DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE AGRARIE E DEL TERRITORIO

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA ANTIPERONOSPORICA DI NUOVI INDUTTORI DI RESISTENZA APPLICATI IN VIGNETO SINGOLARMENTE O CON BASSE DOSI DI RAME

EFFECTIVENESS OF NOVEL RESISTANCE INDUCERS TOWARD GRAPEVINE DOWNY MILDEW APPLIED ALONE OR IN COMBINATION WITH LOW COPPER RATES

TESI SPERIMENTALE

Studente:
NICOLA SANTORI

Relatore:
PROF. GIANFRANCO ROMANAZZI

Correlatore:
DOTT. SIMONE PIANCATELLI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

Alla provvidenza
che non a caso
mi ha indicato il percorso da seguire
e le persone da incontrare

INDICE

		Pag.
	RIASSUNTO	4
	ABSTRACT	5
1	INTRODUZIONE	6
1.1	L'IMPORTANZA DELLA PROTEZIONE DELLE COLTURE	6
1.2	ALCUNI DATI SULLA PROTEZIONE DELLE COLTURE	7
1.3	LA VITICOLTURA IN ITALIA E NELLE MARCHE	12
1.4	LE PRINCIPALI MALATTIE DELLA VITE	14
2	LA PERONOSPORA DELLA VITE	15
2.1	STORIA	15
2.2	AGENTE EZIOLOGICO	16
2.3	CICLO BIOLOGICO	16
2.4	CONDIZIONI PER LO SVILUPPO	19
2.5	SINTOMATOLOGIA E DANNI	20
2.6	SINTOMI SU FOGLIE	20
2.7	SINTOMI SU INFIORESCENZE E GRAPPOLI	22
2.8	SINTOMI SU ALTRI ORGANI VERDI	23
3	OIDIO DELLA VITE	24
3.1	STORIA	24
3.2	AGENTE EZIOLOGICO	25
3.3	CICLO BIOLOGICO	25
3.4	CONDIZIONI PER LO SVILUPPO	27
3.5	SINTOMATOLOGIA E DANNI	28
3.6	SINTOMI SU FOGLIE	28
3.7	SINTOMI SU INFIORESCENZE E GRAPPOLI	29
3.8	SINTOMI SU ALTRI ORGANI VERDI	30
4	GESTIONE DELLE PROBLEMATICHE FITOSANITARIE	31
4.1	AGRICOLTURA INTEGRATA	31
4.2	AGRICOLTURA BIOLOGICA	33
5	MEZZI DI PROTEZIONE DALLA PERONOSPORA	33
5.1	MODELLI PREVISIONALI	34

5.2	MEZZI AGRONOMICI	36
5.3	RESISTENZA VARIETALE	36
5.3.1	Meccanismi di resistenza a *Plasmopara viticola*	37
5.4	MEZZI CHIMICI	40
5.4.1	Prodotti a base di rame	41
5.4.2	Aspetti positivi e negativi del rame	46
5.4.3	Molecole di origine naturale alternative al rame	48
5.4.4	Sostanze attive a basso rischio	55
5.4.4.1	*La sostanza attiva COS (chito-oligosaccaridi) – OGA (oligo-galatturonidi)*	55
6	OBIETTIVI DELLA RICERCA	56
7	MATERIALI E METODI	58
7.1	PROVA DI LABORATORIO: COMPATIBILITÀ TRA L'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA E ALTRI PRODOTTI IMPIEGATI NELLA PROTEZIONE DELLA VITE	58
7.2	PROVA DI CAMPO: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA	60
7.2.1	Descrizione del vigneto e delle attrezzature utilizzate	61
7.2.2	Schema sperimentale	61
7.2.3	Valutazione delle infezioni	65
8	RISULTATI	68
8.1	PROVA DI LABORATORIO: COMPATIBILITÀ TRA L'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA E ALTRI PRODOTTI IMPIEGATI NELLA PROTEZIONE DELLA VITE	68
8.2	CONDIZIONI METEREOLOGICHE	71
8.3	PROVA DI CAMPO: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA	72
8.3.1	Rilievi condotti su peronospora	73
8.3.2	Rilievi condotti su oidio	80
9	DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	90
10	BIBLIOGRAFIA	95
11	SITOGRAFIA	101

RIASSUNTO

Le limitazioni poste all'uso dei prodotti a base di rame in agricoltura dal Reg. UE 1981/2018 hanno promosso la ricerca di alternative. Questa tesi è stata sviluppata per valutare l'efficacia antiperonosporica e confermare quella antioidica di un induttore di resistenza, già registrato per il controllo dell'oidio, a base di chito-oligosaccaridi e oligo-galatturonidi (COS-OGA) in una prova parcellare di campo. É stata anche indagata la compatibilità di COS-OGA con altri prodotti comunemente impiegati nella protezione della vite a base di rame, zolfo e zeolite; le prove sono state effettuate in laboratorio, combinando la dose piena d'etichetta e la dose piena d'etichetta dimezzata di questi prodotti con COS-OGA a un quarto della dose massima di etichetta, metà, dose massima di etichetta e dose massima di etichetta raddoppiata. COS-OGA ha mostrato buoni livelli di compatibilità con i formulati saggiati. La sperimentazione di campo, condotta secondo gli standard EPPO, è stata svolta in un vigneto situato ad Ancona (AN) ed impiantato con 'Montepulciano'. Sono state valutate nove strategie di protezione da *Plasmopara viticola*: COS-OGA applicato da solo (2 L/ha) per tutta la stagione o in combinazione con rame (0,75 Kg/ha, 1 Kg/ha e 1,5 Kg/ha) e con rame più un coadiuvante a base di sorbitan mono oleato etossilato (1,5 L/ha); l'efficacia è stata confrontata con: un testimone non trattato e trattamenti con solo rame a tre diversi dosaggi (0,75 Kg/ha, 1 Kg/ha e 1,5 Kg/ha). È stato adottato un disegno sperimentale a blocchi randomizzati e sono stati rilevati incidenza (I), gravità (G) e indice McKinney (I) della malattia. L'andamento climatico, caratterizzato da scarse precipitazioni durante il periodo primaverile-estivo, non è stato favorevole allo sviluppo di malattie, soprattutto sulle foglie. COS-OGA ha mostrato buoni risultati contro la peronospora e ha confermato la sua efficacia contro l'oidio, soprattutto quando è stato associato al rame: a settembre l'I della peronospora sui grappoli è stato ridotto rispetto al non trattato del 67%, 77%, 66% e 62% rispettivamente in COS-OGA + rame 0,75 Kg/ha, COS-OGA + rame 1 Kg/ha, COS-OGA + rame 1,5 Kg/ha e COS-OGA + rame 0,75 Kg/ ha + coadiuvante 1,5 l/ha; mentre l'I dell'oidio sui grappoli dell'88%, 84% e 73% rispettivamente in COS-OGA + rame 1 Kg/ha, COS-OGA + rame 1,5 Kg/ha e COS-OGA + rame 0,75 Kg/ha + coadiuvante 1,5 l/ha. I risultati confermano la validità dell'elicitore COS-OGA nella protezione della vite e aprono la strada ad una sua applicazione complementare o alternativa ai fungicidi cuprici.

ABSTRACT

The limitations on the use of copper-based products in agriculture, according to EU Regulation 1981/2018, has promoted search for alternatives. This thesis was developed to evaluate and confirm the effectiveness against downy mildew and powdery mildew, respectively, of a resistance inducer, which is already registered for powdery mildew management, based on chito-oligosaccharides and oligo-galaturonides (COS-OGA) in a field plot experiment. COS-OGA compatibility with other products commonly used to protect vines based on copper, sulfur and zeolite was also investigated; these trials were carried out in laboratory, combining full label dose and halved label dose of these plant protection products with COS-OGA at quarter of the full label dose, half, full label dose and full label dose doubled. COS-OGA proved good levels of compatibility with the formulations tested. The field trial, conducted in accordance with EPPO standards, was carried out in vineyard located in Ancona (AN) and established with the cultivar Montepulciano. Nine *Plasmopara viticola* management strategies were evaluated: COS-OGA was applied alone (2 l/ha) for all the season or combined with copper (0.75 Kg/ha, 1 Kg/ha and 1.5 Kg/ha) and with copper plus an adjuvant based on ethoxylated disorbitan mono oleate (1.5 l/ha); effectiveness was compared to treatments with three different dosages of copper alone (0.75 Kg/ha, 1 Kg/ha and 1.5 Kg/ha) and to an untreated control. A randomized block design with four replicates was adopted and incidence (I), severity (S), and McKinney Index (I) of diseases were estimated. The climatic trend, characterized by low rainfall and low humidity during spring and summer, was not favorable for diseases development, especially on leaves. COS-OGA showed good results against downy mildew and confirmed its efficacy against powdery mildew, principally when it was associated with copper: In September, the downy mildew I on grapes was reduced compared to the untreated control by 67%, 77%, 66% and 62% in COS-OGA + copper 0,75 Kg/ha, COS-OGA + copper 1 Kg/ha, COS-OGA + copper 1,5 Kg/ha and COS-OGA + copper 0,75 Kg/ha + adjuvant 1,5 l/ha respectively; while the powdery mildew I on grapes by 88%, 84% and 73% in COS-OGA + copper 1 Kg/ha, COS-OGA + copper 1,5 Kg/ha and COS-OGA + copper 0,75 Kg/ha + adjuvant 1,5 l/ha respectively. Results confirm the validity of COS-OGA elicitor in grapevine protection and pave the way for its complementary or alternative application to copper-based fungicides.

1 INTRODUZIONE

1.1 L'IMPORTANZA DELLA PROTEZIONE DELLE COLTURE

Osservando la storia che ci ha preceduto, molti sono gli avvenimenti che fanno capire l'importanza di questa materia. La protezione delle colture da sempre si interseca con la vita e le vicende che interessano gli esseri umani; infatti, le malattie che colpiscono i vegetali possono essere alla base di eventi di portata storica, quali: carestie, migrazioni di massa, adattamenti e grandi cambiamenti demografici. Alcuni organismi fitopatogeni in determinati momenti storici hanno destato seria preoccupazione per le popolazioni. Ad esempio, la ruggine del frumento (*Triticum*), malattia causata dall'agente *Puccinia graminis* (ruggine nera) ha origini antichissime risalenti all'età del bronzo e fu descritta per la prima volta al tempo dei romani: nelle fonti scritte da autori dell'epoca raramente si affronta il problema eziologico, ma per lo più la malattia viene attribuita a fattori meteorici avversi oppure all'azione di qualche divinità adirata o scontenta. Per questo nell'antica Roma si celebravano in primavera le "Robigalia", feste propiziatorie intese a placare la dea Robigo, dea del frumento, alla cui ira erano attribuiti i danni che oggi sappiamo causati appunto dalle ruggini (Belli, 2012). Un'altra malattia di rilevante importanza storica è stata la peronospora della patata, causata da *Phytophthora infestans.* La patata è originaria delle regioni andine del Sud America ed è stata portata in Europa dagli spagnoli nel 1531, anche se è solo dopo più di un secolo che si afferma come alimento del vecchio continente, specialmente in Irlanda. Dal 1845 al 1850 in tutta l'Europa settentrionale, ma in modo particolare in Irlanda, si sono succedute annate particolarmente favorevoli all'instaurarsi della malattia e le conseguenze sono state disastrose, tanto da causare una migrazione di massa prevalentemente verso gli Stati Uniti (Belli, 2012).

Possiamo dedurre, anche dalle vicende appena descritte, che la popolazione mondiale nel corso dei secoli ha sempre subito le conseguenze di questi agenti di malattie, spesso senza riuscire a contrastarli. Solo dalla seconda metà dell'Ottocento, forse proprio come conseguenza dei grandi disastri portati dalla peronospora della patata, vi è stata la creazione di una vera e propria disciplina scissa dalla botanica, definita "Patologia Vegetale", la quale è la scienza che studia le malattie delle piante (o fitopatie) e che di esse si occupa nei vari aspetti, ossia: come esse si manifestano, le

cause che le determinano, le condizioni che le favoriscono o le contrastano, le modalità con cui si propagano, le vie utilizzabili per prevenirle o debellarle (Belli, 2012).

1.2 ALCUNI DATI SULLA PROTEZIONE DELLE COLTURE

Ad oggi, rispetto al passato, è ancora più viva la necessità di proteggere le colture dalle malattie. I grandi scambi commerciali, l'introduzione di colture in ambienti differenti ed il raggiungimento in diversi contesti di un'agricoltura industriale, hanno portato ad un impoverimento della biodiversità negli agroecosistemi ed espongono il settore a rischi maggiori per quanto riguarda l'insorgenza di malattie e lo scoppio di pericolose epidemie. Di conseguenza, nel corso degli anni sono aumentate le strategie e gli strumenti di lotta alle malattie, primo tra tutti l'utilizzo dei prodotti fitosanitari. Le statistiche sulla vendita dei prodotti fitosanitari sono utilizzate come indicatori per quanto riguarda il loro utilizzo in agricoltura. La figura sotto riportata (Figura 1), permette una prima analisi sul consumo di prodotti fitosanitari in Europa.

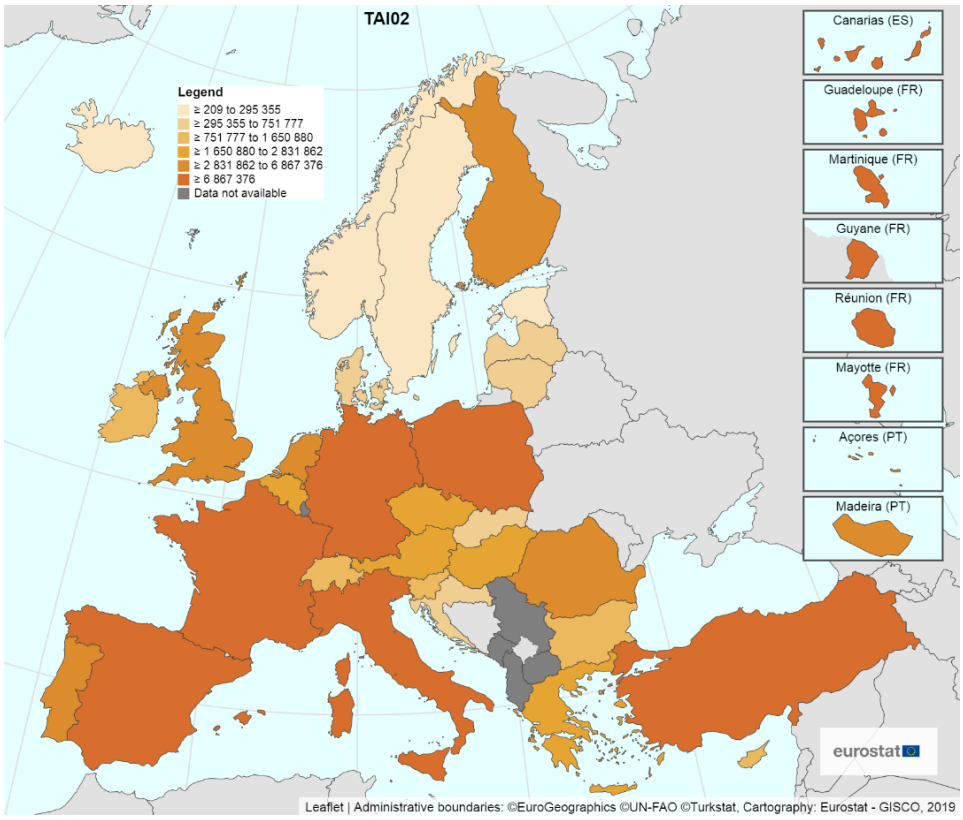

Figura Errore. Nel documento non esiste testo dello stile specificato.**:** Rappresentazione dei paesi europei per fungicidi e battericidi venduti nel 2019 (https://ec.europa.eu, consultazione a settembre 2021

Nella carta sono presenti tutti gli stati membri dell'Unione Europea, compresa la Gran Bretagna (i dati si riferiscono al 2019), la Turchia, ed altri due stati membri dell'EFTA (Associazione Europea per il Libero Scambio) che sono Norvegia e Svizzera. Nel caso specifico la statistica, come si evince dalla legenda, assegna differenti colorazioni ai paesi in base ai chilogrammi di fungicidi e battericidi venduti nel 2019. La colorazione più scura indica i paesi in cui le vendite sono maggiori, più precisamente viene assegnata a quegli stati che superano i 6.867.376 kg venduti annui. Analizzando però in modo più approfondito i dati riguardanti le vendite di fungicidi del 2019 (Tabella 1), troviamo che anche tra i paesi che superano la soglia dei 6.867.376 kg ci sono delle differenze notevoli.

Tabella Errore. Nel documento non esiste testo dello stile specificato.**:** Classifica 10 paesi europei per Kg di fungicidi venduti (https://ec.europa.eu consultazione a settembre 2021)

Paese	Kg
Spagna	34.073.450
Francia	24.483.508
Italia	24.285.678
Turchia	19.332.899
Germania	10.217.440
Polonia	6.867.376
Regno Unito	6.056.984
Portogallo	5.767.487
Romania	4.020.810
Olanda	3.897.028
Finlandia	2.831.862
Ungheria	2.796.084
Belgio	2.449.418
Austria	2.068.059
Grecia	1.755.818

I dati riportati in tabella indicano che il consumo più alto di questi prodotti fitosanitari avviene in tre principali paesi europei: Spagna, Francia ed Italia. Importante sottolineare la quarta posizione della Turchia, che è sì presente in classifica (Tabella 1), ma sappiamo non essere parte dell'Unione Europea e quindi non verrà presa in considerazione (come la Svizzera e la Norvegia) in questa analisi, poiché in condizioni

politiche differenti rispetto agli altri stati riportati in tabella. Confrontando i chilogrammi di prodotti venduti, è possibile vedere che l'Italia consuma più di due volte i prodotti della Germania e che invece la Spagna ne consuma più del triplo. Diverse sono le teorie che possono dare spiegazioni a tali differenze nella vendita di fungicidi in Europa. L'Unione Europea è costituita da un insieme di stati molto diversi tra loro a livello morfologico, orografico e di conseguenza dal punto di vista agricolo. Una prima motivazione, quindi, può pervenire dalla differenza in termini di S.A.U. (superficie agricola utilizzata). La S.A.U. indica l'insieme dei terreni investiti a seminativi, orti familiari, prati permanenti e pascoli, coltivazioni legnose agrarie e castagneti da frutto. Essa costituisce la superficie investita effettivamente con colture agrarie. Il grafico (Figura 2), riporta la superficie agricola utilizzata di tutti i paesi che compongono l'Unione Europea.

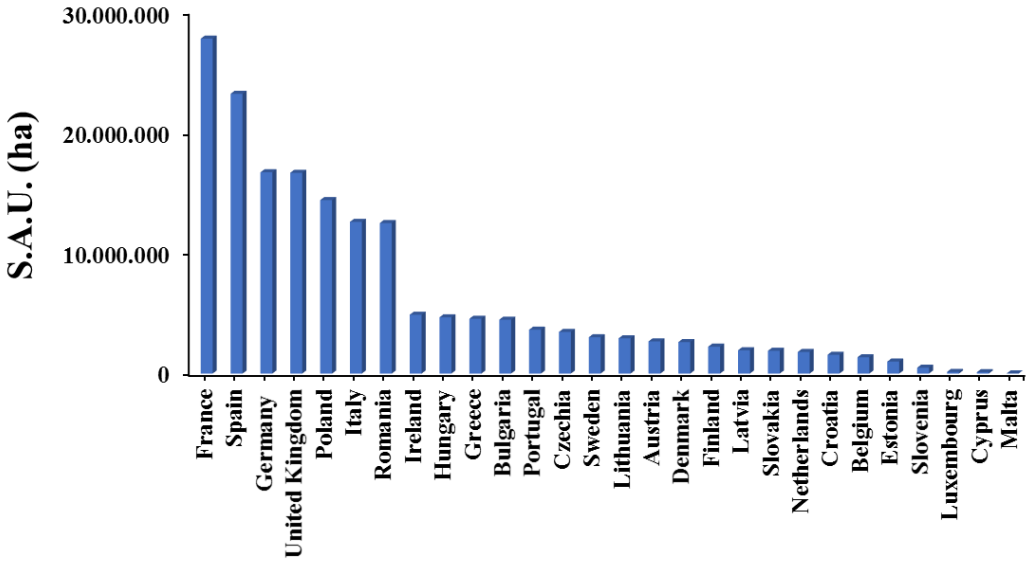

Figura 2: Superficie agricola utilizzata paesi Unione Europea (https://ec.europa.eu consultazione a settembre 2021)

La figura mostra che, al 2016, la Francia è il paese con la superficie agricola maggiore con 27.814.160 ha, a seguire la Spagna 23.229.750 ha, Germania 16.715.320 ha, Regno Unito 16.673.270 ha, Polonia 14.405.650 ha, Italia 12.598.160 ha, Romania 12.502.540 ha.

Confrontando le due tipologie di dati (Figura 3), è possibile dire che in determinati paesi la correlazione "vendita fungicidi" e "superficie agricola utilizzata" è una correlazione diretta, cioè a paesi con una S.A.U. elevata corrisponde una elevata vendita di fitofarmaci (Spagna, Francia).

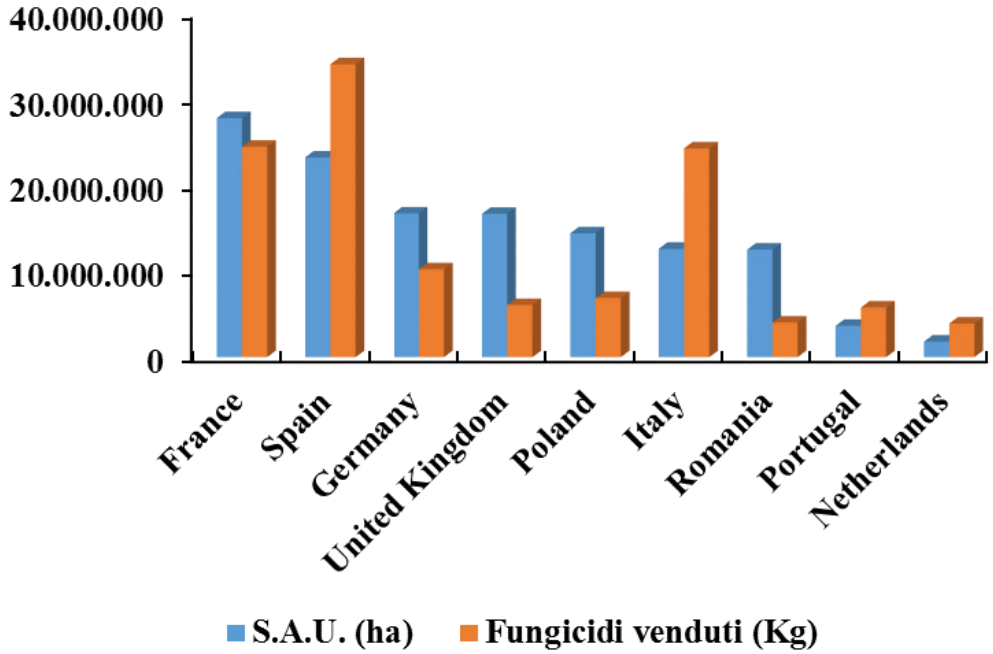

Figura 3: Confronto Kg fungicidi venduti e S.A.U. dei singoli paesi (https://ec.europa.eu, consultazione a settembre 2021)

Per molti altri paesi però è possibile notare che non esiste una correlazione diretta. La Germania, la Polonia, il Regno Unito, sono nazioni con una superficie superiore all'Italia ma hanno una vendita di fungicidi nettamente inferiore. Esemplare la statistica riguardante la Romania che ha una superficie agricola utilizzata pressoché identica alla superficie italiana, ma ha una vendita e quindi un consumo di fungicidi sei volte minore. La conclusione a questa analisi porta a dire che la grandezza degli stati (in termini di S.A.U.) influenza la vendita di prodotti fitosanitari, ma non è l'unica causa. L'altro elemento chiave che probabilmente permetterebbe di spiegare la differenza di consumo di fungicidi tra i paesi dell'Unione Europea è la destinazione d'uso dei terreni agricoli. È noto, infatti, che la differente coltivazione agricola richiede una differente gestione agronomica e la coltivazione di colture arboree generalmente

richiede un maggior utilizzo di prodotti fitosanitari. Il grafico (Figura 4), mostra le differenti superfici degli stati membri coltivate con *Permanent crops*.

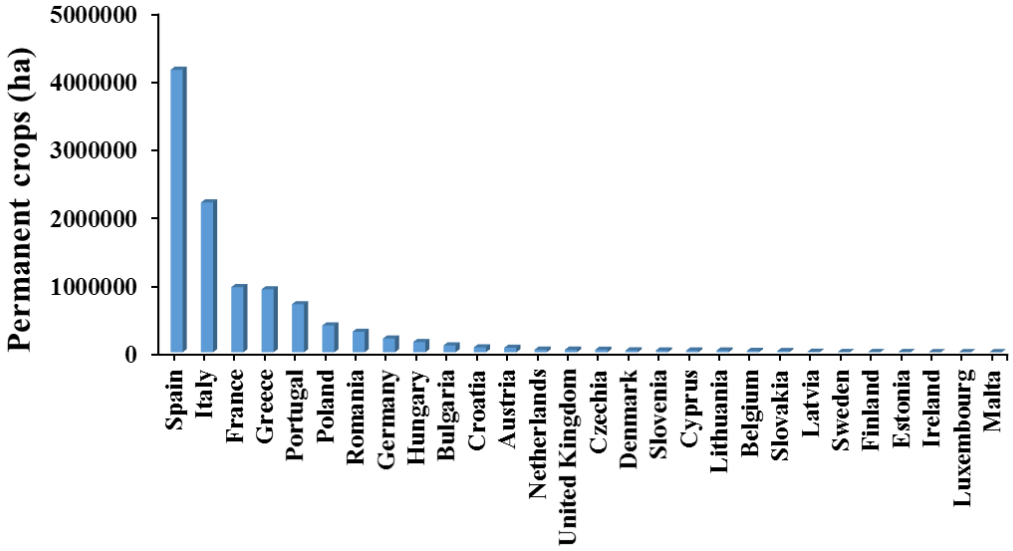

Figura 4: Superficie destinata a *Permanent crops* (https://ec.europa.eu, consultazione a settembre 2021)

Le colture permanenti sono generalmente colture legnose, ovvero alberi o arbusti, non coltivati in rotazione, ma che occupano il suolo e producono raccolti per diversi (di solito più di cinque) anni consecutivi. Le colture permanenti sono generalmente destinate al consumo umano, ma anche per altri scopi (es. alberi di Natale) e generalmente producono un valore aggiunto per ettaro più elevato rispetto alle colture annuali (https://ec.europa.eu). La figura mostra che i due paesi dominanti sono Spagna ed Italia, rispettivamente con 4.149.720 ha e 2.200.830 ha coltivati con colture permanenti, a seguire (con superfici molto minori) Francia con 956.890 e Grecia con 925.300. La statistica evidenzia che in molti paesi, maggiori sono le superfici coltivate con colture permanenti e maggiori sono le vendite di fungicidi e battericidi. Un'eccezione evidente è la Grecia che ha un basso consumo di fungicidi (rapportato agli altri Stati) ed un buon utilizzo di superfici con colture permanenti, però ha una superficie agricola utilizzata molto minore rispetto ai principali paesi utilizzatori di fungicidi. Al contrario il Regno Unito ha un significativo consumo di fungicidi, pochissime colture permanenti ma una S.A.U. tra le più grandi in Europa. Esemplare il caso italiano in cui si hanno elevatissimi consumi di questa tipologia di fitofarmaci, a dispetto di una S.A.U. totale molto minore rispetto ad altri paesi dell'Unione

Europea, ma ha una eleva presenza di superfici investite con colture permanenti. Caratteristico il fatto che i tre principali consumatori di fungicidi dell'Unione Europea sono anche i paesi che hanno, tra le colture permanenti, investito maggiormente le loro superfici in viticoltura. Spagna, Francia ed Italia al 2016 hanno rispettivamente 813.950 ha, 764.020 ha, 614.960 ha coltivati a vite (https://ec.europa.eu, consultazione a settembre 2021). In conclusione, è possibile affermare che molti sono i fattori che influenzano l'utilizzo di mezzi tecnici per la protezione delle colture in Europa. Le vendite di prodotti fitosanitari, in questo caso fungicidi e battericidi, sono solo un indice della presenza di malattie ed il consumo di fitofarmaci può essere influenzato da tanti altri fattori che non sono stati presi in considerazione, quali ad esempio: superficie destinata ad agricoltura biologica, burocrazia, prezzi dei fitofarmaci, grado di specializzazione delle aziende agricole, ecc. Ciò che è possibile dire con certezza è che l'uso di fungicidi è ancora oggi alla base delle strategie di protezione delle colture (anche se negli ultimi anni con numeri in discesa), ed inoltre i fungicidi rappresentano uno strumento ancora più fondamentale per i paesi come l'Italia, i quali hanno importanti superfici destinate a colture permanenti in particolare alla viticoltura.

1.3 La viticoltura in Italia e nelle Marche

L'Italia, paese letteralmente immerso nel mediterraneo, è storicamente un paese in cui la viticoltura ha da sempre rappresentato un'attività agricola di enorme importanza. La nascita della viticoltura può essere posizionata nel Vicino Oriente (Anatolia centrale, Siria, Mesopotamia settentrionale) attorno al 5.500 a.C. Il successivo sviluppo della viticoltura andò poi ad interessare zone del Mediterraneo, quali la Valle del Giordano, dove si hanno delle testimonianze che risalgono al 4.000 a.C., nonché l'Egitto, la Grecia e l'Italia. In quest'ultimo paese la viticoltura è arrivata e si è diffusa da Sud, più precisamente dalla Sicilia per opera di colonizzatori greci intorno al 1.500 d.C., da quel punto questa coltivazione ha preso piede, tanto che nel 700 a.C. la vite era diffusamente praticata in tutta l'Italia meridionale tanto che venne soprannominata dai colonizzatori greci "Enotria" (Palliotti et al., 2018). Ancora di più nei nostri giorni, la viticoltura riveste un ruolo economico e sociale veramente importante. La superficie vitata totale in Italia, nel 2020, è di circa 707.243 ettari (www.istat.it, settembre 2021), di questi 666.763 ettari sono superfici per uva da vino dei quali circa la metà dedicata

alla produzione di vini DOP (DOC e DOCG). La suddivisione della superficie totale tra vitigni a bacca bianca e nera è circa equivalente (49/51%). Il primo vitigno per ettari coltivati è il Sangiovese (10% del totale), seguito dal Trebbiano (9,6%, incluse le sue varietà abruzzese, romagnolo e toscano). Sorprende che il Catarratto sia al terzo posto (8,7%), molto vicino ai primi due e con superficie coltivata di gran lunga maggiore del Montepulciano, che segue al quarto posto (www.Quattrocalici.it, settembre 2021).

Le Marche sono una regione altamente vocata per la coltivazione della vite, le caratteristiche pedoclimatiche, la diversità del territorio e la presenza di vitigni autoctoni ne fanno una regione altamente importante soprattutto nella coltivazione di uva da vino. Gli ettari complessivi nel 2021 sono poco più di 16.000 (www.istat.it, settembre 2021) ed è praticamente assente la coltivazione di uva da tavola, questo ne fa la prima coltura arborea coltivata nelle Marche. Nella regione esiste un'ampia variabilità genetica, con 206 varietà censite, ma i vitigni principalmente coltivati sono Sangiovese, Montepulciano, Verdicchio e Trebbiano Toscano, i quali interessano più del 70% della superficie vitata, seguiti da Pecorino, Passerina, Biancame e Maceratino o Ribona (a bacca bianca), Vernaccia nera e Lacrima (a bacca nera). Accanto a questi, sono presenti altri vitigni autoctoni di un certo interesse enologico e per i quali è in atto un lavoro di valorizzazione che, a partire dalla sperimentazione, coinvolge l'intera filiera (Romanazzi, 2006). Inoltre, la viticoltura marchigiana presenta delle superfici vitate investite in vitigni internazionali (Chardonnay, Merlot, Sauvignon, Cabernet Sauvignon, Sirah, ecc.), coltivati con successo e inseriti in alcuni disciplinari di produzione. Numerose quindi sono le aziende vitivinicole che operano in questo territorio, producendo ad esempio nel 2019 circa 877 662 ettolitri tra vino e mosto (www.istat.it, settembre 2021). Inoltre, i vini hanno raggiunto degli ottimi standard qualitativi, infatti, nelle Marche hanno ottenuto il riconoscimento della Denominazione di Origine Controllata e Garantita (DOCG) cinque vini: la Vernaccia di Serrapetrona, il Conero Riserva, il Verdicchio castelli di Jesi riserva, il Verdicchio di Matelica riserva e l'Offida. Oltre alle cinque DOCG, quasi tutto il territorio regionale è interessato da una o più delle 15 aree definite a Denominazione di Origine Controllata (DOC), consultabili in Figura 5. Fra queste le più importanti per numero di iscritti e dimensione territoriale risultano il Rosso Piceno e il Verdicchio dei Castelli

di Jesi. Altrettanto significativi anche se con aree di diffusione più limitate sono: il Verdicchio di Matelica, il Falerio dei Colli Ascolani, i Colli Maceratesi, il Rosso Conero, l'Esino, i Colli Pesaresi e il Bianchello del Metauro. Vanno citate, infine, le DOC Lacrima di Morro d'Alba e la Vernaccia di Serrapetrona che, se pure limitate a territori comunali, stanno riscontrando un ottimo successo di mercato. Tra le aree DOC troviamo inoltre i Terreni di San Severino, Offida, e di recente quelli di Pergola e San Ginesio.

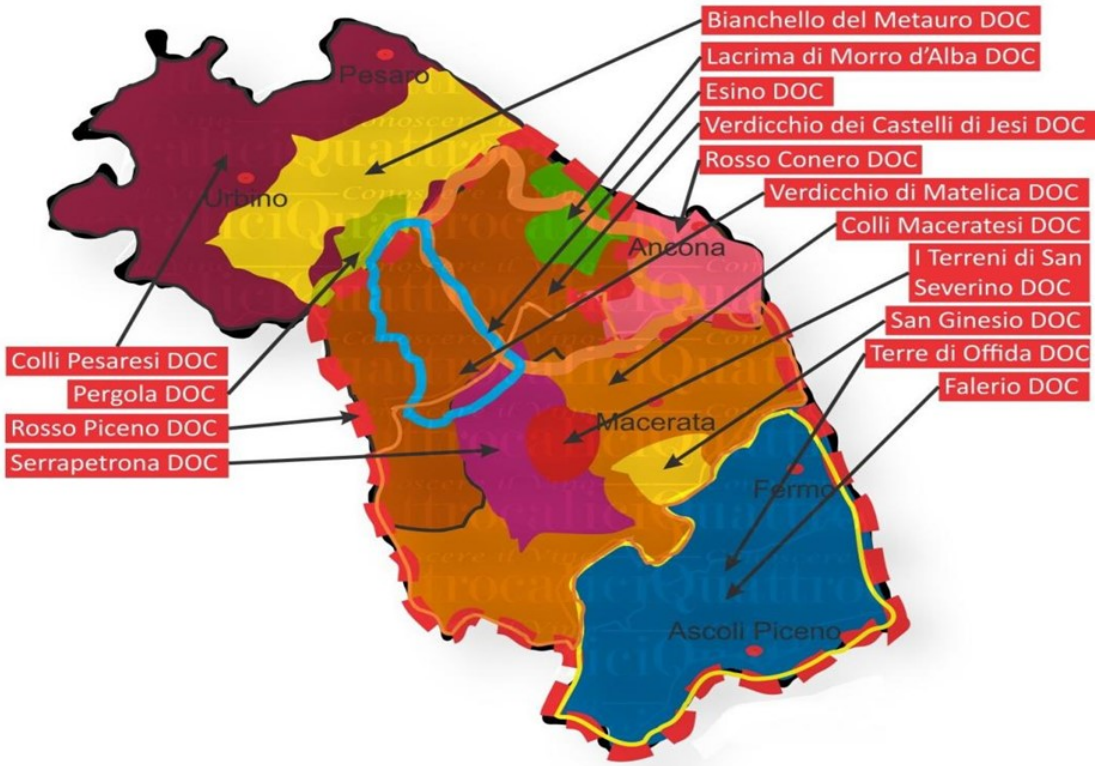

Figura 5: Areali di produzione Denominazione di Origine Controllata nelle Marche (www.Quattrocalici.it 2017, consultazione a settembre 2021)

1.4 Le principali malattie della vite

Differenti sono le malattie che possono affliggere la vite durante il suo ciclo di vita, come tutte le colture agrarie però sono le malattie crittogamiche quelle che interessano di più e costantemente la coltura e che più necessitano interventi da parte del personale addetto. La comparsa delle malattie su scala aziendale è dettata da diversi fattori, soprattutto: climatici, di gestione agronomica e suscettibilità delle cultivar. Molti sono stati i passi avanti per la definizione di strategie di protezione che possano contrastare

l'effetto della malattia sulle singole piante, ad oggi basate su criteri di lotta guidata e integrata, mediante l'utilizzo di principi attivi costantemente aggiornati per efficacia e per sostenibilità. La peronospora della vite è sicuramente tra le malattie che più condizionano la viticoltura a livello mondiale, in quanto malattia endemica quindi sempre presente nel vigneto, ovviamente non sono da sottovalutare anche molte altre malattie (Tabella 2).

Tabella 2: Principali avversità crittogamiche della vite

Malattia fungina	Agente causale
Peronospora	*Plasmopara viticola*
Oidio	*Erysiphe necator*
Muffa grigia	*Botrytis cinerea*
Mal dell'esca	*Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitipora mediterranea*, *Phaeoacremonium minimum*
Escoriosi	*Phomopsis viticola*
Verticillosi	*Verticillium dahliae*
Marciume nero	*Guignardia bidwelli*
Marciume radicale fibroso	*Armillarea mellea*
Marciume radicale lanoso	*Rosellina necatrix*

2 LA PERONOSPORA DELLA VITE

2.1 STORIA

La peronospora della vite è una malattia causata dall'agente patogeno *Plasmopara vitcola* (Berk. & Curt; Berl. et de Toni), ed è considerata in molte parti del mondo la malattia più grave della vite in considerazione degli ingenti danni che riesce a causare. La malattia è originaria dell'America settentrionale dove non risulta causasse eccessive perdite alle coltivazioni locali, giunse poi in Europa, grazie alle viti importate per poter essere utilizzate come portinnesti resistenti nei confronti della fillossera. La peronospora è stata segnalata per la prima volta in Europa nel 1878, in alcuni vivai francesi della regione di Bordeaux (Belli, 2012). Nel giro di pochissimi anni la malattia si è diffusa in tutto il continente, ma la prima vera dimostrazione del

suo potenziale distruttivo è stata nel 1893, quando il 50% della produzione francese è andata persa a causa di un attacco epidemico (Paolocci, 2012). Il patogeno ha colpito molto più duramente il vecchio continente perché mentre le specie americane sono piuttosto tolleranti, *Vitis vinifera* si è rivelata estremamente suscettibile al patogeno, rendendo il suo arrivo in Europa disastroso. La peronospora è ormai diventata una malattia endemica, cioè il microrganismo è stabilmente presente in un territorio, e costantemente affligge i vigneti di tutto il mondo.

2.2 AGENTE EZIOLOGICO

Plasmopara viticola è un organismo eucariote che appartiene al clade (gruppo costituito da un antenato singolo comune e da tutti i discendenti di quell'antenato) degli *Straminipila,* regno dei *Chromista,* classe *Oomycetes,* ordine *Peronosporales.* Prima della costituzione del nuovo regno, questo agente patogeno era classificato all'interno del regno *Mycota,* quindi anche se con differenze visibili, è un organismo eucariote che può essere considerato un fungo in senso lato, in virtù della sua capacità di formare un micelio costituito da ife a crescita apicale, di assorbire composti organici da utilizzare a scopo alimentare e di produrre spore sessuate e asessuate. L'agente eziologico della peronospora della vite è un parassita obbligato, di conseguenza il suo sviluppo non può prescindere dallo sviluppo della pianta ospite. Il patogeno forma all'interno dei tessuti della pianta ospite un micelio intercellulare, asettato (come tutti gli oomiceti), localizzato nelle foglie e soprattutto nel tessuto lacunoso. Per l'acquisizione di sostanze nutritive, il patogeno forma dal micelio all'interno della cellula ospite (mediante invaginazione del plasmalemma) delle strutture specializzate di nome austori (Belli, 2012).

2.3 CICLO BIOLOGICO

Il ciclo biologico annuale di *P. viticola* è garantito dalla sua capacità di sopravvivere in mancanza dei tessuti recettivi della pianta ospite sotto forma di oospore svernanti contenute nel mesofillo dei residui vegetali presenti nel suolo (Figura 6). Queste ultime sono prodotte dalla riproduzione sessuata di anteridi e oogoni negli organi infetti dell'ospite tra la fine dell'estate e la fase di filloptosi. Le oospore acquisiscono la capacità di germinare al termine di un periodo di maturazione che generalmente viene

conseguita tra la fine di novembre e l'inizio di dicembre e porta alla formazione del macrosporangio. Il macrosporangio si forma in presenza di un adeguata umettazione del terreno e temperature medie o superiori ai 10°C, la sua formazione permette così l'inizio della riproduzione asessuata. Gli sporangi sono differenziati su ramificazioni dette rami sporangiofori, che emergono dagli stomi e producono rami laterali ad angolo retto rispetto all'asse principale. Ciascun sporangio origina in media da 5 a 8 zoospore, queste generalmente uninucleate, ed a maturità fuoriescono dall'apice dello sporangio. Le zoospore sono fornite di due flagelli (biflagellate) di differente lunghezza e struttura, l'uno a frusta e l'altro a piuma che ne consentono i movimenti nell'acqua per un periodo di tempo compreso tra i 20 e i 30 minuti e ne permettono il raggiungimento della superficie fogliare grazie all'effetto battente della pioggia e al vento. Segue la fase di incistamento, durante il quale viene formata la parete cellulare e che prelude alla germinazione mediante emissione di un tubo germinativo. La penetrazione del tubo germinativo avviene esclusivamente per via stomatica. Tutto ciò porta all'infezione primaria delle foglie e degli acini e quindi alla comparsa dei sintomi in primavera, soprattutto sulle foglie. Principalmente, le condizioni che influenzano la riuscita delle infezioni primarie sono tre: la natura e la quantità dell'inoculo iniziale in termini di macrosporangi vitali; le condizioni ambientali, in particolare disponibilità di acqua e di temperature adeguate; infine, la presenza di organi recettivi nell'ospite. Quest'ultima condizione prevede che le foglie siano fotosinteticamente attive, dotate quindi di stomi aperti e disposte in maniera distesa per favorire la formazione di un velo d'acqua sulla pagina inferiore. La massima sensibilità delle foglie alla peronospora è quando raggiungono un diametro di circa 3 cm, mentre con la maturazione tendono ad essere meno suscettibili (Boso et al., 2005). Successivamente possono seguire le infezioni secondarie, perché il patogeno è in grado anche di riprodursi agamicamente e dopo l'infezione primaria (es. nelle foglie), in presenza di condizioni favorevoli, possono susseguirsi un numero variabile di cicli di riproduzione asessuata durante l'anno, ognuno dei quali può portare alla sporulazione e quindi alla formazione di nuovi sporangi che libereranno nuove zoospore e che infetteranno nuova vegetazione suscettibile. In estate inoltrata avviene la riproduzione sessuata. Questa è probabilmente stimolata dalla senescenza dei tessuti infetti, dal verificarsi delle precipitazioni nonché dall'instaurarsi di temperature comprese tra i 14 ed i 18 gradi

centigradi. La riproduzione sessuata ha inizio con la differenziazione dell'organo sessuale maschile, l'anteridio (forma sottile ed allungata) e dell'organo sessuale femminile, l'oogonio (forma globosa). I due organi sessuali si avvicinano e grazie alla formazione di un tubetto di fertilizzazione da parte dell'oogonio, i nuclei dell'anteridio passano all'oogonio stesso. In seguito all'appaiamento tra un nucleo dell'anteridio ed uno dell'oogonio ha inizio la differenziazione dell'oospora (Belli, 2012). Le oospore si differenziano principalmente all'interno delle cosiddette "macchie a mosaico". Le oospore appena formate non sono immediatamente in grado di germinare, ma devono essere prima soddisfatti requisiti come: ispessimento della parete, formazione dell'ooplasto (vacuolo centrale contenente sostanze di riserva) e fusione dei due nuclei di diversa provenienza. Una volta superato l'inverno, le oospore che riescono a germinare daranno origine ad uno sporangio piriforme (detto macrosporangio), che darà inizio ad un nuovo ciclo di infezione.

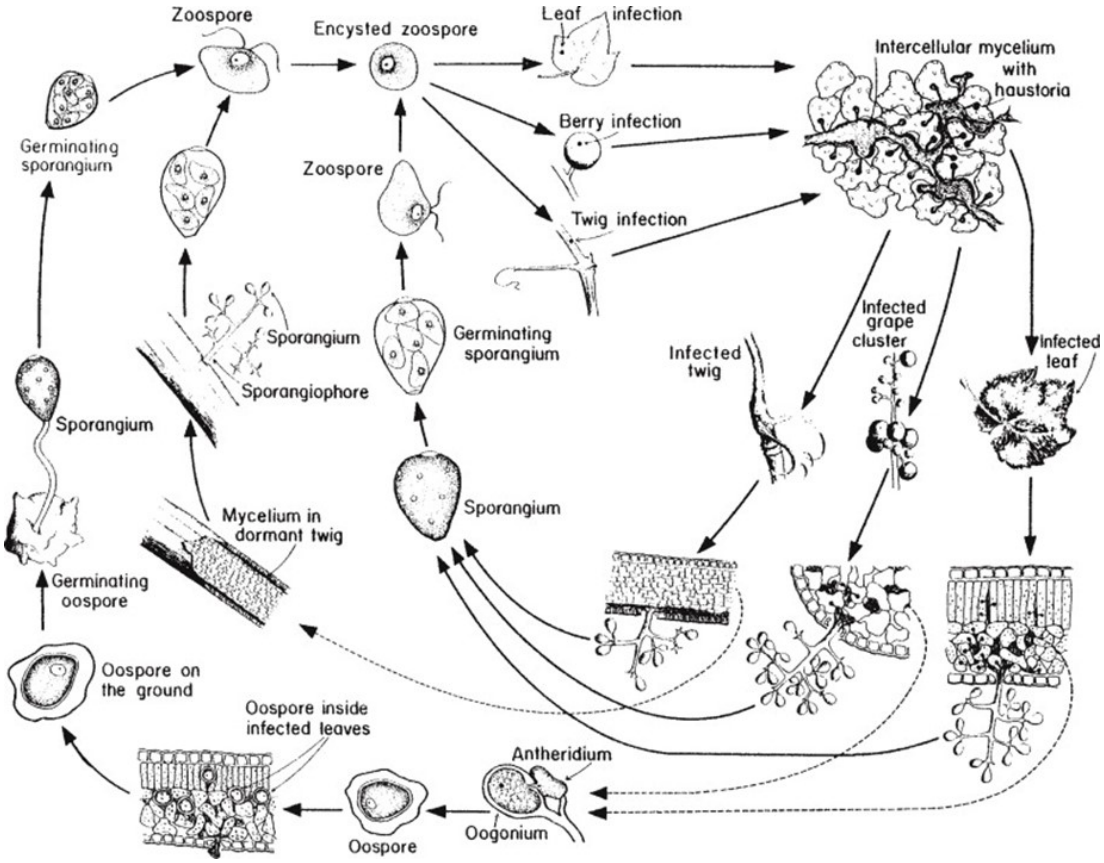

Figura 6: Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Plasmopara viticola* (Jackson, 2008)

2.4 CONDIZIONI PER LO SVILUPPO

Diverse sono i fattori che influenzano la comparsa e lo sviluppo della malattia nell'arco dell'annata agraria. Come già descritto precedentemente, è possibile definire "l'inizio" del ciclo biologico con la germinazione delle oospore, le quali raggiungono il loro massimo periodo di germinabilità tra la fine di gennaio e la fine di aprile. L'andamento climatico porta a forti variazioni della dinamica di germinazione delle oospore, elevate disponibilità idriche sono correlate ad abbondanti germinazioni ed è per questo motivo che diminuiscono progressivamente nel corso della stagione. Anche la formazione del macrosporangio è influenzata dall'andamento climatico, questa avviene solo in presenza di un adeguata umettazione del terreno e temperature medie vicine o superiori a 10°C. Le più importanti condizioni riguardanti la peronospora della vite sono quelle che rendono possibile il verificarsi delle infezioni primarie. Queste sono elencate nella cosiddetta regola empirica "dei tre 10" messa a punto da Baldacci nel 1947; essa prevede che l'infezione primaria possa avvenire quando: la temperatura si è stabilizzata intorno ai 10°C, si siano verificate una o preferibilmente più precipitazioni di almeno 10mm di pioggia nel giro di 24-48 ore e la lunghezza dei tralci sia pari o superiore ai 10 cm. Ma non solo, l'andamento meteorologico influenza anche il periodo di incubazione (lasso di tempo che intercorre tra il momento in cui avviene l'infezione e quello in cui si osserva il tipico sintomo a "macchia d'olio"), infatti esso ha in genere una durata di 11-15 giorni in corrispondenza di temperature pari a 14°C, ma diminuisce fino ad un minimo di 4-5 giorni con temperature comprese tra i 21°C e i 25°C. Se le temperature sono superiori a quest'ultimo valore, la durata del periodo d'incubazione tende a diventare più lunga. Gli sporangi responsabili delle infezioni secondarie invece si originano a seguito di almeno 4 ore di buio con temperatura maggiore di 13°C e umidità relativa che si aggira intorno al 98%. Queste infezioni sono strettamente legate alla temperatura in quanto se si presentano valori inferiori a 5°C o superiori a 29°C si ha una perdita di vitalità degli sporangi e una riduzione drastica delle probabilità di infezione (Belli, 2012). Complessivamente è possibile affermare che un andamento climatico troppo caldo risulta essere un fattore limitante lo sviluppo della peronospora. Sbalzi termici nel periodo invernale, possono causare una germinazione anticipata delle oospore, che in assenza di vegetazione recettiva non possono costituire inoculo valido. Le alte temperature (superiori a 29-30°C) allungano

la durata del periodo di incubazione oltre i 15 giorni e l'evasione del patogeno si arresta a 32°C. In primavera ed autunno la temperatura ottimale di 20-24°C riduce a soli 3-4 giorni il periodo d'incubazione (si tratta di una situazione eccezionale). Il clima tendenzialmente asciutto rappresenta il principale fattore di limitazione per la pericolosità della peronospora sia perché le zoospore necessitano della presenza di un velo liquido per potersi muovere sia perché la siccità ostacola la germinazione delle spore in primavera, mentre nel periodo autunno-invernale ne ostacola la maturazione. Nelle zone calde, ad esempio quelle del sud Italia, le infezioni secondarie sono spesso bloccate durante l'estate e riprendono in autunno in quanto la produzione dell'inoculo avviene solo in presenza di elevata umidità relativa.

2.5 SINTOMATOLOGIA E DANNI

La peronospora è una malattia che colpisce tutti gli organi verdi della pianta in quanto il patogeno attacca l'ospite penetrando attraverso gli stomi. I danni provocati da questa malattia possono essere distinti in diretti o indiretti in base alla relazione con l'attività del patogeno stesso. Si parla di danni diretti quando si ha un calo della produzione o di superficie fotosintetizzante a causa dello sviluppo del patogeno, mentre i danni indiretti riguardano il peggioramento della salute della pianta e la minore qualità del prodotto finale in termini di zuccheri, aromi ed altri componenti minori, nonché le ripercussioni negative sulle annate successive a causa di un ridotto accumulo di sostanze di riserva. Nel complesso, i danni da peronospora dipendono dalla fase fenologica e dal momento dell'infezione e determinano un generale deperimento sanitario della pianta che diventa più suscettibile anche ad altre fitopatie.

2.5.1 Sintomi su foglie

Le foglie sono il primo organo della pianta dove si possono vedere i sintomi derivanti dall'attacco da *P. viticola*. La loro comparsa sulle foglie non può avvenire quando queste sono ancora giovani, cioè hanno un diametro inferiore a 2 cm, perché presentano aperture stomatiche non differenziate o poco numerose che le rende praticamente insensibili alla peronospora. Diventano suscettibili invece quando presentano stomi funzionanti e, come conseguenza dell'infezione, le foglie mostrano i sintomi della malattia. Il più classico sintomo della peronospora della vite è dato dalla

comparsa sulla pagina superiore delle foglie di una macchia giallastra traslucida che viene comunemente chiamata “macchia d’olio” (Figura 7). Le macchie possono localizzarsi ai bordi fogliari, dove assumono un aspetto irregolare, ma generalmente sulle foglie giovani assumono una forma tondeggiante di dimensioni variabili. Se l’infezione è precoce la malattia può provocare gravi danni in quanto la macchia d’olio tende a necrotizzare (dal centro alla periferia). Questo provoca nella peggiore delle ipotesi la parziale defogliazione della vite, che si traduce in un drastico peggioramento quanti-qualitativo della produzione dell’anno e si può ripercuotere anche sulle produzioni degli anni futuri influenzando negativamente i processi di accumulo di sostanze di riserva e di lignificazione dei tralci. Le foglie di vite, con l’aumentare dell’età diventano meno sensibili agli attacchi di peronospora, con la crescita e l’ispessimento dei tessuti stessi infatti tendono ad acquisire una resistenza ontogenetica, cioè un complesso di variazioni fenotipiche della suscettibilità della pianta che dipendono dall’età degli organi vegetali. Lo sviluppo delle ife del patogeno quindi è limitato in quanto le nervature creano delle barriere naturali che provocano degli ingiallimenti “a mosaico” tra una nervatura e l’altra. Al verificarsi delle opportune condizioni climatiche la macchia d’olio porta alla formazione una efflorescenza muffosa biancastra costituita dalle strutture di riproduzione asessuata (sporangi, rami sporangiofori) del patogeno (Figura 7). Molto raramente le sporulazioni possono comparire sulla pagina superiore della foglia. Sempre raramente la sporulazione può comparire in assenza di macchia d’olio in delle varietà più suscettibili come la Corvina (Belli, 2012). Gli attacchi tardivi sulle foglie sono molto frequenti, ma di solito non influenzano la produzione. Se tali infezioni sono gravi e si verificano prima della maturazione, la conseguente defogliazione può limitare l'accumulo di zuccheri nei grappoli.

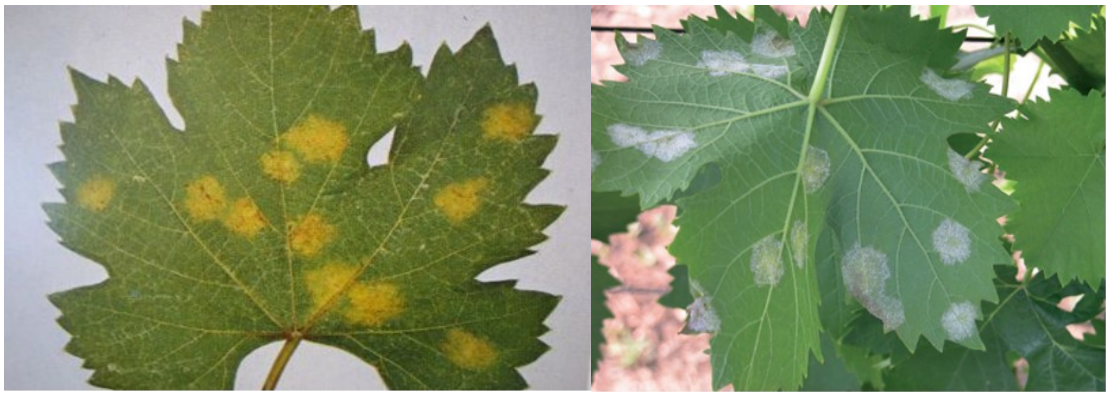

Figura 7: Tipici sintomi a "macchie d'olio" di peronospora sulla pagina superiore della foglia di vite e sporulazione sulla pagina inferiore in corrispondenza delle macchie d'olio

2.5.2 Sintomi su infiorescenze e grappoli

Anche le infiorescenze risultano essere suscettibili a *P. viticola* e vi si possono riscontrare sintomi ben riconoscibili. A differenza delle foglie, l'ingiallimento che si riscontra avvenuta l'infezione primaria, è solitamente poco pronunciato, al contrario la sporulazione che ricopre fiori e rachide evidenzia la presenza del patogeno. Nel caso di attacchi precoci (dalla prefioritura fino a fine fioritura) si ha la necrosi dell'intera infiorescenza, in altri casi l'attacco al rachide induce un imbrunimento ed un incurvamento dello stesso che assume una tipica "forma ad esse" (Figura 8) causata dall'arresto della crescita dei tessuti infetti. Gli attacchi di peronospora sui grappoli sono estremamente temibili dal punto di vista produttivo, a carico delle infiorescenze le infezioni possono essere gravi e causare forti perdite soprattutto nelle annate più umide. La sindrome che dopo l'allegagione comincia a comparire sul grappolo prende il nome di "peronospora larvata" e conferisce agli acini il caratteristico colore bruno senza la presenza di micelio (Figura 8). La peronospora larvata si manifesta maggiormente nelle estati fresche e piovose, condizioni che consentono estesi attacchi tardivi (Pertot et al., 2007). In questa seconda forma non si osserva sporulazione, questo è dovuto alla degenerazione degli stomi che impedisce la fuoriuscita dei rami sporangiofori dai tessuti colonizzati. La resistenza ontogenetica degli acini appena allegati si manifesta in maniera variabile in funzione sia della cultivar che delle variazioni stagionali che influenzano i tempi della fioritura (Kennelly, 2007). Su piante in produzione i danni maggiori sono provocati dagli attacchi in fioritura-allegagione

in quanto in tale fase fenologica le infezioni ai grappoli riducono drasticamente la produzione (periodo critico).

Figura 8: Tipico ripiegamento ad "esse" del rachide di un giovane grappolo a seguito dell'infezione peronosporica (a sinistra). Sintomi di peronospora larvata (a destra), con evidente imbrunimento e disidratazione delle bacche

2.5.3. Sintomi su altri organi verdi

Anche altre parti della pianta possono mostrare sintomi riconducibili alla peronospora, infatti tutti gli organi verdi, con stomi differenziati ed attivi, possono essere colpiti, ma le infezioni si manifestano molto più raramente rispetto a foglie e grappoli. I germogli erbacei sono attaccati soprattutto vicino ai nodi (Figura 9) o in maniera indiretta, attraverso infezioni dei piccioli fogliari. In questo ultimo caso l'agostamento dei tralci è impedito con conseguente esposizione a danni da freddo in inverno. Il primo sintomo che si evidenzia è una leggera clorosi, raramente seguita dalla tipica sporulazione dell'oomicete. L'infezione raramente interessa l'intera circonferenza del germoglio e molto spesso invece resta confinata nei tessuti superficiali dell'organo colpito. Le porzioni colpite presentano allessature ed imbrunimenti. In caso di infezioni precoci la parte terminale del germoglio o del viticcio presenta un portamento contorto legato a fenomeni di ipertrofia cellulare. Per quanto riguarda invece la fase di lignificazione,

questa può ugualmente essere interessata da fenomeni di infezione che provocano sintomi più lievi come limitate lesioni dei tessuti corticali e piccoli cancri. In conclusione, si può dire che le conseguenze causate da un attacco peronosporico in qualsiasi organo della vite possono essere gravi e problematiche sia per la produzione annuale che per le produzioni future e pertanto bisogna conoscere il patogeno e le relative strategie di protezione per contenerlo.

Figura 9: Imbrunimenti di giovani germogli di vite, determinati da un attacco di *Plasmopara viticola*

3 OIDIO DELLA VITE

3.1 STORIA

L'oidio della vite è una malattia originaria del Nord America, come per molti altri patogeni la sua diffusione è stata dettata dai commerci che hanno caratterizzato il diciannovesimo secolo tra il vecchio ed il nuovo continente. Probabilmente il patogeno è stato introdotto in Europa importando viti americane. In Europa il patogeno che causa questa malattia ha trovato le condizioni ottimali per la sua diffusione epidemica: condizioni climatiche favorevoli ed elevata suscettibilità del suo ospite (*V. vinifera*) che si era evoluta in sua assenza. Al contrario la malattia ha causato pochi danni sulle

viti americane, con le quali ha, probabilmente, condiviso la propria evoluzione. Nel 1834 Von Schweinitz, nell'America settentrionale descrisse per la prima volta la malattia su specie americane *Vitis.* In Europa, la malattia fu osservata per la prima volta nel 1845 nel sud-est dell'Inghilterra dal giardiniere Tucker: due anni dopo il botanico reverendo J. Berkley propose l'identificazione di una nuova specie nominata *Oidium tuckeri,* in onore dello stesso giardiniere. L'oidio, che già nel 1850 era presente in Francia, a causa della elevata suscettibilità della vite europea e della mancanza delle misure di contenimento, si diffuse dapprima su tutto il territorio francese, determinando un dimezzamento della produzione del vino, ma poi raggiunse tutte le aree viticole d'Europa e del Mediterraneo, riuscendo a raggiungere anche paesi asiatici. Oggi è diffuso in tutte le aree di coltivazione della vite.

3.2 AGENTE EZIOLOGICO

L'oidio della vite, conosciuto anche come mal bianco o mal dello zolfo, è una malattia fungina causata dall'ascomicete *Erysiphe necator* Schwein (forma anamorfa *Oidium tuckeri* Berk), appartenente alla classe degli *Leotiomycetes*, ordine *Erysiphales*, famiglia *Erysiphaceae*. È un parassita obbligato, il micelio originatosi indifferentemente da conidi o ascopore, cresce sulla superficie di tutti gli organi non lignificati della vite (ectoparassita). Il fungo è costituito da ife irregolarmente settate, da conidiofori e conidi. Le ife sono molto sottili e aderiscono alla superficie dell'ospite mediante numerosi appressori multilobati e infettano unicamente le cellule epidermiche dalle quali assorbono elementi nutritivi per mezzo di austori globosi. I conidiofori sono multisettati, eretti, lunghi da 10 a 400 µm. I conidi hanno una forma cilindrica-ovoidale, con dimensioni che vanno tra i 14-16 x 28-45 µm e rimangono associati in catene costituite da 4-5 elementi fino al momento della loro dispersione che è prevalentemente anemofila. Dopo la germinazione provvederanno alla formazione di un tubo germinato (che poi formerà l'appressorio), lo stiletto e l'austorio. (Belli, 2012). Il patogeno colpisce *V. vinifera* praticamente in tutti gli areali di coltivazione, causando gravi decrementi produttivi e scadimenti qualitativi (Calonnec *et al.,* 2004), con perdite economicamente rilevanti.

3.3 CICLO BIOLOGICO

In Italia è stato accertato che l'agente patogeno può svernare sotto due forme: come micelio latente nelle gemme (infettate tra la fine dell'estate e l'inizio autunno) e come cleistoteci (derivanti dalla riproduzione sessuata), quest'ultima è molto più prevalente rispetto alla precedente (Figura 10). La prima forma di svernamento è tipica delle regioni con inverni molto miti ed è fortemente ostacolata dalle basse temperature invernali; infatti, temperature inferiori a -12°C possono provocare la morte del micelio all'interno della gemma di vite. Mentre lo svernamento attraverso i cleistoteci è tipico di tutte le zone con inverni freddi. In base alla modalità con cui l'agente patogeno sverna è possibile distinguere due tipi di infezioni: conidiche e ascosporiche. La prima tipologia di infezione avviene nel caso il patogeno abbia svernato sotto forma di micelio latente. È facilmente riconoscibile in quanto il micelio è localizzato sugli abbozzi fogliari della gemma, inoltre tra il germogliamento e la fioritura sono ben visibili i germogli a bandiera che sono localizzati solitamente tra la terza e la quinta gemma dalla base del tralcio. Sul loro micelio si differenziano conidiofori e conidi che poi grazie al vento potranno essere dispersi. I conidi hanno la capacità di germinare a partire da livelli di umidità relativa molto bassa (del 20%) grazie alla presenza di grossi vacuoli contenenti acqua endogena. A seguito della germinazione, si formerà un tubo germinativo, poi un appressorio che entrando a contatto con l'ospite innescherà l'infezione. Le infezioni ascosporiche avvengono quando il patogeno ha svernato sotto forma di cleistoteci. Questi corpi fruttiferi contengono da 4 a 6 aschi a maturità, ciascuno dei quali contiene da 4 a 7 ascospore ialine ovato-globose. L'infezione ha inizio quando a seguito dell'apertura dei cleistoteci si disperdono le ascospore, che grazie al vento e alle piogge arrivano sulle viti dalle fessure del ritidoma. Nelle zone con climi molto miti si possono rilasciare le ascospore già nella tarda estate, causando così infezioni tardive nella stessa stagione vegetativa (Rossi et al., 2010; Gadoury et al., 2011). Una volta maturi, in primavera deiscono bagnati dalla pioggia, dalla nebbia o dalle irrigazioni, in un periodo compreso tra il germogliamento e la fioritura della vite (Rossi et al., 2010), permettendo agli aschi di liberare le ascospore che germinano sulla superficie vegetale producendo un singolo tubetto germinativo che termina in un appressorio lobato che entrando a contatto con l'ospite ne procurerà l'infezione. In entrambe le tipologie di infezione, a seguito dell'infezione primaria il patogeno entra in un periodo di latenza, cioè quel periodo che intercorre tra l'infezione e la

sporulazione (Belli, 2012). Il ciclo biologico del patogeno può considerarsi concluso con la formazione dell'inoculo svernante che può essere: micelio latente nelle gemme oppure formazione di cleistoteci. Nel primo caso il micelio contamina le gemme precocemente, molto probabilmente tra le fasi fenologiche di 3-9 foglie sviluppate, dopo il suo insediamento rimane latente fino alla primavera successiva. Invece i cleistoteci si formano a seguito dell'incontro tra miceli sessualmente compatibili. Come *P. viticola*, anche *E. necator* è in grado di riprodursi asessualmente e generalmente compie più cicli di patogenesi durante la stagione vegetativa; per questo motivo vengono definiti "patogeni policiclici".

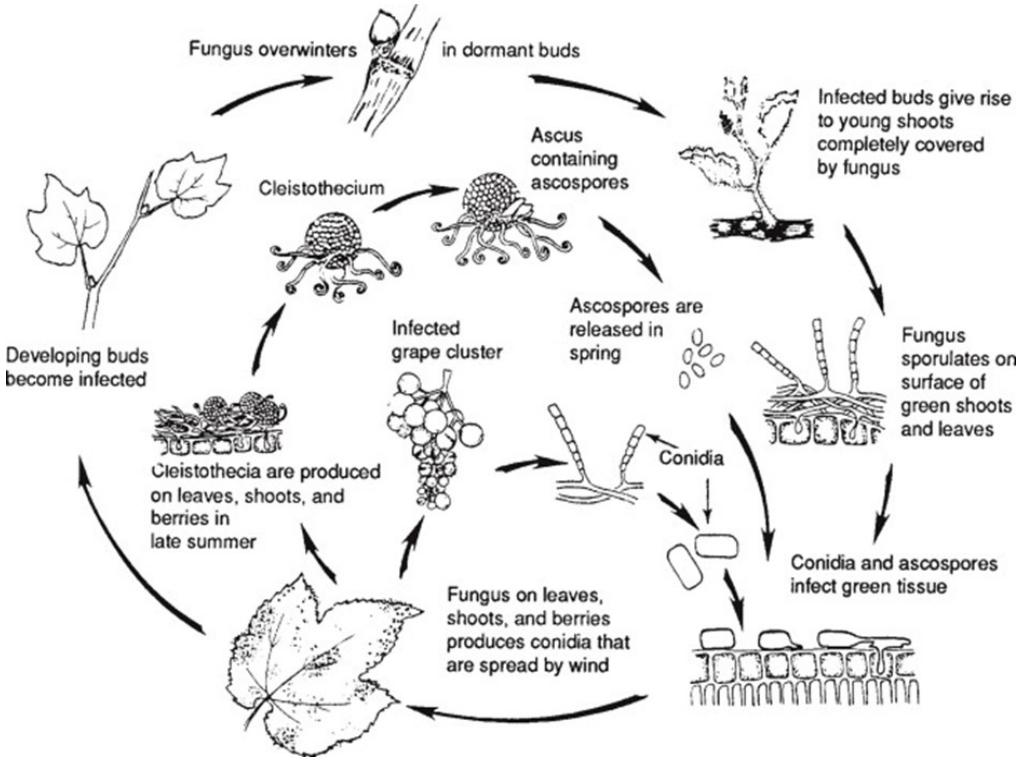

Figura 10: Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Erysiphe necator* (Jackson, 2008)

3.4 CONDIZIONI PER LO SVILUPPO

Come per tutti i patogeni lo sviluppo è fortemente influenzato da fattori climatico-ambientali. Per quanto riguarda le infezioni conidiche, la germinazione avviene in un ampio intervallo termico, tra 6 e 33°C, ed è regolata principalmente dalla temperatura. Nell'intervallo termico 22-28°C, in dodici ore germina l'80% dei conidi. Risultano limitanti le temperature superiori a 36°C in quanto possono devitalizzare le colonie più

esposte in alcune ore, ma nelle parti più interne ed ombreggiate della chioma della pianta, le colonie possono sopravvivere e tornare successivamente a sporulare; nelle foglie più esposte, infatti, la temperatura delle superficie può essere più alta di 15°C rispetto alle foglie più ombreggiate (Gadoury et al., 2011). I conidi non sopravvivono a temperature superiori a 40°C. Anche il micelio è devitalizzato dalle alte temperature (sono necessarie 10 ore di esposizione a 36°C o solo 6 ore a 39°C). Anche le infezioni ascosporiche sono fortemente influenzate dall'andamento climatico. L'apertura dei cleistoteci avviene in seguito ad almeno 2,5 mm di pioggia, inoltre l'intervallo di temperatura ottimale per poter far avvenire l'infezione primaria si attesta nell'intervallo 10-25°C sia in acqua sia con umidità relativa superiore al 54%. Complessivamente è possibile affermare che il fungo può vegetare da 6 a 32°C, ma le temperature ottimali per le infezioni e lo sviluppo della malattia sono di 20-27°C. Le piogge sfavoriscono gli attacchi di oidio. La pioggia battente contrasta lo sviluppo di epidemie in quanto rimuove (dilavandoli) i conidi ed il micelio dalla superficie degli organi infetti. Al contrario di quanto visto per la peronospora, la presenza di acqua sulla pianta è un ostacolo alla germinazione dei conidi che spesso si deformano come conseguenza di un'eccessiva pressione di turgore cellulare. Per contro, l'aumento di umidità relativa che si ha dopo la pioggia stimola una maggiore produzione di conidi. Raramente l'umidità diventa fattore limitante in quanto i conidi possono germinare già con valori di umidità relativa del 20-25%; valori del 40-60% sono sufficienti sia per la germinazione che l'infezione.

3.5 SINTOMATOLOGIA E DANNI

L'oidio colpisce tutti gli organi versi della vite, in particolare le foglie ed i grappoli sono i due organi in cui generalmente si rileva una maggiore sintomatologia e conseguentemente maggiori danni. Questa malattia è chiamata anche "mal bianco" in quanto il sintomo che lo caratterizza è la formazione di una efflorescenza polverulenta biancastra sulla parte interessata.

3.5.1 Sintomi su foglie

All'inizio della stagione vegetativa sulle foglie compaiono delle piccole aree circolari (0,5-1 cm) che si presentano alla vista clorotiche e traslucide. Generalmente questo

sintomo è presente nella pagina superiore delle foglie; inoltre, se fossero ben visibili anche dalla pagina inferiore delle foglie basali sarebbero di difficile identificazione e facilmente attribuibili ad infezioni peronosporiche. Successivamente le macchie clorotiche si ricoprono di una efflorescenza biancastra che indica la presenza di micelio (Figura 11). Inoltre, se le infezioni precedono il completo sviluppo della foglia, si osservano delle increspature del lembo (foglia ripiegata a doccia) nonché delle bollosità per l'accrescimento differenziato dei tessuti sani e malati. Le foglie giovani sono generalmente più suscettibili di quelle vecchie (Belli, 2012).

Figura 11: Tipica sporulazione a seguito di infezione oidica sulla pagina superiore di una foglia di vite

3.5.2 Sintomi su infiorescenze e grappoli

I sintomi più gravi della malattia si hanno sulle infiorescenze, suscettibili già prima della fioritura. Gli attacchi precoci causano l'aborto e la caduta dei fiori o inibiscono la crescita dei grappolini fino, nei casi più gravi, al disseccamento del grappolo. In seguito ad infezioni post-fiorali le cellule dell'epidermide degli acini colpiti dal patogeno necrotizzano e portano alla formazione di reticolature bruno-nerastre visibili soprattutto in vitigni a bacca bianca; nei casi più gravi gli acini non riescono ad assecondare la crescita in volume della polpa e di conseguenza si spaccano (Figura 12) aprendo la strada ad altre malattie o parassiti (ad esempio *Botrytis cinerea*). Ovviamente anche sui grappoli c'è sempre la formazione della classica efflorescenza biancastra (Figura 13).

Figura 12: Sporulazione oidica con tipiche spaccature degli acini in crescita osservabili su un grappolo di vite

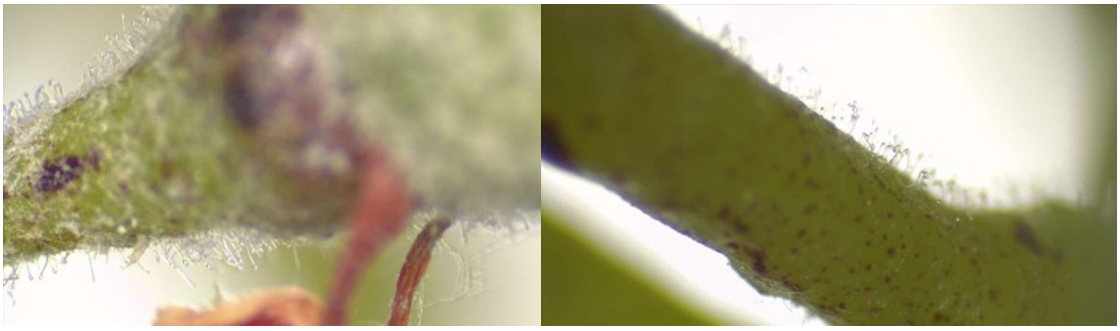

Figura 13: Conidiofori e conidi di *Erysiphe necator* su un grappolo di vite affetto da oidio osservati allo stereoscopio (foto Marwa Moumni)

3.5.3 Sintomi su altri organi verdi

Il verificarsi dei sintomi della malattia sui germogli neoformati è un indicatore della presenza di micelio latente che ha svernato nelle gemme. In seguito alla ripresa vegetativa il germoglio risulta ricoperto da micelio che gli conferisce un aspetto biancastro e polverulento e le foglie sono ripiegate "a doccia". Questi germogli sono conosciuti come "bandiere" in quanto brachizzati dall'attività trofica del patogeno.

4 GESTIONE DELLE PROBLEMATICHE FITOSANITARIE

Una corretta gestione delle problematiche fitosanitarie necessita la presa in considerazione da parte degli operatori del settore di due importanti fattori: la conoscenza della malattia e la definizione di una corretta strategia di protezione delle

colture. La conoscenza delle malattie e degli agenti patogeni che ne sono la causa è fondamentale in quanto permette di focalizzare la tipologia di problematica che è in atto, inoltre porta all'individuazione di soluzioni tecniche che potrebbero ridurre o addirittura sconfiggere la malattia. L'altro fattore è la definizione di una strategia di difesa fitosanitaria idonea, la decisione di questo fattore sembra essere banale, ma il problema è che questo non può prescindere dal contesto in cui l'agricoltore si trova e quindi dal tipo di agricoltura in cui esso opera. Negli ultimi decenni, in seguito alla constatazione che l'impiego ripetuto e quasi esclusivo dei mezzi chimici poteva portare sia a cali di efficacia degli stessi dovuti alla presenza di ceppi resistenti, ma anche alla determinazione di problematiche di tipo ambientale e sociale, c'è stata un'evoluzione della difesa fitosanitaria. Si sono prima delineati e poi sottoposti a normativa, due sistemi agricoli che hanno tra i principi fondanti la diminuzione dell'impatto ambientale da parte dell'agricoltura: l'agricoltura integrata e l'agricoltura biologica. La difesa dalle fitopatie, quindi, cambia in base al contesto in cui si opera, e cerca di garantire la maggiore efficacia possibile in tutti i sistemi agricoli.

4.1 AGRICOLTURA INTEGRATA

La difesa dalle fitopatie in agricoltura integrata prende il nome di difesa integrata, definita come "l'uso razionale e coordinato di tutti i mezzi attualmente disponibili per conseguire un efficace protezione delle colture dalle principali malattie ed avversità". A tal proposito è bene differenziare la difesa con la "produzione integrata" che invece non riguarda solo la protezione dalle malattie ma estende il concetto di gestione integrata dell'agroecosistema a tutti i fattori e le altre operazioni colturali coinvolte nella produzione per perseguire non solo la protezione della coltura, bensì il miglioramento della qualità globale del prodotto, in vista di una sua ottimizzazione sia sul pian ecologico, che su quello economico. Le line generali della difesa integrata sono:

- Valorizzazione delle pratiche agronomiche finalizzate a prevenire od ostacolare lo sviluppo delle avversità biotiche
- Salvaguardia degli organismi antagonisti naturali e di quelli non bersaglio

- Definizione di soglie di intervento ed esecuzione dei trattamenti con mezzi chimici solo in caso di superamento delle soglie critiche.
- Scelta dei principi attivi/ prodotti fitosanitari meno impattanti e con profili ecotossicologici più favorevoli
- Monitoraggio delle avversità durante il ciclo colturale
- Selezione dei mezzi di lotta anche in base agli effetti secondari negativi
- Integrazione dei mezzi chimici con quelli biologici, fisici, agronomici
- Ottimizzazione delle tecniche di applicazione dei prodotti fitosanitari

A livello tecnico e scientifico lo standard di riferimento per la difesa integrata è stato quello elaborato dall'OILB (Organizzazione Internazionale di Lotta Biologica). In Italia il sistema è attualmente imperniato sui servizi fitosanitari regionali che elaborano protocolli di produzione integrata (disciplinari di produzione integrata), i quali costituiscono la base di riferimento per le varie iniziative analoghe messe in atto a livello della produzione e della grande distribuzione. Inoltre, esiste anche un Sistema di Qualità Nazionale Produzione Integrata (SQNPI), che deve dare un valore di certificazione ai prodotti di produzione integrata avvalendosi anche di un logo (con l'ape) caratteristico. La Direttiva CE n. 128 del 21 ottobre 2009 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei prodotti fitosanitari definisce la protezione integrata come "l'attenta considerazione di tutti i metodi di protezione fitosanitaria disponibili e la conseguente integrazione di tutte le misure appropriate, volte a scoraggiare 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, riducendo o minimizzando i rischi per la salute umana e per l'ambiente. L'obiettivo prioritario della protezione 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).

4.2 AGRICOLTURA BIOLOGICA

Praticata da lungo tempo, ha avuto negli anni recenti un forte rilancio. L'agricoltura biologica è disciplinata a livello europeo dal Regolamento UE 834/2007 e dalle sue

modalità applicative riportate nel Reg. UE 889/2008, norme che hanno sostituito, a partire dal 1° gennaio 2009, il Reg. UE 2092/91. Gli obiettivi dell'agricoltura biologica sono sostanzialmente analoghi a quelli dell'agricoltura integrata (conservazione delle risorse e salvaguardia degli ecosistemi), c'è però una differenza sostanziale nell'impostazione teorica e nell'approccio operativo. Nell'agricoltura biologica la difesa dalle fitopatie è basata sulla capacità di autoregolazione degli ecosistemi e quindi prioritariamente sulle misure di prevenzione: ad esempio assumono un'importanza rilevante sia a livello aziendale che di singola pianta tutte le scelte e le pratiche agronomiche volte a creare condizioni sfavorevoli o ad evitare l'instaurarsi di quelle favorevoli alla malattia. La principale differenza con la difesa integrata risiede però nel fatto che gli interventi diretti contro insetti ed agenti di malattie possono essere effettuati solo come soluzione eccezionale ed esclusivamente con prodotti non di sintesi; Inoltre, gli interventi contro le piante infestanti sono ammessi solo con lavorazioni superficiali del terreno e con bruciature.

5 MEZZI DI PROTEZIONE DALLA PERONOSPORA

La gravità dei danni che la peronospora è in grado di provocare su *V. vinifera* rende necessario mettere a punto strategie che consentano al viticoltore di conseguire un raccolto soddisfacente assicurandosi un reddito ogni anno. Il principio su cui si basano tutte le strategie di protezione dalla peronospora è quello della prevenzione, che deve garantire un basso livello di pressione della malattia durante la stagione vegetativa. Infatti, l'aspetto più complesso per impostare una strategia di protezione razionale contro *P. viticola* è lo studio approfondito delle correlazioni fra andamento climatico e maturazione delle oospore così da prevedere l'inizio dell'infezione primaria. Tuttavia, per una protezione efficace della vite dal patogeno, ancora oggi, si rende necessario ricorrere ai trattamenti chimici adottando una impostazione cautelativa-preventiva in quanto *P. viticola* in condizioni favorevoli, essendo un patogeno policiclico, può provocare perdite onerose anche a partire da una piccola quantità di oospore svernanti.

5.1 MODELLI PREVISIONALI

Nel caso di malattie infettive ad elevata pericolosità come la peronospora della vite, è pressoché impossibile subordinare i trattamenti all'accertamento dei sintomi visivi ed è pertanto necessario il ricorso ad approcci di tipo cautelativo o preventivo, con l'ausilio valutazioni previsionali. I modelli epidemiologici hanno come principale obiettivo la previsione del rischio di comparsa o di sviluppo epidemico della malattia, per poter così adattare la strategia di intervento e razionalizzare gli interventi antiperonosporici in funzione del reale rischio infettivo. L'attività si concretizza nel fornire ai viticoltori, attraverso un puntuale sistema di avvertimento, indicazioni tempestive sulle linee di difesa da adottare, in relazione all'epoca d'intervento e ai prodotti fitosanitari più appropriati nelle varie situazioni. I modelli previsionali legati alle patologie fungine si basano su algoritmi che mettono in relazione i dati meteorologici (pioggia, temperatura, umidità relativa, bagnatura fogliare) con parametri di sviluppo dei funghi (es. maturazione, germinazione, dispersione delle oospore) per individuare il momento di avvio delle infezioni e la loro evasione dal tessuto vegetale. Molti di questi sono stati sviluppati per una migliore gestione dei trattamenti fungicidi, in particolare per il controllo delle infezioni primarie (Caffi et al., 2006). Per arrivare a fornire agli agricoltori indicazioni precise sulla necessità o meno di effettuare interventi contro determinate malattie, i modelli vengono integrati da altre informazioni ottenute tramite rilievi periodici dello stato fitosanitario della coltura su campi spia non trattati, che quindi possono manifestare con anticipo gli eventuali sintomi della malattia, oppure quantificando la presenza di spore fungine di alcuni funghi patogeni presenti nell'ambiente. Nel caso specifico della peronospora della vite rivestono fondamentale importanza i dati forniti dai servizi agrometeorologici locali (ASSAM), quali temperatura, umidità relativa, precipitazioni e ore di bagnatura. Tra i principali modelli previsionali in uso per il monitoraggio di *P. viticola* troviamo i modelli IPI e UCSC. Il modello IPI (Indice di Potenziale Infettivo) fornisce indicazioni sulla prima pioggia potenzialmente infettante, in sostituzione della vecchia "regola dei tre dieci", mentre il modello UCSC (*Grapevine Downy Mildew Primary Infection*) mostra una rappresentazione grafica di tutte le infezioni primarie che si verificano nel corso della stagione. A questo scopo il modello UCSC utilizza dati orari di temperatura dell'aria, umidità relativa, pioggia e bagnatura fogliare per simulare dettagliatamente i processi infettivi. Il modello, di tipo

meccanicistico, si basa sul concetto fondamentale secondo cui la popolazione *di P. viticola* all'interno di un vigneto è composta da diverse famiglie di oospore che, durante il periodo invernale, si trovano in fase di quiescenza. Queste famiglie devono superare un determinato e graduale periodo di latenza, dopo il quale iniziano a germinare. Il processo di simulazione della germinazione prende avvio a ogni evento piovoso che bagna il tappeto di foglie del vigneto. La simulazione può essere interrotta in ogni fase del processo infettivo, se le condizioni climatiche non sono favorevoli al patogeno, così come può completarsi sino alla comparsa dei sintomi sulla vegetazione. Il processo infettivo viene scomposto in sei differenti fasi: superamento della latenza (temperatura e bagnatura della lettiera), germinazione delle oospore (bagnatura fogliare), sopravvivenza degli macrozoosporangi (circa due giorni in condizioni ottimali), rilascio e dispersione delle oospore (bagnatura fogliare), infezione (temperatura e durata della bagnatura fogliare) e incubazione (temperatura e umidità dell'aria). Tra i due modelli previsionali presi in esame l'UCSC è più articolato rispetto all'IPI dal momento che esso si basa esclusivamente su misure meteorologiche giornaliere per un breve periodo (a partire dal 1° marzo). Tuttavia, è da precisare come la numerosità delle variabili prese in esame dal modello UCSC deve essere accompagnata da un adeguato numero di stazioni metereologiche soprattutto in caso di vaste aree di coltivazione. Ciò è necessario in quanto piccole imprecisioni dei dati meteo possono portare a squilibri previsionali importanti. Proprio per questo, in aree dove il dato metereologico risulta essere poco analitico, si preferisce l'uso del modello IPI. Esistono anche altri modelli previsionali che sono in grado di simulare la progressione delle infezioni secondarie a partire dalla comparsa in campo dei primi sintomi o dall'avvenuta infezione in funzione della "regola dei tre dieci". Sistemi previsionali di questo tipo sono il Vinemild, messo a punto in Svizzera, il Pro, elaborato in Germania, il Milvit in Francia e il Plasmo in Italia. Dal punto di vista pratico però, sebbene questi sistemi siano precisi e affidabili, non tengono conto del momento esatto in cui prendono avvio le infezioni primarie, fulcro su cui si basano tutte le strategie di protezione.

5.2 MEZZI AGRONOMICI

Le pratiche agronomiche non sono risolutive, ma possono essere d'aiuto nel contenimento e nell'impostazione di una strategia di protezione che sia il più efficace possibile contro il patogeno contribuendo al contenimento dei danni. Nella fase di impianto bisogna considerare le caratteristiche dei diversi patogeni che colpiscono la vite e in particolare a causa di *P. viticola* si devono evitare le zone di fondovalle e le zone dove in generale tendono a verificarsi frequenti ristagni idrici e situazioni di prolungata bagnatura fogliare. Un altro fattore di centrale importanza nella scelta del luogo d'impianto è l'eventuale presenza di vigneti abbandonati che avvantaggerebbero l'oomicete costituendo una notevole fonte di inoculo e un importante minaccia per gli impianti sani vicini; pertanto, risulta indispensabile l'eliminazione di questi vigneti. Per quanto riguarda invece gli interventi da fare durante la gestione del vigneto, questi riguardano soprattutto l'arieggiamento della fascia vegetativa, soprattutto intorno ai grappoli. Gli accorgimenti tecnici riguardano il mantenimento di una giusta carica di gemme durante la potatura invernale, effettuare una puntuale potatura verde per eliminare i germogli inutili e cimare quelli portanti i grappoli, effettuare una defogliazione che può essere più intensa nella parete del filare meno esposta alla luce del sole ed evitare ristagni di acqua con opportune lavorazioni del terreno. Altre pratiche agronomiche di importanza rilevante riguardano la corretta gestione dell'interfila e dei residui di potatura.

5.3 RESISTENZA VARIETALE

Negli ultimi anni, anche la selezione dei caratteri di resistenza è tornata ad essere un'arma di difesa contro i patogeni. La suscettibilità a *P. viticola* accomuna tutte le varietà di *V. vinifera*. Tuttavia, esistono anche specie di *Vitis*, appartenenti soprattutto al ceppo americano (*V. rotundifolia, V. riparia, V. cordifolia, V. rupestris* e *V. berlandieri*), che presentano una resistenza proprio nei confronti del patogeno a seguito di una forte selezione dovuta alle condizioni ambientali in cui si sono sviluppate. Il problema principale consiste nel fatto che le specie americane di *Vitis* risultano inadatte alla produzione di vino. Proprio su questi concetti si sono basati gli studiosi per effettuare un programma di miglioramento genetico volto a trasferire i geni di resistenza all'interno del genoma della tipica vite europea. Le tecniche con cui effettuare questo tipo di trasferimento sono essenzialmente tre: l'incrocio tradizionale,

la transgenesi (che consiste nell'inserimento nella pianta di un gene di una specie diversa) e la cisgenesi (con la quale viene inserito un gene di un organismo della stessa specie). Strettamente legata a quest'ultima è poi il *genome editing*, tecnica che consente di effettuare interventi molto precisi con cui si sono ottenute alcune varietà resistenti a peronospora e oidio. Il miglioramento genetico nel campo vitivinicolo è fondamentale per limitare l'uso del rame e di altri fitofarmaci che causano una pressione ambientale elevata. Contemporaneamente alle ricerche di carattere molecolare, la conoscenza del patrimonio viticolo, fornisce sia materiale utile nei programmi di selezione genetica che nella scelta dei vitigni da utilizzare nella viticoltura di qualità, eventualmente anche nel regime di coltivazione in biologico.

5.3.1 Meccanismi di resistenza a *Plasmopara viticola*

I meccanismi di difesa nelle piante possono essere distinti in meccanismi costitutivi ed indotti. Le resistenze costitutive sono già presenti nelle piante prima del contatto con il patogeno e sono riconducibili a fattori morfo-anatomici della foglia, del grappolo e dell'acino e alla presenza di composti con attività antifungina preformati, come ad esempio composti fenolici. Nel caso di resistenza indotta l'attivazione di meccanismi di difesa è determinata dall'attacco del patogeno; quindi, l'espressione della reazione di difesa è preceduta dal riconoscimento del patogeno da parte della pianta. *V. vinifera,* specie di origine eurasiatica non è si è coevoluta con *P. viticola* prima della fine del XIX secolo e non possiede basi genetiche di resistenza. All'interno del genere *Vitis* sono state osservate differenti interazioni ospite-patogeno che corrispondono a diverse strade evolutive (Jürges *et al*., 2009) causate anche dalla coevoluzione di *P. viticola* solo con le specie nordamericane *V. riparia, V. rupestis* e *V. californica.* In queste, ma anche nella specie di origine asiatica *V. amurensis*, l'inibizione dello sviluppo del patogeno è molto rapida e si verifica dopo l'incistamento delle zoospore. Nelle specie asiatiche non siberiane, *V. coignetiae, V. ficifolia, V. quinquangularis* e *V. jacquemontii*, l'interazione con il patogeno non ha successo e le zoospore non si incistano nei pressi degli stomi, lo sviluppo del micelio è aberrante, si formano solo ife in superficie che però non producono sporangiofori funzionali. Al contrario, in entrambe le sottospecie di vite europea, *V. vinifera sativa e V. vinifera silvestris* la colonizzazione del mesofillo non incontra ostacoli. Queste osservazioni confermano

che l'interazione ospite-patogeno è sotto il controllo di specifici segnali legati alla diversificazione dovuta all'evoluzione.

- **Meccanismi di difesa costitutivi**

Le difese costitutive sono rappresentate da tutte quelle barriere fisiche o biochimiche presenti nella pianta indipendentemente dall'infezione e capaci di bloccare il processo di patogenesi nei primi stadi. Relativamente alla peronospora, poiché la penetrazione avviene per via stomatica nella pagina inferiore della foglia, molta attenzione è stata rivolta a comprendere il possibile ruolo dei tricomi presenti nel contrastare o meno il movimento delle zoospore che devono raggiungere l'apertura stomatica. Il feltro idrofobico costituito dai peli costituisce una strategia difensiva molto importante poiché l'infezione dipende sostanzialmente dalla bagnatura fogliare. I peli, infatti, intrappolano facilmente l'aria e riducono la superficie di contatto tra l'acqua e la lamina fogliare lasciando le spore maggiormente esposte a disidratazione. Nelle specie *V. doaniana* e *V. davidii* è stata osservata la capacità di peli e tricomi di catturare le gocce di acqua, impedendo la liberazione delle zoospore e causando la germinazione degli zoosporangi che producono direttamente le ife. Ciò rende il fungo incapace di raggiungere la superficie fogliare a causa della distanza elevata che lo separa da essa.

- **Meccanismi di difesa indotti**

Le risposte di difesa indotte si manifestano a seguito del contatto tra la pianta e il patogeno o altri induttori di resistenza, che siano biotici o abiotici, e riguardano tutti i meccanismi metabolici in grado di contrastare l'infezione. Esse possono essere classificate in base alla velocità con la quale si manifestano. La risposta di difesa precoce si basa sul riconoscimento da parte della cellula vegetale attaccata di segnali del patogeno. Tali segnali attivano la traduzione a livello genico che porta ad una rapida morte cellulare. Questa risposta ipersensibile (*hypersensive tesponse*, HR), caratteristica anche delle interazioni patogeno-ospite incompatibili, determina un blocco della crescita e diffusione del patogeno che non può colonizzare i tessuti circostanti. La reazione ipersensibile è generalmente associata ad un solo gene dominante e viene chiamata resistenza verticale, in quanto molto efficacie e specifica, ma facilmente superabile dal patogeno sviluppando geni di avirulenza. Sono state poi

descritte reazioni di tipo sistemico (*Systemic Acquired Resistance*, SAR e *Induced Systemic Resistance*, ISR), dove segnali prodotti nelle piante presso il sito di attacco di un patogeno virulento si propagano all'intera pianta attivando una serie di meccanismi di difesa efficaci contro eventuali infezioni secondarie. La SAR viene attivata sia a livello radicale sia a livello aereo e sia da stress abiotici sia biotici e il mediatore del segnale è l'acido salicilico. La ISR è invece attivata a livello radicale da elicitori biotici, come ad esempio batteri ed in questo caso fungono da mediatori l'acido jasmonico e l'etilene. In ogni caso, l'effetto finale è comunque dato dall'induzione di resistenza sugli organi epigei, fondamentalmente attraverso la produzione di sostanze che ostacolano l'insediamento dei patogeni (es. fitoalessine). La risposta di difesa si basa sull'attivazione di una risposta genica sistemica e coinvolge cellule adiacenti a quella direttamente attaccata attraverso la produzione attiva di molecole che vanno a rinforzare le barriere strutturali, come la parete cellulare, o che inibiscono direttamente il patogeno. Risposte di difesa sistemica si basano anche sull'attivazione di geni che codificano per la produzione di proteine legate alla patogenesi (*Pathogenesis Related Protein*, PR), come glucanasi e chitinasi che agiscono direttamente sul patogeno. Tra le risposte indotte dall'infezione del patogeno a livello istologico e biochimico rientra anche la produzione di callosio. Dal momento che la penetrazione del patogeno è avvenuta, le difese induttive possono riguardare anche la produzione di molecole di difesa ad azione diretta come i flavonoidi, che sono costitutivi in alcuni tessuti vegetali ed il loro aumento in alcuni organi spiegherebbe ad esempio anche la maggiore resistenza alle patologie nei frutti che ne contengono più alte concentrazioni. L'accumulo di flavonoidi può essere anche indotto e correlato a stress abiotici, come trattamenti fisici a base di raggi UV. Inoltre, l'induzione di resistenza nella pianta può essere stimolata anche tramite trattamenti chimici con prodotti simili a quelli generati nell'interazione ospite-patogeno, come nel caso del chitosano, induttore di resistenza noto da tempo per le sue potenzialità fitoiatriche, oltre che per le sue proprietà di biocompatibilità, biodegradabilità e bioattività; esso, una volta applicato sulle superfici vegetali, è in grado di svolgere una triplice attività: elicitante, filmogena e antimicrobica (Romanazzi et al., 2018).

5.4 MEZZI CHIMICI

Ancora oggi il ricorso a prodotti fitosanitari dotati di attività antiperonosporica risulta essere necessario vista la parziale o totale inefficacia dei mezzi di lotta alternativi, i quali da soli non sono sufficienti al controllo della malattia. La difesa chimica nei confronti della peronospora della vite è generalmente preventiva e mira a limitare il più possibile le infezioni in modo da limitare il ricorso a trattamenti curativi. Si segue un approccio più o meno calendarizzato già dalla prima infezione; per questo a volte sono necessari interventi anche in assenza di pioggia, detti cautelativi, soprattutto nelle fasi fenologiche di elevata suscettibilità dalla differenziazione dei grappolini all'allegagione, per evitare che eventuali precipitazioni sulla vegetazione non preventivamente protetta, diano origine ad infezioni (Figura 14). I trattamenti su base cautelativa devono assicurare la copertura della vegetazione durante l'intero periodo di sviluppo del patogeno e pertanto devono essere ripetuti ad intervalli più o meno regolari in funzione della persistenza del principio attivo utilizzato e dell'andamento meteorologico. È di centrale importanza conoscere le caratteristiche degli agrofarmaci che vengono utilizzati e, in particolare, un sistema di classificazione ampiamente utilizzato li divide in base alla modalità d'azione in: fungicidi di superficie, che rimangono all'esterno del vegetale e svolgono un'azione preventiva; citotropici e translaminari, i quali vengono assorbiti dal vegetale e si ridistribuiscono localmente all'interno dei tessuti fino ad attraversare la lamina fogliare, svolgendo un'azione curativa nei confronti delle infezioni in atto; mentre i sistemici entrano nei tessuti conduttori e possono essere traslocati a distanza notevole dal punto di applicazione raggiungendo i vari organi vegetali. Solo in casi estremi si tende a sfruttare le capacità eradicanti di questi prodotti; inoltre, è buona norma impiegare composti endoterapici solo in miscela, con prodotti di superficie e con diverso meccanismo di azione, dove almeno una sostanza attiva abbia caratteristiche di copertura. Per quanto riguarda la protezione delle viti dalla peronospora il rame resta comunque la molecola cardine in agricoltura integrata, ma soprattutto in agricoltura biologica dove rappresenta l'unica sostanza attiva efficace ed ammessa. Tuttavia, a seguito di limitazioni legislative volte alla riduzione dell'impatto ambientale dovuto all'utilizzo reiterato nel tempo di questo metallo pesante, hanno preso il via numerose sperimentazioni relative a formulati innovativi a basso dosaggio di rame o a nuove molecole meno impattanti che

potrebbero essere utilizzate in maniera complementare al rame o addirittura sostituirlo completamente.

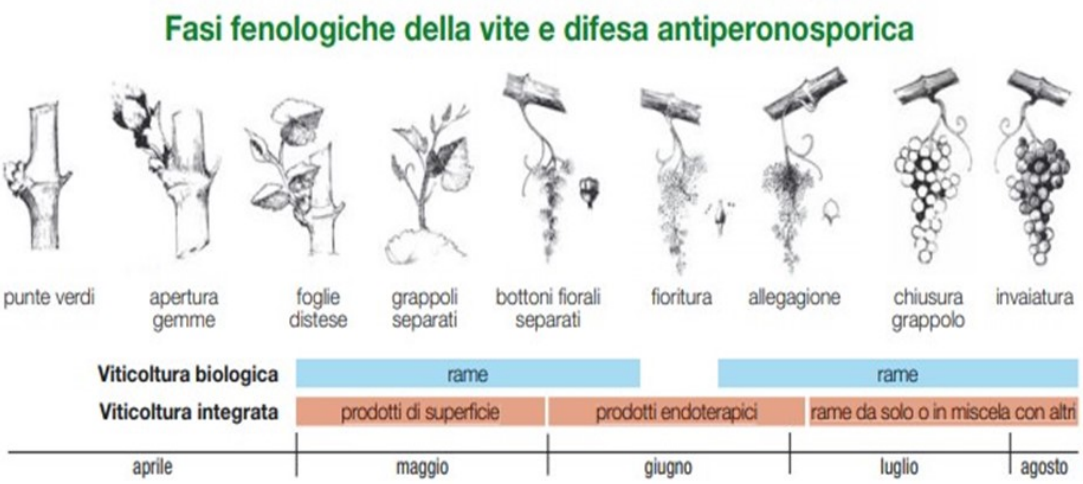

Figura 14: Tipico schema di protezione della vite dalla peronospora basato sull'utilizzo dei mezzi chimici n relazione alle fasi fenologiche della pianta sia in agricoltura biologica che in agricoltura integrata. (L'Informatore Agrario, 2017)

5.4.1 Prodotti a base di rame

Nel 1882 a Bordeaux Alexis Millardet, botanico francese, per una fortuita coincidenza notò che alcune viti bagnate con una miscela bluastra di solfato di rame e calce mantenevano le foglie sane durante la stagione nonostante le infezioni di peronospora, malattia risultata distruttiva da pochi anni introdotta in Europa. Ad oggi, dopo più di un secolo il mercato dei fungicidi ha visto un enorme incremento di prodotti disponibili, ma il rame resta comunque la molecola che tuttora mostra la maggiore efficacia nei confronti della peronospora. Agisce su più livelli interferendo con i processi respiratori, frenando la biosintesi delle proteine, diminuendo l'attività della membrana cellulare con rallentamento nel trasferimento di ioni e bloccando i processi ossidoriduttivi agendo a livello dei gruppi sulfidrilici degli enzimi. L'attività antifungina viene espletata in presenza di anidride carbonica atmosferica emessa dalla pianta. Inizialmente l'azione è di tipo fungistatico, presupponendo dei legami abbastanza labili del metallo con le spore germinanti del fungo e sulle quali si verifica un accumulo di Cu^{++}. Su queste si può trovare una concentrazione di Cu^{++} fino a 100 volte superiore a quella presente nella soluzione circostante (Martelli, 1984). Questa

concentrazione sviluppa due tipi di azione: (i) agisce a livello della membrana del fungo modificandone la permeabilità mediante la denaturazione delle proteine strutturali ed enzimatiche che la compongono; (ii) interferisce con numerose azioni enzimatiche, alterando i processi respiratori ed ossido-riduttivi provocando la morte della cellula del parassita. L'efficacia dei prodotti cuprici dipende dalla velocità con cui vengono liberati gli ioni rameici; la prontezza di azione varia quindi con il tipo di preparato, la formulazione e le caratteristiche chimico-fisiche. Particolare importanza rivestono le dimensioni e la struttura delle particelle: l'efficacia aumenta con il diminuire delle dimensioni delle particelle e risulta negativamente influenzata dal numero di passaggi chimici che il sale di rame deve subire prima di diventare attivo, liberando Cu^{++}; allo stesso modo i cristalli a struttura angolare risultano più attivi rispetto a quelli rotondiformi. Per quanto riguarda lo spettro di azione dei preparati cuprici su vite, è stato dimostrato che il rame è attivo oltre che verso la peronospora della vite, anche su malattie provocate da altri funghi e batteri (Borgo, 2004). Tale prerogativa non è sempre data dalla diretta azione dei sali rameici sul patogeno, ma può essere la conseguenza di effetti secondari e collaterali. Fra questi aspetti si può annoverare l'ispessimento maggiore che il rame provoca nei riguardi della cuticola e dell'epidermide, consentendo una più elevata resistenza agli attacchi delle malattie in generale e dalla muffa grigia in particolare. Il rame, però, essendo un metallo pesante, possiede un'elevata tendenza ad accumularsi nel suolo. Durante i trattamenti, esso raggiunge l'uva e la vegetazione della vite, ma in buona parte si disperde accumulandosi nel suolo, con una concentrazione nel terreno e sui tralci di potatura che dipende dalla forma di rame utilizzata (Duca et al., 2016). Indagini svolti su Montepulciano nelle Marche hanno evidenziato un accumulo di rame nei terreni vitati che ne porta il contenuto al quadruplo di quello dei terreni coltivati diversamente. Nel suolo il rame non subisce degradazione o metabolizzazione, non evapora ma si lega alla sostanza organica ed ai colloidi del terreno. Il rame, in particolare quando si accumula in concentrazioni elevate, diventa dannoso anche per gli agenti ausiliari, quali coccinellidi, imenotteri e crisope. Quando nel terreno vengono raggiunti contenuti molto elevati di rame, si può infine assistere a visibili fenomeni di fitotossicità sulle piante stesse, costituiti da crescita stentata e clorosi. I composti di rame attualmente disponibili, dopo la revisione in ambito comunitario del 2009, sono:

l'idrossido di rame, l'ossicloruro di rame, l'ossido rameoso, il solfato di rame neutralizzato e il solfato tribasico. Queste sostanze si possono trovare in formulati tal quali o in miscela tra loro; le miscele più frequenti sono tra ossicloruro e idrossido, o solfato tribasico e idrossido. Tali formulazioni combinate permettono di sfruttare l'effetto sinergico fra i due componenti, per esempio l'immediatezza dell'idrossido e la maggior persistenza dell'ossicloruro o del solfato tribasico. Inoltre, queste combinazioni consentono di ridurre le dosi d'impiego e avere comunque un'efficacia analoga, ma con minor dispersione di rame metallo, dannoso per gli ecosistemi circostanti. Tutti i principi attivi si possono trovare in commercio con diverse formulazioni e concentrazioni di rame metallo in funzione della ditta formulatrice; quindi, è indispensabile che l'utilizzatore presti la massima attenzione alle indicazioni riportate in etichetta prima di qualsiasi impiego. I formulati commerciali a base di rame devono essere impiegati sempre in maniera preventiva, ossia prima di una pioggia infettante perché non hanno alcuna attività curativa sulle infezioni in atto e agiscono esclusivamente sulla porzione del vegetale coperta dal trattamento. È proprio per questo che, nonostante il rame sia tra i prodotti più persistenti e meno dilavabili, in caso di piogge o bagnature prolungate la copertura deve essere tempestivamente ripristinata, per coprire nuovamente la vegetazione e in particolare quella nuova che nel frattempo si è formata. I composti rameici, come tutti gli altri prodotti di superficie, proprio per il loro meccanismo d'azione multisito (agiscono cioè su più funzioni vitali delle cellule), non danno origine a fenomeni di resistenza, come invece può capitare a quelli ad azione mono o oligosito che penetrano all'interno della pianta e agiscono esclusivamente su uno o pochi bersagli specifici delle funzioni cellulari. Non ultimo per importanza, i composti cuprici non hanno effetti collaterali nei confronti degli insetti utili e quindi non arrecano alcun danno, per esempio, ai fitoseidi che sono i predatori dei temibili acari (ragnetti rossi o gialli delle colture). Tra le molecole a base di rame comunemente adoperate in agricoltura per la protezione delle piante si annoverano:

- **Poltiglia bordolese**

La poltiglia bordolese ($CuSO_4$ / $3Cu\ (OH)_2$ / $3CaSO_4$) è un prodotto rameico storico che prende il nome dalla città francese Bordeaux dove fu sperimentata per la prima volta. Contiene solfato di rame e idrossido di calcio all'1%, vale a dire preparata con 1 Kg di solfato di rame e 1 Kg di calce spenta per ogni 100 litri di acqua. Le proporzioni tra solfato di rame e idrossido di calcio sono fondamentali; infatti, se si aumenta il solfato di rame la poltiglia diviene più acida ed ha un effetto più pronto ma meno durevole nel tempo, mentre con una poltiglia più alcalina, ovvero contenente una maggiore dose di idrossido di calcio, si ottiene l'effetto contrario, cioè meno prontezza d'azione ma più persistenza. Per evitare sgradevoli effetti fitotossici è consigliato comunque utilizzare una poltiglia a reazione neutra, data dalle proporzioni indicate sopra, e che di solito è quella che si trova nelle preparazioni commerciali già miscelate e pronte all'uso che contengono in media il 20-25% di rame metallo.

- **Ossido rameoso e rameico**

Sono composti di rame con ossigeno. L'ossido rameico (CuO) viene prodotto e partire dal rame metallo o da una soluzione di solfato di rame (CDA_UK, 2003). L'ossido rameoso (Cu_2O) invece si trova in natura sotto forma di cuprite. Quest'ultima è una sostanza giallo-rossastra, stabile all'aria, che se sottoposta a condizione di umidità dà origine all'ossido rameico, costituito da granuli cristallini neri. Tali ossidi si presentano sotto forma di polvere amorfa e sono caratterizzati da elevato peso molecolare. Sono leggermente fitotossici per la pianta e l'adesività sulla vegetazione trattata è in funzione delle dimensioni delle particelle del prodotto stesso. La sospensione in acqua è fortemente limitata nel tempo a causa dell'elevato peso specifico che tende a far precipitare il prodotto. Per questi motivi in commercio si trovano dei granuli micronizzati che garantiscono maggiore solubilità e maggiore adesività sugli organi verdi.

- **Idrossido di rame**

L'idrossido di rame [$Cu\ (OH)_2$] può essere ottenuto trattando a freddo dei sali di rame, come il solfato di rame, con un idrossido alcalino. Ha un contenuto di rame metallo pari al 50%, ed è caratterizzato da una buona persistenza e prontezza di azione. Infatti,

è composto da particelle aghiformi che aderiscono bene alla vegetazione trattata, ma per lo stesso motivo presentano il rischio di fitotossicità.

- **Ossicloruro di rame**

Industrialmente l'ossicloruro di rame [$ClCu_2(OH)_3$] si ottiene per reazione dell'acido cloridrico sul rame metallo oppure con una sospensione di cloruro di rame. Rispetto al solfato di rame ha il vantaggio di possedere una minore fitotossicità. In distribuzione esistono due prodotti: l'ossicloruro tetraramico che è un complesso tra l'ossido rameico e il cloruro rameico ($3CuO\ CuCl_2\ 3H_2O$) e l'ossicloruro di rame e calcio (triramico) che è un complesso tra l'ossido rameico e il cloruro di calcio ($3CuO\ CaCl_2\ 3H_2O$). Il triramico presenta un'azione più veloce del tetraramico, ma meno persistente, a causa della molecola poco stabile. Essa possiede una maggiore sicurezza in quanto tende a rilasciare una minor quantità di rame sulla vegetazione a parità di tempo d'impiego. Al contrario l'ossicloruro tetraramico risulta essere più persistente e il rilascio di rame è quantitativamente maggiore al triramico ma la prontezza d'azione è più lenta.

- **Solfato di rame**

Il solfato tribasico di rame ($CuSO_4\ 5H_2O$) è il più importante tra i sali di rame e viene utilizzato non solo come fungicida ma anche per apportare rame al terreno. Esso è presente in natura come calcanite. Industrialmente, tale prodotto viene preparato per reazione tra acido solforico (H_2SO_4) diluito e ossido di rame in presenza di aria. È molto solubile in acqua, il suo pH tendente all'acido conferisce maggiore aggressività e prontezza d'azione. Ha un titolo di rame metallo basso (25%) ma è abbastanza fitotossico sulle piante per cui bisogna stare attenti alle dosi e alle modalità di utilizzo.

- **Peptidato di rame**

È un formulato costituito da peptidi e rame metallo in quantità pari al 5%. La sua azione si basa sulla capacità dei peptidi di essere assorbiti dalla pianta e trasportati all'interno delle cellule sfruttando diversi meccanismi di trasporto enzimatico e canali di natura proteica. Ciò avviene perché i peptidi sono molecole organiche. Possiede gli stessi effetti dei classici composti del rame, ma poiché permette a parità di efficacia di ridurre la quantità di rame sembra avere meno impatto ambientale (Pontiroli et al.,

2001). Il rame si trova in forma di chelato, cioè complessato nella matrice organica, che ne consente un maggiore accumulo a livello intracellulare. Il peptidato consente quindi un assorbimento attivo del rame, di conseguenza si possono utilizzare minori concentrazioni di rame, limitando così il suo impatto ambientale. Tuttavia, la rapida penetrazione del rame nei tessuti vegetali costituisce allo stesso tempo uno svantaggio, in quanto può determinare fenomeni di tossicità, soprattutto in stagioni particolarmente fredde o calde e umide o piovose.

- **Tallato di rame**

È preparato con resine, acidi grassi estratti dal legno di pino e idrossido di rame, non si conosce ancora bene il suo meccanismo di azione e la sua efficacia, si sa però che ha una bassa fitotossicità.

5.4.2. Aspetti positivi e negativi del rame

L'evoluzione della difesa fitosanitaria non dipende soltanto dal progresso scientifico e tecnico, ma anche dalle scelte politiche a livello mondiale, nazionale e locale; scelte che in ultimo ne stabiliscono gli obiettivi e i traguardi. A questo proposito il rame, pur essendo un metallo pesante, è uno dei fungicidi più utilizzati sia in viticoltura biologica che integrata per il controllo della peronospora della vite, ritenuta una delle più gravi ampelopatie nelle aree dove le condizioni climatiche sono caratterizzate da elevata umidità e abbondanti piogge, come ad esempio in Europa. I prodotti a base di rame presentano numerosi vantaggi che ne hanno determinato il successo. Ad esempio, oltre ad avere un'elevata efficacia nel controllo della malattia e una bassa tossicità per le viti; presentano un basso costo, hanno un ampio spettro d'azione e sono ben conosciuti dagli operatori agricoli. Essi, inoltre, svolgono un'azione tossica multisito, che previene l'insorgenza di resistenze nei patogeni, aspetto da non trascurare soprattutto in agricoltura integrata in cui l'eventuale abbandono del rame porterebbe portare a problematiche legate a resistenze per la predilezione di molecole ad azione curativa. I prodotti cuprici svolgono un'azione preventiva in quanto agiscono sulle strutture riproduttive del patogeno e mirano quindi a limitare il più possibile le infezioni, riducendo il ricorso ad eventuali interventi curativi. Inoltre, 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. Questi aspetti hanno reso il rame uno dei principali mezzi tecnici di difesa adottati in agricoltura, soprattutto in viticoltura. Tuttavia, a seguito di un utilizzo reiterato di prodotti a base di rame, sono sorte nel tempo una serie di problematiche correlate alla natura intrinseca di questo metallo pesante, che per sue caratteristiche è soggetto a innescare fenomeni di tossicità residua, di riduzione della microflora e della fauna nel terreno, fenomeni di fitossicità su colture sensibili e residui persistenti. Infatti, essendo un metallo pesante, il rame tende ad accumularsi nelle catene trofiche e nel terreno, soprattutto negli strati più superficiali (Duca et al., 2016), interferendo negativamente con gli organismi che popolano il suolo. A causa dell'uso ripetuto nel tempo di prodotti contenenti rame, in molti terreni viticoli la concentrazione di rame ha raggiunto livelli elevati, soprattutto negli strati più superficiali, dove viene trattenuto dalla sostanza organica e dai colloidi. In queste situazioni, a subirne maggiormente le conseguenze negative sono proprio gli organismi che vivono nel suolo, come riportato da alcuni studi sul campo in cui sono stati mostrati chiari collegamenti tra l'aumento delle concentrazioni di rame nel suolo e la riduzione delle popolazioni di lombrichi e carabidi carabidi (Paoletti et al., 1998; Wightwick et al., 2008). Inoltre, nonostante il rame sia classificato come un microelemento della nutrizione vegetale, alte concentrazioni possono portare a fitotossicità per le viti stesse, ridotta crescita di giovani radici e germogli, possibili clorosi fogliari e riduzione della capacità di assorbimento di acqua e nutrienti (Dagostin et al., 2011; Juang et al., 2012). Altro aspetto negativo tutt'altro che trascurabile riguarda le contaminazioni dell'uva con residui del metallo pesante i quali, oltre ad essere pericolosi per la salute del consumatore, hanno una serie di risvolti negativi in fase di vinificazione sulle caratteristiche aromatiche dei vini stessi (Garde-Cerdán et al., 2017). Non ultimo per importanza, gli agrofarmaci a base di rame possono rappresentare un pericolo per la salute degli operatori del settore agricolo, i quali sono spesso esposti al contatto con questi prodotti. Proprio a seguito di queste problematiche i prodotti rameici sono stati e sono tuttora oggetto di una continua evoluzione tecnologica, che ha permesso alle industrie agrofarmaceutiche di ottenere formulati rameici efficaci a dosi sempre più basse di rame e si sono sviluppate strategie di utilizzo a basso dosaggio di rame (Romanazzi et al., 2010). Ciò è stato possibile attraverso formulazioni e granulometrie

capaci di aumentare l'adesività e la persistenza del rame sugli organi trattati, ma anche di velocizzare la disponibilità degli ioni Cu^{++}. Considerando comunque i rischi legati all'impiego di prodotti contenenti rame, il loro utilizzo in agricoltura è stato soggetto a diverse restrizioni nel corso degli anni, fino ad arrivare alla situazione attuale dove, attraverso il Reg. UE 1981/2018, l'Unione Europea ha fissato un limite medio all'impiego di rame in agricoltura di 4 kg/ha per anno (ovvero 28 kg ammessi nei 7 anni di rinnovo con un massimo assoluto di 4 kg/ha per annata) e, dato che soddisfa i criteri di tossicità e bioaccumulo, lo ha inserito nella lista delle sostanze attive candidate alla sostituzione, sebbene alcuni paesi del vecchio continente abbiano già azzerato gli apporti cuprici in agricoltura. Inoltre, sulla base dei rischi legati all'utilizzazione dei mezzi chimici nella protezione dei vegetali di interesse agronomico, nel maggio 2020, la Commissione europea ha presentato, contemporaneamente alla "strategia per la biodiversità", la strategia "*Farm to Fork"*, la quale si compone di una serie di obiettivi da raggiungere entro il 2030, tra i quali: ridurre del 50% l'uso dei pesticidi di sintesi chimica o pericolosi e destinare almeno il 25% della superficie agricola all'agricoltura biologica. Tutto ciò riguarda anche i prodotti rameici, i quali vengono ancora ampiamente utilizzati in agricoltura integrata, ma soprattutto in agricoltura biologica dove, ad oggi, rappresentano i soli in grado di garantire un reddito e dei livelli di protezione accettabili da alcune malattie come la peronospora della vite. Di conseguenza, l'aumento delle superfici biologiche da una parte e le sempre più stringenti limitazioni poste all'uso del rame dall'altra, aprono la strada alla ricerca di nuove strategie di protezione dalle malattie che siano meno impattanti sull'ambiente e meno pericolose per l'uomo.

5.4.3 Molecole di origine naturale alternative al rame

In viticoltura l'apporto di rame al terreno dovuto ai trattamenti antiperonosporici ripetuti è tutt'altro che trascurabile visti gli effetti che si ripercuotono negativamente su pedofauna, composizione microbiologica ed enzimatica del suolo. La Commissione Europea quindi negli ultimi anni sta lavorando alla riduzione delle quantità distribuite di questo metallo pesante nell'ambiente. In quest'ottica risulta di fondamentale importanza l'impiego di molecole ad attività antiperonosporica alternative al rame. Per rispondere a queste necessità, recentemente, è stata fortemente incentivata la ricerca

di composti naturali alternativi per ridurre o eliminare l'utilizzo di prodotti cuprici in agricoltura biologica (Gessler et al., 2011). Alcuni studi hanno identificato delle sostanze naturali con interessanti qualità in termini di controllo nei confronti di *P. viticola.* In particolare, si tratta di proteine idrolizzate (Lachhab et al., 2014), chitosano (Maia et al., 2012), laminarina (Aziz et al., 2003) e alcuni microorganismi (Alfonzo et al., 2012). Spesso questi composti di origine naturale non sono inquadrati come veri e propri agrofarmaci; quindi, seguono un iter di approvazione diverso e semplificato. Alcuni estratti vegetali, sali minerali semplici o complessi come fosfiti e fosfonati, e microrganismi testati per la difesa sono ammessi dalla normativa come fertilizzanti o biostimolanti, quindi non registrati come fitofarmaci. Altri prodotti chimici sono stati classificati come "sostanze di base" (SdB). Ai fini del Regolamento EU 1107/2009 è considerata sostanza di base una sostanza attiva che soddisfi i criteri di "prodotto alimentare" e deve presentare le seguenti caratteristiche: non essere potenzialmente pericolose, non possedere effetti neurotossici o immunotossici, non interferire con il sistema endocrino, non essere utilizzate principalmente a scopi fitosanitari ma trovare impiego tal quali o diluite in acqua. Il chitosano cloridrato è stata la prima SdB approvata per usi fitosanitari con il Reg. UE n. 563/2014 a norma del Reg. UE n. 1107/2209 relativo all'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari. Questa diversificazione permette a queste molecole naturali di non dover sottostare alla normativa ben più rigida che invece disciplina i fitofarmaci, i quali per essere approvati necessitano di un lungo processo di valutazione dei rischi, un percorso troppo costoso e impegnativo per la maggior parte dei prodotti naturali che hanno un mercato ridotto e sono spesso elaborati da aziende medio-piccole.

Sono diversi i composti naturali che hanno dimostrato una certa attività fungicida o fungistatica, in elenco: chitosano, fosfiti e fosfonati, acido salicilico, bicarbonato di sodio e potassio, farine di roccia, propoli, olio di Neem e laminarina.

- **Il chitosano**

Il chitosano è un biopolimero naturale, ad azione biostimolante delle difese della pianta, ottenuto per deacetilazione della chitina mediante esposizione a soluzioni alcaline di NaOH o per idrolisi enzimatica in presenza di chitina deacetilasi. È formato da D-glucosamina e N-acetil-D glucosammina che sono tenute insieme da legami

glucosidici *β* 1-4 (Figura 15). È una molecola ottenuta industrialmente dall'esoscheletro dei crostacei ed è largamente utilizzato in diverse applicazioni come soluzioni, gel o film e fibre. È utilizzato negli ambiti più disparati come quello della cosmesi, della biomedicina, delle biotecnologie e dell'industria alimentare, oltre che nel settore agricolo per la protezione delle colture dalle malattie.

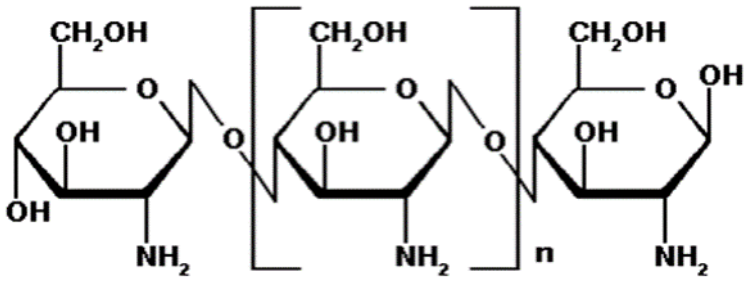

Figura 15: Rappresentazione schematica della struttura chimica del chitosano

Per quanto riguarda l'agricoltura il chitosano trova applicazione per la sua efficacia nel controllo delle malattie di frutta e ortaggi (Romanazzi et al., 2017). Il chitosano cloridrato è stato il primo composto naturale ad essere registrato nella lista delle SdB approvate dall'Unione Europea per fini fitosanitari ai sensi del Reg. UE 2014/563, sia per l'agricoltura biologica sia per quella integrata. Grazie alla sua bassa tossicità è stato approvato come sostanza GRAS (*Generally Recognized As Safe*) negli Stati Uniti dalla USFDA (Hu et al., 2019) e la sua applicazione è ritenuta dunque sicura per il consumatore e l'ambiente. Molti autori hanno studiato le applicazioni del chitosano con risultati positivi nel postraccolta per la protezione di derrate alimentari facilmente deperibili, come ad esempio su: uva da tavola (Meng et al., 2008), fragole (Romanazzi et al., 2013), melograno (Varasteh et al., 2012), ciliegie (Petriccione et al., 2015), papaya (Ali et al., 2011), kiwi (Kaya et al., 2016) e guava (Krishna e Rao, 2014). Inoltre, di recente è stata pubblicata una rassegna completa sui dati disponibili in letteratura circa l'efficacia del chitosano, i suoi meccanismi d'azione, i suoi possibili impieghi nella conservazione di frutta e verdura sia da solo sia in combinazione con altri trattamenti (Rajestary et al., 2021). Il chitosano è uno degli elicitori più studiati per il controllo di *P. viticola* e altri funghi fitopatogeni della vite come *B. cinerea* ed *E. necator* (Romanazzi et al., 2002). L'efficacia fitoiatrica è dovuta alla sua triplice

attività: antimicrobica, filmogena ed elicitante (Romanazzi et al., 2018). L'azione antimicrobica è resa possibile dalle cariche elettriche positive del biopolimero che vanno ad interagire con le cariche elettriche negative tipiche della superficie cellulare di batteri e funghi, alterando la loro permeabilità cellulare; con questi meccanismi, il chitosano può interferire con gli acidi nucleici microbici, inibendo la sintesi di mRNA e proteine (Devlieghere et al., 2004). L'azione filmogena invece consiste nella formazione di un film semipermeabile attorno ai tessuti, che blocca l'infezione e lo sviluppo dei parassiti, ma che al contempo tende a ridurre la traspirazione delle superfici vegetali trattate. Infine, il biopolimero è considerato un potente elicitore in quanto è in grado di indurre nei tessuti vegetali una risposta di difesa contro gli organismi patogeni: dato che la struttura del chitosano è chimicamente simile alla struttura delle pareti cellulari dei funghi e di altri costituenti fungini, quando viene applicato sui tessuti vegetali simula la presenza del patogeno e stimola l'attivazione di una serie di meccanismi di difesa endogeni delle piante, come ad esempio l'induzione della sintesi di fitoalessine nelle cellule vegetali, la formazione di lignina, la produzione di inibitori della proteasi, variazioni del flusso ionico, l'acidificazione del citoplasma, la depolarizzazione della membrana e fosforilazione delle proteine, l'attivazione di chitinasi e glucanasi, la generazione di specie reattive dell'ossigeno, la formazione di callosio, la biosintesi dell'acido jasmonico e l'espressione di geni correlati alle risposte di difesa (Amborabé et al., 2008; El Hadrami et al., 2010). Il chitosano stimola anche la produzione di un'ampia gamma di sostanze coinvolte in maniera più o meno diretta nei meccanismi di autodifesa, come proteine correlate alla patogenesi (PR), specie reattive dell'ossigeno (ROS), lignina, callosio, fitoalessine, fenilalanina ammonio liasi (PAL), perossidasi e chitinasi. Inoltre, *in vitro* è stato dimostrato come l'applicazione del chitosano influisca positivamente nell'accumulo di trans e cis-resveratrolo e Ɛ-viniferina nelle foglie di *V. vinifera* (Aziz et al., 2006), che svolgono naturalmente una funzione di difesa della pianta contro i microrganismi patogeni, soprattutto fungini. Il chitosano può potenziare le difese delle piante e indurre la resistenza dell'ospite sia nelle specie monocotiledoni che in quelle dicotiledoni (El Hadrami et al., 2010). Altri effetti imputabili ad applicazioni di chitosano sulle piante possono essere: maggior potere germinativo ed emergenza precoce, riduzione dello stress idrico, aumento della biomassa prodotta in rapporto

all'acqua consumata, miglior sviluppo delle radici, stabilizzazione della vita biologica delle piante, aumento del raccolto, aroma più intenso dei frutti, maggiore crescita vegetale e formazione di micorrize ed infine aumento della *shelf life* di prodotti ortofrutticoli freschi. Sicuramente assumono grande importanza le sperimentazioni e le ricerche volte ad approfondire le conoscenze riguardanti questa molecola e il suo possibile utilizzo su ampia scala. Il chitosano è stato utilizzato anche nella lotta ai fitoplasmi, come nel caso del legno nero, dove è emerso un tasso di remissione dei sintomi leggermente superiore ai testimoni non trattati, sebbene altri formulati commerciali abbiano mostrato delle risposte molto più efficaci (Romanazzi et al., 2010, 2013). Il chitosano è una molecola sicura e biodegradabile, non presenta tossicità né verso l'uomo né verso le specie vegetali e, tra i vari prodotti naturali, attualmente rappresenta il candidato principale per affiancare e in qualche caso sostituire i prodotti rameici nelle strategie di protezione della vite dalla peronospora in agricoltura biologica ed integrata. Inoltre, a differenza del rame, non ha conseguenze negative sulle caratteristiche organolettiche del vino, come dimostrato da un panel di esperti in seguito a prove di microvinificazione.

- **Fosfiti e fosfonati**

Il fosfito (K_2HPO_3) e il fosfonato (KN_2PO_3) sono dei sali dell'acido fosforico (H_3PO_4) e dell'acido fosforoso (H_3PO_3). I principi attivi sono il potassio diidrogenofosfato e il potassio fosfato che garantiscono meccanismi d'azione diretti e indiretti. Il meccanismo d'azione dei prodotti a base di questi sali è di tipo diretto sul metabolismo amminoacidico, sulla composizione proteica, sulla riduzione del pool nucleotidico, e di tipo indiretto con lo stimolo alla produzione di sostanze di difesa nella pianta ospite. Il controllo dei funghi da parte di questi sali avviene inibendo la crescita del micelio, riducendo la sporulazione e modificando la struttura del micelio tramite alterazione del contenuto di acidi grassi liberi delle cellule della parete. Pertanto, sono considerati degli ottimi fungicidi antiperonosporici per la loro azione translaminare, la loro elevata capacità di essere assorbiti e la loro conseguente efficace attività inibitoria. Inoltre, hanno una bassa fitotossicità e non costituiscono una minaccia a livello ambientale in quanto si ionizzano in idrogeno e fosforo eliminando i problemi legati all'accumulo nel terreno o nelle falde. Il limite principale di questi fungicidi naturali è rappresentato

dal fatto che solo negli ultimi anni sono stati registrati come agrofarmaci (prima facevano parte del gruppo dei fertilizzanti) e non si possono utilizzare in agricoltura biologica. Ne consegue che non possono essere considerati delle valide alternative al rame nel controllo di *P. viticola* in vigneti biologici.

- **Acido salicilico**

È un composto naturale che stimola le difese endogene ed è presente all'interno delle piante in piccole quantità. Può essere considerato un prodotto alternativo al rame nella protezione antiperonosporica ma la sua efficacia è sicuramente più limitata poiché riesce a garantire un buon controllo solo in caso di bassa pressione della malattia. Rispetto ai prodotti cuprici ha il vantaggio di poter essere distribuito in tutte le fasi fenologiche del vigneto dal momento che assicura la copertura anche in fioritura, dove invece il rame è altamente problematico.

- **Bicarbonato di potassio e sodio**

Il bicarbonato di sodio è una sostanza naturale, non tossica in grado di controllare alcuni funghi. Il sale di potassio invece è un prodotto sintetizzato partendo dall'idrossido di potassio. Il primo è un prodotto commerciale, poco costoso e poco tossico, ma deve essere applicato alla pianta con l'aggiunta di un bagnante o con un adesivante per migliorare la distribuzione e l'assorbimento dello stesso. L'azione del bicarbonato di potassio sembra dovuta al danneggiamento della membrana delle cellule nelle spore e allo spostamento del pH della linfa a un valore di circa 6,4, incompatibile con la vita dei funghi. Ha un meccanismo preventivo in grado di diminuire l'incidenza della malattia, e allo stesso tempo sembra avere una certa efficacia anche dopo la comparsa della malattia. Le tempistiche e le dosi di utilizzo sono molto importanti in quanto un alto livello di bicarbonato di sodio può provocare ustioni alle foglie. Un uso non corretto del prodotto porta al danneggiamento delle foglie e al suo accumulo nel terreno con conseguente alterazione del pH e rallentamento della crescita delle piante. In definitiva tra i due il bicarbonato di potassio è quello che ha dimostrato una migliore efficacia nei confronti di *P. viticola.*

- **Farine di roccia**

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. Si usano come protettivi, sia in campo, sia in serra. L'acido silicico, come già detto, favorisce l'irrobustimento delle foglie e degli steli, inoltre gli altri elementi minerali e microelementi, contribuiscono a rinforzare la pianta. La polvere di roccia mostra anche un'azione meccanica (barriera fisica) nei confronti dei patogeni e, grazie alle sue caratteristiche igroscopiche, può agire come disidratante dei parassiti.

- **Propoli**

È un prodotto derivante dalle api che elaborano un gran numero di sostanze resinose, cerose e gommose presenti negli organi vegetali di piante quali castagno, salice, ippocastano, pioppo, abete, quercia e frassino. 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 ma senza alcun effetto diretto verso il parassita di natura fungina. L'impiego del propoli da solo è sconsigliato a causa della sua inefficacia ma può essere interessante la distribuzione di una miscela contenente zolfo o sali di rame di cui potenzia l'azione e ne permette un uso in concentrazioni limitate

- **Olio di neem**

È un olio vegetale estratto da *Azadirachta indica*, una specie arborea presente in climi tropicali come quelli indiani. Ha effetti insetticidi e fungicidi in particolare verso specie crittogame come *P. viticola* e *B. cinerea*. Ciò è possibile grazie ai limonoidi, molecole particolarmente attive dal punto di vista antimicrobico, e ai derivati dello zolfo presenti all'interno dell'olio stesso. Ha un buon profilo tossicologico, è specifico e non ha tossicità verso gli altri organismi come gli insetti utili

- **Laminarina**

La β-1,3-glucan laminarina deriva dall'alga marrone *Laminaria digitata*. Ha dimostrato di essere un efficiente elicitore delle difese endogene delle cellule della vite e di essere in grado di controllare lo sviluppo e le infezioni di *B. cinerea* e *P. viticola* (Aziz et al., 2003). Nei confronti della peronospora si è esclusa la sua azione diretta su zoospore e su sporangi. Interessate però è il fatto che le piante normalmente suscettibili alla peronospora trattate con la laminaria solfato, abbiano mostrato la stessa risposta dei vitigni resistenti alla malattia come il Solaris (Trouvelot et al., 2008). L'applicazione di questo prodotto sulla parete fogliare non ha indotto la morte delle cellule vegetali ed ha dimostrato un controllo di *B. cinerea* e *P. viticola* rispettivamente del 55% e del 75% circa. Spesso vengono associate a estratti microbici di *Saccharomyces* (Romanazzi et al., 2021).

5.4.4 Sostanze attive a basso rischio

È necessario distinguere un'altra tipologia di sostanze utilizzabili nella difesa fitosanitaria delle colture: le sostanze a basso rischio. Questa tipologia è stata introdotta per la prima volta nel Reg. n. 1107/2009 (insieme alle SdB e alle sostanze candidate alla sostituzione) e le definisce come sostanze con caratteristiche tossicologiche e ambientali particolarmente favorevoli, non sono cancerogene, mutagene, tossiche per la riproduzione, neurotossiche, immunotossiche, sensibilizzanti, molto tossiche o tossiche, esplosive, corrosive, persistenti (tempo di emivita nel suolo superiore a due mesi), bioaccumulabili (fattore di concentrazione superiore a 100) e non interferiscono con il sistema endocrino. Inoltre, devono essere sufficientemente efficaci. Le sostanze in questione sono approvate per 15 anni.

5.4.4.1 La sostanza attiva COS (chito-oligosaccaridi) - OGA (oligo-galaturonidi)

La prima sostanza attiva a basso rischio che è stata brevettata in Europa è un complesso di origine naturale di oligosaccaridi di origine naturale messo a punto da FytoFend, spinoff dell'Università di Namur (Belgio) (www.L'Informatoreagrario.it); esso è formato da una parte di chito-oligosaccaridi (COS) derivante dalla depolimerizzazione del chitosano (componente anche delle pareti cellulari delle crittogame) estratto dalla chitina dell'esoscheletro dei crostacei ed una parte di oligo-galatturonidi (OGA) derivata da pectine (componenti delle pareti cellulari vegetali) estratte dalla buccia di

agrumi e mele. COS-OGA agisce come attivatore (elicitore) delle difese naturali della pianta, legandosi ai recettori della membrana vegetale e producendo un segnale biochimico che si diffonde nella pianta e provoca diverse risposte fisiologiche di difesa: ispessimento delle pareti vegetali attraverso la deposizione di callosio e lignina; effetti su attività perossidasica (POX); biosintesi di proteine di patogenesi "*PR protein*", coinvolte nel meccanismo di Resistenza Sistemica Acquisita "SAR". L'originalità della sostanza attiva COS-OGA consiste nella sua composizione: i frammenti del chitosano (COS) vengono rilevati dalla pianta come molecole "estranee" provenienti da un agente patogeno ("*non-self*", in immunologia), mentre i frammenti di pectina (OGA) vengono rilevati come provenienti dalla degradazione della parete cellulare vegetale ("*self*"). Questo doppio segnale d'allarme aumenta la rapidità e l'intensità della risposta di difesa (https://fitogest.imagelinenetwork.com, settembre 2021). Con il decreto dirigenziale del Ministero della salute del 27- 11-2018 è stato esteso l'impiego del prodotto alla coltura della vite da vino e da tavola contro l'oidio e il Reg. EU 1584/2018 del 22/10/2018 ha ufficializzato l'inserimento della sostanza attiva nell'elenco delle sostanze impiegabili per le produzioni biologiche (allegato II Reg. n. 889/2008) (www.L'Informatoreagrario.it, settembre 2021).

6 OBIETTIVI DELLA RICERCA

La sostenibilità (ambientale, sociale ed economica) in agricoltura è ormai da molti anni un tema di grande importanza: la conservazione degli ecosistemi, la sicurezza degli operatori, la resilienza delle aziende agricole, la salute dei consumatori e quindi la "*food safety*", cioè l'assenza di sostanze o organismi contaminanti e ritenuti pericolosi negli alimenti (Unnevehr, 2020) sono fondamentali per il raggiungimento di una buona qualità di vita dell'uomo. L'acquisizione della sicurezza alimentare però non può prescindere dal raggiungimento della "*food security*" cioè la sicurezza nell'approvvigionamento, che esiste quando tutte le persone, in ogni momento, hanno accesso fisico ed economico a sufficienti quantità di cibo sano e nutriente, che soddisfi le esigenze dietetiche e preferenze alimentari per un'attività attiva e una vita sana. Da tempo l'Unione Europea ha individuato i composti a base di rame come sostanze candidate alla sostituzione, in quanto persistenti e tossiche e ne sono stati autorizzati esclusivamente gli impieghi che comportano un'applicazione totale non superiore a 28 kg di rame per ettaro nell'arco di 7 anni (Reg. UE 1981/2018). Anche a distanza di anni dall'emanazione di queste limitazioni, il rame è ancora una sostanza molto diffusa, soprattutto in viticoltura. La ricerca scientifica è molto attiva in questo ambito, ma nonostante le numerose sperimentazioni, ancora non è disponibile una soluzione alternativa al rame che sia valida ed applicabile su scala commerciale. La proroga (con limitazioni) dell'utilizzo di prodotti a base di rame, si riallaccia ai concetti precedentemente citati di *food safety* e *food security*: questo perché un divieto categorico dell'utilizzo di prodotti cuprici per sostenere la salvaguardia degli ecosistemi e degli alimenti, avrebbe portato alla rovina di interi comparti economici e ad una riduzione della disponibilità di cibo in controtendenza ad un aumento della popolazione mondiale che si sta verificando nel mondo. Questi due concetti non sono in antitesi tra loro, ma è necessario trovare delle soluzioni che comprendano entrambi. Il seguente lavoro cerca di contribuire nel dare delle soluzioni a quegli agricoltori che hanno deciso di entrare all'interno di una gestione delle coltivazioni con metodo biologico, dove il rame rappresenta ancora oggi l'unica arma efficace ed autorizzata nei confronti della peronospora della vite. I possibili contributi non hanno limiti di categoria, quindi possono essere utilizzati non solo da agricoltori biologici ma anche da chi si occupa di agricoltura integrata, dato che anche in questo caso i prodotti a base

di rame giocano un ruolo fondamentale nell'affiancare i fungicidi di sintesi nella protezione antiperonosporica. Nello specifico, è stata condotta una ricerca sia di laboratorio che di campo per valutare l'adattabilità su scala aziendale e l'efficacia antiperonosporica di nuovi induttori di resistenza applicati singolarmente o con basse dosi di rame. In particolare, il lavoro si è incentrato sull'utilizzo di un prodotto commerciale a base di chito-oligosaccaridi ed oligo-galatturonidi (COS-OGA), che è un elicitore delle difese delle piante, ma non è registrato nei confronti della peronospora della vite. Per la valutazione dell'adattabilità in contesti aziendali, risulta fondamentale studiare la compatibilità di un prodotto innovativo con altri agrofarmaci ampiamente utilizzati, perché spesso le aziende svolgono trattamenti con più prodotti combinati contemporaneamente.

7 MATERIALI E METODI

La prova sperimentale in oggetto si può dividere in due fasi: "prova di laboratorio" e "prova di campo". Nella prima fase, è stato valutato il livello di compatibilità dell'induttore di resistenza a base di chito-oligosaccaridi e oligo-galatturonidi (COS-OGA) con altri prodotti fitosanitari ampiamente utilizzati per il controllo della peronospora della vite. La seconda fase corrisponde alla "prova di campo", nella quale è stata effettuata la valutazione dell'efficacia antiperonosporica dell'induttore di resistenza, applicato singolarmente o combinato con prodotti a base di rame.

7.1 PROVA DI LABORATORIO: COMPATIBILITÀ DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA CON ALTRI PRODOTTI IMPIEGATI NELLA PROTEZIONE DELLA VITE

Nella sperimentazione in questione è stata effettuata una valutazione dell'induttore di resistenza contenente la sostanza attiva COS-OGA, nella presente indagine utilizzato in formulato liquido, ed è già registrato su vite per il controllo dell'oidio. Il prodotto utilizzato è classificato come elicitore (attivatore) delle difese naturali della pianta. La valutazione della compatibilità del COS-OGA con altri prodotti fitosanitari è stata svolta interamente all'interno dei laboratori dell'Università Politecnica delle Marche, più precisamente all'interno dell'area "Protezione delle piante". La tabella 3 mostra i principi attivi che sono stati utilizzati durante la sperimentazione. È importante notare che i fitofarmaci scelti sono tutti molto utilizzati in agricoltura biologica ed è per

questo motivo, infatti, che è stato deciso di valutare la loro compatibilità con l'induttore di resistenza

Tabella Errore. Nel documento non esiste testo dello stile specificato.**:** Prodotti utilizzati in laboratorio durante la prova di compatibilità

Principio attivo	**Nome commerciale, distributore**	**Dose massima d'etichetta (DP)**
COS-OGA	Ibisco, Gowan Italia s.r.l.	3 L/ha
Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10%	Airone Extra, Gowan Italia s.r.l.	1,5 kg/ha
Zeolite	Zeolite, Gowan Italia s.r.l.	4 kg/ha
Zolfo bagnabile 80%	Tioflor, Gowan Italia s.r.l.	0,8 kg/hL

Nella prova, condotta interamente con acqua distillata e con volumi di 1 litro, i tre prodotti sono stati mescolati singolarmente con il COS-OGA a diversi dosaggi. Le valutazioni di compatibilità fra i prodotti sono state effettuate sempre in comparazione ad un testimone di ogni prodotto preparato alla dose massima d'etichetta (prevista per la vite da vino) in un litro di acqua distillata. I prodotti sopraelencati (Tabella 3), sono stati testati alla dose massima d'etichetta (DP) e alla dose dimezzata ($\frac{1}{2}$ DP) in combinazione con COS-OGA a un quarto della dose massima d'etichetta ($\frac{1}{4}$ DP), metà della dose massima d'etichetta ($\frac{1}{2}$ DP), dose massima d'etichetta (DP) e dose massima d'etichetta raddoppiata (2DP). Le dosi sono state calcolate partendo sempre dalle dosi massime previste per i trattamenti su vite, considerando volumi d'irrorazione standard per la vite di 1000 l/ha (Tabella 4).

Tabella 4: Dettaglio delle dosi saggiate durante le prove di compatibilità per ogni principio attivo

Principio attivo	**2DP**	**DP**	**1/2 DP**	**1/4 DP**
COS-OGA	6 L/ha	3 L/ha	1,5 L/ha	0,75 L/ha
Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10%	-	1,5 kg/ha	0,75 kg/ha	-
Zeolite	-	4 kg/ha	2 kg/ha	-

Zolfo bagnabile 80%	-	0,8 kg/hL	0,4 kg/hL	-

In totale sono state effettuate 24 combinazioni le quali, dopo essere state mantenute in agitazione, sono state valutate visivamente dopo circa 10 minuti di fase stazionaria e dopo una notte in fase stazionaria (*overnight*). Per la determinazione del livello di compatibilità fra prodotti, sono stati attribuiti dei valori numerici, presi da una scala empirica (Tabella 5). La scala adottata comprende sei valori (da 1 a 5), all'aumentare dei quali aumenta l'incompatibilità fra le componenti della miscela e di conseguenza la difficoltà nell'effettuare un trattamento fitosanitario.

Tabella 5: Classi adoperate per la classificazione dei diversi livelli di affinità nelle prove di compatibilità svolte in laboratorio fra COS-OGA ed altri prodotti utilizzati in agricoltura biologica

Classi	Descrizione
1	Compatibile
2	Compatibile con presenza di sedimenti risospendibili
3	Formazione di precipitati
4	Separazioni o flocculazioni
5	Formazione di gel

Rientrano nella categoria 1 e 2 le combinazioni considerate compatibili, cioè che non presentano reazioni o fasi che potrebbero compromettere la buona riuscita di un trattamento antiparassitario. Nella categoria 2 sono state incluse le miscele che formano dei sedimenti, anche se risospendibili, subito o dopo 24 ore. Nelle categorie 3, 4 e 5 sono state incluse le miscele ritenute incompatibili, che danno luogo rispettivamente a precipitati, separazioni nette o flocculazioni ed infine formazione di gel. Per ogni miscela è stata descritta il tipo di interazione fra le due componenti ed è stato misurato il pH (Romanazzi et al., 2020).Successivamente sono stati rilevati alcuni parametri che potrebbero influire sulla compatibilità dei prodotti: pH, mediante pH-metro con elettrodo; conducibilità elettrica (uS/cm), mediante conduttivimetro; tempo di attraversamento (espresso in secondi e misurato a 40°C) in un viscosimetro *Ostwald* con costante 0,1050 ed infine densità, misurando la massa di 200µL di sospensione.

7.2 PROVA DI CAMPO: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA

La parte più consistente del presente lavoro ha riguardato la valutazione dell'efficacia nei confronti della peronospora e dell'oidio della vite dell'induttore di resistenza COS-OGA in una prova parcellare di campo, applicando il prodotto singolarmente o combinato con prodotti a base di rame. La valutazione d'efficacia è avvenuta in conformità con gli standard EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) sui principi generali per la valutazione dell'efficacia dei prodotti fitosanitari che agiscono come induttori di resistenza delle piante.

7.2.1 Descrizione del vigneto e delle attrezzature utilizzate

L'intera sperimentazione è stata svolta in un vigneto (figura 16) situato all'interno del comune di Ancona, gestito e messo a disposizione dall'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop". Questo vigneto è stato infettato naturalmente da *P. viticola*, è costituito interamente dalla varietà Montepulciano, è allevato a cordone speronato con un sesto d'impianto di 0,80m per 2,50m ed ha la caratteristica di essere situato all'interno della città di Ancona, quindi in prossimità della parte urbanizzata. La prova è stata svolta su sei filari, per un totale di 208 piante ed una superficie di circa 600m^2. In primavera il vigneto, inerbito, si presentava con un cotico erboso alto e necessitoso di essere tagliato, in estate è stato regolarmente sfalciato.

Figura 16: Aerografia vigneto utilizzato per la sperimentazione, evidenziati in rosso i sei filari che hanno subito i differenti trattamenti, da notare la prossimità della città

7.2.2 Schema sperimentale

La porzione del vigneto destinata alla sperimentazione è stata suddivisa in 4 blocchi, nei quali sono state distribuite nove tesi (o trattamenti, descritti in tabella 7), messe a confronto secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni per ognuna. Di conseguenza, in totale il vigneto è stato suddiviso in trentasei parcelle (ognuna corrisponde ad un interpalo, composto da 5 o 6 piante). Adottando questo schema sperimentale si è cercato di porre nelle medesime condizioni ambientali tutte le tesi riducendo l'effetto gradiente, l'errore e mettendo in evidenza l'effetto dovuto ai differenti trattamenti. Ogni parcella nella maggior parte dei casi corrisponde ad un interpalo e comprende generalmente cinque o sei piante. La scelta della superficie da destinare alla sperimentazione è stata razionale: sono state escluse dalla scelta le piante con una crescita stentata rispetto alla media (generalmente ad inizio filare), ma anche le ultime piante alla fine di alcuni filari. Non è stato necessario distanziare le tesi in quanto i differenti trattamenti sono stati eseguiti con delle motopompe irroratrici a spalla e in presenza di condizioni favorevoli; quindi, sono stati fatti dei trattamenti topici con limitata possibilità di deriva del prodotto sulle tesi confinanti. I trattamenti sono stati eseguiti con cadenza settimanale dal 27 aprile 2021 al 27 luglio 2021 con una irroratrice a spalla (Figura 17) modello Honda GX 25, 25cc, con motore a 4 tempi e potenza di kW 0,81 (CV 1,1). La pressione massima è di 25 bar (2,5 Mpa) e la sua regolazione avviene tramite comando manuale a manopola con 5 posizioni impostate da 5 a 25 bar. La portata massima è di 7,1 L/minuto, la lancia è provvista di 2 spruzzatori e valvola di erogazione con sfera a comando a leva.

Figura 17: Irroratrice a spalla utilizzata in vigneto

Dopo aver ideato lo schema sperimentale, le singole parcelle sono state segnate con dei nastri colorati, questo ha permesso agli operatori di effettuare i diversi trattamenti. Nell'arco di tempo che ha interessato la prova sperimentale, quindi ad ogni trattamento, sono state effettuate delle misurazioni in vigneto per monitorare le fasi fenologiche; inoltre c'è stato un costante monitoraggio della vegetazione per individuare la comparsa dei primi sintomi e l'evoluzione della malattia. Complessivamente i trattamenti su ogni tesi sono stati effettuati per quattordici volte, in un arco temporale che va dal 27 aprile 2021 al 27 luglio 2021 con cadenza settimanale, tenendo in considerazione le condizioni metereologiche. Le nove tesi hanno subito trattamenti diversificati con i vari principi attivi (Tabella 7), comprendenti l'induttore di resistenza COS-OGA, un formulato a base di rame e anche l'utilizzo di un coadiuvante per i trattamenti fungicidi (antideriva e antischiuma). In dettaglio, è stato sperimentato il COS-OGA da solo o combinato con un prodotto a base di rame a diversi dosaggi e con lo stesso alla dose più bassa con l'aggiunta di un coadiuvante a base di sorbitan mono oleato etossilato; queste tesi sono state poi confrontate con il rame da solo a diversi dosaggi e con un testimone non trattato

(Tabella 7). Una volta appurata la compatibilità in laboratorio, le miscelazioni dei diversi fitofarmaci a differenti dosaggi sono avvenute direttamente in campo ad ogni trattamento. Prima di ogni nuovo utilizzo, le irroratrici sono state lavate per evitare una possibile contaminazione tra i dosaggi e principi attivi delle differenti tesi.

Tabella 7: Dettaglio delle dosi saggiate durante le prove di campo per ogni principio attivo

Tesi	Principi attivi	Nomi commerciali	Dosi utilizzate
1	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10%	Airone Extra	0,75 kg/ha
2	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10%	Airone Extra	1 kg/ha
3	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10%	Airone Extra	1,5 kg/ha
4	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + COS-OGA	Airone Extra + Ibisco	0,75 kg/ha + 2 L/ha
5	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + COS-OGA	Airone Extra + Ibisco	1 kg/ha + 2 L/ha
6	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + COS-OGA	Airone Extra + Ibisco	1,5 kg/ha + 2L/ha
7	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + COS-OGA + Sorbitan mono oleato etossilato 12%	Airone Extra + Ibisco +Mago	0,75 kg/ha + 2 L/ha + 1,5 L/ha
8	COS-OGA	Ibisco	2 L/ha
9	Testimone non trattato	-	-

7.2.3 Valutazione delle infezioni

Per tutto il periodo in cui sono stati effettuati i trattamenti fitosanitari, è stato effettuato un attento monitoraggio del vigneto al fine di individuare l'inizio della comparsa dei sintomi della malattia e l'evoluzione della stessa. Ad ogni trattamento sono corrisposte delle valutazioni di tipo visivo e morfo-metrico, così da monitorare l'andamento della crescita vegetativa della pianta e poter individuare la fase fenologica BBCH (*Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry*) corrispondente. La scelta delle piante di vite sulle quali eseguire le varie misurazioni è avvenuta in modo casuale, ma comunque rappresentativo dell'intera area investigata. Contemporaneamente al monitoraggio in campo sono stati costantemente raccolti i dati metereologici forniti dall'ASSAM (*Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche*), in modo da avere un completo quadro informativo riguardante l'andamento meteorologico e quindi una previsione sulla possibile comparsa dei primi sintomi di malattia. Conseguentemente alla comparsa dei primi sintomi sono stati effettuati dei rilievi in campo per poter effettivamente quantificare la presenza dei sintomi associati alle infezioni di *P. viticola* e *E. necator*. In totale sono stati effettuati quattro rilievi nelle seguenti date:

- 30/06/2021 (su grappoli per oidio)
- 27/07/2021 (su grappoli per oidio e peronospora)
- 26/08/2021 (su grappoli per oidio e peronospora)
- 07/09/2021 (su grappoli per oidio e peronospora; su foglie per oidio)

A causa dell'andamento stagionale poco favorevole alla peronospora, il primo rilievo è stato fatto in corrispondenza della comparsa di sintomi di oidio sui grappoli, solo su questa malattia, per verificare eventuali effetti di contenimento del prodotto se associato al rame. Dal secondo rilievo in poi, grazie alla comparsa dei sintomi di peronospora larvata, sono stati effettuati i rilievi su grappoli per entrambe le malattie (oidio e peronospora). Data la comparsa di chiari sintomi di oidio su foglie, l'ultimo rilievo è stato eseguito anche su foglie. Una volta effettuati i rilievi di campo, per valutare l'entità dell'infezione sono state adoperate delle scale empiriche differenti a seconda se erano oggetto di studio i grappoli oppure le foglie. Sui i primi è stata utilizzata una scala suddivisa in classi di gravità (8 in totale) in base al numero delle

bacche infette e alla percentuale di grappolo colpita dai sintomi della malattia (Tabella 8).

Tabella 8: Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia su grappoli

Classe	Entità dell'infezione
0	Sano
1	1-5 bacche
2	6-11 bacche
3	12-25 bacche
4	25% grappolo
5	26%-50% grappolo
6	51%-75% grappolo
7	>75% grappolo

Sulle foglie la scala empirica è suddivisa in undici classi di gravità in base alla percentuale di superficie fogliare colpita dai sintomi della malattia (Tabella 9).

Tabella 9: Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia su foglie

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

Ai fini dello studio è stato necessario contare il numero di grappoli per ogni singola pianta, in modo tale da poi poter rapportare il numero di grappoli malati con il numero totale dei grappoli, invece, per quanto riguarda le foglie si considera che le piante prese in esame abbiano in totale cento foglie ciascuna. L'adozione della scala empirica

permette di calcolare la diffusione della malattia (D), la gravità (G) e l'intensità media ponderata (I) o Indice di infezione di McKinney. 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. Le formule per calcolare tali parametri sono le seguenti:

$$\mathbf{D= n*100 / N}$$

- n: numero di bacche/foglie infette
- N: numero totale di bacche/foglie esaminate.

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

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

- c: valore classe empirica
- f: frequenza della classe
- n: numero foglie/bacche infette.

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

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

- c: valore classe empirica
- f: frequenza della classe
- N: numero totale delle osservazioni
- X: valore della classe massima della scala empirica.

Successivamente sono state calcolate le medie e le deviazioni standard di ciascun blocco e di ciascuna tesi. Il software di statistica impiegato per questa analisi prende il nome di SPSS20 (*Statistical Package for Social Science*). È seguita un'analisi della varianza ANOVA (*Analysis of Variance*) per verificare l'influenza dei trattamenti sui valori di gravità, di diffusione e dell'indice di McKinney. Le medie ottenute sono infine state separate applicando il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*), secondo il livello di probabilità $P \leq 0.05$.

8 RISULTATI

8.1 PROVA DI LABORATORIO: COMPATIBILITÀ TRA L'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA E ALTRI PRODOTTI IMPIEGATI NELLA PROTEZIONE DELLA VITE

Dall'analisi visiva delle combinazioni saggiate (Tabella 10), risulta evidente come tutte siano soggette a sedimentazione, in maniera più o meno marcata. Tuttavia, la compatibilità fra le due componenti della miscela in genere non risulta compromessa, in quanto basta mantenerla in agitazione per evitare la formazione del sedimento. Generalmente, si nota come all'aumentare della dose di COS-OGA si verifichi sempre una maggiore presenza di sedimento, tanto che in alcuni casi, a DP e 2DP dell'induttore di resistenza, zolfo e zeolite risultano precipitatati. L'aggiunta di COS-OGA alla zeolite o allo zolfo fa comunque riscontrare delle differenze visibili rispetto al testimone già dopo 10 minuti dalla miscelazione (figure 18 e 19), mentre il prodotto a base di idrossido ed ossicloruro di rame non sembra essere influenzato dalla presenza di COS-OGA (Figura 20). Passando da $\frac{1}{2}$DP di prodotto alla DP, invece, non si evidenziano reazioni diverse e quindi differenze nella classificazione dei risultati, se non nella quantità di materiale sedimentato o precipitato. Tuttavia, tutti i sedimenti osservati in fase stazionaria risultano risospendibili. Inoltre, anche i testimoni preparati in acqua (ad eccezione del COS-OGA dopo 10 minuti), in quanto sospensioni, sono naturalmente soggetti a sedimentazione se non mantenuti in agitazione. Dall'analisi dei parametri valutati per ogni combinazione, emerge come non ci siano state, tra le varie combinazioni, importanti differenze statisticamente significative da evidenziare per quanto riguarda il tempo di scorrimento a 40°C nel viscosimetro *Ostwald* (costante 0,1050). Allo stesso modo, anche per la densità, non si sono riscontrate differenze importanti. Il pH, misurato in un range di temperatura che va da 18,1°C a 21,4°C, è decisamente più basso nelle combinazioni tra l'elicitore e lo zolfo, rispetto alle altre. Comunque, non si evidenziano differenze significative tra i valori di pH misurati nelle varie combinazioni tra COS-OGA e rame, così come tra COS-OGA e zolfo, mentre è possibile osservare un andamento lineare, seppur non sempre con differenze significative, nelle combinazioni tra COS-OGA e zeolite: il pH diminuisce all'aumentare del dosaggio dell'induttore di resistenza e aumenta all'aumentare di quello della zeolite; inoltre, è possibile notare un'importante differenza statisticamente

significativa fra il pH 7,3 del COS-OGA 2DP combinato alla zeolite $\frac{1}{2}$DP, e il pH 8,3 del COS-OGA ¼ DP combinato alla zeolite DP. Il pH dell'induttore di resistenza DP controllo presenta un valore significativamente più basso rispetto a tutte le altre combinazioni con rame e con zeolite, mentre non si differenzia da quelle con zolfo, che presentano un pH più basso. Le differenze più marcate si evidenziano a carico della conducibilità, misurata in un range di temperatura che va da a 15,7°C a 18,7°C, dove all'aumentare del quantitativo di COS-OGA presente nelle varie combinazioni, aumenta sensibilmente anche il parametro della conducibilità. Da notare come i vari testimoni di COS-OGA DP non presentino differenze statisticamente significative mentre la conducibilità varia molto tra i 3 prodotti saggiati, i quali mostrano sempre valori di conducibilità molto più bassi rispetto all'induttore di resistenza.

Tabella 10: Risultati delle osservazioni visive dopo 10 minuti e dopo una notte in fase stazionaria delle combinazioni dei prodotti saggiati alla massima dose d'etichetta (DP) e dimezzata ($\frac{1}{2}$ DP), con COS-OGA a diversi dosaggi: un quarto della dose massima d'etichetta ($\frac{1}{4}$ DP), metà della dose massima d'etichetta ($\frac{1}{2}$ DP), dose massima d'etichetta (DP) e dose massima raddoppiata (2DP). Le osservazioni sono state condotte dopo 10 minuti dal momento della miscelazione e dopo una notte in fase stazionaria, sempre in comparazione con i prodotti alla massima dose d'etichetta preparati in acqua distillata

Prodotti saggiati	**Dose**	**Dose saggiata induttore di resistenza (COS-OGA)**							
		Dopo 10 minuti				**Overnight**			
		$\frac{1}{4}$ DP	$\frac{1}{2}$DP	DP	2DP	$\frac{1}{4}$ DP	$\frac{1}{2}$DP	DP	2DP
Rame	DP	2* Sedimento	2 sedimento	2 Sedimento	2 Sedimento	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento
	$\frac{1}{2}$ DP	2 Sedimento	2 sedimento	2 Sedimento	2 Sedimento	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento
Zeolite	DP	2 sedimento	2 sedimento	3 Precipitato	3 Precipitato	3 precipitato	3 precipitato	3 precipitato	3 precipitato
	$\frac{1}{2}$ DP	2 sedimento	2 sedimento	3 Precipitato	3 Precipitato	3 precipitato	3 precipitato	3 precipitato	3 precipitato
Zolfo	DP	2 sedimento	2 sedimento	2 Sedimento	3 Precipitato	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento	3 precipitato
	$\frac{1}{2}$ DP	2 sedimento	2 sedimento	2 Sedimento	3 Precipitato	2 sedimento	2 sedimento	2 sedimento	3 precipitato

* 1: compatibile; 2: compatibile con presenza di sedimenti risospendibili; 3: formazione di precipitati; 4: separazioni o flocculazioni; 5: formazione di gel

Figura 18: Combinazioni di zeolite + COS-OGA fotografate dopo circa 10 minuti di fase stazionaria. Da sinistra verso destra: testimone COS-OGA DP; testimone zeolite DP; COS-OGA $\frac{1}{4}$ DP + zeolite DP; COS-OGA $\frac{1}{2}$ DP + zeolite DP; COS-OGA DP + zeolite DP e COS-OGA 2DP + zeolite DP

Figura 19: Combinazioni di zolfo + COS-OGA fotografate dopo circa 10 minuti di fase stazionaria. Da sinistra verso destra: testimone COS-OGA DP; testimone zolfo DP; COS-OGA $\frac{1}{4}$ DP + zolfo DP; COS-OGA $\frac{1}{2}$ DP + zolfo DP; COS-OGA DP + zolfo DP e COS-OGA 2DP + zolfo DP

Figura 20: Combinazioni di rame + COS-OGA fotografate dopo circa 10 minuti di fase stazionaria. Da sinistra verso destra: testimone COS-OGA DP; testimone rame DP; COS-OGA $\frac{1}{4}$ DP + rame DP; COS-OGA $\frac{1}{2}$ DP + rame DP; COS-OGA DP + rame DP e COS-OGA 2DP + rame DP

8.2 CONDIZIONI METEREOLOGICHE

L'andamento meteorologico condiziona fortemente gli sviluppi ed il decorso delle principali malattie delle colture agrarie, vite inclusa. Studiare le condizioni meteorologiche permette non solo di prevedere l'arrivo della malattia, ma cercare le soluzioni ed i momenti più idonei per contrastarla. È noto, infatti, che, come tutte le malattie fungine, un elevata umidità portata dalle precipitazioni favorisce gli agenti patogeni fungini, *P. viticola* ed *E. necator* non sono da meno. Come già spiegato precedentemente, si è provveduto a effettuare un monitoraggio delle condizioni metereologiche comprendente tutto il periodo dedicato ai trattamenti fitosanitari e alle operazioni di rilievo in campo. I dati climatici sono stati raccolti dal "Notiziario Agrometeorologico" fornito settimanalmente e su base provinciale dal "Servizio Agrometeo Regionale" dell'ASSAM, più precisamente sono stati raccolti i dati riguardanti la stazione meteorologica di Camerano (AN) data la prossimità con il vigneto oggetto della sperimentazione. I dati raccolti dalla stazione meteorologica di Camerano (Figura 21) ci indicano un decorso di meteorologico eccezionale e confermano la situazione che si è verificata a livello regionale.

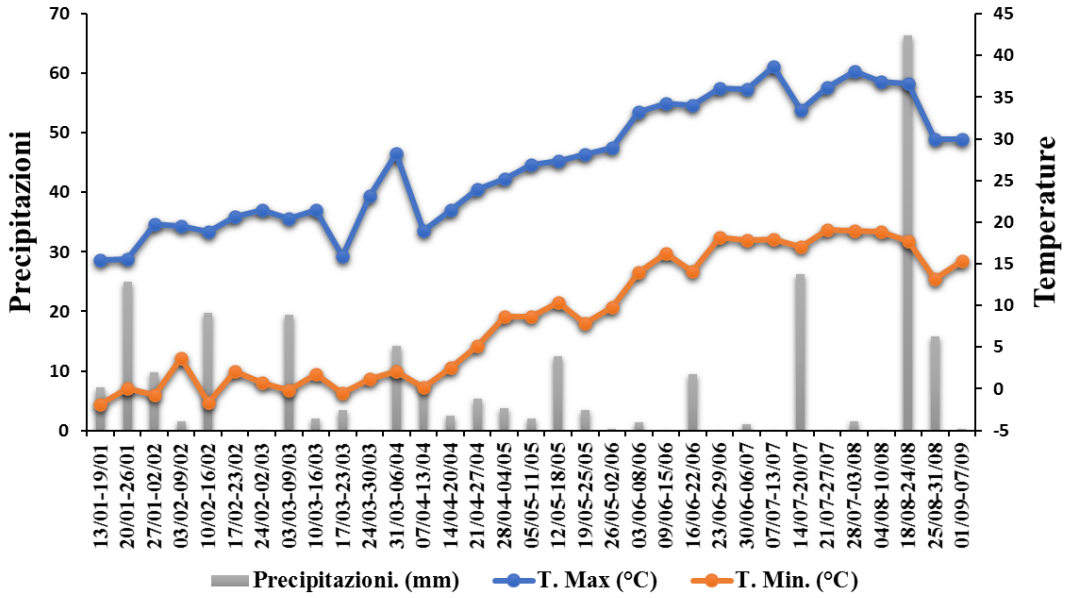

Figura 21: Grafico dell'andamento meteorologico registrato nel periodo che va dal 31 marzo al 7 settembre 2021, stazione metereologica Camerano (AN)

Escluso gennaio, tutti i mesi da febbraio a luglio sono stati caratterizzati da precipitazioni inferiori alla norma, fatto questo che ha provocato segni di siccità su tutto il territorio regionale. In un periodo, quello dei primi cinque mesi dell'anno, in cui nella nostra regione dovrebbero cadere in totale una media di 293 mm, nel 2021 i mm totali sono stati invece 209, che corrispondono ad un deficit del 28% rispetto alla media di riferimento 1981-2010. Se restringiamo al periodo febbraio-maggio, il totale di pioggia scende a 135 mm e l'anomalia al -44%. Le prestazioni peggiori si sono registrate nel mese di maggio: 22 mm il totale, -62% l'anomalia; quello del 2021 è stato il terzo maggio più secco per le Marche dal 1961. In altre parole, mai nella nostra regione è piovuto così poco negli ultimi 61 anni. La precipitazione totale media regionale nel periodo gennaio-luglio è stata di 267 mm corrispondente ad un calo del 33% rispetto allo storico 1981-2010 (ASSAM, 2021). Infine, il grafico mostra che le ultime due settimane del mese di agosto hanno segnato una svolta rispetto alla tendenza di caldo e siccità estremi che hanno accompagnato la regione per buona parte dei mesi di luglio e agosto. Oltre alle precipitazioni anche il livello delle temperature sono state eccezionali. L'estate più calda (periodo da giugno ad agosto) per le Marche è stata quella del 2003 quando la temperatura media regionale fu di 25,3°C corrispondente alla eccezionale anomalia di +3,2°C rispetto alla media storica di riferimento 1981-2010. Il periodo che comprende l'inizio di giugno fino la prima decade di agosto può essere considerato uno dei periodi più caldi mai registrati dal 1961, con una temperatura media regionale di 25°C corrispondente ad una differenza di +2,9°C rispetto 1981-2010, seconda quindi solo all'estate del 2003 (ASSAM, 2021). È possibile dedurre quindi che tali condizioni meteorologiche, alte temperature e basse precipitazioni, abbiano sfavorito l'insorgenza delle malattie fungine considerate nella sperimentazione, in particolare della peronospora.

8.3 PROVA DI CAMPO: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA COS-OGA

Tutti i risultati della prova di campo derivano dall'elaborazione dei dati presi dai singoli rilievi effettuati durante il periodo della sperimentazione. L'andamento climatico ha condizionato in modo particolare la presenza delle malattie in questa stagione. Le alte temperature, ma soprattutto gli scarsi eventi piovosi che hanno

caratterizzato la nostra regione nel periodo primaverile-estivo hanno fatto sì che la peronospora della vite non comparisse precocemente. È per questo motivo, infatti, che il primo rilievo effettuato in data 30 giugno 2021 è stato eseguito esclusivamente per oidio, a seguito di accertamenti della sua presenza sui grappoli. L'andamento meteorologico stagionale, inoltre, non ha favorito l'instaurarsi di infezioni sulle foglie, tanto che solamente nell'ultimo rilievo, condotto in data 7 settembre 2021 è stato ritenuto opportuno effettuare un rilievo sulle foglie, data la comparsa di sintomi di oidio sulle stesse. Viceversa, non sono stati effettuati rilievi di *P. viticola* sulle foglie a causa dell'assenza di sintomi chiaramente ascrivibili ad infezioni peronosporiche. I risultati mostrati nel presente lavoro di tesi sono sempre relativi a tre parametri della malattia: diffusione (D), gravità (G) ed intensità media ponderata (I) o Indice di infezione di McKinney, sui quali è stata sempre effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) per verificare l'influenza dei trattamenti e successivamente sono state confrontate le coppie di medie per evidenziare eventuali differenze statisticamente significative.

8.3.1: Rilievi condotti su peronospora

- ***Rilievo peronospora su grappoli 27 luglio 2021***

I dati del primo rilievo effettuato su peronospora (Figura 22) mostrano che i trattamenti che hanno portato differenze statisticamente significative rispetto al non trattato circa la diffusione della malattia sono: rame 1,5 kg/ha, rame 0,75 kg/ha + COS-OGA, rame 1,5 kg/ha + COS-OGA, rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante ed infine solo COS-OGA. Da notare anche come i trattamenti effettuati con il solo induttore di resistenza o con esso associato al prodotto cuprico a diversi dosaggi, non abbiano mostrato differenze statisticamente significative rispetto ai trattamenti rameici.

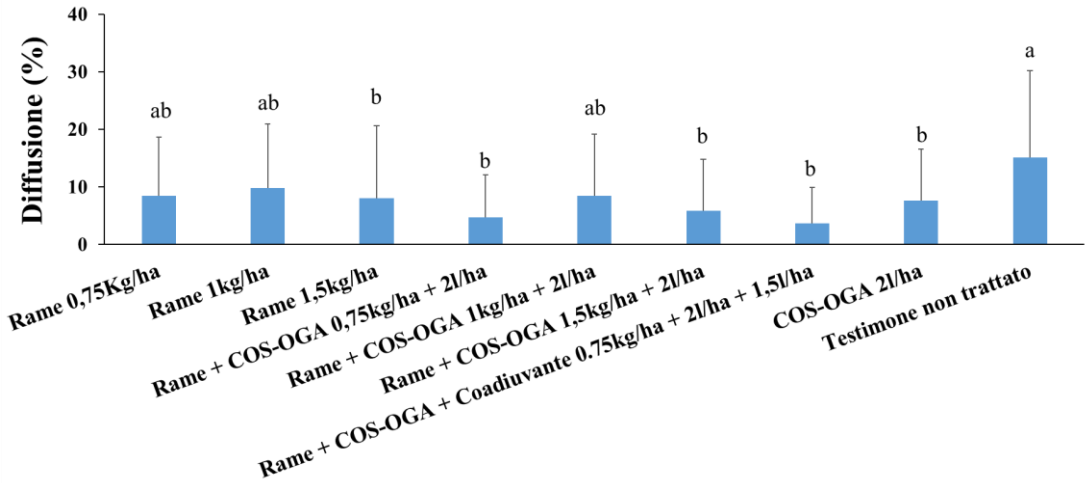

Figura 22: Diffusione di peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27/07/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Analizzando i dati della gravità relativi al presente rilievo (Figura 23), si può notare come i trattamenti effettuati con COS-OGA non abbiano mostrato, tranne in un caso, delle differenze statisticamente significative rispetto a quelli effettuati con prodotti cuprici. Il COS-OGA combinato al rame 1,5 Kg/ha ha garantito la riduzione maggiore della gravità delle infezioni peronosporiche.

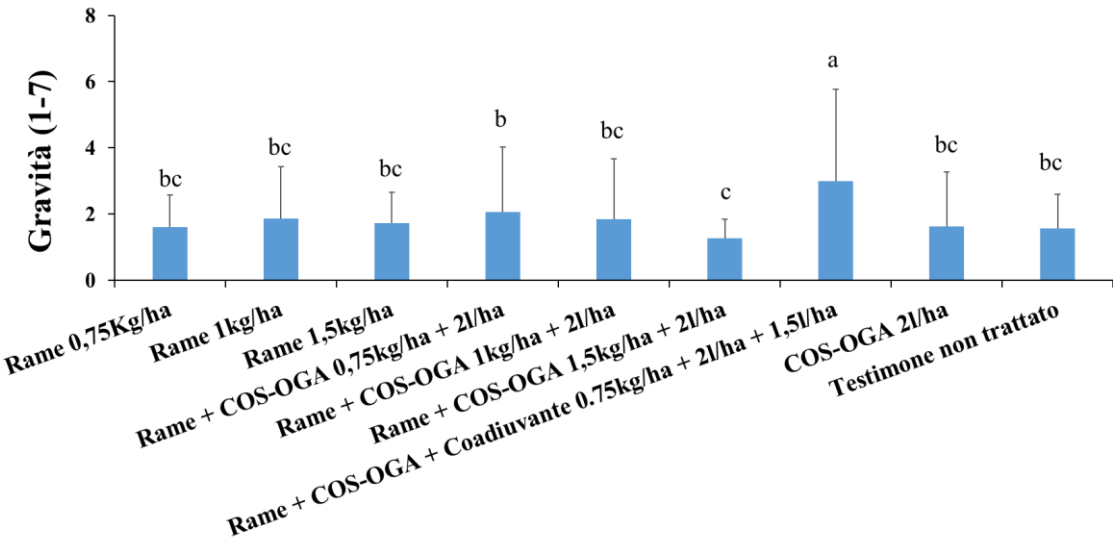

Figura 23: Gravità della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27/07/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

In questo caso, complessivamente l'intensità media ponderata della malattia risulta uguale per tutte le tesi (Figura 24), cioè i trattamenti effettuati non hanno portato a delle differenze che siano statisticamente significative rispetto al testimone non trattato. Comunque, l'induttore di resistenza ha garantito livelli di protezione simili al rame sia quando applicato da solo che in combinazione con il fungicida.

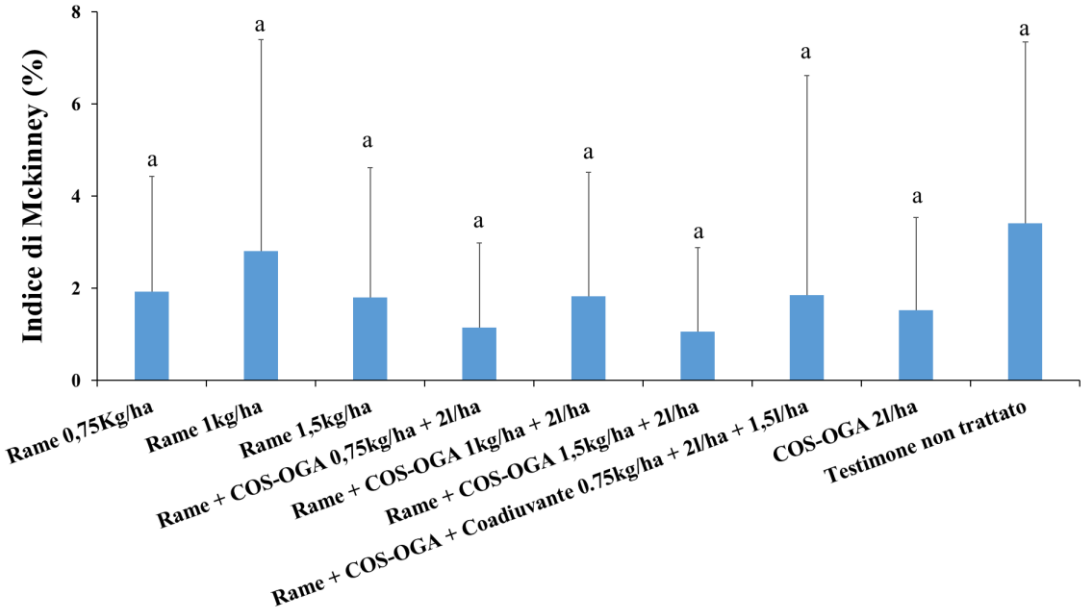

Figura 24: Indice di McKinney della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27/07/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

- ***Rilievo peronospora su grappoli 26 agosto 2021***

Il grafico riguardante la diffusione della peronospora su grappoli di vite (Figura 25) evidenzia che i trattamenti risultati efficaci sono: COS-OGA applicato da solo, rame 1 kg/ha, rame 0,75 kg/ha + COS-OGA, rame 1,5 kg/ha + COS-OGA ed infine rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante. La diffusione della malattia nelle parcelle trattate con COS-OGA risulta simile o addirittura migliore rispetto a quelle trattate con il fungicida rameico, infatti, i trattamenti a base di rame applicato alle dosi 0,75 e 1,5 kg/ha non hanno mostrato differenze significative rispetto al testimone.

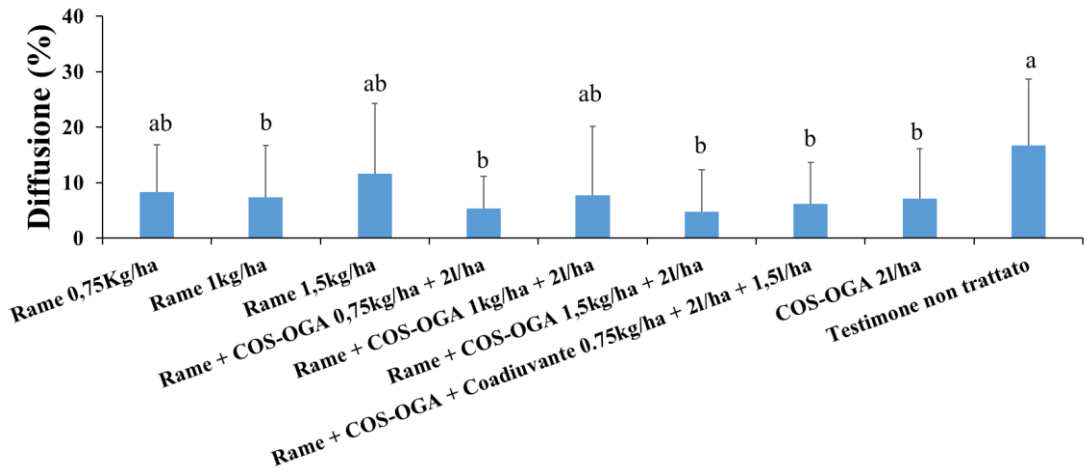

Figura 25: Diffusione di peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26/08/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

La figura 26 riguardante la gravità della peronospora su grappoli di vite, ci mostra come nel presente rilievo solo un trattamento abbia portato ad una differenza statisticamente significativa rispetto al non trattato, ovvero la tesi trattata con prodotto cuprico a medio dosaggio in combinazione con l'induttore di resistenza. Tutti gli altri trattamenti non si sono distinti in maniera significativa. Allo stesso modo, comunque, il COS-OGA ha ridotto la gravità in maniera paragonabile o migliore rispetto al rame.

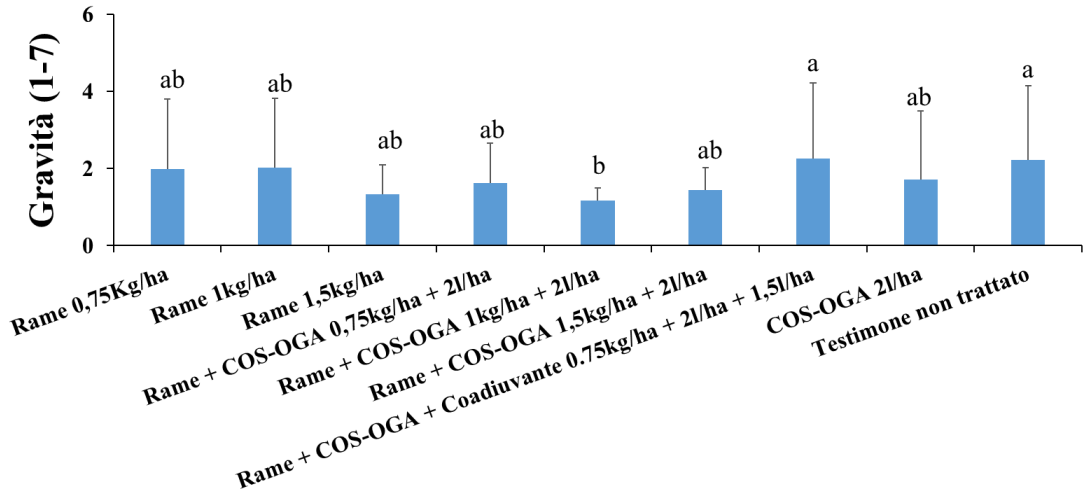

Figura 26: Gravità della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26/08/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

L'istogramma riguardante l'intensità media ponderata della malattia (Figura 27), mostra che complessivamente sono tre le tesi in cui si è avuto un effetto significativo dei trattamenti rispetto al testimone non trattato, questi sono i trattamenti effettuati con prodotto cuprico in tutti e tre i dosaggi in combinazione con l'induttore di resistenza. Tutti gli altri trattamenti non hanno avuto un effetto statisticamente significativo. Anche in questo caso, il COS-OGA ha garantito livelli di protezione non dissimili da quelli ottenuti con il rame sia se applicato da solo che in associazione al metallo pesante.

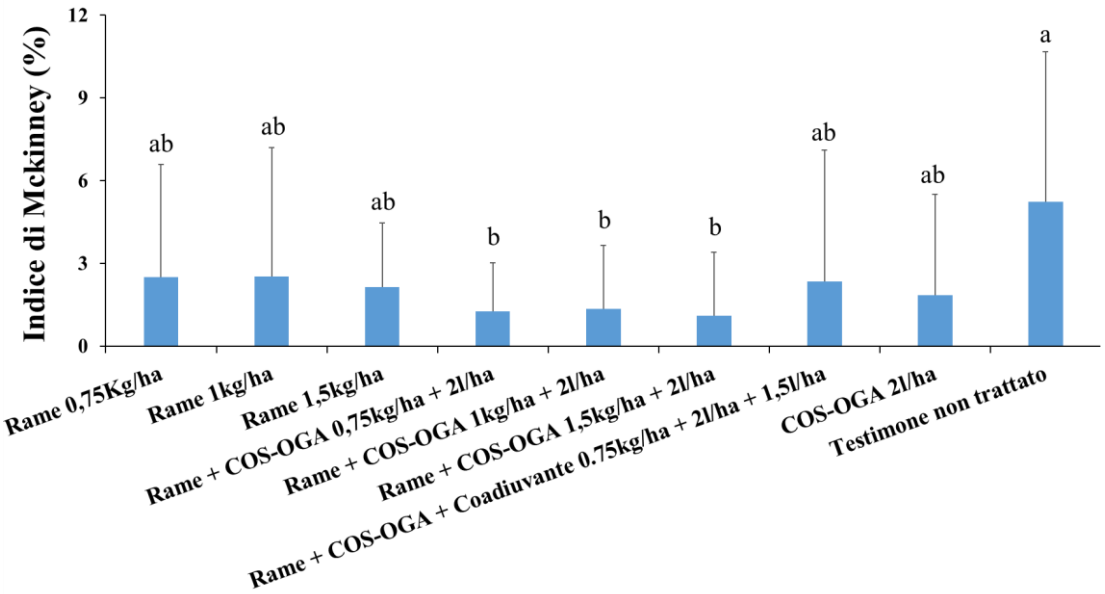

Figura 27: Indice di McKinney della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26 agosto 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

- ***Rilievo peronospora su grappoli 7 settembre 2021***

Il grafico sottostante (Figura 28), indica come solamente due trattamenti abbiano avuto effetti statisticamente significativi rispetto al testimone, il primo riguarda il rame 1 kg/ha + COS-OGA, il secondo invece riguarda rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante. Tutti gli altri trattamenti hanno ridotto la diffusione in maniera non statisticamente significativa.

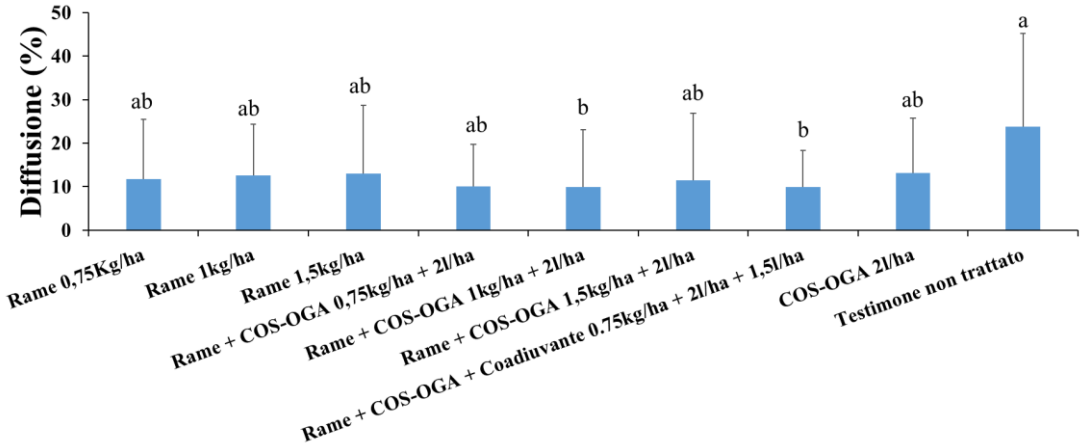

Figura 28: Diffusione di peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

La figura 29 indica che l'unica parcella dove la gravità è stata significativamente ridotta rispetto al non trattato è quella trattata con rame 1 kg/ha + COS-OGA. Comunque, non i sono registrate differenze rilevanti fra i vari trattamenti nella riduzione della gravità.

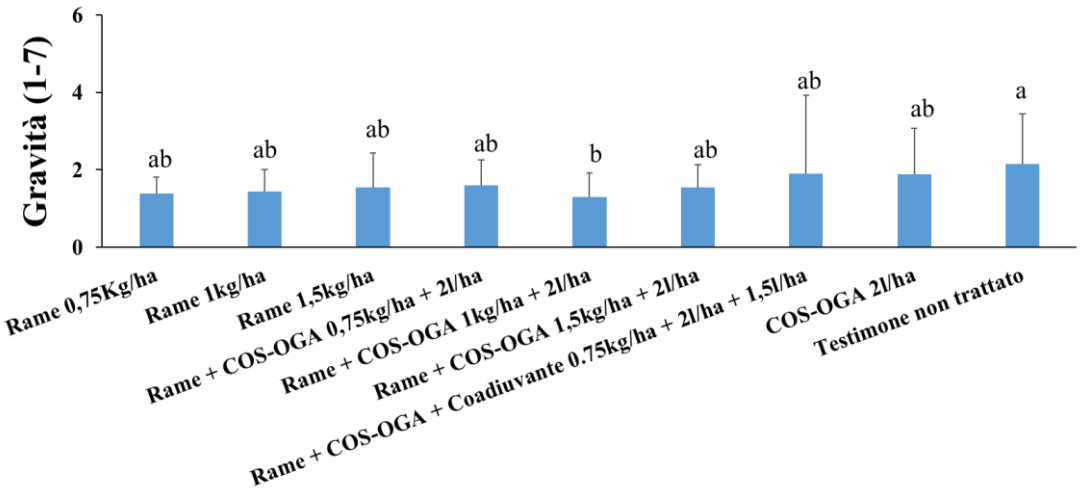

Figura 29: Gravità della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 07/09/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Il grafico riguardante l'intensità media ponderata della malattia (Figura 30), mostra che complessivamente tutti i trattamenti hanno ridotto in maniera statisticamente significativa il livello di infezione peronosporica, in comparazione alle piante non trattate. Da sottolineare come il COS-OGA sia riuscito a garantire dei livelli di

protezione non statisticamente diversi da quelli ottenuti con il rame diversi dosaggi; questo sia quando è stato applicato da solo che in associazione al fungicida cuprico.

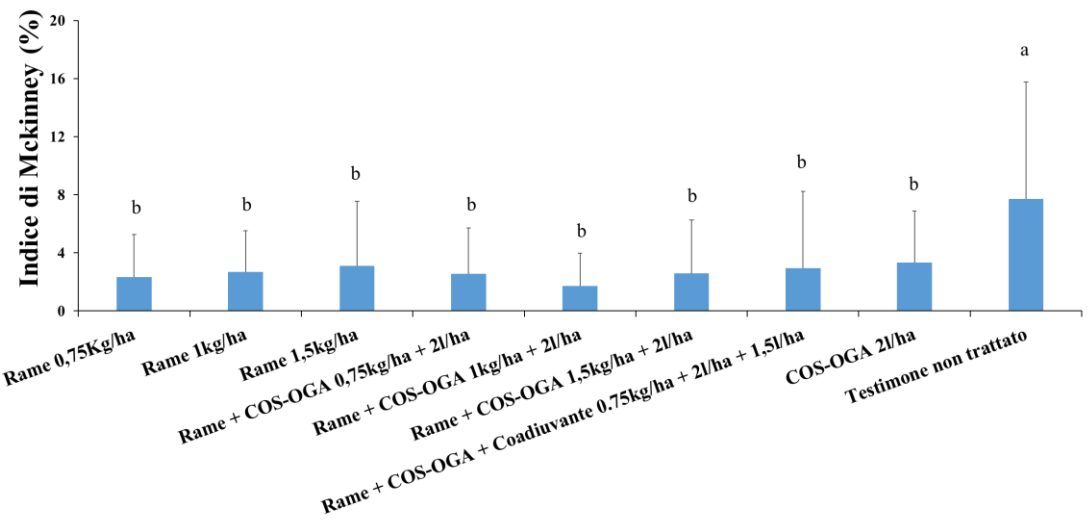

Figura 30: Indice di McKinney della peronospora su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 07/09/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$)

8.3.2: Rilievi condotti su oidio

- ***Rilievo oidio su grappoli 30 giugno 2021***

Il grafico relativo alla diffusione di odio su grappoli (Figura 31) riguardante il primo rilievo effettuato, mostra come il miglior contenimento della diffusione di oidio sia avvenuto nelle tesi trattate con prodotto cuprico alla dose media + COS-OGA, e prodotto cuprico alla minima dose + COS-OGA + il coadiuvante.

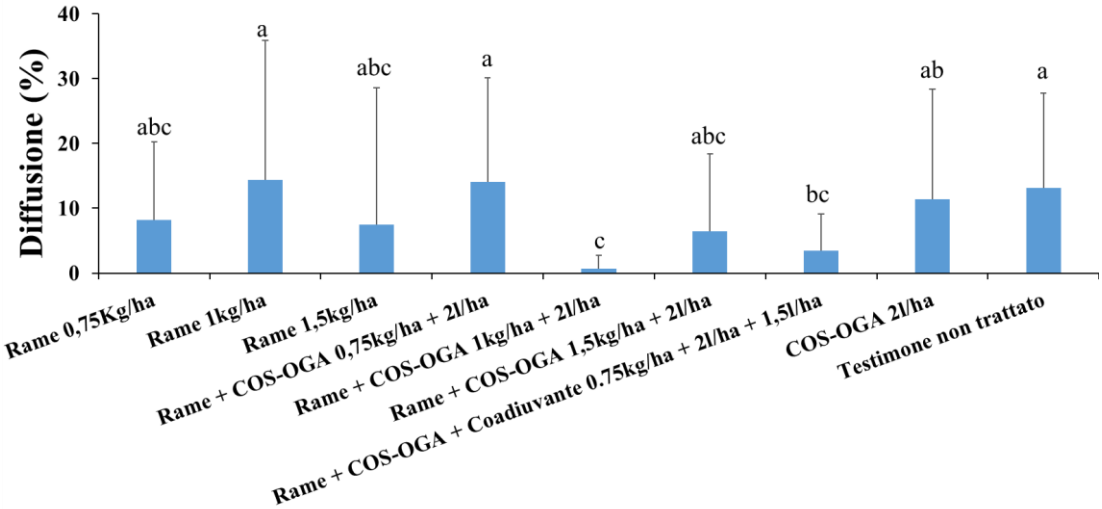

Figura 31: Diffusione dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 30 giugno 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

L'istogramma riguardante la gravità dell'oidio sui grappoli (Figura 32) evidenzia che la situazione peggiore è riscontrabile in tre tesi: testimone non trattato, solo COS-OGA, rame 1,5 kg/ha. Tutti gli altri trattamenti non citati presentano una differenza statisticamente significativa al confronto col testimone non trattato. La gravità è stata ridotta maggiormente nelle tesi trattate con rame 1 kg/ha + COS-OGA, e rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante.

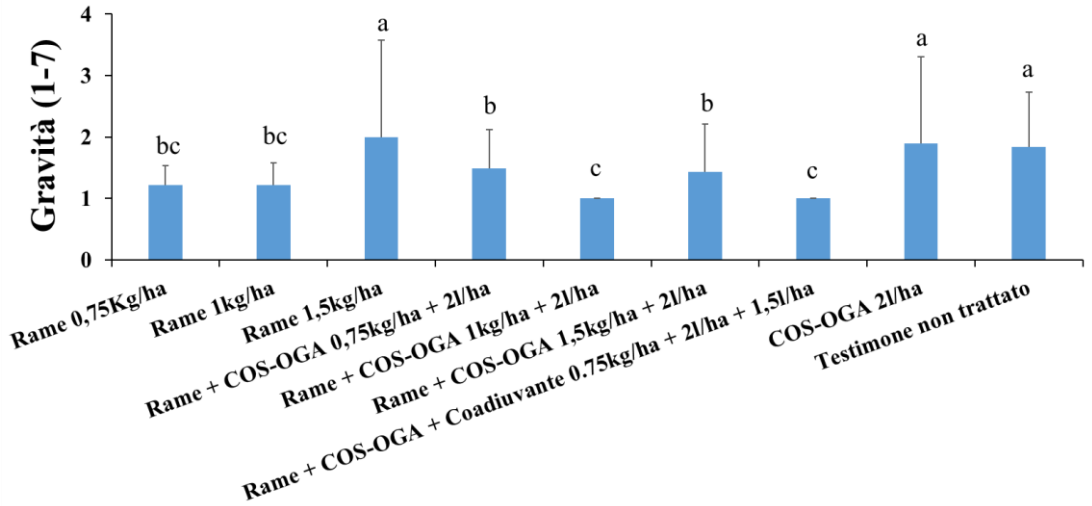

Figura 32: Gravità dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 30 giugno 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Nel grafico riguardante l'indice di McKinney (Figura 33) si riscontra che l'intensità media ponderata della malattia presenta, rispetto al non trattato, una diminuzione statisticamente significativa nelle tesi trattate con: prodotto cuprico alla dose media + l'induttore di resistenza COS-OGA e alla dose 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante.

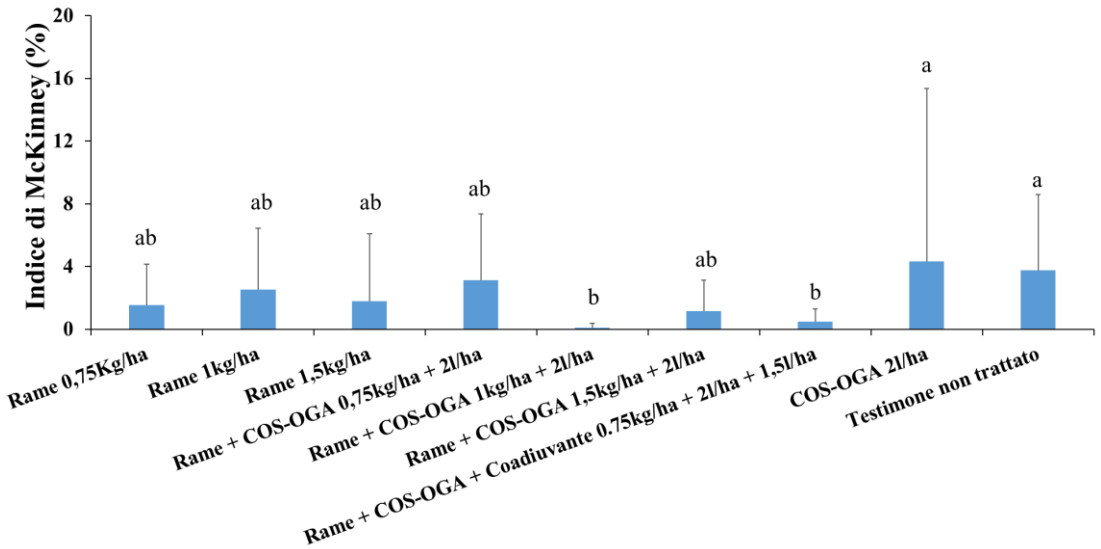

Figura 33: Indice di McKinney dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 30 giugno 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

➢ ***Rilievo oidio su grappoli 27 luglio 2021***

Nel secondo rilievo (Figura 34), non si sono registrate riduzioni statisticamente significative circa la diffusione della malattia in relazione al non trattato.

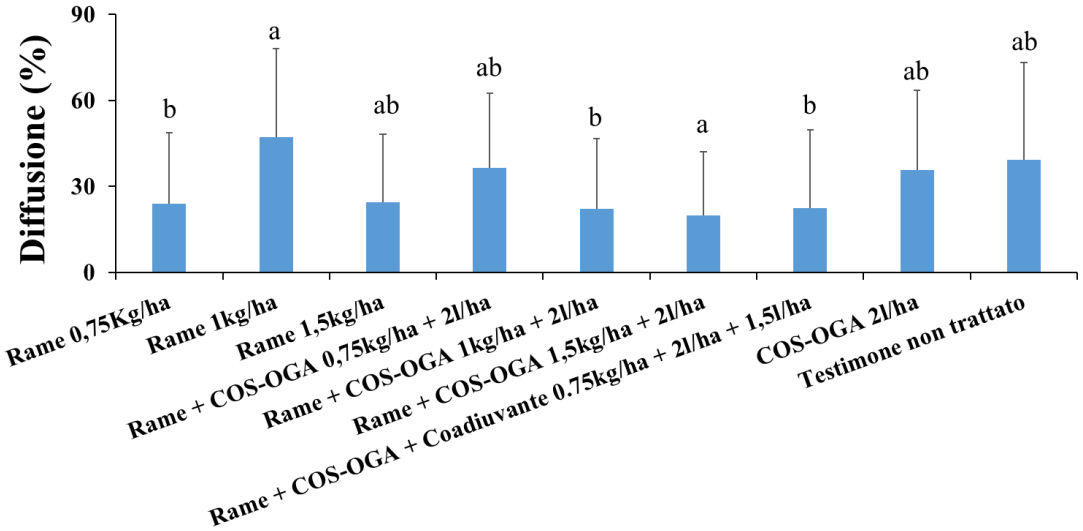

Figura 34: Diffusione dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27/07/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

La figura 35 mostra come solo la tesi trattata con solo l'induttore di resistenza non ha una differenza statisticamente significativa rispetto al testimone non trattato. Tutti gli altri trattamenti hanno avuto un effetto significativo che è più marcato nei trattamenti combinati.

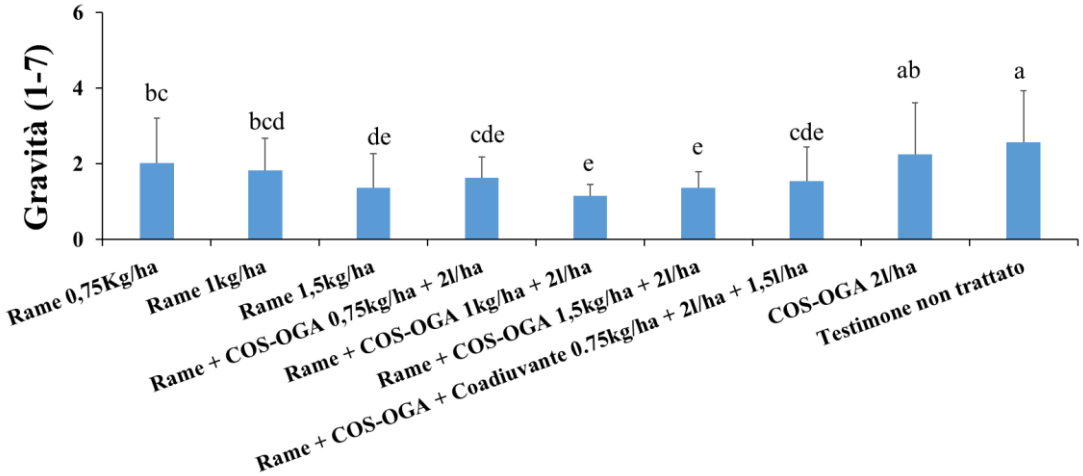

Figura 35: Gravità dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27 luglio 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Come indicato nella figura 36, i trattamenti che hanno avuto un effetto statisticamente significativo nella riduzione dell'Indice di McKinney rispetto al non trattato sono quelle in cui è stato utilizzato rame ad 1 kg/ha + l'induttore di resistenza e il rame 0,75 kg/ha + l'induttore di resistenza + coadiuvante.

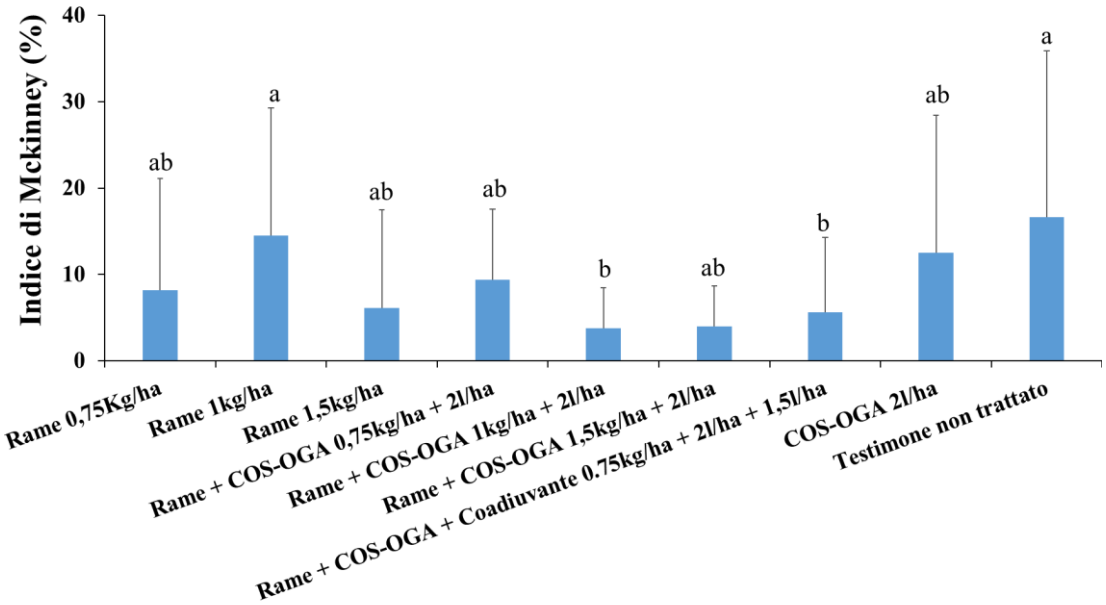

Figura 36: Indice di McKinney dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 27 luglio 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

- ***Rilievo oidio su grappoli 26 agosto 2021***

L'istogramma della diffusione di oidio (Figura 37) mostra che risultati migliori sono stati raggiunti nelle tesi trattate con rame 1 kg/ha + COS-OGA, e rame 0,75Kg + COS-OGA e coadiuvante. Questi trattamenti sono gli unici ad aver mostrato una differenza significativa rispetto al non trattato nel contenimento della diffusione.

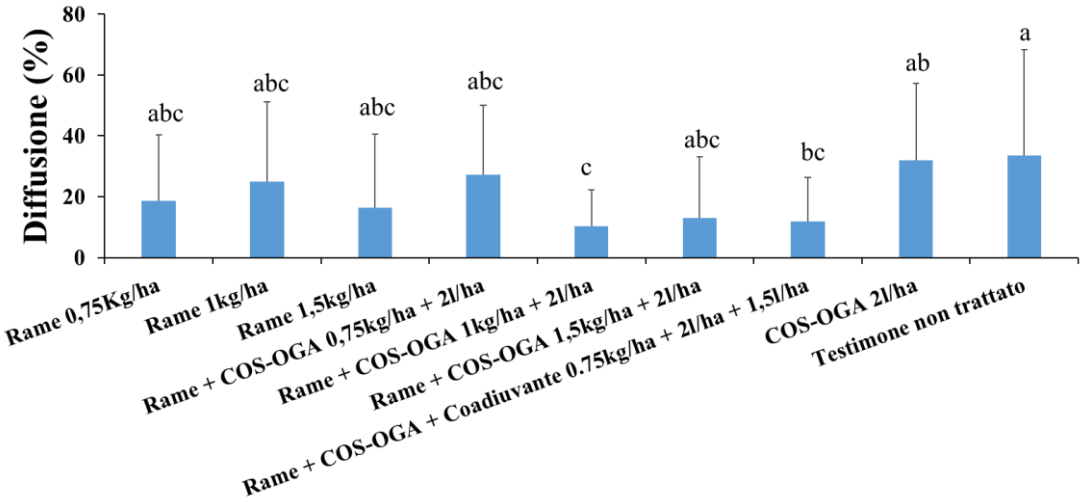

Figura 37: Diffusione dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26 agosto 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$)

La figura 38 indica che la gravità dell'oidio è risultata più bassa rispetto al non trattato in modo significativo in tutte le tesi contenenti rame al massimo dosaggio, rame alla dose media + COS-OGA ed infine rame 0,75 kg + COS-OGA + coadiuvante. In questo caso, gli altri trattamenti non hanno mostrato un effetto significativo.

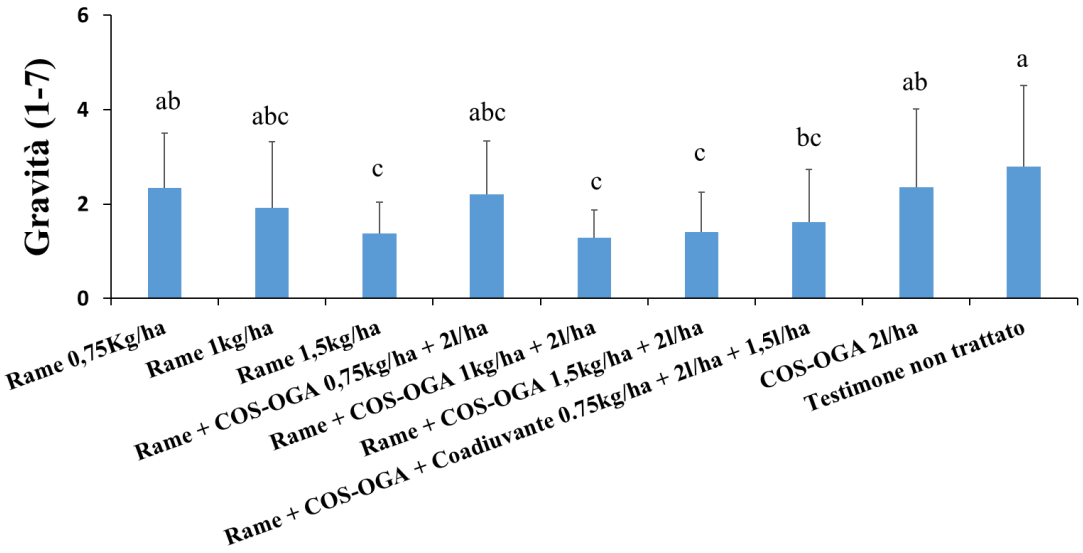

Figura 38: Gravità dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26 agosto 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

L'intensità media ponderata della malattia (Figura 39), risulta significativamente minore nelle tesi trattate con rame alla dose media e alla dose massima + COS-OGA, e rame alla dose minima + COS-OGA e coadiuvante. Tutte le altre tesi non hanno avuto una diminuzione statisticamente significativa rispetto al non trattato.

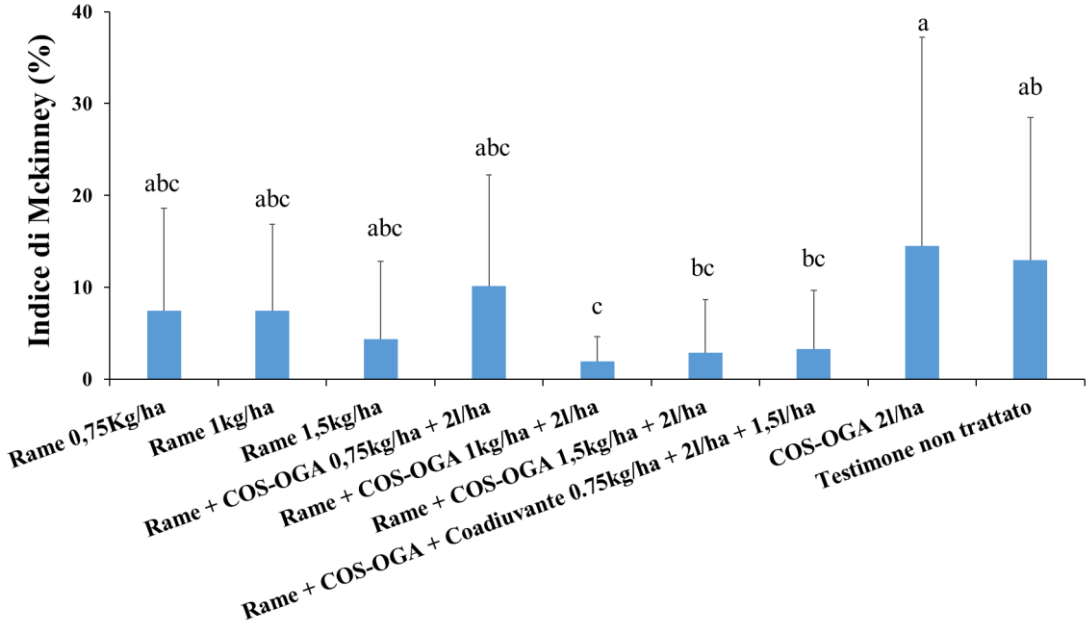

Figura 39: Indice di McKinney dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 26 agosto 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

- ***Rilievo oidio su grappoli 07/09/2021***

La diffusione della malattia analizzata nel grafico sottostante (Figura 40), indica che le uniche due tesi in cui il trattamento ha portato ad una diminuzione statisticamente significativa sono quelle trattate con rame 1 kg/ha e 1,5 kg/ha in combinazione con COS-OGA.

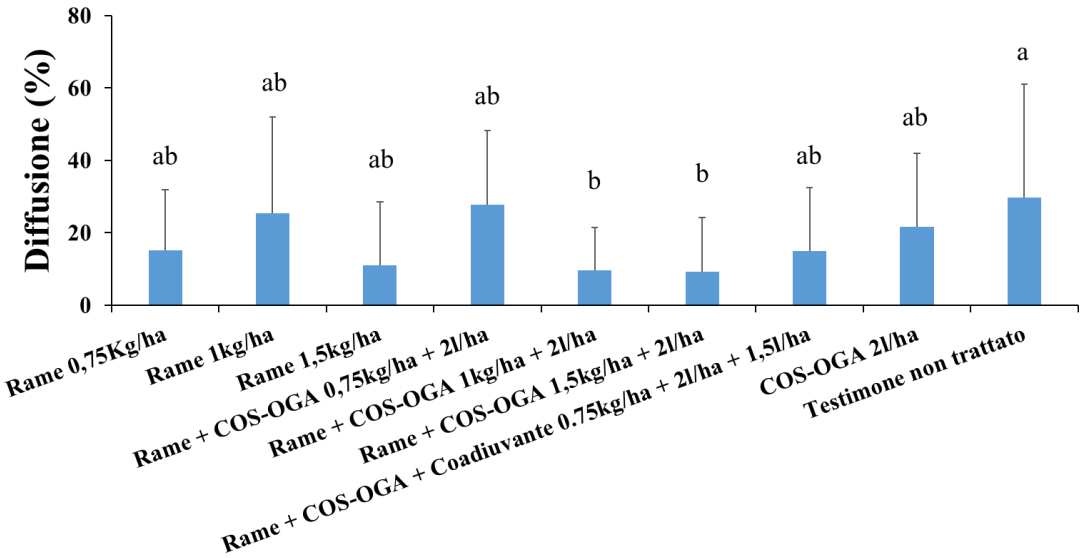

Figura 40: Diffusione dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Nella figura 41 è possibile osservare come la gravità della malattia sia statisticamente inferiore rispetto al non trattato nelle tesi trattate con: solo rame al massimo dosaggio; con rame 1 kg/ha + COS-OGA, con rame 1,5 kg/ha + COS-OGA e nella tesi trattata con rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante.

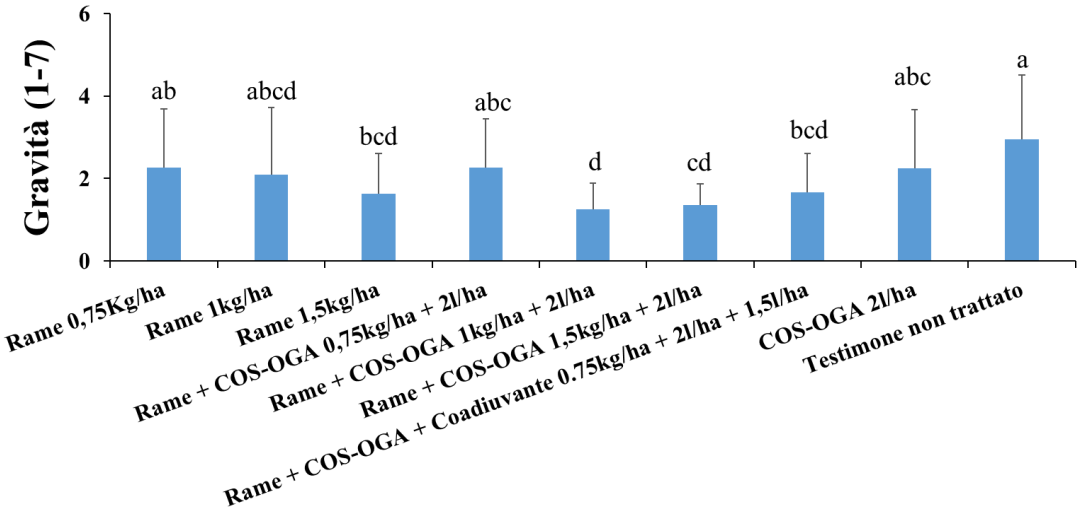

Figura 41: Gravità dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Nel grafico riportato in figura 42, hanno avuto un effetto significativo nella riduzione dell'intensità media ponderata della malattia le tesi trattate con solo prodotto cuprico alla dose minima e alla dose massima. Tuttavia, le maggiori riduzioni sono state registrate nei trattamenti con: rame alla dose media e alla dose massima in combinazione con COS-OGA e rame 0,75 kg/ha + COS-OGA + coadiuvante.

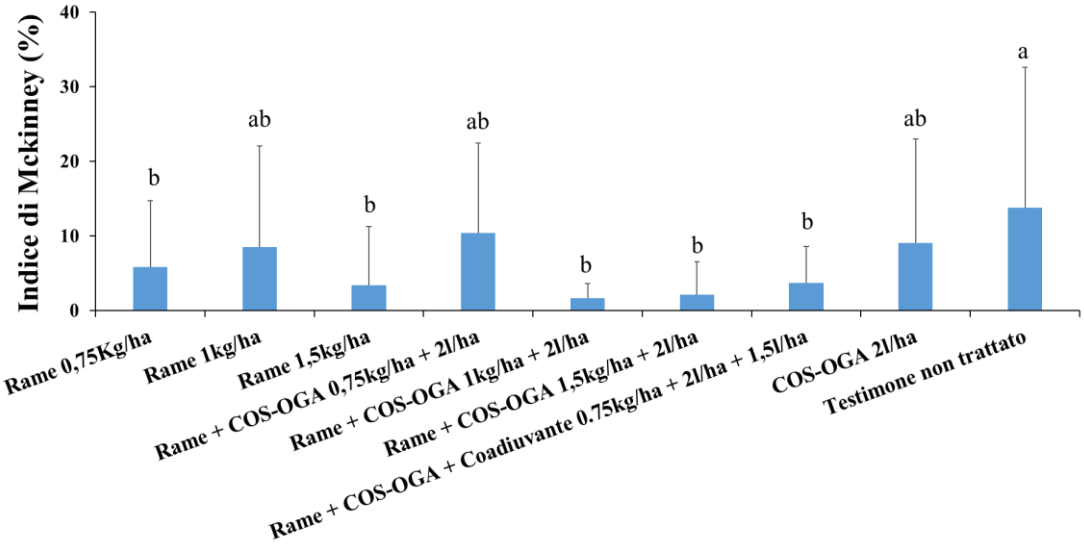

Figura 42: Indice di McKinney dell'oidio su grappoli di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

- ***Rilievo oidio su foglie 7 settembre 2021***

Come analizzato nella figura 43, i trattamenti hanno avuto effetto significativo su sei delle complessive nove tesi circa la riduzione della diffusione dell'oidio sulle foglie rispetto alle parcelle di controllo. COS-OGA applicato da solo e rame 1 kg/ha non si sono differenziati in maniera statisticamente significativa rispetto al testimone non trattato, mentre tutti gli altri trattamenti sì. Rame 1 kg/ha + COS-OGA e rame 1,5 kg/ha +COS-OGA addirittura non presentano foglie infette.

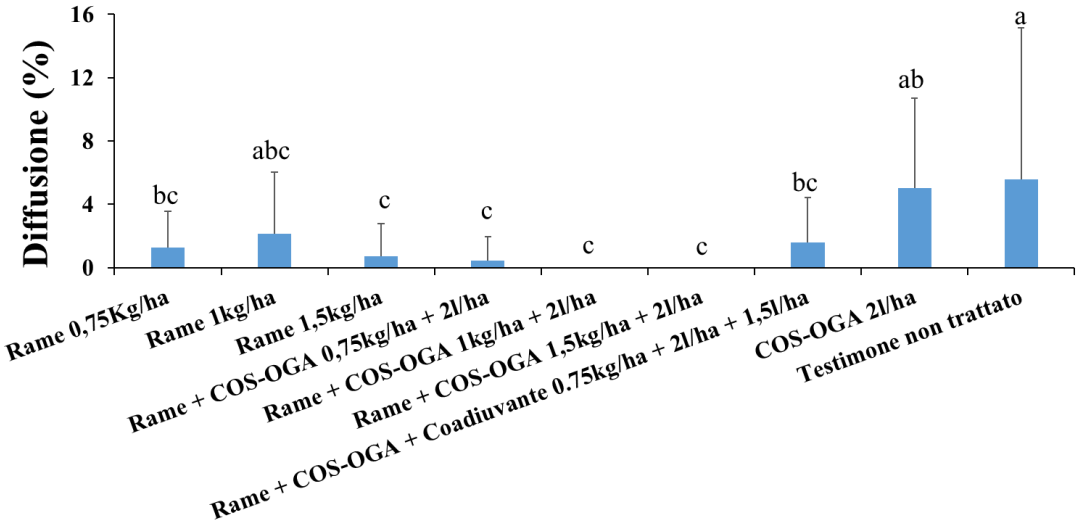

Figura 43: Diffusione dell'oidio su foglie di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Come riportato nel grafico sottostante riguardante la gravità dell'oidio sulle foglie (Figura 44), non presentano una differenza statisticamente significativa rispetto al controllo le tesi trattate con solo rame alla dose 1 kg/ha, rame 1,5 kg/ha, rame 0,75 + COS-OGA + coadiuvante. Tutte gli altri trattamenti hanno avuto un effetto statisticamente significativo. Il COS-OGA, anche applicato da solo ha ridotto la gravità in maniera significativa rispetto al rame.

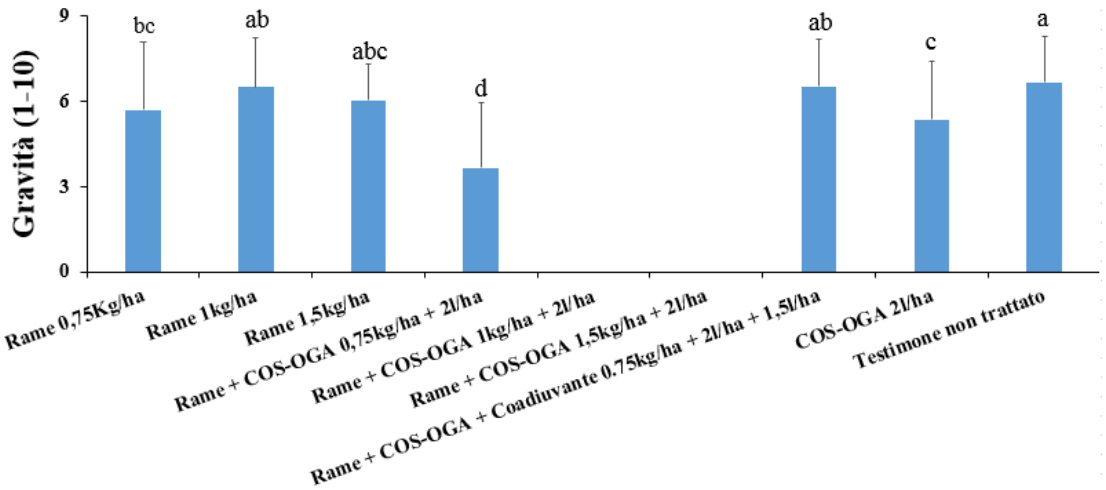

Figura 44: Gravità dell'oidio su foglie di vite, rilievo effettuato in data 07/09/2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

Il grafico sottostante (Figura 45) indica che non sono presenti delle differenze statisticamente significative rispetto al testimone non trattato nelle tesi: solo COS-OGA, rame 1 kg/ha. In tutti gli altri casi, i trattamenti hanno portato a diminuzioni statisticamente significative dell'intensità media ponderata della malattia. I trattamenti combinati hanno assicurato un ottimo livello di protezione.

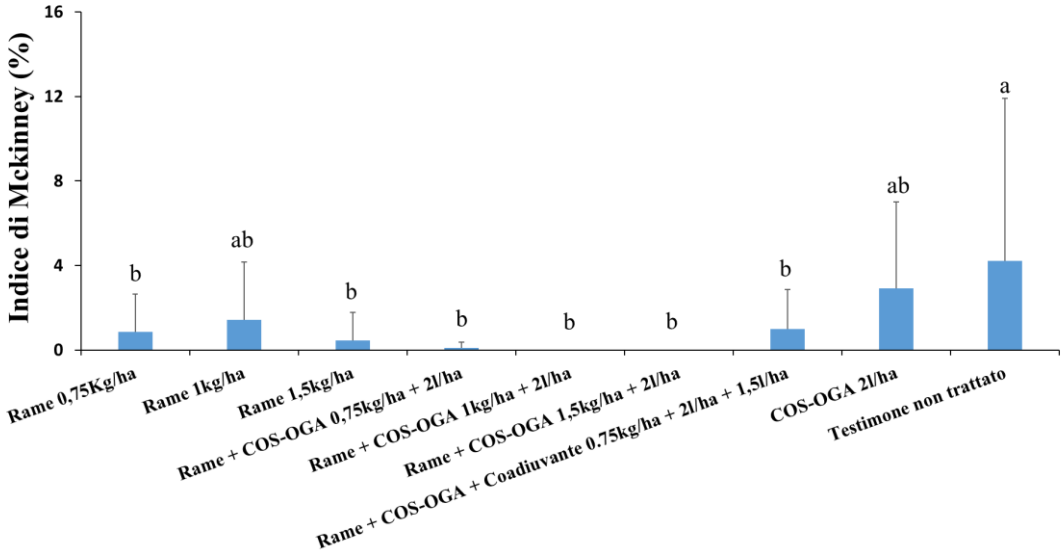

Figura 45: Indice di McKinney dell'oidio su foglie di vite, rilievo effettuato in data 7 settembre 2021. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (P≤0,05)

9 DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

Plasmopara viticola è ormai da molto tempo uno fra gli agenti patogeni più pericolosi per i vigneti italiani e del mondo; la sua costante presenza, ma anche la velocità con cui la malattia si sviluppa, ha da sempre reso impossibili delle azioni eradicanti della malattia ed al contrario ha indotto ad un controllo di tipo preventivo-cautelativo, basato quindi su interventi prevalentemente di copertura. Questo tipo di approccio presuppone un massiccio utilizzo di rame per contenere la malattia, dato che questo metallo pesante rappresenta ancora oggi l'unica arma effettivamente efficace nei confronti della peronospora per coloro i quali operano in regime biologico ed uno dei mezzi chimici più utilizzati in agricoltura integrata (dove però può essere affiancato anche da fungicidi di sintesi). Negli ultimi anni l'uso del rame, da sempre cardine nella difesa antiperonosporica (Brunelli, 1995), ha però suscitato qualche preoccupazione circa la sua pericolosità per l'uomo ed il suo destino ambientale a causa della scarsa degradabilità nel terreno (Agnelli, 2002; Duca et al., 2016), che determina una serie di effetti negativi sull'agroecosistema: essendo un metallo pesante, oltre ad accumularsi nella catena alimentare, infatti, comporta la diminuzione delle popolazioni di carabidi e lombrichi, alterazioni microbiologiche ed enzimatiche, abbassamento del pH del suolo e riduzione della crescita della vite (Pontiroli et al., 2001). Questa problematica ambientale è stata regolamentata con l'entrata in vigore del Reg. n. 473/2002/CE, che ha stabilito una progressiva riduzione delle quantità di rame da utilizzare in agricoltura. Inoltre, di recente è emerso un preoccupante impatto dell'applicazione del rame sulla quantità e qualità degli aminoacidi presenti nel succo d'uva (Garde-Cerdán et al., 2017). Nonostante il rame sia tuttora ammesso in agricoltura biologica, non è più possibile ignorare questi rischi legati al suo utilizzo. Infatti, ad oggi, attraverso il Reg. UE 1981/2018, l'Unione Europea ha fissato un limite medio all'impiego di rame in agricoltura di 4 kg/ha per anno (ovvero 28 kg ammessi nei 7 anni di rinnovo con un massimo assoluto di 6 kg/ha per annata) e, dato che soddisfa i criteri di tossicità e bioaccumulo, lo ha inserito nella lista delle sostanze attive candidate alla sostituzione, sebbene alcuni paesi europei abbiano già azzerato gli apporti cuprici in agricoltura. Inoltre, sulla base dei rischi legati all'utilizzazione dei mezzi chimici nella protezione dei vegetali di interesse agronomico, nel maggio 2020, la Commissione europea ha presentato, contemporaneamente alla "strategia per la biodiversità", la strategia "*Farm*

to Fork", la quale si compone di una serie di obiettivi da raggiungere entro il 2030, tra i quali: ridurre del 50% l'uso dei pesticidi di sintesi chimica o pericolosi (incluso il rame) e destinare almeno il 25% della superficie agricola all'agricoltura biologica. Tutto ciò ha 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*, e, nel contempo, ha stimolato sperimentazioni pluriennali 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., 2008; 2010, 2014, 2016; Mancini et al., 2018). Diversi autori hanno riportato l'efficacia di sostanze naturali o approcci innovativi per contenere la peronospora della vite come il chitosano (Maia et al., 2012; Romanazzi et al., 2016; Romanazzi et al., 2021) estratti vegetali o oli essenziali (Dagostin et al., 2010; Mancini et al., 2018), laminarina (Aziz et al., 2003; Garde-Cerdán et al., 2017), proteine idrolizzate (Lachhab et al., 2014), microrganismi (Puopolo et al., 2014), biostimolanti utilizzati come elicitori (Gutiérrez-Gamboa et al., 2019), stilbeni (Gabaston et al., 2017) ed aptameri (Colombo et al., 2020).

Oggetto della presente tesi è stato un induttore di resistenza a base di COS-OGA, il quale risulta già registrato nei confronti dell'oidio della vite. L'obiettivo è stato quello di confermare la sua efficacia nei confronti dell'oidio e sperimentarne quella nei confronti della peronospora, utilizzato da solo o in associazione a diversi dosaggi di rame. Inoltre, si è cercato anche di adattare la soluzione scientifica ai contesti operativi aziendali, valutando la compatibilità dell'induttore di resistenza con altri prodotti impiegati nella protezione della vite dalle malattie. Per ogni agrofarmaco, la valutazione della compatibilità con altri formulati commerciali riveste un ruolo importante, in quanto i trattamenti combinati permettono agli agricoltori di utilizzare in un unico passaggio più prodotti con caratteristiche, principi attivi e/o modalità di azione differenti, soddisfacendo più esigenze, diminuendo l'impatto ambientale e risparmiando in termini di costi e di tempo. La versatilità di un agrofarmaco nel suo utilizzo con quante più sostanze attive possibili è un fattore di appetibilità sul mercato, in particolare per le nuove sostanze di origine naturale, che in genere vanno ad integrare, in maniera funzionale, i prodotti chimici convenzionali nell'ottica di

migliorare la sostenibilità delle pratiche agricole, in particolare di quelle legate alla difesa fitosanitaria. Inoltre, a livello industriale, non è sufficiente dimostrarne l'efficacia, ma risulta di fondamentale importanza anche valutarne il livello di compatibilità, in quanto spesso non si conoscono sufficientemente tutti i possibili effetti che possono scaturire dall'unione con altri prodotti già ampiamente utilizzati. Si potrebbero verificare infatti dei fenomeni di antagonismo con diminuzione dell'efficacia o addirittura di incompatibilità. In quest'ultimo caso si potrebbero creare reazioni indesiderate che portano a precipitazione o flocculazione dei componenti, con conseguente riduzione dell'efficacia del trattamento o, nei casi più gravi, sussiste persino il rischio di intasamenti di filtri, pompe e ugelli con conseguenti danni alle macchine irroratrici. Le combinazioni studiate nel corso di questa sperimentazione hanno evidenziato come COS-OGA risulti compatibile con i prodotti saggiati, nonostante che in diversi casi l'aggiunta dell'elicitore abbia portato ad una formazione di sedimenti maggiore rispetto al prodotto preparato in acqua distillata; inoltre, anche se con una leggera sedimentazione, il rame (idrossido + ossicloruro di rame) è risultato compatibile con l'induttore di resistenza. Questa conoscenza è stata fondamentale per poter continuare lo svolgimento della sperimentazione, in quanto l'obiettivo è stato quello di testare l'efficacia antiperonosporica di induttori di resistenza anche in combinazione con prodotti cuprici. I risultati ottenuti da queste prove rappresentano una buona base di partenza per comprendere in maniera più approfondita le interazioni chimiche che entrano in gioco e che possono determinare reazioni di compatibilità o meno fra le sostanze. Inoltre, formulazioni diverse, basate sulle stesse sostanze attive saggiate, potrebbero dare risultati diversi.

L'interpretazione dei dati ottenuti dalla sperimentazione riguardanti l'efficacia dell'induttore di resistenza nel contenere la peronospora della vite, non può prescindere dall'interpretazione dell'andamento meteorologico. La forte siccità ed il forte caldo che hanno caratterizzato il periodo primaverile-estivo hanno rappresentato condizioni sfavorevoli allo sviluppo della malattia nei vigneti marchigiani, per questo motivo, data l'assenza iniziale di peronospora, in un primo momento sono stati eseguiti dei rilievi a carico dell'oidio, il quale invece è risultato presente sui grappoli già dal primo rilievo.

La bassa pressione della peronospora non ha permesso, almeno in un primo momento, di evidenziare delle differenze statisticamente significative fra i trattamenti effettuati; ad ogni modo, COS-OGA ha di fatto garantito lo stesso livello di protezione dalla peronospora dei trattamenti effettuati con rame, sia a basso che medio o alto dosaggio. Col progredire della stagione, l'incidenza della malattia è aumentata e dai rilievi successivi è stato possibile apprezzare delle differenze significative fra le tesi: in linea generale tutti i trattamenti effettuati hanno protetto i grappoli rispetto al testimone non trattato; COS-OGA sia se applicato da solo, ma soprattutto in combinazione al rame ha mostrato una certa efficacia nel contenimento delle infezioni con risultati non dissimili da quelli ottenuti col rame.

I risultati della prova di campo riguardanti l'efficacia dell'induttore di resistenza su oidio, mostrano come in tutti i rilievi si sia riscontrata una diminuzione della malattia statisticamente significativa nelle tesi trattate con prodotti cuprici in combinazione con l'induttore di resistenza COS-OGA, il quale invece da solo non sempre ha garantito un adeguato livello di protezione rispetto alle parcelle non trattate. Ciò può essere dovuto ad un'azione sinergica tra l'induttore di resistenza ed il rame, il quale pur non possedendo delle proprietà antioidiche, svolge comunque un'azione indiretta nei suoi confronti, irrobustendo i tessuti della cuticola. Il risultato è molto importante perché generalmente i trattamenti comprendono l'utilizzo di più prodotti fitosanitari, magari con modalità di azione differenti, e un possibile effetto sinergico, oltre a risultare molto vantaggioso per l'agricoltore, potrebbe portare ad una riduzione delle quantità di antioidici. I risultati appena descritti sono analoghi anche per quanto riguarda il contenimento della malattia sulle foglie.

Alla luce di questi risultati, si può affermare che i prodotti rameici, anche quando impiegati a dosi ridotte, hanno confermato la loro comprovata validità come anticrittogamici; inoltre, le strategie innovative comprendenti COS-OGA, applicato singolarmente o in combinazione con il rame, hanno contenuto adeguatamente le malattie oggetto di indagine. Tale sperimentazione ha confermato l'induttore di resistenza come un valido strumento per il controllo di *E. necator* e apre la strada a nuove strategie di protezione della vite da *P. viticola* sostenibili dal punto di vista sociale, ambientale ed economico, che prevedano un uso ridotto o azzerato del pericoloso metallo pesante.

È necessario specificare che questi risultati riguardano delle prove parcellari, questo sta a significare che è solo l'inizio di un lungo percorso di sperimentazione che potrà eventualmente essere approfondito utilizzando l'induttore di resistenza a più ampia scala. Questi risultati però sono un indicatore di quanto le nuove tecnologie possano essere in un futuro prossimo largamente utilizzate da tutti gli agricoltori.

10 BIBLIOGRAFIA

Alfonzo, A., Piccolo, S. L., Conigliaro, G., Ventorino, V., Burruano, S., Moschetti, G. (2012). Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. Annals of Microbiology, 4, 1593-1599.

Ali, A, Tengku, M, Muhammad, M, Sijam, K, Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. Food Chemistry, 124, 620-26.

Amborabé, B.E., Bonmort, J., Pierrette F.L., Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. Journal of Experimental Botany, 9, 2317-2324.

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

Aziz, A., Trotel-Aziz, P., Dhuicq, L., Jeandet, P., Couderchet, M., Vernet, G. (2006). Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. Phytopathology, 96, 1188−1194.

Belli, G., Bianco, P. A. (2012). Elementi di patologia vegetale. Piccin.

Borgo, M., Zanzotto, A., Bellotto, D. (2004) Use of different fungicides in control strategies against grapevine downy mildew in the province of Treviso [*Vitis vinifera* L.; Veneto]. Atti delle Giornate Fitopatologiche (Italy).

Boso, S., Santiago, J.L., Martìnez M.C. (2005). A method to evaluate downy mildew resistance in grapevine. Agronomy and Sustainable Development, 25, 163-165.

Bortolotti, P.R., Nannini, P., Scannavini, M., Antoniacci, L., Bugiani, R., (2006). Valutazione di diversi composti rameici a basso dosaggio nella difesa antiperonosporica della vite. Atti Giornate Fitopatologiche 2, 173-178.

Brunelli, A., 1995. I prodotti naturali nella lotta alle malattie fungine. Difesa delle Piante 18, 57-69.

Caffi T., Rossi V., Bugiani, R., Spanna F., Flamini L., Cossu A., Nigro C. (2006). Validation of a simulation model for *Plasmopara viticola* primary infections in different vine-growing areas across Italy. Proceeding of the 5th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew. Pertot I., Gessler C., Gadoury D., Gubler W., Kasemeyer H.H., Magarey P. Eds. San Michele all'Adige, Italy, 18-23 June: 112-114.

Calonnec, A., Cartolaro, P., Poupot, C., Dubordieu, D., Darriet, P. (2004). Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grape (*Vitis vinifera*) and wine. Plant Pathology, 53, 434-445.

Colombo M., Masiero S., Rosa S., Caporali E., Toffolatti S. L., Mizzotti C., Tadini L., Rossi F., Pellegrino S., Musetti R., Velasco R., Perazzolli M., Vezzulli S., Pesaresi P., (2020). NoPv1: a synthetic antimicrobial peptide aptamer targeting the causal agents of grapevine downy. Scientific Reports 10, 17574.

Dagostin, S., Formolo, T., Giovannini, O., Pertot, I., Schmitt, S., (2010). *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. Plant Disease, 94, 575-580.

Dagostin, S., Scharer, H. J., Pertot, I., Tamm, L. (2011). Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? Crop Protection, 30, 776−788.

Devlieghere, F, Vermeulen, A, and Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology, 21, 703-14.

Dongiovanni C., Giampaolo C., Di Carolo M., Gasparre A., Masiello N., Santomauro A., Faretra F., 2008. Attività antiperonosporica di dosi ridotte di rame e di sostanze alternative in vigneti dell'Italia meridionale. Atti Giornate Fitopatologiche 2, 315-320.

Duca, D., Toscano, G., Pizzi, A., Rossini, G., Fabrizi, S., Lucesoli, G., Servili A., Mancini V., Romanazzi G., Mengarelli, C. (2016). Evaluation of the characteristics of vineyard pruning residues for energy applications: effect of different copper-based treatments. Journal of Agricultural Engineering, 1, 22-27.

El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. Marine Drugs, 8, 968-987.

Egger E., D'Arcangelo M.E.M., 2006. Valutazione dell'efficacia di antiperonosporici a basso apporto di rame nella difesa della vite in Toscana. Atti Giornate Fitopatologiche 2, 179-186.

Gabaston, G., Cantos-Villar, E., Biais, B., Waffo-Teguo, P., Renouf, E., Corio-Costet, M.F., Richard, T., Mérillon, J.M., (2017). Stilbenes from *Vitis vinifera* L. waste: a sustainable tool for controlling *Plasmopara viticola*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65, 2711-2718.

Gadoury, D.M., Cadle-Davidson, L., Wilcox, W.F., Dry, I.B., Seem, R.C., Milgroom, M.G. (2011). Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology, and epidemiology of an obligate biotroph. Molecular Plant Pathology, 13, 1-16

Garde-Cerdán, T., Mancini, V., Carrasco-Quiroz, M., Servili, A., Gutiérrez-Gamboa, G., Foglia, R., Pérez-Álvarez, E.P., Romanazzi, G. (2017). Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: Effects on grape amino acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 75, 7379-7386

Gessler, C., Pertot, I., Perazzolli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. Phytopathologia Mediterranea, 1, 3-44.

Gutiérrez-Gamboa, G., Pérez-Álvarez, E.P., Rubio-Bretón, P., Garde-Cerdán, T., (2019). Changes on grape volatile composition through elicitation with methyl jasmonate, chitosan, and a yeast extract in Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grapevines. Scientia Horticulturae 244, 257-262

Hu, Z. Y., Balay, D., Hu, Y., McMullen, L. M., Gänzle, M. G. (2019). Effect of chitosan, and bacteriocin–Producing *Carnobacterium maltaromaticum* on survival of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* on beef. International Journal of Food Microbiology, 290, 68-75.

Jackson, R. S. (2008). Wine science: principles and applications. Academic Press, 108-238.

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

Jürges, G., Kassemeyer, H. H., Dürrenberger, M., Düggelin, M., Nick, P. (2009). The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. Plant Biology, 6, 886-898.

Kaya, M, Cesonien, L, Daubaras, R, Leskauskaité, D, Zabulioné, D. (2016). Chitosan coating of red kiwifruit (*Actinidia melanandra*) for extending of the shelf life. International Journal of Biological Macromolecules, 85, 355-60.

Kennelly, M., Gadoury, D., Wilcox, W., Magarey, P., Seem, R., (2007). Seasonal development of ontogenic resistance to downy mildew in grape berries and rachises. Phytopathology, 95, 1445-1452.

Krishna, K.R., Rao, D.V.S. (2014). Effect of chitosan coating on the physiochemical characteristics of guava (*Psidium guajava* L.) fruits during storage at room temperature. Indian Journal of Science and Technology, 7, 554-558.

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

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

Mancini, V., Foglia, R., Gregori, M., Marcolini, D., Coppa, D., Nardi, S., Romanazzi, G., (2018). Trattamenti a basso impatto ambientale per la protezione antiperonosporica e antioidica della vite in agricoltura biologica. Atti Giornate Fitopatologiche 2, 523-530.

Martelli R. (1984). Meccanismo d'azione degli antiparassitari a base di rame. VigneVini, 11, 51-53.

Meng, X., Li, B., Liu, J., Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage.

Palliotti, A., Poni, S., Silvestroni, O., (2018). Manuale di viticoltura. Edagricole.

Paoletti, M. G., Sommaggio, D., Favretto, M. R., Petruzzelli, G., Pezzarossa, B., Barbafieri, M. (1998). Earthworms as useful bioindicators of agroecosystem sustainability in orchards and vineyards with different inputs. Applied Soil Ecology, 10, 137-150.

Paolocci, M. (2012). Valutazione del diverso grado di tolleranza di varietà di *Vitis vinifera* tradizionalmente coltivate in Italia Centrale a *Plasmopara viticola* ed *Erysiphe necator,* 9.

Pertot, I., Gobbin, D., Dagostin, S., Ferrari, A., Gessler, C. (2007). La peronospora della vite. Safe Crop 64.

Petriccione, M, Sanctis, F De, Pasquariello, MS, Mastrobuoni, F, Rega, P, Scortichini, M, and Mencarelli, F. (2015). The effect of chitosan coating on the quality and nutraceutical traits of sweet cherry during postharvest life. Food Bioprocess Technology, 8, 394-408.

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

Puopolo, G., Cimmino, A., Palmieri, M.C., O. Giovannini, O., Evidente, A., Pertot, I., (2014). *Lysobacter capsici* AZ78 produces cyclo(l-Pro-l-Tyr), a 2,5-diketopiperazine with toxic activity against sporangia of *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola*. Journal of applied Microbiology, 117, 1168-1180.

Rajestary, R., Landi, L., Romanazzi, G. (2021). Chitosan and postharvest decay of fresh fruit: Meta-analysis of disease control and antimicrobial and eliciting activities. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 20, 563-582.

Romanazzi, G., Nigro, E., Ippolito, A., Di Venere, D., Salerno, M. (2002). Effects of pre-and post-harvest chitosan treatments to control storage gray mold of table grape. Journal of Food Science, 67, 1862-1867.

Romanazzi, G., Santini, M., Murolo, S., Masciulli, A., D'Ercole, G., and Patrizio, F. (2010). Evaluation of the effectiveness of copper formulations used at reduced rates and of alternative compounds in the control of *Plasmopara Viticola*. Petria, 20, 9-12.

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., Mancini, V., Feliziani, E., Servili, A., Nardi, S., Flamini, L. (2014). Effectiveness of alternative compounds in the control of grapevine downy mildew. *Atti* GDPM2014*,* Vitoria-Gasteiz (Spain), 30 giugno – 4 luglio, 111-112.

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

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

Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry.

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

Romanazzi, G., Piancatelli, S., Mancini, V., Coppa, D. (2020). Miscibilità di formulati a base di chitosano con agrofarmaci utilizzati in viticoltura biologica. ATTI Giornate Fitopatologiche, 2, 167-172.

Romanazzi G., Mancini V., Foglia R., Marcolini D., Kavari M., Piancatelli S. (2021). Use of chitosan and other natural compounds alone or in different strategies with copper hydroxide for control of grapevine downy mildew. Plant Disease 105 (in press, Published Online 18 Nov 2020, doi 10.1094/PDIS-06-20-1268-RE).

Rossi, V., Caffi, T., Leger, S.E. (2010). Dynamics of ascospore maturation and discharge in *Erysiphe necator*, the causal agent of powdery mildew. Phytopathology, 100, 1321-1329.

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

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

Trouvelot, S., Varnier, A. L., Allegre, M., Mercier, L., Baillieul, F., Arnould, C., Gianinazzi-Pearson, V., Klarzynski, O., Joubert, J.-M., Pugin, A., Daire, X. (2008). A β-1, 3 glucan sulfate induces resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*

through priming of defense responses, including HR-like cell death. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2, 232-243.

Unnevehr, Laurian J., (2020). Food safety in food security and food trade. International Food Policy Research Institute (IFPRI)

Varasteh, F, Arzani, K, Barzegar, M, Zamani, Z. 2012. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica Granatum* L. Cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. Food Chemistry 130: 267-272.

Wightwick, A. M., Mollah, M. R., Partington, D. L., Allinson, G. (2008). Copper fungicide residues in Australian vineyard soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 7, 2457-2464.

11 SITOGRAFIA

www.l'informatoreagrario.it

https://ec.europa.eu/eurostat/web/agriculture/data/database

https://www.istat.it/it/dati-analisi-e-prodotti/banche-dati/statbase

https://fitogest.imagelinenetwork.com

http://www.assam.marche.it/

https://www.quattrocalici.it/