



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali

Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie

**Uso del chitosano per la protezione
antiperonosporica della vite**

*Chitosan treatment for the control
of grapevine downy mildew*

Relatore:

Prof. Gianfranco Romanazzi

Tesi di laurea di:

Francesco Cingolani

Anno Accademico 2019/2020

Indice

	Pag.
1. INTRODUZIONE.....	6
1.1 ORIGINE E DIFFUSIONE DELLA VITICOLTURA IN ITALIA.....	6
1.2 PERONOSPORA IN EUROPA E PRIMI MEZZI DI LOTTA	7
2. PERONOSPORA DELLA VITE.....	9
2.1 CLASSIFICAZIONE PATOGENO E PROCESSO D'INFEZIONE.....	9
2.2 CICLO BIOLOGICO	10
2.2.1 Ciclo sessuale (o gamico).....	11
2.2.2 Ciclo asessuale (o agamico).....	12
2.2.3 Infezioni primarie.....	12
2.2.4 Infezioni secondarie.....	14
2.3 SINTOMATOLOGIA.....	15
2.3.1 Sintomi su foglia.....	15
2.3.2 Sintomi sul grappolo.....	16

2.3.3	Sintomi su altri organi erbacei.....	18
3.	LOTTA ALLA PERONOSPORA.....	19
3.1	MODALITA' DI LOTTA.....	19
3.1.1	Lotta integrata.....	19
3.1.2	Lotta biologica.....	21
3.2	STRATEGIE DI DIFESA.....	22
3.2.1	Modelli previsionali.....	22
3.2.2	Pratiche agronomiche.....	25
3.2.3	Resistenza varietale.....	26
3.3.3	Difesa chimica.....	27
3.3	ANTIPERONOSPORICI.....	30
3.3.1	Composti organici di sintesi.....	31
3.3.2	Elementi e Composti inorganici a base di rame.....	33
3.3.3	Composti naturali alternativi e non contenenti rame.....	38

4.	OBIETTIVI DELLA RICERCA.....	53
5.	MATERIALI E METODI.....	54
5.1	CARATTERISTICHE GENERALI DEI VIGNETI.....	55
5.2	SCHEMA SPERIMENTALE.....	56
5.3	DATI CLIMATICI.....	59
5.4	VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU VEGETAZIONE E GRAPPOLI.....	59
6.	RISULTATI.....	63
6.1	CONDIZIONI CLIMATICHE.....	63
6.2	VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA SULLE FOGLIE.....	67
6.3	VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA SUI GRAPPOLI.....	73
7.	DISCUSSIONI E CONCLUSIONI.....	80
8.	BIBLIOGRAFIA.....	82
9.	RINGRAZIAMENTI.....	88

RIASSUNTO

La peronospora della vite, causata da *Plasmopara viticola*, è una delle più gravi malattie che colpisce la vite. Il rame è il prodotto più utilizzato nella difesa della vite, specialmente in vigneti biologici. La sperimentazione, stata svolta nell'ambito del progetto PSR Marche VITINNOVA, ha avuto come obiettivo quello di verificare l'efficacia di prodotti alternativi al rame nella lotta antiperonosporica, applicati sia da soli, sia in miscela ai prodotti cuprici, con l'obiettivo di ridurre la quantità di rame somministrata con la difesa fitosanitaria. A questo proposito, è stato considerato il chitosano, applicato singolarmente alla dose 0,5% o con dose dimezzata se miscelato con ossicloruro di rame. Questo biopolimero, in condizioni sperimentali e prove parcellari ha conferito risultati positivi nella lotta alla peronospora della vite. Le prove sono state condotte in 2 vigneti appartenenti alla Soc. Coop. Agricola Moncaro: il Vigneto Mulino, sito a Castelplanio (AN) con varietà Verdicchio ed il Vigneto Mazzoni ubicato invece ad Angeli di Varano (AN) con varietà Montepulciano. Lo schema sperimentale adottato ha previsto 4 tesi (3 trattamenti ed un testimone non trattato) ognuna delle quali con 3 ripetizioni, ripartite in campo secondo il modello sperimentale di blocco randomizzato. I trattamenti, a cadenza settimanale, sono stati eseguiti a partire da fine aprile. Sono stati effettuati un rilievo sulle foglie e uno sui grappoli, per ciascun vigneto, in modo da valutare la diffusione, la gravità e l'indice di McKinney della malattia. L'andamento meteorologico, contraddistinto, da sporadiche e modeste precipitazioni, non è stato particolarmente favorevole allo sviluppo di *P. viticola*, agente eziologico della peronospora della vite, infatti è stata rilevata una bassa pressione della malattia. Per questa ragione, le varie tesi non sempre si sono differenziate significativamente. Tuttavia, nel vigneto "Mulino" l'incidenza della malattia sulle foglie è stata significativamente più bassa sulle foglie trattate con chitosano da solo e con rame, seguito dal testimone aziendale, e sui grappoli trattati con chitosano e con chitosano e rame.

ABSTRACT

The grapevine downy mildew, caused by *Plasmopara viticola*, is one of the most serious diseases affecting the vine. Copper is the most used product in the defense of the grapevine, especially in organic vineyards. The trials, run within the PSR Marche project VITINNOVA, aimed to verify the efficacy of chitosan as an alternative to copper fungicides. This biopolymer was applied alone at 0,5% or combined with copper oxychloride at 0,25%, trying to reduce the quantity of copper for vineyard treatments. Chitosan showed promising result in in laboratory scale or experimental level and this trial tried to verify its effectiveness under commercial conditions. The tests were conducted in 2 different experimental vineyards, belonging to Soc. Coop. Agricola Moncaro: the Mulino vineyard in the Piagge area, located in Castelplanio (AN) with the Verdicchio variety and the Mazzoni vineyard located in Angeli di Varano (AN) with the Montepulciano variety. The experimental scheme adopted provided 4 theses (3 treatments and the untreated control), with 3 repetitions per theses, divided in the field according to the randomized block experimental design. The treatments were done weekly starting at the end of April. A survey was carried out on the leaves and on the bunches, for each vineyard, in order to evaluate spread, severity and McKinney index of the disease. The climatic conditions of the year, characterized by sporadic and modest rainfall, were not particularly favorable for the development of *P. viticola*, the organism that can cause downy mildew in grapes, defining a low disease pressure. For this reason, at the beginning of July, the incidence of the disease was very low and not significantly different among treatments. However, In Mulino vineyard, the incidence of downy mildew infection was significantly lower on leaves treated with chitosan alone or combined with copper, followed by copper alone, as compared to the untreated control, and on clusters treated with chitosan alone or combined with copper.

1.INTRODUZIONE

1.1 ORIGINE E DIFFUSIONE DELLA VITICOLTURA IN ITALIA

In Italia sono stati rinvenuti reperti (soprattutto sotto forma di semi) che attestano l'utilizzazione del frutto della vite da parte dei nostri antenati dell'età del Neolitico, anche se in realtà oggi si tende a far risalire l'origine della viticoltura al Mesolitico, intorno a 9000 anni a.C., nella zona conosciuta come Mezzaluna fertile (termine coniato dall'archeologo James Henry), area compresa fra il Caucaso e l'Egitto, dove si instaurarono e svilupparono le prime grandi civiltà. Nonostante il passaggio dalla raccolta dei frutti dalle piante selvatiche alla coltivazione sia stato lento e graduale, la vite sembra essere stata, insieme ad altre colture come orzo, grano lino e cotone, una delle prime piante coltivate dalle antiche civiltà che precedettero le grandi civiltà sumere, assire, babilonesi, cartaginesi ed egizie (Eynard e Dalmaso, 2004). Dal 3000 a.C. il consumo di vino e la coltivazione della vite si propagarono in tutto il bacino del Mediterraneo, arrivando anche in Italia meridionale, a partire dalla Sicilia, dove esistono testimonianze sulla presenza del vino risalenti al 2000 a.C., ad opera dei colonizzatori egeo-micenei che trasmisero le loro tecniche di coltivazione, che consistevano nel coltivare la vite a ceppo basso sostenuta da semplici paletti o anche senza sostegni. Ben diverse erano le modalità di coltivazione della vite in Italia centrale, ad opera degli Etruschi già dal 800 a.C. e settentrionale da parte di popolazioni indigene (paleoveneti e paleoliguri ad esempio), che si basavano su tecniche di allevamento dove le viti venivano fatte sostenere da alberi a cui venivano maritate facendogli raggiungere notevoli dimensioni. La superficie vitata ad oggi in Italia ammonta a 669.827 ettari (ISTAT, 2019) e comprende tutte le regioni, infatti la nostra penisola può vantare uno dei più elevati livelli di biodiversità vitivinicola; ciò è reso possibile dalle numerose aree geografiche differenti tra loro, presenti sul territorio nazionale, che per effetto di particolari ambienti e interazioni fra i fattori di coltivazione e produzione, forniscono vini distinguibili per caratteristiche e proprietà, rendendoli in qualche modo unici e tipici di quella determinata area. Sono questi i presupposti su cui si fondano le denominazioni d'origine; e le attività di valorizzazione di queste produzioni tipiche sono attualmente riconosciute dall'Unione Europea tramite regolamento (CE) N. 510/2006 del 20 marzo 2006 con la sigla DOP (Denominazione d'Origine Protetta) e IGP (Indicazione Geografica Protetta). Attualmente in Italia sono presenti 526 denominazioni, di cui 408 DOP e 118

IGP (ISMEA Mercati), solo nelle Marche si contano 20 DOP tra cui: il Verdicchio dei Castelli di Jesi e Verdicchio di Matelica, la Lacrima di Morro d'Alba, Offida, Pergola, Rosso Piceno, Falerio, Colli Maceratesi, Colli Pesaresi, Rosso Conero, Pergola, San Ginesio, Esino, I Terreni di San Severino, Bianchello del Metauro, Vernaccia di Serrapetrona, Castelli di Jesi Verdicchio Riserva, Verdicchio di Matelica Riserva e il Conero Riserva. Oggi, il panorama ampelografico regionale marchigiano annovera, tra vecchie iscrizioni e nuove introduzioni, quarantuno varietà di vite classificate idonee alla coltivazione su tutto il territorio regionale (Reg. CE 2548/1999, DM 11/10/99, Reg. CE n. 1227/2000). Il vitigno bianco autoctono più diffuso nella regione è il Verdicchio, ma sono presenti anche Pecorino, Passerina, Biancame e Maceratino, i quali sono tutti autoctoni e meritano considerazione, così come anche Trebbiano toscano, Malvasia bianca di Candia e Malvasia bianca lunga, che sono da lungo tempo coltivati nelle Marche. I vitigni autoctoni a bacca nera sono attualmente rappresentati da Lacrima e Vernaccia nera, a cui si aggiungono altre tre varietà di antica e ampia diffusione, come Montepulciano, Sangiovese ed Aleatico (Alberto Mazzoni, 2018). In tempi recenti si sta registrando una maggiore presenza nei vigneti delle cosiddette uve internazionali, spesso utilizzate per la produzione di vini miscelati alle altre uve locali; fra le varietà internazionali si rilevano Chardonnay, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah e Pinot Nero. Il territorio delle Marche offre una ampia variabilità di paesaggio, la parte occidentale della regione è caratterizzata dagli appennini e procedendo verso est, dopo avere attraversato territori di tipo collinare divisi da valli, si raggiunge il mare Adriatico. E' proprio in queste aree collinari delle province di Fermo, Ascoli Piceno e Ancona che si concentra la viticoltura nelle Marche. La sistemazione agraria più utilizzata è quella del ritocchino, con filari che si sviluppano sulle linee di massima pendenza e la forma di allevamento predominante è quella a controspalliera a tralcio rinnovato, caratterizzata da potatura lunga, rappresentata da Guyot e Capovolto.

1.2 PERONOSPORA IN EUROPA E PRIMI MEZZI DI LOTTA

In Europa il primo caso di peronospora fu segnalato nel sud-ovest della Francia nel 1870 da lì a pochi anni si diffuse in tutto il continente. La sua comparsa avviene a seguito di una sfrenata importazione di viti americane per tentare di fronteggiare la fillossera della vite (patologia causata da un insetto fitofago), la patologia proveniente da oltre oceano si

rivelerà ben più aggressiva di quanto si potesse immaginare portando ingenti perdite in tutta la produzione europea. Nel 1883, Pierre Millardet professore dell'Università di Bordeaux si accorse di come le viti trattate con una miscela di solfato di rame e calce, usata all'epoca da alcuni viticoltori per scoraggiare furti perpetrati da ladri della zona, non presentavano i tipici sintomi della patologia. Da questa osservazione Millardet iniziò a sperimentare varie misture con differenti proporzioni di solfato di rame e calce fino a trovarne una efficiente che potesse proteggere la vite dalla peronospora; furono necessari 3 anni di prove e di test affinché Millardet raggiungesse il giusto rapporto della miscela, che fu chiamata "*poltiglia bordolese*" poiché sperimentata negli areali viticoli di Bordeaux. Per 70 anni i prodotti rameici resteranno gli unici antiperonosporici, decadranno verso gli anni '70 per poi riprendere un largo impiego, oggi attestato sul 50% rispetto al totale dei prodotti impiegati su vite per combattere questa malattia. Solo negli ultimi anni grazie al progresso della biologia molecolare, della chimica strutturale e dell'informatica si ha avuto la possibilità di progettare molecole in grado svolgere compiti specifici contro le patologie fungine.

2. PERONOSPORA DELLA VITE

2.1 CLASSIFICAZIONE PATOGENO E PROCESSO D'INFEZIONE

L'agente causale della peronospora della vite è *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. E De Toni, oomicete biotrofico obbligato incapace, cioè, di svilupparsi in assenza di un ospite il quale fornisce cellule metabolicamente attive da cui il patogeno, tramite il loro utilizzo, trae nutrimento. A causa delle loro similitudini morfologiche, fisiologiche ed ecologiche ai funghi, gli oomiceti vengono tradizionalmente trattati dalla micologia; tuttavia, i dati filogenetici, ultrastrutturali, biochimici e molecolari confermano che non sono collegati ai veri funghi (regno Fungi), ma appartengono al regno Chromista (Stramenophila) (Dick, 2001; Dick, 2002; Kirk et al. 2001).

P. viticola appartiene alla classe degli Oomycetes, ordine Peronosporales, famiglia Peronosporaceae. Caratteristica distintiva di questa classe di oomiceti è quella di possedere un micelio diploide, tipicamente cenocitico (ife settate) a crescita apicale, con pareti cellulari essenzialmente di natura cellulosica e di produrre spore asessuate e sessuate, principali responsabili della disseminazione del fungo. La penetrazione all'interno del tessuto vegetale ospite avviene attraverso un meccanismo di penetrazione diretta (azione meccanica del patogeno) che ha luogo a livello delle aperture stomatiche. Il patogeno una volta penetrato stabilisce un rapporto parassitario con l'ospite di tipo intercellulare, habitus che caratterizza quei funghi che crescono nell'apoplasto, dove utilizzano i nutrienti rimossi dalle cellule (ancora metabolicamente attive) per via enzimatica, grazie alla produzione di austori globulari, organo con cui si stabilisce il rapporto biotrofico tra patogeno e cellula "viva" dell'ospite (Belli, 2013). La riproduzione asessuata avviene tramite la formazione di sporangi, differenziati all'estremità di rami sporangiofori che emergono dagli stomi producendo molteplici rami laterali disposti ad angolo retto rispetto all'asse principale. In ogni singola ramificazione si possono contare dai 2 ai 3 sterigmi, corte appendici da cui gli sporangi germinando liberano una media di 5-8 zoospore (Gregory, 1912), quest'ultime sono di forma piano-convessa, hanno un diametro che varia da 5-6 x 6.5-8 micron e sono biflagellate, cioè dotate di 2 flagelli, di diversa lunghezza, uno più lungo (18-25 µm) ed uno più corto (10-15 µm). Sono proprio queste strutture che consentono alle zoospore di muoversi nell'acqua nella quale, dopo aver nuotato per circa 20-30 minuti arrestano il loro movimento in prossimità degli stomi ed i flagelli vengono assorbiti. Segue poi la comparsa del tubetto germinativo che attua la penetrazione

esclusivamente per via stomatica. La differenziazione dell'organo sessuale maschile, l'anteridio (sottile ed allungato) e di quello femminile, l'oogonio (globoso) sancisce l'inizio della riproduzione sessuata; la fusione tra un nucleo dell'anteridio ed uno dell'oogonio (riproduzione gamica), è rappresentata dall'oospora dotata di una struttura caratterizzata da doppie pareti (eso ed endosporio) che la rendono particolarmente adatta a sopravvivere in condizioni ambientali ostili (Vercesi, 2013), questa si forma all'interno del tessuto fogliare interessato e permane dalla maturazione dell'uva fino alla caduta delle foglie. Ed è proprio grazie a queste strutture di resistenza che è garantita la sopravvivenza della peronospora anche in assenza di tessuti colonizzabili; in questo caso le oospore permangono sulla lettiera fogliare o sul terreno durante tutto l'inverno (Galbiati e Longhin, 1984). Prerogativa fondamentale per la loro germinazione è il superamento di un periodo di maturazione e condizioni ambientali favorevoli, riferibili alla prossima primavera (Park et al, 1997, Rossi et al, 2008) ed in quella che segue (Kennelly et al, 2007).

2.2 CICLO BIOLOGICO

Caratteristica distintiva della *P. viticola* è data dal polimorfismo delle sue spore, ovvero da una riproduzione sia gamica che agamica. Il ciclo annuale inizia con le oospore, prodotte in seguito alla riproduzione sessuata, che svernano e sono responsabili delle infezioni primarie mentre le spore originate dalla riproduzione asessuata, invece, sono responsabili della successione dei cicli d'infezione secondari durante la stagione vegetativa dell'ospite; la sua conclusione è sancita dalla riproduzione di oospore. Questi due diversi tipi di spore hanno diverse esigenze ecologiche e caratteristiche epidemiologiche (Fig. 1).

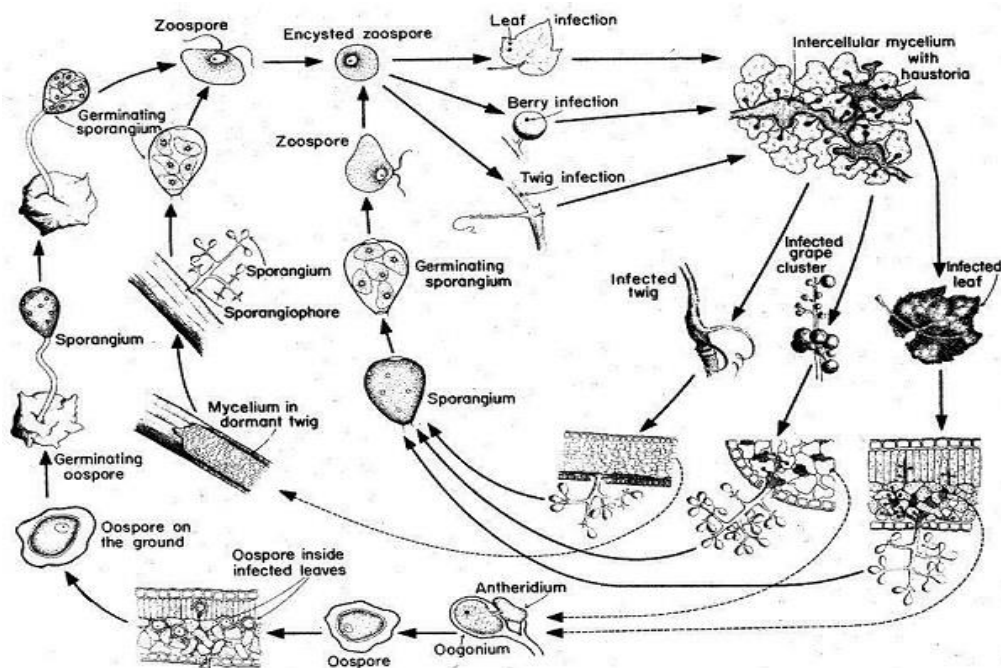


Fig. 1 - Ciclo Biologico di *Plasmopara viticola* (Pearson, 1988).

2.2.1 Ciclo sessuale (o gamico)

La produzione di oospore è favorita dai tessuti infetti in senescenza, da temperature comprese tra i 14 ed i 18 °C ed inoltre da frequenti precipitazioni, queste successivamente acquisiscono la capacità germinativa al termine di un periodo di maturazione, che viene conseguita alla fine di novembre inizio dicembre. In presenza di un terreno adeguatamente bagnato e con temperature superiori a 10 °C, dalla germinazione delle oospore, vengono emessi degli zoosporangi contenenti una media di 10-20 zoospore. La forza cinetica generata dalla caduta della pioggia fa sì che gli zoosporangi si disperdano nei veli d'acqua presenti sugli organi ricettivi della vite e le zoospore rilasciate, attraverso il loro movimento flagellare, arrivino in prossimità delle aperture stomatiche della pagina inferiore fogliare dell'ospite grazie a stimoli chemiotattici. Le gocce d'acqua devono restare indipendenti le une dalle altre perché si abbia il massimo attacco, una pioggia che lavi la foglia è sfavorevole, la presenza del tomento che trattenga l'acqua sulla pagina inferiore della foglia è invece favorevole (Pantanelli, 1920), la contaminazione in pratica è tanto più da temersi quanto più a lungo restano bagnate le foglie (Gabotto, 1918). Segue una fase di incistamento con produzione di un tubetto germinativo che penetrerà e darà inizio alla colonizzazione dei tessuti della vite, se l'infezione ha esito favorevole il

patogeno crescerà manifestando, allo scadere del periodo d'incubazione, i primi sintomi sulla pianta (infezione primaria). In corrispondenza della zona infettata sul lembo superiore delle foglie appaiono decolorazioni giallastre note con il nome di “macchie d'olio”.

2.2.2 Ciclo asessuale (o agamico)

Alla fine del periodo di incubazione, può aver luogo la fase di sporulazione, parte asessuata del ciclo vitale del patogeno, rappresentata dalla formazione di sporangiofori e sporangi contenenti zoospore. La differenziazione degli sporangi richiede almeno 4 ore di buio con temperature di almeno di 13 °C fino ad un optimum di 19°C, un'umidità relativa superiore od uguale al 98% e presenza di acqua libera sul substrato (Blaeser, 1978), queste sono le condizioni necessarie e sufficienti per far sì che avvenga la fase d'evasione del patogeno che darà luogo alle infezioni secondarie. Ad opera della pioggia, ed in minor misura dalla rugiada, avviene la dispersione dell'inoculo che attraverso i veli d'acqua presenti sulla vegetazione giunge in prossimità degli stomi delle pagine inferiori delle foglie di vite dando luogo al secondo ciclo d'infezione. Essendo un patogeno policiclico, la *P. viticola*, darà origine a più cicli d'infezione nel corso della medesima stagione vegetativa dell'ospite, richiedendo condizioni ambientali simili a quelle del primo ciclo.

2.2.3 Infezioni primarie

Le oospore, forme associate alla riproduzione sessuale responsabili dell'infezione primaria, spesso servono a colmare periodi caratterizzati da condizioni climatiche avverse e assenza di tessuti ospiti. La loro formazione avverrebbe dalla prima apparizione delle macchie d'olio fino a quando esse si disidratano ed il micelio, invecchiando le foglie, non sia più in grado di superare le nervature (Arens, 1929); qui, in seguito alla fisiologica filloptosi della pianta ospite, svernano nella lettiera fogliare o nel suolo del vigneto. Il numero delle oospore presenti nel tessuto ospite può variare notevolmente potendo esse anche occupare l'intero mesofillo e raggiungere una densità di oltre 1000 oospore al mmq, se si considera che possono disporsi su più piani del mesofillo (Laviola, 1964). Terminato il periodo di maturazione durante l'inverno, solo le oospore mature germineranno e formeranno sporangi una volta esposte ad un film d'acqua e temperature del terreno di 12-13°C. Osservazioni condotte in Italia meridionale (Laviola, 1964-1975 e Burruano, 1981-

1982) hanno dimostrato come la germinazione delle spore sessuali di *P. viticola* avvenga in un periodo compreso tra gennaio e giugno, raggiungendo il massimo tra febbraio ed i primi di marzo, per poi decrescere drasticamente con l'avanzare della stagione; fatto determinato dal naturale andamento climatico con aumento di temperature spesso accompagnate dalla diminuzione o quasi assenza di precipitazioni. Anche se la dinamica di germinazione delle oospore di *P. viticola* subisce negli anni ampie fluttuazioni, determinate almeno in parte dall'andamento climatico. Elevate disponibilità idriche e temperature contenute durante l'inverno sono correlate ad abbondanti germinazioni (Vercesi, 2013).

Una parte dell'oospore potrebbe anche germinare solo la primavera successiva, una volta state portate in superficie in seguito a lavorazione del terreno, condizioni ambientali permettendo (Gregory, 1915). In ogni caso, le diverse infezioni primaverili protratte nel tempo possono essere spiegate dal fatto che non tutte le oospore germinino subito (Muller e Sleumer, 1934) ma che a seguito di questa loro eterogeneità germinativa si protraggano invece fino ad un periodo di cinque anni. Le condizioni affinché l'infezione primaria si verifichi sono che la temperatura atmosferica minima sia di circa 10 ° C, almeno 10 mm di pioggia siano caduti nelle 48 ore precedenti e che le viti abbiano sviluppato foglie che misurino da 6 a 8 cm², corrispondenti ad una lunghezza del germoglio pari a 10 cm (Baldacci, 1947). Di rilevante importanza è la pioggia di almeno 10 mm in 24-48 ore menzionata nella regola dei "10-10-10" che fa riferimento a 2 eventi piovosi, il primo determinante la germinazione delle oospore e dei macrosporangii mentre il secondo provvede alla dispersione dell'inoculo. Il periodo di incubazione, cioè, il lasso di tempo che intercorre tra il momento in cui avviene l'infezione e quello in cui si osserva la macchia d'olio, è molto variabile e dipende dalla temperatura e dall'umidità dell'aria (Goidanich, 1964). Il minimo tempo necessario è di cinque giorni, ma esso può protrarsi fino a 18 (Agrios, 1997).

Nel concetto tradizionale del ciclo di vita del patogeno, un'epidemia di peronospora comincia con un numero relativamente piccolo di oospore germinanti e l'aumento esplosivo dell'epidemia sono assicurati da una massiccia moltiplicazione clonale che causa infezioni secondarie (Blaeser e Weltzien, 1979; Lafon e Clerjeau, 1988). Recenti studi condotti utilizzando marcatori polimorfici a microsatellite, che forniscono il profilo genetico permettendo di identificare i ceppi per *P. viticola*, hanno mostrato tuttavia un

continuo input di nuovi genotipi nell'epidemia durante un periodo prolungato (da maggio ad agosto) (Rumboue Gessler, 2004; Gobbin, 2005; Kennely, 2007).

Tali scoperte hanno reso possibile distinguere le infezioni derivanti da oospore da quelle derivanti dagli sporangi secondari e quindi quantificare il contributo all'epidemia delle infezioni oosporiche e secondarie. Pertanto, le oospore svolgono un ruolo chiave nello sviluppo di epidemie di peronospora per parte della stagione di crescita dell'ospite in cui sono presenti entrambi i tipi di spore asessuali e sessuali.

2.2.4 Infezioni secondarie

Dopo un periodo di latenza, l'agente patogeno produce ripetutamente sporangi sulla lesione, visibili sotto forma di muffa bianca sul lembo inferiore delle foglie e sui tessuti verdi della pianta che si disperdono, grazie a pioggia e vento, nel vigneto sui nuovi tessuti ospiti. Le lesioni primarie contribuiscono attivamente all'epidemia per un certo periodo infettivo prima di diventare vecchie e sterili (Kennely, 2007), segue una fase di stabilizzazione della percentuale delle lesioni primarie che perdura almeno fino al mese di agosto. Le infezioni secondarie attuate dai propaguli si verificano allo scadere del periodo d'incubazione di quella primaria, e sono funzione dell'umettazione e temperatura.

Blaeser (1978) ha stabilito, mediante esperimenti condotti in serra che, perché il 50% degli organi inoculati possa essere infettato, occorre che il prodotto tra temperatura e numero delle ore di bagnatura sia pari almeno a 50. Ciò significa che in condizioni di temperatura ottimale (22-25 °C) sono sufficienti due ore di bagnatura affinché si realizzino le infezioni secondarie. A partire dai 29°C la possibilità di contaminazione si riduce notevolmente. Sempre studi genetici hanno evidenziato come nel corso della stagione vegetativa i cicli secondari si sviluppino da pochi genotipi delle infezioni primarie e questi compaiano precocemente, verso maggio o giugno. E' stato inoltre osservato come gli sporangi secondari non tendano ad allontanarsi molto dall'originario ciclo primario ma si concentrano sulla stessa foglia e sulle foglie immediatamente sottostanti; dovuto al fatto che gli sporangi che si formano sulla pagina inferiore della foglia, sono dilavati verso il basso dalla pioggia o dalla rugiada e solo raramente vengono trasportati a distanze superiori a qualche metro. Quindi avremo stessi genotipi piuttosto raggruppati all'interno del vigneto con bassa migrazione degli sporangi secondari da vigneto a vigneto, ciò fa pensare che è generalmente bassa la fonte di inoculo proveniente da appezzamenti

vicini mentre è invece molto alta la probabilità a fine stagione che la singola pianta in un vigneto presenti la maggioranza dalle lesioni causate da un singolo genotipo.

2.3 SINTOMATOLOGIA

La peronospora è senza dubbio tra le più importanti malattie che colpiscono la vite essendo in grado di causare ingenti danni vegetativi e produttivi.

L'oomicete, *Plasmopara viticola*, agente causale della malattia, penetra nei tessuti dell'ospite attraverso le aperture stomatiche e colpisce quindi tutti gli organi erbacei della vite, in particolare le foglie e i grappoli nelle loro diverse fasi di sviluppo, su cui sono presenti gli stomi. Più suscettibili sono le foglie in fase giovanile, ma con infezioni tardive possono essere colpite anche le foglie più vecchie, i danni alle foglie determinano una perdita di qualità dovuta ad una riduzione dell'attività fotosintetica e, quindi, dell'accumulo di zuccheri ed aromi. Nei casi più gravi la peronospora può causare la parziale defogliazione della vite, che si ripercuote negativamente sul processo di agostamento dei tralci. Ulteriori bersagli della patologia sono le infiorescenze ed i giovani grappoli, che se colpiti possono portare a gravi conseguenze come la perdita di parti rilevanti o addirittura dell'intera produzione. In generale, le epidemie di peronospora, oltre a ridurre la produzione dell'annata, possono incidere negativamente sull'accumulo di riserve nutritive, determinando riduzioni di produzione (anche ingenti) per gli anni successivi (Marenghi, 2007).

2.3.1 Sintomi su foglia

La peronospora sulle foglie si può manifestare in 2 modi. Il primo, tipico delle infezioni primaverili, è attraverso la comparsa della tipica macchia d'olio sulla pagina superiore della foglia (Fig. 2), chiazze tondeggianti contraddistinte da decolorazioni giallastre che con l'avanzare dello sviluppo del micelio fungino assumono traslucidità. Col tempo queste macchie d'olio tendono ad espandersi e necrotizzare provocando lacerazioni tissutali e disseccamenti localizzati con conseguente sottrazione della superficie fotosintetizzante ed eventuali premature filloptosi della pianta.

In presenza di elevata umidità, in corrispondenza delle macchie d'olio, sulla pagina inferiore della foglia è possibile osservare la comparsa di un'efflorescenza muffosa biancastra imputabile all'emissione delle strutture agamiche del patogeno (sporangiofori e

sporangii). Il secondo modo in cui la malattia può manifestarsi, peculiare delle infezioni estive e delle foglie più vecchie, è la cosiddetta forma a mosaico dove le macchie giallastre si presentano con contorni geometrici (poligonali) e delimitate dalle nervature; ciò può essere ricondotto al fatto che con il progredire dell'età le nervature fogliari si ispessiscono e acquisiscono resistenza meccanica sbarrando la strada allo sviluppo delle ife fungine.

Anche in questo caso, al verificarsi di opportune condizioni climatiche, sulla pagina inferiore della foglia può comparire uno strato di muffa d'entità minore rispetto al primo episodio precedentemente descritto.



Fig. 2 – Presenza di una tipica macchia d'olio sulla pagina superiore della foglia

2.3.2 Sintomi sul grappolo

I sintomi della malattia al livello dei grappoli varia in base agli stadi fenologici, questi possono essere attaccati in epoca precoce, prima o durante la fioritura e dopo l'allegagione. I sintomi imputabili alle precoci infezioni peronosporiche sulle giovani infiorescenze si manifestano attraverso macchie livide (imbrunimento). In caso di precipitazioni o elevata umidità, similmente a quanto accadeva sulle foglie, si osservano fruttificazioni agamiche del patogeno, che in questo caso invadono interamente i fiori ed il racgide, determinando solitamente la necrosi dell'intero grappolo (disseccamento). In altri casi l'attacco induce ipertrofie deformanti il peduncolo, raspo e racimoli (forme ad uncino

o a “S”), incurvamenti dovuti alle diverse velocità di crescita tra i tessuti infetti e non infetti (Fig. 3).



Fig. 3 – Imbrunimento ed ipertrofie indotte da peronospora su un giovane grappolo

Dopo l'allegagione, gli attacchi di *P. viticola* determinano sui grappoli, in funzione della loro età, dell'umidità e dell'epoca di attacco, due diverse sindromi che vengono comunemente chiamate marciume grigio e marciume bruno. Il marciume grigio, che si verifica abitualmente in primavera, è tipico dei giovani grappoli con raspo e racimoli ancora in gran parte erbacei e acini piccoli, qui il fungo attacca attraverso gli stomi degli acini fino ad atrofizzarli. L'infezione di tali organi si manifesta con una colorazione plumbea; successivamente il rachide diviene allessato (spesso curvato a “S”) e il giovane grappolo viene ricoperto dalle fruttificazioni agamiche del fungo emesse per mezzo degli stomi dei giovani acini con formazione nell'insieme di una colorazione grigia. I sintomi caratteristici del marciume bruno si osservano invece negli attacchi tardivi (estati fresche e piovose), dove gli acini già ben sviluppati o già invaiati assumono una colorazione rossastra che vira rapidamente al bruno-violaceo, subiscono una forte disidratazione per poi avvizzire fino a completa necrosi. Sugli acini che presentano questo tipo di marciume non si osserva muffa, l'assenza di fruttificazioni del fungo si spiega in quanto la sua evasione dagli acini avviene esclusivamente attraverso gli stomi o altre fessurazioni; quando questi, con l'aumentare dell'età della bacca, perdono funzionalità e/o degenerano il

micelio del fungo rimane intrappolato al loro interno con conseguente impossibilità di fuoriuscita dei rami sporangiofori dai tessuti colonizzati.

Questi attacchi peronosporici sono conosciuti anche con il nome di peronospora larvata (Fig. 4).



Fig. 4 – Esempio di sintomi derivanti da peronospora larvata, notare l’assenza di fruttificazioni fungine del patogeno.

2.3.3 Sintomi su altri organi erbacei

Meno frequenti sono le infezioni che si verificano sui germogli e sui tralci allo stato erbaceo. I germogli infetti, attaccati tendenzialmente in prossimità dei nodi, presentano prima aree idropiche, poi livide e successivamente necrotiche. Spesso si originano spaccature longitudinali in corrispondenza delle quali può svilupparsi la tipica efflorescenza biancastra. Mentre l’azione del fungo sui tralci erbacei è limitata ai tessuti superficiali e raramente interessa l’intera circonferenza del tralcio. La differenza di sviluppo tra la parte sana e la parte colonizzata dal patogeno determina una deformazione del tralcio che assume una forma ad “S” e le cellule invase necrotizzano conferendo alla zona colonizzata una colorazione bruna- nerastra. Nei tralci in lignificazione l’attacco peronosporico è meno evidente e si manifesta con lesioni dei tessuti corticali (desquamazioni e fessurazioni) e sotto forma di piccoli cancri.

3. LOTTA ALLA PERONOSPORA

3.1 MODALITA' DI LOTTA

Dopo oltre 120 anni dalla sua comparsa in Europa, la peronospora continua ad essere un parassita “difficile” da contrastare. Appaiono quindi giustificati tutti i tentativi per migliorare la difesa, renderla più sicura, ecocompatibile ed economica (Gherardi et al., 2000; Scannavini et al., 2000). Un obiettivo importante, da sempre perseguito, è quello di ridurre il numero degli interventi, senza ovviamente rinunciare alla qualità della difesa. Concetto affermatosi nel tempo in seguito alla constatazione che l'impiego ripetuto e quasi esclusivo del mezzo chimico non solo poteva portare cali di efficacia dovuti alla presenza di ceppi resistenti, ma determinava anche l'insorgenza di gravi problemi a livello sia dei residui negli alimenti sia in inquinamento ambientale sia, infine, di rischio sanitario per chi eseguiva i trattamenti (Belli, 2013).

3.1.1 Lotta integrata

A livello italiano, il Decreto Legislativo n. 150 del 14 agosto 2012, che recepisce la direttiva 2009/128/CE, conferma l'obbligo della difesa integrata per tutti gli utilizzatori professionali di prodotti fitosanitari (PF), a partire dal 1 gennaio 2014.

“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)

L'agricoltura integrata ha come obiettivo quello di costituire sistemi di produzione agricola a ridotto impatto ambientale, che prevedono l'uso coordinato e razionale di tutti i fattori di produzione allo scopo di ridurre al minimo il ricorso a mezzi tecnici che hanno un impatto sull'ambiente o sulla salute dei consumatori. In questo sistema di lotta, infatti, non viene completamente escluso il ricorso all'uso di prodotti chimici di sintesi, ma prioritariamente vengono previste delle strategie tese a ridurre sensibilmente la quantità dei

prodotti fitosanitari (PF) e dei concimi di sintesi, in modo da diminuire il più possibile l'entità di impatto delle attività agricole sugli equilibri naturali di quella determinata zona. Per impostare una corretta strategia di difesa integrata è importante conoscere la biologia della coltura da difendere (la sua fenologia, cioè le fasi di crescita), il ciclo di sviluppo dei patogeni e dei fitofagi che si vogliono combattere, nonché i dati meteorologici rilevati nell'ambiente nel quale si attua la coltura. Nelle linee di difesa integrata, trovano sempre più spazio tecniche e sistemi alternativi ai PF e l'impiego dei mezzi chimici viene limitato ai casi di effettiva necessità, quando si raggiungono livelli di attacco non ulteriormente sostenibili, ovvero si giunge ad una "soglia" di tolleranza. Per questo, la conoscenza delle caratteristiche dell'ambiente di coltivazione in termini di temperatura, umidità e precipitazioni permette di valutare l'evoluzione dei patogeni; le previsioni meteorologiche, di breve e medio periodo (da uno a cinque giorni), permettono inoltre di programmare con una certa affidabilità le eventuali strategie di intervento per l'irrorazione con PF evitando rischi di dilavamento con conseguenze negative per l'ambiente e l'economia di gestione della coltura. Ciò può essere fatto attraverso sistemi di previsione ed avvertimento, che negli ultimi anni si sono sempre più raffinati. Tali sistemi trasformano in un'equazione matematica i rapporti che intercorrono tra coltura, avversità e ambiente circostante e, attraverso uno specifico software simulano la comparsa e/o l'evoluzione delle infezioni fungine, in funzione dei parametri climatici continuamente raccolti ed elaborati. In quest'ottica assumono importanza anche i mezzi di lotta agronomici, le cui potenzialità sono spesso sottovalutate, in virtù del fatto che agiscono in maniera indiretta ma che spesso, se adeguatamente utilizzati, possono diminuire notevolmente il rischio d'infezione. Sempre maggiore è anche l'attenzione che viene posta alla ricerca ed all'impiego di cultivar resistenti nei confronti di uno o più patogeni attraverso numerosi programmi di miglioramento genetico, permettendo in molti casi di ridurre notevolmente il numero degli interventi con prodotti chimici, anche se spesso risultano meno produttive o meno apprezzate dal consumatore. I criteri d'impostazione della difesa integrata sono stati in Italia riassunti nei cosiddetti "Disciplinari di produzione integrata", messi appunto dai Servizi fitosanitari Regionali.

Ciò ha consentito di organizzare in modo organico le conoscenze acquisite, illustrando le corrette modalità di produzione a partire dal momento dell'impianto fino ad arrivare alla raccolta. Nei Disciplinari vengono inoltre elencate le sostanze attive da

utilizzare, scelte tra quelle con il profilo eco-tossicologico più favorevole, e le restrizioni di impiego in considerazione delle strategie antiresistenza (Belli, 2013).

3.1.2 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. Questi contengono una serie di disposizioni comuni riguardo ai metodi di produzione, all'etichettatura dei prodotti, al sistema dei controlli, ai provvedimenti finanziari di sostegno all'agricoltura biologica e integrata, alle misure adottate per la tutela dell'ambiente agricolo e per la biodiversità. L'agricoltura biologica ha infatti come obiettivo principale non il raggiungimento di elevati livelli di produzione, ma il mantenimento e l'aumento dei livelli di sostanza organica nei suoli e di biodiversità basando le strategie di difesa sulla prevenzione e sulla capacità degli ecosistemi di autoregolarsi e cercando di svincolandosi dall'apporto di mezzi tecnici di sintesi, quali ad esempio fertilizzanti, erbicidi e fitofarmaci per combattere parassiti (insetti, acari ecc.) e patogeni (funghi, batteri, virus). Ciò ha portato alla messa a punto di un metodo di produzione che richiede un impiego meno intensivo della terra e che può quindi permettere la realizzazione di un migliore equilibrio tra l'offerta e la domanda di prodotti agricoli, la tutela dell'ambiente, della salute del consumatore e della qualità dei prodotti agroalimentari e la conservazione dello spazio rurale. Per la limitata disponibilità di prodotti specifici, la difesa dalle avversità si basa principalmente sull'adozione di strategie di lotta agronomiche e sull'applicazione di interventi preventivi e tempestivi. Scelte e tecniche colturali adeguate (utilizzo di varietà appropriate all'ambiente di coltivazione, un corretto equilibrio vegeto-produttivo della coltura, ecc.), la salvaguardia degli insetti utili e il monitoraggio preciso e puntuale degli organismi dannosi (biologia, andamento epidemiologico, ecc) svolgono, quindi, un ruolo fondamentale per la difesa delle colture. Attualmente la difesa biologica nei confronti della peronospora si basa quasi esclusivamente sull'uso di fungicidi a base di rame. Quest'ultimo è un metallo pesante e come tale non è soggetto a ulteriore degradazione nell'ambiente, perciò il suo accumulo progressivo nel suolo è inevitabile. Oltre ad avere alcuni riflessi negativi (inibizione del loro sviluppo) sulla flora microbica del suolo e sui lombrichi, in alcuni casi può risultare tossico anche per la stessa vite oltre al fatto di poter essere accumulato nei suoi frutti. Nella viticoltura biologica

rappresenta ancora oggi l'unico principio attivo realmente efficace contro la peronospora, al quale spesso vengono abbinati infusi o macerati di erbe spontanee o preparati biodinamici che hanno la funzione di potenziare l'effetto del rame e/o di limitarne il dosaggio. In Italia è entrato in vigore il Regolamento CE n. 473/2002 del 15 marzo 2002, il quale fissa il limite massimo di rame metallo a 6 kg/ha/anno ed un limite d'impiego complessivo che nel quinquennio non dovrà superare il limite totale di 30 kg/ha ogni 5 anni. Questa soglia nell'utilizzo ammesso del rame ha destato non poche preoccupazioni relativamente alla difesa antiperonosporica, soprattutto in aree geografiche umide e piovose durante l'estate e dove non è ammessa la coltivazione di ibridi interspecifici di vite resistenti alla peronospora. Le possibilità alternative al rame sono attualmente tutte scarsamente efficaci contro *P. viticola* (Dagostin e Pertot, 2007).

3.2 STRATEGIE DI DIFESA

P. viticola è un patogeno policiclico, che quindi può dar luogo a più cicli d'infezione durante un'unica stagione vegetativa dell'ospite. Il numero di tali cicli dipende da svariati fattori quali il verificarsi di condizioni climatiche favorevoli a infezione, colonizzazione, produzione e dispersione di inoculo neoformato, il grado di recettività della cultivar e la precocità e l'intensità con la quale si verificano le infezioni primarie (Belli, 2013). Questo ci porta a considerare la necessità di mantenere un basso livello del patogeno per tutta la stagione vegetativa del vigneto, in modo da non aumentare il potenziale infettivo della malattia tramite l'accumulo di oospore, cioè dell'inoculo svernante. Così come piogge frequenti con temperature elevate (soprattutto fine maggio e giugno) possono favorire il susseguirsi di cicli primari, anche bagnature fogliari prolungate favoriscono i cicli secondari agamici del patogeno. La difesa dalla peronospora è quindi basata sull'esecuzione di trattamenti preventivi mirati che vanno posizionati prima del verificarsi di eventi infettanti, quali consistenti piogge e prolungate bagnature, ma anche di tutte quelle pratiche utili ad impedire la creazione di ambienti di crescita/infezione favorevoli al patogeno.

3.2.1 Modelli previsionali

Negli ultimi anni, con la diffusione degli strumenti informatici e di monitoraggio ambientale, sono stati elaborati modelli previsionali accurati ed attendibili che possono

essere utilizzati quali validi supporti alle decisioni per la difesa antiperonosporica. Essendo, lo sviluppo delle infezioni strettamente legato alle condizioni meteorologiche, il costante e attento monitoraggio dei dati climatici (temperatura dell'aria, intensità e durata delle piogge, durata della bagnatura fogliare e umidità relativa) attraverso stazioni agrometeorologiche e la loro successiva elaborazione mediante modelli più o meno complessi, permette di fornire importanti indicazioni sullo sviluppo della malattia. Esistono molti modelli previsionali la cui applicazione risulta essere molto utile nell'ottimizzazione dei trattamenti, questi modelli 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 (maturazione, germinazione, dispersione delle oospore) per individuare il momento di avvio delle infezioni e la loro evasione sul tessuto vegetale. In base a questi approcci il trattamento viene eseguito solo al superamento di una determinata soglia di un indice epidemico, diverso da modello a modello. 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). Qui di seguito alcuni esempi di modelli previsionali tutt'ora utilizzati:

- Il Modello previsionale l'EPI (Etat Potentiel d'Infection o stato potenziale delle infezioni) messo appunto in Francia, cerca di ricostruire l'andamento della malattia sulla scorta del confronto tra le condizioni climatiche attuali e quelle tipiche della zona, alle quali il patogeno dovrebbe essersi progressivamente adattato (Strizyk, 1983). EPI, infatti, ritiene che per assicurarsi le maggiori probabilità di sopravvivenza, *P. viticola* si sia adattata alle condizioni climatiche che hanno la probabilità più elevata di verificarsi in una data regione. Poiché esse sono in realtà le condizioni climatiche medie della zona, è ovvio che le condizioni climatiche attuali risultano tanto più favorevoli al patogeno quanto più si avvicinano a quelle medie. La sua precisione risulta quindi tanto maggiore quanto più si è in possesso di una serie storica di dati climatici dell'area di riferimento. Il modello è uno strumento applicativo validato in diverse aree viticole italiane (Caffi et al., 2006) ed è stato oggetto di studi comparativi (Cossu et al., 2004). Il modello segue l'intero ciclo di vita dell'agente patogeno, dando priorità alle precipitazioni in autunno e inverno che colpiscono il potenziale di germinazione delle oospore svernanti. Il valore dell'indice EPI dipende dalla somma dei componenti

chiamati energia potenziale Ep ed energia cinetica Ec . La fase potenziale è utilizzata per ritardare l'inizio dei programmi fungicidi. I trattamenti sono inoltre evitati quando lo sviluppo della malattia predetto dalla fase cinetica è inferiore alla media. In EPI non ci sono condizioni necessarie e sufficienti, ma ogni avvenimento climatico viene inserito nella storia del sistema con un peso relativo e condizionato da quello che il sistema ha già vissuto. Il modello si basa su epidemie realmente accadute e sulle loro relazioni con le variabili climatiche: le eventuali discrepanze tra le evoluzioni epidemiche reali e le simulazioni fornite dal modello sono state utilizzate per formulare nuove ipotesi sul comportamento epidemico di *Plasmopara viticola* e rendere EPI più affidabile (Vercesi et. al, 2000).

- Il Modello Silimet, che segnala la presenza di infezioni primarie e secondarie. Se le piogge, calcolate in un tempo di n ore (48 ore da programma ma variabile) superano una soglia di 10 mm (variabile di programma) con temperature medie di 10 °C si avrà l'avvio dell'infezione (regola del "10-10-10", Baldacci 1947). La percentuale giornaliera di sviluppo del patogeno viene calcolata secondo la tabella di Goidànich (Goidànich et al., 1957), che considerano temperatura e umidità relativa per il calcolo dello sviluppo percentuale giornaliero dell'incubazione dell'infezione. L'evasione del patogeno si avrà al raggiungimento del 100% del suo sviluppo. Il modello fornisce un giudizio qualitativo sul grado di pericolosità dell'infezione (bassa, media, grave) che condiziona la strategia di difesa e la scelta dei principi attivi
- Il Modello PRO, modello a compartimenti che si ispira alle teorie epidemiologiche di Van der Plank (1963). *P. viticola* è un patogeno policiclico: a ogni ciclo successivo, il numero dei focolai d'infezione aumenta in modo proporzionale alla quantità d'inoculo prodotta dal tessuto infetto. L'entità del tessuto infetto presente in vigneto è data dal numero di focolai preesistenti moltiplicato per la quantità di inoculo prodotto. In PRO le infezioni primarie sono previste sulla base della regola dei tre dieci. L'operatore introduce nel modello il numero iniziale di macchie d'olio, variabili tra 50 e 150 in funzione della gravità dell'epidemia nell'anno precedente o della sua conoscenza della zona. La durata del periodo d'incubazione viene calcolata sulla base delle curve di Müller e Sleumer (1934). Al termine del periodo d'incubazione, l'operatore verifica se sono state soddisfatte le condizioni per la sporulazione: temperatura 12,5 °C, umidità relativa uguale o superiore al 94%, bagnatura fogliare durante 4 ore di buio (Blaeser,

1978). Dopo la sporulazione, se persiste la bagnatura, si ha una nuova infezione la cui gravità è determinata dalla temperatura alla quale avviene la sporulazione e dalle modalità di dispersione dell'inoculo.

3.2.2 Pratiche agronomiche

L'adozione di pratiche agronomiche adeguate non è risolutiva, data la suscettibilità della vite al patogeno, ma contribuisce comunque al contenimento dei danni e costituisce una premessa indispensabile per effettuare correttamente i trattamenti fitoiatrici (Vercesi, 2013). Limitare il più possibile la presenza delle oospore può essere effettuato eseguendo controlli e limitando la malattia anche in fase tardiva o attraverso la loro rimozione fisica che si traduce nell'eliminazione tempestiva dei tessuti fogliari. Di notevole utilità è anche l'eliminazione di vecchi impianti abbandonati che possono costituire una fonte di inoculo per i vigneti contigui, come anche l'asportazione delle femminelle dalla porzione basale dei tronchi e l'interramento delle foglie a fine stagione. La localizzazione del vigneto, la sua esposizione, l'altitudine, sono caratteristiche che influenzano notevolmente i fattori che possono favorire lo sviluppo del fungo, come anche una sua corretta gestione orientata al raggiungimento dell'equilibrio vegeto produttivo, risulta importante per il controllo della malattia. Gli impianti a fondovalle, le zone con microclima più umido, o comunque laddove si verificano frequenti ristagni idrici sono da evitare; così come il posizionamento dei filari anche l'adozione di adeguate forme di allevamento permettono un buon arieggiamento della parte area delle piante in modo da impedire il protrarsi dell'umidità, condizione ideale per la dispersione e germinazione del patogeno. La valutazione degli aspetti chimici, pedologici ed idrologici del terreno costituisce un altro valido aiuto nella prevenzione da questa crittogama. Terreni ricchi di sostanza organica e con flora batterica molto attiva nei processi di umificazione fanno sì che una accelerazione nella decomposizione delle foglie, costituenti la lettiera, sia di ostacolo ai processi di maturazione oosporici. In linea generale un corretto apporto di elementi nutritivi è uno degli aspetti fondamentali per mantenere la pianta in equilibrio vegeto-produttivo e in buono stato di salute, per esempio concimazioni azotate bilanciate evitano l'eccesso di vigoria della pianta che porterebbe ad un aumento della densità della chioma. Potature invernali e "verdi" e lavorazioni di controllo della vegetazione nell'interfilare come cimature permettono di ridurre gli strati fogliari e contenere le

dimensioni della chioma, migliorandone le condizioni microclimatiche con conseguente diminuzione degli attacchi del patogeno. Infine la corretta gestione del suolo, prevedendo l'inerbimento controllato che non è competitivo con la coltura e consente l'entrata in campo dei mezzi anche in situazioni di prolungata piovosità.

3.2.3 Resistenza varietale

Le principali malattie fungine che colpiscono la vite in Europa sono peronospora e oidio, causate rispettivamente dai patogeni *Plasmopara viticola* ed *Erysiphe necator*. Per il controllo di queste e altre malattie, la viticoltura europea, che interessa circa il 3% della superficie agricola, impiega 62.000 t/anno di fungicidi, pari al 65 % di tutti i fungicidi usati in agricoltura (EUROSTAT 2007). Questi numeri mettono in luce il livello di pressione ambientale causato dal ricorso ai mezzi chimici per la difesa delle varietà tradizionali di vite. Tutte le varietà della specie europea di vite, *Vitis vinifera*, sono infatti sensibili a peronospora. Le varietà resistenti a peronospora, prodotte con metodi convenzionali di ibridazione e senza fare ricorso a tecnologie di ingegneria genetica, derivano necessariamente da incroci in cui il donatore della resistenza è una vite di origine asiatica o nord-americana, appartenente dal punto di vista tassonomico ad una specie diversa dalla *V. vinifera*, ma interfertile con questa.

Dalla seconda metà dell'800, le specie americane *V. rupestris*, *V. riparia*, *V. cinerea*, *V. aestivalis*, *Muscadinia rotundifolia*, furono utilizzate per avviare i primi programmi di incroci interspecifici che hanno portato alla creazione di ibridi di prima generazione, noti tra la fine dell'Ottocento e l'inizio del secolo scorso. In Italia la successiva attività di reincrocio, che consisteva nell'incrociare nuovamente e ripetutamente l'ibrido con la *V. vinifera*, venne quasi subito abbandonata (Fiora e Di Gasparo, 2010). La ricerca per la costituzione di varietà di vite europea resistenti alle malattie dell'apparato aereo è risultata in qualche modo rallentata dalle esigenze della produzione vinicola. Infatti la sovrapproduzione di vino, correlata anche al suo progressivo minor consumo, ha necessariamente orientato la viticoltura a valorizzare la qualità del prodotto, soprattutto quello ad origine controllata, creando un forte legame tra vitigno e territorio. Attualmente stiamo assistendo ad un cambiamento molto importante dovuto in gran parte alla scarsa sostenibilità ambientale dei vigneti. L'unico modo per ridurre in modo sostanziale l'impiego di fungicidi è quello di utilizzare cultivar resistenti alle malattie. Per questo

motivo da alcuni anni l'UE autorizza l'iscrizione a catalogo di ibridi, o meglio di linee di introgressione, purché abbiano almeno il 95% del genoma di *V. vinifera*. Nonostante il divieto di coltivazione degli ibridi, la ricerca per ottenere varietà di vite resistenti ai parassiti non si è mai completamente fermata, soprattutto in Paesi del nord Europa come Germania, Austria, Svizzera ed Ungheria. A partire dal luglio 2013 sono iscritte nel Registro Nazionale italiano delle Varietà di Vite otto varietà di vite resistenti a peronospora e tolleranti a oidio. Tra le varietà a bacca bianca ci sono Bronner, Helios, Johanniter, e Solaris; mentre tra quelle a bacca rossa ci sono Cabernet Carbon, Caberner Cortis, Prior e Regent. Queste varietà sono state adottate dall'Italia, ma sono state tutte selezionate in Germania nella zona di Friburgo o della Renania Palatinato. Possono essere impiegate per produrre vini generici e, dal 2014, anche vini ad indicazione geografica tipica (IGT). Infatti, nel 2014 una modifica dell'articolo 8, comma 6, del decreto legislativo 8 aprile, ha esteso l'utilizzo di varietà resistenti anche per la produzione di vini ad indicazione geografica tipica (IGT). Così recita il citato comma:

”Per i vini ad IGT è consentito l'uso delle varietà in osservazione e di varietà appartenenti alla specie Vitis vinifera o da un incrocio tra la specie Vitis vinifera e altre specie del genere Vitis”.

Rimane al momento escluso l'utilizzo di queste varietà per produrre vini a denominazione di origine. Alcuni distretti amministrativi hanno colto l'occasione per mettersi al passo con gli altri Paesi, autorizzando rapidamente sul loro territorio la coltivazione di queste varietà resistenti. Queste Regioni sono Lombardia, Veneto; e le Provincie Autonome di Trentino e Alto Adige (Foria e Di Gaspero, 2010).

3.2.4 Difesa chimica

Ad ora i mezzi di lotta chimici costituiscono gli strumenti fondamentali della difesa alla peronospora, il ricorso a prodotti fitosanitari dotati di attività antiperonosporica è reso necessario, fino a questo momento, dalla poca efficacia dei mezzi di lotta alternativi e dalla collocazione dei vigneti, non solo europei, in zone dalle caratteristiche climatiche favorevoli al verificarsi di gravi epidemie (Vercesi, 2013). La difesa dalla peronospora è basata sull'esecuzione di trattamenti preventivi mirati che vanno posizionati prima del verificarsi di eventi infettanti (consistenti piogge e prolungate bagnature). Il numero di

formulati antiperonosporici in commercio è molto ampio e varie sono le modalità d'azione con cui agiscono nei confronti dell'oomicete, sulla base di queste si possono suddividere in:

- *Prodotti di copertura o contatticidi*, tramite un meccanismo multi-sito agiscono per contatto. A questa categoria appartengono, per esempio i rameici e lo zolfo, che esercitano la loro azione fungicida sulla superficie dei tessuti trattati dove formano una sorta di barriera protettiva contro i patogeni, con azione esclusivamente preventiva. Essi non stabiliscono alcun rapporto con i tessuti della pianta, semplicemente vi si depositano. La loro permanenza sulle superficie esterna degli organi vegetativi della pianta impedisce il contatto tra le spore del patogeno e l'ospite. Quindi, appare di fondamentale necessità eseguire dei trattamenti molto accurati in termini di distribuzione del prodotto, in quanto la loro incapacità di ridistribuirsi per via interna o esterna nei tessuti dell'ospite fa sì che tutte le superfici non raggiunte dal trattamento rimangono senza protezione. Questi anticrittogamici devono essere impiegati tempestivamente (cadenza di 5-7 giorni), prima che l'infezione primaria avvenga, coprendo tutti gli organi suscettibili all'attacco del patogeno (azione preventiva). Punto debole di questi formulati è quello di essere soggetti a dilavamento (30-40 mm di pioggia caduti in una o più piogge consecutive) e degradazione operata dagli agenti meteorici, che determina una riduzione della dose sui tessuti trattati. Possono essere usati da soli o con prodotti sistemici.
- *Prodotti penetranti o endoterapici*, vengono assorbiti dal vegetale e si ridistribuiscono al suo interno, localmente, nel caso dei *citotropici* e *translaminari*, ed a distanza, per quanto riguarda i *sistemici*. I fungicidi citotropici sono in grado di penetrare più o meno superficialmente negli organi della pianta senza tuttavia essere traslocati, dal sistema linfatico, in altre parti di essa, mentre i translaminari penetrano più in profondità nei tessuti fogliari fino a raggiungere e proteggere anche la parte opposta della lamina fogliare non direttamente interessata dal trattamento. I fungicidi sistemici sono assorbiti e traslocati all'interno della pianta garantendo la protezione anche della vegetazione in accrescimento. Si muovono generalmente in senso acropeto, lungo le vie xilematiche seguendo la corrente respiratoria e sono caratterizzati da una maggior persistenza di azione, una volta assorbiti dalla vegetazione non vengono più dilavati. Sono in grado di bloccare lo sviluppo del fungo durante il periodo di incubazione ed anche dopo

l'avvenuta sporulazione. A differenza dei contatticidi, i fungicidi penetranti consentono di interferire negativamente sullo sviluppo del patogeno come inibire e/o bloccare la sua sporulazione sulla superficie dell'ospite, impedire la diffusione dei suoi propaguli e di evitare il dilavamento dovuto alle precipitazioni. Sono generalmente uni- o oligosito ed esercitano la loro azione inibente su una o poche tappe del metabolismo del patogeno. Vengono di norma associati ai prodotti di copertura. Questi prodotti si impiegano in modo preventivo e mirato in funzione dell'andamento climatico e della pressione della malattia, in un ciclo di 2-3 trattamenti, fino a fine fioritura. I non sistemici vengono applicati con un intervallo di 8-10 giorni mentre per quanto riguarda i sistemici alla cadenza di 12-14 giorni. L'impiego di fungicidi monosito può accentuare il processo di selezione di ceppi resistenti con rischio di fenomeni di resistenza da parte del patogeno.

Le modalità con cui vengono effettuati i trattamenti chimici sono funzione dei periodi di maggior sensibilità della pianta verso il patogeno quali:

- inizio dell'attività vegetativa fino alla prefioritura dove è opportuno intervenire in maniera tempestiva prevedendo eventuali piogge "infettanti", attraverso l'aiuto dei modelli previsionali, con prodotti di copertura e/o citotropici;
- dalla prefioritura all'allegagione, fase caratterizzata da un'elevata crescita vegetativa e sensibilità alla peronospora, è possibile eseguire trattamenti con prodotti sistemici caratterizzati da una maggiore persistenza di azione. I quali devono essere miscelati con altri principi attivi a spettro di azione più ampio, alternandoli al fine di evitare accumuli su vegetazione/suolo e problemi dovuti all'induzione di resistenza.
- alla conclusione della fase d'allegagione e le fasi immediatamente successive dove al raggiungimento della fase fenologica di chiusura grappolo la peronospora non riesce più ad attaccare i grappoli si possono utilizzare prodotti di copertura.

Si ricorda che l'inizio della difesa antiperonosporica va eseguito in concomitanza della prima infezione, cioè, al superamento dei parametri della regola dei "10-10-10" entro 10-15 giorni anche se vi è stata assenza di precipitazioni, mentre per quanto riguarda le infezioni secondarie è necessario intervenire al conseguimento del 60-80% del periodo di incubazione, prima della comparsa della tipica efflorescenza biancastra. Soglia che viene evidenziata tramite l'utilizzo di parametri termoigrometrici provenienti da consorzi, enti provinciali e regionali.

3.3 ANTIPERONOSPORICI

Sono dei fitofarmaci che rientrano nella categoria di composti organici naturali, inorganici o di sintesi, formulati commercialmente allo scopo di combattere, prevenire e/o curare, le infezioni causate ai vegetali da *Oomiceti*. La molecola che svolge l'azione tossica nei confronti del fungo è detta sostanza attiva. Le sostanze attive, indicate in passato come "principi attivi", derivano da una sintesi mirata sia da parte dell'industria sia di alcuni laboratori pubblici. Tale processo tende a collocare in determinate posizioni del composto gruppi atomici, radicali, doppi legami, dai quali dovrebbe dipendere l'attività della molecola. Da alcuni anni la sintesi di molecole a probabile attività fungicida trae spunto da metaboliti secondari dei funghi (es. Strobilurine), batteri ed attinomiceti (Belli, 2013). Nell'ambito della difesa antiperonosporica della vite i moderni fungicidi, soprattutto di tipo endoterapico, hanno da tempo assunto un ruolo di primo piano per la loro capacità di protezione complessivamente superiore rispetto a quella propria dei tradizionali prodotti di copertura. Molti dei prodotti tutt'ora in mercato associano tutte queste proprietà in un'unica molecola. Solo i prodotti di copertura tradizionali possono ancora costituire una categoria a se, non solo per l'assenza di interazione con i tessuti vegetali ma anche per i loro meccanismi d'azione multisito che li mettono al sicuro dalla selezione di ceppi dei patogeni resistenti ad essi.

Al contrario, tutti gli altri prodotti hanno meccanismi d'azione molto specifici, che vanno ad inibire singoli processi metabolici del fungo. Occorre quindi ricordare come anticrittogamici quasi sempre monosito conducano, sempre più spesso, ad andare incontro al fenomeno della resistenza. Il fenomeno della resistenza si definisce come la perdita di efficacia di un principio attivo dopo un suo impiego intenso e prolungato a causa della selezione di ceppi del patogeno meno sensibili alla molecola. Questo fenomeno ha una base genetica e trae origine da una o più mutazioni stabili ed ereditabili. Le mutazioni genetiche vanno a modificare i sistemi enzimatici bersaglio dei vari principi attivi. I fattori che facilitano l'insorgenza delle resistenze sono: l'elevata pressione del patogeno, le caratteristiche del principio attivo impiegato, lo sfruttamento dell'azione curativa dei prodotti, una distribuzione non uniforme, il mancato rispetto dei dosaggi di applicazione, un utilizzo ininterrotto e prolungato dello stesso principio attivo (Bressan e Mutton, 2017). La disponibilità di un buon arsenale di prodotti con diverso meccanismo d'azione permette di impostare programmi di protezione dalla peronospora che facciano ricorso ad

un numero ridotto di trattamenti per stagione con ciascun gruppo chimico di antiparassitari, scegliendo il fungicida più adatto a seconda delle necessità (Leroux, 2000). La disponibilità di nuovi prodotti, pertanto, non deve determinare l'abbandono di quelli di precedente introduzione, ma rendere più facile ed ampia la scelta per l'alternanza di fungicidi con diverso meccanismo d'azione, seguendo le linee guida del FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), al fine di prevenire fenomeni di resistenza (Gullino e Faretra, 2002). Queste strategie di lotta vanno utilizzate soprattutto per quei prodotti o gruppi di prodotti ritenuti ad alto rischio di resistenza come le fenilammidi e i fungicidi QoI (Leroux, 2000; Gisi, 2002; Gisi e Sierotzki, 2008), per i quali vanno evitati interventi ripetuti al fine di non selezionare popolazioni del patogeno ad essi resistenti (Heaney et al., 2000; Gisi, 2002; Gisi e Sierotzki, 2008). Al forte impatto ambientale prodotto dai fitofarmaci di sintesi si aggiungono i problemi tossicologici e di persistenza del principio attivo sui prodotti, anche in epoca di raccolta. Questi sono i motivi principali per i quali l'Ue, e quindi anche l'Italia, ha adottato il Piano d'azione nazionale (Pan) che ha l'obiettivo di ridurre i rischi e gli impatti derivanti dall'impiego dei prodotti fitosanitari sulla salute umana, sull'ambiente e sulla biodiversità (lotta integrata). Anche se rimangono tutt'ora il mezzo di lotta più efficace per combattere la peronospora della vite. Il mercato offre una molteplicità di principi attivi, la cui scelta dovrà essere valutata caso per caso, in base alle caratteristiche della sostanza, al programma di difesa impostato e al microclima del vigneto.

3.3.1 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 al loro volta in aromatici-alifatici ed eterociclici. Ad essi si aggiungono gli analoghi delle strobilurine. Per quanto riguarda i meccanismi d'azione, soltanto i composti appartenenti al primo raggruppamento svolgono attività multisito, mentre tutti gli altri sono dotati di attività uni od oligosito (Belli, 2013). Qui di seguito ne vengono elencati alcuni esempi presenti nel mercato e autorizzati dai Disciplinari di Regione:

- *DITIOCARBAMMATI* (es. *Mancozeb*), hanno rappresentato la prima, importante, famiglia di fungicidi moderni, dotati di ampio spettro e per tale motivo affermatasi nella difesa di numerose colture da diversi patogeni. Sono dei derivati dell'acido ditiocarbammico e, a seconda dei sostituenti inseriti nella loro molecola, sono riconducibili a due gruppi: alchilderivati e alchilenderivati. In particolar modo i secondi sono quelli ad attività antiperonosporica, si ritiene che la loro attività fungicida venga esplicata attraverso la capacità di legarsi a numerosi enzimi del patogeno inibendone la respirazione. I rappresentanti di entrambe le categorie sono fungicidi di superficie, con meccanismo d'azione multisito.
- *TIOFTALIMMIDI* (es. *Folpet*), fungicidi multisito che rimangono sulla superficie della pianta, caratterizzati da un ampio spettro d'azione. Sono in grado di inattivare molti enzimi legandosi ai gruppi sulfidrilici e esercitano un'azione inibente sulla respirazione. Le limitazioni del loro impiego deriverebbero dai sospetti effetti cancerogeni e dalle interazioni negative con alcune componenti biotiche dell'ambiente (Belli, 2013).
- *FENILAMMIDI* (es. *Metaxyl-M* e *Benalaxyl-M*), sono fungicidi unisito che vengono assorbiti rapidamente (sistemici), sottraendosi all'azione dilavante delle precipitazioni. Tali composti inibiscono l'RNA polimerasi I bloccando i processi trascrizionali al livello dei ribosomi con conseguente blocco della sintesi proteica.
- *ACETAMMIDI*, l'unico formulato a base di acetammidi attualmente in commercio è Cymoxanil, viene usato esclusivamente in miscela con fungicidi penetranti o di copertura. Penetra all'interno dei tessuti entro 6 ore dall'applicazione del trattamento con azione citotropica e translaminare; svolgendo una azione endoterapica e inibendo lo sviluppo del micelio che viene attaccato dal momento della germinazione di zoospore o di conidi, sino a 3-5 giorni dopo (attività eradicante). Sembra che il fungicida interferisca negativamente con la sintesi sia di proteine sia di acidi nucleici e sia inoltre in grado di inibire la respirazione (Belli, 2013).

Menzione va fatta alle *STROBIRULINE* (es. *Azoxystrobin*) inserite nel gruppo STAR (Strobirulin Type Action and Resistance), il modello strutturale di questi anticrittogamici di sintesi deriva da un particolare metabolita secondario ad attività fungicida, la strobilurina A, prodotto da alcuni funghi agenti della carie del legno. L'attività fitoiatrica delle strobilurine, capaci di legarsi alle cere dello strato cuticolare e

quindi venire gradualmente assorbite dalla pianta, è determinata dal legame che questi composti instaurano con il sito Q_o, collocato sulla superficie esterna mitocondriale, del complesso enzimatico del citocromo bc₁. Il legame che si stabilisce tra il gruppo toxoforo (tossico) e la proteina bersaglio determina l'inibizione della respirazione e la conseguente produzione di ATP (Belli, 2013). Vengono dette anche QoI (Qo Inhibitors) STAR poiché la loro azione si esplica a livello del sito Qo₁ dell'ubichinolo.

3.3.2 Elementi e Composti inorganici a base di rame

Negli ultimi 20 anni, la tecnica più utilizzata per controllare *P. viticola* è stata attraverso l'applicazione di composti di rame, in particolare nei vigneti biologici (Speiser et al, 2000). Il rame è stato uno dei primi fungicidi scoperti e possiede delle caratteristiche che ne favoriscono ancora un ampio utilizzo. E' un fungicida multisito, di superficie, in grado di inibire la germinazione delle spore di molti funghi patogeni; è distribuito sotto forma di composti poco solubili, che sono in grado di liberare gli ioni responsabili dell'attività tossica nei confronti dei miceti. Costituisce infatti il partner ideale di molti fungicidi sistemici, poiché, grazie al suo meccanismo d'azione multisito, non ha mai sviluppato fenomeni di resistenza nelle popolazioni del patogeno (Pertot e Dagostin, 2007). I prodotti rameici possono avere anche effetti di contenimento collaterali nei confronti di altri patogeni non bersaglio: infatti 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. La liberazione dello ione Cu⁺⁺ avviene ad opera dell'anidride carbonica presente nell'atmosfera e disciolta nell'acqua piovana, non che di alcune sostanze contenute negli essudati della pianta (amminoacidi e composti ammoniacali) e delle spore fungine (trimetilammina secreta da *P. viticola*) (Belli, 2013). La velocità con la quale avviene la liberazione degli ioni e le dimensioni fisiche delle particelle distinguono le diverse forme chimiche del rame; tanto più queste sono ridotte, tanto più rapidamente avviene il rilascio degli ioni e tanto meglio essi vengono distribuiti sulla superficie della pianta trattata. Da qui penetra nella membrana semipermeabile e nella parete chitinoso dei funghi esercitando il suo effetto tossico nei confronti del micelio, dei conidi, degli sporangi e delle oospore degli oomiceti. Esso può accumularsi nelle spore fungine fino a 100 volte la sua concentrazione in soluzione (Corbett, 1984; Martelli, 1984). Un elevato accumulo di ioni rameici all'interno della

cellula del patogeno causa svariate disfunzioni: un primo e violento effetto è l'attacco e l'inibizione degli enzimi respiratori, seguito da una denaturazione aspecifica delle strutture proteiche. Segue poi il blocco del trasporto di membrana dovuto all'azione diretta sui "carrier" e loro completa alterazione, provoca anche danni irreversibili alle strutture lipidiche di membrana. La capacità del rame di legarsi agli enzimi che portano un radicale sulfidrilico determina, inoltre, alterazioni nei processi ossidoriduttivi. L'azione del catione è talmente ampia da non permettere al patogeno di sviluppare alcun tipo di difesa, questo spiega perché finora non si sono osservati fenomeni di resistenza. Questi meccanismi d'azione si traducono soprattutto in un blocco della germinazione di spore e conidi e fanno del rame un fungicida di contatto, con sola attività preventiva. Il rame non è però privo di effetti collaterali e può causare fenomeni di fitotossicità che dipendono dalle condizioni climatiche e dalle concentrazioni d'uso, dallo stadio fenologico della pianta e dalla sensibilità del vitigno su cui è usato. In modo da evitare o per lo meno ridurre l'eventuale fitotossicità, il rilascio dello ione rame dai formulati applicati sulla pianta da proteggere deve essere graduale e cadenzato in modo da assicurare anche una persistenza dell'attività fungicida. Il rame, inoltre, essendo un metallo pesante, possiede un'elevata capacità di accumularsi nel suolo. Questo metallo, che viene distribuito al suolo, a seguito di dilavamenti fogliari, non può essere metabolizzato dalla flora microbica del suolo e viene eliminato dal vigneto solo attraverso lisciviazione. Questo eccessivo accumulo di rame nel terriccio ha provocato una riduzione delle popolazioni di carabidi e lombrichi, ha provocato alterazioni enzimatiche e microbiologiche, ha abbassato il pH del suolo e ridotto la crescita della vite (Pontiroli et al. 2001). Per via di queste sue caratteristiche, l'enorme quantità di rame ad aliquote fino a 8 kg / ha / anno ha portato all'accumulo di questo metallo pesante nel terreno in molti paesi europei (Rusjan et al, 2007). L'utilizzo del rame in agricoltura biologica rappresenta ad oggi l'unica possibilità per contrastare efficacemente e a basso costo lo sviluppo della peronospora della vite. Il regolamento europeo CE 473/2002 fissa ad ora il limite massimo di rame metallo a 6 kg/ha/anno. Esistono diversi preparati contenenti il rame, solitamente formulati come sali o come complessi con altre molecole, che liberano il rame come ione Cu^{++} e migliorano l'assorbimento o l'aderenza alla pianta. Qui di seguito se ne riportano alcuni esempi:

- *POLTIGLIA BORDOLESE* ($CuSO_4/3Cu(OH)_2/3CaSO_4$), si tratta di una miscela di solfato di rame (a pH acido) e idrossido di calcio (calce, a pH alcalino); rappresenta uno dei primi rameici utilizzato dal viticoltore fin dall'inizio della lotta contro la peronospora. Deve il suo nome alla zona in cui venne scoperta per la prima volta la sua attività antiperonosporica, la regione di Bordeaux in Francia. Questa tradizionale "poltiglia" occupa tuttora un posto di primo piano nella lotta alla peronospora della vite. In passato veniva solitamente preparata all'utilizzo, miscelando solfato di rame calce ed acqua; tale tecnica è stata soppiantata dalle moderne formulazioni commerciali in polvere solubile, contenenti in genere il 20-25% di rame metallo. Nelle preparazioni della poltiglia bordolese a partire dalle due componenti separate, aumentando il solfato di rame si ottiene una poltiglia più acida, con un effetto più pronto ma meno persistente, mentre aumentando la dose di idrossido di calcio avviene il contrario, cioè una poltiglia a reazione più alcalina, dall'effetto meno pronto ma più duraturo nel tempo. La scelta tra i diversi formulati sarà dettata dal rischio d'infezione cui è sottoposta la coltura; se tale rischio è elevato, è preferibile ricorrere a formulati a pronta azione. Se al contrario il rischio è contenuto, una difesa soddisfacente può essere conseguita trattando con formulati a più lento rilascio dello ione rame (Belli, 2013). La poltiglia, ad ogni modo, non dovrebbe essere eccessivamente acida in quanto essa rende solubile il metallo, causando problemi di fitotossicità (Deer, 2001).
- *ZOLFO RAMATO o SOLFATO DI RAME*, ($CuSO_4 - 5H_2O$) è probabilmente il più importante tra i sali di rame e viene utilizzato in agricoltura come pesticida, germicida e come integratore di rame per il terreno. Il solfato di rame si impiega ancora oggi nelle formulazioni preparate presenti in commercio al 3 e al 5%. Ha un pH compreso tra 3,7 e 4,5. In commercio si trova sia in forma idrata che anidra sotto forma di cristalli blu. Se usato tal quale ha una poca persistente attività fungicida, data dalla sua scarsa aderenza e dilavabilità. Risulta estremamente fitotossico.
- *SOLFATO DI RAME TRIBASICO (TBCS)*, si ottiene per reazione chimica tra solfato di rame e ammonio idrossido, ottenendo una soluzione a pH neutro. Possiede una struttura molecolare tale da rendere facilmente disponibile parte del contenuto, mentre una seconda frazione si solubilizza più lentamente, garantendo una graduale liberazione di ioni rame, che permettono un'adeguata persistenza. Il processo produttivo consente di ottenere elevate concentrazioni di rame metallo, ma soprattutto una maggior efficienza

dello stesso aumentando l'adesività alla superficie fogliare con l'aggiunta di agenti affini agli acidi grassi presenti sulla superficie fogliare e del grappolo. Ciò consente una riduzione della quantità di rame metallo distribuita.

- *OSSIDO RAMEOSO* (Cu_2O) e *OSSIDO RAMEICO* (CuO) rientrano nel gruppo dei composti di rame con ossigeno. Caratteristica distintiva del primo composto è quella di presentarsi sotto forma di polvere amorfa, ad alto peso specifico e di colore che può variare dal giallo al rosso a seconda del metodo di preparazione e delle dimensioni delle particelle. Chimicamente non saturo, è stabile all'aria secca e si ossida gradualmente ad ossido rameico in presenza di umidità acquistando forma cristallina e colorazione nera. Si solubilizza in soluzioni di acidi minerali e nelle soluzioni di ammoniaca e dei suoi sali, mentre risulta praticamente insolubile in acqua e nei solventi organici. L'ossido rameoso è dotato di buona adesività sulla vegetazione trattata, in funzione della dimensione delle particelle di cui è composto.
- *IDROSSIDO DI RAME* [$Cu(OH)_2$], è possibile ottenerlo attraverso il trattamento a freddo di sali di rame con un idrossido alcalino. La sua forma rameica risulta essere insolubile nei solventi organici, ha colorazione verde-azzurra e possiede un alto contenuto percentuale di rame metallo (fino al 50%). Si caratterizza per una liberazione massiccia ed istantanea di ioni rameici. Possiede elevata prontezza d'azione ed una migliore ridistribuzione rispetto ad altri sali di rame quindi molto utile in trattamenti tempestivi. Tuttavia anche se risulta essere meno fitotossico di altri sali rameici allo stesso tempo possiede minor persistenza della poltiglia bordolese (Delaiti e Sandri, 2005).
- *OSSICLORURO DI RAME* [$ClCu_2(OH)_3$], si ottiene facendo reagire il rame metallo con acido cloridrico, oppure per ossidazione di una molecola di cloruro di rame. Per la difesa dalla peronospora si utilizzano principalmente due formulazioni: l'ossicloruro di rame e calcio (o triramico) e l'ossicloruro tetraramico. Il primo evidenzia una maggior prontezza d'azione contro *P. viticola* a causa della minor stabilità della molecola che più facilmente tende a liberare gli ioni Cu^{++} , mentre il secondo offre una persistenza maggiore, che più si avvicina all'effetto della poltiglia bordolese (Dagostin e Pertot, 2005). Differente risulta anche l'effetto sulla vegetazione, dove il solfato di rame e calcio offre maggior sicurezza d'impiego rispetto alla formulazione tetraramica, in

quanto in via in soluzione una minor quantità di rame totale nell'unità di tempo (Borzini, 1977).

- *PEPTIDATO DI RAME*, costituito da proteine e rame in quantità pari al 5%, la particolare formulazione di questi prodotti (rame chelato ad amminoacidi e peptidi) rende il metallo in grado di entrare nelle cellule, tramite meccanismi di trasporto (enzimatici e proteici), come molecola organica e consentirne un accumulo maggiore all'interno delle cellule vegetali. Avendo quindi un assorbimento maggiore del principio attivo, si potranno formulare dei preparati con percentuali minori di rame, diminuendo così la tossicità e l'impatto negativo sull'ambiente. Tuttavia, la loro rapida penetrazione e l'elevata affinità possono aumentare il rischio di fitotossicità (Maini, 2002; Maini et al., 2003). In effetti, nelle formulazioni di peptidati di rame, il principio attivo (rame), non è più assorbito nella sua forma cationica (Cu^{++}) ma da un transito passivo attraverso la membrana cellulare, tipica per molecole organiche, e definito come "smuggling effect" (Ashmead, 1986). La fitotossicità è alta nel caso di stagioni di crescita fredde e piovose soprattutto durante le prime fasi di sviluppo della vite quando vengono utilizzate dosi elevate su cultivar sensibili come Moscato, Merlot, Vermentino e Chardonnay (Maini et al., 2003). Pare quindi necessario, nonostante i risultati promettenti dimostrati, un utilizzo accorto di questo prodotto antiperonosporico.
- *GLUCONATO DI RAME* $[(\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{COO})_2 - (8\% \text{Cu}^{2+})$, si tratta di una nuova formulazione, ancora in via di sperimentazione, in cui il rame è presente in una percentuale massima dell'8%. Per il momento è commercializzato come fertilizzante fogliare, ma la sua efficacia contro la peronospora è paragonabile a quella dell'idrossido, con il vantaggio di rilasciare nell'ambiente una quantità di rame ancora più bassa. L'ipotesi è che il rame, apportato per via fogliare, grazie alla particolare formulazione sia successivamente parzialmente trasportato all'interno dei tessuti fogliari. Al classico meccanismo d'azione del rame è quindi possibile che si possa aggiungere un'azione anche a livello di alcuni sistemi enzimatici e della fotosintesi, con conseguente aumento della resistenza della pianta verso i patogeni. Il gluconato di rame non ha evidenziato danni di fitotossicità né su foglia né su grappolo (Dagostin e Pertot, 2007).
- *TALLATO DI RAME*, è un preparato che si ottiene dalla combinazione di resine e acidi grassi, derivati dal legno di pino con idrossido di rame. L'olio di pino consente di

aumentare l'efficacia del rame, anche a basse quantità di quest'ultimo, conferendo al preparato un'adesività elevata ed una permanenza maggiore sulla pianta. 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).

- *ALGINCARBOSSILATO DI RAME*, formulato contenente il 5% di rame, sottoforma di algincarbossilato. Gli alginati sono lunghe catene a base di acido mannuronico e glucuronico che formano molecole complesse di consistenza mucillaginosa. Sono sostanze fortemente lipofile, in grado di legarsi alle cere presenti sulla foglia e soprattutto sul grappolo preservando parzialmente il rame dal dilavamento. Esse consentirebbero pertanto una miglior adesività del prodotto agli organi della vite, massimizzando l'effetto biocida del rame.

3.3.3 Composti naturali alternativi e non contenenti rame

Il rame continua a rappresentare un valido mezzo di contenimento della peronospora ed attualmente la difesa biologica nei confronti della peronospora si basa quasi esclusivamente sull'uso di fungicidi a base di rame. D'altra parte il suo uso a lungo termine ha reso chiara la sua effettiva attività fitotossica nei confronti sia della sfera biotica che di quella abiotica nell'ambiente di vigneto. Questo fenomeno è di conseguenza incompatibile con i principi su cui si basa l'agricoltura biologica. Al fine di ridurre i danni causati dall'uso di composti a base di rame, l'Unione Europea ha posto il limite massimo di 6 kg/ha annui di rame metallo fissati nel Reg CE 889/2008, limitandone notevolmente l'impiego. Pertanto, lo sviluppo e l'ottimizzazione di strategie alternative per ridurre l'uso e allo stesso tempo ridurre il danno causato da *P. viticola* nei confronti della vite sono diventate una necessità. In risposta a questa tendenza, sono state sviluppate diverse tecniche incluso l'uso di biostimolanti, prodotti omeopatici, prodotti a base di argilla acida, induttori di resistenza, estratti vegetali (estratto di arancia, propoli ed equisetolo) e bicarbonato di potassio, applicati da soli o alternativamente con formulazione a base di rame. L'assorbimento da parte della pianta, di tali prodotti, determina un rafforzamento dei tessuti vegetali così da resistere agli attacchi fungini ma permette anche di stimolare la produzione di sostanze antibiotiche, al fine di aumentare le difese chimiche endogene del vegetale. Le sostanze d'origine naturale, tuttavia, non hanno un'attività comparabile con

quella dei derivati cuprici e alcuni prodotti possono essere utili, ma solo con pressioni della malattia molto basse e con una precisa tempistica (Pertot, 2007). Vari estratti vegetali, sali minerali semplici o complessi come fosfiti e fosfonati, e microrganismi testati per la difesa sono ammessi dalla normativa come fertilizzanti, ma non registrati come fitofarmaci; ne sono un esempio prodotti quali il silicato di sodio, il bicarbonato di sodio e di potassio, la terra diatomacea, l'acido salicilico e la polvere di pietra, che vengono usati come fitostimolanti protettivi, potenziatori delle difese naturali delle piante, in quanto non ritenuti prodotti fitosanitari e non soggetti a registrazione in base alla direttiva 414/CEE/91 (Donnarumma et al., 1999). Questo consente loro di sfuggire alla normativa ben più rigida che disciplina i fitofarmaci come i dossier di valutazione dei rischi; un percorso troppo costoso e impegnativo per la maggior parte di questi prodotti, che hanno un mercato ridotto e sono spesso elaborati da aziende medio-piccole. Quindi su un piano legale l'utilizzo di questi prodotti a fini di difesa non è previsto, ed è vietata ogni informazione di questa natura sulle etichette dei prodotti e nella comunicazione, salvo una generica indicazione sulla capacità di rafforzare le difese della pianta, prevista nella categoria "corroboranti". Di seguito se ne elencano alcuni tipi, facendo riferimento anche alle modalità d'azione antiperonosporiche tali da renderli interessanti a fini della ricerca :

- *SILICATO DI SODIO*, il silicio, con il 26%, è il secondo elemento in ordine di abbondanza nella crosta terrestre e nel terreno si trova generalmente in quantità compresa tra 30 e 40 mg/l (Epstein, 1994). I silicati si ottengono dalla fusione di SiO₂ (sabbia) e carbonato di sodio (Na₂CO₃). L'attività del silicato di sodio è dovuta alle parti solubili del silicio. Il meccanismo d'azione non è ancora completamente chiaro, ma sembra che esso agisca in modo duplice. A livello fogliare esplica un'azione meccanica mediante formazione di una pellicola inorganica dura, in grado di ostacolare l'attività dei parassiti (un inconveniente risiede però nel fatto che limita altresì la traspirazione fogliare). Tramite un meccanismo di traslocazione invece il silicato è in grado di agire in maniera fisiologica, interferendo con i normali processi vitali della pianta. I silicati sono compatibili con l'agricoltura biologica in quanto il silicio viene continuamente rimosso dal terreno attraverso l'assorbimento da parte dei vegetali, e tramite la lisciviazione, perciò la pianta sembra trarre vantaggi dall'apporto di silicio, tra cui una maggior crescita ed un'aumentata resistenza oltre che nei confronti dei

patogeni, anche rispetto a situazioni ambientali critiche quali l'aridità del terreno. Le condizioni per l'uso devono prevedere un'utilizzazione massima pari al 2% in volume, diluito in acqua, di prodotto commerciale con una concentrazione del 30% di principio attivo. L'efficacia nei confronti della peronospora però è del tutto insoddisfacente (Pertot e Dagostin, 2007).

- *BICARBONATO DI POTASSIO e SODIO*, l'utilizzo dei bicarbonati in viticoltura è già prassi affermata per la difesa dalle malattie fungine. Di recente, il Ministero italiano della Salute ha autorizzato l'impiego, come fungicidi, di due prodotti a base di idrogenocarbonato di potassio (bicarbonato di potassio). Dal mese di gennaio 2018, la sostanza attiva idrogenocarbonato di sodio (bicarbonato di sodio) è stata inserita nell'elenco delle "sostanze di base" e ciò dovrebbe preludere, in un prossimo futuro, ad una autorizzazione all'uso. Il bicarbonato di sodio è un prodotto commerciale, poco costoso e poco tossico, ma deve essere applicato alla pianta con l'aggiunta di un bagnante o di un detergente in modo da spargerlo uniformemente. Attualmente il bicarbonato di sodio viene impiegato, in Italia, come "corroborante". Il bicarbonato di potassio è una sostanza naturale ottenibile dall'idrossido di potassio, non tossica, in grado di controllare alcuni funghi. L'azione del bicarbonato di potassio, essenzialmente preventiva, sembra dovuta al danneggiamento della membrana delle cellule nelle spore e allo spostamento del pH della linfa a un valore di 6,4 incompatibile con la vita dei funghi. Nonostante il bicarbonato di potassio sia attivo nei confronti dell'oidio, l'efficacia nei confronti della peronospora è marginale.
- *PEROSSIDO DI IDROGENO*, il perossido d'idrogeno (H_2O_2) o più comunemente chiamata acqua ossigenata, viene menzionato come agente preventivo contro la peronospora. Esso possiede un'elevata biodegradabilità, poca fitotossicità ed è in grado di uccidere le spore dei funghi con un meccanismo di contatto, ma ha una persistenza limitatissima.
- *PERMANGANATO DI POTASSIO*, è il più comune tra i sali di manganese. La sua attività fungicida e battericida si esplica tramite ossidazione della materia organica e conseguente sua degradazione. Tale meccanismo impedisce di fatto fenomeni di resistenza. Il permanganato di potassio inoltre, dona un apporto in potassio che migliora la crescita della pianta. L'aggiunta di agenti umettanti, quali l'essenza di pino, ne migliora l'efficacia. E' un prodotto a bassa tossicità per l'uomo, il suo utilizzo

comporta rischi di residui per via del prodotto di ossidazione (ossido di manganese insolubile in acqua) che risulta essere inerte e non assorbibile dalle piante. Presenta una fitotossicità piuttosto elevata, perciò si consiglia di non superare la concentrazione di 300 g/hl sulla vegetazione, dato che anche a bassa concentrazione possono rendersi evidenti gli effetti sul frutto. Il permanganato di potassio è compatibile con zolfo, ossido di rame, ma non con microrganismi e concimi fogliari.

- *ACIDO SALICILICO (SA)*, è un ormone vegetale implicato nel coordinamento della resistenza alle malattie delle piante e induce la produzione delle proteine PR nella vite (Elmer e Reglinski, 2006). L'acido salicilico è presente nelle piante in piccole quantità. Originariamente era proprio dalla corteccia del salice che l'acido salicilico veniva estratto per ottenere l'acido acetilsalicilico, meglio conosciuto come aspirina. Vari esperimenti hanno riferito che, in condizioni controllate, l'SA ha ridotto l'incidenza di peronospora sulle foglie (Tamm et al. 2011). Una piccola riduzione della gravità della peronospora (max. 50%) è stata osservata negli studi su campo con 0,2% di SA (Kast, 2000) ma, come riportato da Elmer e Reglinski (2006), una concentrazione superiore a 2 mM può causare fitotossicità, quindi sollevare problemi per il suo uso pratico. Un analogo fotostabile dell'acido salicilico è il benzothiadiazolo (BTH), o acibenzolar-S-metile, disponibile in commercio come induttore di resistenza, non registrato su vite, mentre è risultato efficace su tabacco per la protezione antiperonosporica e su vite per il controllo del Legno nero (Romanazzi et al., 2013).
- *FOSFITI e FOSFONATI*, gli ingredienti attivi dei composti di sali di fosforo sono il potassio diidrogenofosfato (fosfonato monopotassico, KN_2PO_3) e il dipotassio fosfato (fosfito di potassio, K_2HPO_3). Sono entrambi sali dell'acido fosforico o fosforoso che in acqua si ionizza formando ioni idrogeno positivi H^+ e anioni diidrogeno fosfato negativi H_2PO_3^- . Essi sono particolarmente attivi nei confronti degli oomiceti, grazie ad un doppio effetto: un'azione tossica diretta nei confronti del patogeno e l'attivazione della resistenza della pianta. Sembra che il meccanismo d'azione dei prodotti a base di questi sali sia diretto sul metabolismo aminoacidico, sulla composizione proteica, sulla riduzione del pool nucleotidico, e indiretto con lo stimolo alla produzione di sostanze di difesa nella pianta ospite (DuPont, 2000). Il principio attivo viene assorbito rapidamente dai tessuti vegetali con un trasporto diretto soprattutto in senso acropeto verso gli organi in attiva crescita della vite, e quindi con i noti vantaggi di tutti prodotti

sistemici (il prodotto non viene dilavato da eventuali piogge, protegge la nuova vegetazione, ecc.). Il fosfito è molto attivo nelle piante, in quanto leggermente instabile e tende a reagire e ad avere degli effetti relativamente immediati. La molecola è totalmente idrosolubile ed è facilmente assorbita dalle piante sia attraverso le radici che le foglie. Mentre i tradizionali fertilizzanti fosfatici ($-\text{PO}_4$ da acido fosforico), devono essere applicati in grandi quantità per avere risultati significativi, poiché solo una piccola quantità di fosforo è disponibile per le piante, i fosfiti ($-\text{PO}_3$ da acido fosforoso) possiedono elevatissime proprietà nutrizionali e collateralmente di protezione delle colture. I fosfiti, oltre all'azione nutritiva, possiedono un'azione stimolante sulla vegetazione, stimolano cioè le auto difese della pianta (Resistenza Indotta Sistemica - RIS). I meccanismi endogeni di auto-difesa hanno luogo nelle piante quando sono soggette ad attacchi da patogeni che tendono a compromettere il loro stato di salute. Tali attacchi innescano, per reazione, l'emissione di sostanze atte ad aumentare l'auto-difesa e a potenziare il sistema immunitario endogeno, tramite la sintesi e la traslocazione di fitoalessine. Numerose prove hanno riscontrato un'ottima attività fungicida svolta dai fosfiti, principalmente antiperonosporica su vite. Più in particolare l'azione si concretizza nella devitalizzazione e distruzione delle spore e delle cellule costituenti gli organi di riproduzione del fungo. Per la loro azione translaminare, la loro elevata capacità di essere assorbiti e la loro conseguente efficace attività inibitoria sono considerati degli ottimi fungicidi. Presentano bassa tossicità, basso costo e, se il prodotto è usato in maniera corretta, non si nota un accumulo rilevante nell'ambiente. Essi inoltre si degradano facilmente, sia nel terreno che in acqua, in ioni idrogeno e ioni fosforo.

Induttori di resistenza

A seguito dell'interazione con il fungo, la pianta produce particolari molecole mediatrici chiamate elicitori, che innescano una serie di segnali molecolari nelle cellule in grado di attivare la trascrizione dei geni di difesa; sono un esempio, la produzione di proteine ed enzimi specifici, quali chitinasi e glucanasi (Brökärt et al. 2004, Renault et al. 2006) ma anche una serie di metaboliti come l'acido benzoico, acido salicilico (SA), acido jasmonico (JA), etilene (ET), fenoli che portano all'attivazione dei meccanismi di difesa nel sito d'inoculo del patogeno (ipersensibilità) e altresì inducono una risposta di

resistenza sistemica (resistenza sistemica acquisita SAR, oppure resistenza sistemica indotta ISR) (Bugiani, 2006). Queste sono in grado di attaccare le pareti del fungo, o di essere a loro volta mediatori (elicitors) nella produzione di fitoalessine, prodotti a basso peso molecolare e molto mobili, veri e propri antibiotici naturali. Un altro tipo di elicitori può derivare da segnali molecolari prodotti dal patogeno che sono riconosciuti dalla pianta e stimolano una risposta di difesa. Vari tipi di molecole possono agire da elicitori, inclusi gli oligosaccaridi, le proteine, le glicoproteine, i lipidi e i glicolipidi (Boller, 1995; Côté, Ham, Hahn e Bergmann, 1998; Varnier et al., 2009). Questi agenti, oltre ad esercitare un'azione diretta nei confronti di alcuni patogeni, promuovono una reazione endogena di difesa nella pianta. In alcuni casi le piante producono fitoalessine o particolari proteine (PRP -Pathogenesis related proteins) che hanno azione antimicrobica e quindi inibiscono lo sviluppo del patogeno all'interno della pianta (van Loon 1985). Diversamente, possono essere prodotte sostanze in grado di segnalare il pericolo di infezione, e si parla di Resistenza Sistemica Acquisita (SAR, Ryals et al. 1994). L'induzione di resistenza generalmente si attua a livello sistemico (systemic acquired resistance, SAR), in quanto i meccanismi di difesa della pianta non vengono potenziati solo nelle prime parti colpite dal patogeno, ma anche in altri tessuti lontani dal luogo dell'infezione. Tuttavia, esiste un secondo tipo di induzione di resistenza che avviene localmente per cui solo alcuni tessuti divengono più resistenti in seguito a infezione (localized acquired resistance, LAR). I meccanismi SAR e LAR sono comunque simili e sono in grado di difendere la pianta da numerosi tipi di patogeni (Kothari e Patel, 2004). Alcune reazioni possono essere scatenate in appena pochi secondi, per altre occorre almeno qualche ora prima che si mettano in moto, per altre ancora addirittura settimane. Molte volte il meccanismo di resistenza viene messo in atto con una tempistica troppo lenta rispetto all'evoluzione della malattia, per cui il processo infettivo riesce ad avere il sopravvento. Alcuni fattori, come il ciclo vegetativo, le condizioni climatiche, gli stress abiotici e la pressione dell'infezione possono alterare l'induzione della resistenza nella pianta riducendo quindi l'efficacia degli induttori di resistenza (Delaunoy et al. 2014). Sono prodotti definiti ad impatto zero cioè non risultano dannosi per la salute dell'uomo, non lasciano residui tossici nel terreno e nella pianta e non influenzano la flora microbica e l'entomofauna utile alla difesa ecosostenibile della vite. Le sostanze in via di

sperimentazione che stanno dando comunque dei buoni risultati contro la lotta alla peronospora vengono di seguito elencate:

- *CHITOSANO*, è un polisaccaride lineare composto da D-glucosamina e N-acetil-D-glucosammina, unite mediante dei legami $\beta(1-4)$ glicosidici. Normalmente isolato tramite deacetilazione dall'esoscheletro (guscio) dei crostacei, come aragoste, granchi e gamberi, esso è presente anche negli insetti e in alcuni altri organismi quali funghi, alghe e lieviti. Questo, biodegradabile e non tossico, polimero è in grado di formare barriere fisiche (film semipermeabile) attorno ai siti di penetrazione di agenti patogeni (Romanazzi et al., 2009) impedendo di conseguenza una loro eventuale diffusione ai tessuti sani contigui. Il chitosano possiede inoltre elevate attività elicitorie che possono portare ad un'ampia varietà di risposte di difesa alle infezioni microbiche in piante ospiti. Essendo chimicamente molto simile a costituenti fungini simula la presenza di patogeni sulla pianta, inducendo la sintesi delle fitoalessine nelle cellule vegetali, con formazione di lignina e produzione di inibitori delle proteasi (Amborambé et al., 2008). L'attività di questi elicitori esogeni è dovuta alla sua struttura policationica (Hawiger et al., 1994) e il suo recettore risulta essere una 78 kDa binding protein (Chen and Xu, 2005). Faoro et al. (2007) hanno mostrato come l'attività del chitosano possa essere attribuita al perossido di idrogeno (H_2O_2) che si accumula nei tessuti trattati inducendo una reazione ipersensibile come conseguenza del microburst ossidativo e della deposizione di composti fenolici. Howe (2005) ha indicato inoltre come questa sostanza sia in grado di attivare la sintesi dell'acido jasmonico nell'ospite trattato e Azizi et al. (2006) hanno riferito come oligomeri del chitosano di diverso peso molecolare e grado di acetilazione, inducano un accumulo di fitoalessine, *trans*- e *cis*-resveratrolo ed i loro derivati ϵ -viniferina e piceide, nelle foglie di vite riducendo infezioni ad opera di *B. cinerea* e *P. viticola*. Data la sua naturale presenza e la sua bassa tossicità non sono stati rilevati problemi di fitotossicità ed è quindi possibile escludere rischi per l'uomo e animali derivanti da un suo uso che rispetti le indicazioni di etichetta. Preparato in polvere solubile in acqua è difficilmente miscibile con zolfo (Pertot, 2007). Tale prodotto, di cui sono ormai disponibili diversi formulati commerciali, registrati come potenziatori delle difese della pianta e attivi anche contro la muffa grigia della vite (Romanazzi et al., 2009; Feliziani et al., 2013), a seguito di

ulteriori indagini su larga scala potrebbe essere considerato come alternativa al rame per una buona protezione del vigneto e una contemporanea riduzione degli apporti cuprici. Il chitosano cloridrato è un formulato che è stato attualmente inserito nell'elenco delle sostanze di base da utilizzare come stimolatore delle difese delle piante (ai sensi del reg.1107/2009).

- *LAMINARINA*, circa il 35% dell'estratto secco dell'alga bruna *Laminaria digitata* è costituito dalla laminarina, un β -glucano, formato da 3 molecole di glucosio, utilizzato dall'alga come polisaccaride di riserva (Vera et al. 2011), possiede una struttura simile ai prodotti di degradazione delle pareti di funghi patogeni (oligo-glucani). Questo composto è coinvolto nell'induzione di geni che codificano con varie proteine con proprietà antimicrobiche correlate alla patogenesi (Khan et al., 2009). In seguito a solfatazione chimica, la molecola induce la resistenza tramite la mediazione dell'acido salicilico (Menard et al. 2004). Attraverso la sua sollecitazione di reazioni difensive della pianta, la laminarina può anche ridurre lo sviluppo di molti agenti patogeni fungini, tra cui *P. viticola* (Aziz et al., 2003), abbattendo in tal modo la loro soglia di nocività. Somministrata da sola ha prodotto una protezione antiperonosporica insufficiente, mentre in associazione ad estratti microbici e quando alternata ad idrossido di rame ha significativamente controllato la malattia (Romanazzi et al., 2016; Mancini et al., 2018).
- *ACIDO AMINOBUTIRRICO (BABA)*, è un isomero dell'acido amminobutirrico e un amminoacido non proteico sintetizzato dalle piante; funge da induttore di resistenza nel meccanismo di resistenza indotta-BABA (BABA-IR) (Jakab et al., 2001). Cohen et al.(1999) hanno riportato una buona attività di BABA contro la peronospora su dischi di foglie di vite, con sporulazione ridotta dell'85–94%. La valutazione sul campo è stata condotta su foglie di vite di cv Chardonnay e Cabernet Sauvignon; queste cultivar erano effettivamente protette contro peronospora quando sono stati utilizzati BABA o una miscela di BABA e diversi fungicidi (Reuveni et al., 2001). Hamiduzzaman et al. (2005) hanno indicato come la protezione contro la peronospora indotta da BABA avvenga grazie alla deposizione di callosio e ad un potenziamento dell'espressione genica di proteine PRP (Pathogenesis Related Proteins). Si è anche osservato che nelle foglie di vite trattate con BABA, vi era una maggiore produzione di ROS (Radical Oxygen Species), specie reattive dell'ossigeno,

come H₂O₂ e O₂, altamente tossiche per il fungo e attivatrici di risposte di difesa della pianta (Dubreuil-Maurizi et al. (2010).

- *ACIDO JASMONICO*, è un ormone vegetale che insieme al suo derivato, il jasmonato di metile, sono coinvolti nella regolazione di numerosi processi vegetali (Avanci et al., 2010). Questi fitormoni interessano i meccanismi d'attivazione delle risposte di difesa delle piante, come l'eccitazione di diversi geni legati alla difesa, l'accumulo di Proteine PR, deposizione di callosio, morte cellulare simile alla risposta ipersensibile e biosintesi di fitoalessine stilbeniche (Repka et al., 2004, 2013; Vezzulli et al., 2007; Faurie et al., 2009).

Estratti vegetali

Le piante sono sempre state fonte di sostanze biologicamente attive utilizzate specialmente a scopo medico, ma estratti vegetali (oggi spesso detti botanicals) sono anche stati impiegati per la protezione delle piante. Questi hanno spesso attività antimicrobica ma è ben noto che possono indurre meccanismi di difesa nelle piante. Nell'ultimo periodo si è infatti osservato un crescente interesse verso sostanze di origine vegetale (macerati, decotti, estratti acquosi, oli essenziali, ecc.) di cui sono note da tempo le proprietà antibatteriche, antifungine e insetticide (Brunelli et al., 1990; Franzios et al., 1997; Abou-Jawdah et al., 2002) e che potrebbero costituire un valido aiuto ai mezzi attualmente impiegati per la difesa antifungina sia in agricoltura biologica che integrata. Il meccanismo di azione di questi prodotti non è ancora del tutto chiaro: fonti bibliografiche su organismi fungini evidenziano alterazioni morfologiche nelle ife come restringimenti, variazioni nelle dimensioni, formazioni di vescicole (Fiori et al., 2000; Mine Soylu et al., 2006) mentre in cellule batteriche trattate con estratto di pompelmo è stata osservata l'alterazione delle membrane e il rilascio del contenuto citoplasmatico in 15 minuti (Cvetnic e Knezevic, 2004). E' stato dimostrato inoltre che l'elevata attività antifungina dei composti fenolici causa seri danni alle pareti cellulari, membrane e agli organelli cellulari come i mitocondri dei funghi (Rasooli e Owlia, 2005). Le frazioni idrofobiche degli oli essenziali (composti fenolici), sarebbero infatti in grado di dissolvere la parte idrofobica delle membrane citoplasmatiche, disintegrare la membrana esterna e aumentare la permeabilità delle membrane citoplasmatiche all'adenosin trifosfato ATP di cellule del patogeno portandolo in fine alla morte (Helander et al., 1998; Ultee et al., 1999), oltre a proteggere dagli

attacchi fungini tramite un'azione idrorepellente che rende difficile l'apporto d'acqua al fungo e di conseguenza la sua crescita (Quarles, 2004). Gli estratti vegetali: in particolare *Quillaja saponaria*, *Salvia officinalis*, *Potentilla erecta*, aloe vera, macerato di alghe brune (*Ascophyllum nodosum*), estratto di propoli e glutazione hanno la capacità, se abbinati ad altre formulazioni, di rendere il preparato ricco di saponine triterpeniche, peptidi, acido salicilico, oligosaccarine, composti lipidici, acido abscissico e idrochinoni in grado di stimolare la produzione di fitoalessine all'interno della pianta e velocizzare la secrezione di acido salicilico e jasmonico, noti per la loro importante azione antimicrobica. La loro singola applicazione infatti è sconsigliata, in quanto si è visto come non forniscano garanzie di successo, soprattutto in presenza di elevate pressioni infettive del patogeno in esame. Qui di seguito si riportano alcuni esempi:

- *OLIO DI NEEM*, viene estratto dalla specie arborea *Azadirachta indica* presente in India, America, Sudafrica, Medio Oriente e Australia. Tale essenza possiede principi attivi, i limonoidi, molto interessanti per la patologia vegetale. Fra questi in particolare l'azadiractina, sembra essere il componente più attivo. Esso ha una spiccata attività insetticida, ma sembra avere anche una particolare azione fungicida in grado di combattere alcune crittogame tra cui la peronospora o la botrite. Il suo meccanismo d'azione fungicida sembra essere dovuto al suo contenuto in derivati di zolfo. Da sempre considerato non dannoso per l'entomofauna utile, pare ultimamente causare alcuni problemi per le api. Tale aspetto è ancora in corso di verifiche.
- *EQUISETO*, la pianta da cui viene estratto questo prodotto (*Equisetum arvense*) è una delle poche piante che necessitano di quantità molto elevate di silicio per la loro sopravvivenza. Questo fa sì che i suoi estratti siano ricchi in questo minerale (15-40%). Essa contiene inoltre elementi quali magnesio, selenio, calcio, ferro, manganese, fosforo, potassio, alluminio, zinco, cromo e cobalto. La sua azione fungicida è dovuta principalmente al silicio, che sembra agire in modo duplice: esplica un'azione meccanica a livello fogliare tramite la formazione di una pellicola inorganica dura ostacolando l'attività dei parassiti e il suo uso come fungicida consente inoltre un apporto di silicio da cui la pianta trae vantaggi traducibili in un aumento della crescita e un aumento della resistenza nei confronti, non solo di funghi e patogeni, ma anche di situazioni ambientali critiche quali l'aridità del terreno. Esso può essere utilizzato come

tale oppure in miscela con fungicidi a base di rame, zolfo o con prodotti a base di ortica.

- *INULA VISCOSA*, è un'erba perenne, originaria del bacino del Mediterraneo. Gli estratti acquosi di *I. viscosa* hanno dimostrato di esibire attività antifungina in vitro, mentre estratti eseguiti mediante l'uso di solventi organici hanno mostrato di essere antibatterici. In particolare, estratti a base di solventi organici tra cui metanolo, etanolo, etilacetato, acetone, cloroformio e n-esano hanno fornito prove della sua attività antimitotica sulle piante (Cohen et al, 2004), mentre recenti studi hanno dimostrato che gli estratti di foglie di *I. viscosa* sono altamente efficaci nel controllo della peronospora della vite, causata da *Plasmopara viticola*. L'attività fungicida sembra essere dovuta alla presenza di sette terpeni, di cui la maggior parte a carattere lipofilo. Se spruzzati sulla superficie fogliare questi estratti controllano efficacemente l'attacco di peronospora sulla vite, fino ad una percentuale del 90%, se l'estrazione viene eseguita con acetone ed esano (Cohen et al., 2003). Gli estratti acquosi hanno dimostrato meno attività rispetto a quelli fatti con solventi organici, poiché le molecole attive sono, come detto prima, di origine lipofila e vengono veicolate meglio in solventi quali acetone, metanolo, etanolo.
- *ASCOPHYLLUM NODOSUM*, è un'alga bruna capace di resistere a intemperie e condizioni ambientali estreme, appartenente alla Famiglia delle Fucaceae, prolifera sulle coste nord Atlantiche della Norvegia e del Canada. Esperimenti condotti sia in laboratorio che in serra hanno riportato un effetto positivo degli estratti di questa alga bruna contro *P. viticola*, agendo come induttori di resistenza sulle foglie di vite (Lizzi et al. 1998). Fra gli effetti dimostrati vi è l'aumento dell'attività dell'enzima di difesa β -1,3 glucanasi, con proprietà antifungine mentre formulazioni di estratto d'alga e cloruro d'alluminio su foglie di vite inducono accumuli di resveratrolo.
- *MELALEUCA ALTERNIFOLIA*, o comunemente noto come albero del tè. L'attività antifungina dei suoi componenti è stata studiata da Hammer et al. (2003). L'efficacia di alcuni estratti dell'albero del tè contro la peronospora in condizioni controllate è stata ridotta nelle applicazioni in vigna (Dagostin et al., 2011). La Torre et al. (2014) hanno osservato un effetto positivo di un prodotto contenente il 23,8% di olio dell'albero del tè contro la peronospora, ma con efficacia inferiore a quello di un prodotto rameico di riferimento in una prova su campo. L'estratto di *M. alternifolia* è anche riportato

nell'elenco FRAC (2015) sotto il codice F7 (sintesi lipidica e integrità di membrana - proposta di rottura della membrana cellulare).

- *FRANGULA ALNUS*, è una pianta arborea, appartenente alla famiglia delle Ramnacee, originaria dell'Europa e dell'Asia. L'estratto della sua corteccia risulta essere tossico per l'agente patogeno *P. viticola* ed è in grado di indurre reazioni di difesa in cultivar sensibile di *V. vinifera*, tra cui l'accumulo di fitoalessina stilbenica, una maggiore attività della perossidasi e una reazione ipersensibile. È stata inoltre osservata l'inibizione del primo stadio di sviluppo biotrofico ifale di *P. Viticola* da parte di questo estratto vegetale. Mediante l'analisi HPLC-DAD-MS è stato possibile osservare come questo estratto naturale contenga molti composti fenolici appartenenti alla famiglia degli antrachinoni, come i rhein (acido cassic), la frangulina A, l'emodina, l'aloë-emodina, il crisofanolo. L'emodina da sola è in grado di danneggiare lo sviluppo di *P. viticola* e di stimolare la viniferina e l'accumulo di pterostilbene. Stesse abilità fungicida sono state osservate nell'estratto di radici di *RHEUM PALMATUM*, il rabarbaro cinese (Godard et al. 2009).
- *PROPOLI*, deriva dall'elaborazione da parte delle api, di sostanze di natura resinosa, gommosa e cerosa presenti nei tessuti vegetali di numerose piante arboree. Contiene composti di natura fenolica (flavoni, flavonoidi e flavononi) che manifestano proprietà fitostimolanti, favoriscono l'autodifesa della pianta e potenziano l'azione di alcuni antiparassitari. Spesso è associata allo zolfo o ai sali di rame, dei quali potenzia l'azione e ne permette un uso in concentrazioni limitate (Donnaruma et al., 1999). Da secoli è nota in medicina per le sue proprietà antivirale, battericida e fungicida, in ambito agrario però l'efficacia è estremamente limitata.
- *ESTRATTO DI ARANCIA*, gli estratti di olii essenziali di arancio dolce, ottenuti con un particolare processo industriale di spremitura a freddo, hanno mostrato risultati interessanti proprio nella lotta all'oidio e alla peronospora della vite. Possiedono infatti una modalità d'azione che si esplica nel disseccamento per contatto diretto degli sporangi e zoospore, riducendo di conseguenza il potenziale di inoculo nel vigneto.

Menzione va fatta all'attività antifungina dell'estratto alcolico di *Salvia officinalis* (salvia) contro *P. viticola*, osservata su piante di vite in vaso. L'estratto ha dato un controllo efficace sulle piante in vaso ma nelle prove su campo la sua efficacia è stata inferiore, poiché la sua persistenza è stata ridotta dalle precipitazioni (Dagostin et al. 2010). In uno

studio su larga scala, è stato studiato anche l'uso dell'estratto di *Yucca schidigera* contro la peronospora, con risultati che sembrerebbero promettere bene e che meriterebbero ulteriore sviluppo (Dagostin et al. 2011).

Estratti microbici

È disponibile una formulazione commerciale contenente estratti di *Saccharomyces cerevisiae* con il nome di K&A Oomisine® per stimolare il controllo naturale di *P. viticola* su vite. Questo nuovo prodotto, composto da estratto inerte ottenuto dalle pareti cellulari di ceppi selezionati di *Saccharomyces cerevisiae* ha dato risultati interessanti contro la peronospora e la muffa grigia dopo prove sui vigneti condotte in Italia (Pujos et al., 2014).

L'attività fungicida del composto deriverebbe dall'azione elicitoria biologica dell'estratto di *Saccharomyces* ssp. combinata con le carbossilamine, segnalatrici di difesa che, dopo essere state riconosciute dalle proteine presenti sulla membrana cellulare della pianta, attivano i meccanismi di difesa locali e sistemici. La combinazione di estratti di *Saccharomyces* ssp. con laminarina ha fornito una buona protezione antiperonosporica (Romanazzi et al., 2016; Mancini et al., 2018) e non hanno influenzato la proporzione e la concentrazione di aminoacidi liberi nel mosto (Garde-Cerdán et al., 2017), risultati fortemente ridotti dai trattamenti cuprici.

Preparati microbiologici con attività fungicida

Il controllo biologico dei patogeni delle piante include l'uso di microrganismi (Spadaro e Droby, 2016). Le piante infatti interagiscono con molti organismi microbici che vivono all'interno di esse, come endofiti, o sulla superficie esterna, come epifiti. Tra le più recenti proposte di difesa alternativa infatti si sta affermando l'utilizzo diretto di microrganismi presenti in natura e successivamente coltivati e riprodotti.

Particolare attenzione è stata data ai funghi e batteri, che agiscono come agenti di biocontrollo, promuovendo la crescita vegetativa e/o inducendo resistenza nelle piante verso gli agenti patogeni, compresi funghi fitopatogeni, batteri, virus e in alcuni casi, insetti nocivi e nematodi (Harman et al., 2004; Liu et al., 2007). Ne sono un esempio microrganismi come, *Trichoderma* spp., ascomiceti che popolano il suolo e sono distribuiti in tutto il mondo, colonizzano vari substrati e la rizosfera delle piante fungendo da antagonisti di numerosi patogeni vegetali (Verma et al., 2007; Sawant, 2014). Il loro

meccanismo di biocontrollo si basa sulla produzione di enzimi litici e altri metaboliti secondari (Reino et al. 2008). *Trichoderma* spp. hanno effetti positivi sul loro ospite, migliorando la crescita e inducendo la pianta a risposte di difesa (Harman, 2006; Vinale et al., 2008); Woo et al. (2006) hanno osservato come gli enzimi prodotti dalla specie causano il rilascio di oligosaccaridi a basso peso molecolare che inducono resistenza. In particolare, è stata studiata l'attività di *T. harzianum* T39 e le sue relazioni tra *V. vinifera* e *P. viticola* contro la peronospora (Perazzolli et al. 2008; Palmieri et al. 2012). Hanno fornito prove di resistenza sistemica indotta dall'agente di biocontrollo e hanno mostrato come un gran numero di proteine correlate al metabolismo energetico, alla segnalazione redox e allo stress siano sovraespresse nelle piante trattate con T39 e infettate da *P. viticola*.

Recenti sono stati gli studi presso l'Università di Torino in collaborazione con il Centro di ricerca per la viticoltura e l'enologia di Conegliano (Crea), focalizzati sui cosiddetti composti organici volatili prodotti da microorganismi presenti nel suolo (Microbial Volatile Organic Compounds, MVOCs).

Il ruolo di queste piccole molecole volatili è quello di trasmettere alle piante veri e propri messaggi chimici, che esse ricevono, rielaborano, e in risposta attivano una o più vie metaboliche, tra cui quella del metabolismo di difesa, rendendo la pianta meno suscettibile all'attacco dei patogeni. I rizobatteri (PGPR) promotori della crescita vegetale, normalmente emettono questi MVOC, che agiscono come elicitivi di risposte delle piante. Il risultato di questa interazione è la resistenza sistemica indotta (ISR), che aumenta la difesa delle piante mediante composti in grado di contrastare l'attacco patogeno. In particolare si è osservato come il composto MVOC, 2R,3R-butandiolo, influenzi il contenuto di acidi grassi C16 e C18 ed incrementi il contenuto di polifenoli, in particolare glicosidi flavonoidi e proantocianidine, come metaboliti bioattivi di difesa migliorando così la resistenza di *V. vinifera* a *P. Viticola*. Inoltre, la produzione dei Mvoc potrebbe essere sostenibile sia a livello ambientale che economico, poiché tali composti sono prodotti da un gran numero di microorganismi. La coltura di tali microorganismi in bioreattori permetterebbe di ottenere il composto a costi di produzione limitati e quindi di promuoverne l'utilizzo in campo.

Altri organismi quali *Streptomyces*, *Erwinia herbicola* o *Bacillus subtilis* sembrano avere una buona azione antagonista nei confronti della peronospora (Schilder et al., 1999) che si nota anche in alcuni *Xanthomonas*, *Pseudomonas* e altri *Actinomycetes*.

Farine di roccia e argille

Le caratteristiche variano a seconda del minerale componente la roccia macinata come basalto, granito, bentonite, algamatolite del Brasile, dolomia. Il principale componente della farina di roccia è l'acido silicico che arriva fino al 75% nel basalto. In queste polveri si trovano anche elementi quali magnesio, calcio, microelementi come ferro, rame e molibdeno. La polvere di roccia mostra un'azione meccanica (barriera fisica) nei confronti dei patogeni e, grazie alle sue caratteristiche igroscopiche, può agire come disidratante e per questo ostacolare le infezioni di peronospora (Donnarumma et al., 1999). Un esempio di farina di roccia è il Bentotamnio prodotto minerale, a granulometria fine, costituito da bentonite, alghe litotamnio tipiche della Bretagna e farina di roccia potassica. In una prova condotta nelle Marche ha fornito una discreta protezione, soprattutto su grappolo, ma inferiore ai prodotti rameici (Romanazzi et al. 2012). Anche l'utilizzo di algamonite in dosi di 1000-1500 g/ha ha dimostrato di essere in grado di contenere l'attacco di peronospora in maniera modesta se confrontato con i classici fungicidi. La loro efficacia nei confronti della peronospora tuttavia non è comparabile a quella del rame, soprattutto in Italia settentrionale dove le condizioni ambientali e meteorologiche (elevata piovosità e prolungate bagnature fogliari) ne favoriscono il dilavamento. Ha dimostrato labile efficacia solo in casi di modesta pressione infettiva, mentre se applicata con epidemie appena più elevate ha fornito risultati pressoché nulli (Cravero et al., 2002). In alcuni Paesi si provvede già da tempo all'impiego di argille acide (Myco San, Myco Sin, Ulmasud, Rocksil ecc.) in sostituzione del rame, da parte dei frutticoltori biologici. Esse contengono solfato di allumina, silicati e talvolta componenti dei lieviti, estratto di equisetto ed altre componenti di piante aromatiche (es. salvia). Numerose ricerche hanno però dimostrato che la loro efficacia è da attribuire fondamentalmente al contenuto in alluminio (Al). In ambiente acido (pH compreso tra 3,5 e 3,8) avviene il rilascio di ioni Al^{3+} che hanno un effetto diretto sui patogeni fungini. Alle argille acide si attribuisce anche un'attività di induzione alla resistenza, che però finora non è stata approfondita con sufficiente precisione.

4. OBIETTIVI DELLA RICERCA

Il rame distribuito sulle piante si deposita sulle foglie e sugli altri organi epigei, e non viene assorbito dai tessuti vegetali. Ciò porta, nel tempo, ad un suo conseguente accumulo negli orizzonti superficiali del suolo derivante da fenomeni diretti di deriva al momento dell'applicazione, dal dilavamento dagli organi trattati ed infine ad opera della fisiologica caduta a fine stagione delle foglie che presentano ancora residui. Il destino ambientale a lungo termine del rame nel terreno quindi è incompatibile con i principi dell'agricoltura biologica in termini di sostenibilità. A livello normativo, il rame è stato in passato oggetto di dibattito a livello comunitario, e lo è tuttora. Il fine è quello di limitare il metallo pesante nella difesa delle colture biologiche per combattere funghi e batteri. I prodotti fitosanitari consentiti in agricoltura biologica, compresi quelli contenenti rame, sono stati oggetto di diverse disposizioni normative europee. Ci sono diverse prescrizioni che regolamentano e limitano l'uso di questi prodotti in agricoltura biologica. In particolare, l'allegato II del regolamento (CE) n. 889/2008 e successive modificazioni, contiene la tabella in cui sono indicati i principi attivi ammessi. Per quanto riguarda i formulati a base rameica, essi sono solo 5: l'idrossido di rame, l'ossicloruro di rame, il solfato di rame tribasico, la poltiglia bordolese e l'ossido rameoso.

Le limitazioni poste all'uso del rame hanno disorientato soprattutto le aziende viticole a conduzione biologica, in cui i prodotti a base di rame continuano ad essere i soli capaci di garantire una efficace protezione contro gli attacchi di *P. viticola*, agente di peronospora della vite e, nel contempo, ha stimolato sperimentazioni pluriennali di campo volte all'ottimizzazione degli apporti cuprici e alla ricerca di alternative nei principali areali della penisola vocati alla viticoltura (Bortolotti et al., 2006; Egger e D'Arcangelo, 2006; Sancassani et al., 2006; Dongiovanni et al., 2008; Romanazzi et al., 2014, 2016; Mancini et al., 2018).

Tra le diverse alternative al rame risultati promettenti, nel corso di varie sperimentazioni, sono stati dati dal chitosano, sostanza del tutto naturale, capace di stimolare nelle piante una reazione difensiva endogena che si traduce in una protezione biochimica comprendente la produzione di composti ad azione antifungina ed antibatterica come le fitoalessine ed alcuni enzimi idrolitici. A tal fine può essere impiegato all'interno di una strategia integrata della protezione antiperonosporica della vite, contribuendo a ridurre notevolmente l'impiego del rame (in agricoltura biologica) o di altri prodotti. La

sperimentazione ha avuto l'obiettivo di valutare l'efficacia antiperonosporica del chitosano, risultato efficace in condizioni sperimentali e su prove parcellari, in condizioni aziendali in quanto ad attrezzature, strategie, tempistiche e volumi di applicazione. In tutti i vigneti l'Università Politecnica delle Marche ha svolto periodici rilievi volti a verificare l'incidenza della malattia su foglie e grappoli, in collaborazione con l'ASSAM e la Cooperativa Moderna, soggetto capofila del progetto VITINNOVA. Sulle foglie e sui grappoli è stata verificata la presenza di malattia adottando opportune scale empiriche, dopodiché sono stati calcolati la diffusione della malattia, la gravità della malattia e l'intensità media ponderata, o Indice di McKinney. La prova sperimentale è stata pianificata nelle seguenti fasi:

- scelta dei vigneti da prendere in esame ed esecuzione di uno schema sperimentale basato su un blocco randomizzato con 3 ripetizioni
- applicazione dei formulati, nei vigneti oggetto di sperimentazione, cadenzati settimanalmente
- rilievi sulle foglie e sui grappoli mediante l'utilizzo di scale empiriche per valutare la presenza di peronospora
- raccolta dei dati relativi ai valori dei parametri termo-pluvio-igrometrici
- elaborazione dei dati raccolti attraverso l'applicazione di modelli statistici

5. MATERIALI E METODI

I trattamenti sono stati effettuati con attrezzature aziendali, in due vigneti dell'azienda Moncaro, uno di Verdicchio a Piagge, Castelplanio (AN) e uno di Montepulciano ad Angeli di Varano, Ancona (AN). Tutti e due i vitigni ricadono nell'area geografica vocata alla produzione delle denominazioni d'origine per Rosso Conero e Verdicchio dei castelli di Jesi. La prova è stata svolta nell'ambito del progetto VITINNOVA, al quale partecipano diverse aziende vitivinicole del territorio e l'Università Politecnica delle Marche. La Cooperativa Agricola Moderna si è occupata dell'esecuzione dei trattamenti in campo con diverse tipologie di strategie di applicazione e con prodotti antiperonosporici alternativi oltre ai classici trattamenti aziendali. In termini operativi, l'attività di ricerca ha riguardato la direzione ed il coordinamento della sperimentazione in campo, scegliendo le strategie e i prodotti alternativi al rame da saggiare, comparando poi

questi con l'efficacia dei trattamenti aziendali e con il testimone non trattato. L'attività di tesi si è inserita in questo contesto, effettuando i rilievi in campo finalizzati al monitoraggio dei livelli di infettività del parassita, andando pertanto a verificare l'efficacia dei differenti protocolli di difesa adottati.

5.1 CARATTERISTICHE GENERALI DEI VIGNETI

Il primo vigneto ad essere esaminato è stato il Vigneto Mulino ubicato a Piagge, in località Castelplanio (AN), nel cuore dell'areale di coltivazione del Verdicchio dei castelli di Jesi (100% vitigno Verdicchio). La forma di allevamento usata per questo vigneto è il Guyot con un sesto di impianto di 2,6 m per 1 m; la sua estensione è di 0,7 ettari circa (Fig. 5).

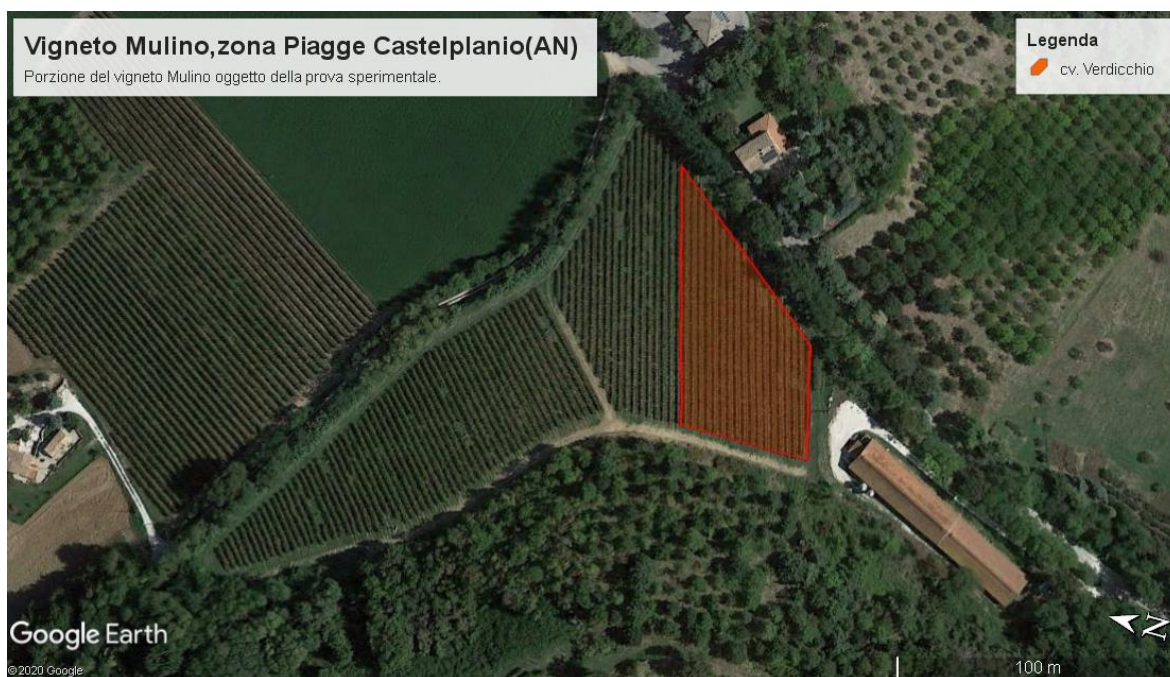


Fig. 5 - Vigneto sperimentale Mulino, dell'Azienda Terre Cortesi Moncaro fotografato dall'alto, ubicato a Castelplanio (AN), zona Piagge.

Il secondo 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). Anche questo vitigno è allevato in parete con una distanza fra le file di 2,2 m ed una distanza sulla fila di 1 m; la sua superficie in ettari è di circa 3,4 (Fig. 6).



Fig. 6 - Vigneto sperimentale Mazzoni, dell’Azienda Terre Cortesi Moncaro fotografato dall’alto, ubicato ad Angeli di Varano (AN).

5.2 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 più frequenti casi in cui si rende necessaria la suddivisione dell’area sperimentale in blocchi è quello in cui è nota la presenza di un gradiente, per cui lo stesso appezzamento può avere zone con caratteristiche diverse. In questo caso il gradiente è rappresentato dalla pendenza, che influenza l’umidità e quindi la bagnatura fogliare delle piante lungo uno stesso filare.

In questa tesi sperimentale i rilievi sono stati condotti dividendo i filari, ognuno dei quali rappresenta una tesi, in 3 parcelle (o interpali) da 5 piante ciascuna: una nella parte bassa del vigneto, una nella parte centrale ed una nella parte più alta. In questo modo ogni blocco con caratteristiche omogenee è comprensivo di tutte le tesi.

Lo schema sperimentale ha previsto 4 differenti tesi di cui una rappresentava il testimone non trattato e le rimanenti 3 gestite nel modo seguente (Tab. 1):

- Tesi A: trattamento su piante effettuato unicamente con Chitosano a dose standard 0,5% per l'intera stagione;
- Tesi B. trattamento effettuato con una miscela di rame e chitosano, entrambi applicati a metà dose; il prodotto commerciale utilizzato per questa tesi è stato la Pasta Caffaro, anticrittogamico in sospensione concentrata a base di ossicloruro di rame;
- Tesi C. trattamento aziendale effettuato interamente con rame, sempre con l'utilizzo della Pasta Caffaro per l'intera stagione (prodotto adottato nel protocollo di difesa standard della cooperativa Moderna).

Tab. 1 - Strategie adottate nell'applicare i diversi trattamenti

Tesi	Formulati	Principio attivo, concentrazione	Dosi/concentrazioni applicate	Data trattamenti
A	Chitosano	Chitosano cloridrato 100%	0,5%	11-19-28/05/20 cv. Verdicchio 30/04/20, 18- 28/05/20 cv. Montepulciano
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 cv. Verdicchio 30/04/20, 18- 28/05/20 cv. Montepulciano
C	Pasta Caffaro	Ossicloruro di rame 25%	Ossicloruro di rame (225mL/100 l acqua)	11-19-28/05/20 cv. Verdicchio 30/04/20, 18- 28/05/20 cv. Montepulciano

I rilievi sono stati eseguiti scegliendo 3 filari per tesi, scartando due filari di bordo (uno per lato), al fine di limitare i possibili effetti di deriva e individuando quindi 3 parcelle per ogni blocco. In totale, per ogni tesi sono stati condotti i rilievi su 9 interpali da cinque piante ciascuno.

I trattamenti hanno avuto inizio su Verdicchio, nel vigneto “Mulino”, il 29 aprile, con i successivi in data 11, 19 e 28 maggio. Su Montepulciano, nel vigneto “Mazzoni”, le applicazioni sono state effettuate in data 30 aprile, per proseguire il 18 e 28 maggio. Nello specifico il prodotto utilizzato come alternativo al rame è stato il chitosano cloridrato, sostanza di base approvata per l’uso in agricoltura biologica, della Agrilaete. È stato scelto questo prodotto in quanto è puro al 100% e nelle precedenti sperimentazioni parcellari condotte dall’Università Politecnica delle Marche risultava essere il più efficace. 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 (Fig. 7) mentre nel vigneto Mazzoni è stato utilizzato un atomizzatore snodato Vma, modello Power 55 (Fig. 8). Entrambe le macchine sono andate a velocità di 7-8 Km/h, con pressioni e ugelli aperti differenti in funzione della fase del germoglio.



Fig. 7 – Atomizzatore Turbmatic Defender MK2



Fig. 8 - Atomizzatore snodato Vma, modello Power 55

5.3 DATI CLIMATICI

I dati climatici, relativi a precipitazioni, umidità relativa e temperatura media, massima e minima, sono stati ottenuti dal Bollettino Agrometeorologico pubblicato da Agrometeo, ASSAM. I relativi dati sono resi disponibili da dieci stazioni per ogni provincia che sono state scelte fra quelle ricadenti in zone a maggior vocazione agricola. Nel caso di questa tesi sperimentale sono stati osservati i dati della stazione meteo situata a Camerano (AN), la più vicina al Vitigno Mazzoni ubicato ad Angeli di Varano e quelli della stazione di Castelplanio (AN), per quanto riguarda il Vigneto Mulino situato a Piagge.

5.4 VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI PERONOSPORICHE SU VEGETAZIONE E GRAPPOLI

Le infezioni sono state registrate a partire dalla comparsa dei sintomi della malattia, sia sulle foglie che sui grappoli, utilizzando due scale empiriche che prevedono una serie di classi di gravità in relazione alla percentuale di superficie interessata dai sintomi ascrivibili a peronospora. Nel caso della vegetazione sono state prese in considerazione 100 foglie per ciascuna pianta e la scala empirica utilizzata per quest'ultime prevedeva 11 classi di gravità (Tab. 1).

Tab. 1 - Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sulle foglie

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	>90%

Per ciò che concerne la valutazione dei danni causati da *P. viticola* su grappoli è stata utilizzata una scala empirica comprendente 8 classi di gravità (Tab. 2)

Tab. 2 – Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sui grappoli

GRAPPOLI	
Classe	Superficie infetta (%)
0	Grappolo sano
1	1-5 bacche
2	6-11 bacche
3	12-25 bacche
4	25% del grappolo
5	26-50% del grappolo
6	50-75% del grappolo
7	>75% del grappolo

L'adozione della scala empirica oltre a permettere di calcolare la diffusione della malattia (D), ha reso possibile calcolare anche, per ciascuna pianta, la gravità (G) e la gravità media ponderata della malattia, o 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

Per quanto riguarda la gravità (G), valore che esprime l'intensità media della malattia riferita sia alle foglie che 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) che esprime la gravità della malattia in valore percentuale rispetto a quella massima possibile, 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

Tramite l'elaborazione dei dati provenienti dai rilevamenti effettuati in campo è stato possibile ricavare i valori sopracitati: la diffusione (D), la gravità (G) e l'Indice di McKinney (I). Mediante successivo sviluppo statistico dei dati sono state ottenute le medie

e le deviazioni standard di ciascuna delle tesi prese in esame, i cui valori sono stati sottoposti ad analisi della varianza e le medie messe a confronto con il test HSD di Tukey (Gomez e Gomez, 1984).

I rilievi in campo per la valutazione della presenza della malattia su foglie e grappoli sono stati effettuati rispettivamente, l'1 luglio nel Vigneto Mulino situato a Castelplanio (AN) e il 2 luglio nel Vigneto Mazzoni situato invece ad Angeli di Varano (AN).

6. RISULTATI

6.1 CONDIZIONI CLIMATICHE

Le condizioni climatiche che hanno caratterizzato il periodo da inizio aprile a fine giugno del 2020 nella zona Piagge a Castelplanio (AN) sono state rappresentate da precipitazioni sporadiche di modesta entità per quanto riguarda tutto il mese di aprile fino a metà maggio.

Da metà maggio a metà giugno sono state registrate precipitazioni, con una media di 24,6 mm caduti nell'arco di un mese (Tab. 3; Fig. 9). Nel complesso, comparando i dati sull'andamento climatico e quelli dei rilievi, si evince una situazione in cui la non costante e abbondante entità delle precipitazioni durante il periodo primaverile ed i primi caldi estivi hanno determinato una bassa pressione della malattia. Situazione del tutto analoga è stata riscontrata nella zona di Angeli di Varano, dove i dati climatici sono stati registrati presso la stazione metereologica dell'ASSAM situata a Camerano (AN), risultante essere la più vicina al vigneto sperimentale Mazzoni (Tab. 4; Fig. 10).

Tab. 3 - Dati meteorici rilevati nella zona Piagge, a Castelplanio (AN), del campo sperimentale nel periodo interessato dalla prova (fonte: Notiziario Agrometeorologico ASSAM).

Settimana	Precipitazioni (mm)	Umidità Relativa (%)	Temperatura (°C)		
			minima	massima	media
25 marzo-31 marzo	66,6	77,3	-0,6	18,7	7,2
01-07 aprile	0	51,9	1,6	18	9,1
08-14 aprile	0	40	5,6	25,1	15,1
15-21 aprile	43	67	4,8	24,1	13,7
22-28 aprile	9,8	64	8,4	23,9	15
29 aprile-05 maggio	2,2	61,1	9,6	22,6	16,5
06-12 maggio	0,4	58,8	9,1	26,4	17,7
13-19 maggio	6	73,8	13,8	26,4	18,4
20-26 maggio	39,6	62,1	11,3	27,1	18,3
27 maggio-03 giugno	30,8	65,1	9,7	26,6	16,1
04-09 giugno	37,6	68,9	14,3	27,2	19
10-16 giugno	58,2	72,5	13,1	27,9	18,3
17-23 giugno	0	55,5	16	29,5	21,7
24-30 giugno	0	56,4	17,8	33,5	26

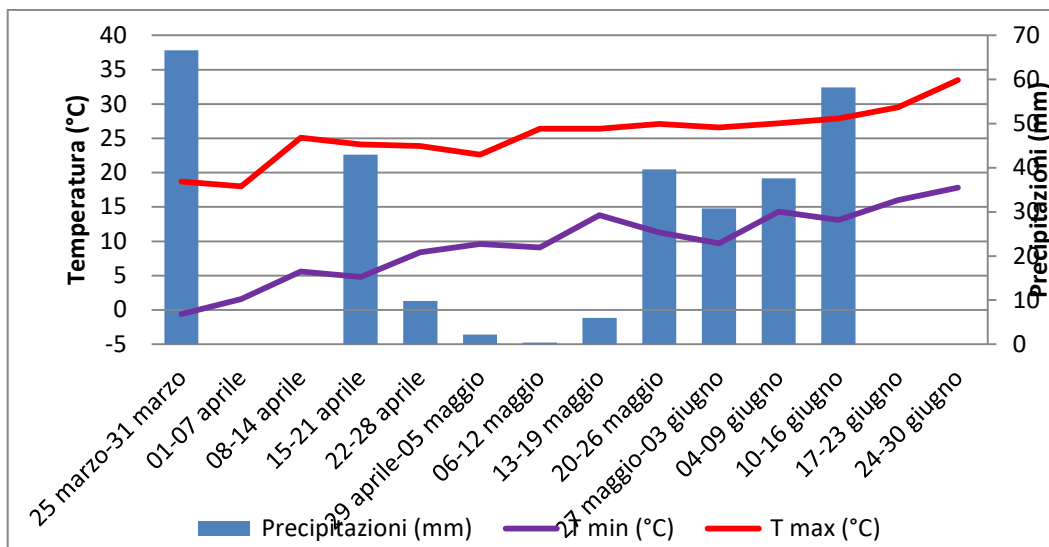


Fig. 9 - Andamento climatico nel periodo primaverile-estivo 2020, Castelplanio (AN).

Tab. 4 - Dati meteorici rilevati nella zona di Camerano (AN), contigua al vitigno sperimentale sito ad Angeli di Varano, nel periodo interessato dalla prova (fonte: Notiziario Agrometeorologico ASSAM).

Settimana	Precipitazioni (mm)	Umidità Relativa (%)	Temperatura (°C)		
			minima	massima	media
25 marzo-31 marzo	64	71,2	3,6	21,5	9,5
01-07 aprile	0	55,8	-0,2	22,5	10,4
08-14 aprile	0,6	44,2	4,9	28	15
15-21 aprile	37,4	71,7	3	24,1	13,6
22-28 aprile	11,6	69	7	27,1	15,7
29 aprile-05 maggio	2,6	61,9	7,5	27,9	18
06-12 maggio	1,2	68,5	7,7	26,9	17,9
13-19 maggio	1,6	74,1	13,4	28,1	19,5
20-26 maggio	21,4	61,3	11,2	30,9	19,8
27 maggio-03 giugno	18	63,5	10,1	28,8	18,1
04-09 giugno	38,6	76,3	13,8	27,6	20,1
10-16 giugno	40	71,9	13,6	30,8	20,1
17-23 giugno	0,2	55,4	14,7	31,9	23
24-30 giugno	0	54,8	16,9	36,3	26,2

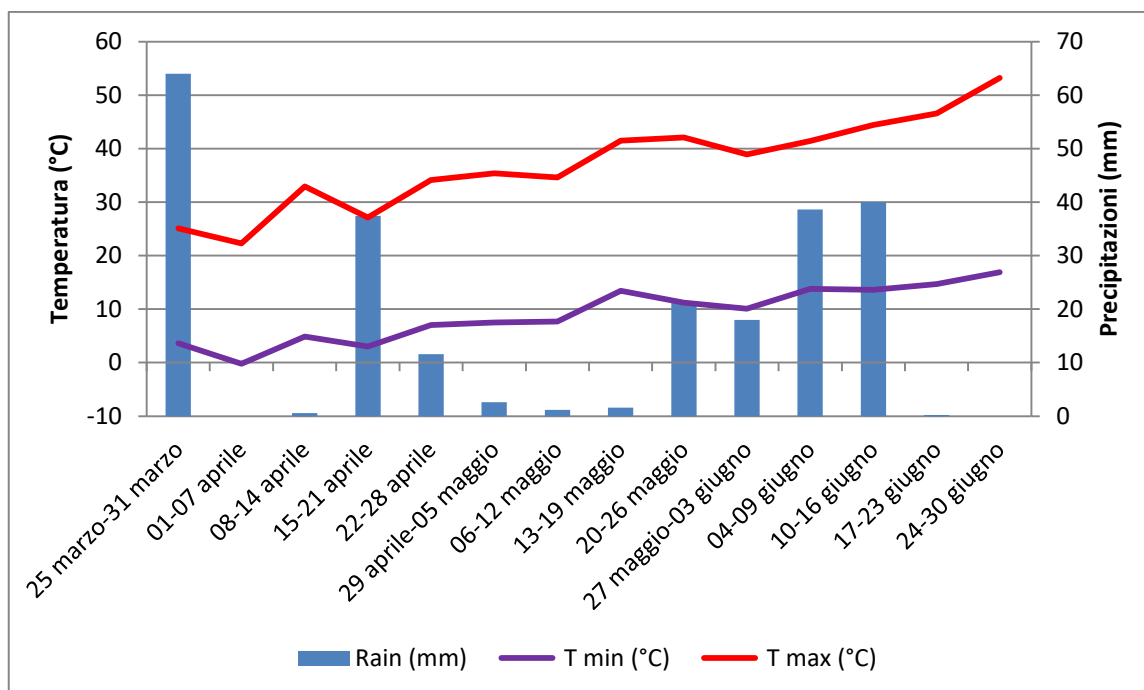


Fig. 10 - Andamento climatico nel periodo primaverile-estivo 2020, Camerano (AN).

6.2 VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA SULLE FOGLIE

Sebbene l'entità delle precipitazioni durante la stagione primaverile-estiva siano state non costanti e non abbondanti, nel primo rilievo in campo effettuato nel vitigno sperimentale Mulino a Castelplanio in data 1 luglio, è stato possibile osservare le prime manifestazioni di peronospora sulla vegetazione per quanto la pressione della malattia risultasse essere bassa. La raccolta dei dati effettuata nei rilevamenti in campo ha permesso di determinare i valori di diffusione (D), gravità (G), e dell'indice di McKinney (IMK); successivamente sono state messe a confronto le medie ottenute di ciascun parametro ed è stata effettuata l'analisi statistica con il test HSD di Tukey, ottenendo i seguenti risultati (Tab.5):

Tab. 5 – Rilievo delle infezioni sulle foglie effettuato in data 1 luglio in zona Piagge, Castelplano (AN). Sulla colonna, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Principio attivo	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice di McKinney (%)
Non trattato	7,17 ± 3,73 a	1,4 ± 0,57 b	1,1 ± 0,74 a
Chitosano	3,8 ± 2,50 bc	2,04 ± 1,27 a	0,94 ± 1,20 a
Cu[*]/chitosano	3,7 ± 2,20 c	1,6 ± 0,84 ab	0,69 ± 0,80 a
Cu[*]	5,2 ± 2,26 b	2,08 ± 0,96 a	1,15 ± 0,83 a

Cu^{*} = ossicloruro di rame

Dal grafico della diffusione sotto riportato è emerso che la tesi trattata con il chitosano utilizzato singolarmente alla concentrazione 0,5 % e analogamente quello associato al formulato cuprico Pasta Caffaro, in dose dimezzata dello 0,25% abbia controllato la diffusione della malattia, presentando valori significativamente più bassi rispetto alla tesi non trattata. Per quanto riguarda la tesi interessata dal trattamento aziendale, che prevedeva l'utilizzo del solo formulato cuprico, si evidenzia una riduzione della malattia in maniera minore degli altri 2 trattamenti prima descritti (Fig. 11)

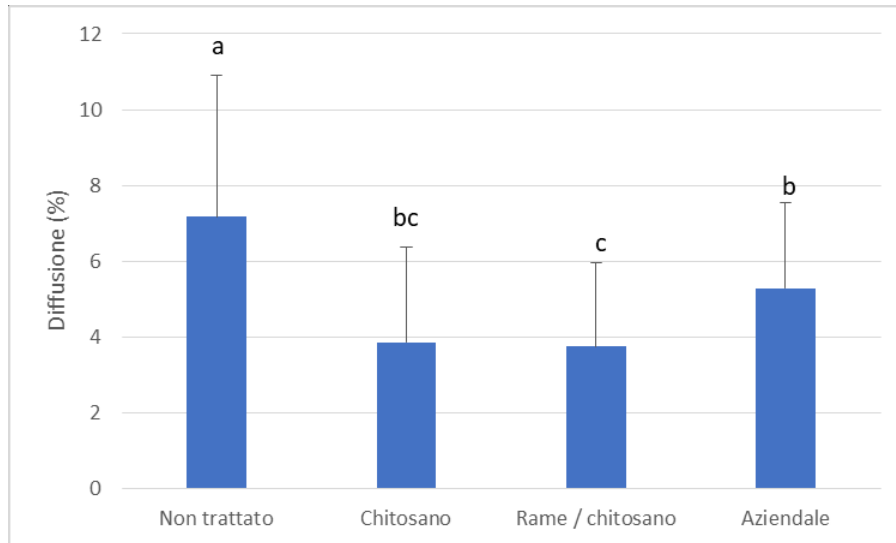


Fig. 11 – Grafico riguardante i valori di diffusione della malattia sulle foglie relativo al rilievo del 1° luglio effettuato nel vigneto Mulino sito a Castelplanio (AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Dall'osservazione del grafico riportante i valori di gravità si può constatare che le tesi sottoposte ai differenti trattamenti presentano dei valori leggermente superiori rispetto alla tesi in cui non vi è stato alcun trattamento (Fig. 12).

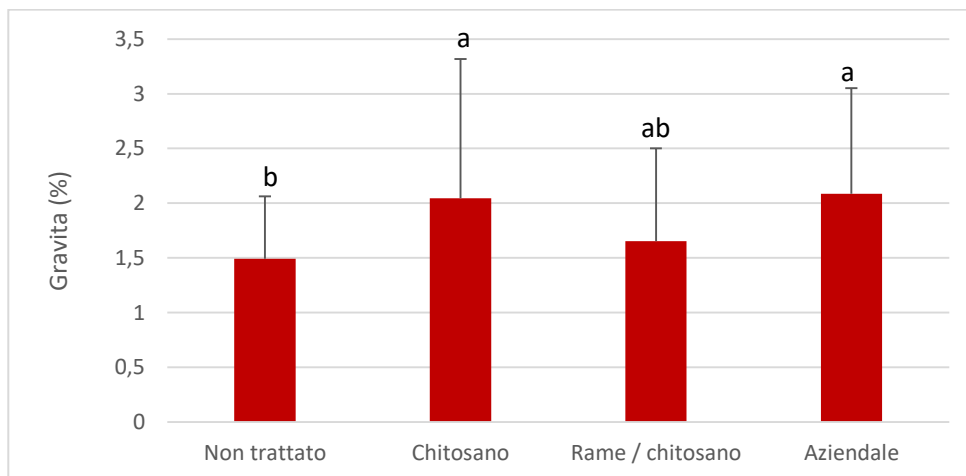


Fig. 12 – Grafico riguardante i valori di gravità della peronospora sulle foglie relativo al rilievo del 1° luglio, nel vigneto Mulino, Castelplanio(AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Infine i valori dell'indice di McKinney che da come mostrato dal grafico sotto riportato, si evince come la tesi trattata con rame/chitosano denoti una lieve diminuzione rispetto alle altre tesi, anche se tutti i valori ottenuti non si differenziano dal punto di vista statistico dal testimone (Fig. 13).

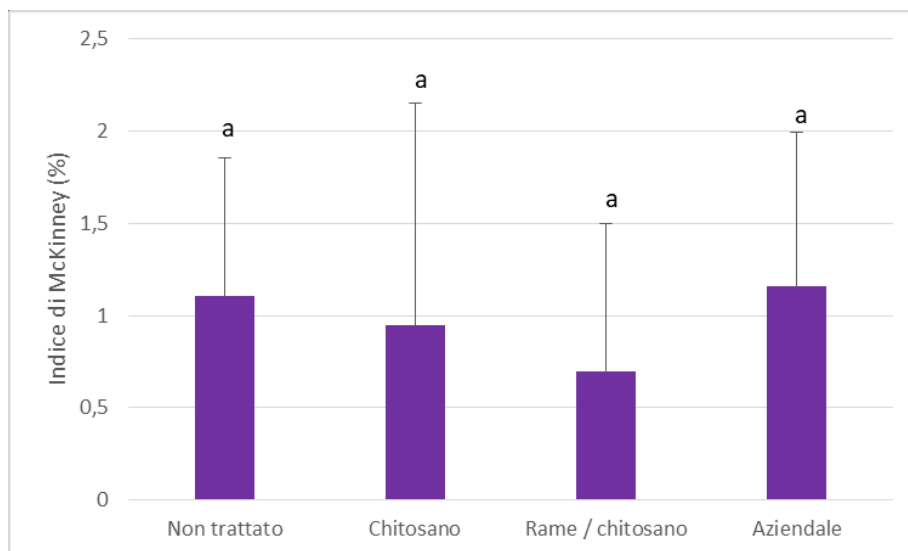


Fig. 13 – Grafico riguardante i valori dell'indice di McKinney della peronospora sulle foglie relativo al rilievo del 1° luglio presso il vigneto Mulino, Castelplanio (AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Dalla raccolta e dall'elaborazione dei dati provenienti dai rilevamenti effettuati nel secondo vigneto sperimentale Mazzoni, sito ad Angeli di Varano (AN) in data 2 luglio, la pressione della malattia risulta essere ancor più bassa di quella registrata nel vigneto sperimentale Mulino (Tab. 6). Qui di seguito se ne riportano i grafici indicanti i valori relativi alla diffusione(D), alla gravità (G) e all'indice di McKinney (IMK).

Tab. 6 – Rilievo delle infezioni sulle foglie effettuato in data 2 luglio nel vigneto Mazzoni, sito ad Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Principio attivo	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice di McKinney (%)
Non trattato	0,62 ± 1,17 a	1,06 ± 0,26 b	0,08 ± 0,22 a
Chitosano	0,28 ± 0,54 a	1,09 ± 0,30 b	0,03 ± 0,05 a
Cu[*]/chitosano	0,22 ± 0,51 a	1,25 ± 0,46 a	0,02 ± 0,07 a
Cu[*]	0,44 ± 0,69 a	1,10 ± 0,29 b	0,05 ± 0,09 a

Cu^{*} = ossicloruro di rame

Per quanto riguarda la diffusione non ci sono delle tesi che si sono contraddistinte in maniera significativa dal controllo (Fig. 14).

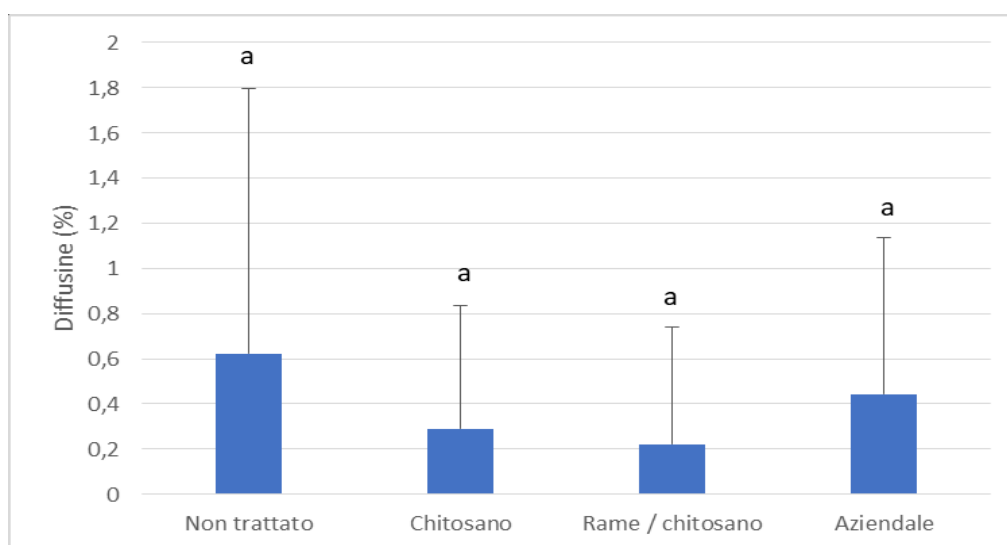


Fig. 14 – Grafico relativo ai valori di diffusione della peronospora sulle foglie del rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni 2 luglio, presso Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Anche i valori relativi alla gravità della malattia sembrano non mostrare significative differenze tra i trattamenti ed il controllo non trattato. Seppur il valore di gravità della tesi trattata con miscela di chitosano e rame presenta valori leggermente superiori alla tesi non trattata (Fig. 15).

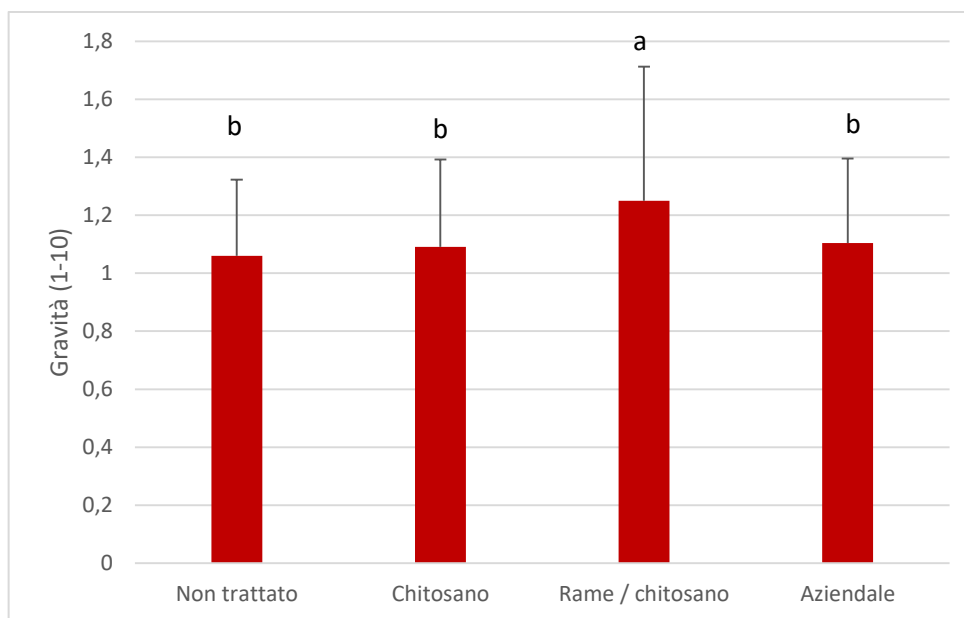


Fig. 15 – Grafico relativo ai valori di gravità della peronospora sulle foglie del rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni 2 luglio, Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Stessa situazione per quanto concerne i valori riferibili all'indice di McKinney, dove non si osservano particolari differenziamenti tra le tesi oggetto di sperimentazione (Fig. 16).

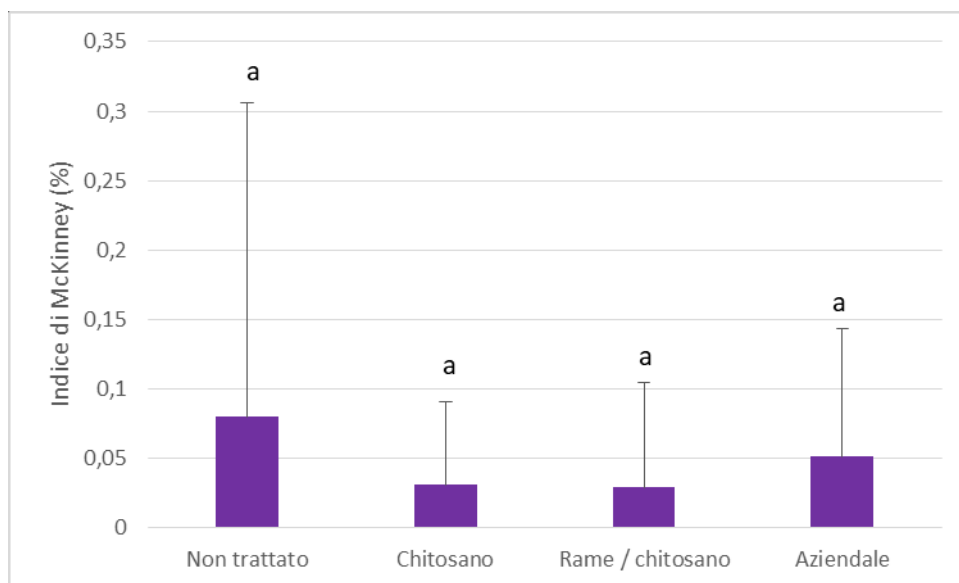


Fig. 16 – Grafico riguardante i valori di indice di McKinney della peronospora sulle foglie provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni 2 luglio, Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0,05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

6.3 VALUTAZIONI DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA SUI GRAPPOLI

I rilievi effettuati in ciascuno dei vigneti, oggetto di sperimentazione, oltre a valutare l'efficacia dei diversi trattamenti nel contenere le infezioni dovute alla peronospora sulle foglie di vite; sono serviti a valutare anche il contenimento delle infezioni riguardanti i grappoli. Il rilievo sui grappoli è stato eseguito lo stesso giorno di quello sulle foglie, rispettivamente l'1 luglio nel vigneto Mulino (Tab. 7) ed il 2 luglio nel vigneto Mazzoni.

Tab. 7 – Rilievo delle infezioni sui grappoli effettuato in data 1 luglio, vigneto Mulino zona Piagge, Castelplanio (AN). Sulla colonna, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0,05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Principio attivo	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice di McKinney (%)
Non trattato	20,17 ± 19,81 a	2,00 ± 0,92 b	6,84 ± 10,47 a
Chitosano	9,22 ± 13,47 b	2,13 ± 1,62 b	3,27 ± 6,83 a
Cu [*] /chitosano	10,63 ± 15,86 b	3,23 ± 1,87 a	5,40 ± 9,83 a
Cu [*]	13,40 ± 11,05 ab	1,80 ± 0,99 b	3,83 ± 4,51 a

Cu^{*}= ossicloruro di rame

Valori di diffusione significativamente più bassi sono stati osservati per le tesi rispettivamente trattate con Chitosano (0,5%) e rame associato a Chitosano con dose ridotta (0,25%) i quali sono riusciti a contenere la diffusione in misura maggiore rispetto alla tesi che non prevedeva trattamento. Analoghi sono risultati i valori per la tesi trattata con solo formulato cuprico, seppur leggermente superiori (Fig. 17).

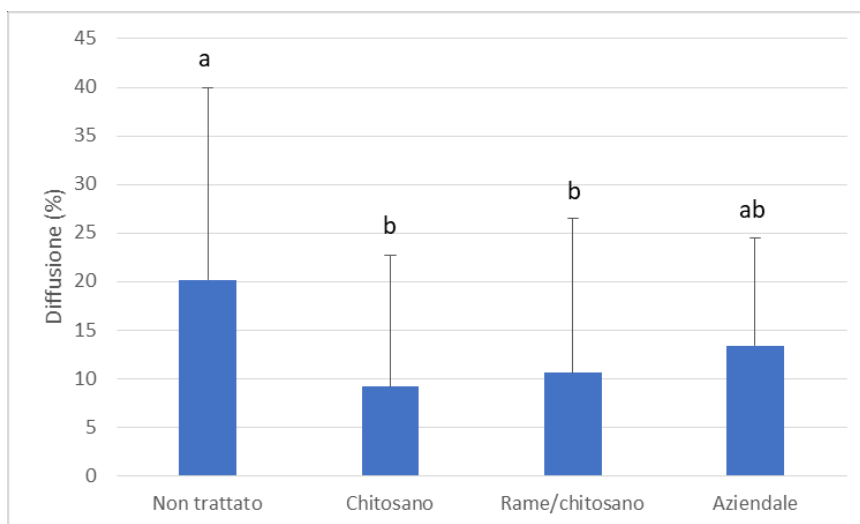


Fig. 17 – Grafico riguardante i valori di diffusione della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mulino il 1° luglio, Castelplanio (AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Per quanto riguarda i valori di gravità ottenuti, non vi è un particolare differenziamento tra i valori riconducibili alle tesi trattate con i valori della tesi senza trattamento. Unico valore di gravità risultato essere maggiore della tesi priva di trattamento è stato quello riguardante la tesi trattata con miscela contenente rame e Chitosano (Fig. 18).

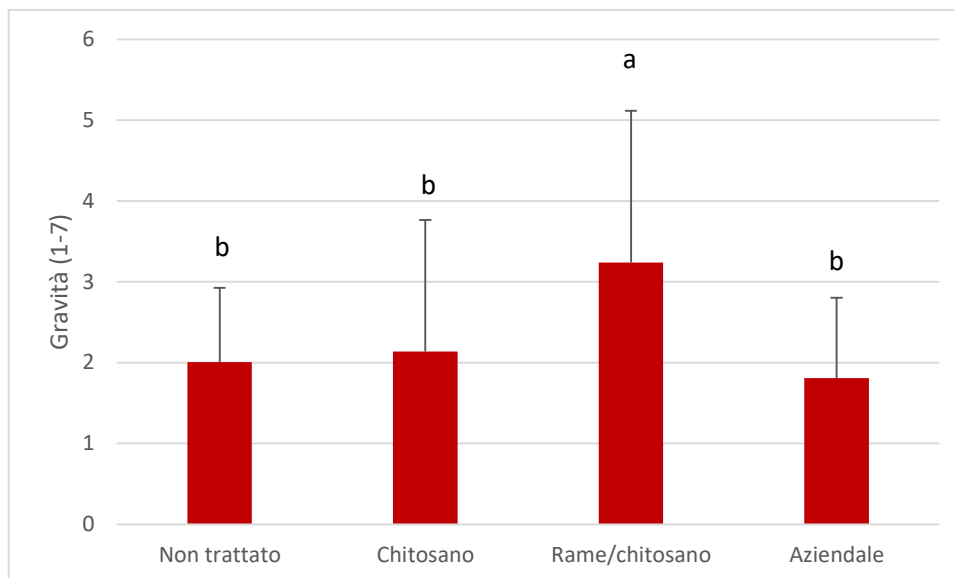


Fig. 18 – Grafico riguardante i valori di gravità della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mulino il 1° luglio, Castelplanio (AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

La stessa situazione dei valori di gravità sopra esposti si può osservare nei valori riguardanti l'indice di McKinney. Anche qui le tesi sottoposte a trattamento non si sono significativamente contraddistinte tra loro dalla tesi non trattata (Fig. 19).

Il rilevamento sui grappoli effettuato presso il vigneto Mazzoni, sito ad Angeli di Varano, in data 2 luglio analogamente al rilievo sulle foglie ha mostrato una pressione della malattia di gran lunga inferiore rispetto al primo vigneto sperimentale. Qui di seguito vengono mostrati i valori derivanti dall'analisi statistica ed i relativi grafici (Tab. 8).

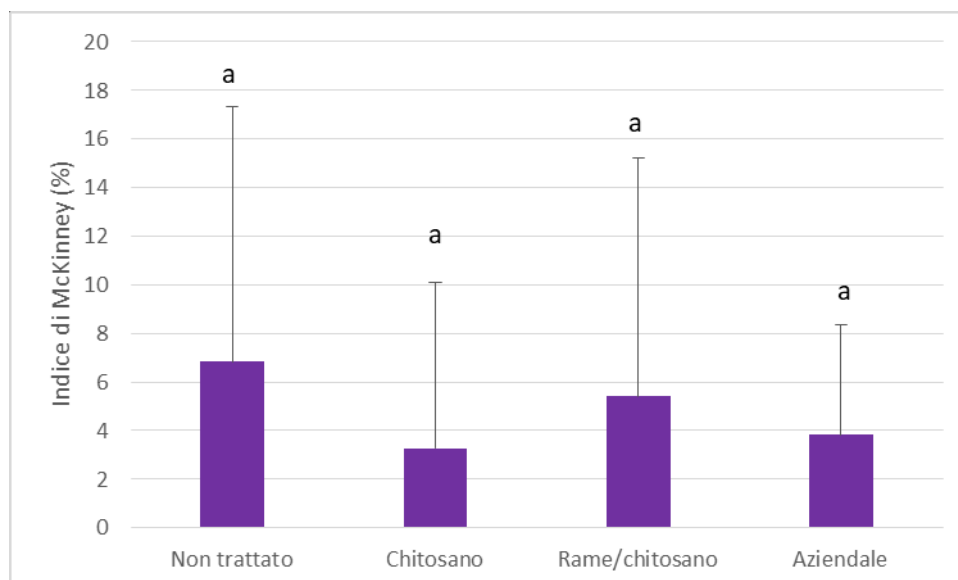


Fig. 19 – Grafico riguardante i valori di indice di McKinney della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mulino il 1° luglio, Castelplanio (AN). Sulle barre i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Tab. 8 – Rilievo delle infezioni sui grappoli effettuato in data 2 luglio nel vigneto Mazzoni, sito ad Angeli di Varano (AN). Sulla colonna, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Principio attivo	Diffusione (%)	Gravità (%)	Indice di McKinney (%)
Non trattato	0,24 ± 1,19 a	1 ± 0 b	0,03 ± 0,17 a
Chitosano	/	/	/
Cu* /chitosano	0,47 ± 1,87 a	2 ± 1 a	0,13 ± 0,58 a
Cu*	/	/	/

Cu*= ossicloruro di rame

Da come si può notare nel grafico relativo ai valori di diffusione di peronospora sui grappoli del vigneto Mazzoni, non sono stati registrati valori di diffusione della malattia

per quanto riguarda 2 tesi: quella trattata con solo Chitosano 0,5% per l'intera stagione e la tesi trattata unicamente con Pasta Caffaro. Sono stati rilevati invece valori di diffusione nelle altre 2 tesi (Fig. 20).

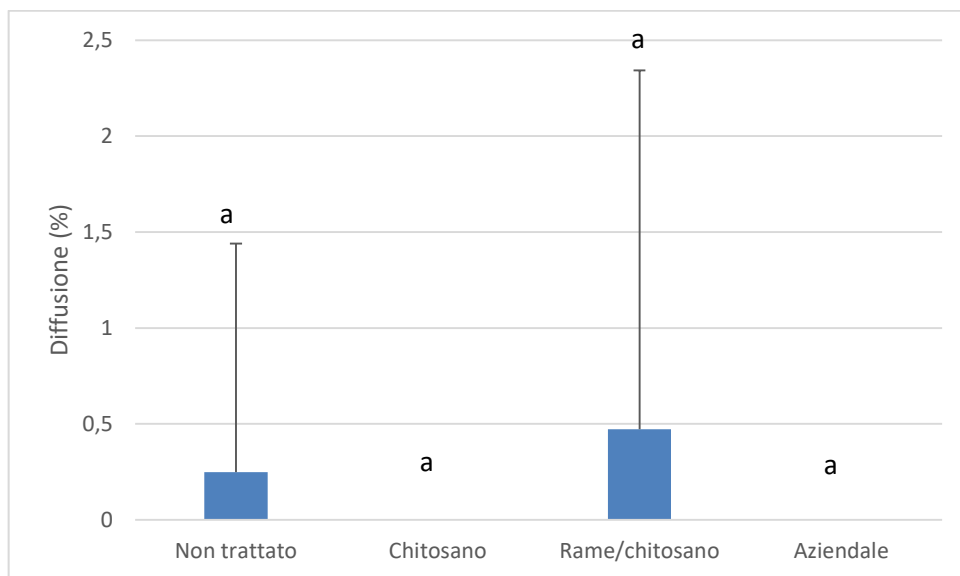


Fig. 20 – Grafico riguardante i valori di diffusione della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni il 2 luglio, Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

I valori riguardanti la gravità della malattia sono stati rilevati solo per la tesi non trattata e per quella trattata con irrorazione di una miscela di rame e una dose dimezzata di Chitosano, rispetto alla standard, di 0,25%; specialmente quest'ultima ha presentato valori di gravità circa il doppio rispetto alla prima. (Fig. 21).

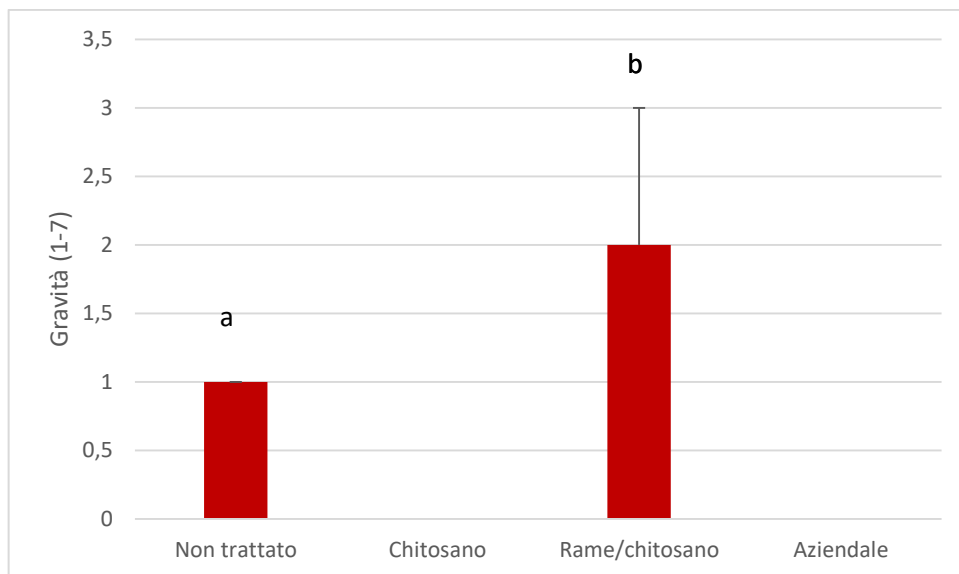


Fig. 21 – Grafico riguardante i valori di gravità della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni il 2 luglio, Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

Similmente ai 2 grafici precedenti, anche quest'ultimo grafico, relativo all'indice di McKinney mostra come non siano stati registrati valori IMK per la tesi trattata con dose standard di Chitosano 0,5% e la tesi trattata unicamente con Pasta Caffaro. Stessa situazione delle precedenti vale per le rimanenti 2 tesi, le uniche ad aver registrato valori dell'indice di McKinney (Fig. 22).

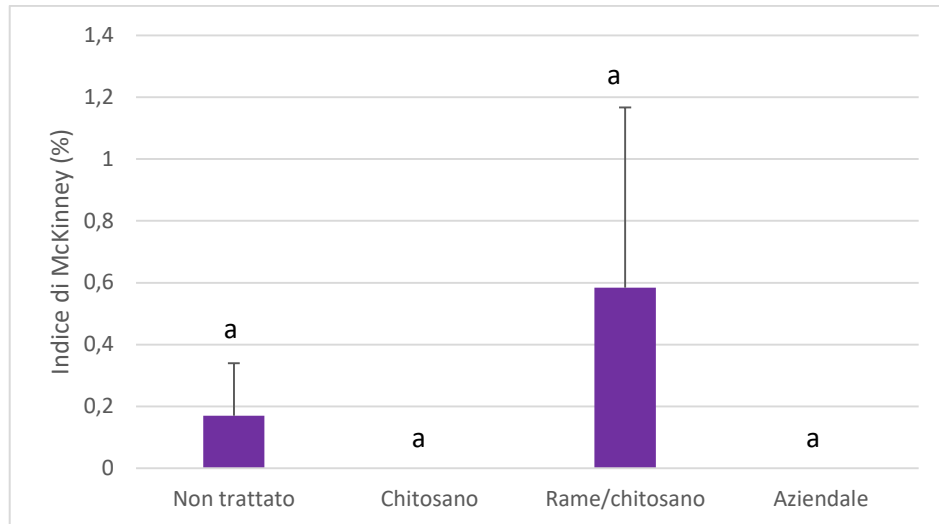


Fig. 22 – Grafico riguardante i valori di indice di McKinney della peronospora sui grappoli, provenienti dal rilievo effettuato nel vigneto Mazzoni il 2 luglio, Angeli di Varano (AN). Sulle barre, i valori non seguiti da una lettera comune sono significativamente differenti ($P \leq 0.05$) in base al test di Tukey (SPSS20 - Statistica software).

7. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

La prova sperimentale ha avuto come scopo quello di valutare l'efficacia di composti alternativi al rame, che usati singolarmente o miscelati con formulati tradizionali permettono di ridurre la quantità di rame somministrata per trattamento e/o durante la stagione con la difesa fitosanitaria. La necessità di ridurre gli apporti cuprici è sempre più crescente, poiché il rame è classificato come metallo pesante e il suo ripetuto uso, così come le dosi eccessive impiegate, hanno portato ad un accumulo di questo elemento nel suolo (García-Esparza et al., 2006; Duca et al., 2016). Tale accumulo si è rivelato causa di diversi effetti ambientali negativi, come l'inquinamento delle falde acquifere e l'alterazione dell'attività biologica nel suolo (Rusjan et al., 2007) e riduzione delle popolazioni di lombrichi (Paoletti et al., 1998). Alle problematiche ambientali si aggiungono i rischi connessi all'utilizzo per la salute umana. Tutto ciò ha portato a contingentare l'apporto di rame in agricoltura tramite il regolamento europeo CE 473/2002 che fissa il limite massimo di rame metallo a 6 kg/ha/anno, limite poi portato a 4 kg per ettaro annui con il Regolamento UE 1981/2018, che ha approvato i prodotti cuprici, peraltro inclusi nella lista dei candidati alla sostituzione, per un periodo di soli 7 anni. Dalle limitazioni imposte dall'Unione Europea, nasce la necessità di sperimentare nuovi prodotti e di sviluppare nuove strategie di protezione fitosanitaria, che possano sostituire le pratiche tradizionali. A questo proposito è stato preso in considerazione il chitosano, che in prove sperimentali pluriennali ha fornito un livello di protezione paragonabile a quello del rame (Romanazzi et al., 2016).

Il polimero chitosano una volta applicato sulle superfici vegetali, esplica una triplice attività: a) elicitante, che contribuisce per il 35% alla sua attività; b) antimicrobica, con un contributo di circa il 40%; c) filmogenica, con un contributo di circa il 25% (Romanazzi et al., 2018). A seguito della sua applicazione, si forma sulla superficie trattata una pellicola commestibile, la quale, su foglie e giovani germogli in crescita, tende a ridurre la traspirazione e la vigoria (Romanazzi et al., 2016), quest'ultima caratteristica può risultare molto favorevole per la viticoltura moderna, sempre alla ricerca di tecniche per gestire al meglio gli eccessi di vigore (Chaves et al., 2007; Dry e Loveys, 1998), che portano ad uno squilibrio vegeto-riproduttivo, il quale spesso si traduce in produzioni inferiori e di peggiore qualità. La capacità di contenere la vigoria e la traspirazione della vegetazione e nel contempo di avere attività antifungine e antimicrobiche rendono il

chitosano una molecola unica nel panorama fitopatologico, che ha attirato l'interesse di diverse aziende e centri di ricerca. Ulteriori studi saranno necessari per approfondire le conoscenze sulle potenzialità di questo biopolimero, che potrebbe entrare a far parte dei programmi di protezione nei confronti di alcune avversità fungine importanti, come prodotto principale o complementare. Le condizioni climatiche, dell'annata 2020, che hanno contraddistinto il periodo primaverile fino alla fine del mese di giugno sono state caratterizzate da precipitazioni sporadiche di modesta entità, che hanno determinato una bassa pressione della malattia con un conseguente ritardo nella comparsa dei primi sintomi. Ciò, osservabile sia in campo che dalla raccolta e dall'elaborazione dei dati precedentemente mostrati, non ha permesso di determinare e valutare nel complesso l'effettiva efficacia del chitosano, in quanto non si sono evidenziate differenze significative tra le differenti tesi. Probabilmente con il progresso della malattia, nell'arco della stagione estiva, si potranno evidenziare più avanti differenze significative fra le varie tesi, capaci di mettere in evidenza l'efficacia dei trattamenti oggetto di sperimentazione. Dati di un certo interesse sono stati rilevati nel vigneto Mulino zona Piagge sito a Castelplanio (AN) dove in confronto ad Angeli di Varano la pressione della malattia è stata leggermente maggiore. Infatti, come si può osservare dai valori relativi alla diffusione (D) della peronospora sia sulle foglie che sui grappoli vi è una sua riduzione non indifferente nelle 2 tesi che comprendono il Chitosano. Una tramite il singolo utilizzo, per l'intera stagione, di Chitosano nella sua dose standard di 0,5% mentre l'altra tramite l'utilizzo di una miscela che associava ad una dose standard di Chitosano dimezzata (0,25%) la Pasta Caffaro a metà dose di etichetta. Il prodotto a base di chitosano cloridrato è stato infatti il primo ad essere autorizzato a livello comunitario come sostanza di base per la protezione delle piante, ai sensi del Reg. UE 2014/563.

I rilievi successivi e la ripetizione delle prove in condizioni di più elevata pressione di malattia potranno fornire risultati migliori e più rilevanti, in quanto la bassa pressione della malattia derivante dal andamento climatico di quest'annata non ha sempre permesso di rilevare valori delle varie tesi aventi differenze tali da contraddistinguersi con quelli della tesi non trattata.

8. BIBLIOGRAFIA

- Ales L., Peter T. N., Spencer-Phillips, B. M. Cooke, 2008. The downy mildew-genetics, molecular biology control. *European Journal of Plant Pathology*, 122, 4-11.
- Annunziata A., Cesaretti G. P., 2011. Strategie e strumenti per la valorizzazione sostenibile delle produzioni agroalimentari di qualità. 193-194.
- Belli G., 2012. Elementi di patologia vegetale. *2th Edizione*, 187-214, 277-291.
- Benvenuto L., Malossini G., Stocco M., 2015. Studio e utilizzo di alcuni modelli previsionali della peronospora della vite nei vigneti del Friuli Venezia Giulia. *Notiziario ERSA*, 21-25.
- Bessey E. A., 1913. Spore germination and infection with *Plasmopara viticola*. *Rivista di Patologia Vegetale*, 264-266.
- Bottura M., Coinelli R., Fellini F., Gobber M., Lucin R., Margoni M., Mattedi F., Mescalchin E., Michelotti F., Patton A., Renner F., Ribolli F., 2007. Manuale di difesa fitosanitaria della vite. *Istituto Agrario di San Michele all'Adige*, 11-19.
- Brunelli A., Pirondi A., Portillo I., Vignini M., Collina M., 2014. Verifica pluriennale dell'attività di fungicidi di copertura contro la peronospora della vite. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 231-240.
- Brunelli A., 2013. Ampia disponibilità di prodotti contro la peronospora della vite. *L'informatore Agrario*, 55-58.
- Burruano, 2000. The life cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist*, 14, 179-182.
- Burruano S., Conigliano G., Di Graziano M., 1990. Prime indicazioni sull'azione delle basse temperature sulla germinazione delle oospore di *Plasmopara viticola*. *Phytopathologia Mediterranea*, 29, 73-75.
- Caffi T., Rossi V. Gilardi G., Monchiero M., Gullino M. L., Spanna F., 2010. Studi epidemiologici su *Plasmopara viticola*. *Italian Journal of Agrometeorology*, 17-18.
- Casarin S., Mannino G., Vigliante I., Bertazzon N., Maffei M. E., 2019. Biological control of *P. viticola* in *V. vinifera* by microbial volative organic compounds. *ENOFORUM Journal Article*, 1-2.
- Ciccarese L., Silli V., 2014. L'agricoltura bio. Un caso di successo italiano a tutela della biodiversità. *ISPRA-Annuario dei dati ambientali*, 1-8.

- Dagostin S., Ferrari A., Gessler C., Pertot I., 2006. Efficacia di nuove alternative al rame in viticoltura biologica nei confronti di *P. viticola*. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 11, 193-198.
- Di John A. Lucas, 1998. Plant pathology and plant pathogens. 3th Edition, 195-204.
- Duca D., Toscano G., Pizzi A., Rossini G., Fabrizi S., Lucesoli G., Servili A., Mancini V., Romanazzi G., Mengarelli C., 2016. Evaluation of characteristics of vineyard pruning residues for energy applications: effects of different copper-based treatments. *Journal of Agricultural Engineering* 47, 22-27.
- El Bilali H., Simeone V., Vecchione A., Zulini L., Pertot I., 2005. Reduction of copper use in organic viticulture: efficacy evaluation and phytotoxicity assessment of traditional and new copper compounds in northern and southern Italy. *Journal Article*, 1-14.
- El Hadrami A., Lorne R. Adam, El Hadrami I., Dayf F., 2010. Chitosan in plant protection. *Marin drugs*, 8, 968-987.
- Eynard I., Dalmasso G., 1990. Viticoltura moderna. 9th Edizione, 3-17.
- Faretra F., De Miccolis Angelini R. M., Pollastro S., Romanazzi G., Pertot I., 2015. Attualità e prospettive degli induttori di resistenza nella protezione sostenibile delle colture. *Atti Accademia dei Georgofili Journal Article*, 63-74.
- Feliziani E., Margosan D.A., Mansour M.F., Gu S., Gohil H., Rubio Ames Z., Lichter A., Romanazzi G., Smilanick J.L., 2014. Effects of field treatments with fungicide, potassium sorbate, or chitosan on postharvest rots and quality of table grapes. *Acta Horticulture* 1053, 257-264.
- Foria S., Di Gaspero G., 2010. Viticoltura sostenibile e varietà resistenti. *Visò Progetto*, 61, 40-45.
- Fremiot P., Parisi N., Pinzetta M., Tonni M., Salvetti M., Strizyk S., Vercesi A., 2008. Andamento delle epidemie di *Plasmopara viticola* e valutazione del modello EPI nei vigneti lombardi. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 237-244.
- Galbiati C., Longhin G., 1984. Indagine sulla formazione e sulla germinazione delle oospore di *Plasmopara viticola*. *Rivista di Patologia Vegetale*, 20, 66-80.
- Galletti B., Collina M., Sedda G., Portillo I., Brunelli A., 2008. Verifiche di laboratorio, serra e campo dell'attività di estratti vegetali contro fitopatogeni fungini. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 252-253.

- Gardén-Cerdà T., Mancini V., Carrasco-Quiraz M., Servili A., Gutiérrez-Gamboa G., Foglia R., Pérez-Alvarez E. P., Romanazzi G., 2017. Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *P. viticola* control: effect on grape aminoacid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 7379-7386.
- George B. Lucas, C. Lee Campbell, Leon T. Lucas, 2012. Introduction to plant diseases- Identification and management. 2th Edition, 154-160, 204-212.
- Gessler C., Pertot I., Perazzoli M., 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, 3-44.
- Gobbin D., 2004. Redefining *Plasmopara viticola* epidemiological cycle by molecular genetics. *Swiss Federal Institute of technology, Zurich*. <http://e-collection.library.ethz.ch/eserv/eth:27124/eth-27124-01.pdf>
- Gregory C.T., 1915. Studies on *Plasmopara viticola*. Official report of the session international congress on viticulture. *P.P.I.E. San Francisco*, 126-150.
- Gutiérrez-Gamboa G., Romanazzi G., Garde-Cerdà T., Pérez-Álvarez E. P., 2019. A review of the use of biostimulants in the vineyard for improved grape and wine quality: effects on prevention of grapevine diseases. *J Sci Food Agric*; 99, 1001–1009.
- Innereber G., Roschatt C., Uberegger E., Patauner C., Pedri U., 2018. I bicarbonati, fungicidi per la viticoltura biologica ed integrata. *Centro di sperimentazione Laimburg-Frutta e vite*, 4, 27-32.
- Kelderer M., Casera C., Lardschneider E., 2012. Efficacia delle argille acide contro alcuni patogeni fungini. *Centro di sperimentazione agraria di Laimburg*, 116-118.
- Lavezzaro S., Morando A., Ferro S., Gozzelino S., 2012. Induttori di resistenza sperimentati nella difesa antiperonosporica della vite in Piemonte. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 483-490.
- Lembo S., Morando A., Pronti M., Morando D., 2002. Confronti fra strategie e prodotti per una funzionale lotta antiperonosporica. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 323-328.
- Lizzi, Y., Coulomb, C., Polian, C., Coulomb, P.J. and Coulomb, P.O., 1998. L'algue face au mildiou: quel avenir? Des résultats de laboratoire très encourageants [Seaweed and mildew: what does the future hold?]. *Phytoma*, 508, 29–30.
- Locci R., 1969. Direct observation by scanning electron microscopy of the invasion of grapevine leaf tissues by *Plasmopara viticola*. *Rivista di Patologia Vegetale*, 5, 199-212.

- Lujan C., Freccero A., Mosetti L., Bigot G., Bigot L., Stecchina M., Marizza L., Dashko S., Butinar L., Silviotti P., 2015. Applicazione di bassi dosaggi di rame e strategie alternative per il confronto della peronospora della vite. *Journal Article*, 75-79.
- Mescalchin E., Pertot I., 2003. La riduzione del rame in viticoltura biologica, in *Bioagricoltura. Safe Crop 81*, 27-29.
- Morando A., Lavezzaro S., 2014. Prove di lotta contro peronospora della vite con prodotti ammessi in viticoltura biologica. *ATTI Giornate fitopatologiche*, 2, 1-6.
- Muccinelli, Prontuario degli agrofarmaci. *FITOGEST*.
- Musetti, R., Polizzotto, R., Vecchione, A., Borselli, S., Zulini, L., D'Ambrosio, M., Sanità di Toppi, L. and Pertot, I., 2007. Antifungal activity of diketopiperazines extracted from *Alternaria alternata* against *Plasmopara viticola*: an ultrastructural study. *Micron 38*, 643–650.
- Narayanasamy P., 2008. Molecular biology in plant pathogenesis and disease management: disease management. 1, 182-185.
- Pallioti A., Poni S., Silvestroni O., 2018. Manuale di viticoltura. 4-16.
- Palmieri, M.C., Perazzolli, M., Matafora, V., Moretto, M., Bachi, A. and Pertot, I., 2012. Proteomic analysis of grapevine resistance induced by *Trichoderma harzianum* T39 reveals specific defence pathways activated against downy mildew. *Journal of Experimental Botany*, 63, 6237–6251.
- Perazzolli, M., Dagostin, S., Ferrari, A., Elad, Y. and Pertot, I., 2008. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. *Biological Control*, 47, 228–234.
- Perazzolli M., Roatti B., Bozza E., Pertot I., 2011. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defence without costs for grapevine. *Biological Control*, 58, 74-82.
- Pertot I., Dagostin S., Ferrari A., Gobbin D., Prodorutti M., Gessler C., 2005. La peronospora della vite. *Safe Crop 6*.
- 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 diseases*, 739-747.

- Romanazzi G., Murolo S., Mancini V., Feliziani E., 2012. Valutazione dell'efficacia contro la peronospora della vite di molecole classiche e innovative. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2, 451-458.
- Romanazzi G., Piancatelli S., Mancini V., Coppa D., 2019. Miscibilità di formulati a base di chitosano con agrofarmaci utilizzati in viticoltura biologica. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 1-5.
- Romanazzi G., Santini M., Murolo S., Masciulli A., D'Ercole G., Patrizio F., 2010. Valutazione dell'efficacia contro *Plasmopara viticola* di composti rameici utilizzati a dosi ridotte e di prodotti alternativi. *Petria*, 20, 9-12.
- Rossi V. Giosué S., Caffi T., 2009. Modelling the dynamics of infections caused by sexual and asexual spores during *Plasmopara viticola* epidemics. *Journal of Plant Pathology*, 91, 615-627.
- 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.
- Scott T., Di Salvio R., 2013. Biologico, le alternative al rame. *Millevigne*, 1, 16-18.
- Tamm, L., Thürig, B., Fliessbach, A., Goltlieb, A.E., Karavani, S. and Cohen, Y., 2011. Elicitors and soil management to induce resistance against fungal plant diseases. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences*, 58, 131–137.
- 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.
- Vannacci G., Sarrocco S., Pecchia S., Vergara M., 2008. Innovazioni nella difesa delle colture con mezzi a basso impatto ambientale: malattie dei funghi. *Quaderni dei georgofili*, 27-54.
- Vercesi A., 1995. Considerazioni sull'applicazione di modelli epidemici a *Plasmopara viticola*. *Rivista di Patologia Vegetale*, 5, 99-111.
- Vercesi A., Tornaghi R., Sant S., Burruano S., Faoro F., 1999. A cytological and ultrastructural study on the maturation and germination of oospores of *Plasmopara viticola* from overwintering vine leaves. *Mycol. Res.* 103, 2, 193–202.

Vezzulli, S., Civardi, S., Ferrari, F. and Bavaresco, L.,2007. Methyl jasmonate treatment as a trigger of resveratrol synthesis in cultivated grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 530–533.

Wenqiao Wong, B. H. Ben-Daniel, Yigal Cohen, 2004. Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. *The American Phytopathological Society*, 9, 1042-1047.

Zanzotto A., Morroni M., Patriarca E. R., Trevisiol F., 2012. Difesa antiperonosporica della vite con prodotti rameici e “penetranti” in strategia in zone ad alta incidenza di malattia. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 459-466.

Zanzotto A., Morroni M., 2016. Major biocontrol studies and measures against fungal and oomycete pathogen of grapevine. *CAB International*, 1-36

9. RINGRAZIAMENTI

Il mio viaggio di laurea triennale è stato un periodo di profondo apprendimento, non solo a livello scientifico, ma anche personale crescendomi e responsabilizzandomi, ma come tutti i viaggi è arrivato al suo termine. Come mio primo pensiero, giunto alla fine di questo mio percorso, vorrei ringraziare il Prof. Gianfranco Romanazzi, relatore di questa tesi di laurea, che mi ha reso partecipe di questa esperienza sperimentale facendomi apprezzare il valore della ricerca e i benefici che essa comporta alla collettività, la ringrazio anche per la grande conoscenza che mi ha donato, per la disponibilità e precisione dimostratemi durante tutto il periodo di stesura che in questo periodo particolare in cui, purtroppo ci siamo tutti trovati non è stato certo privo di difficoltà. Senza di lei questa tesi non avrebbe preso vita. A lei è indirizzata la mia gratitudine e la mia stima.

Un ringraziamento speciale va anche alla preziosa disponibilità e assistenza fornitami dalla ricercatrice Marwa Mounmi e dallo studente specializzando Simone Piancatelli che nonostante i loro numerosi impegni sono state mie ancore di salvezza, affiancandomi nei rilevamenti in campo, chiarendo i miei eventuali dubbi e aiutandomi nella stesura di questa tesi. A loro vanno i miei più sentiti auspici per un futuro lavorativo ricco di soddisfazioni.

Per ultima ma non meno importante voglio ringraziare, dal profondo del mio cuore, la mia famiglia che mi ha sostenuto, incoraggiato anche nei momenti più difficili e spronato a dare il meglio di me in qualunque cosa io stessi facendo. Senza di essa non avrei mai raggiunto questo importante traguardo della mia vita.