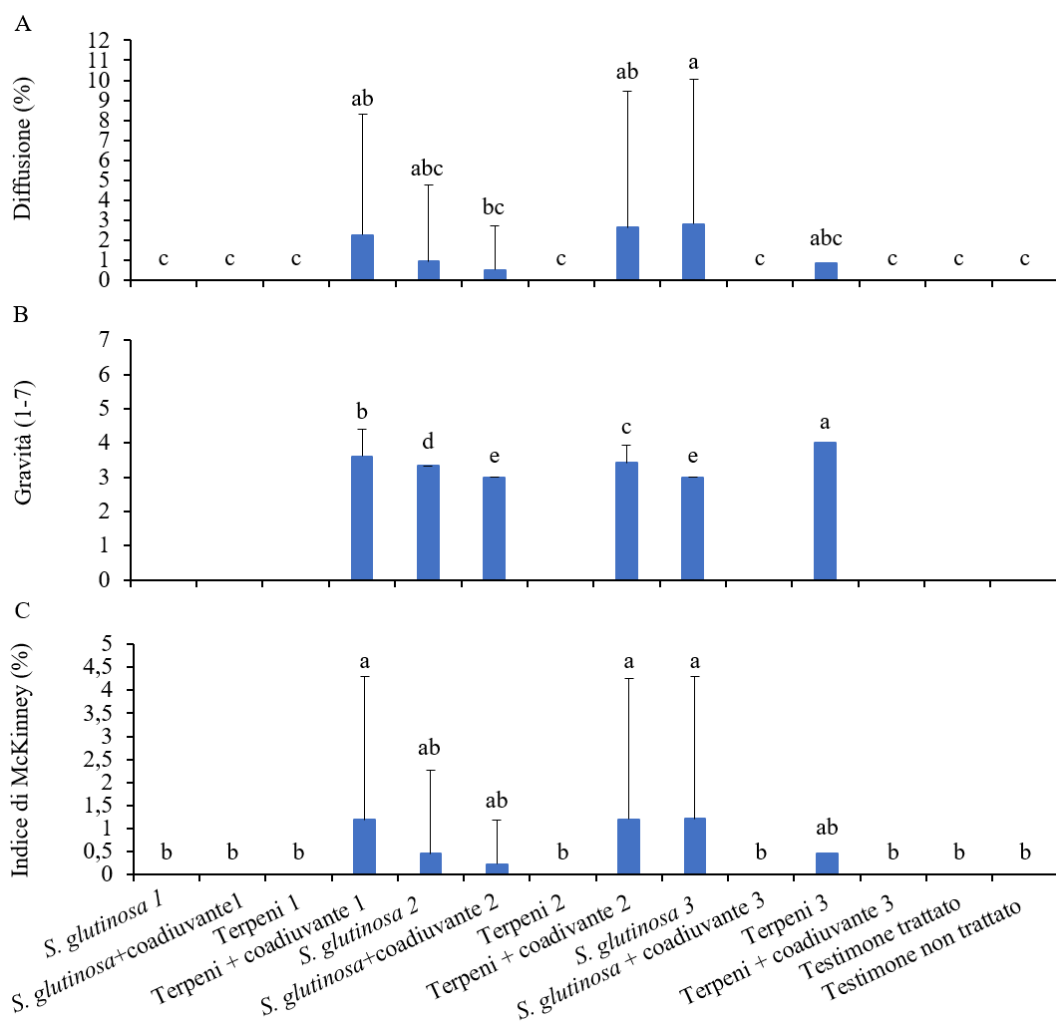
alla muffa grigia, ma la valutazione su peronospora ed oidio è stata effettuata per verificare l'eventuale presenza di effetti collaterali delle strategie testate.

Per quanto riguarda la peronospora, le condizioni ambientali hanno favorito la presenza della malattia. La diffusione di *P. viticola* è risultata essere piuttosto elevata, intorno al 40% sulle foglie e intorno al 60% sui grappoli; tuttavia, sia per l'Indice di McKinney che per la diffusione non si sono verificate delle differenze tra le strategie in prova ed i testimoni (Figura 41). L'unica eccezione è stata riscontrata nella gravità delle lesioni per i grappoli, dove la strategia con terpeni e coadiuvante applicato a inizio fioritura ha ridotto di molto l'entità dei sintomi sui grappoli (Figura 41 B).

Per quanto concerne l'oidio, la pressione della malattia è risultata essere decisamente bassa; sulle foglie non sono stati riscontrati sintomi della malattia, mentre sui grappoli, solamente in qualche parcella, dei sintomi si sono manifestati, ma senza portare a delle differenze tra le tesi ed i testimoni secondo l'Indice di McKinney. La loro diffusione è arrivata al massimo al 2%. La bassa presenza della malattia non ha permesso di identificare ulteriori informazioni sull'oidio (Figura 42).



**Figura 41** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di peronospora su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 18 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test LSD di Fisher ( $P \leq 0.05$ ) per la diffusione, attraverso il test Mann-Whitney ( $P \leq 0.05$ ) per la gravità e mediante il test Games-Howell ( $P \leq 0.05$ ) per l'indice di McKinney.



**Figura 42** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 18 luglio 2022. La significatività è stata valutata mediante il test LSD di Fisher ( $P \leq 0,05$ ).

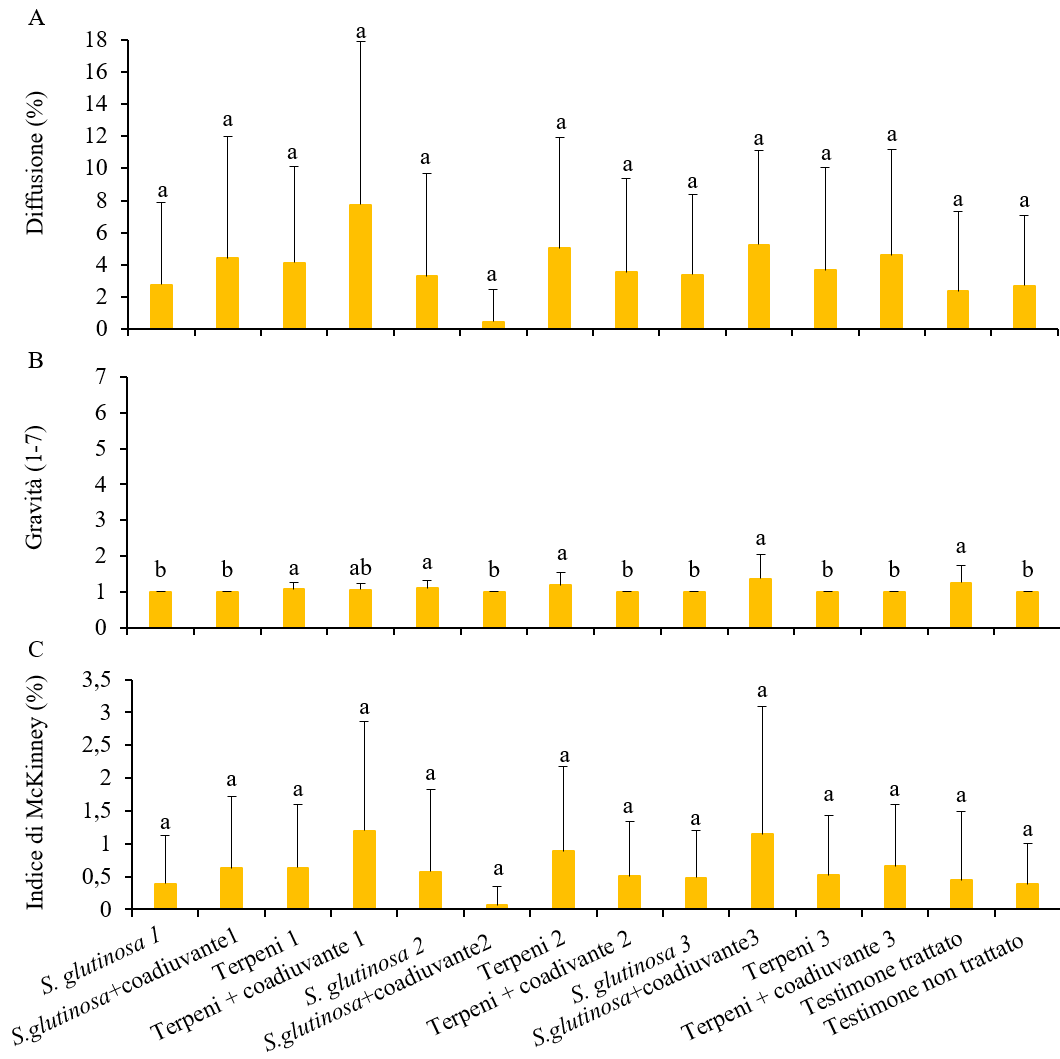
### 8.3.2 Rilievi di muffa grigia

#### *Rilievo del 7 settembre 2022*

I primi sintomi di muffa grigia si sono manifestati nei primi giorni di settembre (Figura 43). Nel primo rilievo la diffusione massima di *B. cinerea*, che è stata rilevata, è inferiore al 10%. Sia per la diffusione che per l'Indice di McKinney non ci sono state delle riduzioni statisticamente significative tra le strategie, tuttavia, interessante è stato il contenimento operato della strategia terpeni + coadiuvante 2, applicata ad inizio fioritura ed in piena fioritura, che, seppur non presentando differenze significative, ha manifestato sia dei livelli di diffusione che dell'Indice di McKinney più contenuti rispetto alle altre tesi in prova (Figura 44).



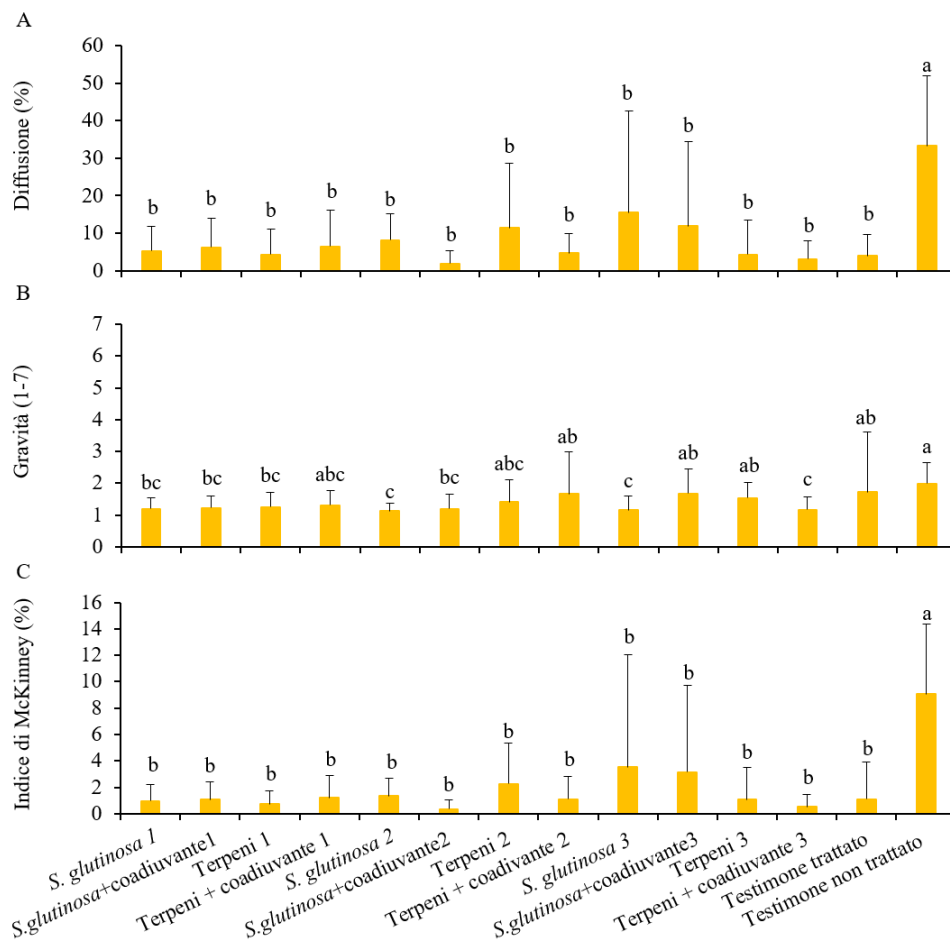
**Figura 43** – Immagini di due grappoli (cv. Verdicchio) infetti da muffa grigia. Foto eseguita in data 12 settembre 2022 nel vigneto situato a Montecarotto (AN).



**Figura 44** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di muffa grigia su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 7 settembre 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### Rilievo del 20 settembre 2022

Nel secondo rilievo la pressione della malattia è aumentata, la diffusione della muffa grigia è stata rilevata per un massimo di circa 30% nel testimone non trattato. Per quanto riguarda la gravità, ci sono state delle riduzioni significative rispetto al testimone non trattato ed in particolare, alcune strategie hanno diminuito significativamente l'entità dei danni nei confronti del testimone trattato. Nello specifico, le seguenti strategie hanno ridotto la gravità rispetto al testimone trattato: *S. glutinosa* 2, *S. glutinosa* 3 e terpeni + coadiuvante 3 (Figura 45 B). Tutte le tesi hanno ridotto i valori percentuali sia della diffusione che dell'Indice di McKinney in maniera statisticamente significativa rispetto al testimone non trattato (Figura 45). In particolare, le strategie *S. glutinosa* + coadiuvante 2, terpeni 1 e terpeni + coadiuvante 3 hanno ridotto la malattia più di quanto riportato per il testimone trattato a base di cyprodinil + fludioxonil.



**Figura 45** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di muffa grigia su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 20 settembre 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).



### 8.3.3 Rilievi di *Aspergillus* spp.

#### *Rilievo del 7 settembre 2022*

Durante il primo rilievo effettuato per la muffa grigia, sono stati osservati dei sintomi originati da marciumi secondari, come ad esempio quelli causati da *Aspergillus* spp. (Figura 46). In questo rilievo non sono state osservate delle riduzioni significative da un punto di vista statistico per *Aspergillus* spp., in quanto la pressione della malattia è risultata essere molto bassa e quindi non si sono ottenute delle informazioni interessanti in nessuno dei grafici originati dall'elaborazione del rilievo.

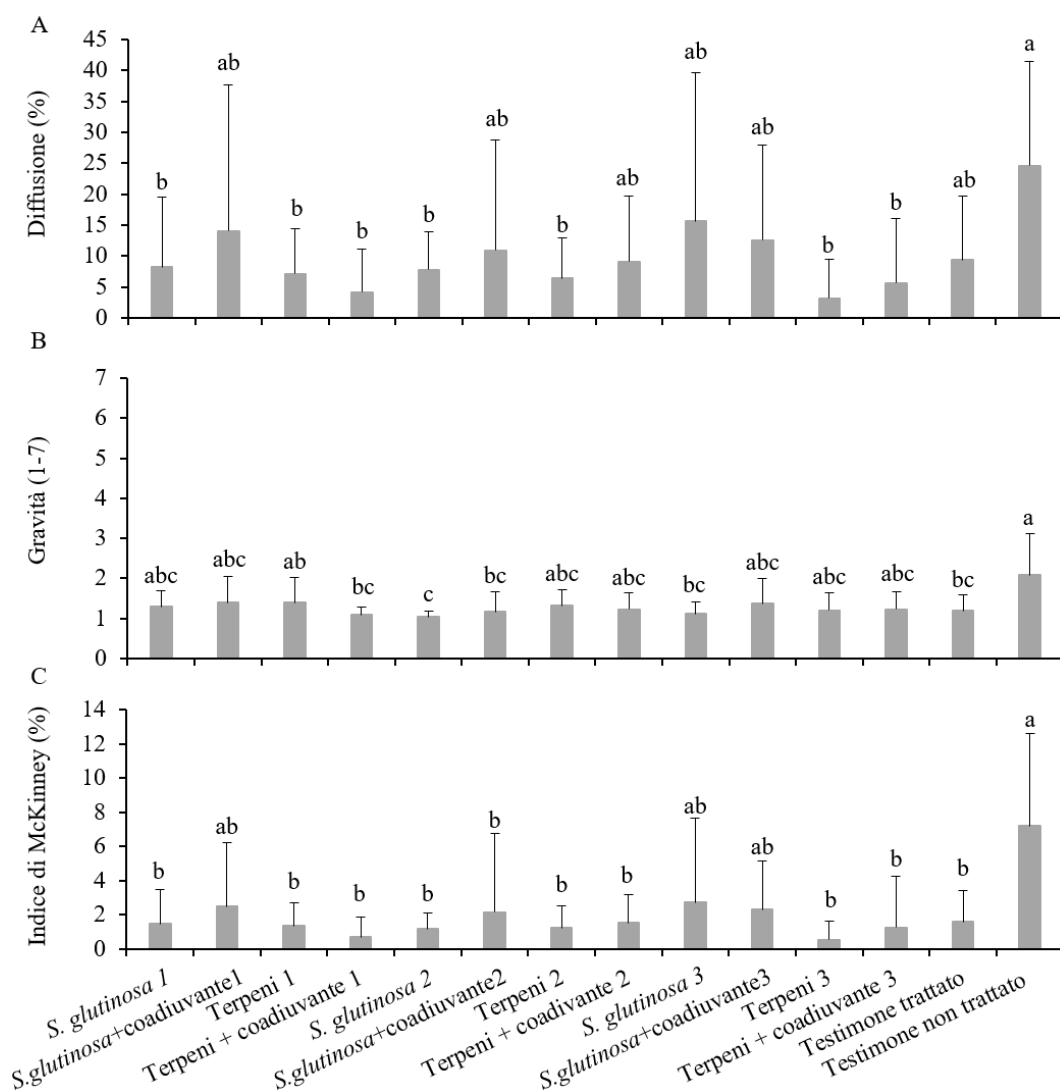


**Figura 46** – Immagine di un grappolo (cv. Verdicchio) infetto da *Aspergillus* spp. Foto dell'8 settembre 2022 effettuata nel vigneto situato a Montecarotto (AN).

#### *Rilievo del 20 settembre 2022*

Il secondo rilievo ha riportato un aumento della malattia. La diffusione sul testimone non trattato è aumentata a circa il 25% e tutte le altre strategie testate hanno manifestato una diffusione più bassa rispetto a quest'ultima. Per quel che concerne la gravità, la riduzione significativa è avvenuta per *S. glutinosa* 3, *S. glutinosa* + coadiuvante 2, *S. glutinosa* 2 e terpeni + coadiuvante 1. Osservando il grafico dell'Indice di McKinney, ci sono state delle strategie che hanno ridotto significativamente la malattia rispetto al testimone non trattato. In particolare,

quelle che hanno mostrato una riduzione significativa sono: *S. glutinosa 1*, terpeni 1, terpeni + coadiuvante 1, *S. glutinosa 2*, *S. glutinosa 2* + coadiuvante 2, terpeni 2, terpeni + coadiuvante 2, terpeni 3 e terpeni + coadiuvante 3; inoltre, per la strategia terpeni 3 è stata registrata una riduzione della malattia superiore rispetto al testimone trattato (Figura 47).



**Figura 47** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di *Aspergillus* spp. su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 20 settembre 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.3.4 Rilievi di *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp.

#### Rilievo 1 del 7 settembre 2022

Nei rilievi effettuati per la muffa grigia sono stati osservati anche dei sintomi riconducibili a *Cladosporium* spp. e ad *Alternaria* spp. (Figura 48), per i quali sono stati condotti dei rilievi. Durante il primo rilievo, in realtà, la pressione della

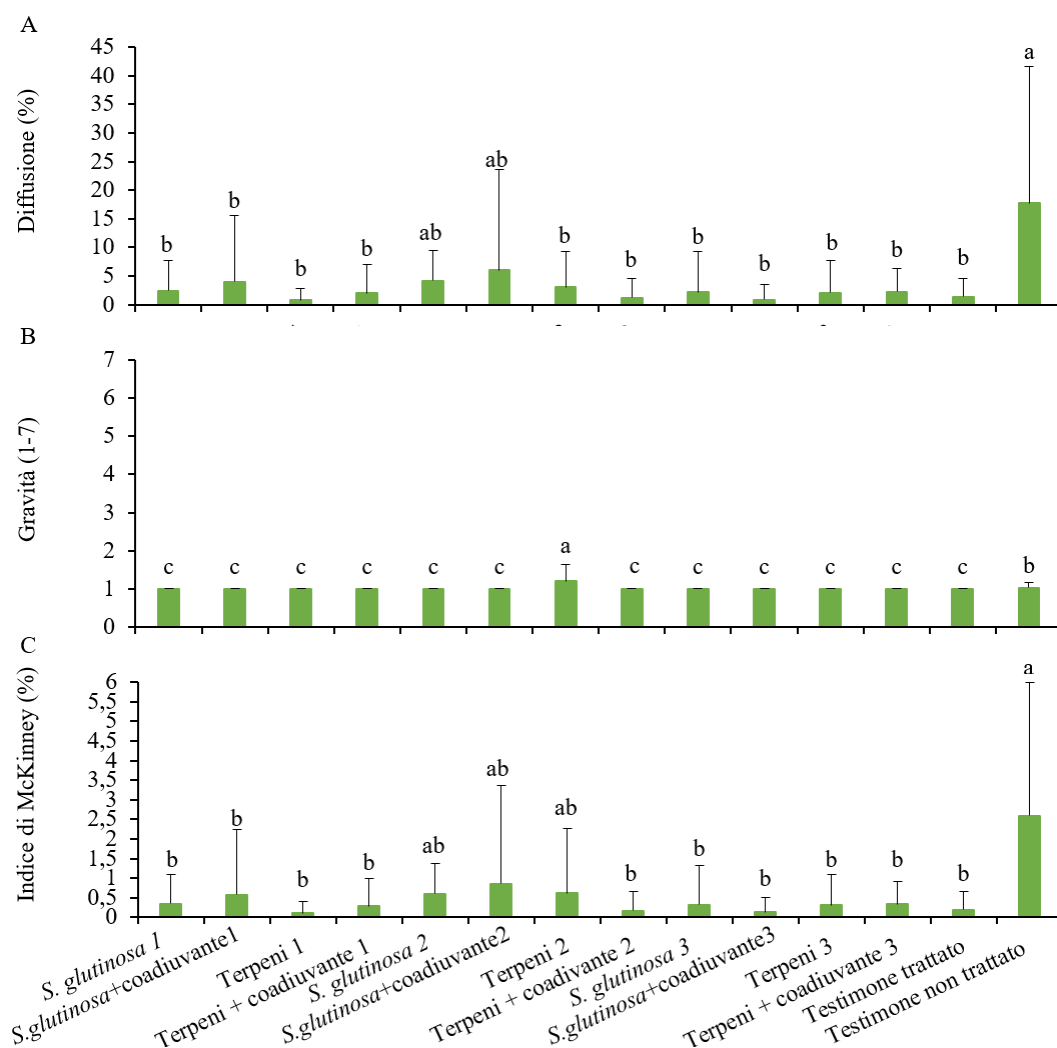
malattia è risultata essere piuttosto bassa e questo non ha permesso di evidenziare differenze rilevanti, in generale tutte le strategie testate hanno mostrato una riduzione rispetto al testimone non trattato della diffusione e dell'indice di McKinney, mentre non ci sono state differenze per la gravità. Da sottolineare però è il comportamento che ha avuto la strategia *S. glutinosa* + coadiuvante 2, la quale ha ridotto in maniera significativa sia diffusione che l'Indice di McKinney.



**Figura 48** – Immagine di un grappolo (*cv.* Verdicchio) infetto presumibilmente da *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp. Foto eseguita in data 12 settembre 2022 nel vigneto situato a Montecarotto (AN).

#### ***Rilievo 2 del 20 settembre 2022***

Nel secondo rilievo la diffusione della malattia nel testimone non trattato è aumentata a dei livelli intorno al 15%. Il grafico della diffusione mostra come tutte le strategie eccetto *S. glutinosa* 2 e *S. glutinosa* + coadiuvante 2 hanno ridotto la diffusione rispetto al testimone negativo (Figura 49 A). La gravità è stata ridotta in maniera significativa per tutte le strategie rispetto al testimone non trattato, ad eccezione di terpeni 2 (Figura 49 B). Secondo l'Indice di McKinney, la riduzione della malattia è risultata significativa per tutte le strategie nei confronti del testimone negativo, tranne che per *S. glutinosa* 2, *S. glutinosa* + coadiuvante 2 e terpeni 2. La gran parte delle tesi hanno mantenuto dei valori della malattia in linea con il testimone trattato (Figura 49 C).

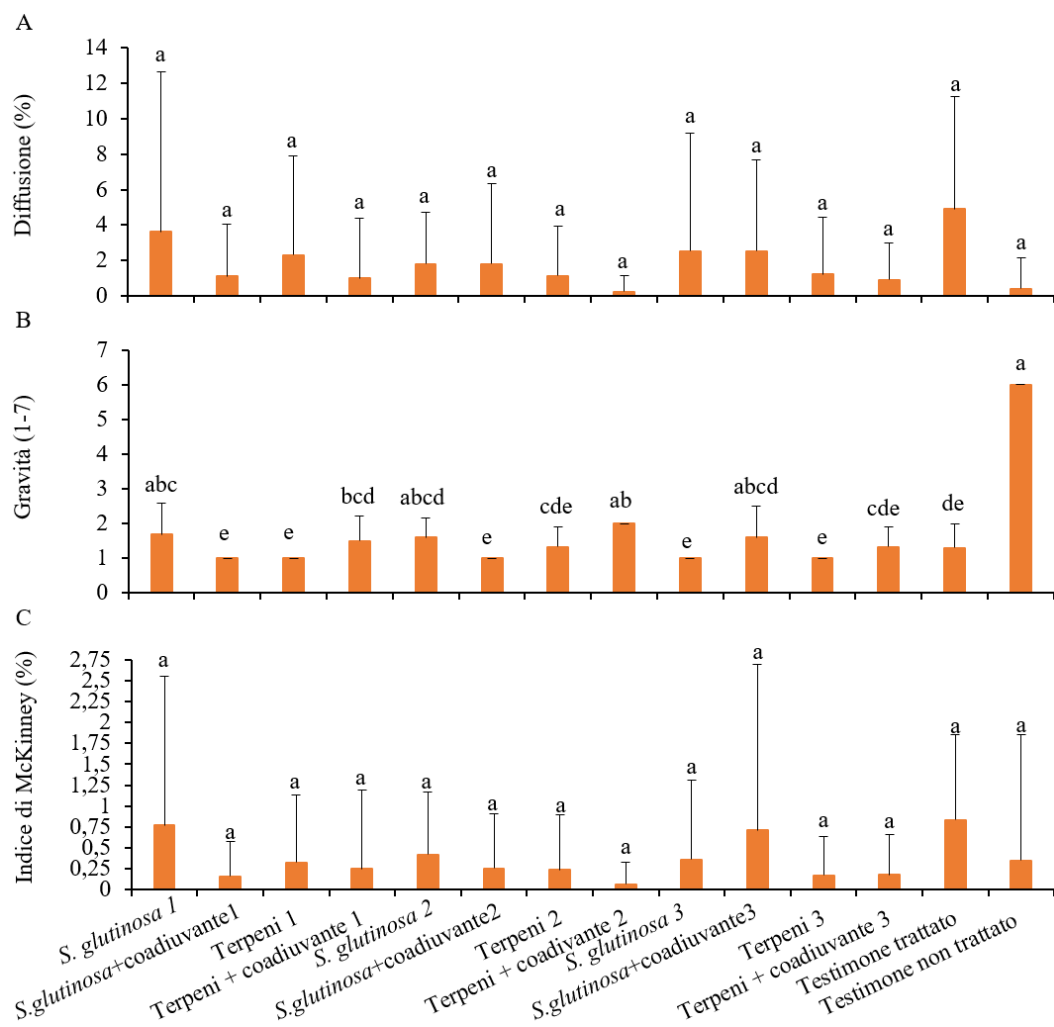


**Figura 49** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp. su grappoli di Verdichio, nel rilievo condotto in data 20 settembre 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.3.5 Rilievi di marciume acido

#### *Rilievo 1 del 20 settembre 2022*

Nel secondo rilievo, svolto per rilevare la presenza di muffa grigia, sono stati rinvenuti, oltre a dei sintomi per i marciumi secondari, dei grappoli infetti da marciume acido. È stato condotto un rilievo anche su questa malattia, nella quale non sono state rilevate diminuzioni significative per l'indice di McKinney e la diffusione; mentre per quanto riguarda la gravità, tutte le tesi in prova hanno ridotto in maniera anche significativa l'entità dei sintomi rispetto al testimone negativo. Le strategie che hanno mostrato una riduzione significativa rispetto al testimone non trattato sono: *S. glutinosa* + coadiuvante 1, terpeni 1, terpeni + coadiuvante 1, *S. glutinosa* + coadiuvante 2, terpeni 2, *S. glutinosa* 3, terpeni 3 (Figura 50).



**Figura 50** - A. Diffusione (%), B. Gravità (1-7) e C. Indice di McKinney (%) di marciume acido su grappoli di Verdicchio, nel rilievo condotto in data 20 settembre 2022. La significatività è stata valutata mediante il test di Mann-Whitney ( $P \leq 0,05$ ).

### 8.3.6 Rilievi di *Penicillium* spp.

#### *Rilievo 1 del 20 settembre 2022*

In data 20 settembre 2022 è stato effettuato un rilievo nei confronti della muffa grigia e contestualmente ad essa sono stati rinvenuti grappoli attaccati da *Penicillium* spp. (Figura 51). È stato quindi condotto un rilievo per valutare la pressione di quest'ultima malattia. I dati che sono stati ottenuti dal rilievo non hanno portato a delle informazioni rilevanti, la diffusione della malattia è risultata essere eccessivamente bassa e di conseguenza questo non ha condotto a differenze per nessuno dei parametri valutati. Tuttavia, ci sono state delle strategie che non hanno mostrato sintomi, nello specifico le seguenti tesi: *S. glutinosa* + coadiuvante 1, terpeni 1, *S. glutinosa* + coadiuvante 2, terpeni 2, *S. glutinosa* + coadiuvante 2, terpeni + coadiuvante 3.



**Figura 51** – Immagine di un grappolo (cv. Verdicchio) infetto da *Penicillium* spp. Foto eseguita in data 12 settembre 2022 nel vigneto situato a Montecarotto (AN).

## 9 DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

La peronospora, l'oidio e la muffa grigia sono tra le malattie più diffuse e gravi della vite ed ogni anno, per evitare ingenti perdite di produzione, è necessario intervenire con delle strategie accurate per contenerle. Attualmente l'utilizzo di mezzi chimici è alla base della protezione delle suddette malattie e, vista l'elevata velocità di diffusione di queste ultime, la protezione è orientata all'attuazione di strategie preventive al fine di evitare o ridurre il più possibile l'insediamento del patogeno; poiché questo avvenga il numero di trattamenti con fungicidi chimici durante un'intera stagione è piuttosto elevata. Da qualche anno però, l'Unione Europea ha focalizzato la propria attenzione sui fungicidi tradizionali e sulla loro frequenza di utilizzo. Nel 2020 infatti, è stato approvato il *Green Deal* europeo che prevede, attraverso l'attuazione della strategia *Farm to Fork*, la riduzione del 50% dell'utilizzo di agrofarmaci considerati pericolosi e il raggiungimento del 25% della SAU europea convertita a biologico (Fetting, 2020). Questa strategia unita ad una revisione accurata dei prodotti fitosanitari, già in atto in Italia da alcuni anni e che ha revocato parecchi agrofarmaci tradizionali in quanto incompatibili con le nuove normative in termini di salute per l'uomo e per l'ambiente, apre delle nuove strade alla ricerca di strategie alternative efficaci contro le malattie della vite. Il problema che si verifica in questo caso è che parecchi agricoltori si trovano privati di cospicui

mezzi tecnici per poter garantire alla loro attività una produzione redditizia. Un esempio di cui si parla molto nel settore vitivinicolo è il destino alla quale andrà incontro il rame. Quest'ultimo è un prodotto, ammesso anche in biologico, che da qualche anno è soggetto a restrizioni sul suo utilizzo ed è un fungicida inserito nella lista tra i candidati alla sostituzione. Le limitazioni imposte dall'Unione Europea che hanno colpito il rame vincolano l'utilizzo di questo fungicida ad un massimo di 28 kg/ha nell'arco di sette anni (circa 4 kg/ha per annata) (Reg. UE 1981/2018), per cercare di ridurre gli effetti negativi che può avere questa molecola in quanto metallo pesante. Il rame, infatti, può causare problemi ambientali, alla salute umana e può influenzare negativamente la qualità del vino (García-Esparza *et al.*, 2006). Anche lo zolfo per la difesa dell'oidio può essere fonte di inquinamento e anch'esso, quindi, può causare dei problemi ambientali, alla salute umana e alle caratteristiche organolettiche del vino. Alla luce di queste condizioni, le comunità scientifiche si stanno adoperando e stanno promuovendo numerose sperimentazioni per la ricerca di nuove strategie altrettanto efficaci da sostituire o da integrare a quelle classiche. Tante sperimentazioni focalizzano la loro attenzione nei confronti delle sostanze di base per riuscire a trovare delle nuove strategie. Sin da quando inizialmente sono state adottate per consumi alimentari o per la salute umana, queste sostanze sono state prese in considerazione poiché particolarmente interessanti anche per la protezione delle piante; infatti, esse non destano alcuna preoccupazione per i residui e non ci sono limiti massimi residui (LMR) ed inoltre, solitamente, non ci sono intervalli di sicurezza prima della raccolta. La sostanza di base è una sostanza attiva che non è potenzialmente pericolosa e non possiede una capacità intrinseca di provocare effetti nocivi sul sistema endocrino o effetti neurotossici o immunotossici. Per di più, la sostanza di base non è utilizzata principalmente per scopi fitosanitari, ma è nondimeno utile a tal fine, direttamente o in un prodotto costituito dalla sostanza e da un semplice agente diluente e non è immessa sul mercato come prodotto fitosanitario (Reg. UE 1107/2009). Attualmente le sostanze di base approvate dall'Unione Europea sono 24, 7 sono state revocate, 18 non sono state ammesse come tali e 8 sono ancora in fase di approvazione (Romanazzi *et al.*, 2022). L'obiettivo di questa sperimentazione è stata quella di valutare l'efficacia, a livello sperimentale, di strategie innovative basate su sostanze di base e prodotti a basso impatto ambientale.

Le sostanze di base utilizzate nella prima prova sono state: il chitosano cloridrato, chitosano, il siero di latte liquido, *Urtica dioica*, *Equisetum arvense* ed

il siero di latte in polvere. *Equisetum arvense* è stata una delle prime sostanze di base ad essere stata approvate in Europa attraverso il Regolamento Europeo 462/2014. Per tale sostanza è riconosciuta un'attività fungicida rispetto alla vite, in particolare nei confronti della peronospora e dell'oidio con dei volumi totali di applicazione compresi tra 200-600 g/ha (Romanazzi *et al.*, 2022). Anche il siero di latte è stato approvato come sostanza di base dal Reg. (EU) 2016/560, questa sostanza è stata registrata per la vite con attività fungicida nei confronti dell'oidio (Romanazzi *et al.*, 2022). *Urtica dioica* è stata approvata dal Reg. (EU) 2017/419 e per tale sostanza viene riconosciuta attività fungicida, insetticida ed acaricida. Nei confronti della vite, *U. dioica*, ha sia attività fungicida contro la peronospora che attività insetticida contro *Tetranychus urticae* e *Tetranychus telarius* (Romanazzi *et al.*, 2022). Infine, il chitosano è anch'esso una sostanza di base e si divide in chitosano cloridrato (Reg. (EU) 2014/563, Reg. (EU) 2021/1446), approvata peraltro come una delle prime sostanze di base, ed in chitosano, approvato nel 2022; il chitosano cloridrato (50%) ha dimostrato attività battericida e fungicida accertata in seguito a numerose sperimentazioni (Aziz *et al.*, 2006; La Torre *et al.*, 2010; Dagostin *et al.*, 2011; Romanazzi *et al.*, 2010, 2016, 2021, 2022), con capacità protettiva confermata nei confronti della peronospora (Romanazzi *et al.*, 2022). Ci sono prodotti a base di chitosano che vengono utilizzati come sostitutivi delle strategie aziendali, in quanto capaci di ridurre la malattia quanto le tecniche tradizionali (Romanazzi *et al.*, 2022) e a volte utilizzati in combinazione con i fungicidi tradizionali (es. rame) per ridurre il loro utilizzo (Romanazzi *et al.*, 2022); a conferma di ciò, in questo elaborato ci sono stati casi del chitosano alla concentrazione 0,5% che ha ottenuto riduzioni della malattia simile alla strategia aziendale. I risultati della prima prova, rivolta alla valutazione della capacità di contenere la peronospora e l'oidio, sono stati decisamente interessanti. Per quanto riguarda la peronospora va ricordato che l'andamento climatico della stagione in cui è stata svolta la prova non è stato particolarmente favorevole per sviluppo della malattia. La presenza di oidio invece, è stata piuttosto abbondante sin dai primi mesi di giugno. Le strategie più interessanti sono state il chitosano cloridrato e l'olio essenziale di arancio dolce. In particolare, il chitosano cloridrato ha mostrato dei risultati promettenti; infatti, quello denso alla concentrazione di 0,5%, ha confermato ciò che era già stato verificato sulla sua capacità di contenimento della peronospora (Aziz *et al.*, 2006; La Torre *et al.*, 2010; Dagostin *et al.*, 2011; Romanazzi *et al.*, 2016, 2021), oltre alla capacità di controllare anche numerose



patologie fungine pre e postraccolta su prodotti ortofrutticoli (Romanazzi *et al.*, 2010; Rajestary *et al.*, 2021), come ad esempio quelle causate da *B. cinerea* sull'uva da tavola (Romanazzi, 2002, 2012; Trotel-Aziz, 2006; Meng *et al.*, 2008) ed è stata osservata inoltre la capacità di quest'ultimo di contenere anche *E. necator* (Soares *et al.*, 2023). La sua azione di contenimento della malattia potrebbe essere dovuta, oltre che alla attività antimicrobica, anche alla sua capacità di induzione di resistenza (SAR) nella pianta ospite, nonché alla sua comprovata attività antitranspirante, dovuta alla creazione di un sottile film sulle superfici vegetali trattate (Romanazzi *et al.*, 2018). A differenza di come era stato dimostrato in altre occasioni il chitosano applicato a concentrazioni inferiori rispetto a quella di accertata azione contenitiva (0,5% e 0,8%) ha avuto comunque un'efficacia nella riduzione della presenza di *P. viticola* ed *E. necator*. Efficacia piuttosto interessante è stata valutata anche per l'olio essenziale di arancio dolce, che è registrato per la protezione della vite contro peronospora ed oidio ed inoltre, già coinvolto in alcune sperimentazioni positive anche per la protezione dei marciumi (Rizzolli *et al.*, 2017); tale strategia ha mostrato capacità di contenimento sia per la peronospora che per l'oidio con attività maggiore nei confronti delle foglie piuttosto che sui grappoli. Anche il siero di latte, come riportato in precedenza sostanza inserita nell'allegato contenente le sostanze di base (Romanazzi *et al.*, 2022), ha manifestato una certa efficacia nel contenimento delle due malattie. La sua attività è risultata essere più marcata sulle foglie rispetto ai grappoli e la riduzione che ha avuto non è stata così evidente come nel caso del rame e del chitosano, nonché della strategia aziendale. Da sottolineare invece come *A. quisqualis*, commercializzato come agente di biocontrollo specifico per l'oidio, con azione parassita nei confronti degli oidi di varie colture (Sztejnberg *et al.*, 1989), in questa sperimentazione, non ha dimostrato un'efficacia particolarmente rilevante, soprattutto su grappoli.

Per quanto riguarda l'obiettivo della Prova 2 a Montecarotto, per il contenimento di *B. cinerea*, sono stati testati dei prodotti a basso impatto ambientale a base di *Swinglea glutinosa* e a base di terpeni. Questi prodotti sono stati testati da soli o in combinazione con un coadiuvante (sorbitan mono etossilato) e, inoltre, sono stati saggiati in vari momenti con diverse fasi fenologiche della pianta. Osservando i valori dell'indice di McKinney, nel primo rilievo non ci sono state delle differenze a causa di una pressione della malattia eccessivamente bassa. Nel secondo rilievo invece tutte le strategie sono risultate efficaci nella riduzione della malattia rispetto al testimone non trattato; in particolare i valori percentuali più bassi per l'indice di

McKinney sono stati riscontrati nelle strategie *S. glutinosa* + coadiuvante 2, terpeni + coadiuvante 2, terpeni + coadiuvante 3 e terpeni 1 con una riduzione simile all'azione del fungicida tradizionale. Nelle condizioni operative della prova sperimentale, si può ipotizzare che l'applicazione dei principi attivi effettuati in varie fasi fenologiche non abbia avuto influenza sull'efficacia dei prodotti; l'applicazione solamente ad inizio fioritura, infatti, ha mostrato valori della malattia simili a quelli in cui sono stati applicati due volte, in fasi fenologiche diverse. Questo risultato è pienamente in linea con la sostenibilità ambientale ed economica, in quanto l'utilizzo di prodotti a basso impatto ambientale riducono la pericolosità eco tossicologica ed inoltre, la possibilità di diminuire gli interventi fungicidi consente all'agricoltore di avere un risparmio economico sulla gestione della protezione delle piante. Quasi tutte le strategie saggiate hanno garantito un efficace contenimento nei confronti di marciumi secondari causati da *Aspergillus* spp. e da infezioni miste associate a *Cladosporium* spp. e *Alternaria* spp. Oltre a ciò, in questa prova non si è osservato alcun effetto collaterale nel contenimento della peronospora e dell'oidio da parte delle diverse strategie. Non avendo osservato un controllo significativo di queste avversità, è stato ritenuto superfluo procedere con ulteriori rilievi anche dopo il trattamento all'invasatura. Nel rilievo effettuato in prossimità della raccolta, sono stati osservati anche grappoli affetti da marciume acido e con infezioni di *Penicillium* spp., ma in entrambi i casi, a causa della bassa pressione della malattia non ci sono stati risultati interessanti. La sostanza attiva *S. glutinosa* si suppone possa avere una attività contenitiva nei confronti dei marciumi del grappolo, vista la sua attività fungicida nei confronti di alcuni patogeni fungini. Il suo meccanismo d'azione è multisito, agisce infatti con un'azione diretta sul patogeno ed un'azione elicitoria sulla pianta. Per quanto riguarda i terpeni, essi sono delle sostanze a basso impatto ambientale che hanno attività accertata nei confronti dei marciumi (Di Pasqua *et al.*, 2007) ed infatti, uniti in sinergia con fungicidi tradizionali sono in grado di migliorare l'efficacia della protezione contro la muffa grigia (Querzola *et al.*, 2016). Essi hanno effetto diretto sulle pareti, sulle membrane e sugli organelli delle cellule dei microrganismi (Di Pasqua *et al.*, 2007), agendo per l'appunto sulla germinazione delle spore, sulla penetrazione e sulla crescita delle ife e sullo sviluppo dei miceli. Oltre alla valutazione delle infezioni di *Botrytis* spp. sui grappoli sono stati rilevati diversi funghi patogeni come *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. e *Penicillium* spp., alcuni dei quali responsabili di marciumi secondari e in grado di produrre pericolose sostanze per

l'uomo. In particolare, *Aspergillus* spp. si trova diffusamente nei vigneti (Arfaoui *et al.*, 2019) e rappresenta una minaccia per la sua produzione di 118 micotossine che possiamo ritrovare nei vini (Somma *et al.*, 2012). Per quanto riguarda *Alternaria* spp. e *Cladosporium* spp., rinvenuti generalmente in infezioni miste su bacche lesionate, è noto come facciano parte della riserva di funghi endofiti della vite e che possono influenzare la crescita, lo stato di salute e la produzione di uva (Knapp *et al.*, 2021). Altre sperimentazioni hanno evidenziato come *Penicillium* spp. sia ubiquitario, nonché la causa di comuni malattie post raccolta dell'uva e altri vegetali (Jahani *et al.*, 2020).

I risultati di questo lavoro di tesi sono focalizzati sull'incremento della sostenibilità ambientale, nonché sulla resilienza economica, delle aziende del settore vitivinicolo, che è il principale utilizzatore di fungicidi in agricoltura. Si è voluto dimostrare, a livello parcellare, che prodotti naturali e prodotti a basso impatto ambientale possono risultare efficaci nei confronti dei patogeni, agendo come sostanze antimicrobiche o come elicitori delle autodifese della pianta. È stata confermata la validità del chitosano nella protezione della vite dalla peronospora e dall'oidio e ciò lo rende uno dei principali candidati ad affiancare o a sostituire il rame nel prossimo futuro. La sostituzione del rame o la sua limitazione in vigneto si fa sempre più concreta, vista la possibilità crescente dell'apporto di prodotti alternativi a impatto ambientale basso o nullo. Le strategie testate nella protezione della peronospora e dell'oidio hanno dimostrato dei risultati interessanti; infatti, l'efficacia di alcuni prodotti è stata particolarmente rilevante, raggiungendo dei livelli di malattia simile alla strategia aziendale; per altri invece, la malattia è stata ridotta ma con un'efficacia inferiore. Questa condizione apre alla possibilità di effettuare delle prove per valutare strategie per la gestione delle malattie integrando i prodotti testati in questo lavoro di tesi con quelli tradizionali, in modo tale da ridurre l'utilizzo dei fungicidi più impattanti sull'ambiente. L'utilizzo di sostanze di base è in linea con le restrizioni sull'applicazione dei prodotti fitosanitari e con i principi del *Green Deal*. Attualmente ci sono poche informazioni riguardo l'efficacia di queste sostanze se comparate ai prodotti di sintesi e ai fungicidi biologici e, di conseguenza, ulteriori conoscenze sul corretto utilizzo delle sostanze di base come misure fitosanitarie possono portare ad un'ulteriore riduzione dei fitofarmaci di sintesi (Romanazzi *et al.*, 2022). In generale, i risultati ottenuti sono promettenti, ma vanno confermati, in quanto la valutazione è stata effettuata a livello parcellare, e per avere ulteriori certezze sulla loro efficacia sarebbe

opportuno continuare negli anni successivi con sperimentazioni anche a livello aziendale.

## 10 BIBLIOGRAFIA

- Angeli, D., Pertot, I. (2007). L'oidio della vite. San Michele all'Adige (TN): Istituto agrario di San Michele all'Adige, 9-81.
- Amborabé, B.E., Bonmort, J., Pierrette F.L., Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 9, 2317-2324.
- Arfaoui, M., Vallance, J., Bruez, E., Rezgui, A., Melki, I., Chebil, S., Sadfi-Zouaoui, N., Rey, P. (2019). Isolation, identification and in vitro characterization of grapevine rhizobacteria to control ochratoxigenic *Aspergillus* spp. on grapes. *Biological Control*, 129, 201-211.
- Aziz, A., Poinssot, B., Daire, X., Adrian, M., Bezier, A., Lambert, B., Joubert, J. M., Pugin, A. (2003). Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 16, 1118-1128.
- Aziz, A., Trotel-Aziz, P., Dhuicq, L., Jeandet, P., Couderchet, M., Vernet, G. (2006). Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. *Phytopathology*, 96, 1188-1194.
- Bacelli, I., Romanazzi, G., Sanzani, S.M. (2022). Induzione di resistenza e defense priming. In: Reverberi, M., Ruocco, M., Covarelli, L., Sella, L. *Patologia vegetale molecolare*, Piccin: 520-537.
- Belli, G. (2012). Elementi di Patologia vegetale. Piccin, 83-213.
- Binni, T. (2021). Valutazione dell'efficacia di sostanze di origine naturale e a basso impatto ambientale nella protezione del cavolo cappuccio e della cipolla da seme da malattie fungine [Tesi di laurea magistrale, Università Politecnica delle Marche, Relatore: Romanazzi, G., Correlatore: Moumni, M.].
- Businelli, D., Massaccesi, L., Said-Pullicino, D., Gigliotti, G. (2009). Long-term distribution, mobility and plant availability of compost-derived heavy metals in a landfill covering soil. *Science of the Total Environment*, 407, 1426-1435.
- Camargo Piñeres, Y., Zambrano Montenegro, G., Ortega-Cuadros, M., Gutierrez Montero, D.J., Yepes, J.A. (2021). In vitro antifungal activity of the essential oil

- of *Swinglea glutinosa* Merr against mango (*Mangifera indica* L.) pathogen *Colletotrichum* spp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 23, 62-71.
- Caproli, S. (2021). Nuove strategie di protezione della vite dalla peronospora in biologico: sperimentazione dell'applicazione di chitosano in protocolli aziendali [Tesi di laurea magistrale, Università Politecnica delle Marche, Relatore: Romanazzi, G., Correlatore: Moumni, M., Piancatelli, S.].
- Chen, X., Wang, Y., Gao, Y., Gao, T., Zhang D. (2019). Inhibitory abilities of *Bacillus* isolates and their culture filtrates against the gray mold caused by *Botrytis cinerea* on postharvest fruit. *The Plant Pathology Journal*, 35, 425–436.
- Crespan, M., Migliaro, D., Larger, S., Pindo, M., Palmisano, M., Manni, A., Camilli, G. (2021). Grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal assortment and evolution in the Marche region (central Italy). *OENO One*, 55, 4628.
- Dagostin, S., Scharer, H.J., Pertot, I., Tamm, L. (2011). Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? *Crop Protection*, 30, 776–788.
- Duca, D., Toscano, G., Pizzi, A., Rossini, G., Fabrizi, S., Lucesoli, G., Mengarelli, C. (2016). Evaluation of the characteristics of vineyard pruning residues for energy applications: effect of different copper-based treatments. *Journal of Agricultural Engineering*, 47, 22-27.
- Eder, J., Cosio, E.G. (1994). Elicitors of plant defense responses. In *International Review of Cytology*, 148, 1-36.
- EFSA. (2007). Introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *The EFSA Journal*, 587, 1-16.
- El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8, 968-987.
- Fetting, C. (2020). The European Green Deal. *ESDN Report, December*.
- Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S., Granchi, L. (2021). Indigenous *Aureobasidium pullulans* strains as biocontrol agents of *Botrytis cinerea* on grape berries. *Sustainability*, 13, 9389.
- Garcia-Brugger, A., Lamotte, O., Vandelle, E., Bourque, S., Lecourieux, D., Poinssot, B., Pugin, A. (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, 711-724.

- García-Esparza, M.A., Capri, E., Pirzadeh, P., Trevisan, M. (2006). Copper content of grape and wine from Italian farms. *Food Additives and Contaminants*, 23, 274-280.
- Garde-Cerdán, T., Mancini, V., Carrasco-Quiroz, M., Servili, A., Gutiérrez-Gamboa, G., Foglia, R., Romanazzi, G. (2017). Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: effect on grape amino acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 7379-7386.
- Ferri, I., Bagnalasta, A., Padula, G., Sterzi, D., Wasterloppe, L., Ciofini, S., Dai Pre, N., Evangelista, L., Lozito, F., Lubraco, G., Paganelli, M., Sangiorgi, L., Trama, F. (2022). *Swinglea glutinosa*, una nuova sostanza attiva ad azione fungicida a base di un estratto vegetale. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 13-22.
- Haile, Z.M., Gebremichael, D.E., Capriotti, L., Molesini, B., Negrini, F., Collina, M., Baraldi, E. (2021). Double-stranded RNA targeting dicer-like genes compromises the pathogenicity of *Plasmopara viticola* on grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 12, 667539.
- Hewitt, H.G. (1998). *Fungicides in crop protection*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Hinckley, E.L.S., Crawford, J.T., Fakhraei, H. (2020). A shift in sulfur-cycle manipulation from atmospheric emissions to agricultural additions. *Nature Geoscience*, 13, 597-604.
- Hu, Z.Y., Balay, D., Hu, Y., McMullen, L.M., Gänzle, M.G. (2019). Effect of chitosan, and bacteriocin-producing *Carnobacterium maltaromaticum* on survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on beef. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 68-75.
- Jahani, M., Beheshti, M., Aminifard, M.H., Hosseini, A. (2020). Effects of essential oils to control *Penicillium* sp. *in vitro* and *in vivo* on grapevine (*Vitis vinifera* L.) fruit. *International Journal of Fruit Science*, 20, 812-826.
- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 386–399.
- Kiss L. (2003). A review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents. *Pest Management Science*, 59, 475-483.
- Knapp, D.G., Lázár, A., Molnár, A., Vajna, B., Karácsony, Z., Váczy, K.Z., Kovacs, G.M. (2021). Above-ground parts of white grapevine *Vitis vinifera* cv.

- Furmint share core members of the fungal microbiome. *Environmental Microbiology Reports*, 13, 509-520.
- Kurtzman, C. P., Droby, S. (2001). *Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. *Systematic and Applied Microbiology*, 24, 395-399
- La Torre, A., Talocci, S., Miele, M. (2010). Evaluation of anti-downy mildew effectiveness and economic sustainability of substances of natural origin. *Petria*, 20, 46-48.
- Leonardi, F., Mossi, G., Camani, M. (2002). Il rame dei vigneti. *Dati-Statistiche e Società*, 3, 55-59.
- Li, Y., Zhang, Z., Jia, Y., Shen, Y., He, H., Fang, R., Chen, X., Hao, X. (2008) 3-acetyl-3-hydroxyoxindole: a new inducer of systemic acquired resistance in plants. *Plant Biotechnology Journal*, 6, 301-308.
- Liu, X., Wang, L.P., Li, Y.C., Li, H.Y., Yu, T., Zheng, X.D., (2009). Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* in vitro and in vivo. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1450-1456.
- Locci, R., (1969). Marcatura di infe fungine mediante sostanze fluorescenti. *Rivista di Patologia Vegetale*, 217-222.
- Lorenz, D.H., Eichhorn, K.W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., Weber, E. (1994). Phänologische entwicklungsstadien der weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). Codierung und beschreibung nach der erweiterten BBCH-skala. *Wein-Wissenschaft*, 49, 66-70.
- Matta, A., Buonaurio, R., Favaron, F., Scala, A., Scala, F. (2017). Fondamenti di patologia vegetale. Bologna, Pàtron Editore, 15-179.
- Meng, X., Li, B., Liu, J., Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 2, 501-508.
- Mondelaers, K., Aertsens, J., Van Huylenbroeck, G., (2009). A meta-analysis of the differences in environmental impacts between organic and conventional farming. *British Food Journal*, 111, 1098-1119.
- Ongena, M., Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16, 115–125.
- Pertot, I., Gobbin, D., Dagostin, S., Ferrari, A., Gessler, C. (2005). I fungicidi a base di rame. *La peronospora della vite*, 27-31

- Pertot, I., Dagostin, S., Ferrari, A., Gobbin, D., Prodorutti, D., Gessler, C., (2007). *La peronospora della vite*. Istituto agrario di San Michele all'Adige, Edizione 2, 1-78.
- Pertot, I., Giovannini, O., Benanchi, M., Caffi, T., Rossi, V. e Mugnai, L. (2017). Combining biocontrol agents with different mechanisms of action in a strategy to control *Botrytis cinerea* on grapevine. *Crop Protection*, 97, 85–93.
- Piva, A., Dimitri, G., Arfelli, G., Matricardi, L., Varner, M., Pichler, U., Pangrazzi, P. Interazione tra zolfo elementare presente sull’uva e formazione di molecole solforate in vino teroldego rotaliano. *Infowine*, 2-13.
- Pujos, P., Martin, A., Farabullini, F., Pizzi, M. (2014). RomeoTM, cerevisane-based biofungicide against the main diseases of grape and of other crops: general description. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 51-56.
- Querzola, P., Bellotto, D., Abbiati, C., Capriotti, M., Serratore, V., Noacco, A., & Ruiz, M. (2016). 3Logy®, new terpene fungicide against grape grey mold (*Botrytis cinerea*). *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 141-146
- Rajestary, R., Landi, L., Romanazzi, G. (2021). Chitosan and postharvest decay of fresh fruit: Meta-analysis of disease control and antimicrobial and eliciting activities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 563-582.
- Rizzolli, W., Acler, A., Facchini, T. (2017). Prove di difesa da alcune patologie da conservazione. *Frutta e Vite - Rivista specializzata del Centro di Consulenza*, 41, 23-28.
- Romagnoli, C., Bruni, R., Andreotti, E., Rai, M.K., Vicentini, C.B., Mares, D., (2005). Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma*, 225, 57-65.
- Romanazzi, G., Nigro, E., Ippolito, A., Di Venere, D., Salerno, M. (2002). Effects of pre- and post-harvest chitosan treatments to control storage gray mold of table grape. *Journal of Food Science*, 67, 1862-1867.
- Romanazzi, G., Santini, M., Murolo, S., Masciulli, A., D’Ercole, G., Patrizio, F. (2010). Evaluation of the effectiveness of copper formulations used at reduced rates and of alternative compounds in the control of *Plasmopara viticola*. *Petria*, 20, 9-12.
- Romanazzi, G., Murolo, S., Mancini, V., Feliziani, E. (2012). Valutazione dell’efficacia contro la peronospora della vite di molecole classiche e innovative. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 451-458.



- Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., Landi, L. (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 75, 24-27.
- Romanazzi, G., Mancini, V., Feliziani, E., Servili, A., Endeshaw, S., Neri, D. (2016). Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development. *Plant Disease*, 100, 739–748.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Bautista Banos, S., Sivakumar, D. (2017). Shelf-life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 57, 579-601.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Sivakumar, D. (2018). Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: eliciting, antimicrobial and film-forming properties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2745.
- Romanazzi, G., Mancini, V., Foglia, R., Marcolini, D., Kavari, M., Piancatelli, S. (2021). Use of chitosan and other natural compounds alone or in different strategies with copper hydroxide for control of grapevine downy mildew. *Plant Disease*, 105, 3261–3268.
- Romanazzi, G., Piancatelli, S., Moumni, M., Chiarotti, R., Caproli, S., Landi, L., Murolo, S., Casturà, T., Amicucci, A., Rosa, F., Animalì, D., Coppa, D., Nardi, S., Potentini, R., D’Ignazi, G. (2022). Impiego di chitosano in innovative strategie di gestione della peronospora della vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 255-262.
- Romanazzi, G., Moumni, M. (2022). Chitosan and other edible coatings to extend shelf life, manage postharvest decay, and reduce loss and waste of fresh fruits and vegetables. *Current Opinion in Biotechnology*, 78, 102834.
- Romanazzi, G., Orçonneau, Y., Moumni, M., Davillerd, Y., Marchand, P.A. (2022). Basic substances, a sustainable tool to complement and eventually replace synthetic pesticides in the management of pre and postharvest diseases: Reviewed instructions for users. *Molecules*, 27, 3484.
- Rotolo, C., De Miccolis Angelini, R.M., Dongiovanni, C., Pollastro, S., Fumarola, G., Di Carlo, M., Perrelli, D., Natale, P., Faretra, F. (2018). Use of biocontrol agents and botanicals in integrated management of *Botrytis cinerea* in table grape vineyards. *Pest Management Science*, 74, 715–725.
- Sall, M., Wyrnsinski, J. (1982). Perennation of powdery mildew in bud of grapevines. *Plant Disease*, 66, 678.

- Samaras, A., Hadjipetrou, C., Karaoglanidis, G. (2021). *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST713 may contribute to the management of SDHI resistance in *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, 77, 1316-1327.
- Santomauro, A., Faretra, F., Tauro, G., Lospalluti, M., (1997). Miglioramenti nella protezione dell'uva da tavola dall'oidio. *Difesa delle Piante*, 20, 117-141.
- Santomauro, A., Casulli, F., Gatto, M.A., Faretra, F., (2003). Powdery mildew control with natural compounds on cucurbits. *Informatore Fitopatologico*, 53, 36-43.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J., Esker, P., McRoberts, N., Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology and Evolution*, 3, 430-439.
- Silué, D., Pajot, E., Cohen, Y. (2002). Induction of resistance to downy mildew in cauliflower by DL-amino-*n*-butanoic acid. *Plant Pathology*, 51, 97-102.
- Soylu, E.M., Kurt, S., Soyly, S., (2010). In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mold disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food and Microbiology*, 143, 183-189.
- Soares, B., Barbosa, C., Oliveira, M.J. (2023). Chitosan application towards the improvement of grapevine performance and wine quality. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 38, 43-59.
- Somma, S., Perrone, G., Logrieco, A.F. (2012). Diversity of black *Aspergilli* and mycotoxin risks in grape, wine and dried vine fruits. *Phytopathologia Mediterranea*, 51, 131-147.
- Sztejnberg, A., Galper, S., Mazar, S., Lisker, N. (1989). *Ampelomyces quisqualis* for biological and integrated control of powdery mildews in Israel. *Journal of Phytopathology*, 124, 285-295.
- Tasin, M., Sicher, C., Zeqiri, A., Simeone, V., Pertot, I. (2009). Double role of *Metschnikowia fructicola*: biocontrol agent of *Botrytis cinerea* and repellent to *Lobesia botrana*, IOBC/WPRS Bolletino, 43, 263-266.
- Tian, J., Huang, B., Luo, X., Zeng, H., Ban, X., He, J., Wang, Y., (2011). The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand. - Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. *Food Chemistry*, 130, 520-527.

- Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Vernet, G., Aziz, A. (2006). Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 114, 405-413.
- Trouvelot, S., Varnier, A.L., Allegre, M., Mercier, L., Baillieul, F., Arnould, C., Gianinazzi-Pearson, V., Klarzynski, O., Joubert, J.M., Pugin, A., Daire, X. (2008). A  $\beta$ -1,3 glucan sulfate induces resistance in grapevine against *Plasmopara viticola* through priming of defense responses, including HR-like cell death. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21, 232-243.
- Tuomisto, H.L., Hodge, I.D., Riordan, P., Macdonald, D.W. (2012). Does organic farming reduce environmental impacts? --a meta-analysis of European research. *Journal of Environmental Management*, 112, 309–320.
- Vallad, G.E., Goodman, R.M. (2004). Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science*, 44, 1920-1934.
- Vannacci G., Bianco, P.A., Bonanomi, G., Brunelli, A., Gonthier, P., Lorito, M., Polizzi, G., Rossi, V., Sarocco, S., Scortichini, M. (2021). *Patologia vegetale*, EdiSES Edizioni, Napoli.
- Velasquez-Camacho, L., Otero, M., Basile, B., Pijuan, J., Corrado, G. (2023) Current trends and perspectives on predictive models for mildew diseases in vineyards. *Microorganisms*, 11, 73.
- Younes, I., Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties, and applications. *Marine Drugs*, 13, 1133-1174.

## 11 SITOGRAFIA

[www.civiltadelbere.com](http://www.civiltadelbere.com)

[www.sklfertilizzanti.it](http://www.sklfertilizzanti.it)

[www.informatoreagrario.it](http://www.informatoreagrario.it)