



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**USO DEL CHITOSANO DA SOLO E
COMBINATO CON IL RAME PER IL
CONTROLLO DELLA PERONOSPORA
DELLA VITE IN VIGNETI COMMERCIALI**

*APPLICATION OF CHITOSAN ALONE AND COMBINED WITH COPPER FOR THE
CONTROL OF GRAPEVINE DOWNY MILDEW IN COMMERCIAL VINEYARDS*

Tesi sperimentale

Studente:
RICCARDO CHIARIOTTI

Riccardo Chiariotti

Relatore:
PROF. GIANFRANCO ROMANAZZI

Correlatore:
DOTT.SSA MARWA MOUMNI

MARWA

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

Indice

	Pag.
1. INTRODUZIONE	6
1.1. Viticoltura nelle Marche	6
2. PRINCIPALI MALATTIE CRITTOGAMICHE DELLA VITE	7
3. PERONOSPORA DELLA VITE	8
3.1. Storia	8
3.2. Classificazione e ciclo biologico	8
3.3. Infezioni primarie e secondarie	10
3.4. Sintomi	11
3.4.1. Sintomi su foglie	12
3.4.2. Sintomi su grappolo	14
3.4.3. Sintomi sugli altri organi verdi	15
4. MEZZI DI LOTTA CONTRO LA PERONOSPORA	17
4.1. Lotta integrata	17
4.2. Lotta biologica	19
5. STRATEGIE DI DIFESA	21
5.1. Modelli previsionali	21
5.2. Pratiche agronomiche	23
5.3. Resistenza varietale	24
5.4. Difesa chimica	25
5.4.1. Prodotti cuprici	27
5.4.2. Composti organici di sintesi	33
5.4.3. Composti naturali alternativi	36
6. OBIETTIVI DELLA RICERCA	41
7. PROVA SPERIMENTALE	43
7.1. Materiali e metodi	43
7.1.1. Caratteristiche generali dei vigneti	43
7.1.2. Schema sperimentale	44
7.1.3. Valutazione delle infezioni	54

8. RISULTATI	58
8.1. Dati climatici	58
8.2. Valutazione delle infezioni peronosporiche su foglie e grappoli	61
<i>8.2.1. Rilievi sul vigneto di Matelica</i>	<i>61</i>
<i>8.2.2. Rilievi sul vigneto di Castelplanio</i>	<i>76</i>
<i>8.2.3. Rilievi sul vigneto di Angeli di Varano</i>	<i>85</i>
9. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE	93
10. BIBLIOGRAFIA	95
11. RINGRAZIAMENTI	99

RIASSUNTO

Questa tesi si colloca all'interno del progetto "VITINNOVA" ed ha avuto lo scopo di valutare l'efficacia del chitosano nel controllo della peronospora della vite. La ricerca interessa soprattutto le aziende a conduzione biologica dove l'unica sostanza capace di controllare efficacemente gli attacchi di *Plasmopara viticola* è il rame, il quale però è un metallo pesante e rischia di essere bandito dalla Comunità Europea in quanto, se usato ripetutamente, è soggetto a bioaccumulo con problematiche per le piante, per l'ambiente e per la salute umana. Il chitosano è una molecola di origine naturale che ha ottenuto dei risultati positivi in laboratorio e su prove parcellari. Per questo è stato sperimentato il suo utilizzo in contesti aziendali (superfici trattate, modalità di distribuzione, volumi e tempistiche di intervento) valutando in diversi periodi lo sviluppo della malattia. La prova ha avuto luogo su tre diversi vigneti, due dell'azienda Moncaro e uno dell'azienda Belisario. Le aziende hanno messo a disposizione una porzione di ciascun vigneto che è stata suddivisa a sua volta in 5 diverse tesi, con uno schema sperimentale di blocco randomizzato, trattate nel modo seguente per tutta la durata della stagione: testimone non trattato, testimone aziendale, solo chitosano, rame alternato a chitosano e rame in miscela con chitosano. I trattamenti sono stati effettuati dal personale delle rispettive aziende, mentre i rilievi sono stati effettuati dall'Università Politecnica delle Marche. Questo ha permesso di calcolare la gravità, la diffusione e l'indice di McKinney della malattia e di valutare l'efficacia delle tecniche applicate. Nonostante l'annata sia stata caratterizzata da una bassa pressione della malattia, sono emerse delle differenze significative che confermano come il chitosano sia capace di offrire dei livelli di protezione paragonabili a quelli riscontrati nelle tesi trattate con rame.

ABSTRACT

This thesis is developed within the PSR Marche project “VITINNOVA” and the aim is to verify the effectiveness of chitosan as an alternative product of copper to control grapevine downy mildew caused by *Plasmopara viticola*. The research is important especially for organic farms where copper-based product is the only one capable to guarantee effective protection against *Plasmopara viticola*. Massive and repeated applications of this heavy metal can be dangerous for plants growth, for the environment and for human health; for this reason, copper could be banned from the European Community in the next future. Chitosan is a natural molecule that can replace copper and it was analyzed in this study. After the positive results reached in laboratory and experimental scale, chitosan has been tested in local farms for a commercial scale trial (areas, distribution, volumes and timing) analyzing the disease development in different periods. The experimental field trials were done in Matelica (Belisario’s vineyard), Castelplanio and Angeli di Varano (Moncaro’s vineyards). Wine cooperatives gave a part of each vineyard to test different treatments (chitosan alone, mix of chitosan and copper, chitosan and copper alternated, copper alone and untreated control). The treatments were applied weekly by the company. Università Politecnica delle Marche carried out field surveys on leaves and grapes in different periods of time. This allowed to calculate the incidence, the severity and the McKinney’s index of the disease and to verify the effectiveness of different treatments. This year was characterized by low amount of disease. Despite this, assessments on leaves and grapes have shown significant differences between treatments, and confirmed that chitosan can control *Plasmopara viticola*, with similar levels of protection of copper.

1. INTRODUZIONE

1.1. Viticoltura nelle Marche

La vite nelle Marche è la principale coltura arborea con circa 23.000 ha di cui il 48% iscritti all'albo dei vigneti per la produzione dei vini DOC (Figura 1). La coltivazione della vite riguarda prevalentemente le aree collinari che corrono parallele alla fascia costiera. Le Marche è una tra le regioni italiane che si è maggiormente dedicata alla valorizzazione delle uve autoctone, con risultati senza dubbio positivi. Tra queste spicca su tutte il Verdicchio, uva a bacca bianca in grado di conferire importante struttura ai vini che ne derivano. Promettenti risultati stanno dando anche Pecorino e Passerina. Molto coltivato risulta essere il Trebbiano Toscano. Anche i vitigni a bacca nera hanno riscosso molto successo e tra questi si annoverano, la Lacrima di Morro D'Alba e la Vernaccia Nera.

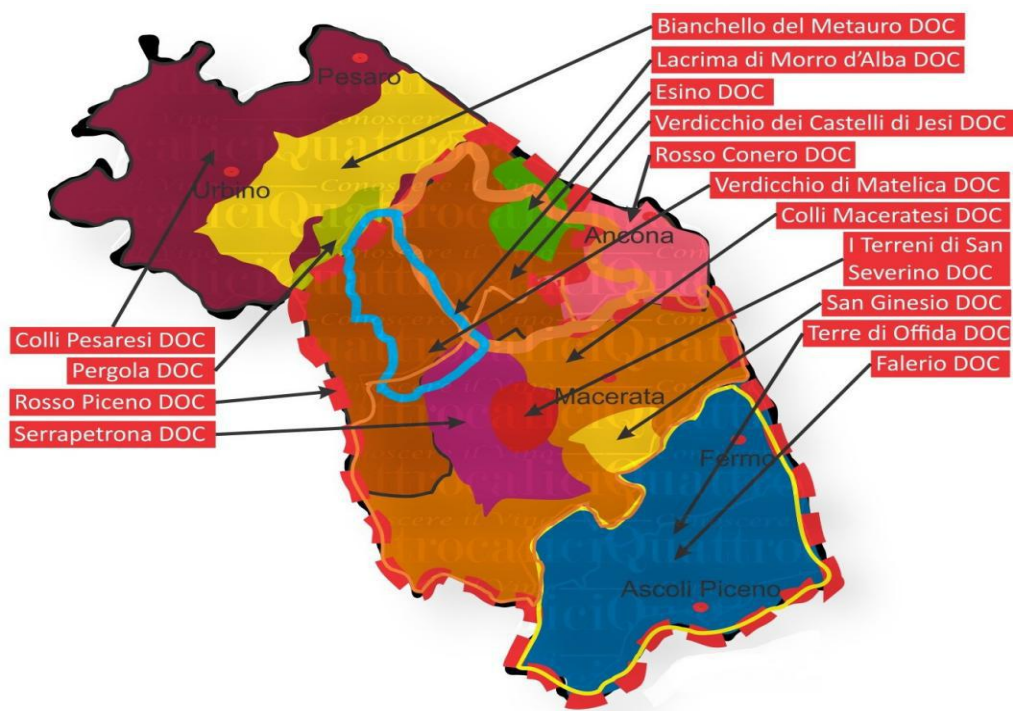


Figura 1 - Mappa regionale degli areali di produzione con Denominazione di Origine Controllata (www.quattroclici.it, ultima consultazione: settembre 2020)

2. PRINCIPALI MALATTIE CRITTOGAMICHE DELLA VITE

Le malattie fungine che interessano la coltivazione della vite sono numerose e talvolta molto distruttive. Ad ogni stagione vegetativa può esserci una prevalenza di una determinata malattia in relazione all'andamento climatico, alla suscettibilità della cultivar e alle pratiche agronomiche effettuate. Nel corso del tempo si sono studiati sia gli agenti di malattia sia le strategie di lotta, sempre più precise ed efficaci per contrastare lo sviluppo di questi patogeni. Tra le malattie crittogamiche di maggiore interesse troviamo oidio, muffa grigia, mal dell'esca e sicuramente la peronospora che sarà oggetto di studio in questa tesi (Tabella 1).

Tabella 1 - Principali avversità crittogamiche della vite

Malattie fungine	Agente causale
Peronospora	<i>Plasmopara viticola</i>
Oidio	<i>Erysiphe necator</i>
Muffa grigia	<i>Botrytis cinerea</i>
Mal dell'esca	<i>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 e lanoso	<i>Armillaria mellea</i> , <i>Rosellina necatrix</i>

3. PERONOSPORA DELLA VITE

3.1. Storia

La peronospora della vite è provocata da *Plasmopara viticola*, un agente eziologico segnalato per la prima volta in alcuni vivai della Francia nel 1878 (Belli, 2013). Si pensa che il patogeno sia arrivato nel vecchio continente attraverso viti americane spedite per la loro resistenza alla fillossera e per essere quindi utilizzate come portainnesto per le viti europee. Mentre nelle specie americane *Plasmopara viticola* causava perdite piuttosto contenute, il suo arrivo in Europa fu disastroso: *Vitis vinifera* si rivelò estremamente suscettibile al patogeno e in pochi anni ci fu una vera e propria epidemia che coinvolse l'intera Europa viticola.

3.2. Classificazione e ciclo biologico

Questo patogeno appartiene alla classe degli *Oomycetes*, ordine *Peronosporales*, famiglia *Peronosporaceae*. È un parassita obbligato che perciò ha bisogno dell'ospite per il proprio sviluppo e per la propria riproduzione. Forma un micelio cenocitico (privo di setti) nella foglia e dal micelio stesso vengono formati gli austeri, strutture di forma sferica specializzate ad instaurare un rapporto biotrofico che garantisca l'approvvigionamento di sostanze nutritive necessarie alla sua crescita senza però compromettere la vitalità della cellula dell'ospite. Il ciclo biologico di *Plasmopara viticola* è garantito dalla sua capacità di sopravvivere in assenza dei tessuti recettivi sotto forma di oospore. Queste sono prodotte dalla riproduzione sessuata di anteridi e oogoni negli organi infetti dell'ospite tra la fine dell'estate e la fase di filloptosi. Le oospore acquisiscono la capacità di germinare al termine di un periodo di maturazione che generalmente viene conseguita tra la fine di novembre e l'inizio di

dicembre (Figura 2). Le oospore mature e sopravvissute alla stagione sfavorevole, in presenza di un'adeguata umidità del terreno e temperature che si aggirano intorno ai 10° C, germinano dando origine al macrosporangio. A questo punto assumono un'importanza fondamentale le precipitazioni di una certa intensità, perché sono quelle che riescono a disperdere le strutture del patogeno dal terreno sulla chioma delle piante, dando la possibilità alle zoospore di germinare nel velo d'acqua presente sulla superficie delle foglie della vite. Dal macrosporangio quindi vengono prodotte zoospore (Gregory, 1912), le quali sono le responsabili delle infezioni primarie. Principalmente, le condizioni che influenzano la riuscita delle infezioni primarie sono tre: la natura e la quantità dell'inoculo iniziale in termini di macrosporangi vitali; le condizioni ambientali, in particolare disponibilità di acqua e di temperature adeguate; infine, la presenza di organi recettivi nell'ospite. Quest'ultima condizione prevede che le foglie siano fotosinteticamente attive, dotate quindi di stomi aperti e disposte in maniera distesa per favorire la formazione di un velo d'acqua sulla pagina inferiore, in modo che le zoospore riescano a muoversi nel fluido e raggiungere i numerosi stomi presenti in questa regione della foglia. A questo punto inizia il ciclo secondario agamico che produce sporangi e sporangiofori. Questa fase richiede temperature maggiori di 12° C (ottimale 18° C) e un'umidità relativa molto elevata (>95%) e porta alla formazione di una muffa bianca visibile sulla pagina inferiore delle foglie in corrispondenza delle classiche "macchie d'olio", osservabili invece sulla pagina superiore.



Figura 2 - Ciclo biologico di *Plasmopara viticola* (Belli, 2007)

3.3. Infezioni primarie e secondarie

La differenza consistente che c'è tra i due tipi di infezione dipende dal fatto che le infezioni primarie sono causate dalle zoospore derivanti dal ciclo sessuale mentre le infezioni secondarie sono causate dagli sporangi, i quali derivano invece dal ciclo asessuale di *Plasmopara viticola*. Le condizioni che rendono possibile il verificarsi delle infezioni primarie sono riassunte nella cosiddetta regola dei tre dieci messa a punto da Baldacci nel 1947: essa prevede che la contaminazione dovuta all'inoculo prodotto dalle oospore avvenga quando la temperatura minima sia intorno ai 10° C, sia caduta una pioggia di almeno 10 mm in due eventi piovosi nel giro di 24-48 ore e la lunghezza dei tralci sia di almeno 10 cm (Belli, 2013). L'inoculo formatosi a seguito della germinazione delle oospore può dar luogo a più ondate successive di infezioni primarie nel caso in cui ci siano condizioni favorevoli, ossia prolungata umettazione della vegetazione provocata da eventi piovosi ripetuti. Una volta

avvenuta l'infezione primaria si va incontro ad un periodo di incubazione (lasso di tempo tra il momento dell'infezione e la comparsa della macchia d'olio) che ha durata variabile dai 4 ai 15 giorni in relazione alle condizioni metereologiche. Alla fine del periodo di incubazione, in condizioni favorevoli, può avvenire la formazione degli sporangi. Questi sono i responsabili delle infezioni secondarie e si originano a seguito di almeno 4 ore di buio con temperatura maggiore di 13° C e umidità relativa che si aggira intorno al 98%. I rami sporangiofori, che si manifestano come muffa bianca sulla pagina inferiore delle foglie in corrispondenza delle macchie d'olio, producono i microsporangi che contengono le zoospore, le quali vengono disperse da acqua e aria. Sicuramente la dispersione con le precipitazioni è quella più efficace perché è in grado di liberare lo sporangio dal ramo sporangioforo e allo stesso tempo l'acqua fa da vettore e aiuta l'infezione nel nuovo organo della pianta. Anche il vento può effettuare queste azioni di distacco e trasporto ma l'intensità deve essere elevata e l'infezione risulta meno efficace in quanto viene a mancare l'umettazione sull'organo verde dell'ospite. In ogni caso le infezioni secondarie sono strettamente legate alla temperatura in quanto se si presentano valori inferiori a 5° C o superiori a 29° C si ha una perdita di vitalità degli sporangi e una riduzione drastica delle probabilità di infezione.

3.4. Sintomi

La peronospora è una malattia che colpisce tutti gli organi verdi della pianta in quanto il patogeno attacca l'ospite penetrando attraverso gli stomi. I danni provocati da questa malattia possono essere distinti in diretti o indiretti in base alla relazione con l'attività del patogeno stesso. Si parla di danni diretti quando si ha un calo della

produzione o di superficie fotosintetizzante a causa dello sviluppo del patogeno, mentre i danni indiretti riguardano il peggioramento della salute della pianta e la minore qualità del prodotto finale in termini di zuccheri, aromi ed altri componenti minori.

3.4.1. Sintomi su foglie

Le foglie risultano essere organi suscettibili all'attacco di *Plasmopara viticola* dopo il superamento delle fasi iniziali dove gli stomi non differenziati o ancora inattivi bloccano la penetrazione del patogeno. Tuttavia, con l'avanzare dello sviluppo vegetativo, le foglie possono essere attaccate e possono di conseguenza presentare i sintomi tipici della malattia. In particolare, il classico sintomo della peronospora si presenta sulla pagina superiore e consiste in una macchia giallastra traslucida comunemente denominata "macchia d'olio" (Figura 3 A). Alla macchia d'olio inoltre, in caso di condizioni climatiche favorevoli (elevata umidità), corrisponde sulla pagina inferiore un'efflorescenza mucosa biancastra costituita dalle strutture di riproduzione asessuata del patogeno (Figura 3 B). Questa solitamente è di forma rotondeggiante e può essere di dimensioni variabili (Figura 4). Se l'infezione è precoce la malattia può provocare gravi danni in quanto la macchia d'olio tende a necrotizzare (dal centro alla periferia). Questo provoca nella peggiore delle ipotesi la parziale defogliazione della vite, che si traduce in un drastico peggioramento quanti-qualitativo della produzione dell'anno e si può ripercuotere anche sulle produzioni degli anni futuri influenzando negativamente il processo di lignificazione dei tralci. Le foglie, con la crescita e l'ispessimento dei tessuti stessi, tendono ad acquisire una resistenza ontogenetica agli attacchi di *Plasmopara viticola* in quanto

le nervature creano delle barriere naturali per lo sviluppo delle ife del patogeno che provoca degli ingiallimenti “a mosaico” tra una nervatura e l’altra.

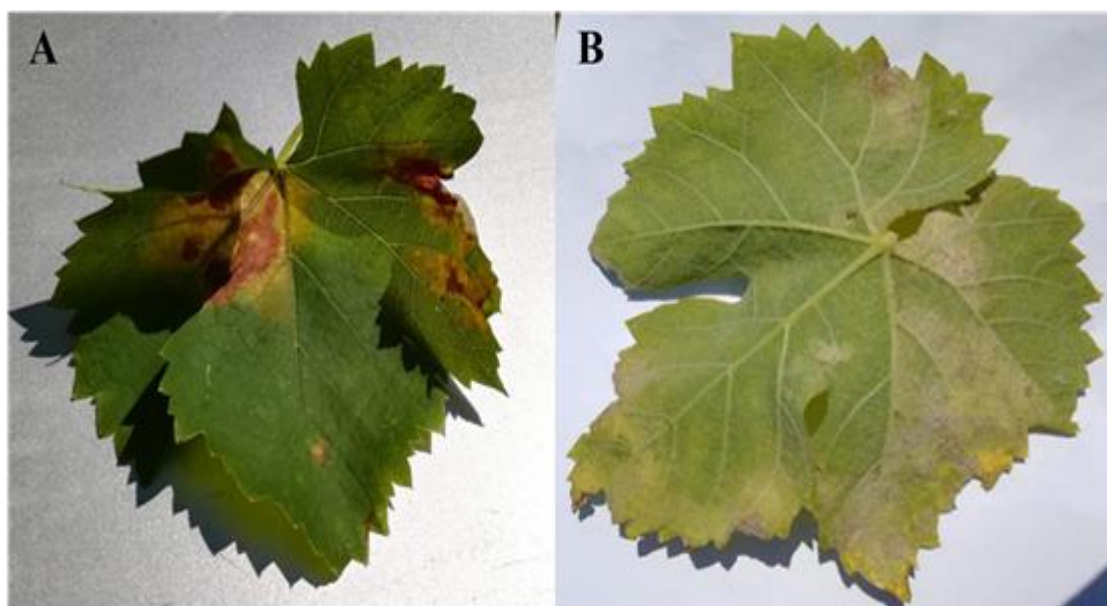


Figura 3 - Pagina superiore (A) ed inferiore (B) di foglie colpite da *Plasmopara viticola*

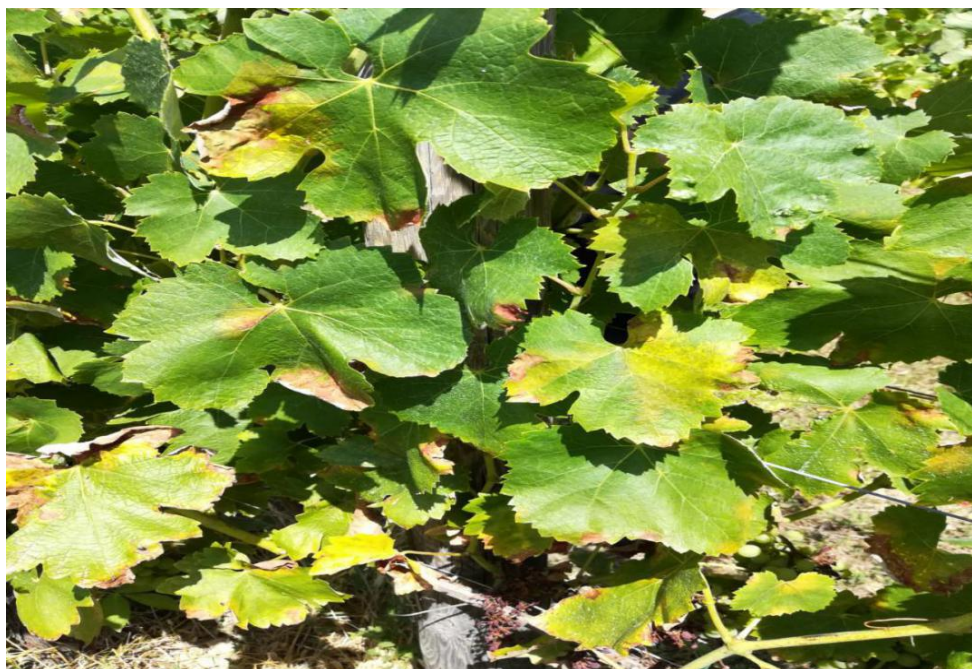


Figura 4 - Macchie d’olio diffuse di forma rotondeggiante e di dimensioni variabili sulle foglie di vite

3.4.2. Sintomi su grappolo

Anche il grappolo risulta essere suscettibile a *Plasmopara viticola* e si riscontrano sintomi diversi in base all'epoca di infezione. Se questa riguarda giovani infiorescenze infatti, si assiste ad un leggero viraggio di colore che risulta essere poco evidente. Al contrario se l'infezione avviene in presenza di fiori e rachide si assiste ad una sporulazione molto evidente che indica chiaramente la presenza del patogeno. In altri casi l'attacco al rachide induce un incurvamento dello stesso che assume una tipica "forma ad esse" causata dall'arresto della crescita dei tessuti infetti (Figura 5 A). In ognuno di questi casi, che rientrano comunque nelle infezioni precoci, l'effetto prodotto dal patogeno è la necrosi dell'intera infiorescenza che si traduce in una perdita più o meno grave del raccolto. Diversamente invece accade dopo l'allegagione quando in caso di infezione si parla di "peronospora larvata". Con questo termine si indica il processo tipico degli acini che assumono una colorazione rossastra che vira verso il bruno-violaceo. Successivamente l'acino tende a raggrinzire e disseccare (Figura 5 B). In questi grappoli però non si osserva sporulazione in quanto la degenerazione dell'acino e degli stomi impedisce la fuoriuscita del patogeno dal tessuto vegetale.



Figura 5 - Tipico ripiegamento ad esse del rachide nel primo caso (A) e peronospora larvata nel secondo (B)

3.4.3. Sintomi sugli altri organi verdi

Gli altri organi verdi della pianta, come ad esempio i giovani tralci, subiscono infezioni da *Plasmopara viticola* più raramente rispetto alle foglie ed ai grappoli. Tuttavia, quando vengono attaccati il primo sintomo che si evidenzia è una leggera clorosi, raramente seguita dalla tipica sporulazione dell'oomicete. L'infezione solitamente avviene nelle vicinanze degli internodi oppure, in maniera indiretta, nei piccioli delle foglie (Figura 6). Il patogeno in entrambi i casi provoca un'infezione che raramente interessa l'intera circonferenza del tralcio e molto spesso invece resta confinata nei tessuti superficiali dell'organo colpito. Con il progredire della malattia i tralci tendono ad assumere un andamento contorto e presentano fenomeni di ipertrofia cellulare. È proprio questa ipertrofia che causa una differenza di sviluppo

tra la parte sana e la parte infetta facendo assumere al tralcio una tipica “forma ad esse”. La parte infetta inoltre tende a necrotizzare. Sicuramente la fase di maggiore recettività di questi organi è durante la stagione vegetativa e in particolare quando sono in funzione gli stomi. Per quanto riguarda invece la fase di lignificazione, questa può ugualmente essere interessata da fenomeni di infezione che provocano sintomi più lievi come limitate lesioni dei tessuti corticali e piccoli cancri. In conclusione, si può dire che le conseguenze causate da un attacco peronosporico in qualsiasi organo della vite possono essere gravi e problematiche sia per la produzione annuale che per le produzioni future e pertanto bisogna conoscere il patogeno e le strategie di difesa per contenerlo.



Figura 6 - Infezione da *Plasmopara viticola* su un giovane tralcio in prossimità dell'internodo

4. MEZZI DI LOTTA CONTRO LA PERONOSPORA

Plasmopara viticola a distanza di 120 anni dalla sua comparsa in Europa, risulta essere ancora oggi di difficile controllo e rappresenta una delle principali avversità della vite. Per poter applicare misure razionali di contenimento di una data malattia occorre prima essere certi della diagnosi effettuata, conoscere le caratteristiche del patogeno in questione, le condizioni ambientali che lo favoriscono, le eventuali difese naturali della specie o della varietà presa in esame. Inoltre, qualsiasi sia la metodologia di lotta adottata, si deve sempre tener conto di due principi fondamentali:

- la salvaguardia della salute delle persone sia in termini di operatori che svolgono l'attività di difesa sia in termini di consumatori finali che richiedono un prodotto sano;
- il rispetto degli equilibri ecologici che in molti casi garantiscono un contenimento naturale di patogeni e fitofagi economicamente dannosi per l'attività agricola.

4.1. Lotta integrata

In Italia, il Decreto Legislativo n. 150 del 14 agosto 2012, che recepisce la direttiva 2009/128/CE, sancisce l'obbligo della difesa integrata per tutti gli utilizzatori professionali di prodotti fitosanitari e definisce la lotta integrata come *“l'attenta considerazione di tutti i metodi di protezione fitosanitaria disponibili e conseguente integrazione di misure appropriate intese a contenere lo sviluppo di popolazioni di organismi nocivi e che mantengono l'uso dei prodotti fitosanitari e altre forme d'intervento a livelli che siano giustificati in termini economici ed ecologici e che riducono o minimizzano i rischi per la salute umana e per l'ambiente.*

L'obiettivo prioritario della difesa integrata è la produzione di colture difese con metodi che perturbino il meno possibile gli ecosistemi agricoli e che promuovano i meccanismi naturali di controllo fitosanitario” (articolo 3, Decreto Legislativo n. 150/2012). Con questo testo di legge quindi si definisce l'obbligo di puntare verso sistemi agricoli sostenibili e a basso impatto ambientale. Questo tipo di concetto è sicuramente di recente fattura ed ha preso campo grazie ad una sempre maggiore sensibilità verso l'ambiente e grazie anche alla constatazione che le strategie di lotta messe in atto in passato presentavano molti punti critici. In particolare, era molto diffuso un approccio calendarizzato alla difesa fitosanitaria ed era pratica comune l'uso ripetuto ed esclusivo di mezzi chimici per il contenimento di organismi dannosi alle colture. In questo contesto, si sono sempre più diffusi fenomeni di resistenza dei patogeni stessi ai vari principi attivi, con la necessità quindi di immettere continuamente nel mercato nuovi prodotti. Inoltre, non di minore importanza, il continuo ricorso agli input chimici porta con sé problemi dal punto di vista degli eccessivi residui dei principi attivi sia nella produzione destinata all'uso alimentare sia nell'ambiente, provocando gravi danni agli ecosistemi naturali. Infine, va considerato che l'eccessivo impiego indiscriminato di questi mezzi avrebbe potuto creare ripercussioni sulla salute degli operatori che eseguivano i trattamenti. Sulla base di questi concetti, la ricerca in questo campo ha come obiettivo quello di valutare le possibilità di applicazione di altre strategie di difesa fitosanitaria meno impattanti e pericolose, che in alcuni casi hanno già mostrato ottimi risultati dal punto di vista della sostenibilità ambientale, sanitaria ed economica. Nella lotta integrata dunque sono coinvolti sia mezzi diretti che indiretti nei confronti delle avversità e in campo ci si può avvalere, in particolare, di mezzi agronomici, genetici, biotecnologici e

biologici ad integrazione o sostituzione dei mezzi chimici. I mezzi agronomici riguardano gli interventi effettuati sia in fase di preimpianto sia con coltura in atto; spesso non sono risolutivi ma preventivi e possono disincentivare fortemente lo sviluppo dei patogeni, creando condizioni sfavorevoli o evitando l'instaurarsi di quelle favorevoli agli organismi dannosi, e di conseguenza ridurre il rischio di infezione. Strettamente legato alla ricerca è l'impiego di piante resistenti che può portare a un drastico calo degli interventi con prodotti chimici. I mezzi biologici invece sono riferiti all'utilizzo di organismi antagonisti dei patogeni. Infine, un altro pilastro della lotta integrata è l'impiego di materiale di propagazione sano che garantisce l'assenza di organismi dannosi all'impianto. Tutte queste strategie hanno lo scopo di evitare interventi chimici superflui, trattando con dei mezzi chimici solo ed esclusivamente in presenza di un rischio reale o molto probabile di infezione con prodotti di elevata qualità dal punto di vista eco-tossicologico.

4.2. Lotta biologica

In Europa la produzione biologica è disciplinata dal regolamento CE n. 834/2007 e dal successivo regolamento d'esecuzione CE n. 889/2008. In questo sono riportati due principi fondamentali:

- *“la produzione biologica vegetale si basa sul principio che le piante debbano essere essenzialmente nutrite attraverso l'ecosistema del suolo”;*
- *“l'impiego di pesticidi che possono avere conseguenze nocive per l'ambiente o dare origine a residui nei prodotti agricoli deve essere fortemente limitato. È opportuno dare la preferenza all'applicazione di misure preventive nella lotta contro i parassiti, le malattie e le erbe infestanti”.*

Con queste disposizioni risultano chiari gli obiettivi dell'agricoltura biologica che non mira ad avere una produzione quantitativamente importante ma pone più l'attenzione in quegli aspetti che riguardano il contenuto di sostanza organica nel suolo, l'ecosistema in termini di biodiversità (spesso minacciata dallo sfruttamento intensivo delle superfici) e la limitazione quasi totale dei mezzi tecnici di sintesi a favore di pratiche agronomiche e mezzi naturali per la lotta contro le avversità. È proprio in quest'ambito che assume un'importanza fondamentale il rapporto pianta-ambiente che può portare a importanti vantaggi in caso di scelta oculata. Questo è anche alla base del concetto di "terroir" che è nato in Francia per indicare come il pedoclima tipico di un determinato luogo porti alla realizzazione di vini unici nel loro genere. Nonostante ciò ci sono dei patogeni che risultano essere difficilmente controllabili e tra questi si può trovare proprio *Plasmopara viticola*. Attualmente in agricoltura biologica il principale mezzo di lotta è il rame perché è l'unico con una buona efficacia contro il patogeno mentre le possibilità alternative risultano scarsamente efficaci (Dagostin e Pertot, 2007). L'uso di prodotti cuprici ha inoltre un importante vantaggio che è quello di evitare l'insorgenza di resistenze nei patogeni dovuto al fatto che svolgono un'azione tossica multisito. Tuttavia, non è da dimenticare che il rame, essendo un metallo pesante, può essere accumulato sia nei frutti, determinando un peggioramento qualitativo, sia nel terreno dove provoca un'inibizione dello sviluppo dei microrganismi e dei lombrichi giungendo talvolta a concentrazioni tossiche per la vite stessa.

5. STRATEGIE DI DIFESA

I danni ingenti che la peronospora è in grado di provocare su *Vitis vinifera* rende necessario mettere a punto strategie che consentano al viticoltore di conseguire un raccolto soddisfacente. Il principio su cui si basano tutte le strategie di lotta contro la peronospora è quello della prevenzione che deve garantire un basso livello di pressione della malattia durante la stagione vegetativa. Questo obiettivo è fondamentale in quanto essendo un patogeno policiclico, in condizioni favorevoli, può provocare perdite onerose anche a partire da una piccola quantità di oospore svernanti.

5.1. Modelli previsionali

Nel corso degli anni, l'assistenza tecnica alle aziende agricole, ha subito profondi mutamenti avvalendosi della crescente professionalità dei tecnici del settore e dell'utilizzo di strumenti e supporti sempre più precisi. I modelli epidemiologici sono gli strumenti più moderni che si hanno attualmente a disposizione per razionalizzare gli interventi antiperonosporici in funzione del reale rischio infettivo. L'attività si concretizza nel fornire ai viticoltori, attraverso un puntuale sistema di avvertimento, indicazioni tempestive sulle linee di difesa da adottare, in relazione all'epoca d'intervento e ai prodotti fitosanitari più appropriati nelle varie situazioni. I modelli previsionali legati alle patologie fungine si basano su algoritmi che mettono in relazione i dati meteorologici (pioggia, temperatura, umidità relativa, bagnatura fogliare) con parametri di sviluppo dei funghi (es. maturazione, germinazione, dispersione delle oospore) per individuare il momento di avvio delle infezioni e la loro evasione sul tessuto vegetale. Molti di questi sono stati sviluppati per una

migliore gestione dei trattamenti fungicidi, in particolare per il controllo delle infezioni primarie (Caffi et al., 2007). Tra i principali modelli previsionali in uso per il monitoraggio di *Plasmopara viticola* troviamo sicuramente i modelli IPI e UCSC. Il modello IPI (Indice Potenziale Infettivo) fornisce indicazioni sulla prima pioggia potenzialmente infettante, in sostituzione della vecchia «regola dei tre dieci» mentre il modello UCSC (Dowgrapri-Downy Mildew Grape Primary Infection) offre un disegno di tutte le infezioni primarie che si verificano nel corso della stagione. Per fare questo il modello UCSC utilizza dati orari di temperatura dell'aria, umidità relativa, pioggia e bagnatura fogliare per simulare dettagliatamente i processi infettivi. Il modello, di tipo meccanicistico, si basa sul concetto fondamentale secondo cui la popolazione di *Plasmopara viticola* all'interno di un vigneto è composta da diverse famiglie di oospore che, durante il periodo invernale, si trovano in fase di quiescenza. Queste famiglie devono superare un determinato e graduale periodo di latenza, dopo il quale iniziano a germinare. Il processo di simulazione della germinazione prende avvio a ogni evento piovoso in grado di bagnare la lettiera di foglie del vigneto. La simulazione può essere interrotta in ogni fase del processo infettivo, se le condizioni climatiche non sono favorevoli al patogeno, così come può completarsi sino alla comparsa dei sintomi sulla vegetazione. In pratica il processo infettivo viene scomposto in sei differenti fasi: superamento della latenza (temperatura e bagnatura della lettiera), germinazione delle oospore (bagnatura fogliare), sopravvivenza degli macrozoosporangi (circa due giorni in condizioni ottimali), rilascio e dispersione delle oospore (bagnatura fogliare), infezione (temperatura e durata della bagnatura fogliare), incubazione (temperatura e umidità dell'aria). Tra i due modelli previsionali presi in esame senza dubbio l'UCSC è più

articolato rispetto all'IPI che invece si basa su misure meteorologiche giornaliere per un breve periodo (a partire dal 1° marzo). Tuttavia, è da precisare come la numerosità delle variabili prese in esame dal modello UCSC deve essere accompagnata da un adeguato numero di stazioni meteorologiche soprattutto in caso di vaste aree di coltivazione. Ciò è necessario in quanto piccole imprecisioni dei dati meteo possono portare a squilibri previsionali importanti. Proprio per questo, in aree dove il dato meteorologico risulta essere poco analitico, si preferisce l'uso del modello IPI. Esistono anche altri modelli previsionali che sono in grado di simulare la progressione delle infezioni secondarie a partire dalla comparsa in campo dei primi sintomi o dall'avvenuta infezione in funzione della «regola dei tre dieci». Sistemi previsionali di questo tipo sono il Vinemild, messo a punto in Svizzera, il Pro, elaborato in Germania, il Milvit in Francia e il Plasmo in Italia. Purtroppo, questi sistemi, dal punto di vista pratico, seppure precisi e affidabili, risentivano della mancanza dell'informazione relativa al momento esatto in cui prendevano avvio le infezioni primarie, vero nodo cruciale su cui si basano tutte le strategie di difesa.

5.2. Pratiche agronomiche

Le adeguate pratiche agronomiche rientrano tra le strategie di difesa ma bisogna specificare che la loro adozione non è risolutiva a causa della suscettibilità che la vite presenta nei confronti di *Plasmopara viticola*. Sicuramente delle scelte agronomiche corrette contribuiscono al contenimento dei danni e costituiscono una premessa indispensabile per impostare una lotta che sia il più efficace possibile contro il patogeno. Un fattore di centrale importanza è l'eventuale presenza di vigneti abbandonati che avvantaggiano l'oomicete costituendo una notevole fonte di inoculo

per gli impianti vicini. Pertanto, risulta indispensabile l'eliminazione di questi vigneti. Anche nella fase d'impianto bisogna considerare le caratteristiche dei diversi patogeni che colpiscono la vite e in particolare a causa di *Plasmopara viticola* si devono evitare le zone di fondovalle e le zone dove in generale tendono a verificarsi frequenti ristagni idrici. Per quanto riguarda invece gli interventi da fare durante la gestione del vigneto, questi riguardano soprattutto l'arieggiamento della fascia vegetativa, soprattutto intorno ai grappoli. Gli accorgimenti tecnici riguardano il mantenimento di una giusta carica di gemme durante la potatura invernale, effettuare una puntuale potatura verde per eliminare i germogli inutili e cimare quelli portanti i grappoli, effettuare una defogliazione che può essere più intensa nella parete del filare meno esposta alla luce del sole ed evitare ristagni di acqua con opportune lavorazioni del terreno. Altre pratiche agronomiche di importanza rilevante riguardano la corretta gestione dell'interfila e dei residui di potatura.

5.3. Resistenza varietale

La suscettibilità a *Plasmopara viticola* accomuna tutte le varietà di *Vitis vinifera*. Tuttavia, esistono anche specie di *Vitis*, appartenenti soprattutto al ceppo americano (*V. rotundifolia*, *V. riparia*, *V. cordifolia*, *V. rupestris* e *V. berlandieri*), che presentano una resistenza proprio nei confronti del patogeno a seguito di una forte selezione dovuta alle condizioni ambientali in cui si sono sviluppate. Il problema principale consiste nel fatto che le specie americane di *Vitis* risultano inadatte alla produzione di vino in quanto le uve prodotte non rispettano gli standard di qualità. Proprio su questi concetti si sono basati gli studiosi per effettuare un programma di miglioramento genetico volto a trasferire i geni di resistenza all'interno del genoma

della tipica vite europea. Le tecniche con cui effettuare questo tipo di trasferimento sono essenzialmente tre: l'incrocio tradizionale, la transgenesi (che vede l'inserimento nella pianta di un gene estraneo) e la cisgenesi (con la quale viene inserito un gene di un organismo della stessa specie). Strettamente legata a quest'ultima è poi il genome editing, tecnica che consente di effettuare interventi molto precisi con cui si sono ottenute alcune varietà resistenti a peronospora e oidio. Il miglioramento genetico nel campo vitivinicolo è fondamentale per limitare l'uso del rame e di altri fitofarmaci che causano una pressione ambientale elevata: proprio per la difesa delle cultivar tradizionali di vite vengono utilizzate annualmente 62.000 t di fungicidi, pari al 65% di tutti i fungicidi usati in agricoltura in un'area che è pari al 3% della superficie agricola (EUROSTAT 2007). A fronte di questo evidente punto di forza troviamo però dei limiti legislativi che prevedono il divieto di coltivazione di ibridi ed OGM che presentino meno del 95% di genoma della vite tradizionale oltre al fatto che le uve derivanti da queste piante possono essere destinate solamente alla produzione di vini generici o IGT (dal 2014). Per quanto riguarda i vini DOC invece l'utilizzo di queste uve non è stato ancora permesso ad eccezione di regioni come Lombardia, Veneto e Trentino Alto-Adige (Foria e Di Gaspero, 2010).

5.4. Difesa chimica

Il ricorso a prodotti fitosanitari dotati di attività antiperonosporica è reso necessario, fino a questo momento, dalla inefficacia dei mezzi di lotta alternativi e dalla collocazione dei vigneti in zone dalle caratteristiche climatiche favorevoli al verificarsi di gravi epidemie (Belli 2004). Il principio su cui si basa la difesa chimica

è quello della prevenzione che mira a limitare il più possibile le infezioni scongiurando l'utilizzo di trattamenti curativi. La lotta a *Plasmopara viticola* può essere impostata secondo due criteri differenti: il primo considera il rischio di infezione sempre presente in vigneto e richiede quindi l'esecuzione dei trattamenti in funzione della presenza di tessuti recettivi alle infezioni (copertura continua); il secondo prevede che il processo infettivo si possa instaurare al verificarsi di determinati eventi climatici (lotta guidata). In entrambi i casi i trattamenti devono assicurare la copertura nell'intero periodo di sviluppo del patogeno pertanto i trattamenti dovranno essere ripetuti ad intervalli che dipendono dalla persistenza del principio attivo utilizzato (Figura 7).

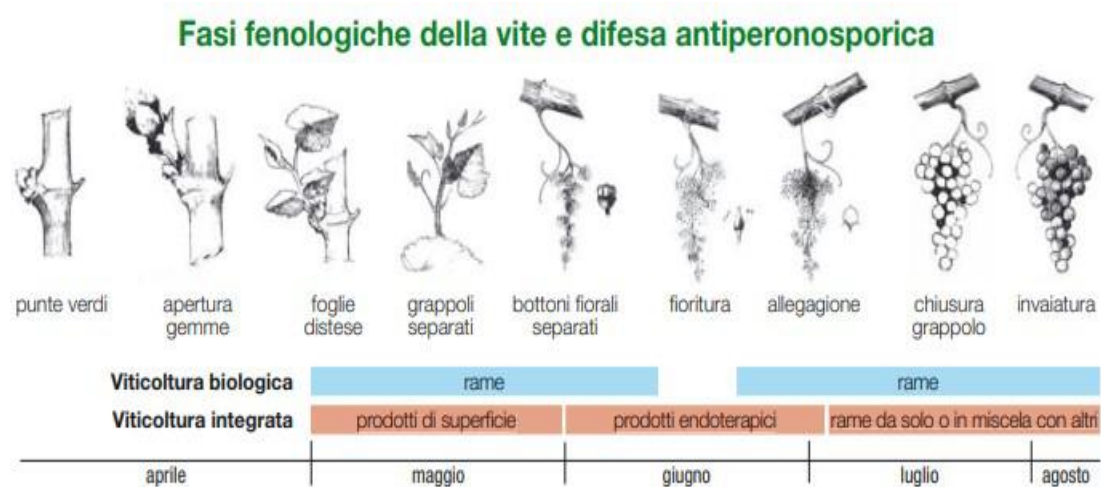


Figura 7 - Schema della difesa chimica in relazione alle fasi fenologiche della vite sia in agricoltura biologica che in agricoltura integrata (L'Informatore Agrario, 2017)

È di centrale importanza conoscere le caratteristiche degli agrofarmaci che vengono utilizzati e in particolare la classificazione principale li divide in base allo spettro

d'azione: i fungicidi di superficie rimangono all'esterno del vegetale; i citotropici e translaminari vengono assorbiti dal vegetale e si ridistribuiscono localmente all'interno dei tessuti fino ad attraversare la lamina fogliare, mentre i sistemici entrano nei tessuti conduttori e possono essere traslocati a distanza notevole dal punto di applicazione raggiungendo i vari organi vegetali. In merito alla lotta contro la peronospora la molecola più utilizzata nella storia della viticoltura è il rame che fu introdotto pochi anni dopo la comparsa del patogeno in Europa e che ancora oggi resta un cardine della difesa della vite sia in agricoltura integrata che in quella biologica (unico trattamento efficace e permesso). Tuttavia, a seguito di limitazioni legislative volte alla riduzione dell'impatto ambientale da parte di questo metallo pesante, hanno preso il via numerose sperimentazioni relative a formulati innovativi a basso dosaggio di rame o a nuove molecole meno impattanti che potrebbero essere utilizzate in maniera complementare al rame o addirittura sostituirlo completamente.

5.4.1. Prodotti cuprici

Nel 1882 Pierre Millardet, un professore di botanica dell'Università di Bordeaux, si accorse che nel Médoc (regione della Francia sud-occidentale, nel dipartimento della Gironda), lungo le strade, le viti che erano state imbrattate con un miscuglio di rame e calce per scoraggiare i ladruncoli, erano meno ammalate di quelle non sporcate dalla suddetta poltiglia. Dopo varie prove, che con grande intuizione il professore condusse per ben dosare il rapporto tra il solfato di rame e la calce, ebbe origine quella che poi fu da tutti chiamata «poltiglia bordolese» proprio perché sperimentata negli areali viticoli di Bordeaux. Dal 1° aprile del 1885 la poltiglia bordolese, cioè il solfato di rame neutralizzato con la calce, fece il suo ingresso

ufficiale nella fitoiatria internazionale. Nel 1887 una Commissione istituita dal nostro Governo stabilì che la poltiglia bordolese, e di conseguenza il rame, era un ottimo rimedio per prevenire alcune malattie causate da funghi. Oggi, dopo 130 anni le proprietà fitoiatriche del rame e dei suoi derivati non sono ancora state messe in discussione. I composti rameici rientrano nella classificazione dei prodotti di superficie e il loro meccanismo d'azione è definito "multisito". Questo sta a significare che agiscono su più funzioni vitali delle cellule non provocando problemi legati a fenomeni di resistenza che invece potrebbero insorgere in caso di prodotti "monosito" che penetrano nella pianta e agiscono esclusivamente su un bersaglio specifico delle funzioni cellulari. Non ultimo per importanza, queste sostanze non hanno nessun effetto collaterale nei confronti degli insetti utili e quindi non arrecano alcun danno per esempio ai fitoseidi che sono i predatori dei temibili acari (ragnetti rossi o gialli delle colture). I prodotti cuprici possono avere anche effetti di contenimento collaterali nei confronti di altri patogeni non bersaglio: possono contribuire a irrobustire la cuticola fogliare o la buccia dei frutti e renderli così meno suscettibili a ferite e conseguenti attacchi di altri patogeni, come i marciumi dei frutti. L'attività antifungina viene espletata dallo ione Cu^{++} , potente biocida, in presenza di anidride carbonica atmosferica e/o emessa dalla pianta (Fontana, 1957). Lo ione si sostituisce ad alcuni cationi essenziali, come idrogeno, calcio e magnesio, formando dei chelati nella parete chitinoso di conidi, spore e micelio e provoca all'interno delle cellule fungine due tipi di azione:

- denaturazione delle proteine di membrana (alterazione della permeabilità)
- alterazione dei processi enzimatici (alterazione della respirazione e dell'attività ossido-riduttiva)

Tutto questo provoca innanzi tutto un blocco della germinazione di spore e conidi poi la morte delle cellule del parassita. L'efficacia dei prodotti cuprici dipende dalla velocità con cui vengono liberati gli ioni rameici; la prontezza di azione varia quindi con il tipo di preparato, la formulazione e le caratteristiche chimico-fisiche. In particolare, risultano di fondamentale importanza le dimensioni e la struttura delle particelle: L'efficacia aumenta al diminuire delle dimensioni e al diminuire del numero di passaggi chimici che il rame subisce prima di rilasciare lo ione. Tuttavia, esistono anche dei problemi legati all'utilizzo ripetuto del rame. Il primo problema è di certo che il rame è un metallo pesante e che, pertanto, deve essere impiegato con particolare rigore e parsimonia. Infatti, nel corso di un ciclo vegetativo di una coltura, una quantità di rame notevole cade sul terreno, dove viene trattenuto dalla sostanza organica e dai colloidali e accumulato negli anni. In queste situazioni a subire le maggiori conseguenze negative sono gli organismi che vivono nel suolo, in particolare i lombrichi con la loro presenza e attività risultano molto importanti nei processi rigenerativi del suolo e della trasformazione della sostanza organica in preziosi elementi per la nutrizione delle piante. Altro aspetto di negatività che può verificarsi a seguito di trattamenti con prodotti rameici è la fitotossicità, cioè la possibilità che l'intervento con rame provochi danni alla coltura trattata. Questa probabilità si può verificare in caso di impiego in dosi più elevate, su colture non registrate o su colture registrate ma in fasi fenologiche non tollerate o infine in caso di particolari situazioni climatiche. Proprio a seguito di queste problematiche i prodotti rameici sono stati e sono oggetto di una continua evoluzione tecnologica, che ha permesso alle industrie agrofarmaceutiche di ottenere formulati cuprici efficaci a dosi sempre più basse di rame. Questo obiettivo è stato possibile attraverso

formulazioni e granulometrie capaci di aumentare l'adesività e la persistenza del rame sugli organi trattati, ma anche di velocizzare la disponibilità degli ioni Cu^{++} . Infatti, nel corso degli anni i fungicidi rameici sono stati oggetto di limitazioni al loro utilizzo con l'introduzione prima del regolamento CE n. 473/2002, con cui si è disposto il vincolo di non oltrepassare l'apporto di 6 kg/ha all'anno di rame metallo e, più recentemente, con il regolamento n. 2018/1981, che sancisce e porta il limite di legge per la quantità di rame distribuita a 28 kg/ha in 7 anni (media di 4 kg/ha all'anno). Tra gli antiperonosporici a base di rame più utilizzati troviamo:

- **POLTIGLIA BORDOLESE ($\text{CuSO}_4 / 3\text{Cu}(\text{OH})_2 / 3\text{CaSO}_4$)**

Si tratta della più antica miscela antiperonosporica utilizzata dai viticoltori. È formata da solfato di rame e idrossido di calcio all'1 %, vale a dire preparata con 1 Kg di solfato di rame e 1 Kg di calce spenta per ogni 100 litri di acqua. Il problema principale è quello di riuscire ad ottenere una soluzione neutra, con l'ausilio delle cartine tornasole; se è troppo acida brucia le foglie e aderisce poco alla vegetazione, se è troppo basica permane a lungo sulla vegetazione, ma non possiede un'efficace azione anticrittogamica contro la peronospora. La poltiglia non dovrebbe essere eccessivamente acida in quanto essa rende solubile il metallo, causando problemi di fitotossicità (Deer e Beard, 2001). Le attuali poltiglie industriali sono chimicamente neutre ed hanno il pregio di persistere maggiormente sulla vegetazione rispetto alle altre formulazioni, ma hanno un rilascio di ioni rame molto lento.

- **OSSIDO RAMEOSO (Cu_2O) E RAMEICO (CuO)**

Sono due composti che rientrano nella classificazione dei composti di rame con ossigeno. Si presentano sotto forma di polvere amorfa e sono caratterizzati da elevato peso molecolare. Sono leggermente fitotossici per la pianta e l'adesività sulla

vegetazione trattata è in funzione delle dimensioni delle particelle del prodotto stesso. La sospensione in acqua è fortemente limitata nel tempo a causa dell'elevato peso specifico che tende a far precipitare il prodotto. Per questi motivi in commercio si trovano dei granuli micronizzati che garantiscono maggiore solubilità e maggiore adesività sugli organi verdi.

- IDROSSIDO DI RAME [Cu(OH)₂]

Rispetto ad altri sali rameici l'idrossido ha la caratteristica di avere una migliore prontezza d'azione per la piccola dimensione delle sue particelle che assicurano una liberazione massiccia e istantanea di ioni Cu⁺⁺. È una caratteristica fondamentale che fa preferire questo prodotto in caso di trattamenti fitoterapici tempestivi. Altre caratteristiche da tenere in considerazione sono la fitotossicità e la persistenza infatti l'idrossido di rame è meno fitotossico, ma allo stesso tempo meno persistente della poltiglia bordolese (Delaiti e Sandri, 2005). La persistenza dell'idrossido di rame risulta essere comunque maggiore rispetto agli altri sali presenti sul mercato. Inoltre una caratteristica tipica di questo composto è la rimobilizzazione sulla vegetazione in caso di forte umidità ambientale.

- PEPTIDATO DI RAME

Si tratta di un prodotto complessato con aminoacidi ottenuti per idrolisi enzimatica. Questo processo permette di ottenere un agrofarmaco che risponde alle attuali necessità di riduzione delle percentuali di rame utilizzabile sulle piante e nel terreno (quantità pari al 5%). Ciò è possibile in quanto i peptidi sono molecole organiche che possono essere facilmente assorbiti e trasportati all'interno degli organi verdi sfruttando diversi meccanismi di trasporto enzimatico e canali di natura proteica. In questo modo c'è un accumulo di rame a livello intercellulare che può portare a dei

problemi legati alla fitotossicità. Questa dipende dalle condizioni ambientali e dalla predisposizione genetica delle cultivar infatti è alta nel caso di stagioni di crescita fredde e piovose soprattutto durante le prime fasi di sviluppo della vite e quando vengono utilizzate dosi elevate su cultivar sensibili come Moscato, Merlot, Vermentino e Chardonnay (Maini et al., 2003). Per questi motivi è necessario un utilizzo attento e consapevole del prodotto.

- OSSICLORURO DI RAME

Si può presentare in due diverse combinazioni idrate di ossido rameico e cloruro. Rispetto al solfato di rame hanno il vantaggio di possedere una minore fitotossicità. In distribuzione esistono due prodotti: l'ossicloruro tetrarameico che è un complesso tra l'ossido rameico e il cloruro rameico ($3 \text{ CuO} \cdot \text{CuCl}_2 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$) 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 ($\text{CuSO}_4 - 5\text{H}_2\text{O}$)

Si presenta sotto forma di cristalli blu, ha un pH acido (3.7-4.5) ed è solubile in acqua. L'utilizzo del tal quale sulla vegetazione dimostra una scarsa aderenza ed un rilascio repentino e abbondante di ioni Cu^{++} che causano un'elevata fitotossicità. Attualmente si trova in commercio in soluzioni che presentano una concentrazione dal 3 al 5%.

- SOLFATO TRIBASICO DI RAME

Il prodotto è ottenuto neutralizzando il solfato di rame con idrossido di ammonio. La struttura molecolare che ne deriva permette di rendere subito disponibile parte del rame contenuto, mentre la parte residua si solubilizza più lentamente, garantendo una graduale liberazione degli ioni Cu^{++} . In questo modo si riesce a garantire una buona efficacia del prodotto e allo stesso tempo una riduzione della quantità di rame distribuita in linea con gli obiettivi richiesti nei manuali di produzione biologica e integrata.

- TALLATO DI RAME

Deriva dalla combinazione di idrossido di rame con resine e acidi grassi estratti dal legno di pino. Il risultato che si ottiene è l'aumento dell'adesività e della persistenza del fitofarmaco sulla vegetazione che permette di limitare l'apporto del metallo pesante sul vigneto e il numero di interventi durante la stagione vegetativa. Il meccanismo d'azione non è ancora del tutto chiarito, così come i reali rischi di fitotossicità che, però, sembrano meno evidenti rispetto al peptidato, se non in caso di sovradosaggio (Pertot et al., 2005).

5.4.2. Composti organici di sintesi

Da un punto di vista strutturale, gran parte dei composti organici, dotati di attività fungicida ed utilizzati per la protezione delle piante, appartengono a 2 grandi raggruppamenti: gli azoto-solforganici (ditiocarbammati, tioftalimmidi e chinoni) e gli azotorganici, suddivisi a loro volta in azotorganici aromatici-alifatici (acetammidi, ammino-acido-ammino-carbammati e fenilammidi) ed azotorganici eterociclici (benzimidazoli, benzotiadiazoli, fenilimidazolinoni, fenilimmidi cicliche, fenilpirroli,

ecc). Ad essi si aggiungono gli analoghi delle strobilurine ed i fosfororganici. Per quanto riguarda i meccanismi d'azione, soltanto i composti appartenenti al primo gruppo (azoto-solforganici) svolgono attività multisito, mentre tutti gli altri sono dotati di attività uni od oligosito (Belli, 2013).

- DITIOCARBAMMATI

Sono agrofarmaci di superficie con meccanismo di azione multisito. Risultano completamente inattivi nei confronti degli oidi ma assicurano elevati livelli di protezione nei confronti degli *Oomiceti* (tra cui *Plasmopara viticola*) e dei generi *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Venturia*, *Verticillum*, *Alternaria*, *Septoria*, *Helminthosporium*, *Phomopsis* e molti altri (Belli 2013). La diffusione di questo prodotto è stata possibile proprio per l'azione che esso ha contro gli agenti delle *Peronospora*. Inoltre, i ditiocarbammati presentano un vantaggio fondamentale rispetto al rame (tradizionalmente utilizzato come fungicida) in quanto non hanno dimostrato nessun effetto fitotossico in caso di applicazione su piante in crescita. Questo ha reso possibile estendere la difesa anche in quei periodi fenologici considerati delicati come la fioritura senza avere nessun tipo di ripercussione negativa. Gli svantaggi sono invece il soffocamento della chioma, l'assottigliamento della buccia dei frutti che diventano più sensibili e l'azione tossica nei confronti degli acari predatori favorendo dunque i fitofagi.

- FENILAMMIDI

Sono fungicidi unisito che hanno la capacità di penetrare subito nella pianta evitando problemi di dilavamento. Si muovono in senso acropeto e la loro azione si manifesta nell'inibizione della sintesi proteica. Questo meccanismo d'azione permette lo sviluppo di *Plasmopara viticola* fino alla formazione dei primi austori in quanto

nelle zoospore sono presenti i ribosomi sufficienti per garantire movimento, germinazione e penetrazione. Tuttavia, dopo una prima fase di inefficacia, la mancanza di strutture proteiche per lo sviluppo del patogeno stesso risulta limitante e il processo si blocca.

- ACETAMMIDI

L'acetammide più diffusa è sicuramente Cymoxanil che è un fungicida citotropico e transaminare facilmente assorbibile dalla pianta. La sua azione interferisce negativamente sulla sintesi di proteine, di acidi nucleici e sulla respirazione. E' in grado di inibire la germinazione di zoospore e sporangi ed evitare lo sviluppo del micelio stesso.

- AMMIDI DEGLI ACIDI CARBOSSILICI

A questo gruppo appartengono diversi principi attivi che tuttavia si somigliano per l'azione tossica causata su parassiti fungini. Infatti, questi prodotti determinano l'impossibilità da parte dei patogeni di sintetizzare la parete. Sono fungicidi monosito che agiscono sulla cellulosa sintasi A determinando la formazione di un poro sulla parete cellulare degli *Oomicota*.

- STROBIRULINE

Le strobiruline sono fungicidi monosito che inibiscono l'azione enzimatica di un citocromo collocato sulla catena respiratoria. Quello che ne consegue è un'inibizione della respirazione e della produzione di ATP. Hanno uno spettro d'azione molto ampio e sono gli unici fungicidi attivi contemporaneamente contro oidi, peronosspore e ruggini (Belli, 2013).

5.4.3. Composti naturali alternativi

A causa delle numerose problematiche che insorgono a seguito dell'utilizzo ripetuto del rame per il controllo antiperonosporico, negli ultimi anni sono emerse delle limitazioni legislative che mirano alla riduzione delle quantità distribuite di questo metallo pesante nell'ambiente. Per rispondere a queste necessità, recentemente, la ricerca di composti naturali alternativi per ridurre o eliminare l'utilizzo di prodotti cuprici in agricoltura biologica è stata fortemente incentivata (Gessler et al. 2011). Alcuni studi hanno identificato delle sostanze naturali che hanno mostrato interessanti qualità in termini di controllo nei confronti di *Plasmopara viticola*. In particolare, ci sono proteine idrolizzate (Lachhab et al. 2014), chitosano (Maia et al. 2012), laminarina (Aziz et al. 2003) e alcuni microorganismi (Alfonzo et al. 2012). Le sostanze di origine naturale possono essere applicate da sole o in combinazione con formulati cuprici e promuovono generalmente un rafforzamento fisico dei tessuti vegetali accompagnato anche da uno sviluppo delle difese endogene delle piante che aumentano così la resistenza nei confronti dei parassiti. Inoltre, bisogna specificare come la maggior parte dei formulati naturali alternativi al rame (ad eccezione del chitosano cloridrato che è una sostanza di base) non sono ammessi dalla normativa come agrofarmaci. Di fatto entrano nella classificazione dei "corroboranti", ossia un gruppo di sostanze che non necessitano di registrazione e di pratiche onerose (dossier di rischio) che non sarebbero in linea con il ristretto mercato in cui sono coinvolti. Di seguito un elenco dei formulati naturali più interessanti.

- FOSFITI E FOSFONATI

Il fosfonato ($\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$) e il fosfito (K_2HPO_3) sono dei sali dell'acido fosforico (H_3PO_4) e dell'acido fosforoso (H_3PO_3). I principi attivi sono il potassio diidrogenofosfato e il potassio fosfato che garantiscono meccanismi d'azione diretti e indiretti. Il controllo dei funghi avviene in quanto questi sali garantiscono un'inibizione della crescita del micelio e una riduzione della sporulazione a seguito dell'alterazione del contenuto di acidi grassi e aminoacidi di parete. Pertanto, sono considerati degli ottimi fungicidi e sono efficaci nel controllo antiperonosporico. Presentano un'assorbimento rapido e un'azione translaminare, manifestano una bassa fitotossicità e non costituiscono una minaccia a livello ambientale in quanto si ionizzano in idrogeno e fosforo eliminando i problemi legati all'accumulo nel terreno o nelle falde. Il limite principale di questi fungicidi naturali è rappresentato dal fatto che solo negli ultimi anni sono stati registrati come agrofarmaci (prima facevano parte del gruppo dei fertilizzanti) e non si possono utilizzare in agricoltura biologica. Ne consegue che non possono essere considerati delle valide alternative al rame nel controllo di *Plasmopara viticola* in vigneti biologici.

- AC. SALICILICO

È un composto naturale che stimola le difese endogene ed è presente all'interno delle piante in piccole quantità. Può essere considerato un prodotto alternativo al rame nella lotta antiperonosporica ma la sua efficacia è sicuramente più limitata garantendo un buon controllo solo in caso di bassa pressione della malattia. Rispetto ai prodotti cuprici ha il vantaggio di poter essere distribuito in tutte le fasi fenologiche del vigneto garantendo la copertura anche in fioritura dove il rame è altamente problematico. In termini di utilizzo pratico presenta problemi legati alla

possibile fitotossicità che insorge a concentrazione maggiore di 2 mM (Elmer e Reglinski, 2006)

- BICARBONATO DI POTASSIO E SODIO

La difesa delle malattie crittogamiche attraverso l'applicazione di bicarbonato è già nota in viticoltura. Le molecole interessanti dal punto di vista del controllo anticrittogamico sono essenzialmente due: il bicarbonato di sodio e il bicarbonato di potassio. Il primo è un prodotto commerciale poco costoso che va distribuito in miscela con un bagnante o con un adesivante per migliorare la distribuzione e l'assorbimento dello stesso. Il bicarbonato di potassio invece è un fungicida che agisce sia sull'oomicete che sulla pianta. Sul parassita provoca l'inibizione della sporulazione danneggiando la membrana delle cellule mentre sulla pianta causa un abbassamento di pH che raggiunge valori incompatibili con lo sviluppo dei funghi (6.4). Tra i due il bicarbonato di potassio è quello che ha dimostrato una migliore efficacia nei confronti di *Plasmopara viticola*.

- PROPOLI

È un prodotto derivante dalle api che elaborano un gran numero di sostanze resinose, cerose e gommose presenti negli organi vegetali di piante quali castagno, salice, ippocastano, pioppo, abete, quercia e frassino. Non si tratta di un mezzo di lotta efficace infatti presenta un'azione fitostimolante che favorisce l'attivazione delle difese endogene del vegetale attraverso composti di natura fenolica (flavoni, flavonoidi e flavononi) ma non ha alcun effetto diretto verso il parassita di natura fungina. L'impiego del propoli da solo è sconsigliato a causa della sua inefficacia ma può essere interessante la distribuzione di una miscela contenente zolfo o sali di rame

di cui potenzia l'azione e ne permette un uso in concentrazioni limitate (Donnaruma et al., 1999).

- OLIO DI NEEM

È un olio vegetale estratto da *Azadirachta Indica*, una specie arborea presente in climi tropicali. Ha effetti insetticidi e fungicidi in particolare verso specie crittogame come *Plasmopara viticola* e *Botrytis cinerea*. Ciò è possibile grazie ai limonoidi, molecole particolarmente attive dal punto di vista antimicrobico, e ai derivati dello zolfo presenti all'interno dell'olio stesso. Non si è dimostrato dannoso verso gli insetti utili.

- LAMINARINA

La β -1,3-glucan laminarina deriva dall'alga marrone *Laminaria digitata*. Ha dimostrato di essere un efficiente elicitore delle difese endogene delle cellule della vite e di essere in grado di controllare lo sviluppo e le infezioni di *Botrytis cinerea* e *Plasmopara viticola* (Aziz et al. 2003). L'applicazione di questo prodotto sulla parete fogliare non ha indotto la morte delle cellule vegetali ed ha dimostrato un controllo di *Botrytis cinerea* e *Plasmopara viticola* rispettivamente del 55% e del 75% circa. Spesso vengono associate con estratti microbici di *Saccharomyces*.

- CHITOSANO

Il chitosano è un polimero policationico formato da D-glucosamina e N-acetil-D-glucosammina che sono tenute insieme da legami glucosidici β 1-4. È una molecola completamente naturale ottenuta dall'esoscheletro dei crostacei ed utilizzata negli ambiti più disparati: viene impiegata infatti nella cosmesi, nell'alimentazione e nella medicina. 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). È

uno degli elicitori più studiati per il controllo di *Plasmopara viticola* e altri funghi come *Botrytis cinerea* e *Erysiphe necator* (Romanazzi et al. 2002). La sua azione di difesa si manifesta attraverso 3 proprietà: antimicrobica, filmogena ed elicitoria. L'azione filmogena consiste nella formazione di un film semipermeabile attorno ai tessuti vegetali che blocca l'infezione e lo sviluppo dei parassiti ma che al contempo può rappresentare un problema per la riduzione dell'evapotraspirazione a cui la pianta deve far fronte dopo un intervento di distribuzione del chitosano. L'azione antimicrobica invece è resa possibile dalle cariche elettriche positive del composto in questione che vanno ad interagire con la carica elettrica negativa tipica della superficie cellulare di batteri e funghi alterando la loro permeabilità cellulare. Con questi meccanismi, il chitosano può interferire con gli acidi nucleici microbici, inibendo la sintesi di mRNA e proteine (Devlieghere et al., 2004). Infine, il prodotto è considerato un elicitore in quanto è in grado di stimolare la pianta nella produzione di sostanze utili per la difesa. In vitro è stato dimostrato come l'applicazione del chitosano influisca positivamente nell'accumulo di fitoalessine, trans e cis-resveratrolo e ϵ -viniferina nelle foglie di *Vitis vinifera* (Aziz et al. 2006). Altri effetti determinati dal chitosano sulle piante sono: maggior potere germinativo ed emergenza precoce, riduzione dello stress idrico, aumento della biomassa prodotta in rapporto all'acqua consumata, miglior sviluppo delle radici, stabilizzazione della vita biologica delle piante, aumento del raccolto, aroma più intenso dei frutti, maggiore crescita vegetale e formazione di micorrize, aumenta infine la "shelf life" di prodotti ortofrutticoli freschi. Non presenta tossicità né verso l'uomo né verso le specie vegetali ed attualmente è il candidato principale alla sostituzione del rame in agricoltura biologica e non. Sicuramente assumono grande importanza le

sperimentazioni e le ricerche volte ad approfondire le conoscenze riguardanti questa molecola e il suo possibile utilizzo su ampia scala.

6. OBIETTIVI DELLA RICERCA

I primi dati scientifici riguardanti l'efficacia del rame nei confronti di specie fungine risalgono alla metà del 1700 e da quella data i prodotti cuprici sono stati sempre più utilizzati grazie ai numerosi pregi che hanno manifestato nel loro impiego. Dal punto di vista vitivinicolo, il rame ha trovato la sua fortuna nella lotta a *Plasmopara viticola*, l'agente eziologico della peronospora. La scoperta della sua efficacia avvenne casualmente nel bordolese grazie alla distribuzione di una miscela di rame e calce sulla parete fogliare dei vigneti per scongiurare delle frodi di uva da parte di alcuni ragazzini. Dopo alcuni giorni, però, ci si accorse come le piante "trattate" mostravano molti meno sintomi di peronospora rispetto alle altre e, dopo ulteriori verifiche, nacque quella che ancora oggi è conosciuta come poltiglia bordolese. Col tempo ovviamente si è assistito a un miglioramento delle caratteristiche dei formulati che sfruttano da sempre l'azione del rame per contrastare i funghi. L'azione tossica è data dall'assorbimento dello ione rame da parte del parassita e dalla sostituzione degli ioni calcio e magnesio presenti nelle pareti con il metallo stesso. Inoltre, il rame denatura le proteine strutturali e provoca danni irreversibili alla membrana. È un fungicida multisito che non provoca fenomeni di resistenza. Tuttavia, negli ultimi anni è stato posto l'accento sugli effetti negativi del rame a livello ambientale e di salute umana in quanto l'uso ripetuto di fungicidi cuprici ha portato ad un accumulo di questo metallo pesante in molti terreni europei (Rusjan et al. 2007). Questo fenomeno è particolarmente evidente nei vigneti,

soprattutto in quelli a gestione biologica, dove i prodotti cuprici rappresentano l'unico mezzo di lotta efficace contro la peronospora. In questi siti l'elevata concentrazione di rame può provocare fitotossicità alla vite: radici e tralci hanno una riduzione della loro crescita, si assiste a un calo del numero delle foglie e una possibile clorosi in terreni con concentrazione di rame maggiore a 400 mg/kg (Dagostin et al. 2011). Inoltre, provoca un calo delle popolazioni di lombrichi e carabidi, causa alterazioni microbiologiche ed enzimatiche ed abbassa il pH del suolo (Pontiroli et al. 2011). Come conseguenza di questi problemi è emersa la necessità di ridurre l'apporto di rame e l'Unione Europea è intervenuta con il Regolamento 473/2002 limitando le dosi a 8 kg ha⁻¹ per anno. Successivamente, con il regolamento 889/2008 il limite è stato portato a 30 kg ha⁻¹ per 5 anni (6 kg ha⁻¹ per anno) e attualmente è in vigore un limite che prevede 28 kg ha⁻¹ per 7 anni, ossia 4 kg ha⁻¹ per anno. Con il Regolamento di Esecuzione (UE) n° 1981 della Commissione del 13 dicembre 2018 si approva la candidatura alla sostituzione di sostanze attive composte da rame in conformità al regolamento (CE) n. 1107/2009. Il quadro legislativo mette in luce chiaramente la necessità di andare verso uno sviluppo e un'ottimizzazione di strategie alternative per ridurre i classici interventi chimici e garantire comunque la protezione delle piante dalle malattie. È proprio in questo contesto che si colloca la presente attività di sperimentazione e ricerca che trova fondamento nel progetto "Vitinnova". Gli obiettivi di questo progetto riguardano sia fasi di campo che di cantina: per quanto riguarda il campo l'intento è quello di abbattere l'impiego di rame nei vigneti biologici, sostituendolo con prodotti alternativi di efficacia dimostrata a base di chitosano applicato singolarmente e in strategia con formulati rameici, che necessitano di una messa a punto all'interno di specifiche condizioni

aziendali e colturali. Inoltre, verranno monitorati lo sviluppo vegetativo, l'equilibrio vegeto-produttivo ed il decorso della maturazione delle uve, così da modulare gli interventi agronomici e mitigare gli effetti dei cambiamenti climatici, anche attraverso le tecniche di “*precision farming*”. Infine, per quanto riguarda la trasformazione vera e propria, si propone la produzione di vino biologico a basso tenore o in assenza di solfiti, così da migliorare la qualità e la sicurezza del prodotto finito, per una dieta sana ed equilibrata.

In particolare, in questa tesi l'obiettivo è quello di valutare l'efficacia antiperonosporica di un formulato a base di chitosano, applicato sia da solo che in alternanza o miscelato a prodotti cuprici.

7. PROVA SPERIMENTALE

7.1. Materiali e metodi

7.1.1. Caratteristiche generali dei vigneti

La prova è stata effettuata in tre diversi vigneti: due dell'azienda agricola “Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agr.”, ed in particolare uno di Verdicchio a Piagge, Castelplanio (AN) e uno di Montepulciano ad Angeli di Varano, Ancona (AN) e uno dell'azienda agricola “Belisario s.r.l.” situato presso la località Serre Alte di Matelica (MC). Tutti i vitigni ricadono nell'area geografica vocata alla produzione rispettivamente di Verdicchio dei castelli di Jesi, Rosso Conero e Verdicchio di Matelica. La seguente sperimentazione è stata svolta nell'ambito del progetto VITINNOVA ed ha avuto lo scopo di osservare e valutare l'azione antiperonosporica del chitosano (sostanza che ha ottenuto risultati soddisfacenti in prove condotte *in vitro* e a scala parcellare) in condizioni aziendali, ossia considerando importanti

fattori quali le attrezzature, le tempistiche, le superfici da trattare e i volumi di applicazione. Tutto questo è stato possibile grazie alla collaborazione dei principali soggetti coinvolti ovvero Moncaro, Belisario, La Moderna, Università Politecnica delle Marche, Assam e Cia. L'attività infatti, ha visto coinvolte sia le aziende stesse in termini di attrezzature per effettuare i trattamenti (La Moderna ha eseguito gli interventi nei vigneti di Moncaro mentre per il vigneto di Matelica è stata utilizzata l'attrezzatura aziendale di Belisario) sia l'Università Politecnica delle Marche per quanto riguarda i rilievi su foglie e su grappoli nei vigneti sia di Moncaro che di Belisario. L'osservazione di campo e la classificazione dei sintomi in base ad una scala empirica di presenza di malattia, è stata fondamentale per la successiva analisi statistica e per la valutazione dell'effettiva efficacia del chitosano come sostanza attiva nei confronti di *Plasmopara viticola* e come possibile sostituto del rame in un futuro prossimo.

7.1.2. Schema sperimentale

Lo schema sperimentale utilizzato consiste in un blocco randomizzato con 3 ripetizioni. Tale schema consiste nel suddividere l'area sperimentale in blocchi, in modo che questi ultimi mettano tutte le tesi nelle stesse condizioni ambientali, riducendo di fatto l'incidenza dei fattori diversi dal trattamento sullo sviluppo della malattia. Uno dei fattori per cui è necessario dividere l'area è la presenza di un gradiente, per cui lo stesso appezzamento può avere zone con caratteristiche diverse. Nei vigneti presi in esame il gradiente è rappresentato dalla pendenza, che influenza l'umidità, la bagnatura fogliare, l'esposizione e le caratteristiche del terreno lungo uno stesso filare. Nella sperimentazione sono stati effettuati i rilievi su 3 filari per

ogni tesi. I blocchi presi in esame per ogni filare sono 3 (parte bassa, parte mediana e parte alta del vigneto) e per ogni blocco sono state esaminate 5 piante. In totale quindi, per ogni tesi sono stati condotti i rilievi su 9 interpali da 5 piante ciascuno. Le tesi si differenziano l'una con l'altra per il tipo di trattamento effettuato e in particolare in tutti e tre i vigneti si possono individuare le seguenti porzioni:

- Testimone non trattato
- Trattamenti alternati (6 trattamenti a base di rame poi trattamenti a base di chitosano con concentrazione 0.50% per Castelplanio e Angeli di varano, 0.125% a Matelica)
- Miscela di rame e chitosano a concentrazione dimezzata (0.25% per Castelplanio e Angeli di Varano, 0.06% a Matelica)
- Trattamenti a base di chitosano (concentrazione 0.50% per Castelplanio e Angeli di varano, 0.125% a Matelica)
- Trattamenti a base di rame (testimone aziendale).

Le tesi sono le stesse in tutti i vigneti, le differenze risiedono, oltre che nelle caratteristiche ambientali e genetiche, nei formulati utilizzati per i trattamenti, nelle date dei trattamenti e nelle attrezzature utilizzate. Ogni tesi è stata adottata sulla superficie scelta lungo l'intero filare per tutta la durata della stagione.

➤ **VIGNETO DI MATELICA**

Il vigneto preso in considerazione è di proprietà dell'azienda Belisario, è investito con Verdicchio (100%) e si trova in località Serre Alte presso Matelica (MC), nel cuore dell'areale di produzione del Verdicchio di Matelica (Figura 8). Il vigneto ha un'estensione totale di circa 10 ha ma la prova sperimentale ha visto

coinvolta un'area di circa 5500 m² suddivisa in parcelle per differenziare i trattamenti effettuati. Il sesto d'impianto prevede 2.60 m tra le file e 1.20 m lungo la fila. La forma di allevamento utilizzata è il Guyot bilaterale. L'ubicazione dell'impianto è tale da garantire un microclima caratterizzato da forte escursione termica giornaliera e bagnatura fogliare prolungata fino alle tarde ore del mattino. Queste condizioni risultano particolarmente vantaggiose per *Plasmopara viticola*.

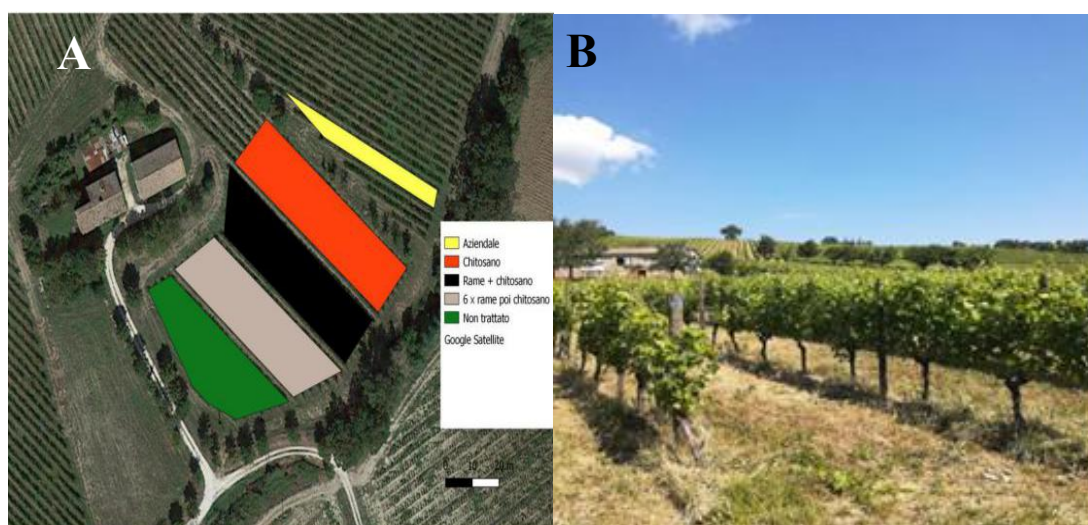


Figura 8 - Suddivisione della porzione sperimentale del vigneto in base ai trattamenti effettuati (A) e vista dal campo (B) del vigneto dell'azienda Belisario situato presso Matelica (MC)

Nella Tabella 2 sono riportate le diverse tesi, ad esclusione del testimone non trattato, con i relativi trattamenti effettuati. Verrà indicata con la lettera "A" la tesi che prevede l'alternanza di prodotti rameici con applicazioni del formulato contenente chitosano, con la lettera "B" la miscela di rame e chitosano, con la lettera "C" la tesi che prevede esclusivamente l'utilizzo del chitosano e con la lettera "D" il testimone aziendale che prevede l'utilizzo di rame.

Tabella 2 - Elenco dei trattamenti effettuati nelle diverse porzioni prese in esame

Tesi	Formulati	Principio attivo	Dosi / concentrazioni applicate	Data di trattamento
A	TriBase poi Chitosano denso	Solfato di rame tribasico poi chitosano cloridrato	2.5 L / 400 L H ₂ O Poi chitosano 0.125%	29-04-20, 15/22-05-20
B	Chitosano denso + Kocide Opti	Chitosano cloridrato + idrossido di rame	Chitosano 0.06% + 400 g / 400 L H ₂ O	29-04-20, 15/22-05-20
C	Chitosano denso	Chitosano cloridrato	Chitosano 0.125%	29-04-20, 15/22-05-20
D	Tri Base	Solfato di rame tribasico	2.5 L / 400 L H ₂ O	29-04-20, 15/22-05-20

Nella sperimentazione è stato utilizzato un atomizzatore trainato ad aspirazione posteriore di produzione della Società Agricolmeccanica, modello Poli. La macchina ha mantenuto la velocità di 6 km/h, con pressione costante a 7 atm e ugelli aperti in funzione della fase del germoglio (Figura 9).



Figura 9 - Atomizzatore trainato della Società Agricolmeccanica, modello Poli

➤ **VIGNETO DI CASTELPLANIO**

Il vigneto preso in esame è il Vigneto Mulino ubicato a Piagge, in località Castelplanio (AN), nel cuore dell'areale di coltivazione del Verdicchio dei castelli di Jesi (Figura 10). È di proprietà dell'azienda Moncaro ed è investito con Verdicchio al 100%. Il vigneto ha un'estensione totale di circa 0.7 ha ed è stato suddiviso in particelle più piccole per differenziare i trattamenti effettuati. Il sesto d'impianto

prevede 2,6 m tra le file e 1 m lungo la fila. La forma di allevamento utilizzata è il Guyot.

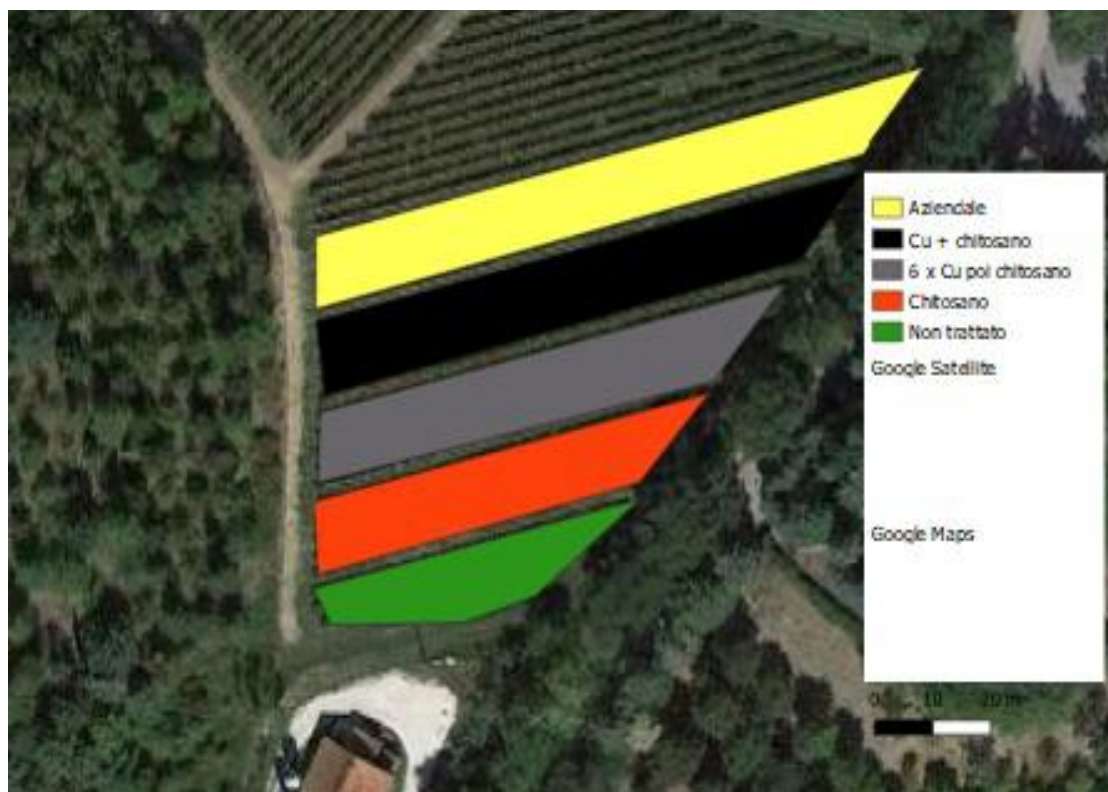


Figura 10 - Vista aerea del vigneto Mulino situato presso Castelplanio (AN)

Nella Tabella 3 sono riportate le diverse tesi con i relativi trattamenti effettuati. Le lettere corrispondono alle tesi prima descritte riguardo al vigneto di Matelica.

Tabella 3 - Elenco dei trattamenti effettuati nelle diverse porzioni prese in esame

Tesi	Formulati	Principio attivo	Dosi / concentrazioni applicate	Data di trattamento
A	Pasta Caffaro poi Chitosano	Ossicloruro di rame 25 % poi chitosano cloridrato 100 %	Ossicloruro di rame (125 mL/100 L acqua) poi chitosano 0.50 %	30/04 e 18-28/05/20
B	Chitosano 0.25 % + Pasta Caffaro	Chitosano cloridrato 100 % Ossicloruro di rame 25 %	Chitosano 0.25 % + Ossicloruro di rame (125 mL/100 L acqua)	11-19-28/05/20
C	Chitosano	Chitosano cloridrato 100 %	0.50 %	11-19-28/05/20
D	Pasta Caffaro	Ossicloruro di rame 25 %	Ossicloruro di rame (225 mL/100 L acqua)	11-19-28/05/20

Nel Vigneto Mulino di Castelplanio è stato utilizzato un atomizzatore trainato ad aspirazione posteriore di produzione della Società Agricola Estense (S.A.E), modello Turbmatic Defender MK2 (Figura 11). La macchina ha lavorato ad una velocità costante di 7-8 km/h e con pressioni e ugelli regolati in base alla fase del germoglio.



Figura 11 - Atomizzatore Turbmatic Defender MK2

➤ **VIGNETO DI ANGELI DI VARANO**

Il terzo vigneto oggetto di sperimentazione è stato il Vigneto Mazzoni presso Angeli di Varano (AN) nel cuore dell'areale di produzione del Rosso Conero (100% vitigno Montepulciano). Ha un'estensione totale che si aggira intorno ai 3,4 ha, è allevato in parete e il sesto d'impianto prevede 2,2 m tra le file e 1 m lungo la fila (Figura 12).

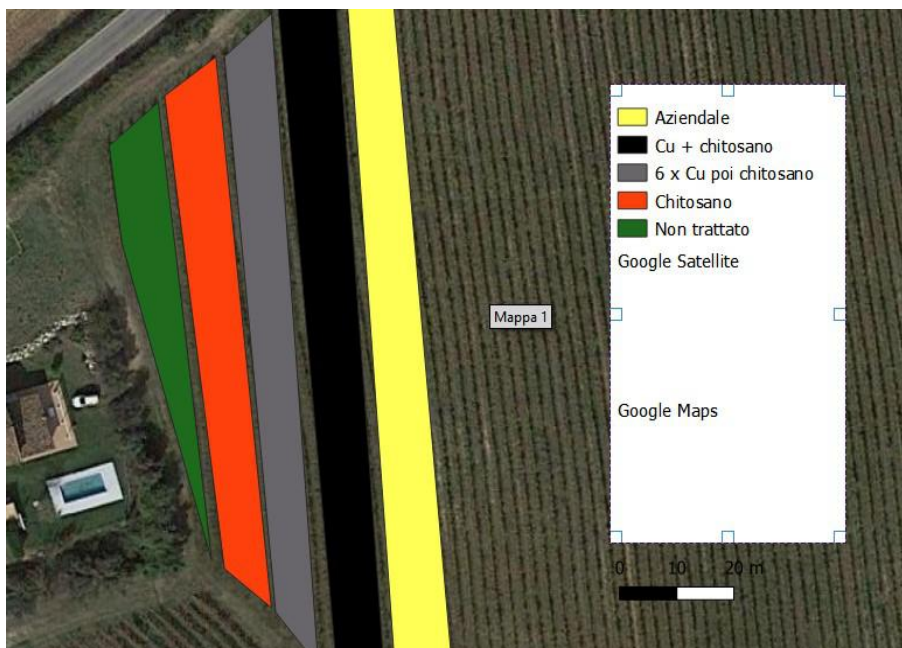


Figura 12 - Vista aerea del vigneto Mazzoni situato presso Angeli di Varano (AN)

Nella Tabella 4 sono riportate le diverse tesi con i relativi trattamenti effettuati. Le lettere corrispondono alle tesi prima descritte riguardo ai vigneti di Matelica e di Castelplanio.

Tabella 4 - Elenco dei trattamenti effettuati nelle diverse porzioni prese in esame

Tesi	Formulati	Principio attivo	Dosi / concentrazioni applicate	Data di trattamento
A	Pasta Caffaro poi Chitosano	Ossicloruro di rame 25 % poi chitosano cloridrato 100 %	Ossicloruro di rame (125 mL/100 L acqua) poi chitosano 0.50 %	30/04 e 18-28/05/20
B	Chitosano 0.25 % + Pasta Caffaro	Chitosano cloridrato 100 % Ossicloruro di rame 25 %	Chitosano 0.25 % + Ossicloruro di rame (125 mL/100 L acqua)	30/04 e 18-28/05/20
C	Chitosano	Chitosano cloridrato 100 %	0.50 %	30/04 e 18-28/05/20
D	Pasta Caffaro	Ossicloruro di rame 25 %	Ossicloruro di rame (225 mL/100 L acqua)	30/04 e 18-28/05/20

Nel vigneto Mazzoni di Angeli di Varano è stato utilizzato un atomizzatore snodato Vma, modello Power 55 (Figura 13). La macchina ha lavorato ad una velocità costante di 7-8 km/h e con pressioni e ugelli regolati in base alla fase del germoglio.



Figura 13 - Atomizzatore snodato Vma, modello Power 55

7.1.3. Valutazione delle infezioni

La valutazione della malattia attraverso i rilievi di campo ha previsto l'utilizzo di scale empiriche con una serie di classi di gravità in base alla percentuale di superficie degli organi vegetali interessata da sintomi legati a *Plasmopara viticola*. Per quanto

riguarda le foglie si considera che le piante prese in esame abbiano in toto 100 foglie ciascuna e si classificano quelle malate attraverso 11 classi di gravità (Tabella 5).

Tabella 5 -Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sulle foglie

Classe	Superficie infetta (%)
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%

Per i grappoli invece risulta fondamentale contare il numero totale per ciascuna pianta esaminata e successivamente osservare un'eventuale presenza di malattia dividendo i grappoli in base a 8 classi di gravità (Tabella 6).

Tabella 6 - Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sui grappoli

Classe	Bacche infette
0	Grappolo sano
1	1-5 bacche
2	6-11 bacche
3	12-25 bacche
4	25% grappolo
5	26-50% grappolo
6	51-75% grappolo
7	>75% grappolo

L'adozione della scala empirica permette di calcolare la diffusione della malattia (D), la gravità (G) e l'intensità media ponderata (I) o Indice di infezione di McKinney (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:

$$D = n * 100 / N$$

n: numero di bacche/foglie infette

N: numero totale di bacche/foglie esaminate.

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

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

c: valore classe empirica

f: frequenza della classe

n: numero foglie/bacche 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:

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

c: valore classe empirica

f: frequenza della classe

N: numero totale delle osservazioni

X: valore della classe massima della scala empirica.

I rilievi sono stati eseguiti nelle seguenti date:

- Angeli di Varano: due rilievi eseguiti sia sulle foglie che sui grappoli rispettivamente il 23 luglio 2020 e il 7 settembre 2020
- Castelplano: due rilievi eseguiti sia sulle foglie che sui grappoli rispettivamente il 27 luglio 2020 e il 7 settembre 2020
- Matelica: tre rilievi eseguiti sia sulle foglie che sui grappoli rispettivamente il 3 e il 24 luglio 2020 e l'8 settembre 2020

Dai rilievi sono stati ottenuti i dati per calcolare questi indici, successivamente si sono calcolate le medie e le deviazioni di ciascun blocco e di ciascuna tesi. Il software di statistica impiegato per questa analisi prende il nome di SPSS20 (Statistical Package for Social Science), un'analisi della varianza ANOVA (Analysis of Variance) per verificare l'influenza dei trattamenti sui valori di gravità, di diffusione e dell'indice di McKinney. Le medie ottenute sono state separate

applicando il test di Fisher LSD (Least Significant Difference), secondo il livello di probabilità $P \leq 0.05$.

8. RISULTATI

8.1. Dati climatici

Allo scopo di studiare la malattia e la sua diffusione risulta di centrale importanza anche un'attenta valutazione dell'andamento meteorologico dell'intera stagione vegetativa in quanto, come descritto in precedenza, l'elevata umidità portata dalle precipitazioni favorisce sicuramente il parassita. I dati climatici di interesse sono forniti dall'Assam attraverso il Bollettino Agrometeorologico che settimanalmente registra temperatura, umidità e precipitazioni e fornisce indicazioni per quanto riguarda la difesa delle principali specie vegetali. I dati sono stati ricavati dalle stazioni meteo più vicine ai rispettivi vigneti:

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

➤ MATELICA

Osservando i dati (Figura 14) ci si rende conto che, ad eccezione di un consistente evento piovoso nell'ultima settimana di marzo, il resto della primavera è trascorso con una media di precipitazioni molto bassa. In assenza di umidità non si sono presentate le condizioni per la germinazione delle oospore determinando un basso inoculo iniziale e di conseguenza una bassa pressione di malattia. Ovviamente in questo periodo ad essere problematica era la bagnatura fogliare fino alle tarde ore

del mattino garantita dal microclima tipico del vigneto in esame. Con il proseguire della stagione si è assistito ad un ritorno degli eventi piovosi accompagnati da temperature sicuramente più basse rispetto alla media stagionale. Queste condizioni si sono registrate in particolare tra metà maggio e metà giugno favorendo le infezioni secondarie di *Plasmopara viticola*. Di certo, grazie al basso inoculo iniziale, anche in questo periodo la situazione non è sfuggita di mano e si è andati verso la fine di una stagione che non è stata molto favorevole al patogeno.

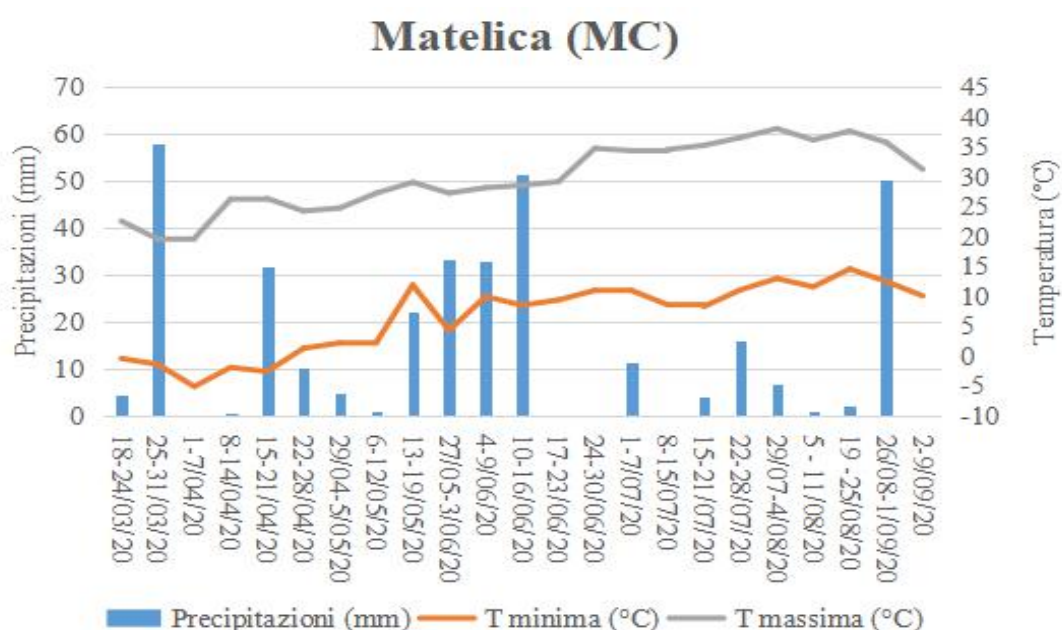


Figura 14 - Grafico dell'andamento climatico dal 18/03 al 9/09/20 a Matelica (MC)

➤ **CASTELPLANIO**

Le condizioni metereologiche registrate nella stazione di Castelplanio (Figura 15) rispecchiano quelle viste in precedenza nella stazione di Matelica. Infatti, la primavera è stata piuttosto asciutta ad eccezione di due eventi verificatisi rispettivamente alla fine di marzo e alla metà di aprile. Queste condizioni hanno

garantito una bassa pressione iniziale della malattia in termini di infezioni primarie. Pertanto, anche con le numerose piogge cadute soprattutto nel mese di giugno, lo sviluppo del patogeno è stato piuttosto contenuto.

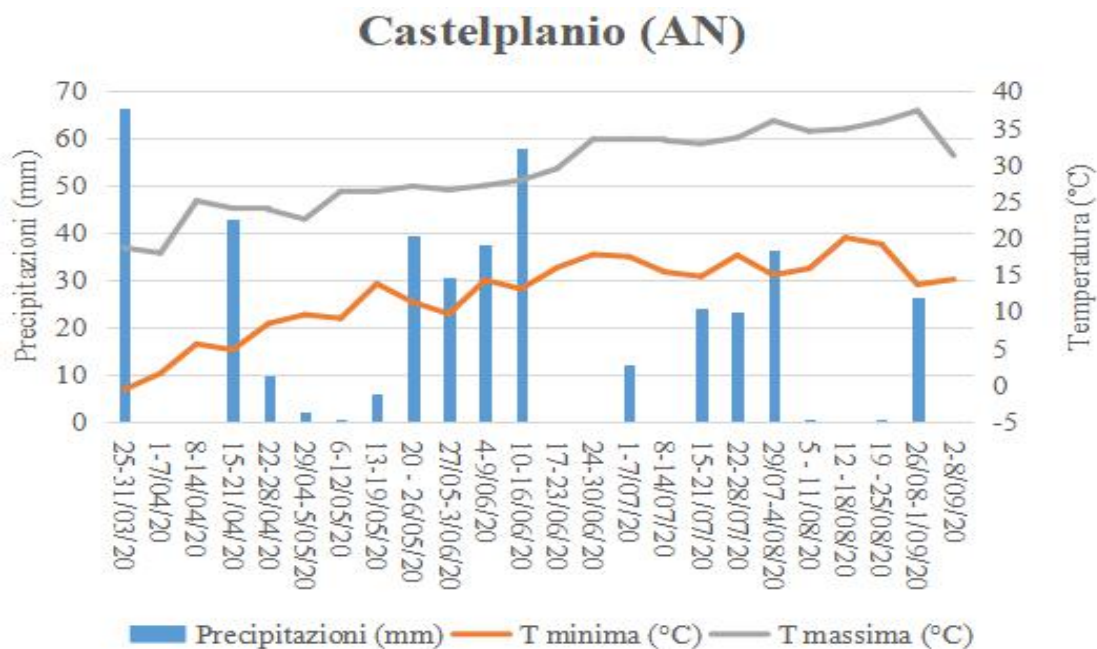


Figura 15 - Grafico dell'andamento climatico dal 25/03 al 8/09/20 a Castelplanio (AN)

➤ CAMERANO

La stazione metereologica di Camerano (Figura 16) conferma l'andamento climatico piuttosto sfavorevole per *Plasmopara viticola* registrando una primavera piuttosto asciutta e calda evitando le condizioni ottimali per la diffusione del patogeno stesso.

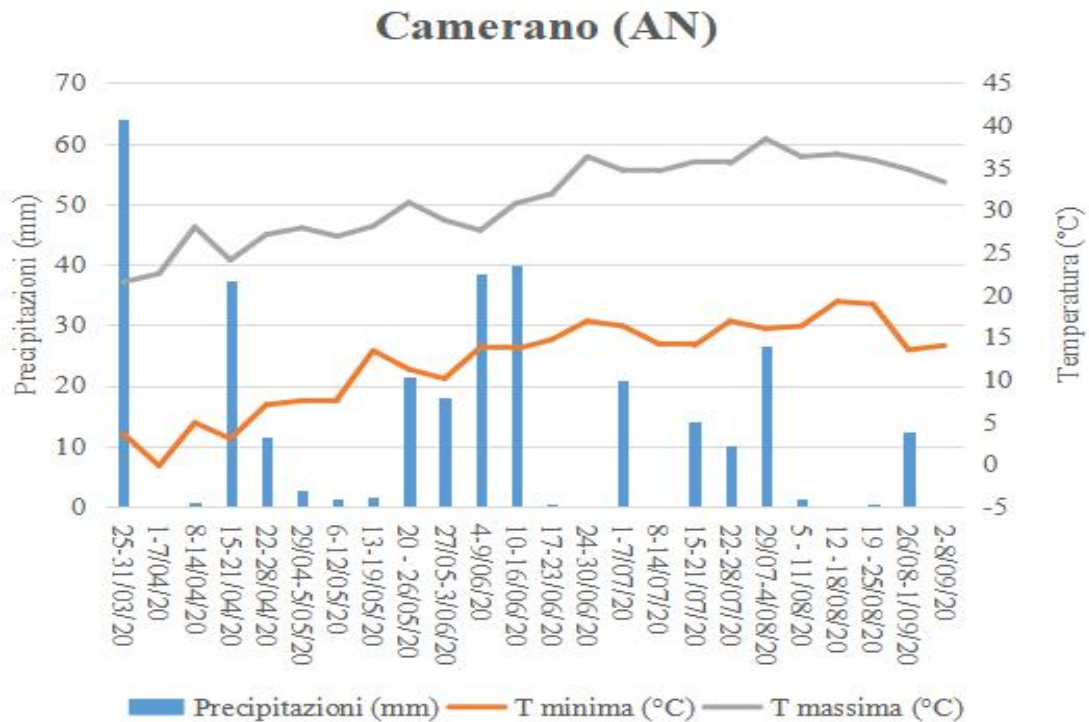


Figura 16 - Grafico dell'andamento climatico dal 25/03 al 1/09/20 a Camerano (AN)

8.2. Valutazione delle infezioni peronosporiche su foglie e grappoli

8.2.1. Rilievi sul vigneto di Matelica

➤ Infezioni da peronospora sulle foglie

I rilievi per la valutazione della malattia nel vigneto di Matelica sono stati effettuati in tre diversi periodi, in particolare il 3, il 24 luglio e l'8 settembre 2020. Nonostante l'annata poco favorevole per il patogeno, l'attenta osservazione dei sintomi sulla vegetazione ha messo in luce la presenza di *Plasmopara viticola* nel vigneto. Di fondamentale importanza è stata la raccolta dei dati attraverso i quali si è effettuata un'analisi statistica al fine di valutare la diversa efficacia dei trattamenti considerati. In particolare, sono stati definiti i valori di diffusione (D), di gravità (G), e dell'indice di McKinney (IMK). Successivamente, attraverso il test di Fisher LSD,

sono state confrontate le medie di ciascun parametro e si sono ottenuti i seguenti risultati:

- Risultati del primo rilievo sulle foglie

Per quanto riguarda la diffusione (Figura 17), nel rilievo del 3 luglio 2020 è emerso che la situazione peggiore si è verificata nella tesi trattata esclusivamente con chitosano. Qui la diffusione è significativamente maggiore del testimone non trattato. Tuttavia, è emerso che i trattamenti che prevedevano l'alternarsi di prodotti cuprici e chitosano e la miscela di rame e chitosano presentano una diffusione significativamente minore rispetto al testimone non trattato ma non presentano differenze significative tra loro.

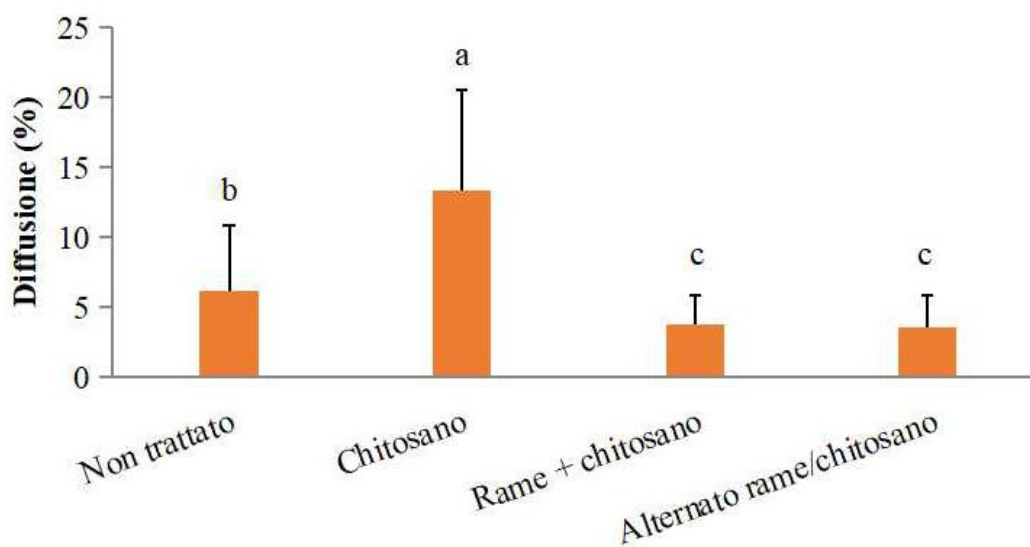


Figura 17 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

A differenza della diffusione, il grafico della gravità (Figura 18) non fa emergere differenze importanti tra le tesi. L'unico parametro di rilievo è il valore della gravità

del trattamento alternato che risulta essere significativamente maggiore rispetto agli altri.

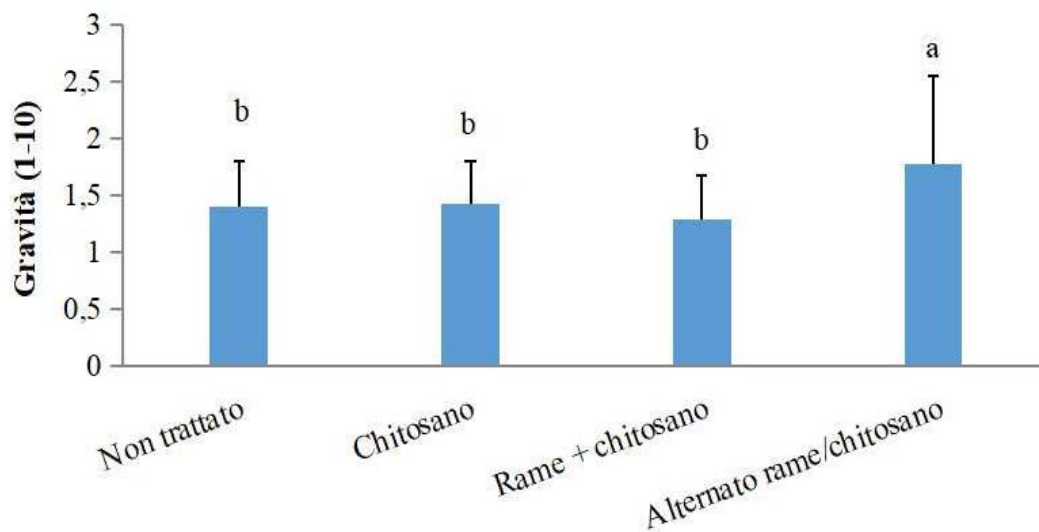


Figura 18 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

L'Indice di McKinney (Figura 19) ha messo in luce come la tesi contenente chitosano miscelato al rame sia stata quella in grado di contenere maggiormente la malattia, differenziandosi significativamente dal testimone non trattato. Non si riscontrano differenze significative fra la miscela e la tesi dove i due prodotti vengono alternati. La tesi trattata solo con chitosano mostra livelli dell'indice più elevati rispetto alle altre tesi.

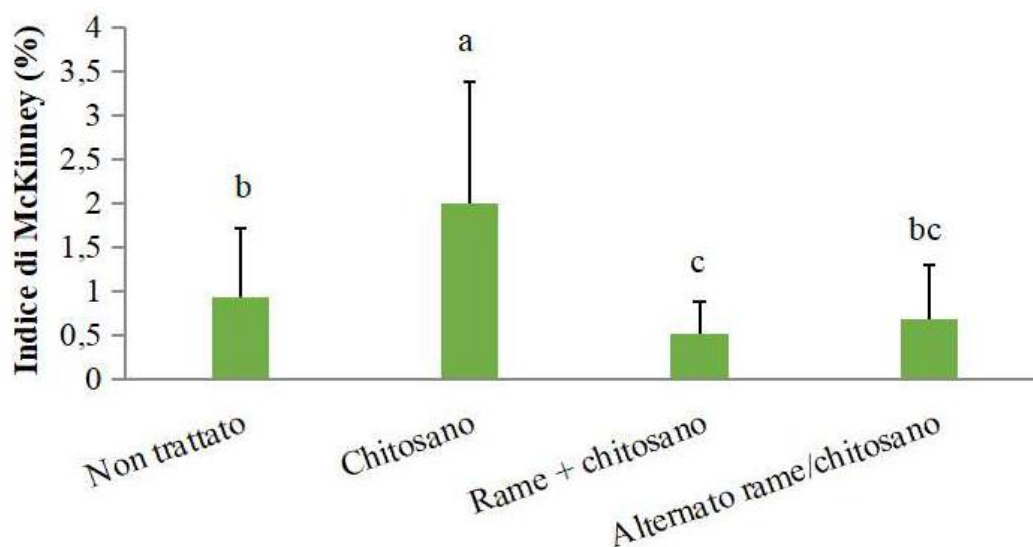


Figura 19 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del secondo rilievo sulle foglie

In questo rilievo è stata aggiunta la tesi aziendale trattata esclusivamente con prodotti cuprici. Nel primo rilievo non era presente in quanto nella porzione di vigna che prevedeva l'alternanza di rame e chitosano ancora non era stato effettuato nessun trattamento con il biopolimero e pertanto non c'erano differenze tra quella porzione e il trattamento aziendale a base di rame.

Analogamente alla situazione riscontrata il 3 luglio 2020, dal secondo rilievo è possibile evidenziare una diffusione (Figura 20) che presenta valori minimi nelle tesi trattate con la miscela e l'alternanza di rame e chitosano, le quali si mostrano statisticamente inferiori al testimone non trattato e non dissimili da quello aziendale. La diffusione risulta più elevata nella tesi trattata solo con chitosano.

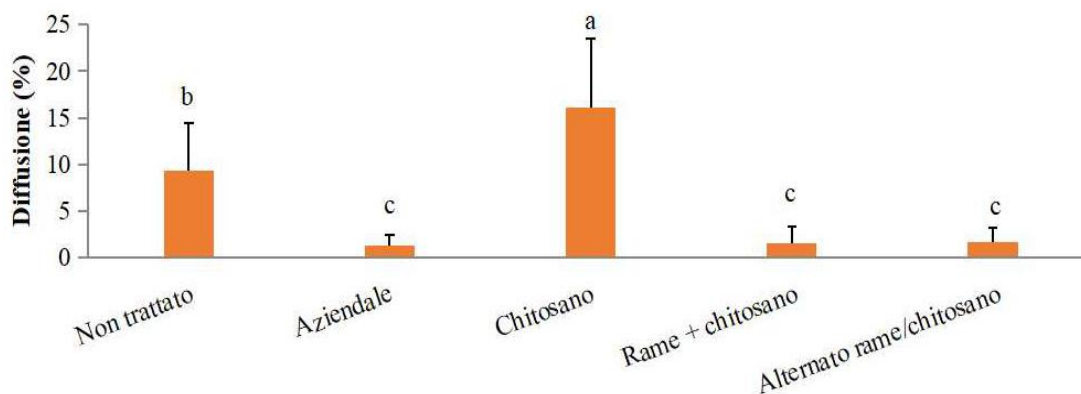


Figura 20 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

La gravità (Figura 21) evidenzia come il testimone e la tesi con il chitosano non siano significativamente differenti. Le tesi che presentano l'utilizzo di prodotti cuprici non evidenziano differenze significative tra loro ma le differenze emergono rispetto al testimone e alla tesi trattata con il biopolimero che presentano valori significativamente maggiori.

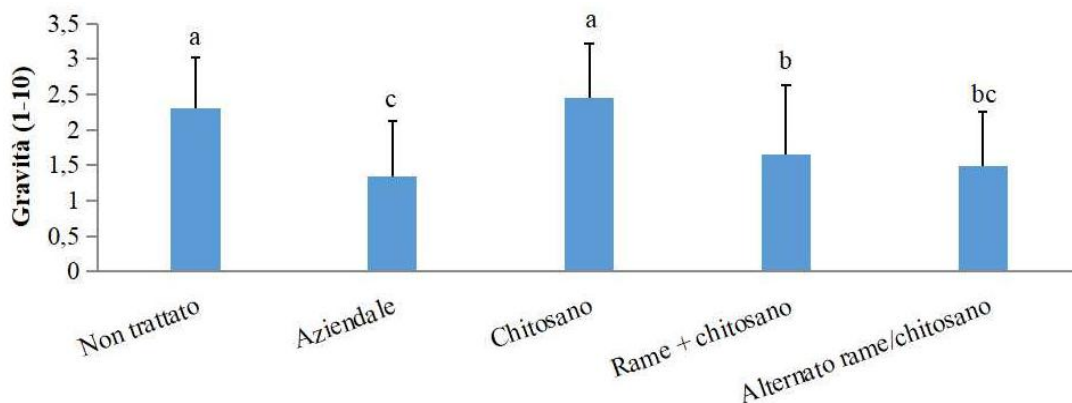


Figura 21 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

L'Indice di McKinney (Figura 22) presenta i valori minimi nelle tre tesi in cui è stato impiegato il rame, tesi che non sono significativamente differenti tra loro ma lo sono nei confronti del trattamento a base di chitosano, valore più alto in assoluto, e del testimone non trattato.

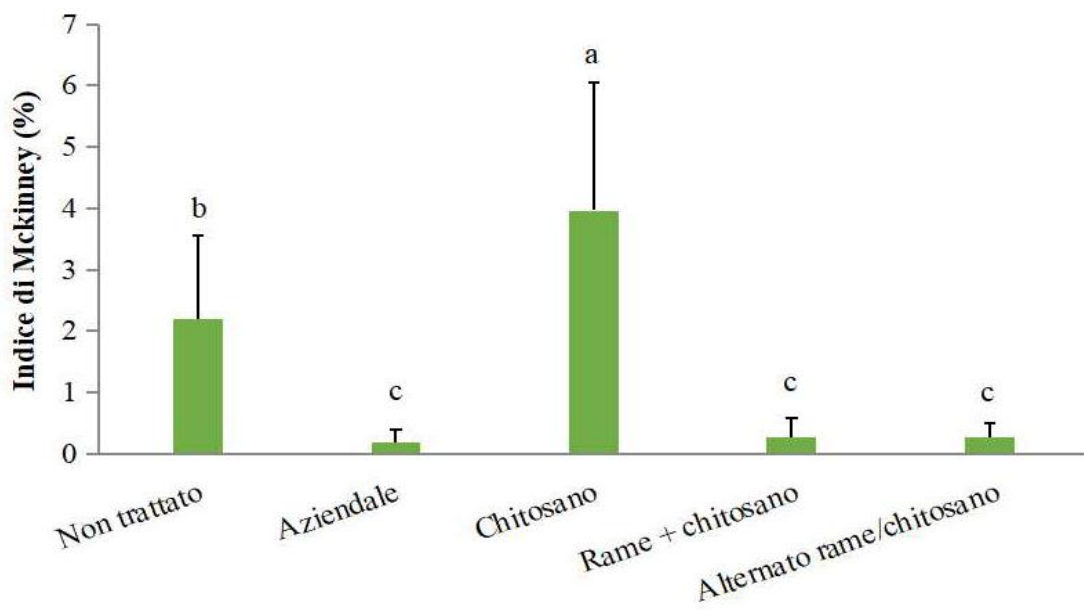


Figura 22 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del terzo rilievo sulle foglie

L'andamento della malattia riscontrato nei precedenti rilievi è stato confermato dall'ultima osservazione del vigneto. Infatti, la porzione trattata esclusivamente con chitosano ha mostrato una diffusione, una gravità e un indice di McKinney significativamente maggiore rispetto alle altre tesi, compresa quella del testimone non trattato. Inoltre, risulta essere interessante la differenziazione tra la tesi aziendale, trattata esclusivamente con rame, e i trattamenti miscelato e alternato che hanno

portato ad un controllo più limitato dell'infezione. In particolare, per i valori della diffusione (Figura 23) in ordine decrescente troviamo la tesi trattata con chitosano, poi il testimone non trattato, poi il trattamento miscelato e alternato che non si differenziano tra loro e infine il trattamento aziendale.

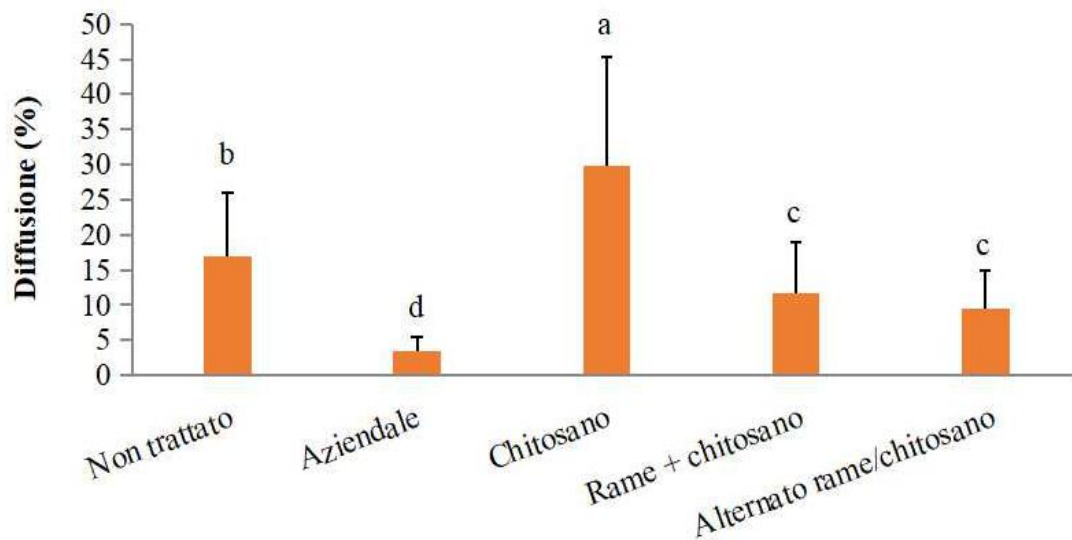


Figura 23 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Nel grafico della gravità (Figura 24) invece, si possono osservare la tesi aziendale, il trattamento miscelato e quello alternato senza particolari differenze tra loro ma che risultano significativamente minori rispetto al testimone non trattato e al chitosano, quest'ultimo con il valore maggiore rispetto agli altri.

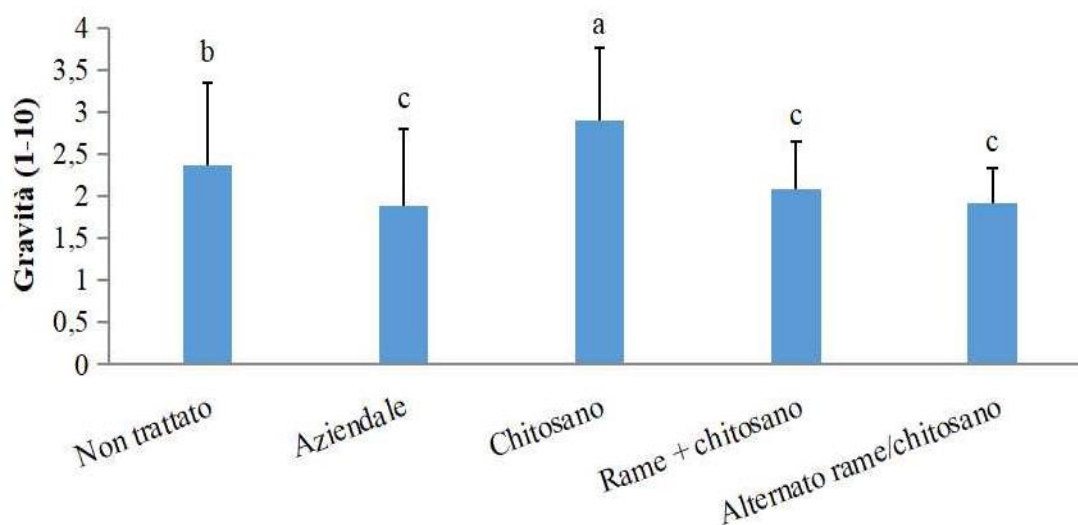


Figura 24 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Situazione perfettamente speculare alla diffusione la troviamo nell'Indice di McKinney (Figura 25). Le tesi trattate con la miscela e l'alternanza di rame e chitosano non evidenziano differenze significative tra loro ma le differenze emergono rispetto al testimone e alla tesi trattata con il chitosano che presentano valori significativamente maggiori.

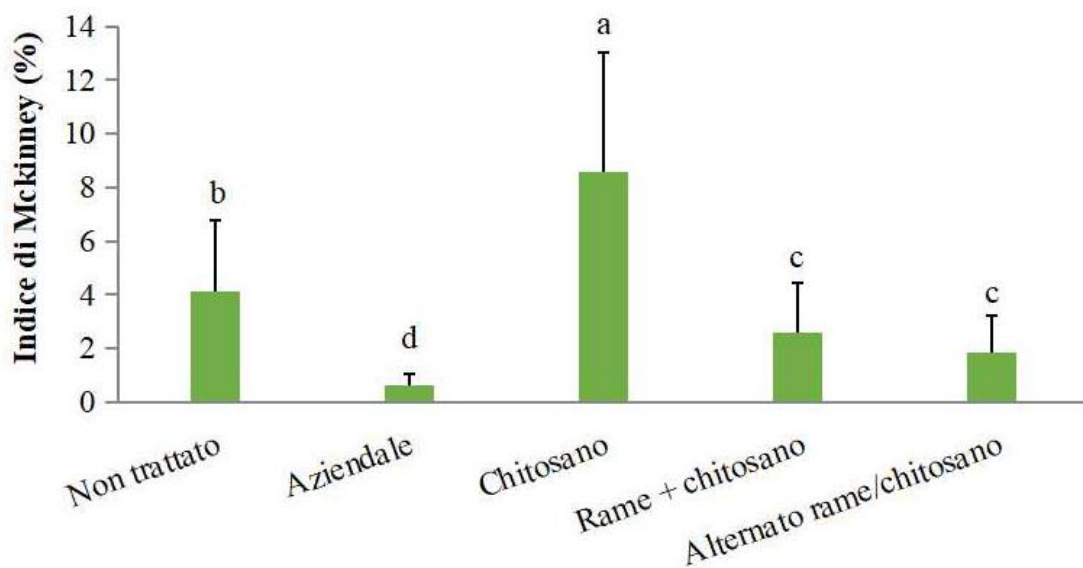


Figura 25 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

➤ **Infezioni da peronospora sui grappoli**

I rilievi effettuati nel vigneto hanno avuto lo scopo di valutare l'infezione di *Plasmopara viticola* anche sui grappoli. L'osservazione e la raccolta dei dati sono avvenuti negli stessi giorni (3, 24 luglio e 8 settembre 2020) in cui sono state studiate le foglie e la successiva analisi statistica è del tutto simile. Le uniche differenze rispetto ai rilievi per le foglie sono l'adozione di una differente scala empirica di valutazione dei sintomi e il conteggio dei grappoli totali per ciascuna pianta (per le foglie si assumeva una media di 100 foglie totali per pianta).

- Risultati del primo rilievo sui grappoli

Il grafico della diffusione (Figura 26) dimostra l'andamento praticamente speculare dei rilievi fatti in precedenza infatti, come nel caso delle foglie, anche in

questo caso la diffusione massima si trova nella tesi trattata con chitosano che è significativamente maggiore del testimone non trattato. Allo stesso modo inoltre, è possibile notare che il controllo più efficace è avvenuto nelle porzioni trattate con prodotti cuprici che non sono differenti statisticamente tra loro ma presentano valori significativamente minori sia rispetto al chitosano che al testimone non trattato. Stessa situazione viene riscontrata nell'Indice di McKinney (Figura 27).

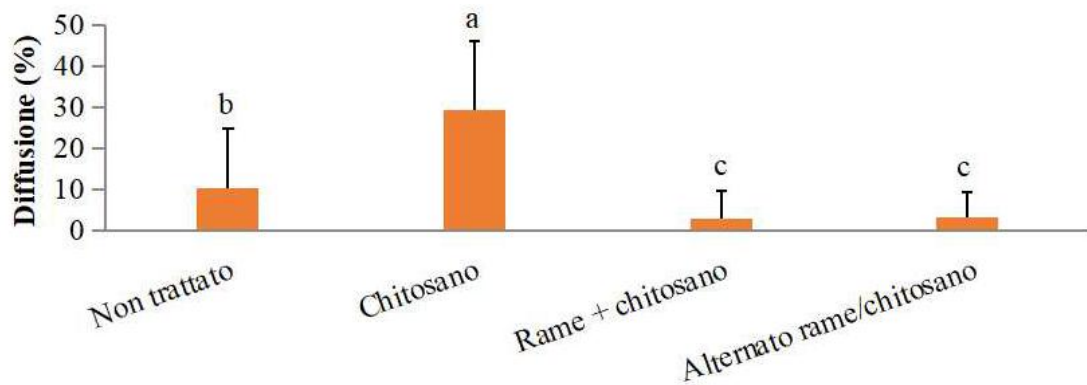


Figura 26 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

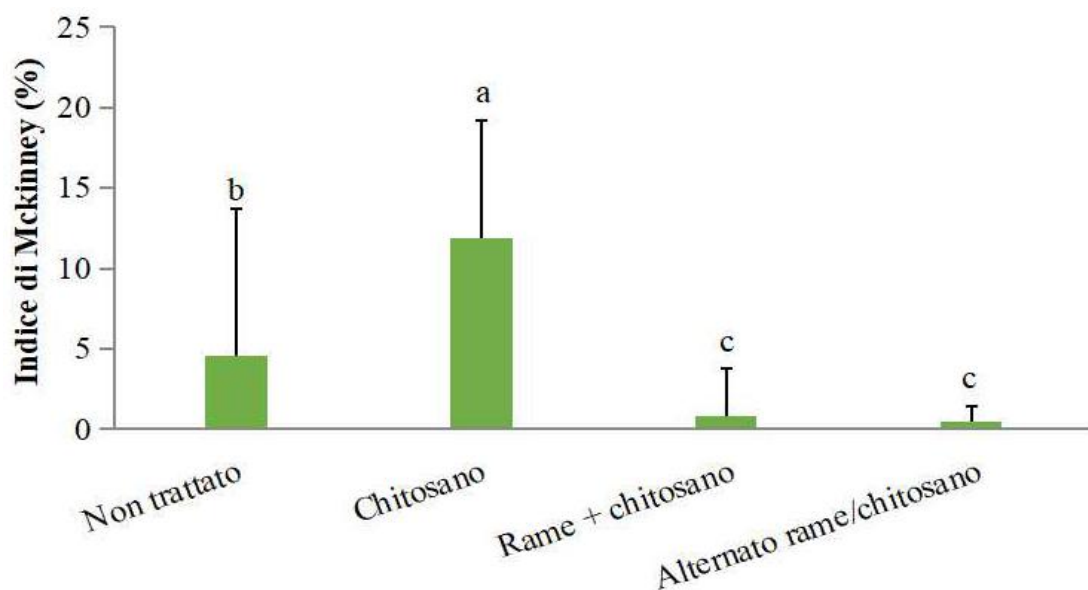


Figura 27 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

La gravità (Figura 28) invece evidenzia una differenza significativa tra il trattamento alternato, che risulta più efficace, e quello miscelato, dove la gravità è più elevata. Chitosano e testimone non trattato non presentano differenze evidenti.

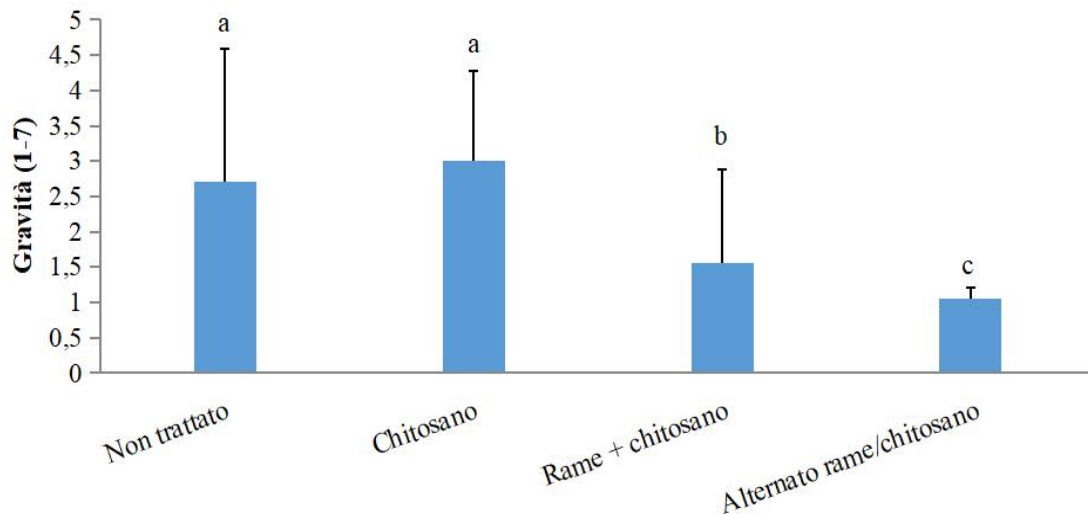


Figura 28 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel primo rilievo (3/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del secondo rilievo sui grappoli

Per quanto riguarda la diffusione (Figura 29) è stata registrata una significativa riduzione nel trattamento aziendale, nel trattamento miscelato e in quello alternato. Con andamento crescente ci sono rispettivamente la porzione di vigneto non trattata e la porzione trattata esclusivamente con chitosano che risulta essere anche in questo caso l'area più infetta del vigneto.

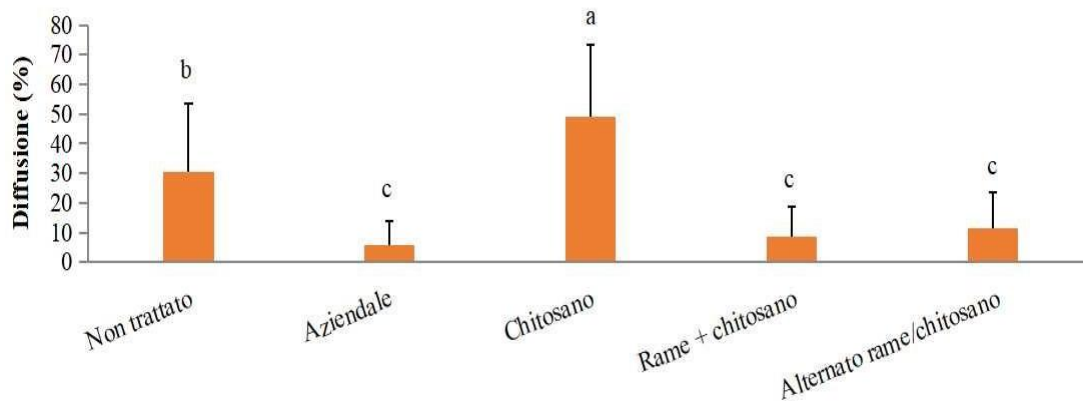


Figura 29 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Del tutto analogo alla diffusione (Figura 29) è la gravità (Figura 30) che fa emergere come più efficaci il trattamento aziendale, la miscela di prodotti cuprici e chitosano e il trattamento alternato. A seguire, con minore controllo della malattia, troviamo il testimone non trattato e la tesi trattata esclusivamente con chitosano.

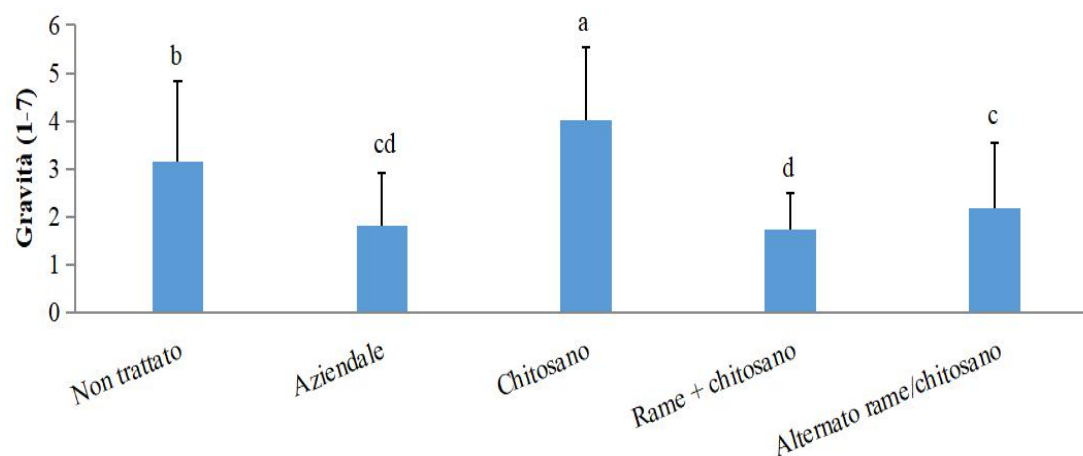


Figura 30 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Anche l'Indice di McKinney (Figura 31) conferma l'andamento riscontrato sia nel primo rilievo che nei rilievi delle foglie presentando differenze tra le tesi trattate con rame (non distinguibili tra loro), il testimone non trattato e il chitosano, ancora una volta con l'indice più elevato.

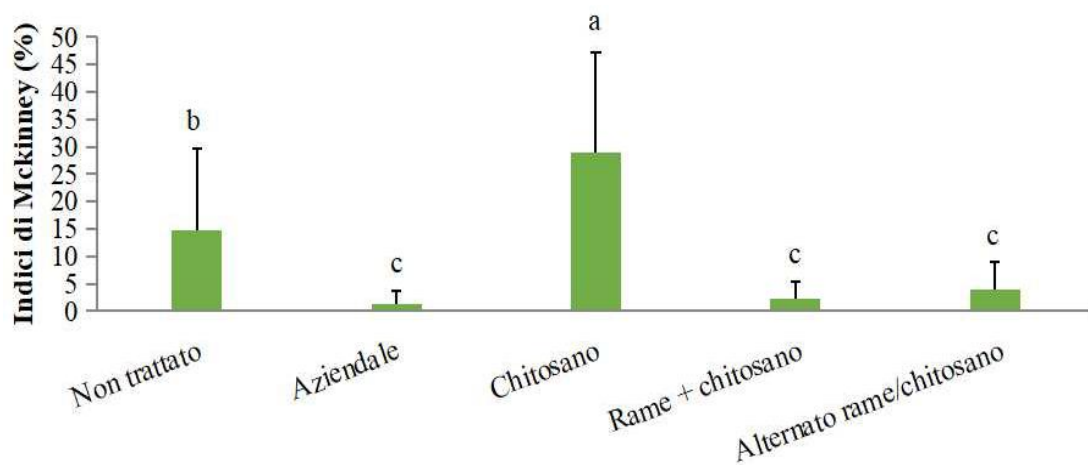


Figura 31 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel secondo rilievo (24/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del terzo rilievo sui grappoli

Il terzo rilievo va a confermare quanto verificato nei rilievi precedenti e in particolare il grafico della diffusione (Figura 32) e dell'Indice di McKinney (Figura 33) presentano le stesse caratteristiche riscontrate nella diffusione del rilievo precedente. I trattamenti con la miscela e con l'alternanza di rame e chitosano sono i più efficaci e mostrano una percentuale di diffusione bassa.

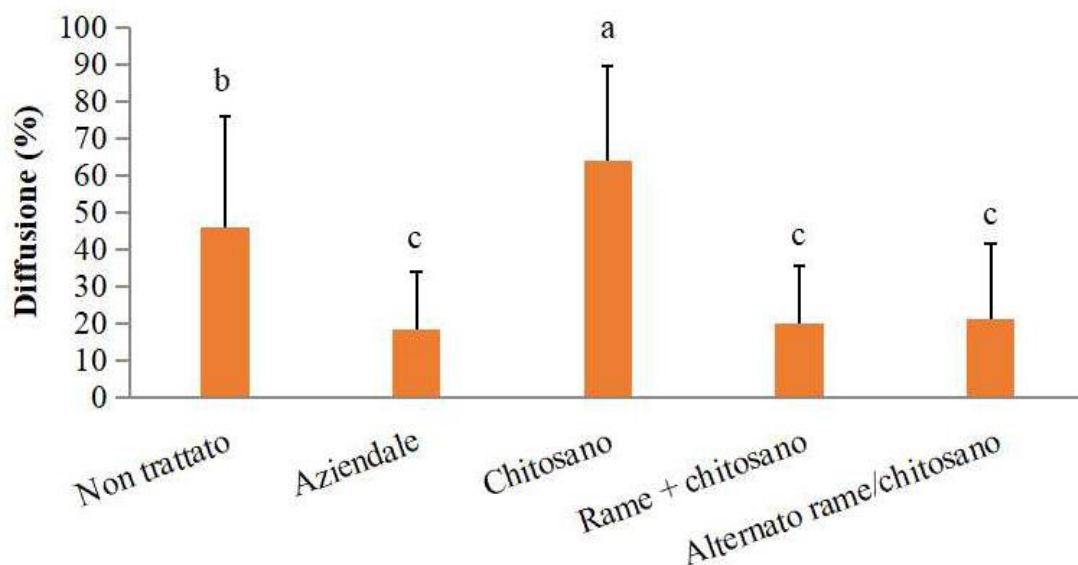


Figura 32 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

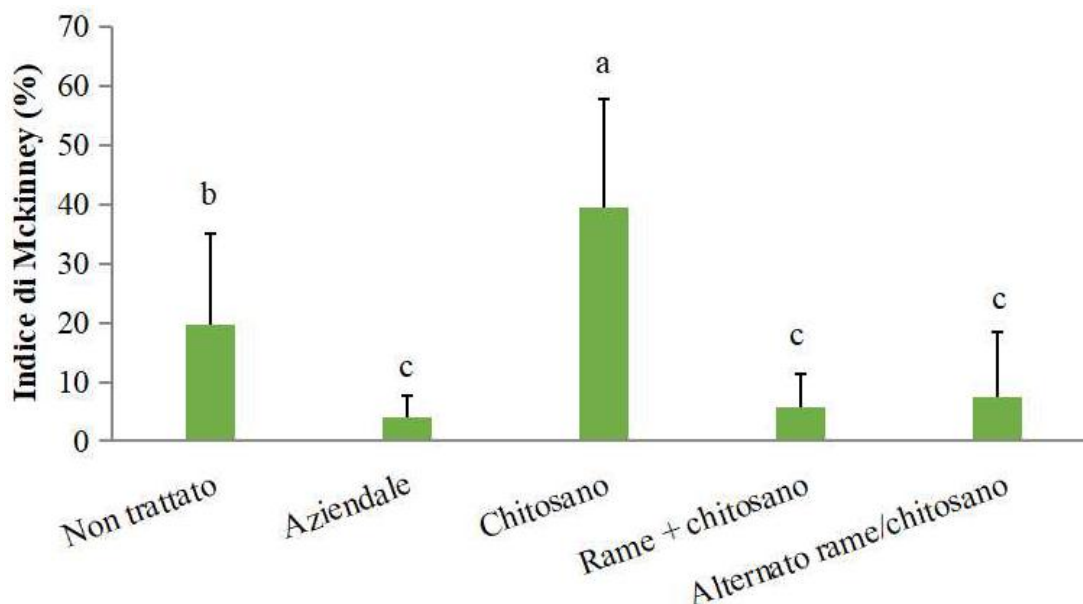


Figura 33 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Anche nell'istogramma della gravità (Figura 34) i tre trattamenti che prevedono l'uso di rame si differenziano e assicurano un controllo maggiore rispetto al testimone non trattato, che presenta valori significativamente maggiori. La tesi trattata con chitosano presenta i valori di gravità più elevati.

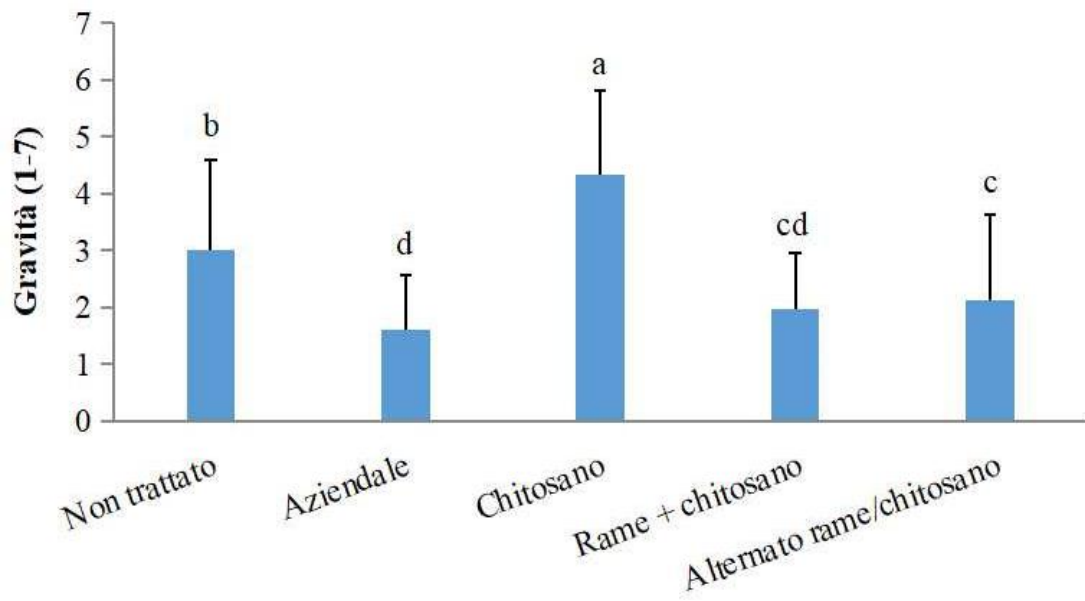


Figura 34 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Matelica nel terzo rilievo (8/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

8.2.2. Rilievi sul vigneto di Castelplanio

I rilievi per la valutazione della malattia sono stati effettuati il 27 luglio e il 7 settembre 2020. Nonostante l'annata poco favorevole per il patogeno, l'attenta osservazione dei sintomi sulla vegetazione anche in questo caso ha messo in luce la presenza di *Plasmopara viticola* nel vigneto.

➤ **Infezioni da peronospora sulle foglie**

● Risultati del primo rilievo sulle foglie

La diffusione (Figura 35), la gravità (Figura 36) e l'Indice di McKinney sono perfettamente speculari e fanno emergere come significativa soltanto la differenza tra il testimone non trattato e tutte le altre tesi che risultano essere del tutto simili. Il testimone non trattato presenta i valori più alti di tutti i parametri.

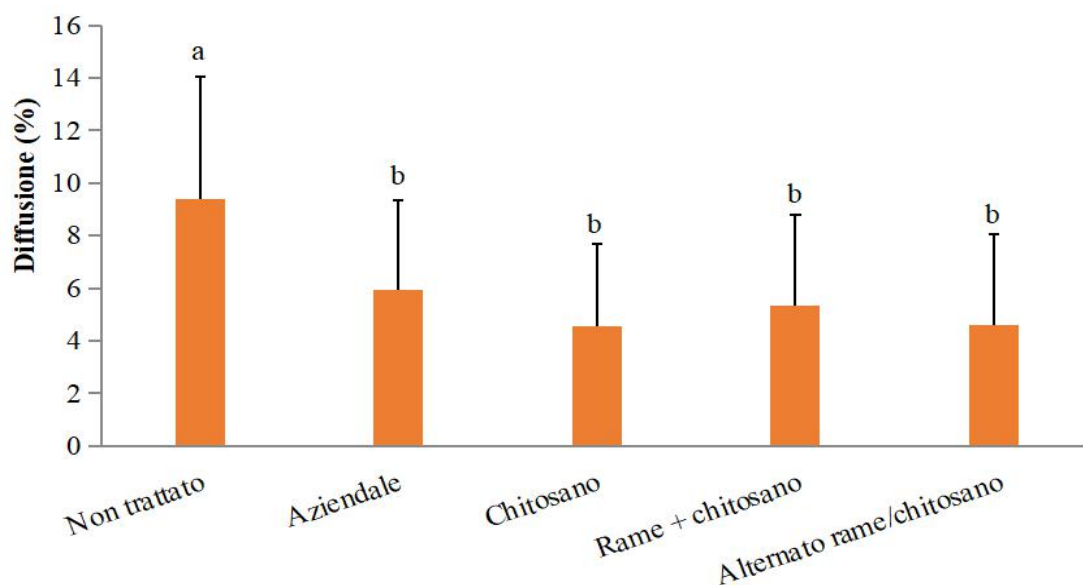


Figura 35 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

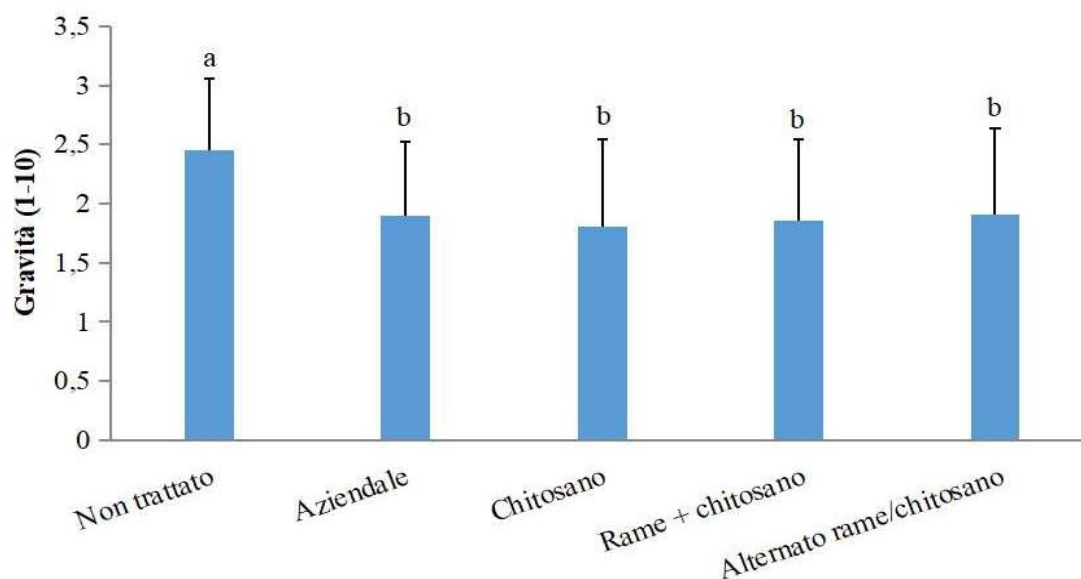


Figura 36 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

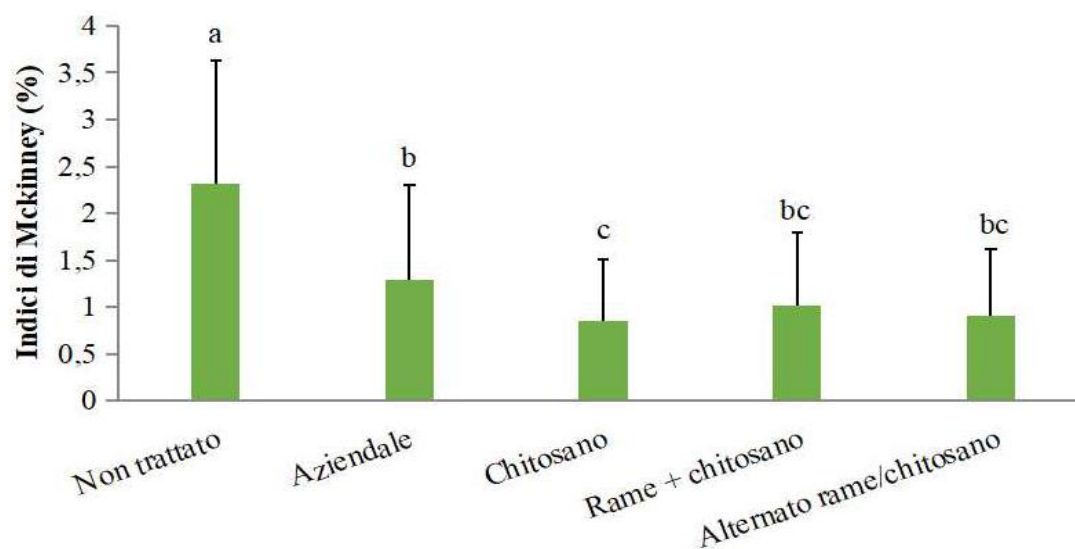


Figura 37 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del secondo rilievo sulle foglie

Anche in questo caso i tre grafici della diffusione (Figura 38), della gravità (Figura 39) e dell'Indice di McKinney coincidono e si nota che i prodotti cuprici e il chitosano assicurano il maggior controllo insieme alla miscela degli stessi mentre il trattamento alternato risulta essere meno efficace. Il testimone non trattato presenta i valori più alti di diffusione.

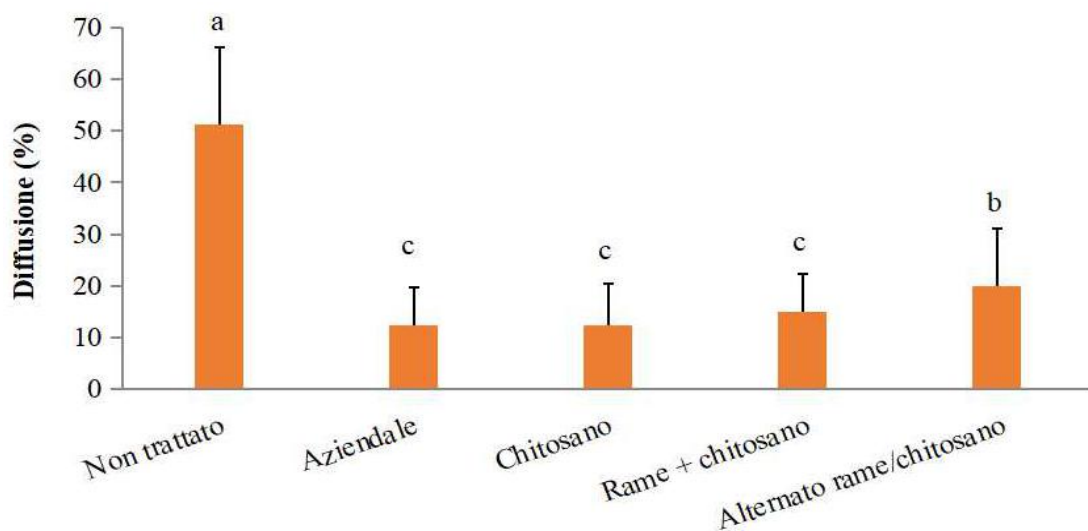


Figura 38 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

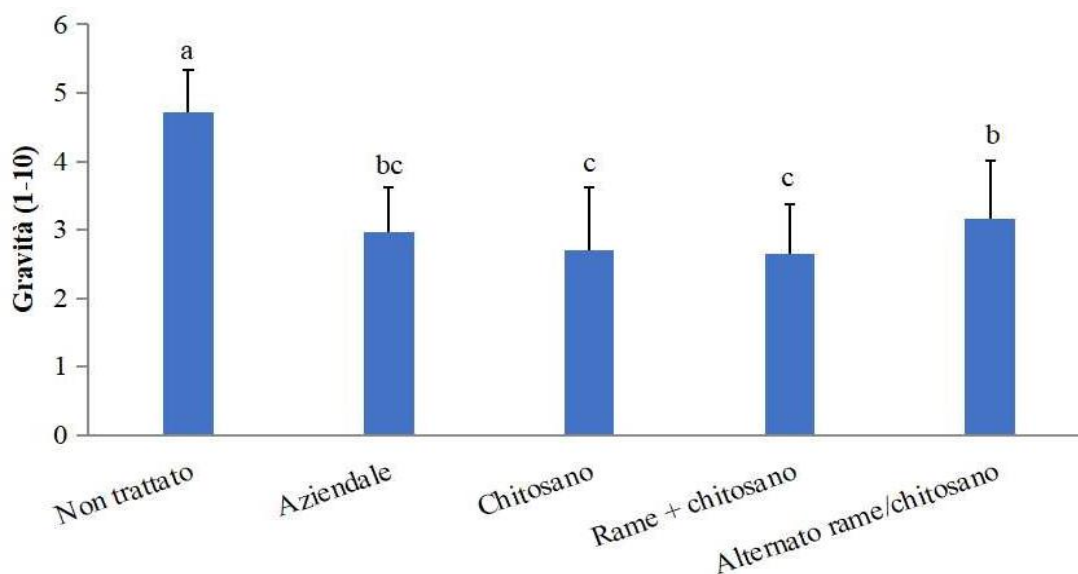


Figura 39 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

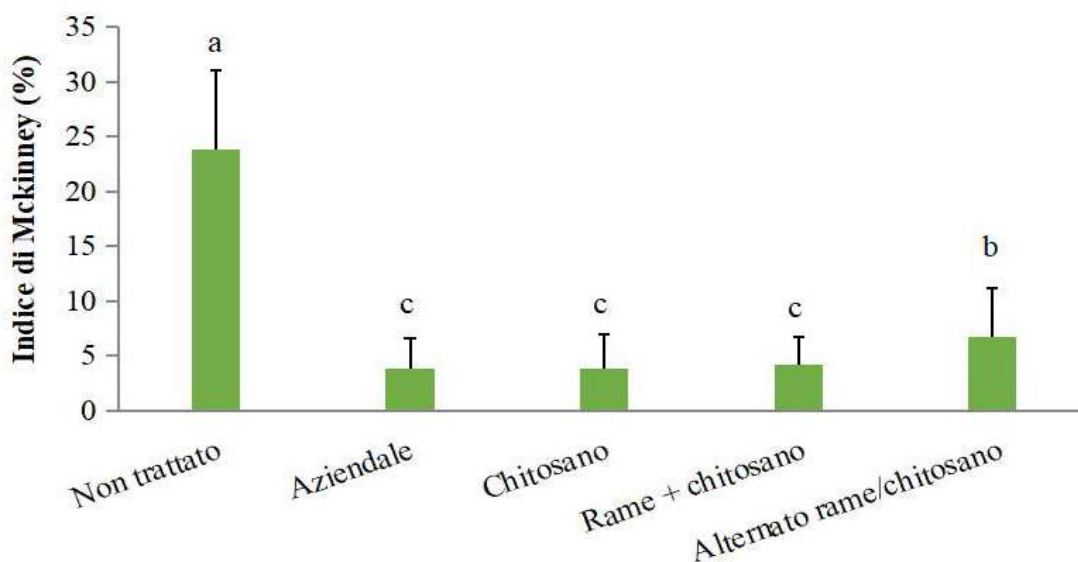


Figura 40 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

➤ **Infezioni da peronospora sui grappoli**

• Risultati del primo rilievo sui grappoli

La diffusione (Figura 41), la gravità (Figura 42) e l'Indice di McKinney (Figura 43) dimostrano come tutte le tesi trattate siano sullo stesso livello mentre il testimone non trattato presenti valori significativamente maggiori.

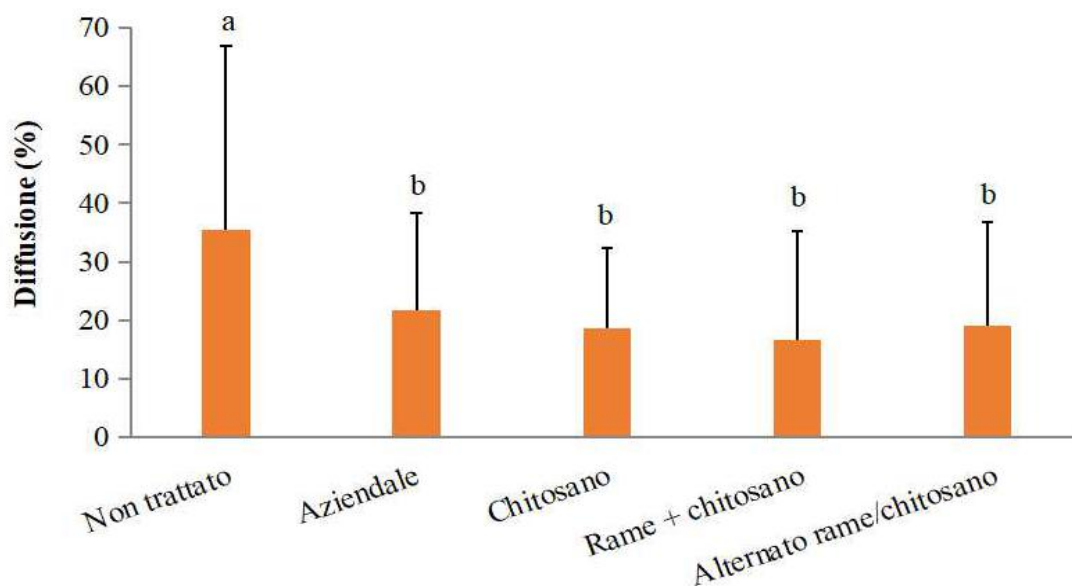


Figura 41 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

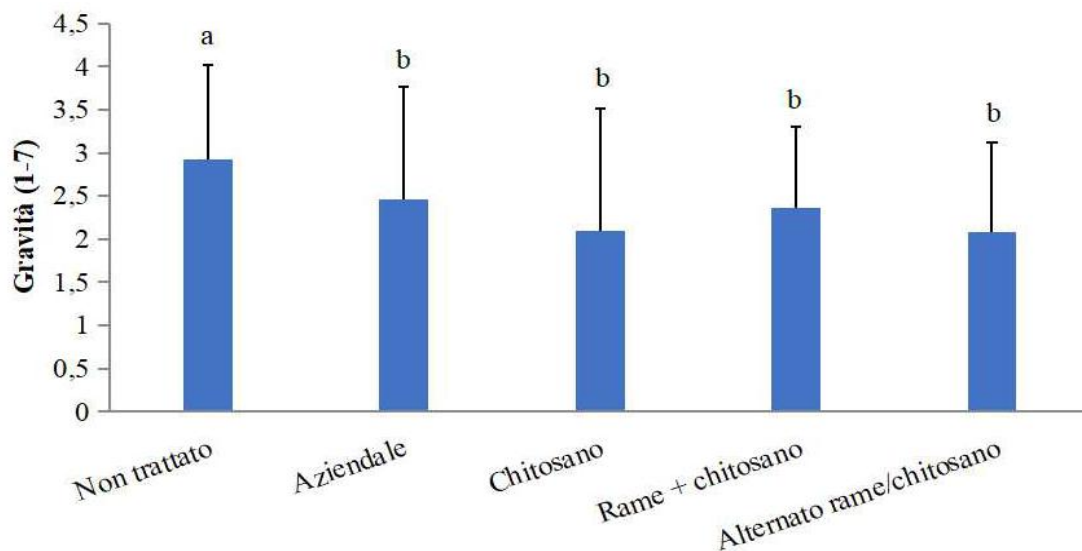


Figura 42 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

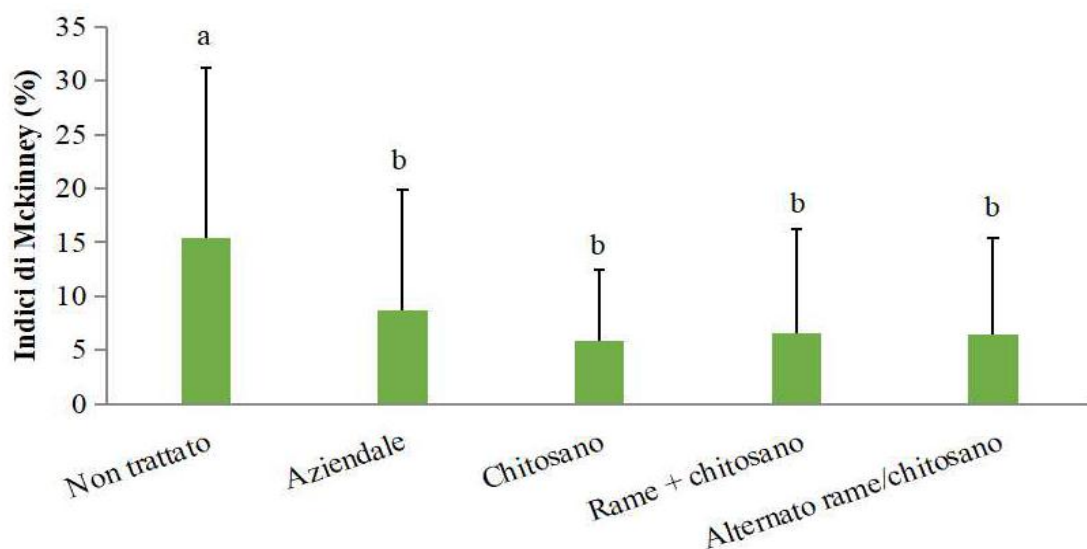


Figura 43 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel primo rilievo (27/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- **Risultati del secondo rilievo sui grappoli**

Per quanto riguarda la diffusione (Figura 44), nel secondo rilievo non emergono differenze significative tra le tesi ad eccezione del testimone non trattato e del trattamento aziendale. Anche nella gravità (Figura 45) e nell'Indice di McKinney (Figura 46) emerge come significativa soltanto la differenza tra il testimone non trattato e le altre tesi.

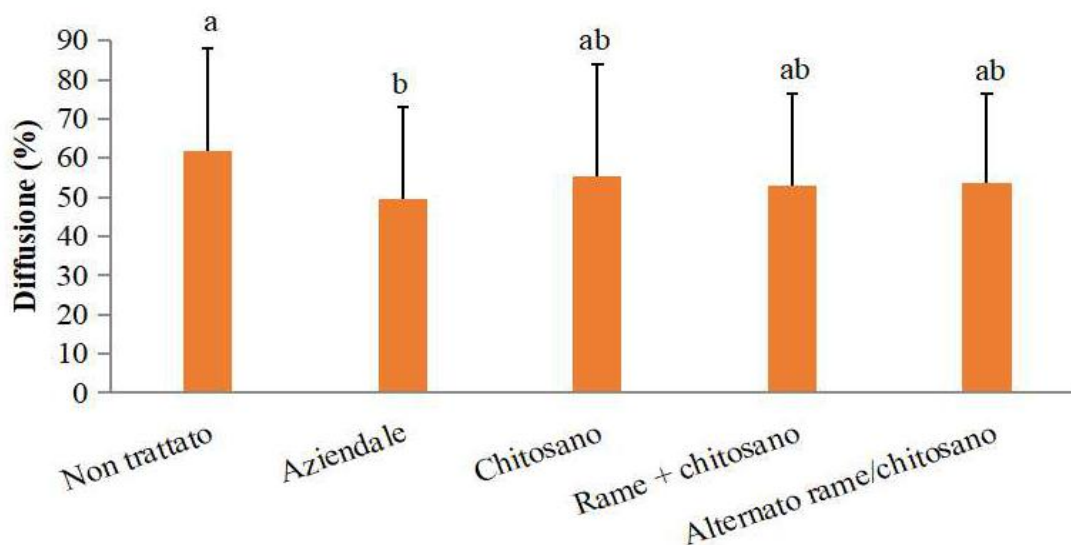


Figura 44 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

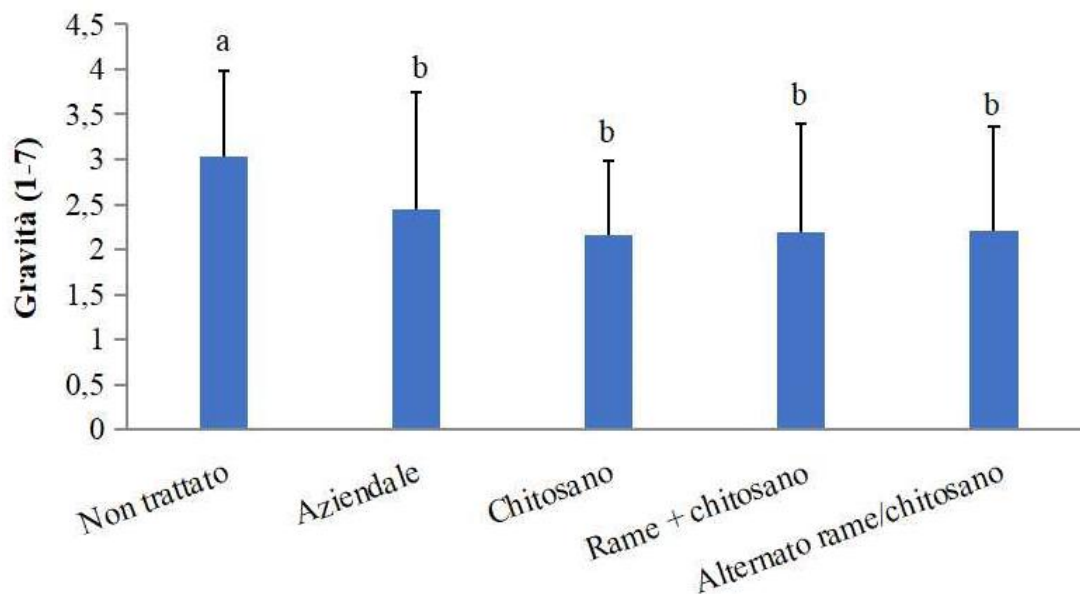


Figura 45 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

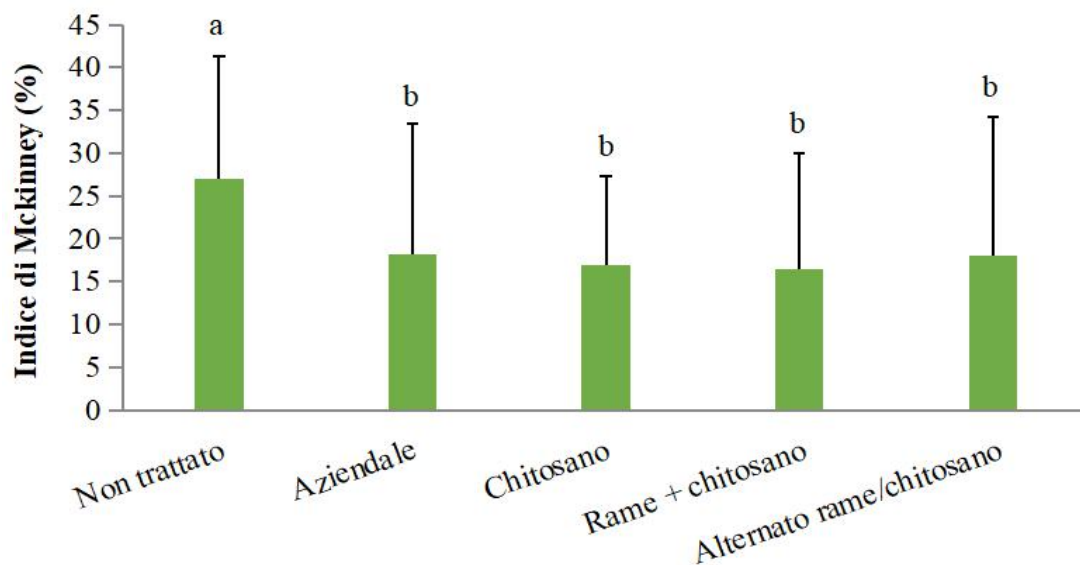


Figura 46 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Castelplanio nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

8.2.3. Rilievi sul vigneto di Angeli di Varano

➤ Infezioni da peronospora sulle foglie

• Risultati del primo rilievo sulle foglie

A seguito dell'analisi statistica effettuata sui dati raccolti il 23 luglio 2020 nel vigneto di Angeli di Varano, è emerso che né per quanto riguarda la diffusione (Figura 47), né per la gravità (Figura 48) né per l'Indice di McKinney (Figura 49) si evidenziano differenze significative tra le diverse tesi.

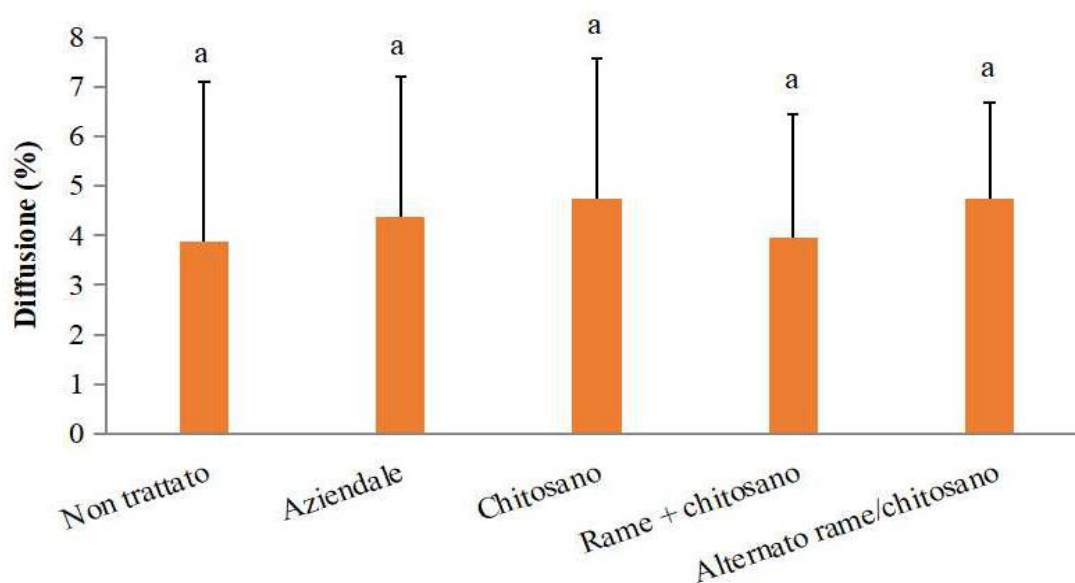


Figura 47 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

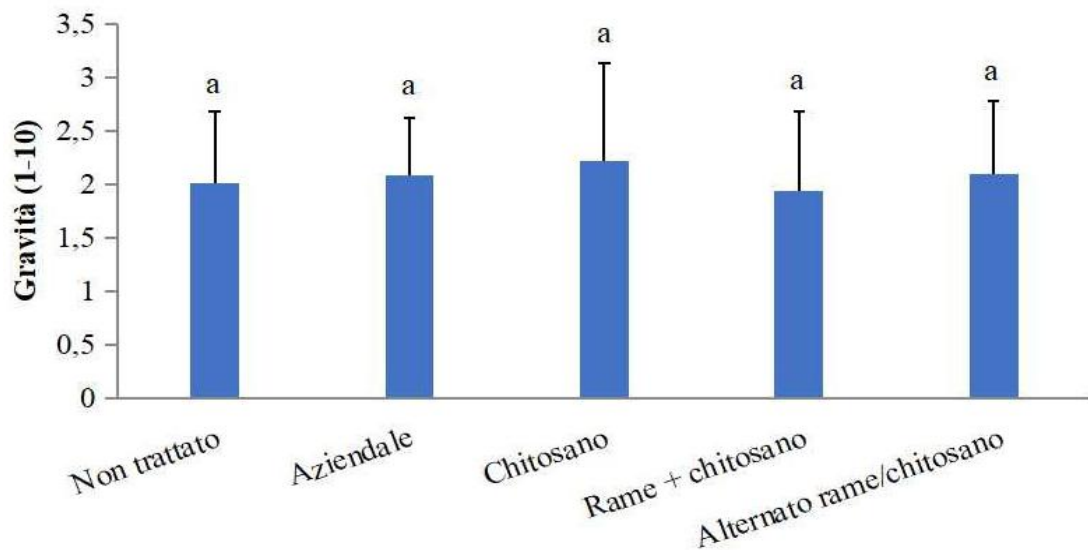


Figura 48 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

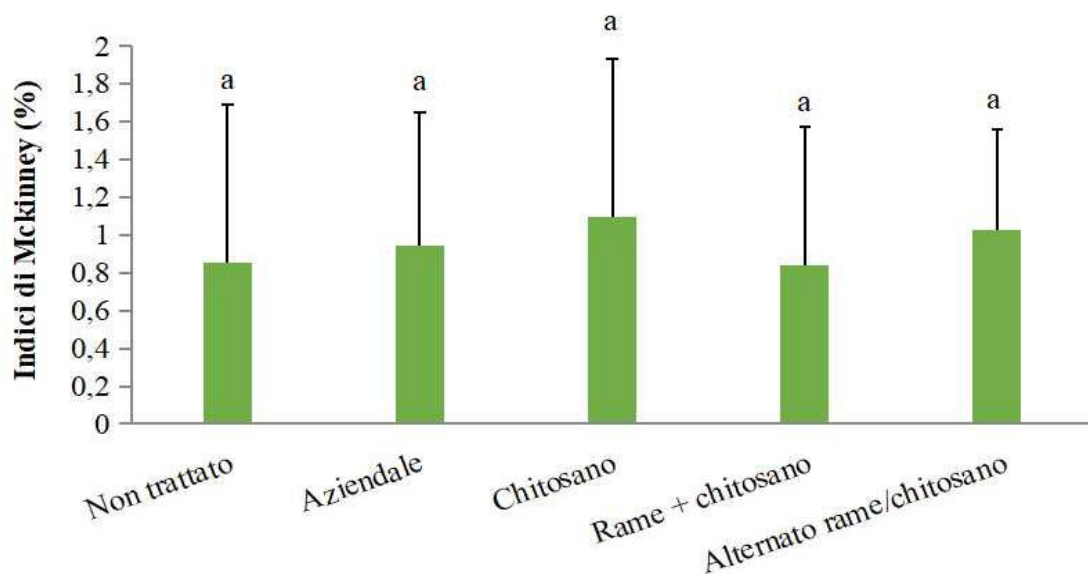


Figura 49 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del secondo rilievo sulle foglie

Al contrario, col progredire della malattia, nel secondo rilievo sono emerse delle differenze circa la capacità delle diverse tesi di contenere la malattia. Al testimone non trattato, sempre con i valori di diffusione più alti, seguono il chitosano da solo poi il trattamento miscelato con rame e chitosano e infine, con la stessa capacità di controllo, il testimone aziendale, fatto esclusivamente con rame, e il trattamento alternato (Figura 50).

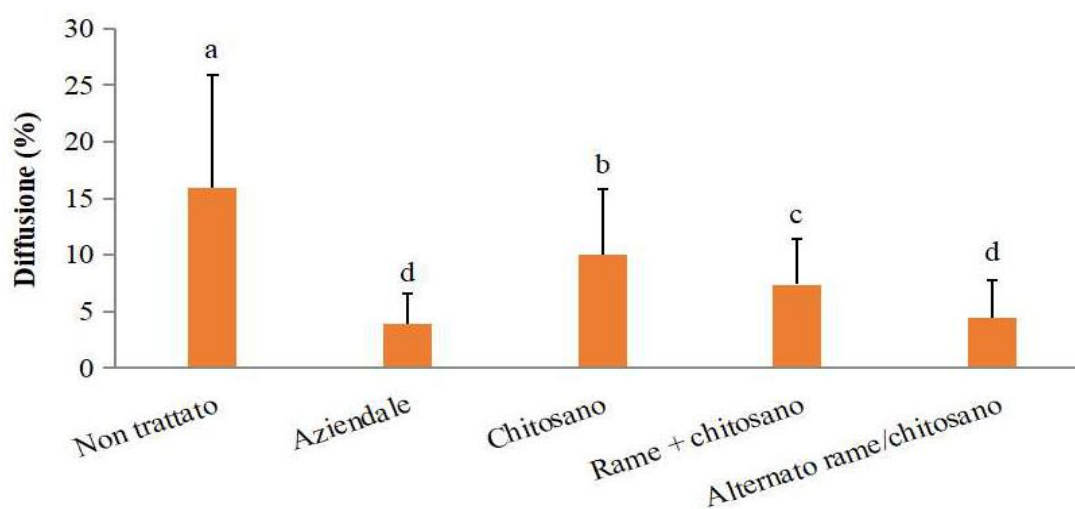


Figura 50 - Diffusione della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Per quanto riguarda la gravità (Figura 51) troviamo il testimone non trattato che si differenzia da tutte le altre tesi che presentano quindi valori significativamente minori. Tra queste emerge una differenza tra il trattamento alternato, che assicura un maggiore controllo della malattia, e il chitosano da solo, che assicura comunque un buon contenimento dell'infezione.

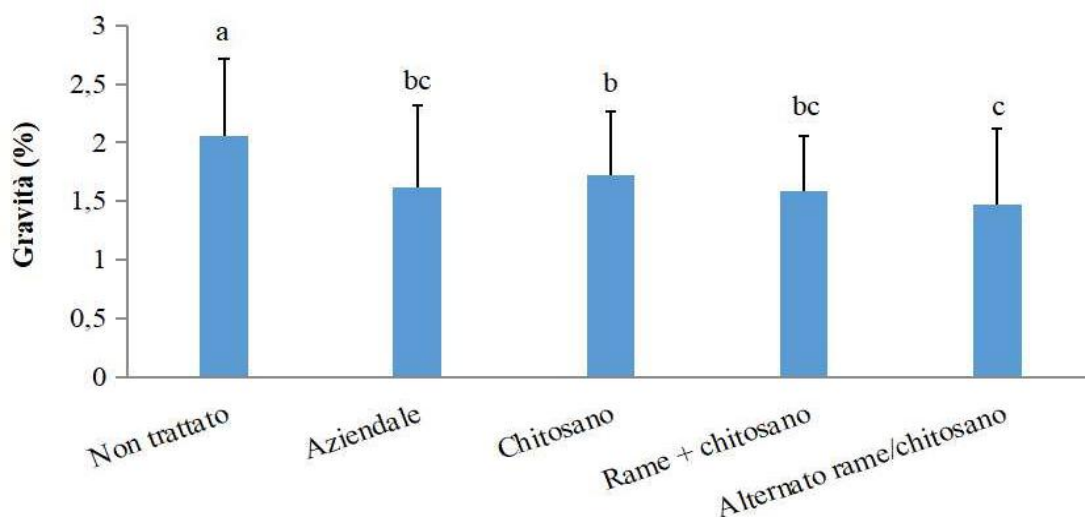


Figura 51 - Gravità della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

L'Indice di McKinney (Figura 52) conferma la differenza tra testimone non trattato e tutte le altre tesi e fa emergere anche la differenza tra il trattamento effettuato con il biopolimero e le altre tesi in cui sono stati sfruttati prodotti cuprici, che invece risultano statisticamente simili.

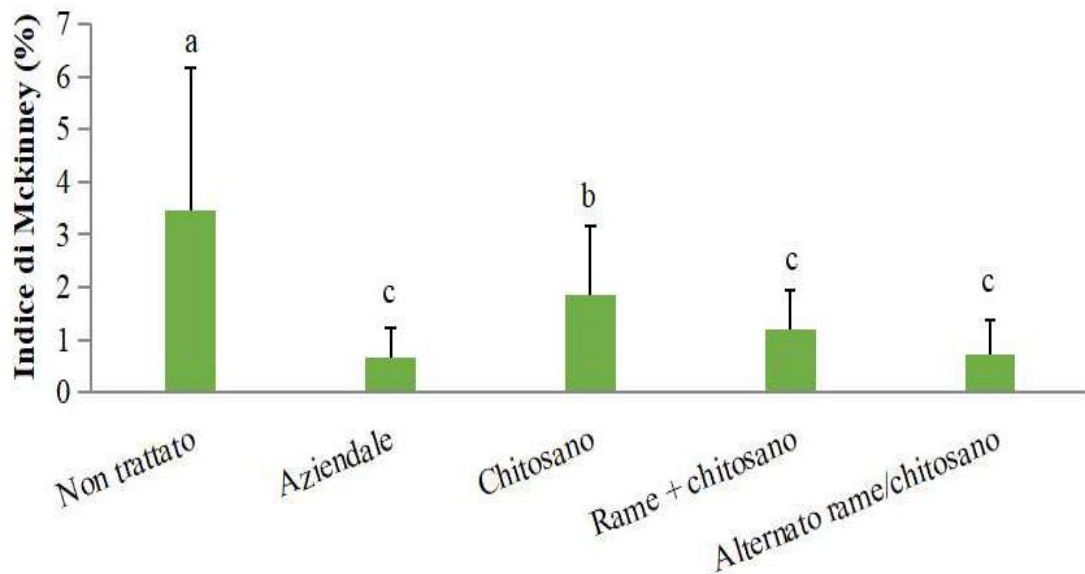


Figura 52 - Indice di McKinney della peronospora della vite sulle foglie del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

➤ **Infezioni da peronospora sui grappoli**

- Risultati del primo rilievo sui grappoli

Gli istogrammi della diffusione (Figura 53) e dell'Indice di McKinney (Figura 54) evidenziano come il chitosano da solo garantisca un buon controllo della malattia insieme alla miscela e al trattamento alternato. Il testimone e l'aziendale presentano i valori della diffusione e dell'Indice di McKinney più elevati e non ci sono differenze significative tra loro.

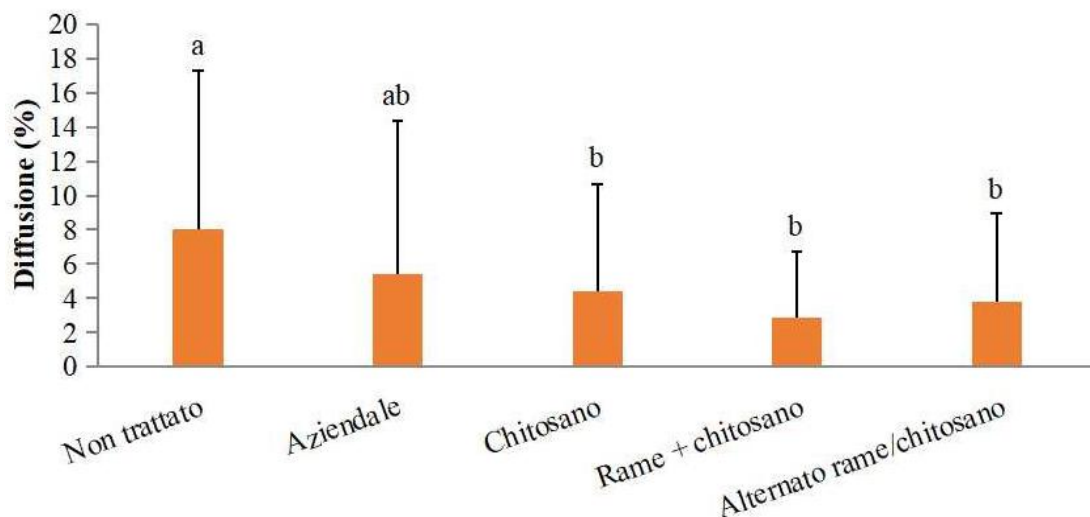


Figura 53 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

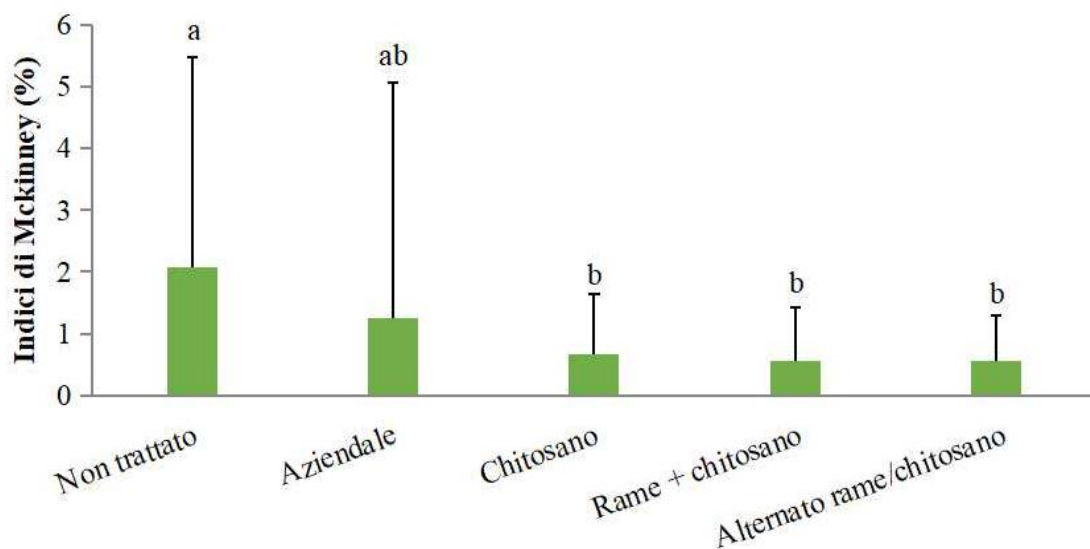


Figura 54 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

Anche nell'istogramma della gravità (Figura 55) il chitosano presenta valori piuttosto bassi insieme al trattamento alternato, mentre il trattamento miscelato non presenta differenze significative rispetto al testimone e all'aziendale.

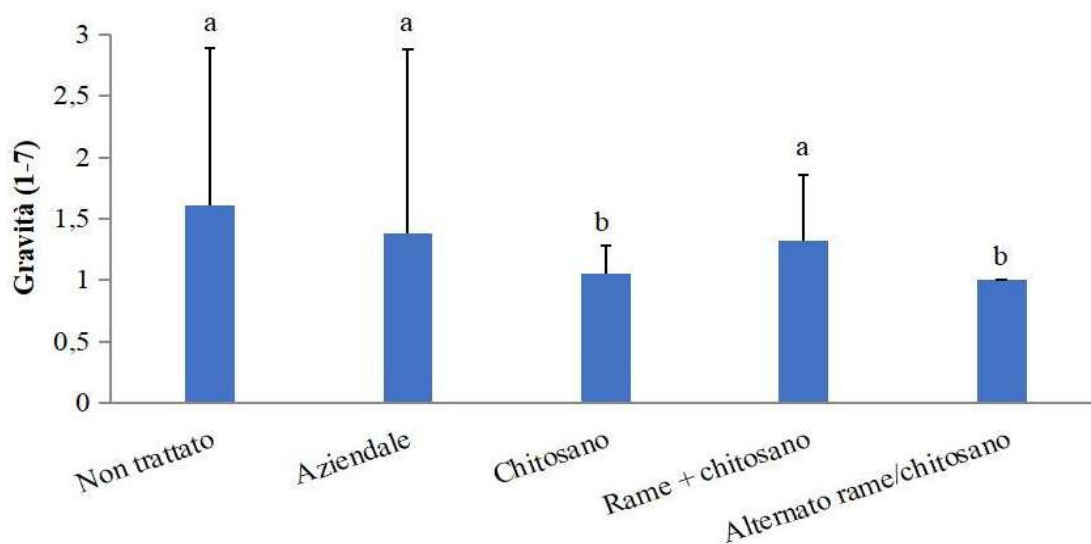


Figura 55 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel primo rilievo (23/07/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

- Risultati del secondo rilievo sui grappoli

Anche in questo rilievo il controllo del chitosano verso *Plasmopara viticola* risulta essere buono infatti, in tutti gli istogrammi (Figure 56, 57 e 58) la tesi trattata esclusivamente con il biopolimero assume valori bassi e paragonabili alle porzioni trattate con prodotti cuprici.

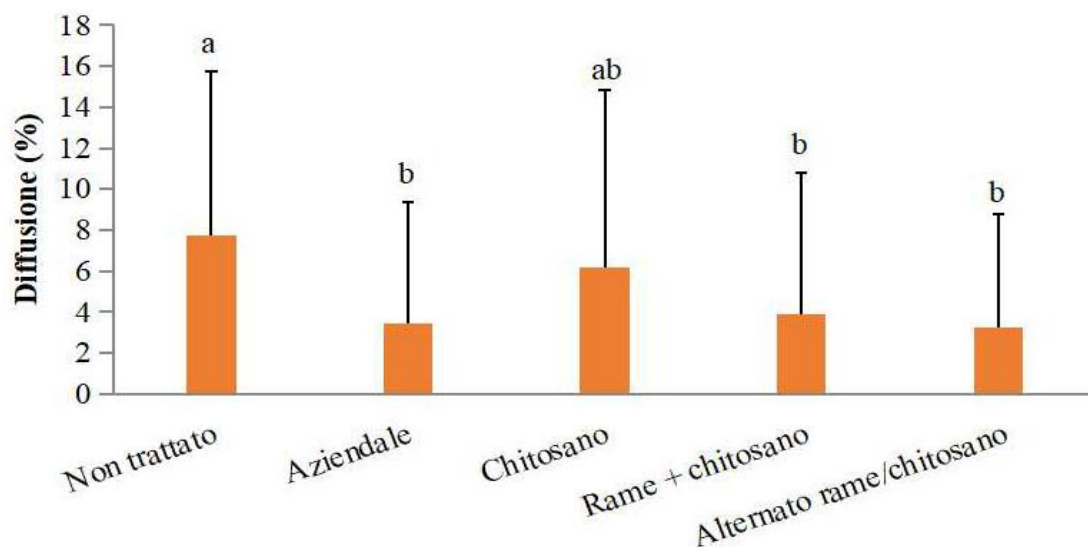


Figura 56 - Diffusione della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

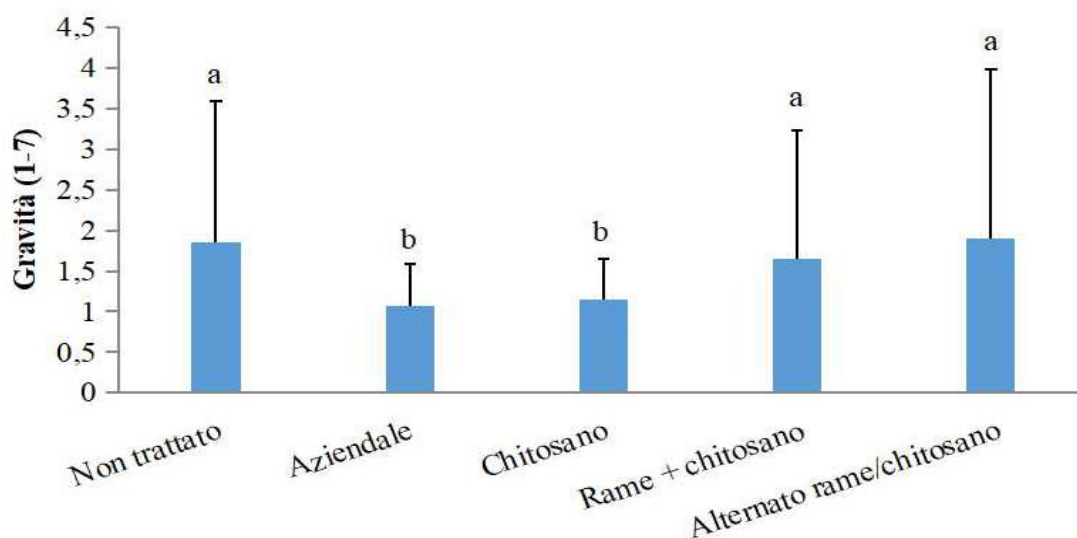


Figura 57 - Gravità della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

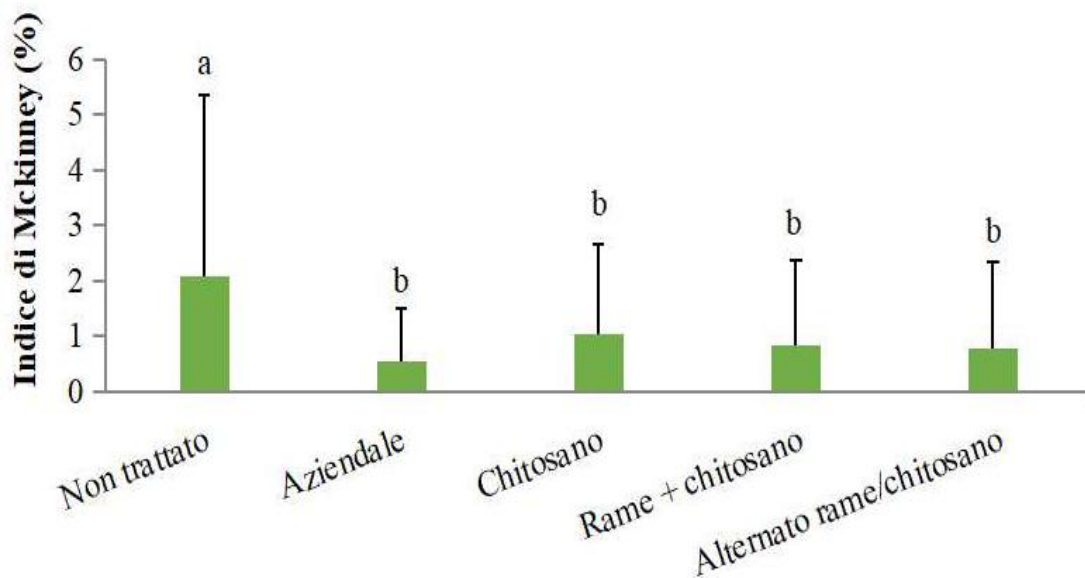


Figura 58 - Indice di McKinney della peronospora della vite sui grappoli del vigneto di Angeli di Varano nel secondo rilievo (7/09/20). I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

9. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La valutazione dell'efficacia del chitosano per il controllo antiperonosporico della vite è oggetto di questa tesi ma anche dell'interesse di tutto il mondo vitivinicolo che si trova a fronteggiare un problema serio come quello della sostituzione del rame per evitare le conseguenze negative che questo metallo pesante può avere nei confronti dell'ambiente e della salute umana. Per l'interpretazione dei risultati ottenuti da questo lavoro di ricerca è doveroso fare due premesse: la prima riguarda l'aspetto ambientale che ha garantito un contenimento naturale del patogeno grazie alle condizioni metereologiche stagionali mentre la seconda riguarda il fatto che i rilievi sono stati effettuati su tre diversi vigneti che, oltre ad avere ognuno un microclima tipico, presentano anche cultivar diverse e pertanto sono confrontabili solo parzialmente tra loro. La bassa pressione della malattia e la presenza del vitigno

Montepulciano nel vigneto di Angeli di Varano non sempre hanno permesso una differenziazione significativa fra le tesi; in genere, tutte riescono a contenere meglio il patogeno rispetto al testimone non trattato, ma poi non si apprezzano differenze significative fra i vari trattamenti. Questo tipo di risultato è influenzato sicuramente dai due fattori prima citati, infatti la giacitura dell'impianto assicura un microclima asciutto con elevato irraggiamento solare che sfavorisce l'insorgenza della malattia ed inoltre la cultivar presente è il Montepulciano, che risulta essere geneticamente più resistente alla peronospora. L'altra varietà presa in considerazione e che era presente nei restanti due vigneti è il Verdicchio che invece geneticamente risulta essere più suscettibile. È proprio per questo che sia nel vigneto di Castelplanio che in quello di Matelica la pressione della malattia era sicuramente maggiore. In aggiunta, entrambi gli impianti sono situati nell'entroterra, dove c'è una maggiore escursione termica giornaliera e sono circondati da vegetazione arborea spontanea, che favorisce una prolungata bagnatura mattutina, favorendo la diffusione di *Plasmopara viticola*. Nel vigneto di Matelica, a differenza degli altri siti, sono stati riscontrati dei parametri di malattia elevati nelle tesi trattate con chitosano, spesso anche superiori al testimone non trattato. Questa situazione è dovuta al fatto che qui il biopolimero è stato applicato a concentrazioni inferiori e quindi la sua efficacia è venuta meno; inoltre, l'acqua impiegata per i trattamenti potrebbe aver favorito l'instaurarsi di condizioni favorevoli al patogeno. Tutte le tesi contenenti rame hanno ridotto significativamente il livello di malattia e non si sono riscontrate differenze significative tra di esse. A Castelplanio invece, dove è stata registrata una maggiore pressione della malattia, tutte le tesi si differenziano statisticamente dal testimone non trattato ed è interessante notare come spesso il chitosano abbia mostrato dei

livelli di protezione dal patogeno paragonabili a quelli del rame. In conclusione, si può affermare che l'azione del chitosano risulta essere efficace nel contenimento della peronospora della vite, sia se miscelato o alternato con prodotti cuprici sia, in alcune circostanze, se applicato da solo; spesso infatti, non si riscontrano differenze significative fra le varie tesi che si distinguono dal testimone non trattato. Questi risultati dimostrano quindi la validità del chitosano nella protezione antiperonosporica in una stagione caratterizzata da una bassa pressione della malattia e dovranno essere ampliati con prove in annate più critiche da un punto di vista della gestione della peronospora, ma rappresentano sicuramente un buon riferimento circa l'efficacia del biopolimero, che in un futuro prossimo potrà entrar a far parte delle strategie di difesa dalla peronospora della vite come prodotto complementare o sostituto del rame. La possibilità di sostituire o limitare fortemente gli apporti di rame in vigneto, andando verso l'applicazione di prodotti ad impatto ambientale e salutistico nullo si fa quindi sempre più reale. Inoltre, va precisato che questa è stata una fra le prime sperimentazioni riguardanti il biopolimero, condotta su scala aziendale sul territorio regionale e quindi ha permesso di evidenziare quelli che sono i vari problemi logistici e le varie criticità che le aziende dovranno affrontare se questa molecola verrà introdotta nei programmi di lotta alla peronospora.

10. BIBLIOGRAFIA

Aziz, A., Poinssot, B., Daire, X. Adrian, M., Bezier, A., Lambert, B., Joubert, J. M., Pugin (2003). Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 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.
- Burruano (2000). The life cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist*, 14, 179-182.
- Caffi, T., Rossi, V., Bugiani, R. (2010). Evaluation of a warning system for controlling primary infections of grapevine downy mildew. *Plant Disease*, 94, 709–716.
- Caffi T., Rossi V., Bugiani R., Spanna F., Flamini L., Cossu A., Nigro C. (2006). Validation of a simulation model for *Plasmopara viticola* primary infections in different vine-growing areas across Italy. *Proceeding of the 5th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew*. Ed. Pertot. I., Gessler C., Gadoury D., Gubler W., Kasemeyer H.H., Magarey P. San Michele all'Adige, Italy, 18-23 June: 112-114.
- 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.
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., and Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8:968-987.
- Garde-Cerdán T., Mancini V., Carrasco-Quiroz M., Servili A., Gutiérrez-Gamboa G., Foglia R., Pérez-Álvarez E.P., Romanazzi G. (2017). Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: effect on grape amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65:7379–7386.

- La Torre, A., Talocci, S., and Miele, M. (2010). Evaluation of anti-downy mildew effectiveness and economic sustainability of substances of natural origin. *Petria*, 20:46-48.
- Maia, A. J., Leite, C.D., Botelho, R.V., Faria, C. M. D. R., and Machado, D. (2012). Chitosan as an option to control mildew in the sustainable vinegrowing. *Semina Ciencias Agrarias Londrina*, 33:2519-2530.
- Martelli R. (1984). Meccanismo d'azione degli antiparassitari a base di rame. *VigneVini*, 11, 51-53.
- Mescalchin E., Pertot I. (2003). La riduzione del rame in viticoltura biologica, in *Bioagricoltura. Safe Crop*, 81, 27-29.
- Pertot I., Gobbin D., Dagostin S., Ferrari A., Gessler C. (2005). La peronospora della vite. *Safe Crop*, 64.
- Pontiroli R., Rizzotti R., Zerbotta F. (2001). Prove di difesa antiperonosporica in viticoltura biologica. *Informatore Fitopatologico*, 51, 62-66.
- 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., Piancatelli S., Mancini V., Coppa D. (2020). Miscibilità di formulati a base di chitosano con agrofarmaci utilizzati in viticoltura biologica. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 167-172.
- Romanazzi, G., Santini, M., Murolo, S., Masciulli, A., D'Ercole, G., and 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.

Rossi V., Bugiani R., Caffi T., Giosuè S. (2006). Dynamic simulation of grape downy mildew on grapevine. Proceeding of the 5th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew. Ed. Pertot.I., Gessler C., Gadoury D., Gubler W., Kasemeyer H.H., Magarey P. San Michele all'Adige, Italy, 18-23 June: 109-111.

Rossi V., Caffi T., Giosuè S., Girometta B., Bugiani R., Spanna F., Dellavalle D., Brunelli A., Collina M. (2005). Elaboration and validation of a dynamic model for primary infections of *Plasmopara viticola*. Rivista Italiana di Agrometeorologia, 10(3): 7-13.

Rossi V., Caffi T., Giosuè S., Bugiani R. (2008). A mechanist model simulating primary infections of downy mildew in grapevine. Ecological Modelling, 212, 480-491.

Rusjan, D., Strlic, M., Pucko, D., Korosec-Koruza, Z. (2007). Copper accumulation regarding the soil characteristics in sub-Mediterranean vineyards of Slovenia. Geoderma, 141, 111–118.

Samma F., Quirico A. Cossu, Roggero G., Bellagarda S., Deboli R., Merlone A. (2015). Valutazione del modello previsionale EPI con inclusione dell'incertezza di misura e riferibilità nella taratura. Notiziario ERSA, 1-2.

Sancassani G.P., Buccini M., Fremiot P., Rho G., Toffolatti S.L, Vercesi A. (2006). Prove di efficacia antiperonosporica di prodotti a basso dosaggio di rame su vite. Atti Giornate Fitopatologiche 2, 167-172.

Thuerig, B., Slaughter, A., Marouf, E., Held, M., Mauch-Mani, B. and Tamm, L. (2011). Sitespecific field resistance of grapevine to *Plasmopara viticola* correlates to

altered gene expression and was not modulated by the application of organic amendments. *European Journal of Plant Pathology*, 129, 255–265.

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.

11. RINGRAZIAMENTI

Il mio percorso di laurea triennale è stato intenso e soddisfacente ed è praticamente giunto al termine. I ringraziamenti più generali vanno a tutto l'ambiente universitario che mi ha permesso di conoscere professori preparati e disponibili e di trovare anche dei compagni con i quali ho condiviso il corso di studio. Particolari ringraziamenti invece vanno a coloro i quali mi hanno affiancato durante la stesura della tesi stessa. In particolare, ringrazio il professor Gianfranco Romanazzi per avermi fatto accedere al mondo della ricerca scientifica in un progetto molto importante come VITINNOVA. La mia gratitudine va verso la conoscenza e la passione che ho potuto apprezzare e che hanno reso possibile un progetto di ricerca e sperimentazione anche in un periodo difficile come quello dell'emergenza sanitaria a cui abbiamo assistito. Un sentito ringraziamento va alla ricercatrice Marwa Mounmi e a Simone Piancatelli per avermi affiancato durante i rilievi in campo e per essere stati sempre puntuali e disponibili in caso di dubbi e consigli per la stesura della tesi. Inoltre, ringrazio la mia famiglia che mi ha sostenuto durante tutto questo percorso spronandomi sempre a fare il massimo ed i miei amici con cui ho trascorso il tempo libero.