



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E  
AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

EFFETTO DEI TRATTAMENTI CON  
RAME E CHITOSANO SULLE  
CARATTERISTICHE DI MOSTI E VINI  
DELLE VARIETÀ MONTEPULCIANO E  
VERDICCHIO

*EFFECT OF TREATMENTS WITH COPPER AND  
CHITOSAN ON MUST AND WINE CHARACTERISTICS*

TESI sperimentale

Studente:  
PAOLO DOMENICONE

Relatore:  
PROF. ROBERTO POTENTINI

Correlatore:  
PROF. GIANFRANCO ROMANAZZI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

## INDICE

	Pag.
<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>5</b>
<b>1.1. IL RAME E LA SITUAZIONE ATTUALE</b>	<b>5</b>
<b>1.2. IL CHITOSANO</b>	<b>13</b>
<b>1.3. INTRODUZIONE AL PROGETTO VITINNOVA</b>	<b>16</b>
<b>1.4. CARATTERISTICHE VITIGNI</b>	<b>20</b>
<b>1.4.1. <i>Montepulciano</i></b>	<b>20</b>
<b>1.4.2. <i>Verdicchio</i></b>	<b>22</b>
<b>2. OBIETTIVI DELLA RICERCA</b>	<b>26</b>
<b>3. MATERIALE E METODI</b>	<b>28</b>
<b>3.1. VIGNETI SPERIMENTALI</b>	<b>28</b>
<b>3.1.1. <i>Vigneto di Castelplanio</i></b>	<b>29</b>
<b>3.1.2. <i>Vigneto di Angeli di Varano</i></b>	<b>29</b>
<b>3.1.3. <i>Vigneto di Matelica</i></b>	<b>30</b>
<b>3.2. RACCOLTA UVE</b>	<b>31</b>
<b>3.3. ANALISI UVE</b>	<b>33</b>
<b>3.4. MICROVIFICAZIONE</b>	<b>34</b>
<b>3.4.1 <i>Cenni introduttivi</i></b>	<b>34</b>
<b>3.4.2. <i>Modalità di vinificazione</i></b>	<b>35</b>
<b>3.4.3. <i>Analisi mosti e vini</i></b>	<b>37</b>
<b>4. RISULTATI</b>	<b>38</b>
<b>4.1. RISULTATI ANALISI UVE</b>	<b>38</b>
<b>4.1.1. <i>Castelplanio</i></b>	<b>38</b>
<b>4.1.2. <i>Angeli di Varano</i></b>	<b>42</b>
<b>4.2. RISULTATI ANALISI MOSTI E VINI</b>	<b>44</b>
<b>4.2.1. <i>Angeli di Varano</i></b>	<b>44</b>
<b>4.2.2. <i>Matelica</i></b>	<b>52</b>
<b>4.2.3. <i>Risultati analisi sensoriale</i></b>	<b>54</b>
<b>5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI</b>	<b>56</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>60</b>
<b>7. RINGRAZIAMENTI</b>	<b>64</b>

## RIASSUNTO

La peronospora è una delle principali avversità parassitarie che colpiscono la vite e per il suo controllo sono richiesti un elevato numero di interventi fitoiatrici durante l'anno. Il rame, elemento cardine della protezione antiperonosporica, ha subito negli ultimi anni delle limitazioni circa il suo utilizzo a causa dei rischi per la salute umana e per l'ambiente che possono derivare da un suo utilizzo continuativo. La ricerca ha l'obiettivo di trovare prodotti alternativi a questo metallo pesante, che siano validi nella protezione della vite dagli attacchi di *Plasmopara viticola* e allo stesso tempo non influiscano negativamente sulle caratteristiche dei mosti e dei vini. In questa tesi sono state valutate le caratteristiche di mosti e vini di varietà trattate con chitosano, un biopolimero naturale che sta suscitando interesse come alternativa al rame. La prova rientra nel progetto PSR Marche "Vitinnova" ed è stata condotta su uve provenienti da tre vigneti sperimentali, sui quali viene studiata l'efficacia antiperonosporica del chitosano: due dell'azienda Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agricola ubicati ad Angeli di Varano (cv. Montepulciano) e Castelplanio (cv. Verdicchio), il terzo dell'azienda Belisario ubicato a Matelica (cv. Verdicchio). La prova ha interessato due tipi di analisi: un'analisi dei parametri delle bacche e un'analisi sulle caratteristiche dei vini. Oltre ad una riduzione del quantitativo di rame che arriva in cantina e dei problemi ad esso associati, le uve provenienti dalle tesi trattate con chitosano mostrano generalmente un grado zuccherino più basso e un'acidità maggiore rispetto alle uve provenienti dalle porzioni trattate con il rame. Questi risultati confermano la validità del chitosano come alternativa al rame e come prodotto innovativo per lo sviluppo futuro della viticoltura in funzione del cambiamento climatico.

## ABSTRACT

Grapevine downy mildew, caused by *Plasmopara viticola*, is one of the most important disease of vines and it needs several treatments during the season to be controlled. Copper is the main active ingredient used against *P. viticola*, but it has been limited by the Union European because the repeated use of this heavy metal can be dangerous for the environment and for the human health. The aim of scientific research in this field is to find new eco-friendly and effectiveness products that can replace copper; at the same time, these alternative compounds must not negatively affect berries, grape juice and wine properties. In this thesis, parameters of grapes, grape juice and wine from experimental vineyards treated with chitosan, a natural biopolymer which is gaining interest as an alternative to copper, were analyzed. Trials were conducted on grapes from 3 experimental vineyards, treated with chitosan and copper for downy mildew: 2 belonging to the Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agricola winery, located in Angeli di Varano (cv. Montepulciano) and Castelplanio (cv. Verdicchio), and the third (cv. Verdicchio) to the Belisario winery, located in Matelica. Analysis were carried on grape juice and on wine, for the wine produced from grapes of Angeli di Varano and Matelica vineyards. In addition to a reduction in the amount of copper that arrives to the cellar, grapes treated with chitosan generally showed a lower sugar content and higher acidity than grapes from portions treated with copper. The results show how chitosan does not negatively affect the evaluated parameters of the final products, confirming it as a valid alternative to copper and an innovative compound for the adaptation of viticulture to climate change.

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 IL RAME E LA SITUAZIONE ATTUALE

Il rame è utilizzato per pratiche agronomiche, relative alla difesa fitosanitaria, sin dal XIX secolo. Esso è un prodotto anticrittogamico inorganico, che va ad attaccare le micosi avverse alle piante. Nel corso dei secoli i prodotti rameici sono stati molto utilizzati per la difesa antifungina. In viticoltura, vengono impiegati soprattutto nelle strategie di difesa dalla peronospora della vite, malattia causata dall'Oomicete *Plasmopara viticola*. La scoperta della sua efficacia avvenne nel 1882 grazie al botanico francese Pierre-Marie-Alexis Millardet.

Millardet notò che il prodotto che i contadini francesi nella Medoc utilizzavano per scoraggiare i furti dei grappoli potesse avere una valenza anche nella difesa dagli attacchi di *P. viticola*. Il prodotto era un miscuglio di solfato di rame, calce e acqua. Così prese il miscuglio e, dopo 3 anni di sperimentazioni, pubblicò sul *Journal d'Agriculture Pratique* il primo fungicida: il *Bordeux Mixture*, che diede inizio ad un'innovazione tecnologica in agricoltura ([britannica.com/biography/Pierre-Marie-Alexis-Millardet](http://britannica.com/biography/Pierre-Marie-Alexis-Millardet)).

Con il tempo i prodotti rameici sono stati migliorati per aumentarne l'efficacia nei confronti degli organismi fungini fitopatogeni. I composti rameici sono molteplici e vanno da composti più complessi come la poltiglia bordolese [CuSO<sub>4</sub> con Ca(OH)<sub>2</sub>], a composti più semplici come l'idrossido di rame [Cu(OH)<sub>2</sub>]. 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. Il rame ha un meccanismo d'azione multisito, ma agisce principalmente attaccando le membrane

delle cellule fungine, modificandone la permeabilità, denatura gli enzimi, lo strato proteico e va ad inibire numerosi processi fisiologici, come il ciclo di Krebs, interferendo la produzione di acetilCoA. I prodotti a base di rame sono molto diffusi in agricoltura perché sono generalmente di facile preparazione/utilizzazione, ad ampio spettro e applicabili su un elevato numero di colture. Inoltre, grazie alla modalità d'azione multisito degli ioni rame, i prodotti cuprici non creano problemi di insorgenza di resistenze negli organismi bersaglio e quindi vengono anche applicati in miscela con prodotti curativi, nelle strategie antiresistenza.

Con il tempo è stato però constatato che un utilizzo errato, eccessivo e/o ripetuto di composti rameici porta a risvolti negativi per l'ambiente, la salute dell'uomo e le piante stesse. Essendo un metallo pesante, il rame è soggetto a bioaccumulo nelle catene trofiche, inoltre la sua presenza interferisce negativamente con l'edafon e la microfauna dei suoli, ad esempio abbassando le popolazioni di lombrichi e carabidi, causando alterazioni microbiologiche o enzimatiche ed abbassando il pH del suolo (Pontiroli et al., 2001); risulta essere anche pericoloso per l'uomo, in quanto i residui di rame non dilavati possono inquinare il prodotto finale, causando problemi in fase di vinificazione nel caso dell'uva o esponendo il consumatore alla molecola tossica (Juang et al., 2012; Provenzano et al., 2010); è stato anche dimostrato che concentrazioni elevate di rame nei suoli vitati, possono provocare fitotossicità alle piante: radici e tralci mostrano una riduzione della loro crescita, si assiste a un calo del numero delle foglie e una possibile clorosi in suoli dove la concentrazione di rame supera i 400 mg/kg (Dagostin et al., 2011).

Per ovviare a questi aspetti negativi, la comunità europea ha emesso un regolamento (Tabella 1), in vigore dal 1/01/2019 al 31/12/2025, per limitare l'uso dei composti

rameici in campo. In primo luogo, l'Unione Europea intervenne con il Regolamento 473/2002 limitando le dosi a  $8 \text{ kg ha}^{-1}$  per anno. Successivamente, con il Regolamento 889/2008 il limite è stato portato a  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  per 5 anni ( $6 \text{ kg ha}^{-1}$  per anno) e attualmente è in vigore un limite che prevede  $28 \text{ kg ha}^{-1}$  per 7 anni, ossia  $4 \text{ kg ha}^{-1}$  in media per anno. Inoltre, con il Regolamento 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 UE 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.

**Tabella 1** - Limitazioni poste all'uso del rame dal Regolamento UE n. 2018/1981.

<b>Nome comune, numero di identificazione</b>	<b>Denominazione IUPAC</b>	<b>Purezza</b>	<b>Disposizioni specifiche</b>
Composti di rame: <b>Idrossido di rame</b> N. CAS 20427-59-2 N. CIPAC 44.305	Idrossido di rame (II)	$\geq 573$ g/kg	Sono autorizzati esclusivamente gli impieghi che comportano un'applicazione totale non superiore a 28 kg di rame per ettaro nell'arco di 7 anni. Per l'applicazione dei principi uniformi di cui all'articolo 29, paragrafo 6, del regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, occorre tener conto delle appendici I e II della relazione di esame sui composti di rame.
<b>Ossicloruro di rame</b> N. CAS 1332-65-6 o 1332-40-7 N. CIPAC 44.602	Ossicloruro di rame	$\geq 550$ g/kg	
<b>Ossido di rame</b> N. CAS 1317-39-1 N. CIPAC 44.603	Ossido di rame	$\geq 820$ g/kg	
<b>Poltiglia bordolese</b> N. CAS 8011-63-0 N. CIPAC 44.604	Non attribuito	$\geq 245$ g/kg	
<b>Solfato di rame tribasico</b> N. CAS 12527-76-3 N. CIPAC 44.306	Non attribuito	$\geq 490$ g/kg	

Sulla base dei rischi legati all'utilizzazione dei mezzi chimici nella protezione dei vegetali di interesse agronomico, nel maggio 2020, la Commissione europea ha presentato, contemporaneamente alla "strategia per la biodiversità", la strategia "*Farm to Fork*", la quale si compone di una serie di obiettivi entro il 2030, tra cui:

- ridurre del 50% l'uso dei pesticidi di sintesi chimica;
- ridurre le perdite di nutrienti di almeno il 50%, garantendo allo stesso tempo che non si verifichi un deterioramento della fertilità del suolo; in tal modo l'uso dei fertilizzanti sarà ridotto di almeno il 20%;



- ridurre del 50% le vendite di antimicrobici per gli animali da allevamento e per l'acquacoltura;
- destinare almeno il 25% della superficie agricola all'agricoltura biologica.

Tutto ciò riguarda anche i prodotti cuprici, i quali vengono ampiamente utilizzati sia in agricoltura integrata sia in agricoltura biologica, dove però ancora oggi, rappresentano i soli in grado di garantire dei livelli protezione accettabili da alcune malattie come la peronospora della vite. Tuttavia, in relazione alle restrizioni della Comunità Europea per limitare l'uso del rame e di altri prodotti fitosanitari, si sono incentivati negli ultimi anni degli accorgimenti da poter effettuare in viticoltura, come:

- le pratiche agronomiche: importanti in un'ottica di prevenzione della malattia e per cercare di evitare la diffusione della stessa. Pratiche da eseguire sono relative alla scelta del luogo d'impianto, per evitare di posizionarsi su aree particolarmente favorevoli allo sviluppo di malattie (es. aree ad elevata umidità per la peronospora), alla scelta del materiale di propagazione sano e del sistema di allevamento; alla potatura, cercando di ottenere giusti livelli di arieggiamento ed illuminazione all'interno delle chiome eliminando foglie, germogli in eccesso e mantenendo una giusta carica di gemme sui tralci; all'eliminazione dei residui; alla limitazione dei ristagni idrici;
- l'utilizzo di varietà resistenti: non è facile individuare una varietà resistente, poiché le varietà di *Vitis vinifera* sono tutte più o meno suscettibili a peronospora. Resistenti sono le viti americane, come *Vitis rupestris*, che però non sono adatte alla produzione di vino. Si sta cercando quindi di trasferire questi geni di resistenza dalle varietà americane a quelle europee.

Alcuni esempi di ibridi resistenti sono per l'uva a bacca nera, la Cabernet Cortis (Cabernet Sauvignon x Merzling) e il Prior ((JS234-16xPN) x (Merzling x ZS x St. Laurent)), mentre per l'uva a bacca bianca la Solaris (Merzling x Gm 6493) e la Bronner (Merzling x Gm 6494).

Appare chiaro però che, essendo il rame un prodotto candidato alla sostituzione, la riduzione dei suoi impieghi potrebbe non essere sufficiente e occorre perciò trovare dei prodotti a minor impatto sulla salute umana e sull'ambiente, che siano ugualmente efficaci nel controllo delle avversità e che possano sostituirlo in tempi brevi, permettendo quindi ai viticoltori biologici di continuare a proteggere le viti dagli attacchi di *P. viticola*, agente causale della peronospora della vite.

La ricerca, nel tempo ha individuato alcuni prodotti naturali alternativi al rame: ad esempio, alcuni studi hanno identificato delle sostanze naturali che hanno mostrato interessanti qualità nel controllare lo sviluppo di *P. viticola*. In particolare, ci sono proteine idrolizzate (Lachhab et al., 2014), chitosano (Maia et al., 2012; Romanazzi et al., 2016, 2021), laminarina (Aziz et al., 2003) e alcuni microorganismi (Alfonzo et al., 2012). Uno studio austriaco (Harms et al., 2013) ha inoltre confrontato l'efficacia antiperonosporica di estratti vegetali con prodotti induttori di resistenza. È stato un lavoro lungo, partito da prove in vitro su dischetti fogliari. Solo le sostanze che hanno mostrato una certa efficacia sono state poi sottoposte a prove di campo. Oltre a valutare la vitalità del fungo e il grado d'infezione, si è misurata anche l'attività enzimatica connessa ad una supposta induzione di resistenza.

Tra i composti naturali più interessanti contro la peronospora della vite, si annoverano:

➤ FOSFITI E FOSFONATI

Il fosfonato ( $\text{KN}_2\text{PO}_3$ ) e il fosfito ( $\text{K}_2\text{HPO}_3$ ) sono dei sali dell'acido fosforico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) e dell'acido fosforoso ( $\text{H}_3\text{PO}_3$ ). 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 *P. viticola* in vigneti biologici.

#### ➤ ACIDO 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. Tra i due il bicarbonato di potassio è quello che ha dimostrato una migliore efficacia nei confronti di *P. 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.

### ➤ 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 *P. 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  $\beta$ -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 *B. cinerea* e *P. viticola* (Aziz et al. 2003; Feliziani et al., 2015). L'applicazione di questo prodotto sulla parete fogliare non ha indotto la morte delle cellule vegetali ed ha dimostrato un controllo di *B. cinerea* e *P. viticola* rispettivamente del 55% e del 75% circa. Spesso vengono associate con estratti microbici di *Saccharomyces*.

## 1.2 IL CHITOSANO

Tra i prodotti naturali che hanno dimostrato un'efficacia nei confronti della peronospora della vite c'è anche il chitosano (Scott e Di Salvio, 2013; Romanazzi et al., 2018), biopolimero naturale oggetto della presente sperimentazione. Il chitosano ( $\beta$ -1,4-D-glucosammina) è un polisaccaride ottenuto dalla chitina per idrolisi basica. Viene estratto dalle pareti cellulari di alcuni funghi, in particolare in quelle degli *Zygomycetes*, e nei gusci dei crostacei. È una molecola del tutto naturale ed utilizzata in svariati ambiti: viene impiegata infatti nella cosmesi, nell'alimentazione, nella medicina e nell'agricoltura (Bautista-Baños et al., 2006). 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 *P. viticola* e altri funghi come *B. cinerea* ed *Erysiphe necator* (Romanazzi et al. 2002). La sua attività protettiva e fitoiatrica nei confronti dei parassiti dei vegetali si manifesta attraverso 3 proprietà: elicitante, filmogena, ed antimicrobica (Romanazzi et al. 2018). Il chitosano è infatti in grado di potenziare le difese naturali della pianta, agendo come elicitore in un sistema denominato MAMPs (micorbe-associated molecular patterns) e attivando il processo conosciuto come SAR (Systemic Acquired Resistance). Le risposte di difesa suscitate da questo biopolimero nelle piante includono (Iriti et al., 2011):

- l'innalzamento del calcio citoplasmatico, il quale può provocare nella cellula fungina una degradazione del citoscheletro e il rilascio degli enzimi litici contenuti nei lisosomi;
- l'attivazione delle *mitogen activated protein kinases* (MAPK), le quali possono portare ad un arresto del ciclo cellulare;
- lo scoppio ossidativo, una produzione rapida (entro 2-3 minuti) nella pianta di specie tossiche reattive all'ossigeno, i ROS ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^-$ ), che contribuiscono alla necrosi cellulare;
- sintesi delle fitoalessine, molecole ad alto peso molecolare che si formano a seguito dell'attacco di microrganismi patogeni;
- reazione di ipersensibilità, preceduta dall'esplosione dei ROS, dove la cellula invasa e quelle circostanti vengono portate a morte e vi è un accumulo di fitoalessine in queste cellule morte andando a creare un ambiente tossico per lo sviluppo del patogeno;

- sintesi dell'acido abscissico (ABA), stimolando nella pianta la chiusura stomatica;
- sintesi dell'acido jasmonico, la cui presenza stimola la sintesi di proteine come la difensina, la tionina e la chitinasi che determinano la Resistenza Sistemica Indotta (ISR).

L'azione filmogena consiste nella formazione di un film semipermeabile attorno ai tessuti vegetali che ostacola il processo infettivo e lo sviluppo dei parassiti, ma che al contempo riduce la traspirazione degli organi vegetali trattati (Meng et al., 2008; Romanazzi et al., 2018).

L'azione antimicrobica invece è resa possibile dalle cariche elettriche positive del biopolimero che vanno ad interferire con la carica elettrica negativa tipica della superficie cellulare di batteri e funghi, alterando la loro permeabilità cellulare.

Il chitosano cloridrato venne approvato come sostanza di base dalla Commissione Europea il 23 maggio 2014 nel Regolamento di esecuzione (UE) n. 563/2014, in cui è scritto che il prodotto, nella versione approvata il 20 marzo 2014 dal comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali, può essere utilizzato come sostanza di base nella difesa fitosanitaria.

Date le caratteristiche positive del prodotto, esso è stato testato per la sua efficacia come sostituto del rame, nella difesa della vite da *P. viticola*. Ai primi studi condotti in vitro e in campo a scala sperimentale, sono poi seguite delle ricerche condotte a livello aziendale, per verificarne l'effettiva possibilità di impiego in sostituzione del rame ed è emerso che questo biopolimero, in alcuni casi, riesce a garantire un livello di protezione della vegetazione dalla malattia paragonabile a quello del rame.

### 1.3 INTRODUZIONE AL PROGETTO VITINNOVA

Diverse cause, fra le quali anche il cambiamento climatico in atto, nelle Marche hanno portato alla necessità di innovare e migliorare le tecniche di gestione dei vigneti. In questo contesto, grazie alla misura 16.1 sul trasferimento dell'innovazione alle aziende agricole del PSR Marche 2014/2020, relativa al sostegno per la costituzione e la gestione dei gruppi operativi del Partenariato europeo per l'innovazione (PEI) in materia di produttività e sostenibilità dell'agricoltura, è nato il progetto "Vitinnova", che mira all'aumento della sostenibilità della filiera vitivinicola e all'incremento della sua competitività attraverso una serie di azioni che porteranno ai seguenti risultati:

- Messa a punto di strategie di difesa antiperonosporica dei vigneti biologici tali da abbattere l'impiego di rame sostituendolo con prodotti alternativi, con notevoli benefici sulla salute del suolo compromessa dall'accumulo di questo metallo pesante. Le strategie di difesa messe a punto in diverse aree viticole delle Marche in cui la pressione del patogeno è rilevante potranno essere estese a tutte le aziende viticole che in Regione gestiscono complessivamente 17.000 ha di vigneto;
- Applicazione della viticoltura di precisione per la calibrazione degli interventi di tecnica colturale che potranno essere dosati in funzione delle reali necessità dei vigneti permettendo di contenere l'uso dei fertilizzanti biologici e l'impiego delle macchine con ripercussioni positive sul contenimento delle emissioni di gas serra e della salute delle acque;
- Diffusione a scala aziendale e in vigneti biologici di tecniche colturali innovative che già hanno mostrato la loro efficacia su scala parcellare nel



regolare la maturazione degli acini e nel migliorare l'adattamento delle viti al cambio climatico, con ripercussioni positive sulla qualità delle uve;

- Messa a punto di un “pacchetto di azioni strategiche” tale da permettere la produzione di uve sane da vendemmiare tempestivamente al giusto grado di maturazione, con bassi o nulli residui di rame da destinare alla produzione di vino biologico;
- Messa a punto di un idoneo protocollo per la produzione di vino biologico in assenza di solfiti aggiunti e di elevata qualità sensoriale e salutistica.

Il progetto Vitinnova nasce dall'esigenza di limitare o annullare l'uso del rame in viticoltura. La coltivazione biologica dei vigneti per la produzione di uve destinate alla trasformazione in vino biologico comporta l'impiego di grandi quantità di antiparassitari a base di rame per la difesa antiperonosporica. In annate con andamento climatico caratterizzato da piogge e condizioni di elevata umidità, può risultare difficile rientrare nei limiti di 6 kg/ha annui di rame (Reg. CE 834/08 e 889/09). Alcuni risultati di ricerca hanno evidenziato la possibilità di proteggere la vite impiegando anche sostanze alternative al rame, come ad esempio il chitosano, le quali sono meno impattanti verso l'ambiente e la salute dell'uomo. L'utilizzo di questi prodotti fornisce anche ripercussioni positive nella trasformazione di uva in vino, riducendo la quantità di rame che arriva alle cantine. Altre innovazioni proposte dal gruppo operativo, riguardano l'utilizzo di gas criogenici e dell'ozono per la sanificazione delle uve e degli impianti in cantina e dell'impiego di lieviti selezionati e migliorati al fine di ridurre la quantità di SO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>S nei vini.

Il soggetto capofila del progetto è la Società Cooperativa Moderna, fondata del 1974 che ad oggi gestisce 300 ha, 50 dei quali di proprietà. Al gruppo operativo

partecipano anche la Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agricola, la Cantina Belisario s.a.c., l'Università Politecnica delle Marche, la Confederazione Italiana Agricoltori (CIA) della provincia di Ancona e l'Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche (ASSAM).

Il coinvolgimento di importanti realtà produttive del territorio nel progetto di ricerca permette di valutare l'azione antiperonosporica del chitosano (sostanza che ha ottenuto in passato risultati soddisfacenti in prove condotte *in vitro* e a scala parcellare) in condizioni aziendali, ossia considerando importanti fattori quali le attrezzature per la somministrazione dei fitofarmaci, le tempistiche d'intervento, le superfici da trattare e i volumi di applicazione. In questo modo, oltre a confermare o smentire l'efficacia dei trattamenti a base di chitosano nei confronti della peronospora, è possibile far emergere eventuali criticità d'ostacolo alla diffusione del biopolimero nella protezione dei vigneti. Più in generale, gli obiettivi del progetto possono essere riassunti come segue:

- Limitare o annullare l'uso del rame in viticoltura biologica usando prodotti alternativi nella difesa antiperonosporica per ottenere uve di qualità;
- Ottimizzare gli interventi colturali (defogliazione, vendemmia) e l'uso di agrofarmaci e fertilizzanti con tecniche di *smart viticulture* e *precision farming*;
- Applicare nuove tecniche colturali per l'adattamento al mutato contesto climatico in base al monitoraggio precoce del decorso della maturazione;
- Sviluppo di tecniche di vinificazione delle uve biologiche per ottenere vini a basso o nullo tenore di solfiti ed idrogeno solforato di migliorata qualità sensoriale.

Il progetto Vitinnova interessa una parte della viticoltura marchigiana, ma i suoi frutti potranno essere estesi in futuro anche ad altre realtà vitivinicole regionali e nazionali. Nelle Marche, secondo l'ultimo Censimento generale dell'agricoltura del 2010 operano circa 14.000 aziende viticole, per una superficie vitata complessiva di 17.000 ettari, ripartiti nelle province di Ascoli Piceno (36,3%), Ancona (28,5%), Macerata (13,1%), Pesaro Urbino (11,9%) e Fermo (10,1%) (ISTAT, 2010). Il settore vitivinicolo delle Marche si presenta con 20 vini a denominazione di origine, 150 milioni di euro di fatturato, circa un terzo dei quali derivano dall'Export. Le innovazioni previste dal progetto Vitinnova interesseranno direttamente circa mille soci di Moncaro e Belisario che gestiscono complessivamente una superficie vitata di oltre 1.600 ha (quasi il 10% del vigneto regionale) dislocata nelle diverse province della Regione e porteranno benefici a tutte le altre Aziende viticole della regione che saranno coinvolte nella fase di divulgazione. Le innovazioni introdotte dal progetto interesseranno altresì l'intera filiera vitivinicola, che comprende 160 cantine registrate nel sito [www.bereilvino.it](http://www.bereilvino.it), ma anche promotori, sommelier, esportatori, consumatori ed altri operatori o utenti del comparto vitivinicolo.

Gli approfondimenti e gli incontri organizzati nella fase di *setting-up* del progetto Vitinnova hanno permesso di costituire un gruppo operativo con aziende operanti nei tre principali ambienti mesoclimatici della regione Marche (fascia litoranea, media collina e collina interna), dove vengono allevati vitigni per la produzione di vini importanti come il Verdicchio dei Castelli di Jesi, il Verdicchio di Matelica e il Rosso Conero.

#### **1.4. CARATTERISTICHE VITIGNI**

Le attività del progetto sono state condotte su vigneti rappresentativi del comparto vitivinicolo marchigiano, dove sono impiantate le varietà Montepulciano o Verdicchio, dedicate rispettivamente alla produzione del Rosso Conero, del Verdicchio di Matelica e del Verdicchio dei Castelli di Jesi.

##### **1.4.1 *Montepulciano***

Il Montepulciano ha origine antichissima. Le origini si fanno risalire al VII secolo a.C. quando coltivatori locali impararono a coltivare la vite dagli Etruschi. Il Montepulciano è una varietà autoctona della zona adriatica, che comprende il sud delle Marche, l'Abruzzo, il Molise e il nord della Puglia. Per lunghi periodi è stato considerato un tipo di Sangiovese, ma a partire dagli inizi del XX secolo sono sorte incongruenze che hanno portato nel 1948 a sancire la differenza tra i due ([www.winedharma.com/it/vitigno/montepulciano-dabruzzo-il-vino-il-vitigno-le-caratteristiche](http://www.winedharma.com/it/vitigno/montepulciano-dabruzzo-il-vino-il-vitigno-le-caratteristiche)).

Il vitigno Montepulciano presenta:

- germogli di 10-15 cm, con un piccolo apice a ventaglio verde biancastro, le foglioline apicali (dalla 1<sup>a</sup> alla 3<sup>a</sup>) cuneiformi, piegate a gronda, lanugginose su entrambe le pagine, verdi biancastre e margini rosa, le foglie basali (dalla 4<sup>a</sup> in poi) a bordi sollevati, verdi leggermente screziate in marrone;
- tralci erbacei leggermente ellittici e costoluti, glabri e di color verde sfumato e striato in marrone-vinoso;

- viticci intermittenti, bi-trifidi, di medio vigore, color verde sfumato in marrone-vinoso specie alla base;
- infiorescenza di media grandezza, conica o cilindro-conica, racimoli e fiori semi-serrati;
- fiore con un bottone florale globoso, una corolla verde con apertura regolare. Una volta aperto diviene un ermafrodita regolare, con stami leggermente allungati, autofertile;
- foglia di media grandezza, pentagonale o quinquelobata;
- grappolo medio (figura 1), semi-serrato o mediamente compatto, di forma conica o cilindro-conica, spesso alato con una o due ali;
- acini di grandezza media, di forma subovale o ovale, con buccia ricoperta di abbondante pruina, spessa e consistente, di colore nero-violaceo, succo leggermente rosato, polpa sciolta o quasi molle, pennello grosso e corto, verde-giallastro, di difficile separazione dall'acino. Vinaccioli da 1 a 3, di media grandezza.

Ha un'epoca di germogliamento tardiva, un'epoca di fioritura medio-tardiva, un'epoca di invaiatura media ed un'epoca di maturazione medio-tardiva (solitamente primi di ottobre). Presenta una scarsa resistenza fogliare alla peronospora e all'oidio, maggiore nei grappoli e negli acini. Molto resistente al marciume, i grappoli sono facilmente soggetti all'acinellatura verde, difficilmente alla colatura e all'acinellatura dolce (Bruni, 1962).

Il vino in purezza presenta un grado alcolico tra l'11% e il 13%, con un pH tra 3,2 – 3,45 e un'acidità totale di 6 – 8 g/l. Si presenta con un colore rubino, pieno e lucente con riflessi porpora in gioventù. È un vino fruttato. Nei profumi spiccano mora matura,

gelso, sottobosco e visciole. Sono caratterizzati da tannini fitti, morbidi e non molto aggressivi.



**Figura 1** – Grappolo di Montepulciano.

#### **1.4.2. Verdicchio**

Il vitigno è considerato autoctono delle Marche. Il vitigno ha una storia antichissima, le prime testimonianze della sua coltivazione risalgono al XVI secolo. Il primo testo scritto in lingua italiana risale al 1557, ed è una traduzione effettuata da Mambrino Roseo da Fabriano dallo spagnolo all'italiano nel "*Libro di agricoltura utilissimo*" di un trattato di Gabriel Alonso de Herrera. Herrera cita, nel secondo capitolo il vitigno spagnolo "*Tottontés*" che Fabriano traduce con "Verdicchio". Qualche anno dopo, nel 1596, un altro scrittore, Andrea Bacci, parla del verdicchio nell'opera "*De naturali vinorum historia, de vinis Italiae e de conviviis antiquorum*"

*Libri VIII*”, in cui descrive i vini piceni. Il fatto che entrambi gli autori fossero marchigiani ci indica come il vitigno sia legato alla regione Marche da molto tempo.

Dalla fine dell’Ottocento sino al secondo dopoguerra, con lo sviluppo dell’ampelografia e il miglioramento delle conoscenze viticole ed enologiche, il Verdicchio si è imposto come uno dei migliori vitigni a bacca bianca della Regione Marche. Il verdicchio è infatti il primo vino bianco marchigiano ad aver ottenuto la DOC (Denominazione di Origine Controllata – Verdicchio di Matelica DOC nel 1967) e poi la DOCG (Denominazione di Origine Controllata e Garantita – Verdicchio di Matelica Riserva DOCG nel 2010).

Il vitigno Verdicchio presenta:

- germoglio di 10-15 cm, con un apice a ventaglio verde-biancastro, con leggera sfumatura rosa ai margini, foglioline apicali (dalla 1<sup>a</sup> alla 3<sup>a</sup>) piegate a gronda, aracnoidee sulla pagina superiore e cotonose sull’inferiore, color verde-biancastro con leggere sfumature rosa ai margini e a pagina inferiore, foglioline basali (dalla 4<sup>a</sup> in poi) a bordi spioventi, glabre sulla pagina superiore e cotonose sull’inferiore, color verde pallido;
- tralcio erbaceo rotondeggiante, liscio, glabro di colore verde leggermente sfumato in marrone-vinoso chiaro;
- viticci a distribuzione intermittente, bi-trifidi, di medio vigore, color verde;
- infiorescenza di media grandezza, cilindro conica, racimoli e fiori semi-serrati, peduncolo verde o leggermente sfumato in marrone alla base;
- fiore con un bottone florale globoso, mezzano, corolla verde con apertura regolare. Quando il fiore è aperto è ermafrodita ed autofertile;

- foglia di media grandezza, trilobata o quinquelobata; in autunno diventano gialle;
- grappolo di media grandezza o quasi grande (figura 2), serrato o semi-serrato, conico o cilindro-conico e talvolta alato e piramidale, rachide verde e peduncolo di media lunghezza erbaceo o semi-legnoso;
- acino di media grandezza, rotondo, talvolta sub-rotondo a causa dell'eccessiva compattezza del grappolo, buccia sottile e consistente, di color verde-giallastro, mediamente pruinosa, polpa sciolta o quasi molle, di sapore semplice e zuccherino, pennello di media grossezza e di colore ambrato di difficile separazione dall'acino. Vinaccioli da 1 a 3.

Ha un'epoca di germogliamento quasi tardiva, un'epoca di fioritura precoce, un'epoca d'invasatura media e un'epoca di maturazione medio-tardiva. Sia le foglie sia i grappoli presentano scarsa resistenza alla peronospora e all'oidio. L'uva presenta media e qualche volta scarsa resistenza al marciume, specie nelle annate umide (Bruni, 1962).

Il vino deve avere un colore paglierino tenue dalla limpidezza brillante, un odore delicato con un sapore asciutto dal retrogusto amarognolo. Ha una gradazione alcolica tra il 14% e il 14,5%.





**Figura 2** – Grappolo di Verdicchio.

## 2. OBIETTIVI DELLA RICERCA

Negli ultimi anni, sono stati messi in evidenza i danni ambientali e i rischi per la salute umana che l'uso reiterato dei prodotti rameici provoca. Principalmente essi sono stati individuati nell'ambito della viticoltura biologica, dove il rame rappresenta l'unico prodotto efficace nella difesa antiperonosporica ed è quindi molto utilizzato.

La ricerca ha quindi come obiettivo principale quello di soddisfare le esigenze dei viticoltori da una parte e quelle dei consumatori dall'altra, senza tralasciare le esternalità negative per l'ambiente che possono derivare dall'attività agricola. In questo contesto, la difesa fitosanitaria è una delle pratiche della tecnica colturale più problematica perché è necessario ridurre il più possibile l'utilizzo dei mezzi di lotta chimici, incentivare l'impiego dei prodotti fitosanitari con profili ecotossicologici più favorevoli, ma allo stesso tempo anche proteggere le colture in maniera efficiente per garantire un reddito agli agricoltori.

Il presente lavoro di tesi è stato sviluppato nell'ambito del progetto di ricerca Vitinnova. Gli obiettivi di questo progetto riguardano sia fasi di campo che di cantina. Per quanto riguarda le fasi di 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 o in strategie con formulati rameici, le quali necessitano di una messa a punto all'interno di specifiche condizioni aziendali e colturali. Inoltre, negli anni di sperimentazione, 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, il progetto mira alla produzione di vino da

agricoltura biologica 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.

Il progetto Vitinnova si propone dunque, tra le altre cose, di innovare le strategie di protezione antiperonosporica delle viti in biologico attraverso l'uso di sostanze alternative al rame, quali il chitosano, così da ottenere la produzione di vini con un uso ridotto o assente del pericoloso metallo pesante.

In questa tesi sono state condotte analisi e sono stati seguiti dei protocolli di microvinificazione sulle uve provenienti da tre vigneti sperimentali delle due aziende coinvolte nel progetto Vitinnova, per cercare di valutare eventuali differenze sulle caratteristiche delle bacche, dei mosti e dei vini, tra le uve trattate con chitosano e quelle trattate con rame per la difesa antiperonosporica. Risulta infatti importante valutare, oltre all'efficacia in campo, anche eventuali effetti collaterali indesiderati a carico del prodotto finale, che possono essere causati dalle molecole innovative studiate per sostituire quelle tradizionali.

### **3. MATERIALE E METODI UTILIZZATI**

#### **3.1. VIGNETI SPERIMENTALI**

Le prove sono state condotte su uve provenienti da tre diversi vigneti sperimentali: due dell'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agr.", i quali sono un vigneto di Verdicchio a Castelplanio (AN) e un vigneto di Montepulciano ad Angeli di Varano (AN); il terzo dell'azienda agricola "Belisario s.a.c.", il quale è un vigneto di Verdicchio a Matelica (MC). I tre vigneti sono adibiti, rispettivamente, alla produzione di Verdicchio dei Castelli di Jesi, Rosso Conero e Verdicchio di Matelica.

In questi vigneti, è stata condotta una sperimentazione di campo sull'efficacia antiperonosporica del chitosano che prevedeva 5 diverse tesi, distribuite in campo secondo il modello sperimentale del blocco randomizzato con 3 ripetizioni:

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

Tre delle appena citate tesi sono state messe a disposizione per la prova di vinificazione: A: testimone non trattato, E: testimone aziendale trattato solo con rame, e D: tesi trattata solo con chitosano. In tutte le tesi è stata mantenuta la protezione antioidica con prodotti a base di zolfo.

### **3.1.1. *Vigneto di Castelplanio***

Il vigneto è il Vigneto Mulino di proprietà dell'azienda Terre Cortesi Moncaro s.c.a., impiantato con Verdicchio (100%). Il vigneto si trova a Piagge presso Castelplanio (AN), nel cuore dell'areale di coltivazione del Verdicchio dei Castelli di Jesi. Il vigneto ha un'estensione totale di circa 0.7 ha ed è stato suddiviso in parcelle più piccole per differenziare i trattamenti effettuati. Il sesto d'impianto prevede 2,60 m tra le file e 1 m lungo la fila. La forma di allevamento utilizzata è il guyot.

L'appezzamento sperimentale di Castelplanio è stato trattato con un atomizzatore trainato ad aspirazione posteriore di produzione della Società Agricola Estense (S.A.E.), modello Turbmatic Defender MK2. 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.

### **3.1.2. *Vigneto Angeli di Varano***

Il vigneto oggetto di sperimentazione è stato il Vigneto Mazzoni di proprietà dell'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agr.", impiantato con Montepulciano (100%) ed è ubicato presso Angeli di Varano (AN), nel cuore dell'areale di produzione del Rosso Conero. Il vigneto si estende per circa 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.

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



**Figura 3** - Vigneto di Montepulciano dell'azienda Terre Cortesi Moncaro s.c.a., ubicato ad Angeli di Varano (AN).

### **3.1.3. *Vigneto di Matelica***

Il vigneto è di proprietà dell'azienda Belisario s.a.c., impiantato con Verdicchio (100%) e si trova in località Serre Alte presso Matelica (MC), nel cuore dell'areale di produzione del Verdicchio di Matelica. Il vigneto ha un'estensione totale di circa 10 ha, e la prova sperimentale ha coinvolto un'area di circa 5500 m<sup>2</sup> 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 *P. viticola*.

L'appezzamento sperimentale di Matelica è stato trattato con 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.

### **3.2. RACCOLTA UVE**

Sono state effettuate due tipi di raccolta: in primo luogo sono stati prelevati dei campioni di bacche da 1,5 kg ciascuno da tutte e 5 le tesi (A; B; C; D; E) presenti nel vigneto sperimentale, per effettuare delle analisi sui mosti. Successivamente, è stata effettuata una vendemmia sulle 3 tesi sopra citate (A; D; E) per effettuare delle microvinificazioni in modo da valutare l'influenza che hanno i 3 diversi trattamenti antiperonosporici sulle caratteristiche dei mosti e dei vini.

Per effettuare le analisi sui mosti sono stati raccolti 3 sacchetti da 0,5 kg (3 repliche) di uve da tutte e 5 le tesi (A; B; C; D; E), al fine di effettuare delle analisi direttamente sui grappoli per valutarne le caratteristiche in relazione ai trattamenti effettuati contro la peronospora durante la stagione.

Le uve per le vinificazioni, invece, sono state raccolte nei vigneti di Angeli di Varano e Matelica:

- In data 29 settembre 2020, con l'Università Politecnica delle Marche e l'azienda Terre Cortesi Moncaro s.c.a., ad Angeli di Varano (AN), è stata effettuata la raccolta di 3 tesi. Sono stati vendemmiati 6 filari, 2 per tesi. Ogni tesi è stata divisa in 2 sezioni e si è cercato di raccogliere lungo tutta la lunghezza del filare i grappoli più sani per poi porli negli appositi bins e quindi essere trasportati all'azienda, dove sono state effettuate le dovute

analisi e la microvinificazione delle uve provenienti dalle varie tesi. Sono stati riempiti due bins per ogni sezione di tesi, ognuno con 25 kg di uve: per un totale di 50 kg per il testimone aziendale, 50 kg per il testimone trattato con chitosano e 50 kg per il testimone non trattato.

- In data 30 settembre 2020, sono state vendemmiate le stesse 3 tesi anche a Matelica (MC), presso il vigneto dell'azienda Belisario s.a.c. Qui sono stati messi a disposizione 4 filari per tesi, divisi in due sezioni. Anche qui si è cercato di raccogliere i grappoli più sani possibili. Alla fine, sono stati raccolti 4 bins per ogni sezione del testimone aziendale, 4 bins per ogni sezione del testimone trattato con chitosano e 3 bins per ogni sezione del testimone non trattato (dove vi erano meno uve sane). Ogni bins conteneva 30 kg di uve (figura 4): per un totale di 120 kg per il testimone aziendale, 120 kg per il testimone trattato con chitosano e 90 kg per il testimone non trattato.





**Figura 4** - Bins contenenti le uve di Verdicchio, provenienti dal vigneto di Matelica (MC) al momento della pesatura.

### 3.3. ANALISI UVE

I campioni analizzati comprendevano tutte le 5 tesi presenti nel vigneto: testimone non trattato, trattamenti alternati (prima metà stagione rame poi chitosano), trattamenti con rame e chitosano miscelati per tutta la stagione, solo chitosano e testimone aziendale (rame per tutta la stagione).

I campioni sono stati analizzati per valutare:

- gradi Brix, per analizzare la componente zuccherina
- Babo
- Acidità totale
- pH, per verificarne la giusta acidità

- Acido malico
- Alfa amminico
- Azoto ammoniacale
- APA (Azoto Prontamente Assimilabile), importante per gestire al meglio la nutrizione dei lieviti e per un corretto svolgimento della fermentazione alcolica
- rame, per valutare la quantità residuale.

Le analisi riguardanti la presenza di rame sulle bacche sono state effettuate sulle uve delle cinque tesi per il vigneto di Castelplanio, dal quale non sono state svolte microvinificazioni. Per quanto riguarda il vigneto di Angeli di Varano, la presenza di rame è stata valutata all'ingresso in cantina per il processo di vinificazione, quindi solo sulle uve delle tre tesi (A; D; E) che sono state destinate alla trasformazione. Per le analisi sulle quantità di rame è stato utilizzato il metodo colorimetrico.

### **3.4. MICROVINIFICAZIONE**

#### ***3.4.1. Cenni e modalità di svolgimento***

La sperimentazione in enologia deve affrontare molte difficoltà. Lavorando su grandi volumi si ha una complessità nello svolgere operazioni per ottenere testimoni perfettamente rappresentativi o dei duplicati. Al contrario, le sperimentazioni su piccola scala consentono di gestire e controllare meglio le condizioni operative e di poter disporre della materia prima in un periodo di tempo più lungo, ma pongono il problema della rappresentatività dei risultati, soprattutto a livello di caratteristiche dei vini ottenuti.

La microvinificazione sembra essere un buon compromesso. Essa consiste nel vinificare piccole quantità di uva, solitamente 100 kg, con lo scopo di: valutare le potenzialità enologiche e le caratteristiche chimico-fisiche e sensoriali di vitigni rari rinvenuti sul territorio e coltivati in campi sperimentali; applicare diverse tecniche di vinificazione ad uno stesso vitigno per individuare le modalità che permettono di esprimere al meglio le sue potenzialità.

I protocolli delle microvinificazioni seguono uno standard definito per ogni tipo di vino in corso di selezione clonale, oppure possono essere stabiliti diversamente quando si tratta di una sperimentazione scientifica atta a valutare le differenze che si ottengono applicando diverse tecniche di vinificazione alla stessa uva o per valutarne le diverse caratteristiche a seguito di specifici trattamenti.

#### ***3.4.2. Modalità di vinificazione***

MONCARO: le uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano, sono state consegnate il giorno stesso della raccolta, presso la cantina di Terre Cortesi Moncaro s.c.a. di Montecarotto (AN). Sono state vinificate in doppio con il seguente protocollo:

- diraspa pigiatura
- aggiunte al pigiato di: metabisolfito di potassio 5 g/hl; tannino liquido L-Harvest I-OAK 7 g/hl; acido malico 30 g/hl; lievito NT50 Ancor 20 g/hl; Ecostimol AE ENO 7 g/hl
- fermentazione in vinificatori di acciaio inox da 100 litri con cappello sommerso da una grata di acciaio inox

- aggiunta dell'enzima Rapidase Fast Color Corimpex 1 g/hl all'innalzamento del cappello sciolto sul 3% di mosto preventivamente spillato e distribuito delicatamente sul cappello
- *delestage* per 7 giorni con rimontaggio all'aria del mosto e reintroduzione nel vinificatore
- due aggiunte di fosfato biammonico 10 g/hl
- aggiunta di fosfato biammonico 10 g/hl + Enopar Wine ENO' 10 g/hl + Tannino Fermcolor Enartis 3 g/hl
- svinatura e aggiunta di Cooper Enartis 10 ml/hl + Tannino Elevage Enartis 2 g/hl
- travaso all'aria separando la feccia
- aggiunta di Cooper Enartis 20 ml/hl
- sfecciatura

MATELICA: le uve di Verdicchio, provenienti dal vigneto di Matelica, sono state consegnate il giorno stesso della raccolta, all'Istituto Agrario "Giuseppe Garibaldi" di Macerata che ha una cantina attrezzata per le microvinificazioni ed un laboratorio di analisi adeguato allo scopo. Sono state vinificate in microvinificazione applicando il protocollo della "vinificazione in bianco" che ha cronologicamente avuto il seguente svolgimento:

- diraspa pigiatura
- pressatura con pressa a membrana pneumatica fino a 0.4 atm (resa uva a mosto 60%)
- solfitazione del mosto con 10 g/hl di metabisolfito di potassio

- enzimaggio del mosto con enzimi pectolitici per favorire la decantazione dei solidi sospesi
- decantazione del mosto a freddo (10°C) per 24 h
- travaso del mosto illimpidito
- aggiunta di attivante di fermentazione: 40 g/hl solfato d'ammonio e 40 g/hl di scorze di lievito
- riscaldamento del mosto a 16°C e inoculo dei lieviti selezionati: Ancor 1 Vason (*Saccharomyces cerevisiae*).
- fermentazione termo controllata a 18°C

### **3.4.3. Analisi mosti e vini**

Le uve destinate alla vinificazione sono state prese da 3 delle 5 tesi (A; D; E) presenti nei vigneti di Angeli di Varano e Matelica e sono stati analizzati sia i mosti che i vini. Nell'analisi sui mosti sono stati considerati: i gradi Brix, il grado Babo, l'acidità totale, il pH, l'acido malico, il totale dei solfuri, l'azoto amminico e l'azoto ammoniacale. Per le analisi dei vini sono stati presi in considerazione, oltre ai parametri già citati, anche: l'alcol, gli acidi volatili, l'acido lattico, l'estratto, i polifenoli e gli antociani. Le analisi sono state condotte con lo strumento Foss.

I vini prodotti dalle prove di microvinificazione del Montepulciano e del Verdicchio, sono stati poi sottoposti in data 03/12/2020 ad analisi sensoriale da parte di un panel di esperti, individuati dai membri del gruppo operativo Vitinnova. Per ogni tesi sono state assaggiate 2 repliche e sono stati espressi dei giudizi in decimi circa: aspetto visivo, olfatto e gusto. Infine, è stato formulato un giudizio complessivo di sintesi per ogni campione saggiato.

Le analisi relative alla presenza del rame sono state condotte sul mosto ottenuto dalle uve provenienti da Angeli di Varano e destinate alla microvinificazione (tesi A; D; E), ma non sui campioni d'uva non vinificata come è avvenuto nel caso delle bacche raccolte a Castelplanio, dove l'analisi del rame è stata fatta su tutte e 5 le tesi presenti in campo. Le analisi per la determinazione del rame sono state condotte, sempre con lo strumento Foss, sul mosto delle uve di Angeli di Varano.

## **4. RISULTATI**

### **4.1. RISULTATI ANALISI UVE**

I parametri analizzati sono stati: il grado Brix (%), il grado Babo, l'acidità totale, il pH, l'acido malico, l'azoto amminico, l'azoto ammoniacale e l'azoto prontamente assimilabile (APA). Nelle tabelle sono riportati i dati nel formato: media valore  $\pm$  deviazione standard. Sulle uve del vigneto di Castelplanio sono state condotte anche analisi riguardanti le quantità di rame residuo in tutte le 5 tesi presenti in campo. Successivamente, è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA) per confrontare i diversi trattamenti, utilizzando il test di Tukey secondo il livello di probabilità  $P < 0,05$ .

#### ***4.1.1. Castelplanio***

Dai dati riportati in tabella (Tabella 2), si può notare come riguardo la gradazione Brix vi siano risultati significativamente diversi tra la tesi trattata con rame e chitosano miscelati e due tesi: il testimone non trattato e la tesi dove sono stati somministrati in sequenza rame e chitosano, le quali, invece, mostrano risultati simili tra loro; mentre le tesi trattate esclusivamente con chitosano e con rame non si sono differenziate significativamente né dal testimone aziendale né dal testimone non trattato. Per quanto

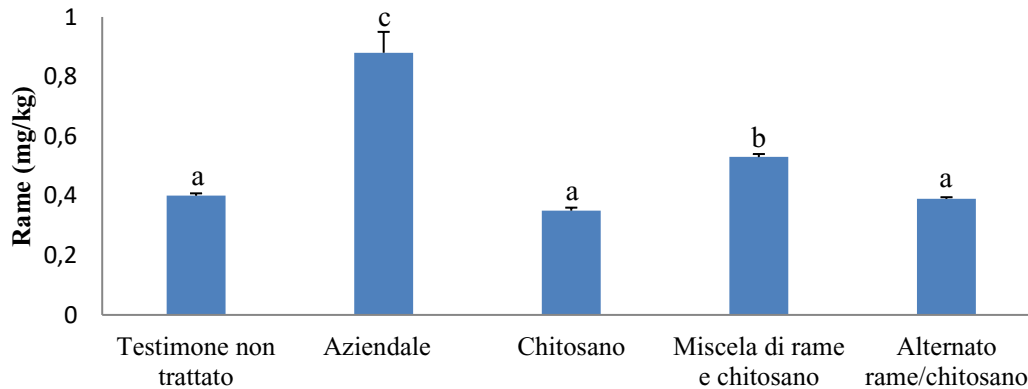
riguarda il grado Babo sono evidenti differenze significative solo tra la miscela di rame e chitosano e l'alternato rame/chitosano. Riguardo il pH notiamo come le tesi chitosano e alternato rame/chitosano si presentino simili, ma differiscano dalle altre 3. L'acido malico risulta essere differente tra la tesi miscela di rame e chitosano e il testimone non trattato, mentre gli altri non si differenziano dai due. Per quanto riguarda gli altri parametri, non sono riscontrate differenze fra i vari trattamenti antiperonosporici.

**Tabella 2** - Risultati delle analisi condotte sulle uve di Verdicchio provenienti da Castelplanio (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati							
	Brix (%)	Babo	Ac. tot (g/l)	pH	Ac. malico (g/l)	N Amminico (mg/l)	N Ammoniacale (mg/l)	APA (mg/l)
Testimone non trattato	16,93 ±0,18 b	14,53±0,14 b	9,37±0,70 a	3,07±0,04 a	3,56±0,46 a	49,33±3,38 a	41,66±4,84 a	91,00±7,57 a
Aziendale	19,30 ±1,13 ab	16,61±1,00 ab	8,23±0,11 a	3,16±0,06 a	2,73±0,16 ab	57,33±15,30 a	36,33±3,84 a	93,66±18,77 a
Chitosano	18,53 ±0,73 ab	15,90±0,67 ab	8,89±0,17 a	3,02±0,00 b	3,03±0,26 ab	42,33±5,20 a	42,33±3,48 a	84,66±8,66 a
Rame+ chitosano	20,80 ±0,46 a	17,91±0,38 a	8,16±0,26 a	3,17±0,03 a	2,23±0,17 b	30,00±15,17 a	40,00±4,3 a	70,00±19,42 a
Alternato rame/ chitosano	17,70 ±0,96 b	15,21±0,80 b	9,32±0,54 a	3,01±0,02 b	3,20±0,28 ab	52,33±4,66 a	48,00±1,00 a	100,33±4,63 a



Sulle uve di Castelplanio, sempre con l'ausilio dello strumento Foss, sono state effettuate anche delle analisi sulla quantità di rame residuo. Come mostrato dal grafico (Figura 5), si noti come vi sia una netta riduzione della presenza del metallo pesante tra il testimone aziendale, risultato con una quantità di rame di 0,88 mg/kg e il campione trattato con chitosano, che è risultato con una quantità di rame di 0,35 mg/kg, quantitativo simile a quello registrato sul testimone non trattato, il quale presentava 0,4 mg/kg di rame. L'alternanza dei trattamenti rameici con quelli a base di chitosano ha fatto registrare un quantitativo di rame residuale sulle uve non dissimile statisticamente dalle tesi controllo e solo chitosano (0,39 mg/kg). La tesi dove il chitosano e il rame sono stati somministrati in miscela per tutta la stagione, si colloca ad un livello intermedio di 0,53 mg/kg, quasi la metà del testimone aziendale.



**Figura 5** - Analisi presenza rame (mg/kg) sulle uve di Verdicchio provenienti dalle 5 diverse tesi presenti nel vigneto di Castelplanio (AN). Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### ***4.1.2. Angeli di Varano***

Dalle analisi fatte sulle uve del vigneto di Angeli di Varano (Tabella 3), possiamo notare come la gradazione Brix sia risultata differente tra il testimone aziendale e le tesi: non trattato, chitosano e miscela di rame e chitosano, le quali invece sono risultate simili tra loro. L'alternato rame/chitosano è invece risultato statisticamente non dissimile da tutti i trattamenti. Anche i gradi Babo sono risultati diversi tra il testimone aziendale e il non trattato, il chitosano e la miscela di rame e chitosano, che sono risultati simili tra loro. Allo stesso modo il testimone alternato rame/chitosano è risultato di nuovo senza differenze rispetto a tutti gli altri. Per quanto riguarda l'acidità totale si noti come ci sia differenza sostanziale tra la miscela di rame e chitosano, il testimone aziendale e il testimone non trattato, mentre le due tesi chitosano e alternato rame/chitosano non sono risultati differenti dal testimone non trattato e dal testimone aziendale. Le uve trattate con la miscela di rame e chitosano hanno fatto registrare un pH più basso rispetto alle uve delle altre tesi, le quali mostrano tutte valori di pH simili. Gli altri parametri valutati non sembrano essere stati influenzati dai trattamenti e sono tutti simili fra loro.

**Tabella 3** - Risultati delle analisi condotte sulle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati							
	Brix (%)	Babo	Ac. tot (g/l)	pH	Ac. malico (g/l)	N Amminico (mg/l)	N Ammoniacale (mg/l)	APA (mg/l)
Testimone non trattato	21,93±0,12 b	18,83±0,11b	6,69±0,04 b	3,10±0,02 a	0,60±0,2 a	27,00±2,08 a	18,66±2,02 a	45,66±2,60 a
Aziendale	23,16±0,23 a	19,93±0,21 a	5,90±0,17 c	3,07±0,01 a	0,30±0,05 a	29,00±2,08 a	18,33±2,18 a	47,33±3,17 a
Chitosano	21,33±0,29 b	18,38±0,26 b	6,43±0,26 bc	3,04±0,01 a	0,53±0,18 a	26,30±0,88 a	15,66±1,76 a	42,00±2,64 a
Rame+ chitosano	21,40±0,50 b	18,45±0,42 b	7,6±0,23 a	2,97±0,01 b	0,56±0,06 a	21,33±2,72 a	21,33±0,66 a	42,66±2,60 a
Alternato rame/ chitosano	22,06±0,52 ab	19,00±0,44 ab	6,16±0,13 bc	3,06±0,02 a	0,16±0,06 a	21,00±4,00 a	19,33±1,45 a	40,33±5,36 a

## 4.2. ANALISI MOSTI E VINI

Per l'analisi dei mosti sono stati presi in considerazione come parametri: l'acidità totale, il pH, il totale dei solfuri, l'acido malico, i gradi Brix, il grado Babo, la quantità di rame, l'acido amminico e l'ammonio. Per l'analisi dei vini, inoltre, sono stati presi in considerazione la quantità di alcol, gli acidi volatili, l'acido lattico, l'estratto, i polifenoli e gli antociani. I rilievi sono stati fatti più volte durante il processo di trasformazione del mosto in vino delle uve provenienti da Angeli di Varano, per seguire l'andamento dei risultati.

### 4.2.1. *Angeli di Varano*

Dalle analisi sul mosto e sul vino delle uve provenienti da Angeli di Varano notiamo che ad inizio sperimentazione (Tabella 4), in data 29 settembre 2020, le differenze si trovano nei gradi Brix, nel grado Babo e nella quantità di acido amminico ed emergono in maniera significativa tra il testimone aziendale e il campione trattato con chitosano; il testimone non trattato, risulta simile al trattato con chitosano. L'analisi della quantità di rame residuo ha fatto emergere le differenze più significative tra le tesi, poiché tutte si differenziano l'una dall'altra e in particolare: l'azienda presenta i quantitativi di rame maggiori e il controllo non trattato quelli minori, mentre le uve trattate con chitosano mostrano valori intermedi. Nella seconda sessione di analisi, in data 13 ottobre 2020 (Tabella 5), vediamo dove l'unica differenza importante si trovi nella quantità di zuccheri tra il testimone aziendale e gli altri due, mentre non si notano differenze nella quantità di acido malico, lattico e nella quantità di polifenoli e antociani. Alla terza analisi, in data 21 ottobre 2020 (Tabella 6), le differenze le troviamo, oltre che nella quantità zuccherina, anche nella quantità di alcol, tra il

testimone aziendale e gli altri due, senza differenze sostanziali negli altri parametri. Nella quarta analisi, in data 26 ottobre 2020 (Tabella 7), troviamo differenze nella quantità di alcol e negli zuccheri tra il testimone aziendale e il trattato con chitosano. Nell'analisi cinque, in data 18 ottobre 2020 (Tabella 8) e nell'analisi finale, in data 30 ottobre 2020 (Tabella 9), sempre tra il testimone aziendale e gli altri due, troviamo differenze sostanziali solo nella quantità di alcol. Per quanto riguarda tutti gli altri parametri, non sono state riscontrate differenze significative tra i vari campioni di analisi.

**Tabella 4** - Risultati delle analisi del 29/09/2020 condotte sul mosto prodotto delle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati 29 settembre 2020 (inizio sperimentazione)								
	AT (g/l)	pH	Solf. Totale (mg/l)	Ac. Malico (g/l)	Brix (%)	Babo	Rame (mg/l)	N Amminico (mg/l)	N Ammoniacale (mg/l)
Testimone non trattato	5,72±0,32 a	3,21±0,02 a	109,00±3,00 a	2,1±0,00 a	23,90±0,50 a	21,00±0,00 a	0,22±0,04 a	61±5 a	20±1,00 a
Aziendale	6,03±0,03 a	3,22±0,01 a	117,00±17,00 a	2,1±0,20 a	25,70±0,00 b	22,15±0,00 b	0,75±0,14 c	36,5±0,5 b	15,5±1,5 a
Chitosano	5,72±0,08 a	3,20±0,00 a	95,50±1,50 a	1,7±0,00 a	23,80±0,20 a	20,52±0,17 a	0,35±0,01 b	46±0,00 a	22±6,00 a

**Tabella 5** - Risultati delle analisi del 13 ottobre 2020 condotte sul vino prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati									
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Ac. Malico (g/l)	Ac. Lattico (g/l)	Estratto (g/l)	Polifenoli (mg/l)	Antociani (mg/l)
Testimone non trattato	13,66±0,27 a	8,02±0,14 a	3,45±0,06 a	0,80±0,00 a	3,25±0,05 a	1,45±0,05 a	0,55±0,05 a	33,65±1,56 a	2896,50±408,50 a	608,5±97,50 a
Aziendale	14,45±0,09 a	8,42±0,02 a	3,44±0,01 a	0,10±0,02 a	11,7±2,50 b	1,55±0,05 a	0,4 ±0,10 a	35,21±0,22 a	3217,00±99,00 a	750±33,00 a
Chitosano	13,7±0,23 a	8,34±0,01 a	3,39±0,01 a	0,09±0,02 a	3,75±0,65 a	1,35±0,05 a	0,5±0,00 a	32,52±0,45 a	2575,00±121,00 a	554,5±49,50 a

**Tabella 6** - Risultati delle analisi del 21 ottobre 2020 condotte sul vino prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey (P<0,05).

Tesi	Parametri valutati									
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Ac. Malico (g/l)	Ac. Lattico (g/l)	Estratto (mg/l)	Polifenoli (mg/l)	Antociani (mg/l)
Testimone non trattato	13,73±0,24 a	7,97±0,14 a	3,43±0,05 a	0,10±0,00 a	3,00±0,10 a	1,40±0,00 a	0,45±0,01 a	33,06±1,33 a	2896,50±407,50 a	593,50±93,50 a
Aziendale	14,88±0,04 b	8,32±0,15 a	3,39±0,01 a	0,10±0,03 a	6,25 ±0,15 b	1,45±0,05 a	0,50±0,00 a	34,01±0,52 a	3268,50±122,50 a	721,00±54,00 a
Chitosano	13,78±0,25 a	8,13±0,05 a	3,37±0,00 a	0,10±0,01 a	3,30±0,40 a	1,35±0,05 a	0,50±0,00 a	31,72±0,54 a	2579,00±108,00 a	538,50±41,50 a



**Tabella 7** - Risultati delle analisi del 26 ottobre 2020 condotte sul vino prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati						
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Malico foss/Malico hyperlab (g/l)	Lattico/lattico foss (g/l)
Testimone non trattato	13,51±0,21 a	7,89±0,13 a	3,39±0,05 a	0,09±0,01 a	2,8±0,20 a	1,45±0,05 a	0,5±0,00 a
Aziendale	14,55±0,10 b	8,2±0,14 a	3,38±0,02 a	0,1±0,01 a	5,05±0,05 b	1,45±0,05 a	0,5±0,00 a
Chitosano	13,44±0,22 a	8,01±0,05 a	3,36±0,03 a	0,14±0,02 a	3,05±0,35 a	1,35±0,05 a	0,55±0,05 a

**Tabella 8** - Risultati delle analisi del 18 ottobre 2020 condotte sul vino prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati						
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Malico foss/Malico hyperlab (g/l)	Lattico/lattico foss (g/l)
Testimone non trattato	13,42±0,32 a	7,72±0,24 a	3,41±0,07 a	0,1±0,01 a	2,6±0,10 a	1,35±0,05 a	0,55±0,05 a
Aziendale	14,81±0,10 b	7,98±0,15 a	3,39±0,01 a	0,1±0,02 a	3,5±0,20 a	1,4±0,00 a	0,6±0,00 a
Chitosano	13,62±0,21 a	7,8±0,07 a	3,3±0,00 a	0,12±0,01 a	2,6±0,30 a	1,25±0,05 a	0,5±0,00 a

**Tabella 9** - Risultati delle analisi del 30 novembre 2020 condotte sul vino prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati							
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Malico foss/Malico hyperlab (g/l)	Lattico/lattico foss (g/l)	Estratto (mg/l)
Testimone non trattato	13,69±0,26 a	7,53±0,17 a	3,43±0,05 a	0,11±0,01 a	2,70±0,10 a	1,35±0,05 a	0,45±0,05 a	32,00 ±1,35 a
Aziendale	14,94±0,05 b	8,02 ±0,07 a	3,36±0,03 a	0,11±0,01 a	3,70±0,40 a	1,50±0,10 a	0,5±0,00 a	33,04±0,30 a
Chitosano	13,76±0,22 a	7,75±0,04 a	3,35±0,01 a	0,12±0,01 a	2,95±0,65 a	1,25±0,05 a	0,4±0,00 a	30,71±0,49 a

#### **4.2.2. Matelica**

Dai dati delle analisi della microvinificazione sulle uve di Matelica (Tabella 10), è possibile notare che tra la tesi aziendale e la tesi trattata con chitosano vi sono differenze significative solo nell'estratto secco, mentre gli altri parametri sono risultati senza differenze significative tra i trattamenti. Per il testimone non trattato sono riportati esclusivamente i valori medi, poiché non è stato possibile effettuare analisi statistiche, a causa della mancanza di un quantitativo d'uva sufficiente per due repliche di vinificazione.

**Tabella 10** - Risultati delle analisi condotte sul vino prodotto dalla microvinificazione delle uve di Verdicchio dell'analisi provenienti dal vigneto di Matelica (MC). Sulla colonna, i valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tesi	Parametri valutati MATELICA							
	Alcol (% Vol/Vol)	AT (g/l)	pH	AV (g/l)	Zuccheri (g/l)	Malico (g/l)	Lattico (g/l)	Estratto (mg/l)
Testimone non trattato	13,67	6,78	3,26	0,20	1,90	0,10	19,87	1,30
Aziendale	12,66±0,16 a	6,45±0,06 a	3,175±0,03 a	0,15±0,005 a	1,15±0,05 a	1,55±0,05 a	0,05±0,05 a	17,43±0,17 b
Chitosano	1,42±0,19 a	6,45±0,08 a	3,21±0,03 a	0,185±0,005 a	1,75±0,35 a	1,45±0,05 a	0,05±0,05 a	18,38±0,09 a

#### 4.2.3 Risultati analisi sensoriale

Dall'analisi sensoriale alla quale sono stati sottoposti i vini prodotti dalle uve Montepulciano e Verdicchio microvinificate, provenienti rispettivamente dai vigneti sperimentali di Angeli di Varano e Matelica, è emerso che il chitosano non influenza le caratteristiche organolettiche del vino oppure, in alcuni casi, le migliora. I vini prodotti dalle tesi trattate con rame invece, mostrano tutti un profilo sensoriale peggiore rispetto a quelli prodotti dal testimone non trattato e dal trattato esclusivamente con chitosano. I risultati relativi all'analisi sensoriale sono riportati nelle tabelle 11 e 12.

**Tabella 11** - Valori medi attribuiti a ciascun campione di vino, prodotto dalle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto di Angeli di Varano (AN), sottoposto alle analisi sensoriali condotte in data 3 dicembre 2020.

<b>Montepulciano</b>	Vista	Olfatto	Gusto	<b>Giudizio complessivo</b>
Testimone non trattato 1	8/10	8,5/10	8/10	<b>8/10</b>
Testimone non trattato 2	8/10	8,5/10	7,5/10	<b>8/10</b>
Testimone aziendale 1	8/10	7/10	7/10	<b>7,5/10</b>
Testimone aziendale 2	8/10	7/10	6,5/10	<b>7/10</b>
Chitosano 1	8/10	8,5/10	8,5/10	<b>8,5/10</b>
Chitosano 2	8/10	9/10	9/10	<b>9/10</b>

**Tabella 12** - Valori medi attribuiti a ciascun campione di vino, prodotto dalle uve di Verdicchio provenienti dal vigneto di Matelica (MC), sottoposto alle analisi sensoriali condotte in data 3 dicembre 2020.

<b>Verdicchio</b>	Vista	Olfatto	Gusto	<b>Giudizio complessivo</b>
Testimone non trattato 1	8/10	8/10	9/10	<b>8,5/10</b>
Testimone aziendale 1	7/10	7/10	8/10	<b>7,5/10</b>
Testimone aziendale 2	8/10	7,5/10	8/10	<b>8/10</b>
Chitosano 1	8/10	7,5/10	9/10	<b>8,5/10</b>
Chitosano 2	8/10	8/10	8,5/10	<b>8,5/10</b>

## **5. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI**

La sostenibilità della filiera vitivinicola si basa su razionalizzazione della gestione del vigneto (difesa antiparassitaria, gestione della chioma e nutrizione), contenimento dei costi di produzione e valorizzazione dei vini. Le malattie delle piante possono essere controllate in agricoltura integrata anche grazie a fungicidi di sintesi, i quali però sono vietati in agricoltura biologica, dove zolfo e rame sono tra i pochi principi attivi consentiti. Il rame purtroppo è un metallo pesante che, oltre a creare problemi in fase di vinificazione, risulta pericoloso per la salute umana e si accumula nei suoli con effetti tossici per la flora microbica e per la coltura. L'Università Politecnica delle Marche (UNIVPM), in collaborazione con Terre Cortesi Moncaro e nell'ambito di fondi regionali, ha già avviato la sperimentazione di strategie di controllo della peronospora alternative al rame, coinvolgendo anche il Servizio Fitosanitario dell'ASSAM. Da prove poliennali svolte sono emersi prodotti alternativi al rame, fra cui il chitosano, in grado di contenere efficacemente le infezioni peronosporiche.

Il cambio climatico in atto anche nelle Marche richiede di innovare le tecniche di gestione del vigneto adeguandole o introducendone di nuove quali l'uso di antitraspiranti naturali e la defogliazione apicale tardiva. L'applicazione di queste tecniche, valutate di concerto da tre Università italiane (UNIVPM, Perugia e Piacenza), ha dato esiti positivi e si giova della conoscenza del grado di vigoria del vigneto e del decorso della maturazione dell'uva a partire dall'invasatura.

Questa tesi, sviluppata nell'ambito del progetto Vitinnova, si poneva l'obiettivo mettere a confronto le caratteristiche e la qualità delle bacche, dei mosti e dei vini, prodotti da uve trattate in maniera diversificata durante la stagione per la protezione dalla peronospora della vite. L'interesse nasce dal fatto che, per verificare se è



possibile eliminare il rame dai trattamenti antiperonosporici, sostituendolo con il chitosano (il quale, oltre ad un'attività antiperonosporica, esercita anche un'attività antitraspirante), non è sufficiente valutare l'efficacia del biopolimero in campo, ma bisogna anche assicurarsi che non ci siano effetti collaterali indesiderati sul prodotto finale.

Dai risultati ottenuti dalle analisi sulle uve e sui mosti, possiamo notare come i campioni trattati con il chitosano, per quanto riguarda i parametri valutati, non presentino differenze importanti con i campioni trattati in maniera tradizionale e che quindi, la presenza del biopolimero non sembra modificare le caratteristiche del prodotto raccolto. È importante sottolineare però il fatto che le uve trattate con chitosano presentino una quantità di rame residuo notevolmente inferiore rispetto a quelle trattate esclusivamente con il rame; da notare che anche laddove si è usato il rame combinato o alternato con il chitosano, si sono registrati dei notevoli abbattimenti rispetto al testimone aziendale, della quantità di rame arrivata in cantina; addirittura, la strategia che prevedeva l'utilizzo del rame per la prima parte della stagione e poi l'utilizzo del solo chitosano per la restante metà della stagione, ha fatto registrare dei livelli di rame residuo paragonabili alle tesi dove il rame non è stato somministrato affatto.

Questi dati ci permettono di affermare che il chitosano può rappresentare un'alternativa notevolmente efficace al rame, tant'è che, oltre a garantire un buon livello di protezione dalla peronospora, sembra anche non alterare i parametri delle uve e le caratteristiche sensoriali dei vini. Inoltre, la notevole riduzione di rame perseguibile, scongiurando di fatto i danni causati dal rame all'ambiente, i rischi per la salute umana e la presenza del metallo in cantina che, come è stato dimostrato,

provoca problemi in fase di vinificazione (Liang e Zhou, 2007; Sun et al., 2016), rappresenta un ottimo punto a favore del biopolimero.

Analizzando più in dettaglio l'evoluzione del mosto in vino delle uve di Angeli di Varano a diverse date, possiamo notare che l'utilizzo del chitosano non sembra inficiare le caratteristiche del vino. Tuttavia, va detto anche che al momento della prima analisi, quella sul mosto, il campione trattato con chitosano rispetto a quello trattato con rame, presenta una minore gradazione Brix e un più basso grado Babo, che si traduce quindi in un contenuto zuccherino minore e, infine, in una differenza nella gradazione alcolica del vino, che fa registrare un valore minore in quello prodotto dalle uve trattate con chitosano.

Dalle analisi sulle uve di Matelica microvinificate è emerso che di differenze, tra il prodotto ottenuto dal testimone aziendale e quello ottenuto dalla tesi chitosano non ve ne sono, ad eccezione dell'estratto secco, che è risultato maggiore nel vino della tesi trattata con chitosano.

Questa ricerca ha dunque confermato la validità del chitosano come alternativa al rame in viticoltura, in quanto non sembra influenzare negativamente le caratteristiche del prodotto finale. Il biopolimero, infatti, potrà in futuro trovare applicazione sia nella difesa fitosanitaria dei vigneti, sia nella gestione della fisiologia delle viti, grazie alle sue proprietà fitoiatriche e antitraspiranti. Si è osservata infatti una riduzione del contenuto zuccherino rispetto al testimone aziendale, sia nel controllo non trattato che nella tesi chitosano: nel primo caso, dovuta a una più elevata pressione della malattia, che ha ridotto sensibilmente la capacità della pianta di destinare fotosintetati alla produzione; mentre nel secondo caso, dovuta all'azione antitraspirante del chitosano, che tende a limitare lo sviluppo vegetativo e quindi a ridurre la superficie

fotosintetizzante. Quest'ultimo aspetto assume importanza considerando il cambiamento climatico in atto, che sta portando a periodi di siccità prolungata, vendemmie sempre più precoci, contenuti zuccherini molto elevati e livelli di acidità molto bassi. Uno dei problemi che si sta presentando sempre più spesso nelle cantine, è infatti la presenza di mosti con livelli di acidità troppo bassi. Da questo punto di vista, l'impiego del chitosano come sostanza naturale antitraspirante, può rappresentare una nuova frontiera di adattamento ed evoluzione della viticoltura in funzione dei cambiamenti climatici.

Non è comunque esclusa la possibilità di integrare l'affidabilità del rame nel contenere *P. viticola* con le proprietà del chitosano, mettendo a punto delle strategie di intervento come l'alternanza dei trattamenti o la miscelazione dei prodotti, volte a minimizzare gli apporti cuprici in vigneto e ad ottenere vini di qualità elevata.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Alfonzo A., Lo Piccolo S., Conigliaro G., Ventorino V., Burruano S., Moschetti G. (2013), Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. *Annals of Microbiology* 62, 1593–1599

Aziz A., Poinssot B., Daire X. Adrian M., Bezier A., Lambert B., Joubert J., Pugin M. (2003), Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16, 1118–1128

Bautista-Baños S., Hernández-Lauzardo A.N., Velázquez-del Valle M.G., Hernández-Lopez M., Ait Barka E., Bosquez-Molina E., Wilson C.L. (2006), Chitosan as potential natural compounds to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25, 108-118

Bruni B. (1962), "Montepulciano", in *Principali vitigni da vino coltivati in Italia - Volume II*, Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste

Bruni B. (1962), "Verdicchio bianco", in *Principali vitigni da vino coltivati in Italia - Volume II*, Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste

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

Elmer P.A.G., Reglinski T. (2006), Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology* 55, 155–177

Encyclopaedia Britannica, Pierre-Marie-Alexis Millardet biography, [www.britannica.com/biography/Pierre-Marie-Alexis-Millardet](http://www.britannica.com/biography/Pierre-Marie-Alexis-Millardet)

Feliziani E., Landi L., Romanazzi G. (2015), Preharvest treatments with chitosan and other alternatives to conventional fungicides to control postharvest decay of strawberry. *Carbohydrate Polymers* 132, 111-117

Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2018), Regolamento di esecuzione (UE) 2018/1981 della Commissione

Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2014), Regolamento di esecuzione (UE) 563/2014 della Commissione

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

Intrieri C. (2019), Il nome dei vitigni ibridi resistenti alle malattie fungine: un rischio da non sottovalutare per la viticoltura italiana

Iriti M., Vitalini S., Di Tommaso G., D'Amico S., Borgo M., Faoro F. (2011), New chitosan formulation prevents grapevine powdery mildew infection and improves polyphenol content and free radical scavenging activity of grape and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17, 263–269

Juang K.W., Lee Y.I., Lai H.Y., Wang C.H., Chen B.C. (2012), Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 1315-1322

Lachhab N., Sanzani S.M., Adrian M., Chiltz A., Balacey S., Boselli M., Ippolito A., Poinssot B. (2014), Soybean and casein hydrolysates induce grapevine immune responses and resistance against *Plasmopara viticola*. *Frontiers in Plant Science* 5, 716

Liang Q. and Zhou B. (2007), Copper and manganese induce yeast apoptosis via different pathways. *Molecular Biology of the Cell* 18, 4691-5153

Maia A. J., Leite C.D., Botelho R.V., Faria C. M. D. R., Machado D. (2012), Chitosan as an option to control mildew in the sustainable vinegrowing. *Semina Ciências Agrarias Londrina* 33, 2519-2530

Meng X., Li B., Liu J., Tian S. (2008), Physiological response and quality attributes of table grape fruits to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry* 106, 501-508

Pontiroli R., Rizzotti R., Zerbotto F. (2001), Prove di difesa antiperonosporica in viticoltura biologica. *Informatore Fitopatologico* 51, 62-66

Provenzano M.R., El Bilali H., Simeone V., Baser N., Mondelli D., Cesari G. (2010), Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. *Food Chemistry* 122, 1338-1343

Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A., Di Venere D., Salerno M. (2006), Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science* 67, 1862-1867

Romanazzi G., Mancini V., Feliziani E., Servili A., Endeshaw S., Neri D. (2016), Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development. *Plant Disease* 100, 739–748

Romanazzi G., Feliziani E., Bautista Baños S., Sivakumar D. (2017) Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57, 579-601

Romanazzi G., Feliziani E., Sivakumar D. (2018), Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: eliciting, antimicrobial and film-forming properties. *Frontiers in Microbiology* 9, 2745

Romanazzi G., Mancini V., Foglia R., Marcolini D., Kavari M., Piancatelli S. (2021), Use of chitosan and other natural compounds alone or in different strategies with copper hydroxide for control of grapevine downy mildew. *Plant Disease* 105 (in stampa)

Scott T., Di Salvio R. (2013), *Biologico, le alternative al rame*, viten.net

Sun X., Liu L., Zhao Y., Ma T., Zhao F., Huang W., Zhan J. (2016), Effect of copper stress on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae* and the pathway of copper adsorption during wine fermentation. *Food Chemistry* 192, 43-52

Winedharma, Montepulciano d'Abruzzo: il vino, il vitigno e le caratteristiche, [www.winedharma.com/it/vitigno/montepulciano-dabruzzo-il-vino-il-vitigno-le-caratteristiche](http://www.winedharma.com/it/vitigno/montepulciano-dabruzzo-il-vino-il-vitigno-le-caratteristiche)

## 7. RINGRAZIAMENTI

Giunto al termine del percorso triennale posso ritenermi più che soddisfatto per ciò che ho appreso e acquisito. Un ringraziamento generale va all'Università che mi ha permesso di conoscere professori preparati e disponibile, oltre a compagni di corso fantastici.

Ringraziamenti più nel dettaglio vanno al Professor Roberto Potentini ed al Professor Gianfranco Romanazzi per avermi permesso di poter svolgere questa tesi ed avermi seguito in tutto il processo, cosa non facile nel periodo in cui ci troviamo. Sono stati molto disponibili e grazie alla loro enorme cultura e conoscenza sono riuscito a completare al meglio il lavoro.

Ringrazio l'Enologo Giuliano D'Ignazi e tutto il personale della cantina Moncaro e il Professor Giuseppe Potentini e tutti i colleghi dell'ITAS 'Garibaldi' di Macerata, che mi hanno aiutato e mi hanno seguito nei processi di trasformazione e di analisi. La competenza e la disponibilità che hanno dimostrato mi rende profondamente grato a loro.

Ringrazio il Dott. Simone Piancatelli e la Dott. Marwa Moumni per avermi aiutato nella raccolta e in tutto il processo di elaborazione statistica dei dati stesura della tesi. facoltà.

Ringrazio la mia famiglia per avermi cresciuto ed educato al meglio, e avermi supportato sempre in tutto ciò che ho fatto. Se sono quello che sono lo devo a loro.

Un ringraziamento speciale va a mio nonno che mi ha fatto innamorare di questa facoltà. Senza di lui probabilmente non sarei qui oggi e non avrei fatto questo fantastico percorso di laurea.